ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İbrahim YALANCA

GELENEKSEL ET ÜRÜNLERİNDEN İZOLE EDİLEN LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNİN ANTİBİYOTİK DİRENCİNİN BELİRLENMESİ

BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

ADANA,2009

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

GELENEKSEL ET ÜRÜNLERİNDEN İZOLE EDİLEN LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNİN ANTİBİYOTİK DİRENCİNİN BELİRLENMESİ

İbrahim YALANCA
YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

Bu tez …/…/….. Tarihinde Aşağıdaki Juri Üyeleri Tarafından Oybirliği/ Oyçokluğu İle Kabul Edilmiştir.

İmza.....	İmza.....	İmza.....
Prof.Dr.Zerrin ERGİNKAYA	Prof.Dr.Hasan FENERCİOĞLU	Prof.Dr. Sadık DİNÇER
DANIŞMAN	ÜYE	ÜYE

Bu tez Enstitümüz Biyoteknoloji Anabilim Dalında hazırlanmıştır.

Kod No:

Prof.Dr. İlhami YEĞİNGİL
Enstitü Müdürü

Bu Çalışma Çukurova Üniversitesi Araştırma Projeleri Tarafından Desteklenmiştir.

Proje No: ZF2007YL58

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

ÖZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

GELENEKSEL ET ÜRÜNLERİNDEN İZOLE EDİLEN LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNİN ANTİBİYOTİK DİRENCİNİN BELİRLENMESİ

İbrahim YALANCA

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman: Prof.Dr. Zerrin ERGİNKAYA

Yıl: 2009, Sayfa:50

Juri: Prof. Dr. Zerrin ERGİNKAYA

Prof. Dr. Hasan FENERCİOĞLU

Prof. Dr. Sadık DİNÇER

Bu çalışmada geleneksel et (sucuk ve pastırma) ürünlerinden toplam 50 örnekten 41 laktik asit bakterileri izole edilmiş ve vankomisin, klorfenikol, rifampin, tetrasiklin, eritromisin, nitrofurantoin, ampisilin, gentamisin ve siprofloksasin'e karşı dirençlilikleri disk difüzyon metodu ile belirlenmiştir.

Analize alınan 35 sucuk örneğinden toplam 29 laktik asit bakterisi izole edilmiş ve bu suşların % 100'ünün vankomisine , % 97'sinin siprofloksasine, % 26,4'ünün nitrofurantoine, %13,2'sinin gentamisine ve % 6,6'sının rifampicine dirençli olduğu bulunmuştur. 15 pastırma örneğinden izole edilen 12 laktik asit bakterisine ait suşların % 100'ü vankomisin, ve siprofloksasine, % 41,5'i gentamisine, %16,6'sı rifampisine , %8,3 ise nitrofurantoin ve tetrasikline dirençli olarak bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: Laktik asit bakterisi, Antibiyotik direnci, Sucuk, Pastırma

ABSTRACT

MSc THESIS

ANTIBIOTIC RESISTANCE OF LACTIC ACID BACTERIA WHICH ISOLATED FROM TRADITIONAL MEAT PRODUCT

İbrahim YALANCA

DEPARTMENT OF BIOTECHNOLOGY
INSTITUE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

UNIVERSITY OF CUKUROVA

Süpervisor: Prof.Dr. Zerrin ERGİNKAYA
Year: 2009, Pages:50

Jury: Prof. Dr. Zerrin ERGİNKAYA

Prof. Dr. Hasan FENERCİOĞLU

Prof.Dr. Sadık DİNÇER

In this study, 41 lactic acid bacteria were isolated from totally 50 samples which were takes that traditional meat products of sausage and pastirma and resistant agains vancomysin, chloramphenicol, rifampicin, tetracycline, erythromycin, nitrofurantoin, ampicillin, gentamicin and siprofloksasin are determined with disc diffusion method .

Strains which related to 29 lactic acid bacteria that isolated from 35 sausage samples have been found resistant 100% vancomysin, 97% siprofloksasin, 26,4% nitrofurantoin, 13,2% gentamicin and 6,6% rifampicin. Strains which related to 12 lactic acid bacteria that isolated from 15 pastirma samples have been found resistant 100% vancomysin, siprofloksasin, 41,5% gentamicin and 16,6% rifampicin 8,3% nitrofurantoin ve tetracycline.

Key Words: Lactic acid bacteria, antibiotic resistance, traditional meat product

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimim süresince ve çalışmamın her aşamasında bilgi ve deneyimleriyle yol gösterip, sabrı ve anlayışıyla bana örnek olan çok değerli danışman hocam Prof. Dr. Zerrin ERGİNKAYA' ya,

Jüri üyesi olarak tezimi değerlendiren değerli hocalarım Prof. Dr. Hasan FENERCİOĞLU'na ve Prof. Dr. Sadık DİNÇER'e

Tezimin deney aşamasında yardımlarını esirgemeyen Gıda Mühendisliği Bölümü Mikrobiyoloji ve Biyoteknoloji Anabilim dalındaki yüksek lisans yapan arkadaşlarıma,

Maddi desteklerinden dolayı Çukurova Üniversitesi Araştırma Fonu' na,

Hayatımın her aşamasında yanımda olan, maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen değerli annem Bahar YALANCA ve babam Davut YALANCA' ya, ailemin diğer fertlerine, ayrıca arkadaşlarıma teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER **SAYFA**

ÖZ…… I
ABSTRACT…… II
TEŞEKKÜR…… III
İÇİNDEKİLER…… IV
ÇİZELGELER DİZİNİ……..…….... VI
ŞEKİLLER DİZİNİ…… VII
RESİMLER DİZİNİ…….. VIII
KISALTMALAR ……..... IX
1. GİRİŞ…… 1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR……..……..... 4
2.1. Genel Bilgiler……..... 4
2.1.1. Sucuk ve Mikrobiyolojik Özellikleri……... 4
2.1.2. Pastırma ve Mikrobiyolojik Özellikleri……... 5
2.1.3. Laktik Asit Bakterileri……. 6
2.1.3.1. Laktik Asit Bakterilerinin Genel Özellikleri……..... 6
2.1.4. Bakterilerin Antibiyotik Direnç Mekanizmaları…….. 9
2.1.5. Laktik Asit Bakterilerinin Antibiyotik Direnci……..... 12
2.1.6. Geleneksel Et Ürünlerinden Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyonu İle İlgili Yapılan Çalışmalar…….. 14
2.1.7. Laktik Asit Bakterilerinin Antibiyotik Dirençlilikleri Üzerine Yapılan Çalışmalar…….. 15
3.MATERYEL VE METOT…….……. 19
3.1.Materyal…….. 19
3.1.1. Kullanılan Besiyerleri ve Kimyasallar……... 19
3.1.2.Referans suşlar…….. 19
3.2. Metot……. 21
3.2.1 Örneklerin Analize Hazırlanması…… 21
3.2.2. Stok Kültür Hazırlama ……. 21
3.2.3. Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyonu…….. 21

3.2.3.1 *Enterococcus* spp.'nin İzolasyonu ……. 22
3.2.4 Laktik Asit Bakterilerinin Tanımlaması……... 22
3.2.4.1. *Enterococcus* spp.'nin Tanımlanması ……. 22
3.2.5. Morfolojik ve Biyokimyasal Testler……... 25
3.2.5.1. Gram Boyama…… 25
3.2.5.2. Katalaz Testi…….. 25
3.2.5.3. Tuz Toleranslarının Belirlenmesi …… 25
3.2.5.4. Sıcaklık Toleranslarının Belirlenmesi ……. 25
3.2.5.5. Glikozdan Gaz Üretimi …… 26
3.2.6. Laktik Asit Bakterilerinin Antibiyotik Dirençliliklerinin Belirlenmesi……...…….. 26
3.2.7. Çoklu Antibiyotik Direnci (MAR) İndeksi Hesaplaması……. 28
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA……. 29
4.1. Et Ürünlerinden İzole Edilen Laktik Asit Bakterileri…….. 29
4.1.1. Sucuk Örneklerinden İzole Edilen Laktik Asit Bakterileri …. 30
4.1.2. Pastırma Örneklerinden İzole Edilen Laktik Asit Bakterileri.. 32
4.2. Laktik Asit Bakteri Suşlarının Antibiyotik Dirençliliği……. 34
4.2.1. Sucuktan İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Antibiyotik Dirençlilikleri…….. 34
4.2.2. Pastırmadan İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Antibiyotik Dirençlilikleri ……. 38
5.SONUÇ VE ÖNERİLER……. 41
KAYNAKLAR……. 43
ÖZGEÇMİŞ…….. 50

ÇİZELGELER DİZİNİ **SAYFA**

Çizelge 2.1.	Veterinerlik ve İnsan Kliniğinde Önemli Antibiyotiklerinin MİK Değerleri……	13
Çizelge 3.1.	Araştırmada Kullanılan Besiyerleri ve Özellikleri…….....	20
Çizelge 3.2.	Araştırmada Kullanılan Kimyasallar ve Kullanım Amacı….	20
Çizelge 3.3	*Staphylococcus aureus (*ATCC25923) İçin NCCLS Döküman M2-A9 Zon Çapı Yorumlama Standartları……..	27
Çizelge 3.4.	*Enterococcus feacalis (*ATCC29212) İçin NCCLS Döküman M2-A9 Zon Çapı Yorumlama Standartları……..	27
Çizelge 4.1.	Sucuk Örneklerinden Elde Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Özellikleri……..	30
Çizelge 4.2.	Pastırma Örneklerinden Elde Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Özellikleri……	33
Çizelge 4.3.	Laktik Asit Bakterileri ve İzole Edildiği Et Ürünleri…….	29
Çizelge 4.4.	Sucuk Örneklerinden İzole Edilen Laktik Asit bakterilerinin Antibiyotik Dirençlilikleri……..……	35
Çizelge 4.5.	Sucuktan İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin MAR İndeksi……	37
Çizelge 4.6.	Pastırma Örneklerinden İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Antibiyotik Dirençlilikleri……..……	38
Çizelge 4.7.	Pastırmadan İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin MAR İndeksi……....	40

ŞEKİLLER DİZİNİ **SAYFA**

Şekil 3.1. Laktik Asit Bakterilerinin Homo-Heterofermantatif Özelliğine Göre İsimlendirmesi……... 23

Şekil 3.2. *Enterococcus* spp'nin Tanımlanması……... 24

RESİMLER DİZİNİ **SAYFA**

Resim 4.1. LAB31 No'lu Suşun Koloni Görünüşü……..……. 32

Resim 4.2. LAB24 No'lu Suşun Koloni Görünüşü……..…….. 34

Resim 4.3. LAB26 No'lu Suşun Vankomisin, Siprofloksasin, Gentamisin Dirençliliği…….....……..... 36

Resim 4.4. LAB39 No'lu Suşun Vankomisin, Siprofloksasin, Gentamisin Dirençliliği……..…..…….. 39

KISALTMALAR

LAB: Laktik Asit Bakterileri

GRAS: Generally Recognized as Safe

spp. : Subspecies

MRS : de Man, Rogosa and Sharpe Agar

PCR : Polymerase Chain Reaction

MARI: Multiple Antibiotic Resistance Index

1.GİRİŞ

Etlerin dayanıklı duruma getirilmesinde bilinen en eski yöntem tuzlandıktan sonra güneşte kurutmaktır. Bu şekilde elde edilen et ürünlerine; Güney Afrika Ülkelerinde Biltong, Güney Amerika'daki Charque, İsviçre'deki Bundnerfleisch, Doğu Afrika ve Somali'de Odka, Etopya'da Qwanta, Nijerya'da Kilishi ve Kızılderililerin törenlerde yedikleri Pemmican adı verilen et ürünleri ile ülkemizdeki sucuk ve pastırma örnek gösterilebilir (Gökalp ve ark., 1994, Yücel, 1993).

Sucuk, olgunlaştırılmış taze etlerin önce kıyma haline getirilerek, tuz ve diğer katkı maddeleri ile karıştırılıp bağırsağa doldurulduktan sonra doğal koşullarda veya hızlandırılmış yöntemlerle kurutulup elde edilen bir et ürünüdür.

Diğer bir geleneksel et ürünümüz olan pastırma ise sağlıklı kasaplık büyükbaş hayvan gövde etlerinden usulüne göre ayrılan (söküm) parçaların teknolojik işlemlerden geçirilerek izin verilen katkı maddeleri ile hazırlanıp kurutulduktan sonra çemenlenmesi, yeniden kurutulması ile elde edilen kemiksiz et ürünüdür.

Fermente sucukların olgunlaşması ve buna bağlı olarak kalite niteliklerinin oluşmasın da, *Lactobacillus* spp. türlerinin olgunlaşma sırasında oluşturdukları laktik asit ile sucuklarda kıvam, renk, aroma oluşumu ve patojen mikroorganizmaların baskılanmasında etkin rol oynarlar. Olgunlaştırma sıcaklığı 20-22°C olan fermente sucuklar ile ilgili yapılan çalışmalarda sucuk mikroflorasında baskın grubu *L. sake* ve *L. curvatus* olduğu, olgunlaştırma sıcaklığının 25°C olduğu ve daha yüksek olduğu koşullarda ise *L. plantarum'* un ortama hakim olduğu bildirilmektedir (Özdemir ve Sırıken, 1996).

Pastırmada mikrobiyal floranın belirlenmesi amacıyla yapılan değişik çalışmalarda da *Lactobacillus* spp. türleri genelde 10^5-10^7 kob/g düzeyinde bulunduğu bildirilmektedir (Anıl, 1988, Coşkun, 1990, Arslan ve ark., 1997). Buna ilaveten yapım teknolojisi gereği çemenleme işlemi dışında, pastırmaya benzerlik gösteren kürlenmiş ve kurutulmuş et ürünlerinde de baskın florayı *Lactobacillus* spp. M*icrococcus* spp. *ve Staphylococcus* spp. ait türlerin oluşturduğu bildirilmektedir (Aksar, 1993).

Laktik asit bakterileri, tabiatta yaygın oluşları, çeşitli gıda maddelerinde sıkça rastlanılan bozulmalara neden olmaları ve bazı gıdaların üretim ve olgunlaştırılmasında önemli rol oynamaları nedeni ile gıda teknolojisinde büyük önem taşımaktadırlar. Çiğ materyalin laktik asit bakterileri ile fermente edilerek yeni gıdaların üretilmesi ve çeşitli gıdaların bu yöntemle muhafazası, en eski gıda muhafaza metotlardan birisi olarak kabul edilmektedir. Tüm dünyada yaygın olarak tüketilen fermente et ürünleri ve farklı sebzelerden üretilen turşular laktik asit fermantasyonu ile hazırlanmakta ve muhafaza edilmektedir (Gökalp, 1982, Andersson, 1989, Mayra-Makinen ve ark., 1993).

Ülkemizde ve dünyanın çeşitli bölgelerinde üretilen fermente gıdaların çoğunun üretimi, farklı olabilmekte ve bazıları üretildikleri yöreye göre farklı isimlerle bilinmektedir. Laktik asit bakterileri fermente ürünlerin kalitesini ve niteliğini belirlemede önemli bir faktör olarak yer almaktadır (Hayaloğlu ve Erginkaya, 2001).

Laktik asit bakterileri, heksozlardan laktik asitin yanı sıra, cins ve tür özelliklerine bağlı olarak asetik asit, CO_2, alkol ve bazı aroma maddeleri de üretmektedirler. Ayrıca laktik asit bakterileri, gıdanın bozulmasına neden olan mikroorganizmalar ve insanlarda hastalıklara neden olan patojen mikroorganizmalar üzerinde de, ürettikleri bazı maddeler (organik asitler, hidrojen peroksit, laktoperoksidaz, diasetil ve bakteriyosinler) nedeniyle antagonistik etkiye sahiptir. Bu nedenle mikroorganizmaların kullanılarak üretildiği gıdalar, insan sağlığı açısından güvenilir gıdalar olarak kabul edilmektedir (Ünlütürk ve Turantaş, 1998).

Bazı laktik asit bakterileri, insan ağız boşluğunda intestinal bölgesinde ve vajinada insan sağlığına olumlu etkileri bulunmaktadır. Bu nedenle de son yıllarda söz konusu bakterilerin probiyotik olarak çeşitli gıdalarda ve hayvan yemlerinde kullanılmaktadır. Özellikle, Almanya ve Japonya başta olmak üzere birçok ülkede bazı laktik asit bakterileri çeşitli fermente ürünlerde 20 yıldan beri starter kültür olarak kullanılmaktadır (Holzapfel ve Schillinger, 2002).

Her geçen yıl laktik asit bakterileri üzerine yapılan araştırma sonuçlarına bağlı olarak çeşitli türlerinin insan gıdasında ve hayvan yemlerinde kullanımları artmaktadır. Antibiyotiklerin klinikte kullanılması ile enfeksiyonlu hastalıklarla

meydana gelen hastalanma ve ölüm oranlarında önemli bir azalma sağlamıştır. Antibiyotikler, cerrahi müdahale ve kanser terapisinde derin bir etkiye sahiptir (Ammor ve ark., 2007). Antibiyotiklerin kullanımı hayvan tedavisinde kullanılan ilaçlarda da yaygındır. Ayrıca, hayvansal gıda üretiminde ve bitki hastalıklarından korunmak için tarımda antibiyotikler kullanılmaktadır (Martins da costa ve ark., 2006, Amor ve ark., 2007). Son yıllarda genellikle antibiyotik kullanımı ile bakteri direncinin artış göstermesi önemli bir problemdir. Bazı araştırmacılara göre, gıda ürünleri kaynaklarından biri olarak düşünülmektedir (Ammor ve ark., 2007).

Günümüzde immün sistemi bozulmuş hasta sayısı ve yoğun bakım ünitelerinin artması, gıda zincirinde özellikle hayvan refahı ve sağlığı alanında antibiyotik kullanımı ve bunların çevreye salınımı ile ortaya çıkan mikroorganizmalardaki antibiyotik direnci, önemli bir sağlık sorunu olarak karşımıza çıkarmaktadır (Demirtürk ve Demirdal, 2004). Bu nedenle kontamine gıdalar aracılığı ile antibiyotiklere dirençli bakterilerin insanlara transfer edilebilme riski endişe doğurmaktadır (Robredo ve ark., 2000, Klare, 2003). Direnç genlerinin gıda zinciri aracılığı ile insanları da etkileyebileceği düşünülmektedir (Peters ve ark., 2003).

Bu araştırmada, geleneksel olarak üretilen sucuk ve pastırma örneklerinden laktik asit bakterileri izole edilerek, cins bazında tanımlanmış ve daha sonra gıda kaynaklı risk olup olmadıklarını belirlemek amacıyla, insan tedavisinde, kullanılan vankomisin, kloramfenikol, rifampin, tetrasiklin, eritromisin, nitrofurantoin, ampisilin, gentamisin ve siprofloksasin antibiyotiklerine karşı dirençleri belirlenmiştir.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Genel Bilgiler

Araştırmada kullanılan geleneksel et ürünlerinden izole edilen laktik asit bakterilerinin genel özellikleri, izolasyonları ve antibiyotik hassasiyetleri ile ilgili genel bilgiler aşağıda özetlenmiştir.

2.1.1. Sucuğun Mikrobiyolojik Özellikleri

Sucuğun olgunlaşmasında rol oynayan mikroorganizmalar; genelde gram (+) olup, özellikle *Lactobacillus*, *Kocuria (Micrococcus)* ve *Staphylococcus* cinslerine ait bazı türlerdir. Et ürünlerinde mikrobiyal gelişmenin hızı, metabolik aktivitesi ve organizmanın sucuğun yüzeyinde veya iç kısmında gelişmesi, sıcaklık, su aktivitesi, pH, redoks potansiyeli, nitrat, nitrit gibi katkı maddeleri ile dumanlama uygulanıyorsa dumanın bileşimine bağlı olarak değişmektedir. Ayrıca, sucuk hamurunun mikroflorası et, yağ ve diğer materyallerin hazırlanmasındaki hijyenik koşullara bağlı olarak da büyük farklılık göstermektedir (Heperkan ve Sözen, 1988).

Sucuk fermantasyonunda rol oynayan bakterilerin başında, laktik asit bakterileri gelmektedir. Bu bakteriler, sucuk hamurunda bulunan karbonhidrat, yağ ve azotlu bileşikleri parçalayarak sucuğun kendine özgü renk, tat, koku ve yapıyı kazanmasını sağlarlar (Karakaya ve Göğüş, 1993). Ayrıca bozulmaya neden olan ve bazı patojen mikroorganizmaların gelişimini engelleyerek sucukların raf ömrü ve güvenliği üzerinde de etkili rol oynarlar (Sameshima ve ark., 1998, Vignolo ve ark.,1989, Erkkilä ve Petäjä, 2000).

Starter kültür içermeyen ve olgunlaşma sıcaklığı 20-25ºC olan fermente et ürünlerinde *Lactobacillus sake* ve *Lactobacillus curvatus* düşük pH değerlerinde gelişebilmelerinden dolayı (3.9-4.1) baskın florayı oluştururken, P*ediococcus acidilactici* veya *Pediococcus cerevisiae* 40ºC'de, *Pediococcus pentasaceus* ve *Lactobacillus plantarum* 30-35ºC arası sıcaklıklarda aktif olabilmektedirler (Hammes ve Knauf, 1994, Anon., 2004b, Öztan, 2003).

Kocuria (Micrococcus) ve *Staphylococcus* cinsi bakteriler gram (+), aerob veya fakültatif anaerob, hareketsizdirler (Özçelik, 1998). *Micrococcaceae* familyasındaki *Kocuria (Micrococcus)* ve *Staphylococcaceae* familyasındaki apatojen stafilokoklar, nitrat redüktaz enzimi aracılığı ile nitratı nitrite indirgeyerek, olgunlaşma döneminde laktik asit bakterileri sayesinde uygun hale gelen pH'da, nitritten nitrik oksit oluşumunu ve arzu edilen ürüne özgü kırmızı rengin nitrosomiyoglobin kazandırılmasını sağlarlar. Ayrıca, lipolitik aktiviteleri ile de lezzet oluşumuna katkıda bulunurlar ve ürettikleri katalaz enzimi sayesinde laktik asit bakterileri tarafından üretilen peroksitleri parçalayarak oluşabilecek renk bozukluklarının önlenmesine yardımcı olurlar (Temelli, 2000, Garrity ve ark., 2001).

Kocuria varians (Micrococcus varians), Staphylococcus xylosus ve *Staphylococcus carnosus,* laktik asit bakterileri ve mayalar ile beraber kullanılmaktadırlar (Vural ve Öztan, 1992, Soyer, 2002).

2.1.2. Pastırmanın Mikrobiyolojik Özellikleri

Pastırmalarda mikrobiyal floranın belirlenmesi amacıyla yapılan çalışmalarda, baskın mikroflorayı genelde yüksek tuz konsantrasyonuna dirençli mikrokok ve stafilokoklar ile psikrofil özellikteki laktik asit bakterilerinin oluşturduğu bildirilmektedir.

Pastırma florasında bulunan *Lactobacillus* spp., ürün kalitesi üzerinde önemli derecede etkilerinin olmadığını bildiren araştırmacılar bulunmasına karşın, salamura tipi et ürünlerinde, *Lactobacillus* spp. ile *Kocuria (Micrococcus)* spp. pastırma mikroflorasında yer almakta, ürünün duyusal ve mikrobiyoloji kalitesini düzelttiğini bildirmektedirler (Lücke, 1986, Molina ve ark., 1989). Buna ilaveten aynı araştırmacılar pastırma örneklerindeki pH değerleri ile *Lactobacillus* spp. düzeyleri arasında bir ilişki olduğunu da vurgulamışlardır (EI-Khateib ve ark., 1987).

Pastırmada genel olarak; *Lactobasillus* spp. ortalama olarak 10^5-10^7 kob/g düzeyinde olduğu ve buna ilaveten yapım teknolojisi gereği, çemenleme işlemi dışında pastırmaya benzerlik gösteren kürlenmiş ve kurutulmuş et ürünlerinde de baskılayıcı florayı *Lactobasillus* spp. ile mikrokok/stafilokokların oluşturduğu bildirilmektedir (Katsaras ve ark., 1996).

2.1.3. Laktik Asit Bakterileri

2.1.3.1. Laktik Asit Bakterilerinin Genel Özellikleri

Yapılan taksonomik çalışmalara göre Laktik asit bakterileri, *Aerococcus, Cornobacterium, Enterococcus, Tetragenococcus, Vagococcus, Weis*ella şeklinde sınıflandırılmıştır. Bu bakteriler, zorunlu homofermentatif ve zorunlu heterofermentatif olarak iki ana gruba ayrılmaktadır. Ancak *Lactobacillus* cinsi için üçüncü bir grup olarak fakültatif heterofermentatif grup bulunmaktadır. Laktik asit bakterileri, taksonomik olarak, morfolojik yapılarına, tuz asit ve alkali toleranslarına, yağ asitleri bileşimine ve DNA baz dizisi gibi genetik kriterlerlere bağlı olarak sınıflandırılmaktadır (Hayaloğlu ve Erginkaya, 2001).

Laktik asit bakterileri, "güvenli bakteriler" olarak kabul edilirler ve koruyucu kültürlerin özelliklerini taşırlar. Gıdalarda sadece gıda kaynaklı patojen ve bozulma etmeni mikroorganizmaları inhibe etmek ve/veya raf ömrünü uzatmak için kullanılan ve gıdanın duyusal özelliklerinde olumlu değişime neden olması antogonistik özelliklerinden dolayı kültür olarak kullanılmaktadır (İşleroğlu ve ark., 2008).

Bazı laktik asit bakterileri ise insanların ağız boşluğunda, intestinal bölgesinde ve vajinada, insan ekosistemine katkıda bulunmaktadır. Bu özelliklerinden dolayı, son yıllarda bazı laktik asit bakterileri birçok ürünlerde ve hayvan yemlerinde probiyotik olarak kullanmaktadır (Holzapfel ve Schillinger, 2002). Birçok araştımacı probiyotik ürünler ve diğer laktik asit fermentasyonu sonucu elde edilen geleneksel ve ticari ürünlerin tüketimindeki potansiyel artışlar, beraberinde laktik asit bakterilerinin patojen bakterilere "antibiyotik dirençlilik" özelliğini transfer etme tehlikesine dikkat çekmektedirler (Ammor ve ark., 2007).

***Lactobacillus* spp.**

Çubuk şeklinde olan bu bakterilerin bazı türleri kokobasil veya uzun zincir oluşturma özelliğindedir. Çok az tür veya suşun dışında, hareketsizdirler. *Lactobacillus* spp.' ler doğada ve gıdalarda sık rastlanan yaygın türler arasındadır. Normal et florasında bulunurlar. Genellikle nitratı redükte etmezler ve 5-53 ^{o}C ile

pH 5,5-5,8 arasında gelişebilirler. Patojen özellik göstermezler. Aksine oluşturdukları bakteriyel özellikteki maddeler sayesinde saprofit ve patojen bakterilerin gelişmesini engellerler. Proteini parçalama özellikleri tür ve suşlara göre değişiklik göstermektedirler. Hücre içi peptidazlarla peptidleri aminoasitlere kadar parçalarlar. Bu özellikleri nedeniyle, yoğurt ve benzeri ürünlerin yapımında ve sert peynirlerin olgunlaştırılmasında starter kültür olarak kullanılırlar.

Laktobasiller, insan ve hayvanların doğal florasının bir parçasıdır ve birçok üründe güvenilir olarak tanındığından teknolojik olarak kullanılmaktadır.

Lactobacillus cinsine ait 3 farklı grup vardır. Birinci grup: *Thermobacterium,* ikinci grup: *Streptobacterium* ve üçüncü grup: *Betabacterium*'dur.

Birinci grupta, 15 tür bulunmakta olup homofermentatif özelliktedir. Pentozlar ve glukonatları fermente edemezler, glukoz ve glukonattan gaz oluşturmazlar ve 15-45 ^{o}C'de gelişirler.

İkinci grup laktobasiller olan *Streptobacterium*'da fakültatif heterofermentatif laktobasil türleri yer almaktadır. Bunlar hegsozların hemen hemen tümünü laktik asite fermente etmelerinin yanı sıra, pentozlardan laktik asit ve asetik asit oluşturma özelliklerine sahiptirler ve 23-35 ^{o}C'de gelişirler.

Üçüncü grup olan *Betabacterium*'lar ise, heterofermentatif laktobasil türlerini kapsar. Bunlar heksozları %50 oranında laktik asit, etanol ve CO_2 'e fermente ederler. Glukozlardan gaz, fruktozdan mannitol oluşturular.15 ^{o}C ve 45 ^{o}C'de gelişimleri türlere göre değişiklik gösterir(Kılıç, 2001).

***Enterococcus* spp.**

Enterokoklar, hayvanların sindirim atıklarında, toprakta, kirli suda hayvansal gıdalarda bulunabilen bakterilerdir. Bu bakteriler primer patojen olarak bilinmezler, fakat genellikle ikincil patojen olarak özellikle insan bağışıklığını tehlikeye atan bakteriler içinde tanımlanmaktadır. Ayrıca Enterokoklar, ciddi insan patojeni olan diğer bakteriler için düz (yatay) transfer edilebilen antibiyotik direnç genlerinin rezervuarı olarak dikkate alınmaktadır (Hummel ve ark., 2007).

Enterokoklar, laktik asit bakterileri içinde yer alan önemli bir cinstir. Başlangıçta S*treptococcus* cinsi içinde yer alan enterokoklar, ‘’fekal streptekoklar’’ veya ‘’Lancefield serolojik D grubu streptokoklar olarak bilinmekteydi. 1984 yılında streptokoklardan farklılığı ortaya konarak *Enterococcus* adı altında ayrı bir cins olarak kabul edilmiştir. *Enterococcus* cinsine ait türler, ikili ya da kısa zincirler halinde bulunan fakültatif anaerob koklardır. Bunlar kemoorganotrofiktirler ve homofermantatif laktik asit fermentasyonu ile heksozlardan L-laktik asit oluştururlar. Optimum gelişme sıcaklıkları 35 ^{o}C olan enterekoklar, 60 ^{o}C’de 30 dakika uygulanan ısıl işlemle canlılıklarını koruyabilme özelliğine sahiptir.

Enterokoklar, fırsatçı çok iyi patojen olarak bilinmekte ve özellikle de hastane enfeksiyonlarında önemli rol oynamaktadır. Bu bakteriler, hastane enfeksiyonlarından olan, bakteriema, üriner sistem enfeksiyonu ve endokarditis olarak bilinen enfeksiyonlardan sorumludurlar (Lukasova ve Sustackova , 2003).

Bununla birlikte enterokoklar, bazı geleneksel fermente gıdalarda baskın mikroflora olarak rol oynarlar. Laktik asit bakterilerinden olan enterokoklar fermente gıdaların tat, sertlik ve yumuşaklık gibi özelliklerinde etkili olurlar.

İnsan ve hayvanların doğal mikroflorasının önemli bir bölümünü oluşturan enrekokların temel habitatları gastrointestinal sistemdir.

Enterokokların pastörizasyon sıcaklıklarına dirençli olmalarının yanı sıra, farklı substrat ile düşük ve yüksek sıcaklık, ekstrem pH ve tuz konsantrasyonları gibi gelişme koşullarına adapte olma yetenekleri sayesinde, süt ve et gibi çiğ materyallerden üretilen gıda ürünleri ile ısıl işlem uygulanan gıda ürünlerinden çok sık izole edilirler. Ayrıca enterokoklar, ürün işleme süresince son ürünü kontamine edebildikleri için özellikle peynir ve fermente etlerde gıda florasının önemli bir bölümünü oluştururlar (İşleroğlu ve ark, 2008).

***Leuconostoc* spp.**

Leuconostoc spp**.** kok veya oval şekilde, gram (+), spor oluşturmayan, katalaz (-), zincir ve grup şeklinde pleomorfik hareketsiz bakterilerdir. Çoğu türleri %3 hatta %6.5 tuz konsantrasyonuna dayanabilmektedirler. Optimum gelişme sıcaklıkları 20-30 ^{0}C arası olup, fakültatif anaerob koşullarda aktivite gösterebilmektedirler. Heterofermantatif olan bu bakteriler, karbonhidratları parçalayarak laktik asit yanında asetik asit, etil alkol ve CO_2 meydana getirirler (Hayaloğlu ve Erginkaya, 2001).

***Pediococcus* spp.**

Pediococcus spp. gram (+), hareketsiz, mikroaerofilik ve fermentatif, katalaz (-) kok şeklinde tekli, çiftli kısa zincir veya tetrad oluşturan bakterilerdir. Bu cinsin türleri, tuza dayanıklı homofermantatif özelliktedir ve doğal olarak bitkilerde bulunur. Ayrıca turşu, bira, şarap gibi fermente ürünlerin üretiminde kullanılmaktadır (Hayaloğlu ve Erginkaya, 2001).

2.1.4. Bakterilerin Antibiyotik Direnç Mekanizmaları

Direnç, bir bakterinin antimikrobiyal bir ajanın öldürücü veya üremeyi durdurucu etkisine karşı koyabilme yeteneğidir. Antibiyotik direncinin yalnızca yaygın antibiyotik kullanımı sonucu ortaya çıkmadığı, bakterilerinin olumsuz çevre koşullarında yaşamını sürdürmek için kullandığı savunma mekanizmasının bir parçası olduğu da belirtilmektedir. Ancak, antibiyotiklerin yoğun şekilde kullanıma girmesiyle birlikte yıllar içinde farklı ve gittikçe artan sayıda dirençli mikroorganizmalar ortaya çıkmış ve bunlarla oluşan enfeksiyonların tedavisinde büyük sorunlar yaşanmaya başlanmıştır. Günümüzde tüm dünyada bir yandan hızla yeni ilaçlar geliştirilmekte, diğer yandan bunlara süratle direnç kazanan mikroorganizmalarla oluşan enfeksiyonlar artmakta ve sorunun boyutları giderek büyümektedir (Yüce, 2001).

Dirençler, doğal direnç, kazanılmış direnç ve çapraz direnç olmak üzere üç çeşittir.

Doğal Direnç: Bakteriler antibiyotiklere doğal olarak dirençli olabilir. Bu tür direnç bakterinin temel özelliğidir ve ilaç kullanımı ile ilişkisi olmayıp kalıtsal değildir. Doğal direnç, bu mikroorganizmaların tür özelliği olarak ilacın hedefi olan yapıyı taşımamalarının veya ilacın yapısal bir özellikten dolayı hedefine ulaşamamasının bir sonucudur. Örneğin; ilacın dış membrandan geçememesi nedeniyle gr(-) bakteriler vankomisine doğal olarak dirençlidir (Yüce, 2001).

Kazanılmış Direnç: Bir bakteri genetik özelliklerindeki değişimlere bağlı olarak eskiden duyarlı olduğu bir antibakteriyel ajandan etkilenmeyebilir. Bu durumda o bakteri direnç kazanmış olur. Genetik kaynaklı direnç kromozomal veya kromozom dışı maddelere bağlı olabilir. Kromozomal direnç, bakteri kromozomunda kendiliğinden (spontan) oluşan mutasyonlar sonucu ortaya çıkar. Spontan mutasyonlar bazı fiziksel ve kimyasal faktörlerle oluşabilir ve sonuçta bakteri hücresinde yapısal değişimler oluşur. Böylece hücrenin ilaca karşı geçirgenliği azalabilir veya hücre içinde ilacın hedefinde değişiklikler olabilir. Ekstrakromozomal direnç, çeşitli yollarla aktarılan plazmid, transpozon ve integron adı verilen genetik elemanlara bağlıdır (Yüce, 2001).

Plazmidler, bakterilerde antibiyotik uygulamasından öncede var olan ve kromozomdan bağımsız olarak replike olabilen ekstrakromozomal DNA parçacıklarıdır. R (rezistans) faktörleri bir ya da birkaç antimikrobiyal ilaca ve ağır metallere karşı direnç genlerini taşıyan plazmidlerdir. Plazmid genleri, genellikle ilaçları parçalayan enzimlerin üretilmesinden sorumludurlar (Yüce, 2001).

Transpozonlar ise bakteri kromozomunun değişik yerlerine yerleşebilen veya kromozomdan plazmide, plazmidden plazmide, plazmidden DNA veya bakteriyofaja aktarılabilen; kendi kendilerine replike olamayan, o nedenle kromozom, plazmid veya bakteriyofaj gibi bir replikon üzerinde bulunan DNA dizileridir. Direnç genlerini taşıyan genetik materyal ve plazmidler bir bakteriden diğerine transdüksiyon, transformasyon, konjugasyon ve transpozisyon gibi mekanizmalarla aktarılırlar. Kromozom veya plazmid üzerindeki direnç genleri, bakterinin bölünmesi ile yavru hücrelere aktarılır (vertikal geçiş). Bu yeni hücrelerin çoğalması ile de dirençli suşun ve direnç genlerinin yayılımı gerçekleşir (klonal yayılım). Plazmidler konjugasyon ile de yatay olarak aktarılabilir (Yüce, 2001).

Konjugasyon, iki bakteri hücresinin teması sonucunda genetik eleman aktarımı olup türler arası plazmid aktarımı nın in vivo koşullarda da oluşabilmesi önem taşımaktadır. Ayrıca direnç plazmidleri, gram (+) ve (-) bakteri türleri arasında da aktarılabilirler. Direnç genlerinin yeni konaklara aktarımında tek mekanizma plazmid transferi değildir. Transpozisyon ile transpozon veya transpozabl elementler diye bilinen kısa DNA sekansları aktarılabilir. Özellikle gram (+) bakterilerde bulunan konjugatif transpozonlar, plazmid olmaksızın gen aktarımını sağlayabilir. Son yıllarda direnç genlerinin özellikle transpozonlarca taşındıkları anlaşılmıştır. Bir diğer önemli nokta ise bu tip aktarım olaylarının düşük yoğunluklu antibiyotik varlığında hızlanmasıdır (Yüce, 2001).

Transformasyon, ortamda serbest bulunan DNA'nın bakteri hücresi içine alınması olup bu şekilde de direnç genleri aktarılabilir. *Neisseria* türleri ve streptokoklarda patojen ve nonpatojen türler arasında gen aktarımı sonucu penisilin bağlayan protein (PBP) değişimlerinin transformasyon ile gerçekleştiği düşünülmektedir. Transdüksiyon ise direnç genlerinin bakteriyofaj aracılığı ile transferi olup, sıklıkla laboratuvar koşullarında direnç aktarımı için uygulanır. Bu aktarımın klinik direnç açısından önemi bilinmemektedir (Yüce, 2001).

Kromozom veya plazmid üzerindeki antibiyotik direnç genlerinin birbirleri ile bağlantılı olduğu ve başlangıç bölgesinin yakınında özel integrasyon birimleri bulunduğu gizlenmiştir. Bunlara integron adı verilir. İntegronlar rekombinasyonun çok sık görüldüğü sıcak noktaları oluştururlar (Yüce, 2001).

Çapraz Direnç: Belli bir ilaca karşı dirençli olan bazı mikroorganizmaların, aynı veya benzer mekanizma ile etki eden diğer ilaçlara karşı da dirençli olma halidir. Bu durum genellikle eritromisin, neomisin, kanamisin gibi yapıları benzer ilaçlar arasında gözlenmektedir.. Ancak bazen tümüyle ilgisiz ilaçlar arasında da görülebilir. Eritromisin-linkomisin arasındaki çapraz direnç buna örnek olarak verilebilir. Kromozomal veya ekstrakromozomal orijinli olabilir (Yüce, 2001).

Antibiyotiklerin klinikte kullanımı enfeksiyonlu hastalıkla meydana gelen ölüm oranları önemli bir azalma sağlamıştır. Antibiyotikler cerrahi müdahale ve kanser terapisinde derin bir etkiye sahiptir (Ammor ve ark., 2007). Antibiyotiklerin

kullanımı hayvansal ilaçlarla da yayılmıştır (Martins da costa ve ark.,2006; Ammor ve ark., 2007).

Genellikle Antibiyotik kullanımının yayılımı antibiyotik dirençlerindeki artış için temel risk faktörü olduğu kabul edilmektedir. Bu durum insan ve hayvanlarda direnç genleri ve bakteri dirençlerinin yayılımı ve ortaya çıkması için öncülük etmektedir (Lukasova ve Sustackova, 2003).

2.1.5. Laktik Asit Bakterilerinin Antibiyotik Direnci

Bakterilerdeki büyük sağlık sorunu antibiyotiklere karşı geliştirdikleri dirençtir. Antibiyotik dirençliliğinin artmasının sebebi insan sağlığında ve hayvanların gelişiminde abartı bir şekilde antibiyotik kullanılmasıdır. Laktik asit bakterileri de diğer bakterilere benzer antibiyotik direnç sorunu göstermektedir. Laktik asit bakterisinin kendisi patojen değildir, ama antibiyotik direnç genlerini patojen bakterilere transfer ederek insan ve hayvanlarda sağlık sorunlarına neden olabilir (Hereros ve ark, 2005).

Antibiyotik dirençli laktik asit bakterileri hayvansal olan çiğ gıda ürünlerinden süt ya da pastörizasyon yapılmayan salam ve peynir gibi ürünlerde taşınabilmektedir. Laktik asit bakterileri genellikle Beta- laktamaz, imidazole ve aminoglikozidaz gibi antibiyotikler karşı dirençlidir (Hereros ve ark, 2005).

The Scientific Committe of Animal Nutrition (SCAN) veterinerlik ve insan kliniğinde önemli 13 antibiyotiğin MİK değerleri Çizelge 2.1'de gösterilmektedir (European Commission, 2005).

Enterokoklar, nozokomiyal enfeksiyonlarda artan oranlarda görülmelerinin yanısıra, gerek doğal olarak taşıdıkları klindamisin, florokinolon, trimetoprim-süfometoksazol, düşük düzey penisilin ve düşük düzey aminoglikozit direnç özellikleri, gerekse de genetik madde aktarımı veya mutasyonla kazandıkları tetrasiklin, eritromisin, rifampin, kloramfenikol, nitrofurantoin, fusidik asit, yüksek düzeyde aminoglikozit direnci(HLAR) ve beta-laktamaz, florokinolon ve vankomisin dirençleri nedeniyle günümüzün problemli bakterilerin yani genetik yapısında birçok antibiyotiğe karşı direnç genlerini taşıyan bakterilerin arasında yer almaktadır (Berzeg, 2005).

Enterokokal enfeksiyonların tedavisinde son seçenek olarak görülen glikopeptidlere dirençli kökenlerin ortaya çıkması, sorunu daha da önemli hale getirmektedir. Glikopeptid direnci Enterococcus spp.'lerde sıklıkla çoğul ilaç direnci görüldüğü de bildirilmiştir (Berzeg, 2005).

Çizelge 2.1. Veterinerlik ve İnsan Kliniğinde Önemli Antibiyotiklerin MİK Değerleri (European Commission, 2005).

Antibiyotik	Lactobacillus spp. (µg/ml)	Lactobacillus plantarum (µg/ml)
Ampisilin	4	4
Kloramfenikol	4	8
Kilindamisin	4	4
Eritromisin	4	4
Gentamisin	8	64
Kanamisin	16	64
Linezolid	4	4
Neomisin	16	32
Streptomisin	16	64
Tetrasiklin	8	32
Trimethoprim	8	8
Vankomisin	4*	-
Virginiamisin	4	4

*Heterofermantatif Lactobacillus türlerinde vankomisini incelemeye gerek yoktur.

2.1.6. Geleneksel Et Ürünlerinden Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyonu İle İlgili Yapılan Çalışmalar

Gürakan ve ark. (1995), sucuktan *Lactobacillus* suşlarının tanımlanması amacıyla yapılan araştırmada, farklı sucuk örneklerinden fakültatif anaerop, hareketsiz, gram (+), kısa çubuk şeklinde 31 suş izole edilmiş ve izolatlar *L. sakei, L. curvatus, L. alimentarius ve L. brevis* olarak tanımlamışlardır.

Özdemir ve Sırıken (1996), pastırmadan izole edilen toplam 94 *Lactobacillus* spp. den 40 'ı *L. sake*, 9 'u *L. carnis*, 8 'i *L. curvatus*, 8 'i *L. divergens*, 7 'si *L. alimentarius*, 6 'sı *L. casei* spp. *rhamnosus*, 6 'sı *L. confusus*, 5 'i *L. plantarum* ve 5 'i de *L. viridescens* olarak tanımlamışlardır.

Yaman ve ark. (1998) ise, piyasadan temin ettikleri sucuk örneklerinden izole ettikleri altı suşun bakteriosin benzeri metabolitler ürettiğini ve ayrıca model sistemde gerçekleştirdikleri testler sonucunda, dört suşun (1 suş *Lactobacillus plantarum*, 3 suş *Pediococcus pentosaceus*) sucuk ve benzeri fermente et ürünlerinde starter ve koruyucu kültür olarak kullanılabileceğini belirtmişlerdir.

Toksoy ve ark. (1999), Ankara piyasasında satılan 10 değişik marka sucuk ve sosis örneğinden *Lactobacillus* cinsine dahil toplam 97 adet bakteri izole edilmiştir. Identifikasyon sonuçları, bunların 39 adedinin (%41.1) *Lactobacillus plantarum* olduğunu göstermişlerdir.

Özdemir (1999), sucuk florasındaki baskın *Lactobacillus* türlerinin, sucukların organoleptik nitelikleri ile ilişkisini belirlemek amacıyla yürüttüğü araştırmada, izole edilen 252 suşun %82.1'ini *L. sakei*, %7.9'u *L. curvatus* ve %2.8'ini *L. plantarum* olarak tanımlamıştır.

Çon ve Gökalp (2000), 51 sucuk örneğinden 19 *Lactobacillus plantarum*, 4 *L. curvatus*, 4 *Pediococcus pentosaceus*, 3 *P. acidilactici*, 2 *L. pentosus*, 2 *L. sakei*, 1 *L. delbrueckii,* 1 *L. rhamnosus* ve 21 *Lactobacillus* spp. tanımlamışlardır.

Erdoğrul ve ark. (2002), Kahramanmaraş piyasasında satılan 7 adet değişik marka sucuk örneğinden *Pediococcus* cinsine ait toplam 34 bakteri izole etmişler ve bunlardan 4'ünün (%11,7) *Pediococcus pentosaceus* olduğunu belirlemişlerdir.

Phalakornkule ve Tanasupawat (2006), 12 Thaı geleneksel fermente sucuğundan izole edilen 65 laktik asit bakterisinin 5'ini *Weissella cibaria/kimchii* ,3'ünü *W. Confusa,,* 20'si *Pediococcus pentosaceu*, 2'si *P. acidilactici*, 3'ü *Lactobacillus fermentum,* 4'ünü *L. brevis),*4'ünü *L. farciminis* ,25'ini *L. plantarum* ve 1'i *L. sakei* olarak tanımlamışlardır.

Coşansu ve ark. (2007), 20 sucuk örneğinden 206 laktik asit bakteri suşu izole etmiştir. 25 izolatı *Pediococcus* spp. olarak tanımlamışlardır. Ayrıca, Bu izolatların antagonistik aktiviteleri ve protein profilleri belirlenmiştir.

Kaban ve ark.(2007), geleneksel yöntem ile üretim yapan işletmelerden temin ettikleri sucuk örneklerinden toplam 129 laktik asit bakterisi izole etmişler ve baskın türün *Lactobacillus plantarum* (%45.7) olduğu bunu *L. curvatus* (%10.9) ve *L. fermentum*'un (%9.3) izlediği belirlenmişlerdir.. *Pediococcus* izolatlarını ise *P. pentosaceus* (%4.7) ve *P. acidilactici* (%0.8) olarak tanımlamışlardır.

Adıgüzel ve Atasever (2009), 15 sucuk örneğinden fenotipini ve genetik özelliklerini belirlemek için izole ettikleri 45 laktik asit bakterisini *Lactobacillus plantarum ,Pediococcus pentosaceus, Lactococcus lactis ssp. lactis, L. curvatus* ssp. *curvatus, L. brevis, L. fermentum, Weisella viridescens, L. delbrueckii* ssp. *delbrueckii, W. confusa, L. collinoides* ve *Leuconostoc mesenteroides* ssp. *mesenteroides/ dextranicum* olarak tanımlamışlardır.

2.1.7. Laktik Asit Bakterilerinin Antibiyotik Dirençlilikleri Üzerine Yapılan Çalışmalar

Quednau ve ark. (1999), antibiyotik direncin plazmid transferi ile gerçekleştiğini ifade ederek, *Enterococcus faecium*'un türleri tavuklardaki dönor direnç genlerini alabildiğini bildirmişlerdir.

Eaton ve Gasson (2001), gıdalardan ve klinik materyallerden izole edilen *Enterococcus* türlerinin virülans faktörlerini araştırmışlardır. Yapılan çalışmada, *Enterococcus faecalis* suşlarının hepsinin virulans faktör taşıdığını, ancak medikal izolatların, gıdalarda starter olarak kullanılan izolatlara göre daha fazla virulans faktöre sahip olduğu tespit edilmiştir.

Barton ve Wilksin (2001), toplam 1286 kümes hayvanı örneğinden izole ettikleri *Enterococcus* cinsine ait bakterilerin antibiyotik dirençlerini test etmişlerdir. Araştırmada, 160 izolat vankomisine karşı duyarlı bulunurken, 109 izolat vankomisine dirençli, 92 izolat ise yüksek seviyede dirençli bulunmuştur. Diğer 17 izolat ise, düşük seviyede direnç göstermiştir. *Enterococcus faceum* ise en çok izole edilen tür olarak bulunmuştur.

Giraffa (2002), İsveç'te perakende satışa sunulan tavuklardan izole edilen *Enterococcus* türlerinin tetrasiklin, eritromisin ve vankomisin gibi antibiyotiklere karşı dirençli olduğunu belirlemişlerdir.

Lukasova ve Sustackova (2003), sucuk ve çiğ sütten izole ettikleri *Enterococcus* türlerinin, tetrasiklin, kloramfenikol, gentamisin, eritromisine karşı dirençli olduklarını belirlemişlerdir.

Hugas ve ark. (2003), *Enterococcus* türlerinin konjugasyonla genetik özelliklerini değiştirebilme kabiliyetinde olduklarını belirterek, salam ve çiğ et gibi et ürünlerinden izole edilen *Enterococcus* türlerinin antibiyotik direnç genlerini *Enterococcus faecalis* JH2-2'ye transfer ettiklerini bildirmişlerdir.

Temmerman ve ark. (2003), 55 probiyotik üründen izole ettikleri toplam 268 bakterinin tanımlanmaları ve 187 suşun antibiyotiklere karşı duyarlılıklarını araştırmışlardır. Bakteri suşlarının % 79'u kanamisine, % 65'inin vankomisine, %26'sının tetrasikline, %23'ünün penisilin G, % 16'sının eritromisine ve %11'inin ise kloramfenikol 'e karşı dirençlilik gösterdiğini belirlemişlerdir.

Aslım ve Bayatlı (2004), Türk yoğurtlarından izole edilen *S.thermophılus* soyları plazmid taşıyıcılığı ve bu türlerin antibiyotik dirençlilikleri ile ilgili yaptıkları çalışmada, *Str. thermophilus'*un çoğu türlerinin gentamisine (%79) penisilline G(%64) dirençli ve kloramfenikole (% 94) ve tetrasikline (%88) duyarlı olduğunu bulmuşlardır.

Herreros (2005), Armada peynirlerinden izole edilen 31 laktik asit bakterisinin antibiyotik dirençliliği ile ilgili yaptıkları araştırmada, izolatların büyük bir çoğunluğunun cefotaksin, oksasilin, vankomisin, teicoplanin, nitrofurantoin ve trimethoprim'e karşı dirençli olduklarını belirlemişlerdir.

Çıtak ve ark. (2004), yaptıkları araştırmada *E. faecalis, E. foecium, E. durans, E. mundtıs* ve *E. hırae* türlerine ait 101 izolatın, 13 farklı antibiyotiğe karşı dirençlerini Kirby- Bover disk testi ile saptamışlar ve izolatların çoğununun streptomisin, oksasilin, eritromisin ve vankomisine karşı yüksek direnç gösterdiklerini ve beyaz peynirden izole edilen suşların %89.1'inin streptomycine, %88.1'inin oksasiline, %93'ünün eritromisin ve %86.1'inin vankomisine dirençli olduklarını bulmuşlardır.

Moubareck ve ark. (2005), yaptıkları bir çalışmada insan, hayvan ve probiyotik ürünlerden izole edilen 50 *Bifidobacterium* türünün antibiyotik duyarlılıklarını incelenmişlerdir. Tüm *Bifidobacterium* türlerinin penisilinlere (penicilin G, amoksillin, piperasilin, ticarsillin, imipenem) ve gram (+) bakterilerde kullanılan antibiyotiklere (macrolides, klindamisin, pristinamisinin, vankomisin ve teikoplanin) karşı duyarlılık gösterdikleri, bakterilerin %70 gibi oranın da fusidik asite dirençlilik gösterdiklerini bildirilmişlerdir.

Delgado ve ark. (2005), insanların gastrointestinal sistemlerinden izole ettikleri 122 *Bifidobacterium* ve *Lactobacillus* türüne ait bakterilerin antibiyotik duyarlılıklarını incelemişlerdir. Sonuç olarak tüm türlerin kloramfenikol ve imipeneme duyarlı, metronidazole karşı dirençli olduğu bildirilmiştir. *Bifidobacterium* türleri cefoksitine duyarlı tetrasikline eritromisin ve klindamisine dirençli olduğu, *Lactobacillus* spp. 'un yarıdan fazla türünün cefoksitine dirençli olduğu, bazı türlerinin eritromisin, klindamisinede dirençli olduğu belirlemişlerdir.

Hummel ve ark. (2007), laktik asit bakterilerinin antibiyotik dirençliliği üzerine yaptıkları çalışmada, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Lactococcuc*, *Pediococcus* ve *Streptococcus* cinslerine ait 45 izolat üzerinde çalışmışlardır. Bu izolatlarının, 40'ının fermente gıdalarda starter kültür olarak kullanılan, 3'ü probiyotik 2' si ise ticari olarak kullanılan türlerden seçilmişledir. Sonuç olarak, suşların eritromisin, kloramfenikol, tetrasiklin ya da β-laktamaz dirençleri %7 gibi çok düşükken buna karşılık, aminoglikosid (gentamisin ve streptomisin) ve siprofloksasine %70 gibi yüksek direnç oluşturduğunu bildirmişlerdir.

Rosaria ve ark. (2007), yoğurttan izole ettikleri *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* cinslerine ait 21 türün antibiyotik dirençliliği üzerine bir araştırma yapmışlar ve çalışmada, 24 çeşit antibiyotik kullanmışlardır. Sonuç olarak, suşların ampisilin, basitrasin, klindamisin, dikloksasilin, eritromsin, novamisin, penisiliin G, rifampisin duyarlı aztreonam, kanamisin, nalidisiklik asite dirençli, cefalotin, kloramfenikol, gentamisin, linkomisin, metronidozole, neomisin, paromomisin, streptomisin, tetrasiklin ve vankomisin gibi antibiyotiklere karşı direnç gösterdiğini bulmuşlardır.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

Bu çalışmada, Adana ve çevresinde satışa sunulan markasız, kasaplarda el yapımı imal edilen sucuk ve pastırma olmak üzere toplam 50 geleneksel et ürünü materyal olarak kullanılmıştır. Örnekler aseptik koşullarda alınarak Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü Mikrobiyoloji Laboratuarına getirilmiştir. Örnekler mikroorganizmaların izolasyon işlemleri tamamlanıncaya kadar +4ºC'de buzdolabında muhafaza edilmiştir

3.1.1. Besiyerleri ve Kimyasallar

Araştırmada, örneklerde bulunan mikroorganizmaların, izolasyon, tanımlama ve antibiyotik dirençliliklerini belirlemek amacıyla kullanılan besiyerleri Çizelge 3.1'de kimyasallar, Çizelge 3.2'de verilmiştir

Geleneksel et ürünlerinden izole edilen bakterilerin antibiyotik dirençlerini belirlemek amacıyla dokuz farklı antibiyotik olarak eritromisin (15 µg), tetrasiklin (30 µg), vankomisin (30 µg), kloramfenikol (30µg), rifampin (5 µg) ampisilin (10 µg) nitrofrantoin (300 µg), siprofloksasin (5µg) ve gentamisin (10 µg) antibiyogram diskleri (Bioanalyse) kullanılmıştır.

Ayrıca antibiyotik hassasiyetlerinin bakılması aşamasında diskler MRS agar (Merck, Germany) ve Müller Hilton agar (Merck Germany) besiyerleri kullanılmıştır.

3.1.2. Referans suşlar

Araştırmada tanımlama ve antibiyotik direnç testleri için referans suş olarak *Enterococcus feacalis (*ATCC29212) ve *Staphylococcus aureus (*ATCC25923) kullanılmıştır.

Çizelge 3. 1 Araştırmada Kullanılan Besiyerleri ve Özellikleri

Besiyeri	Bakteri	İnkübasyon Koşulları
Kanamycin Aesculin Azide Agar(Merck)	*Enterococcus* İzolasyonu	37 ºC'de 24-48 Saat, aerob
MRS Agar (Merck)	*Lactobacillus* İzolasyonu	30 ^{o}C'de 48 saat, anaerob
MRS-NNLP Agar (Merck)	*Lactobacillus* İzolasyonu	30 ^{o}C'de 48 saat, anaerob
MRS-Sorbitol (Merck)	*Lactobacillus* İzolasyonu	30 ^{o}C'de 48 saat, anaerob
M17 Agar (Merck)	*Streptecoccus/Pediococcus* İzolasyonu	37 ºC'de 24 Saat, Aerob
Mueller Hinton Agar- (Merck)	Kültürlerin Antibiyogramı	37 ºC'de 48 Saat, anaerob

Çizelge 3. 2 Araştırmada Kullanılan Kimyasallar ve Kullanım Amacı

Kimyasallar	**Kullanım amacı**
Glukoz-Merck	Laktik asit bakterilerinin cins düzeyinde tanımlanması
NaCl-Merck + Pepton- Merck	Seyreltme sıvısı*
H_2O_2-Merck	Katalaz testi

*1 litre seyreltme sıvısı için1 litre distile su içerisine 8,5 gr NaCl ve 1 gr pepton ilave edilerek karıştırılıp, 121 ºC 'de 15 dakika otoklavda sterilize edilecektir.

3.2. Metot

3.2.1 Örneklerin Hazırlanması

Sucuk ve pastırma örnekleri, ürünlerden seçilerek aseptik koşullarda laboratuvara getirilerek aynı gün analize alınmıştır. Örneklerde Laktik asit bakterisinin varlığını belirlemek ve sayım için 90 ml seyreltme sıvısı (%0.85 NaCl, % 0.1 pepton) bulunan erlen içerisine 10'ar gram sucuk veya pastırma örnekleri tartılmış ve Ultraturax ile 5000 devirde 10 d homojenizesyon edilerek, 10 dakika bekletilmiştir.

Daha sonra hazırlanan örneklere 10^{-1} 'lik dilüsyonlarla gerekli seyreltmeler yapılmıştır.

3.2.2. Stok Kültür Hazırlama

Uygun koşullarda inkübe edildikten sonra besiyerlerinde üreyen farklı tüm koloniler öze yardımıyla alınıp 10 ml'lik MRS brothlara inoküle edilmiştir. Daha sonra tüm bakteri kültürleri 37 ^{o}C'de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda gelişen bakteri kültürleri 5000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek, süpernatant dökülmüştür. 5 ml'lik eppendorf tüpleri içerisine 1ml MRS broth, 1ml laktik asit bakteri kültürleri, 1 ml steril sıvı gliserin ilave edilmiş ve -18 ^{o}C'de stoklanmıştır.

3.2.3. Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyonu

Gerekli seyreltmeleri yapılan tüm örnekler, Çizelge 3.1'de belirtilen *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *L. acidophilus* ve *L. casei* bakterileri spesifik besiyerlerine yayma ekim yöntemiyle ekimleri yapılmıştır. Besiyerlerine ekilen bakteri kültürleri, MRS Agar, MRS-NNLP Agar, MRS-Sorbitol Agar 30 ^{o}C'de 48 saat anaerob ortamda, M17 Agar 37 ºC'de 24 Saat , Aerob ortamda inkübasyona bırakıldıktan sonra petride üreyen tüm şüpheli koloniler değerlendirilmiştir (Facklam ve ark., 2002).

3.2.3.1 *Enterococcus* spp.'nin İzolasyonu

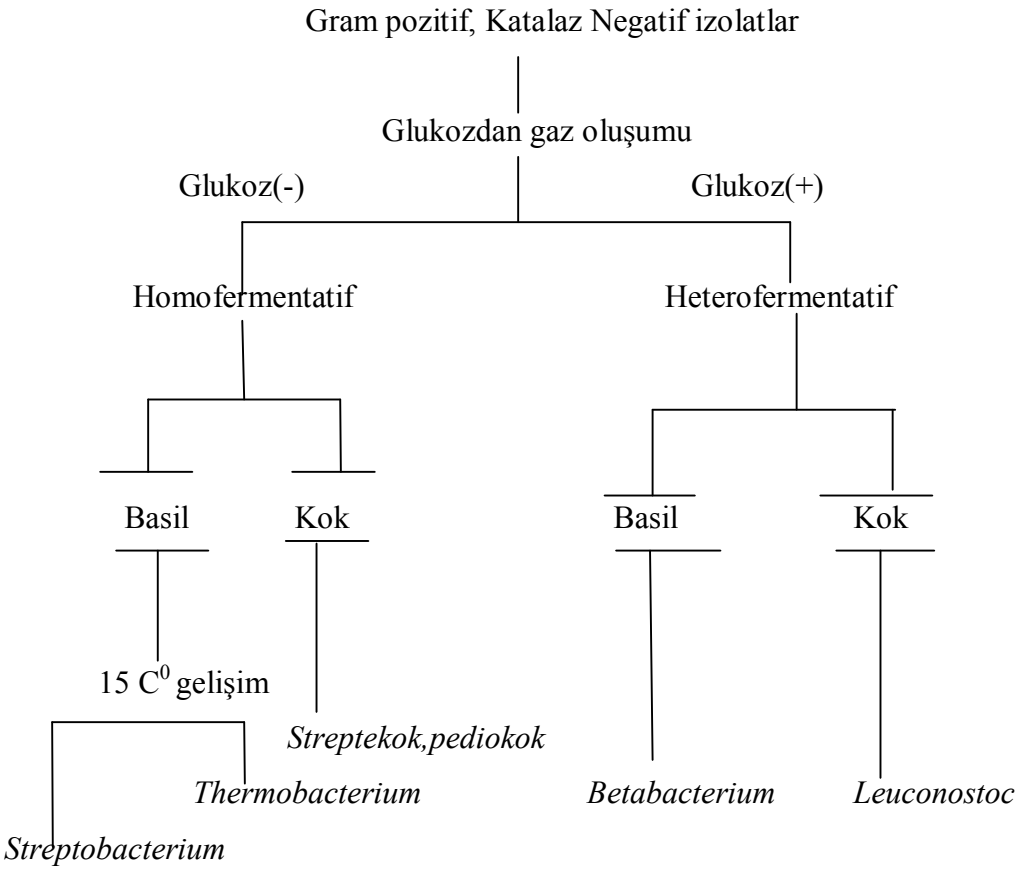
Analize hazırlanan örneklerden, Kanamycin Aesculin Azide Agar (KAA) besiyerine yayma kültürel ekim yöntemi kullanılarak ekimi yapılmıştır. KAA besiyeri ise 24-48 saat 37 ºC'de inkübe edildikten sonra, etrafında siyah halka oluşturan koloniler değerlendirilerek, saflaştırılmıştır (Klein, 2003).

3.2.4 Laktik Asit Bakterilerinin Tanımlaması

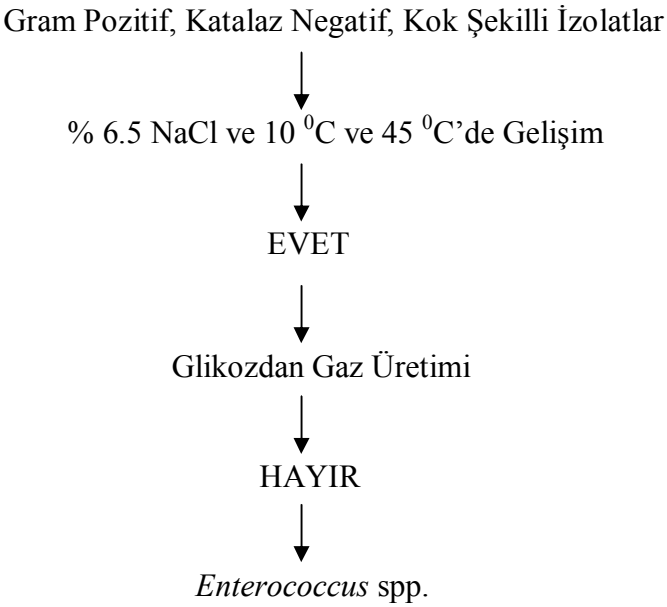
Laktik Asit Bakteri suşlarının tanımlanması için yapılan analizler ve işlem basamakları Şekil 3.1.'de özetlenmiştir. MRS Agar, MRS-NNLP Agar ve MRS-Sorbitol Agar *Lactobacillus* izolasyonu, M17 Agar *Streptecoccus/Pediococcus* izolasyonu için hazırlanan besiyerlerinden seçilen koloniler gram boyamaya tabi tutulmuş ve gram (+) koklar ve basiller belirlenerek, katalaz testi yapılmıştır. Katalaz (-) olan suşların daha sonra heterofermantatif veya homofermantatif olup olmadıklarının saptamak için glikozdan gaz üretme özellikleri belirlenmiştir (Facklam ve ark., 2002)

3.2.4.1. *Enterococcus* spp.'nin Tanımlanması

Enterococcus spp.'nin tanımlanması için yapılan analizler ve işlem basamakları Şekil 3.2.'de özetlenmiştir. KAA besiyerinden seçilen koloniler gram boyamaya tabi tutulmuş ve gram (+) koklar belirlenerek, katalaz testi yapılmıştır. Katalaz (-) olan suşların 10 ºC ve 45 ºC deki ve % 6.5 NaCl tuzda gelişimleri ile glikozdan gaz üretme gibi özellikleri belirlenmiştir (Klein, 2003).



Şekil 3.1. Laktik asit bakterilerinin Homo-Heterofermantatif özelliğine göre İsimlendirmesi (Facklam ve ark., 2002)



Şekil 3.2. *Enterococcus* spp'nin Tanımlanması (Klein, 2003).

3.2.5. Morfolojik ve Biyokimyasal Testler

3.2.5.1. Gram Boyama

Et ürünlerinden izole edilen bakterilerin gram reaksiyonunu belirlemek amacıyla gram boyama işlemi Temiz (2000)'e göre gerçekleştirilmiştir.

3.2.5.2. Katalaz Testi

MRS agar besiyerinde 24 saat 37 ^{o}C'de inkübe edilerek gelişimi sağlanan bakteri kolonileri üzerine %3'lük H_2O_2 damlatılarak gaz çıkışı olup olmadığı gözlenmiştir. Gaz çıkışının olması katalaz pozitif olarak değerlendirilmiştir (Temiz, 2000).

3.2.5.3. Tuz Toleranslarının Belirlenmesi

Enterokok olduğu düşünülen suşların tuz toleranslarını belirlemek amacıyla % 6,5 NaCl içeren Kanamycin Aesculin Azide Agar besiyeri kullanılmıştır. Kültürler 4000 devirde 15 d santrifüj edilerek, hücre süpernatantın hücreden ayrıması sağlanmıştır. Hücre, 1 ml saf su ile sulandırıldıktan sonra yukarıda belirtilen besiyerine ekim yapılmıştır. Kültürlerin 37 ºC'de 48 saat inkübasyondan sonra gelişimleri incelenmiştir (Facklam ve ark., 2002).

3.2.5.4. Sıcaklık Toleranslarının Belirlenmesi

Lactobacillus olduğu düşünülen ve spesifik besiyerinden izole edilen suşların, 15 ºC deki gelişimleri incelenmiştir (Facklam ve ark., 2002).

Enterokok olduğu düşünülen izolatların ise sıcaklık toleranslarının belirlenmesi için KAA besiyerine ekimleri yapılmıştır. 48 saat inkübasyondan sonra suşların 10 ºC ve 45 ºC'deki gelişimleri incelenmiştir (Facklam ve ark., 2002).

3.2.5.5. Glikozdan Gaz Üretimi

Laktik asit bakterilerinin heterofermentatif veya homofermentatif olup olmadıklarını belirlemek amacıyla glukozdan gaz üretimleri araştırılmıştır. Bu amaçla glikoz fosfat broth içeren tüplere durham tüpü konmuştur. Stok kültürdeki bakteri örneklerinden öze yardımıyla alınan örnekler 9 ml'lik MRS broth'lara inokulüm yapılarak 37 ^{o}C'de 24 saat inkübasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Daha sonra 5000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek, süpernatant döküldükten sonra tüpte kalan bakteri kültürlerinden 1 ml alınıp içerisinde durham tüpü bulunan glukoz fosfat broth içeren tüplere ilave edilmiştir. 37 ^{o}C'de 24 saat inkübe edilmiş ve durham tüpü içerisindeki gaz oluşumu Şekil 3.1 'e göre değerlendirilmiştir (Facklam ve ark., 2002).

3.2.6. Laktik Asit Bakterilerinin Antibiyotik Dirençliliklerinin Belirlenmesi

Elde edilen suşların antibiyotik dirençliliklerini belirlemek amacıyla, Kirby-Bauer disk difüzyon tekniği ile NCCLS doküman M2-A9 önerileri dikkate alınarak, Mueller Hinton Agarda (Merck) eritromisin, tetrasiklin, vankomisin, teikoplanin, kloramfenikol ve siprofloksasin antibiyogram diskleri kullanılmıştır. Suşlar, Nutrient agarda aktive edildikten sonra Mueller Hinton Agara yayma kültürel ekim yöntemiyle ekimleri yapılmış ve daha sonra da dispenser aracılığı ile antibiyotik diskleri yerleştirilmiştir. 24 saatlik 37 ºC' de inkübasyonu takiben antibiyotik diskleri etrafında oluşan inhibisyon zon çaplarının NCCLS doküman M2-A9 kriterlerine göre bakteri suşları; dirençli, orta derecede duyarlı ve duyarlı olarak değerlendirilmiştir. *Staphylococcus aureus (*ATCC25923) ve *Enterococcus feacalis (*ATCC29212) için NCCLS doküman M2-A9 zon çapı yorumlama standartları Çizelge 3.3. ve Çizelge 3.4.'de verilmiştir. Laktik asit bakterilerinin antibiyotik dirençliliklerinin belirlenmesinde Çizelge 3.3, Enterokoklar için ise Çizelge 3.4 kullanılmıştır.

Çizelge 3.3. *Staphylococcus aureus (*ATCC25923) İçin NCCLS Döküman M2-A9 Zon Çapı Yorumlama Standartları (Gür, 2007).

Antimikrobik İlaç	Disk İçeriği	Zon Çapı Yaklaşık mm		
		R	I	S
Eritromisin	15 µg	≤13	14-22	≥23
Tetrasiklin	30 µg	≤14	15-18	≥19
Rifampin	5 µg	≤16	17-19	≥20
Vankomisin	30 µg	-	-	≥15
Siprofloksasin	5 µg	≤15	16-20	≥21
Kloramfenikol	30 µg	≤12	13-17	≥18
Nitrofrantoin	300 µg	≤14	15-16	≥17
Ampisilin	10 µg	≤28	-	≥29
Gentamisin	10 µg	≤12	13-14	≥15

* R: dirençli , I: orta duyarlı, S: duyarlı

Çizelge 3.4. *Enterecoccus feacalis (*ATCC29212) İçin NCCLS Döküman M2-A9 Zon Çapı Yorumlama Standartları (Gür, 2007).

Antimikrobik İlaç	Disk İçeriği	Zon Çapı Yaklaşık mm		
		R	I	S
Eritromisin	15 µg	≤13	14-22	≥23
Tetrasiklin	30 µg	≤14	15-18	≥19
Rifampin	5 µg	≤16	17-19	≥20
Vankomisin	30 µg	-	-	≥15
Siprofloksasin	5 µg	≤15	16-20	≥21
Kloramfenikol	30 µg	≤12	13-17	≥18
Nitrofrantoin	300 µg	≤14	15-16	≥17
Ampisilin	10 µg	≤16	-	≥17
Gentamisin	10 µg	≤12	13-14	≥15

* R: dirençli , I: orta duyarlı, S: duyarlı

3.2.7. Çoklu Antibiyotik Direnci (MAR) İndeksi Hesaplaması

MAR indeksi tek izolatlarda *a/b* olarak analizlerde kullanılmıştır. 'a' burada izole edilen bakterinin dirençli olduğu antibiyotik sayısıdır. 'b' ise izolata uygulanan antibiyotik sayısı hesaplamıştır. MAR indeksine göre tanımlanan organizma 0,2 'den yüksek olması halinden antibiyotik kullanımından dolayı kontaminasyon riskinin yüksek olduğu sonucunu çıkarmakta tanımlanan türler MAR indeksi 0,2' den düşük ya da eşit ise antibyotikler nadir ya da hiçbir zaman kullanılmamalıdır (Krumperman, 1985).

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

Araştırmada 35 adet sucuk ve 15 adet pastırma olmak üzere toplam 50 adet örnekten toplam 40 adet laktik asit bakterisi izole edilmiştir. Cins bazında tanımlamaları gerçekleştirilen izolatlara Kirby Bauer' in disk difüzyon yöntemi uygulanarak eritromisin (15 µg), tetrasiklin (30 µg), vankomisin (30 µg), kloramfenikol (30µg), rifampin (5 µg), ampisilin (10 µg), nitrofrantoin (300 µg), siprofloksasin (5µg) ve gentamisin (10 µg) antibiyotiklerine karşı duyarlılığı belirlenmiştir.

4.1. Et Ürünlerinden İzole Edilen Laktik Asit Bakterileri

Geleneksel et ürünlerinden 40 laktik asit bakterisi izole edilmiştir. Bu suşların numaraları ve izole edildiği örnekler ve tanımlamaları Çizelge 4.3' de gösterilmiştir.

Çizelge 4.3. Laktik Asit Bakterileri ve İzole Edildiği Et Ürünleri

Suş No	Örnek No	Ürün	Cins
Lab10	23	Sucuk	*Pediococcus spp.*
Lab11	14	Pastırma	*Pediococcus spp.*
Lab12	13	Pastırma	*Pediococcus spp.*
Lab13	12	Sucuk	*Lactobacillus spp.*
Lab14	28	Sucuk	*Lactobacillus spp.*
Lab15	31	Sucuk	*Lactobacillus spp.*
Lab16	10	Sucuk	*Pediococcus spp.*
Lab17	39	Sucuk	*Lactobacillus spp.*
Lab18	42	Sucuk	*Pediococcus spp.*
Lab19	43	Sucuk	*Lactobacillus spp.*
Lab20	43	Sucuk	*Enterococcus spp.*
Lab21	40	Pastırma	*Lactobacillus spp.*
Lab22	44	Sucuk	*Pediococcus spp..*
Lab23	43	Sucuk	*Lactobacillus spp.*
Lab24	40	Pastırma	*Lactobacillus spp.*
Lab25	42	Sucuk	*Pediococcus spp..*
Lab26	39	Sucuk	*Pediococcus spp.*
Lab27	37	Sucuk	*Leuconostoc spp.*
Lab28	48	Pastırma	*Pediococcus spp..*
Lab29	46	Sucuk	*Enterococcus spp.*
Lab30	39	Sucuk	*Lactobacillus spp.*

Lab31	46	Sucuk	*Lactobacillus spp.*
Lab32	49	Sucuk	*Pediococcus spp..*
Lab33	48	Pastırma	*Lactobacillus spp.*
Lab34	49	Sucuk	*Enterococcus spp.*
Lab35	45	Sucuk	*Lactobacillus spp.*
Lab36	38	Pastırma	*Lactobacillus spp.*
Lab37	37	Sucuk	*Lactobacillus spp.*
Lab38	43	Sucuk	*Lactobacillus spp.*
Lab39	34	Pastırma	*Enterococcus spp.*
Lab40	19	Sucuk	*Leuconostoc spp.*
Lab41	1	Pastırma	*Pediococcus spp.*
Lab42	3	Sucuk	*Lactobacillus spp.*
Lab43	25	Pastırma	*Lactobacillus spp.*
Lab44	15	Sucuk	*Lactobacillus spp.*
Lab45	36	Sucuk	*Lactobacillus spp.*
Lab46	34	Pastırma	*Lactobacillus spp.*
Lab47	40	Pastırma	*Lactobacillus spp.*
Lab48	1	Sucuk	*Lactobacillus spp.*
Lab49	10	Sucuk	*Lactobacillus spp.*
Lab50	43	Sucuk	*Lactobacillus spp.*

4.1.1. Sucuk Örneklerinden İzole Edilen Laktik Asit Bakterileri

Sucuk örneklerinden elde edilen 29 izolattan 17'si *Lactobacillus* spp. , 7'si *Pediococcus* spp. ,2'si *Leuconostoc* spp., 3'ü *Enterococcus* spp. olarak belirlenmiş olup glikozdan gaz üretiminin negatif ya da pozitif olması, koloni morfolojisinin kok ya da basil olması ve hücre morfolojisi gibi özellikleri Çizelge 4.1.'de verilmiştir. Resim 4.1' de LAB31 no'lu izolatın koloni görünüşü verilmiştir.

Çizelge 4.1. Sucuk Örneklerinden Elde Edilen Laktik Asit Bakterisi İzolatlarının Özellikleri

İzolat No	Örnek No	Koloni Morfolojisi	Hücre Morfolojisi	Glikozdan Gaz Üretimi
Lab10	23	Mat yayvan	Kok	Negatif
Lab13	12	Beyaz büyük	Basil	Negatif
Lab14	28	Mat büyük	Basil	Pozitif
Lab15	31	Beyaz büyük	Basil	Negatif
Lab16	10	Beyaz büyük	Kok	Negatif
Lab17	39	Mat küçük	Basil	Negatif
Lab18	42	Krem büyük	Kok	Negatif

Lab19	43	Beyaz büyük	Basil	Pozitif
Lab20	43	Siyah	Kok	Pozitif
Lab22	44	Mat küçük	Kok	Negatif
Lab23	43	Krem büyük	Basil	Negatif
Lab25	42	Şeffaf küçük	Kok	Negatif
Lab26	39	Beyaz büyük	Kok	Negatif
Lab27	37	Mat küçük	Kok	Pozitif
Lab29	46	Siyah	Kok	Pozitif
Lab30	39	Beyaz küçük	Basil	Pozitif
Lab31	46	Krem küçük	Basil	Negatif
Lab32	49	Beyaz büyük	Kok	Negatif
Lab34	49	Siyah	Kok	Pozitif
Lab35	45	Beyaz büyük	Basil	Negatif
Lab37	37	Beyaz küçük	Basil	Negatif
Lab38	43	Beyaz büyük	Basil	Pozitif
Lab40	19	Beyaz küçük	Basil	Pozitif
Lab42	34	Beyaz büyük	Kok	Pozitif
Lab44	15	Beyaz büyük	Basil	Negatif
Lab45	36	Beyaz büyük	Kok	Pozitif
Lab48	1	Krem büyük	Basil	Pozitif
Lab49	10	Beyaz küçük	Basil	Negatif
Lab50	43	Beyaz küçük	Basil	Negatif

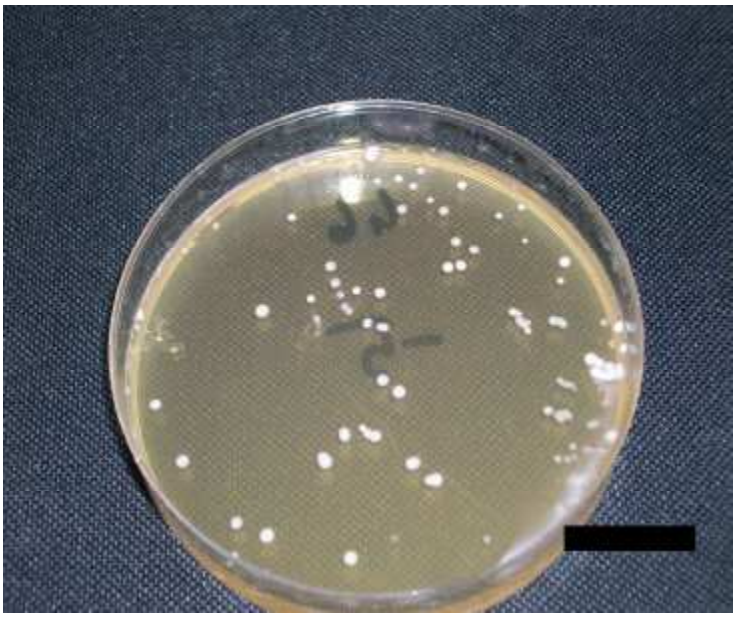
Yapılan bu çalışmanın sonucunda geleneksel et ürünlerinden sucukta 35 örnekten 29 laktik asit bakterisinin 17'si *Lactobacillus* spp. , 7'si *Pediococcus* spp., 2'si *Leuconostoc* spp., 3'ü *Enterococcus* spp. olarak bulunmuştur.

Benzer bir çalışma Toksoy ve ark., (1999) tarafından Ankara piyasasında satılan 10 değişik marka sucuk ve sosis örneğinden *Lactobacillus* cinsine dahil toplam 97 adet bakteri izole edilmiştir. Tanımlama sonuçları, bunların 39 adedinin (%41.1) *Lactobacillus plantarum* olduğunu göstermişlerdir. Yapmış olduğumuz çalışmada sucuk örneğinden elde ettiğimiz sonuçlar Toksoy ve ark. 1999'nın yaptıkları çalışmaya göre izole edilen *Lactobacillus* spp. yoğunluğu paralellik göstermektedir.

Çon ve Gökalp (2000) tarafından gerçekleştirilmiş ve 51 sucuk örneğinden 19 *Lactobacillus plantarum*, 4 *L. curvatus*, 4 *Pediococcus pentosaceus*, 3 *P. acidilactici*, 2 *L. pentosus*, 2 *L. sakei*, 1 *L. delbrueckii*, 1 *L. rhamnosus* ve 21 *Lactobacillus* spp. izole etmişlerdir. Yapmış olduğumuz çalışmada sucuk örneğinden elde ettiğimiz

sonuçlar Çon ve Gökalp 2000'de yaptıkları çalışmaya göre izole edilen *Lactobacillus* spp. ve *Pediococcus* spp. yoğunluğu paralellik göstermektedir.

Kaban (2007) tarafından yürütülen araştırmada geleneksel yöntem ile üretim yapan işletmelerden temin edilen sucuk örneklerinden toplam 129 laktik asit bakterisi izolasyon ve tanımlaması yapılmıştır. Sucuk örneklerinde baskın türün *Lactobacillus plantarum* (%45.7) olduğu bunu *L. curvatus* (%10.9) ve *L. fermentum'*un (%9.3) izlediği belirlenmiştir. *Pediococcus* izolatları ise *P. pentosaceus* (%4.7) ve *P. acidilactici* (%0.8) olarak tanımlanmıştır. Yapmış olduğumuz çalışmada sucuk örneğinden elde ettiğimiz sonuçlar Kaban 2007'de yaptıkları çalışmaya göre izole edilen *Lactobacillus* spp. ve *Pediococcus* spp. yoğunluğu paralellik göstermektedir.



Resim 4.1. LAB31 No'lu İzolatın Koloni Görünüşü

4.1.2. Pastırma Örneklerinden İzole edilen Laktik Asit Bakterileri

Pastırma örneklerinden elde edilen toplam 12 izolattan 8 *Lactobacillus* spp., 3 *Pediococcus* spp., 1 *Enterococcus* spp. olarak belirlenmiş olup glikozdan gaz üretiminin negatif ya da pozitif olması, koloni morfolojisinin kok ya da basil olması

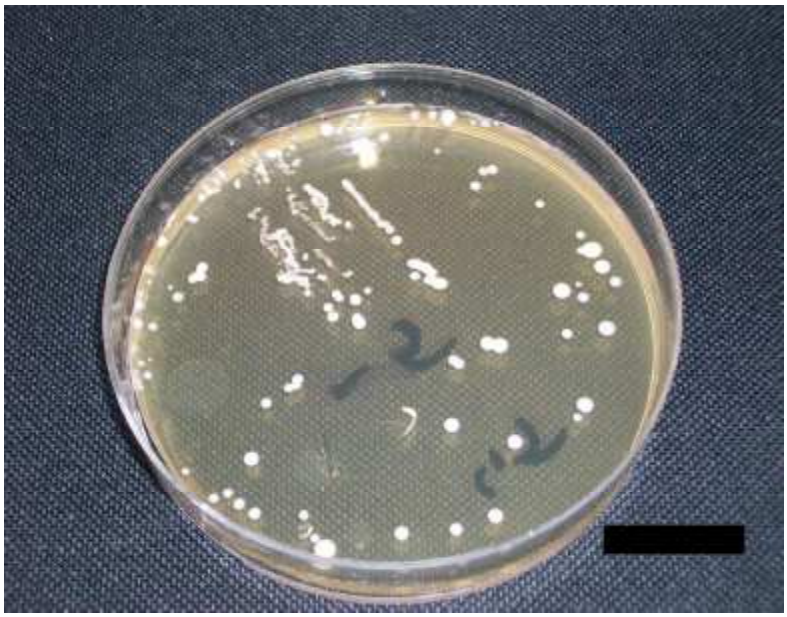
ve hücre morfolojisi gibi özellikleri Çizelge 4.2' de verilmiştir. Resim 4.2' de LAB24 no'lu izolatın koloni görünüşü verilmiştir.

Çizelge 4.2. Pastırma Örneklerinden Elde Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Özellikleri

İzolat No	Örnek No	Koloni morfolojisi	Hücre Morfolojisi	Glikozdan Gaz Üretimi
Lab11	14	Mat yayvan	Kok	Pozitif
Lab12	13	Şeffaf küçük	Kok	Pozitif
Lab21	40	Beyaz büyük	Basil	Negatif
Lab24	40	Beyaz büyük	Basil	Negatif
Lab28	48	Beyaz büyük	Kok	Negatif
Lab33	48	Krem küçük	Basil	Negatif
Lab36	38	Beyaz küçük	Basil	Negatif
Lab39	34	Siyah	Kok	Negatif
Lab41	1	Beyaz küçük	Kok	Pozitif
Lab43	25	Beyaz büyük	Basil	Negatif
Lab46	34	Beyaz büyük	Basil	Negatif
Lab47	40	Beyaz büyük	Basil	Pozitif

Yapılan bu çalışmanın sonucunda geleneksel et ürünlerinden 15 pastırma örneği 12 laktik asit bakterisinin 8'i Lactobacillus spp., 3'ü Pediococccus spp., 1'i Enteococcus spp. olarak bulunmuştur.

Benzer bir çalışma Özdemir ve Sırıken, (1996) tarafından 25 pastırma örneginden izole edilen *Laktobasillerden; 40 'ı L. sake,* 9 'u *L. carnis,* 8 'i *L. curvatus,* 8 'i *L.divergens,* 7 'si *L. alimentarius,* 6 'sı *L. casei spp. rhamnosus,* 6 'sı (% 6.3) *L. conjusus,* 5 'i *L. plantarum ve* 5 'i *L. viridescens* olarak bildirilmiştir. Yapmış olduğumuz çalışmada pastırma örneğinden elde ettiğimiz sonuçlar Özdemir ve Sırıken 1996'da yaptıkları çalışmaya göre izole edilen *Lactobacillus* spp. yoğunluğu paralellik göstermektedir.



Resim 4.2. LAB24 No'lu İzolatın Koloni Görünüşü

4.2. Laktik Asit Bakteri İzolatlarının Antibiyotik Dirençlilikleri

Bakteri suşları, eritromisin (15 µg), tetrasiklin (30 µg), vankomisin (30 µg), kloramfenikol(30µg), rifampin (5 µg), ampisilin (10 µg), nitrofrantoin (300 µg), siprofloksasin (5µg) ve gentamisin (10 µg) direncini tespit etmek amacıyla Kirby Bauer disk difüzyon tekniğiile NCCLS doküman M2 A9 önerileri dikkate alınarak Mueller Hinton Agar- (Merck) besiyerine sürme ekim yapılmıştır.

4.2.1. Sucuktan İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Antibiyotik Dirençlilikleri

Sucuktan izole edilen laktik asit bakterilerinin tamamı vankomisin ve siprofloksasine, % 27,52'si nitrofrantoine % 13,76'sı gentamisine, % 6,88'si rifampine % 3,44'ü tetrasikline dirençli saptanırken, eritromisin, kloramfenikol, ampisiline, duyarlı bulunmuştur. Çizelge 4.4'de antibiyotik dirençlilikleri gösterilmektedir.

Sucuktan izole edilen *Enterococcus* spp.(LAB20,229 ve 34) suşları ise vankomisin, nitrofurontein, siprofloksasin, rifampine karşı dirençli, eritromisin, tetrasiklin, kloramfenikol, ampisilin ve gentamisine ise duyarlı bulunmuştur.

Benzer bir çalışma Temmerman ve ark. (2003) tarafından toplam 55 probiyotik üründen izole ettikleri toplam 268 bakterinin tanımlaması ve antibiyotik hassasiyeti çalışması yapılmıştır. Bu izole edilen ve tanımlanan 268 bakteriden 187 tanesinin antibiyotik duyarlılıkları incelenmiş ve bu bakterilerin % 79'unun kanamisin, % 65'inin vankomisin, %26'sının tetrasiklin, %23'ünün penisilin G, % 16'sının eritromisin ve kloramfenikole karşı dirençlilik gösterdiği tespit etmişlerdir.

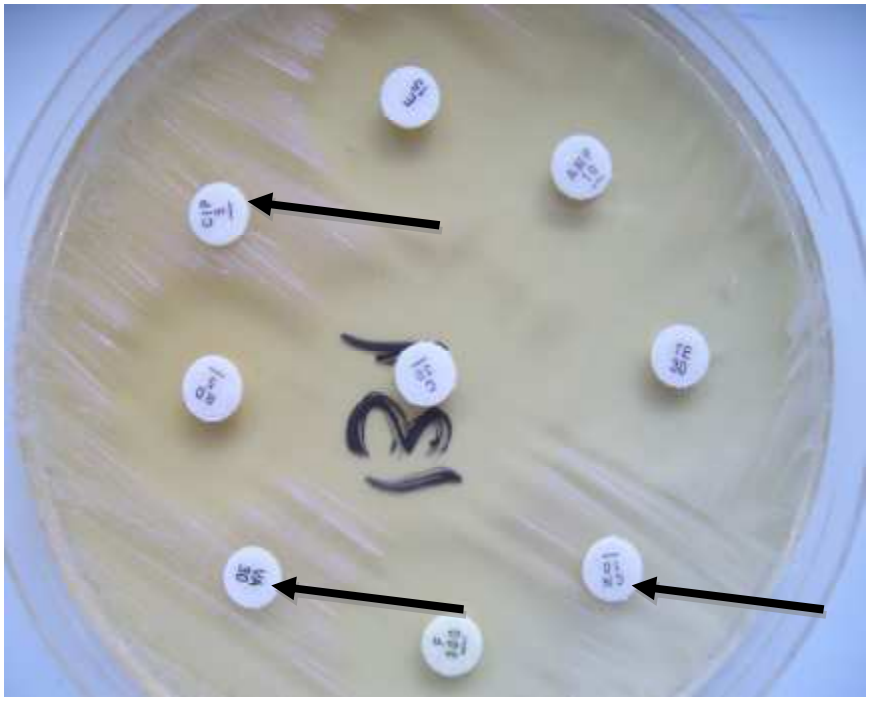
Çizelge 4.4. Sucuk Örneklerinden İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Antibiyotik Dirençlilikleri*

Sıra No	Suş No	Va 30 µg	C 30 µg	RA 5 µg	Te 30 µg	E 15 µg	F/M 300 µg	AM 10 µg	GN 10 µg	CİP 5 µg
1	Lab10	R	S	S	S	S	S	S	S	R
2	Lab13	R	S	S	S	S	S	S	S	R
3	Lab14	R	S	S	I	S	S	S	S	R
4	Lab15	R	S	S	S	S	S	S	S	R
5	Lab16	R	S	S	S	S	I	S	S	R
6	Lab17	R	S	S	I	S	S	S	S	R
7	Lab18	R	S	S	S	S	S	S	S	R
8	Lab19	R	S	S	S	S	S	S	S	R
9	Lab20	R	S	S	S	S	R	S	S	R
10	Lab22	R	S	S	I	I	R	S	S	R
11	Lab23	R	S	S	S	S	S	S	S	R
12	Lab25	R	S	S	S	S	R	S	S	R
13	Lab26	R	S	S	S	S	R	S	S	R
14	Lab27	R	S	S	I	S	S	S	I	R
15	Lab29	R	S	S	S	S	R	S	S	R
16	Lab30	R	S	S	S	S	R	S	S	R
17	Lab31	R	S	S	R	S	S	S	S	R
18	Lab32	R	S	S	S	S	R	S	S	R
19	Lab34	R	S	R	I	S	R	I	I	R
20	Lab35	R	S	R	I	S	S	S	I	R
21	Lab37	R	S	S	I	S	S	S	I	R
22	Lab38	R	S	S	S	S	S	S	R	R
23	Lab40	R	S	S	S	S	S	S	I	R
24	Lab42	R	S	S	I	S	S	S	R	R

25	Lab44	R	S	S	I	S	S	S	R	R
26	Lab45	R	S	S	I	S	S	S	I	R
27	Lab48	R	S	S	I	S	S	S	I	R
28	Lab49	R	S	S	S	S	S	S	R	R
29	Lab50	R	S	S	S	S	S	S	I	R

* R: dirençli , I: orta duyarlı, S: duyarlı

Genel olarak, *Lactobacillus*'un çoğu türü glikopeptidlere (vankomisin ve teikoplanin) yüksek derecede dirençlilik göstermekte ve çoğu türü ise basitrasine karşı duyarlıdırlar (Katla ve ark. 2001, Copla ve ark. 2005). Araştırmamızda 50 adet sucuk ve pastırma örneğinden izole edilen 25 *Lactobacillus* spp. suşları vankomisine yüksek dirençli bulunmuştur.



Resim 4.3. LAB26 No'lu Suşun Vankomisin, Siprofloksasin, Gentamisin Dirençliliği

Çizelge 4.5. Sucuktan İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin MAR İndeksi

	Lactobacillus spp			*Pediococcus spp*			*Leuconostoc spp*			*Enterococcus spp*		
Şuş No	1A	2A	3A	1A	2A	3A	1A	2A	3A	1A	2A	3A
LAB10	----	----	----	0,22	0,22	0,22	----	----	----	----	----	----
LAB13	0,22	0,22	0,22	----	----	----	----	----	----	----	----	----
LAB14	0,22	0,22	0,22	----	----	----	----	----	----	----	----	----
LAB15	0,22	0,22	0,22	----	----	----	----	---	----	----	----	----
LAB16	----	----	----	0,22	0,33	0,33	----	----	----	----	----	----
LAB17	0,22	0,22	0,22	----	----	----	----	----	----	----	----	----
LAB18	----	----	----	0,22	0,22	0,22	----	----	----	----	----	----
LAB19	0,22	0,22	0,22	----	----	----	----	----	----	----	----	----
LAB20	----	----	----	----	----	----	----	----	----	0,22	0,33	0,33
LAB22	----	----	----	0,22	0,33	0,33	----	----	----	----	----	----
LAB23	0,22	0,22	0,22	----	----	----	----	----	----	----	----	----
LAB25	----	----	----	0,22	0,33	0,33	----	----	----	----	----	----
LAB26	----	----	----	0,22	0,33	0,33	----	----	----	----	----	----
LAB27	----	----	----	----	----	----	0,33	0,33	0,33	----	----	----
LAB29	----	----	----	----	----	----	----	----	----	0,22	0,33	0,33
LAB30	0,22	0,33	0,33	----	----	----	----	----	----	----	----	----
LAB31	0,22	0,22	0,22	----	----	----	----	----	----	----	----	----
LAB32	----	----	----	0,22	0,33	0,33	----	----	----	----	----	----
LAB34	----	----	----	----	----	----	----	----	----	0,22	0,44	0,55
LAB35	0,33	0,33	0,44	----	----	----	----	----	----	----	----	----
LAB37	0,33	0,33	0,33	----	----	----	----	----	----	----	----	----
LAB38	0,33	0,33	0,33	----	----	----	----	----	----	----	----	----
LAB40	----	----	----	----	----	----	0,33	0,33	0,33	----	----	----
LAB41	0,33	0,33	0,33	----	----	----	----	----	----	----	----	----
LAB43	0,33	0,33	0,33	----	----	----	----	----	----	----	----	----
LAB45	0,33	0,33	0,33	----	----	----	----	----	----	----	----	----
LAB46	0,33	0,33	0,33	----	----	----	----	----	----	----	----	----
LAB49	0,33	0,33	0,33	----	----	----	----	----	----	----	----	----
LAB50	0,33	0,33	0,33	----	----	----	----	----	----	----	----	----

*1A: Vankomisin- Siprofloksasin- Gentamisin
2A: Vankomisin- Siprofloksasin- Gentamisin- Nitrofrantoin
3A: Vankomisin- Siprofloksasin- Gentamisin- Nitrofrantoin- Rifampin

Sucuktan izole edilen laktik asit bakterilerin Multiple Antibiotic Resistance Index (MARI) değerleri *Lactobacillus* spp. 1A ve 2A gruplarına ait MARI değerleri 0,22-0,33 arasında, 3A gruplarına ait MARI değerleri 0,22-0,44 arasında, *Pediococcus* spp. 1A, 2A ve 3A grubuna ait MARI değerleri 0,22-0,33 arasında, *Leuconostoc* spp. 1A, 2A ve 3A grubuna ait MARI değerleri 0,33 olarak,

Enterococcus spp. 1A ait MARİ değeri 0,22 2A ait MARİ değeri 0,33-0,44 arasında, 3A ait MARİ değeri 0,33-0,55 olarak bulunmuştur. Çizelge 4.5' de verilmiştir.

4.2.2. Pastırmadan İzole Edilen Laktik Asit Bakterileri Antibiyotik Dirençlilikleri

Pastırmadan izole edilen laktik asit bakterileri % 100 vankomisin, siprofloksasin, % 36 gentamisin, %18 rifampin %9 tetrasiklin, nitrofrantoine karşı dirençli eritromisin, kloramfenikol, ampisiline karşı ise duyarlı bulunmuştur. Bakterilerin antibiyotik dirençlilikleri Çizelge 4.5 'de gösterilmektedir.

Pastırmadan izole edilen *Enterococcus* spp. izolatının (LAB39) vankomisin, gentamisin siprofloksasine karşı direnci saptanmıştır. Elde edilen izolatın eritromisin, nitrofrantoin, tetrasiklin, kloramfenikol, ampisilin ve rifampin direncine rastlanmamıştır.

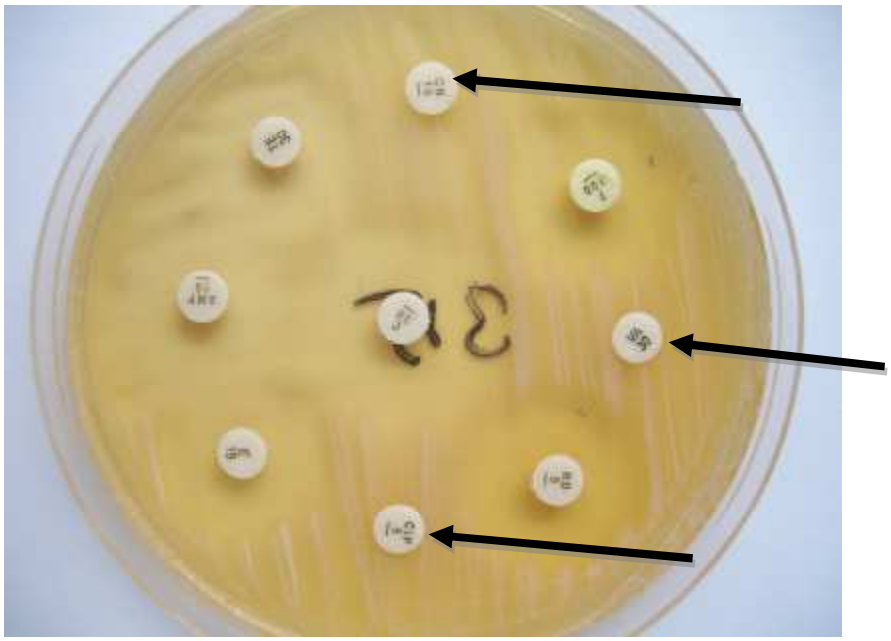
Çizelge 4.6. Pastırma Örneklerinden İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Antibiyotik Dirençlilikleri*

Sıra No	Suş No	Va 30 µg	C 30 µg	RA 5 µg	Te 30 µg	E 15 µg	F/M 300 µg	AM 10 µg	GN 10 µg	CİP 5 µg
1	Lab11	R	S	S	I	S	R	I	S	R
2	Lab12	R	S	S	S	S	I	I	S	R
3	Lab21	R	S	R	I	S	I	S	I	R
4	Lab24	R	S	I	I	S	S	S	S	R
5	Lab28	R	S	S	S	S	I	S	S	R
6	Lab33	R	S	S	I	S	S	S	S	R
7	Lab36	R	S	S	S	S	S	S	S	R
8	Lab39	R	S	S	I	S	S	S	S	R
9	Lab41	R	S	S	R	S	S	S	R	R
10	Lab43	R	S	R	I	I	S	S	R	R
11	Lab46	R	S	S	I	S	S	S	R	R
12	Lab47	R	S	S	I	S	S	S	R	R

* R: dirençli , I: orta duyarlı, S: duyarlı

Benzer bir çalışma Hummel ve ark. (2007) tarafından 45 LAB antibiyotik dirençliliği üzerine yapmış ve sonuç olarak eritromisin, kloramfenikol, tetrasiklin ya da β-laktam dirençleri %7 gibi çok düşük buna karşılık aminglikosid (gentamisin ve

streptomisin) ve siprofloksasin dirençleri %70'den daha fazla dirençli olduklarını bildirmişlerdir.



Resim 4.4. LAB36 No'lu Şusun Vankomisin, Siprofloksasin, Gentamisin Dirençliliği

Yapmış olduğumuz çalışmada elde ettiğimiz sonuçlar Temmerman ve ark. 2003 yılında yapmış olduğu çalışmaya göre vankomisin dirençliliği benzerlik gösterirken eritromisin ve kloramfenikolün dirençliliğinde farklılık ortaya çıkmıştır.

Hummel ve ark.'nın 2007 yılında yapmış olduğu çalışmada izole ettiği Laktik asit bakteri suşlarında elde etmiş olduğu sonuçlarda siprofloksasin ve tetrasiklin dirençliliği bizim çalışmamızla benzerlik gösterirken, gentamisin, eritromisin ve kloramfenikol dirençliliğinde farklılık gözlenmiştir.

Çizelge 4.7. Pastırma İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin MAR İndeksi

	Lactobacillus spp.			*Pediococcus spp*			*Enterococcus spp*		
Şuş No	1A	2A	3A	1A	2A	3A	1A	2A	3A
LAB11	-------	-------	-------	0,22	0,33	0,33	-------	-------	-------
LAB12	-------	-------	-------	0,22	0,33	0,33	-------	-------	-------
LAB21	0,33	0,44	0,55	-------	-------	-------	-------	------	-------
LAB24	0,22	0,22	0,33	------	------	------	------	------	-------
LAB28	------	-------	-------	0,22	0,33	0,33	-------	-------	-------
LAB33	0,22	0,22	0,22	-------	-------	------	------	------	-------
LAB36	0,22	0,22	0,22	------	-------	-------	-------	-------	------
LAB39	-------	-------	------	-------	-------	------	0,22	0,22	0,22
LAB41	-------	------	------	0,33	0,33	0,33	------	------	-------
LAB43	0,33	0,33	0,44	-------	------	-------	------	-------	------
LAB46	0,33	0,33	0,33	------	------	-------	------	------	------
LAB47	0,33	0,33	0,33	-------	-------	-------	-------	-------	-------

*1A: Vankomisin- Siprofloksasin- Gentamisin
2A: Vankomisin- Siprofloksasin- Gentamisin- Nitrofrantoin
3A: Vankomisin- Siprofloksasin- Gentamisin- Nitrofrantoin- Rifampin

Pastırmadan izole edilen laktik asit bakterilerin MARI değerleri *Lactobacillus* spp. 1A gruplarına ait MARI değerleri 0,22-0,33 arasında, 2A gruplarına ait 0,22 ile 0,44 arasında 3A gruplarına ait MARI değerleri 0,22 ile 0,55 arasında, *Pediococcus* spp. 1A gruplarına ait 0,22-0,33 arasında, 2A ve 3A grubuna ait MARI değerleri 0,33, *Enterococcus* spp. 1A,2A ve 3A ait MARİ değeri 0,22 olarak bulunmuştur. Çizelge 4.7 'de verilmiştir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Analize alınan 35 farklı sucuk örneğinden izole edilen 29 laktik asit bakterilerine ait suşların, % 100 vankomisin, siprofloksasin, % 27,52 nitrofrantoin, % 13,76 gentamisin, % 6,88 rifampin, % 3,44 tetrasikline karşı dirençli olduğu saptanmıştır. Eritromisin, kloramfenikol, ampisilin, direncine rastlanmamıştır. Analize alınan 15 farklı pastırma örneğinden izole edilen 12 suşun ise, % 100 vankomisin, siprofloksasin, % 36 gentamisin, % 18 rifampin, % 9 tetrasiklin, nitrofrantoin dirençli eritromisin, kloramfenikol, ampisiline duyarlı bulunmuştur.

Yapmış olduğumuz bu çalışmada sucuk örneklerinden izlole edilen laktik asit bakterilerine ait suşların en yüksek dirençliliği vankomisin ve siprofloksasin (%100)'e karşı bulunurken en yüksek duyarlılığın eritromisin, kloramfenikol, ampisiline (%100) karşı bulunmuştur. MAR indeksleri 0,2-0,5 arasında çıkmıştır. Pastırma örneklerinden izole edilen laktik asit bakterilerine ait suşların en yüksek dirençliliği vankomisin ve siprofloksasine (%100) en yüksek duyarlılığı ise eritromisin, kloramfenikol, ampisiline (%100) karşı olduğu bulunmuştur. MAR indeksleri 0,2-0,6 arasında çıkmıştır.

Laktik asit bakterileri doğada çok yaygın bir şekilde bulunurlar. Fermente gıdalarda koruyucu kültür, starter kültür veya probiyotik kültür olarak kullanılmaktadır. Gıdalardan starter kültür olarak kullanılacak laktik asit bakterilerine ait türlerin antibiyotik dirençliliği ve virulans özellikleri açısından güvenilirliliği test edilmelidir. Bu bakterilerin starter kültür ve/veya probiyotik kültür olarak, gıda zincirine girecek suşların seçilmesinde daha dikkatli olmayı gerektirmektedir. Gıdalarda starter ve probiyotik olarak kullanılacak *Enterococcus* türlerinin, glikopeptidlere ve diğer antibiyotiklere direnci ve hemoliz oluşturmalarının yanı sıra diğer virulans özellikleri de taşıyıp taşımadıkları araştırılmalıdır.

Günümüzde tüm dünyada bir yandan hızla yeni ilaçlar geliştirilmekte, buna karşın, süratle direnç kazanan mikroorganizmaların neden olduğu enfeksiyonlar artmaktadır. Son yıllarda, antibiyotik kullanımına ve bu antibiyotiklerin doğaya salınımına bağlı bakteri direncinin artış göstermesi önemli bir problemdir. İnsan ve

hayvanlarda direnç genleri ve bakteri dirençlerinin yayılımı ve ortaya çıkmasında gıda zinzirinin de öncülük ettiği birçok çalışmalarla kanıtlanmaktadır.

Sonuç olarak ülkemizde gıda zincirinde önemli bir yeri olan sucuk ve pastırmaya antibiyotik direncinden önce mikroflora açısından baktığımızda marka yani belirli standartlarda üretilen sucuklar flora açısından üretim sonunda bir flora yoktur. Markasız sucuklarda belirli bir standart olmadığı için dışarıdan kontamine olma riski çok yüksektir. İnsan ve hayvan populasyonu arasındaki antibiyotik dirençliliğinin bakterilerinin taşınmasının bir aracı olduğunu ve gıda kaynaklı bakterilerin antibiyotik direnç genlerinin kaynaklardan biri olduğu kuşkusunu yaptığımız çalışma sonuçları ve diğer benzer çalışmalar desteklemektedir. Bu yüzden antibiyotiklerin kullanımı ve seçilimi konusunda çeşitli tedbirler alınmalı ve fermente gıdalar için kullanılan ve probiyotik laktik asit bakterilerinin gıdalarda kullanımına izin verilmeden önce antibiyotik direnç riskine karşı sürekli olarak denetlenmelidir.

KAYNAKLAR

ADIGUZEL, C. G., ATASEVER, M, 2009. Phenotypic and Genotypic Characterization of lactic acid bacteria isolated from Turkish dry fermented Sausage. Romania Biotechnologinal Letter, 14 (1): 4130-4138.

AMMOR, M. S., FLOREZ, A. B., MAYO, B., 2007. Antibiotic resistance in non-enterococcal lactic acid bacteria and bifidobacteria. Food Microbiology, 24: 559-570.

ANONYMOUS, 2004b. Gıdalarda Bulunan Mikroorganizmalar ve Bulaşma Kaynakları. http:/www.mikrobiyoloji.org/

ANIL, N., 1988. Türk Pastırması Modern Yapım Tekniğinin Geliştirilmesi ve Vakumla Paketlenerek Saklanması. Selçuk Üniv. Vet. Fak. Dergisi, 4(1): 363-375.

ANDERSSON, R., 1989. Food Processing, Lactic Acid Bacteria in the Production of Food SIK-Publication. Food Laboratory Newsletter, 14: 17.

ARSLAN, A., ÇELİK, C., GÖNÜLALAN, Z., ATEŞ, G., KÖK. F., KAYA. A., 1997. Vakumlu ve Vakumsuz Aynalı Sazan (Cyprinus carpio L.) Pastırmalarının Mikrobiyolojik ve Kimyasal Kalitesinin İncelenmesi. Türk Veterinerlik ve Hayvancılık Derg., 21(1): 23-29.

ASKAR, A., EL-SAMAHY, S.K., SHEHATA, H.A.,TAWFIK, M., 1993. Pastirma and Beef Boullion The Effect of Substituting KCl and K-lactate For Sodium Chloride. Fleischwirtschaft, 73(3):289-292.

ASLIM, B., BEYATLI, Y., 2004. Antibiotic resistance and Plasmid DNA contents of Streptococcus thermophilus Strains Isolated From Turkish Yogurts. Turk. J. Vet. Anim. Sci., 28: 257–263.

BARTON,M.D.,WILKINS, J., 2001. Antibiotic Resistance in Bacteria Isolated From Poultry. RIRDC publication, 01:105.

BERZEG, D., 2005. Çeşitli Klinik Materyallerden İzole Edilen Enterokok Suşlarında Antibiyotik Direnci, Yüksek Düzey Aminoglikozid Direnci ve E Test İle Vankomisin Mik Değerlerinin Değerlendirilmesi. T.C. Sağlık Bakanlığı Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği Uzmanlık Tezi. 96s.

COPPOLA, R., SUCCI, M., TREMONTE, P., REALE, A., SALZANO, G., SORRENTİNO, E., 2005. Antibiotic susceptibility of Lactobacillus rhamnosus Strains Isolated From Parmigiano Reggiano Cheese. Lait, 85: 193–204.

COŞANSU, S., KULEASAN, H., AYHAN, K., MATERON, L., 2007. Antimicrobial Activity and Protein Profiles of Pediococcus spp. Isolated From Turkish, Sucuk. Journal of Food Processing and Preservation, 31(2): 190-200.

COŞKUN, M., 1990. Pastırmanın Serüveni. Et ve Balık Kurumu Derg., 62:19-20.

ÇITAK, S., YUCEL, N., ORHAN, S., 2004. Antibiotic Resistance and İncidence Of Enterococcus Species İn Turkish White Cheese. International Journal Of Dairy Technology, 57: 27-31.

ÇON, A.H., GÖKALP, H.Y., 2000. Production of Bacteriocin-Like Metabolites By Lactic Acid Cultures Isolated From Sucuk Samples. Meat Science, 55: 89-96.

DELGADO, S., FLO´ REZ, A.B., MAYO, B., 2005. Antibiotic Susceptibility of Lactobacillus and Bifidobacterium Species From The Human Gastrointestinal Tract. Curr. Microbiol., 50: 202–207.

DEMİRTÜRK, N.; DEMİRDAL, T., 2004. Antibiyotiklerde Direnç Sorunu. Kocatepe Tıp Dergisi, 5: 17-21.

EATON, T., J., GASSON, M., J., 2001. Molecular Screening of Enterococcus Virulance Determinants and Potential for Genetic Exhance Between Food and Medical Isolated. Applied and Enviromental Microbiology, 67(4): 1628-1635.

EI. KHATEIB, T., SCJUNIDT, U. UND LEISTNER, L. 1987. Mikrobiologisehe Slabilllar von rürkiseher Pastirma. Fleischwirtsch, 67 (1):101-105.

ERKKILÄ, S., PETÄJÄ, E., 2000. Screening of Commercial Meat Starter Cultures at Low pH And In The Presence of Bile Salts for Potential Probiotic Use. Meat Science, 55: 297-300.

ERDOĞRUL Ö.Z, ÇETİN Ö, ERGÜN Ö., 2002. Fermente Sucuklardan İzole Edilen *Pediococcus pentosaceus* Suşlarının Bazı Metabolik ve Antimikrobiyal Aktiviteleri Üzerine Çalışmalar. İstanbul Üniv. Vet.Fak.Derg., 28(1): 249-254.

EUROPEAN COMMISSION, 2005. Opinion of The FEEDAP Panel on The Updating of The Criteria Used In The Assessment of Bacteria for Resistance to Antibiotics of Human or Veterinary Importance. EFSA Journal, 223: 1-12.

FACKLAM, R. R., SAHM, D. S., TEIXEIRA, L. M., 2002. Standart Laboratory Methods For Identifyig and Growing Enterococci. Manual of Clinical Microbiology, ASM Press.

GARRITY, G.M., WINTERS, M., SEARLES, D.B., 2001. Taxonomic Outline of the Procaryotic Genera Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Second Edition, Release 1.0,USA.

GÖKALP H.Y., 1982 Değişik Olgunlaşma Sıcaklıklarında Farklı Starter Kültürleri Uygulayarak Türk tipi Sucuk Üretimi. Atatürk Üni. Ziraat Fakültesi, Gıda Bilimi ve Tek. Bölümü, (Doçentlik Tezi) s. 178, Erzurum .

GÖKALP, H.Y., KAYA, M, ZORBA, Ö.,1994. Et Ürünleri İşleme Mühendisliği. Atatürk Üniversitesi Yayın No:786, Ziraat Fakültesi Yayın No:320, Ders Kitapları Serisi No:70, Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Ofset Tesisi, Erzurum

GIRAFFA, G.; 2002. Enterococci From Food. FEMS Microbiology Reviews, 26: 163-171.

GURAKAN, G.C., BOZOGLU, T.F., WEISS, N.,1995. Identification of Lactobacillus Strains from Turkish-Style Dry Fermented Sausages. LWT-Food Science and Technology, 28(1):139-144.

GÜR, D., 2007. Antimikrobik Duyarlılık Testi İçin Uygulama Standartları; Onyedinci Bilgi Eki. Bilimsel Tıp Yayınevi. Ankara. 173.

HAMMES, W.P., KNAUF, H.J., 1994. Starters in the Processing of Meat Products. Meat Science, 36: 155-168.

HAYALOĞLU, A.A., ERGİNKAYA, Z., 2001. Gıda Endüstrisinde Kullanılan Laktik Asit Bakterileri. Gıda Teknolojileri Derneği Yayın No:23.

HERREOS,M.A., SANDOVAL, H.,GONZALEZ,L.,CASTROJ.M.,FRENSO,J.M., TORNADİJO, M.E., 2005. Antimicrobial Activitiy and Antibiotic Resistance of Lactic Acid Bacteria Isolated From Armada Cheese (a Spanish goats' milk cheese) Spain. Food mikrobiology, 22: 455-459.

HEPERKAN, D., SÖZEN, M., 1988. Fermente Et Ürünleri Üretimi ve Mikrobiyal Proseslerin Kaliteye Etkisi. Gıda,13(5): 371-378.

HOLZAPFEL, W. H., SCHILLINGER, U., 2002. Introduction to pre-and probiotics. Food Research International, 35: 109-116.

HUGAS, M., GARIGGA, M., AYMERICH, M., T., 2003. Functionality of Enterococci in Meat Products. International Journal of Food Microbiology, 88(2-3): 223-233.

HUMMEL, A., HOLZAPFEL, W. H., FRANZ, C. M. A. P., 2007. Characterisation and Transfer of Antibiotic Resistance Genes From Enterococci Isolated From Food. Systematic and Applied Microbiology, 30: 1-7.

İŞLEROĞLU H., YILDIRIM Z., DEMİRPENÇE Y., YILDIRIM M., 2008. Enterekokların Biyokimyasal, Fizyolojik Ve Fonksiyonel Özellikleri ile Patojenitesi. Akademik Gıda Bilimi ve Teknolojis Dergisi, 6(3): 16-26.

KABAN, G., AKSU, M.I, KAYA, M., 2007. Behavior of Staphylococcus aureus in Sucuk with Nettle (Urtica dioica L.). Journal of Food Safety .

KARAKAYA ,M., GÖĞÜŞ, A.K., 1993. Sucuk Üretiminde Farklı Karbonhidrat Kaynaklarının Kullanılma Olanakları Üzerinde Araştırmalar. Gıda, 18(5): 319-323.

KATSARAS, K, LAUTENSCHHIGER, R UND BOSCHKOVA, K (1996). Das Verhalren von Mıkrojlora und Slarlerkulruren wahrend der Pökelung. Trocknung und Lagerung von Pasrerma. Fleischwirtsch, 76 (3): 308.314.

KATLA, A.K., KRUSE, H., JOHNSEN, G., HERIKSTAD, H., 2001. Antimicrobial susceptibility of starter culture bacteria used in Norwegian dairy products. Int. J. Food Microbiol., 67: 147–152.

KILIÇ S., 2001 Süt Endüstirisinde Laktik Asit Bakterileri, Ege Üniv.Ziraat Fak. Yayınları, No:542, İzmir. 1-57s.

KLARE, I.; 2003. Occurrence and Spread of Antibiotic Resistances in Enterococcus faecium. International Journal of Food Microbiology, 88 (2-3): 269-290.

KLEIN, G.; 2003. Taxonomy, Ecology and Antibiotic Resistance of Enterococci From Food and Gastro-Intestinal Tract. International Journal of Food Microbiology. 88(2-3): 123-131.

KRUMPERMAN, P., H., 1985. Multiple Antibiotic İndexing of E.coli to İdentify Hight-risk Sources of Fecal Contamination of Foods .Appl. Environ. Microbiol., 46:165-170.

LUKASOVA, J., SUSTACKOVA, A., 2003. Enterococci and Antibiotic Resistance. Acta Veterinary Brno, 72: 315-323.

LUCKE, F. K. 1986. Mıkrobıologıseh Vorgange beı der Hersıellung von Rohwursl und Rohschlnken. Flcischwirtsch, 66:302.309.

MARTINS DA COSTA, P. M., VAZ-PIRES, P. M., BERNARDO, F. M., 2006. Antibiotic resistance of Enterococcus spp. Isolated From Wastewater and Sludge of Poultry Slaughterhouses. Journal of Environmental Science and Health Part B, 41: 1393-1403.

MAYRA-MAKINEN, A, BIRET, M., 1993. Industrial Use and Production of Lactic Acid Bacteria. “Salminen, S. and von Wright, A. (ed): Lactic Acid Bacteria” p. 65, Marcel Dekker Inc., New York

MOLINA, L., SIUA, H. UND FLORES,.L. 1989, Sludıe über dıe Keimjlora rocken gepökelrer Schinken. 3:Milchsaurebakrerıen. Fleischwirtsch 69 : 1754- 1756.

MOUBARECK, C., GAVINI, F., VAUGIEN, L., BUTEL, M.J., DOUCET-POPULAIRE, F., 2005. Antimicrobial susceptibility of bifidobacteria. J. Antimicrob. Chemother. 55: 38–44.

ÖZÇELİK, S., 1998. Gıda Mikrobiyolojisi. Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ders Kitabı, Yayın No:6, Isparta.

ÖZDEMİR, H., SIRIKEN, B., 1996. Pastırmadan İzole Edilen Laktobasillerin Bazı Biyokimyasal ve Fizyolojik Özellikleri. Ankara ÜniversitesiVeteriner Fakültesi Dergisi, 43: 307-310.

ÖZDEMİR, H., 1999. Türk Fermente Sucuğunun Florasındaki Dominant Laktobasil Türlerinin Sucuğun Organoleptik Nitelikleri İle İlişkisi. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 46(2-3): 189-198.

ÖZTAN, A.,2003. Et Bilimi ve Teknolojisi.Gıda Mühendisleri Odası Yayınları. Kitaplar Serisi. Yayın No:1.

PETERS, J.; MAC, K.; WICHMANN-SCHAUER, H.; KLEIN, G.; ELLERBROEK, L., 2003. Species Distribution and Antibiotic Resistance Patterns of Enterococci Isolated from Food of Animal Origin in Germany. International Journal of Food Microbiology, 88: 311-314.

PHALAKORNKULE C. ; TANASUPAWAT S. 2006 Characterization Of Lactic Acid Bacteria From Traditional Thaı Fermented Sausages. Journal Of Culture Collections, 5: 46-57.

QUEDNAU, M.; AHRNE, S.; MOLIN, G., 1999. Genomic Relationships Between *Enterococcus faecium* Srtains From Different Sources With Different Antibiotic Resistance Profiles Evaluated By Restriction Endonuclease Analysis Of Total Choromosomal Dna Using *Eco*rı And *Pru*ıı. Applied and Enviromental Microbiology, 04: 1777-1780.

ROBREDO, B.; SINGH, K., V., BAQUERO¸ F.; MURRAY, B., E.; TORRES, C., 2000. Vankomisin Resistant Enterococci Isolated From Animals And Food. International Journal of Food Micobiology, 54: 197-204.

ROSARIA M.D. , MONICA M., BRUNO B., 2007 Antibiotic resistance of lactic acid bacteria. isolated from dairy and pharmaceutical products International Journal of Food Microbiology, 115: 35–42

SAMESHIMA, T., MAGOME, C., TAKESHITA, K., ARIHARA, K., ITOH, M., KONDO, Y.,1998. Effect of Intestinal Lactobacillus Starter Cultures on the Behaviour of Staphylococcus aureus in Fermented Sausage. International Journal of Food Microbiology, 41: 1-7.

SOYER, A.,2002. Fermente Et Ürünlerinde Kaliteyi Etkileyen İç Faktörler.Gıda, 27(1): 15-19.

TEMELLİ, S., 2000. Süt ve Et Endüstrisinde Starter Kültürlerin Önemi. Gıda, 6: 71-72.

TEMİZ, A., 2000. Genel Mikrobiyoloji Uygulama Teknikleri. Hatiboğlu Yayınev, Ankara. 291 sayfa.

TEMMERMAN, R.; POT, B.; HUYS, G.; SWINGS, J., 2003. Identification and Antibiotic Susceptibility of Bacterial Isolates from Probiotic Products. International Journal of Food Microbiology, 81: 1-10.

TOKSOY, A., BEYATLI, Y. VE ASLIM, B., 1999. Sucuk ve Sosislerden İzole Edilen Lactobacillus plantarum Suşlarının Bazı Metabolik ve Antimikrobiyal Aktivitelerinin İncelenmesi. Türk Veterinerlik ve Hayvancılık Dergisi, 23: 533-540.

ÜNLÜTÜRK, A.; TURANTAŞ, F., 1998. Gıda Mikrobiyolojisi. Mengi Tan Basımevi, Çınarlı-İzmir, 605 s.

VIGNOLO, G.M., DE RUIZ HOLGADO, A.P., OLIVER, G., 1989. Use of Bacterial Cultures in the Ripening of Fermented Sausage. Journal of Food Protection, 52: 787-791.

VURAL,H., ÖZTAN,A.,1992. Türk Sucuklarında Ticari Starter Kültür Kulanımı Üzerine Araştırmalar.Gıda, 17(1): 53-60.

YAMAN, A., GÖKALP, H.Y., ÇON, A.H., 1998. Some Characteristics of Lactic Acid Bacteria Present in Commercial Sucuk Samples. Meat Science, 49: 387–397.

YÜCEL A., 1993 Et ve Su Ürünleri Teknolojisi. Uludağ Üniv. Ziraat Fak. Ders Notları, 47: 70-76, Bursa

YÜCE, A,. 2001. Antimikrobik İlaçlara Direnç Kazanma Mekanizmaları. Klimik Dergisi, 14(2): 41-46.

ÖZGEÇMİŞ

1982 yılında Adana' da doğdum. İlk, orta ve lise öğrenimimi Adana'da tamamladım. 2000 yılında Erciyes Üniversitesi Yozgat Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nde lisans öğrenimime başladım. 2004 yılında Biyolog ünvanı ile mezun oldum. 2006 yılında mezun olduktan sonra Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoteknoloji Anabilim Dalı' nda yüksek lisans öğrenimine başladım.