

**T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BAZI LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNİN
PROBİYOTİK OLARAK
KULLANILMA ÖZELLİKLERİ**

Gül den BAŞYİĞİT

Danışman : Prof. Dr. Aynur Gül KARAHAN

Yüksek Lisans Tezi

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

ISPARTA – 2004

ÖZET

Bu çalışmada gastrit ve non-spesifik gastrit rahatsızlığı bulunan 21 bireyden alınan gastrik biyopsi ve dışkı örnekleri ile 13 sağlıklı bireyden sağlanan dışkı örnekleri izolasyon materyali olarak kullanılmıştır. Bu örneklerden izole edilen laktik asit bakterilerinin probiyotik olabilme özellikleri belirlenmiş ve tanısı yapılmıştır.

İzolasyonu tamamlanan 111 adet laktobasil ve 33 adet enterokoka asit koşullara (pH 3,5) ve safra tuzuna dayanım testi uygulanmıştır.Yapılan çalışmada laktobasil suşlarının %54'ü, enterokokların ise %48'i asit ortamda canlılıklarını devam ettirip ve/veya gelişebilirlerken, %0.3'lük safra tuzu konsantrasyonunda laktobasillerin %81'inin, enterokokların ise %60'ının canlılıklarını devam ettirebildikleri ve/veya gelişebildikleri belirlenmiştir. Bu sonuçlar, laktobasillerin enterokoklara göre hem asit ortama hem de safra tuzuna daha dirençli olduklarını göstermektedir. Ayrıca elde edilen sonuçlara göre hem laktobasillerin hem de enterokokların safra tuzuna asit ortama göre daha fazla dirençli oldukları da ortaya konmuştur.

Asit koşullara ve safra tuzuna dayanım açısından incelenen izolatların biyokimyasal testler yoluyla tanısı yapılmıştır. Bu test sonuçlarına göre toplam 111 adet laktobasil suşundan 19 adedinin *L. agilis* (% 17), 14 adedinin *L. fermentum* (% 12), 10 adedinin *L. maltaromicus* (% 9), 10 adedinin *L. murinus* (% 9) ve 8 adedinin *L. plantarum* (%7) olduğu belirlenmiştir. Tanısı gerçekleştirilen diğer türler ise *L. acidophilus*, *L. bavaricus*, *L. brevis*, *L. casei*, *L. casei* subsp. *casei*, *L. casei* subsp. *rhamnosus*, *L. fermentum* var. *cellobiosus*, *L. intestinalis*, *L. johnsonii* ve *L. rhamnosus*'dur. 28 adet suşun ise tür düzeyinde tanısı yapılamamıştır. Enterokoklarda ise 33 adet suşdan 20 adedinin *E. saccharolyticus*, 5 adedinin *E. faecalis*, 3 adedinin *E. malodoratus*, 3 adedinin ise *E. cecorum* olduğu belirlenmiştir. 2 adet suşun ise tanısı yapılamamıştır.

Tanı testlerinden sonra asit ortama ve safra tuzuna dirençli olan 33 adet laktobasil ve 10 adet enterokok suşu seçilerek antibiyotik duyarlılıkları belirlenmiştir. Laktobasil suşları penisilin grubu antibiyotiklerden amoksisilin kluvulanik aside %100, amoksisiline ve karbenisiline %97 oranında duyarlı bulunmuştur. Kloramfenikol ve sefalotin %97, klindamisin %84 değerleriyle laktobasillere yüksek düzeyde etkili

diğer antibiyotikleri oluşturmaktadır. Ayrıca basitrasine karşı suşların %34'ü direnç göstermiş, ofloksasine suşların %47'si orta düzeyde duyarlı iken %31'i dirençli bulunmuştur. Nistatine, streptomisine ve peptid grubu antibiyotiklerden polimiksin B'ye karşı suşların %100'ü direnç gösterirken, suşların %82'sinin vankomisine dirençli olduğu belirlenmiştir.

Suşlar her üç özellik ağısından incelendiğinde, *L. agilis* AA1-2, *L. plantarum* BK9-40, *L. fermentum* BK13-56, *E. saccharolyticus* AK1-5, BA17-71 suşlarının istenilen niteliklere sahip olduğu belirlenmiştir. Çok suşlu bir probiyotik hazırlanması ağısından, bu suşa ilaveten *L. maltaromicus* AC10-43, *L. sp.* AB16-77, AK2-8, *L. plantarum* AK4-120, BK9-40, *L. intestinalis* AK5-22, *L. rhamnosus* AK6-27, *L. casei* subsp. *rhamnosus* AK7-29, *E. saccharolyticus* AK7-31, *E. malodaratus* AK7-32 suşlarının da kullanılması önerilebilir.

Anahtar Kelimeler: Probiyotikler, Laktik asit bakterileri, *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Bifidobacteria*

ABSTRACT

In this study faeces samples of 13 healthy persons and faeces and gastric biopsy samples of 21 persons who have gastritis or non-specific gastritis were used as isolation material. Lactic acid bacteria which were isolated from those samples were identified and some potential properties of isolates to be a probiotic were also determined.

Acidic condition (pH 3,5) and bile salt resistance tests were performed on isolates of 111 lactobacilli and 33 enterococci. It was determined that 54% of lactobacilli and 48% of enterococci were able to survive and/or to grow in acidic conditions, and 81% of lactobacilli and 60% of enterococci could survive and/or grow in 0,3% bile salt concentration. These results showed that lactobacilli are more resistant to both acidic conditions and bile salts than enterococci. In addition to that, according to results, both lactobacilli and enterococci were more resistant to bile salts than acidic conditions.

Isolates that were tested against acidic conditions and bile salts were identified by biochemical tests. According to test results, of those 111 lactobacillus isolates, 19 (17%) were *L. agilis*, 14 (12%) were *L. fermentum*, 10 (9%) *L. murinus* and 8 (7%) were *L. plantarum*. Other isolates were identified as *L. acidophilus*, *L. bavaricus*, *L. brevis*, *L. casei*, *L. casei* subsp. *casei*, *L. casei* subsp. *rhamnosus*, *L. fermentum* var. *cellebiosus*, *L. intestinalis*, *L. johnsonii* and *L. rhamnosus*. Identification of 28 strains could not be done. Among 33 enterococci 20 were *E. saccharolyticus*, 5 were *E. faecalis*, 3 were *E. malodoratus* and 3 were *E. cecorum*. Identification of 4 strains could not be done.

After identification tests 33 lactobacilli and 10 enterococci which were resistant to acidic conditions and bile salts were selected and antibiotic sensitivity of these strains were determined. *Lactobacillus* strains were 100% sensitive to amoxicillin clavulanic acid and 97% to both amoxicillin and carbenicillin that all are penicillin

group antibiotics. Among other antibiotics chloramphenicol was 97%, clindamycin was 84% effective on lactobacillus isolates. Also 34% of the strains showed resistance to bacitracin, while 47% of strains were moderately sensitive to ofloxacin 31% were found to be resistant. The isolates were 100% resistant to nystatin, streptomycin, and polymyxin B a peptide group antibiotic while 84% of isolates resistant to vancomycin.

When the strains were evaluated regarding 3 of the properties, BK9-40 strain was determined as the most qualified one. In order to formulate a probiotic preparation contains more than one strain alone the usage of the *L. maltaromicus* AC10-43, *Lactobacillus* sp. AB16-77 and AK2-8, *L. plantarum* AK4-120, *L. intestinalis* AK5-22, *L. rhamnosus* AK6-27, *L. casei* subsp. *rhamnosus*, AK7-29, *L. plantarum* AK7-31, *L. plantarum* BK9-40ve *E. malodoratus* AK7-32, together with this strain is suggested.

Key Words:: Probiotics, Lactic acid bacteria, *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Bifidobacteria*

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimimin her aşamasında bilgi ve önerileri ile bana yol gösteren, yardım ve desteğini her zaman hissettiğim Bölüm Başkanımız, Danışman Hocam Sayın Prof. Dr. Aynur Gül KARAHAN'a, önerileri ve bakış açısıyla her zaman ufkumuzu genişleten, üniversitemizde yaptığı çalışmalarla bizlere çok daha iyi çalışma imkanları hazırlayan Sayın Hocam Prof. Dr. M. Lütüf ÇAKMAKÇI'ya,

Çalışmamda izolasyon materyali olan gastrik biyopsi örneklerini endoskopi sırasında alan S.D.Ü. Araştırma ve Uygulama Hastanesi İç Hastalıkları AnaBilim Dalı'ndan Prof. Dr. Mehmet İŞLER ve ekibine, örneklerin izolasyonu aşamasında bana laboratuvarlarında çalışma imkanı sağlayan Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı Başkanı Yrd. Doç. Dr. Buket CİCİOĞLU ARIDOĞAN'a, izolasyon çalışmasını birlikte gerçekleştirdiğimiz ve yardımlarını gördüğüm Dr. Rabia CAN'a, ihtiyacımız olan her malzemeyi en kısa zamanda bize temin eden teknisyen Hakan DOĞANGÖNÜL'e,

Çalışmamın bir bölümünü gerçekleştirdiğim Ankara Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü Gıda Mikrobiyolojisi Ana Bilim Dalı'nda birlikte çalışma imkanı bulduğum bilgisi, tecrübesi ve yardımseverliği ile çalışmam sırasında bana destek olan değerli Hocam Sayın Dr. İbrahim ÇAKIR'a,

Ayrıca çalışmalarım sırasında yardımlarını gördüğüm Sayın Hocam Dr. Hakan KULEAŞAN'a, Yrd. Doç. Dr. Zübeyde ÖNER'e, Yrd. Doç. Dr. Abbas TANER'e, Yrd. Doç. Dr. Hikmet ORHAN'a, sevgili dostum Öğr. Gör. Nilgün FİLİZ BUDAK'a, çok sevdiğim öğrenci arkadaşlarım Neslihan, Burcu, Aslı ve Nesrin'e, Altınay Fotokopi ve Yazılım'dan Ramazan Başer ile Selim ve Alper'e,

Her zaman maddi ve manevi desteklerini gördüğüm canım aileme en içten teşekkürlerimi sunarım.

Isparta, Ocak – 2004

Gülden BAŞYİĞİT

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	i
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	3
2.1. Probiyotiklerin tanımı	3
2.2. Probiyotik Olarak Kullanılan Mikroorganizmalar	4
2.3. Probiyotik Mikroorganizmalarda Aranılan Özellikler	6
2.4. Probiyotik Mikroorganizmaların Etki Mekanizması	8
2.5. Probiyotik Mikroorganizmaların Sağlık Açısından Yararları	9
2.5.1. Bağırsak patojenlerinin kontrolündeki etkisi	9
2.5.2. Bağışıklık sistemine etkileri	9
2.5.3. Antikarsinojenik etki	11
2.5.4. Laktoz hidrolizi	12
2.5.5. Serum kolesterol düzeyinin düşürülmesi	13
2.5.6. Bağırsak enfeksiyonu ve antibiyotik tedavisinin yan etkilerini önleme	14
2.5.7. Vitamin üretimi	15
2.5.8. Diğer faydaları	15
2.6. Asitlik ve Safra Tuzlarına Direnç	16
2.7. Antibiyotik Duyarlılıkları	19
2.8. Endüstriyel Açıldan Probiyotikler	22
3. MATERYAL VE METOT	25
3.1. Materyal	25
3.2. Metod	26
3.2.1. Örneklerin izolasyon için hazırlanması	26
3.2.1.1. Gastrik biyopsi örneklerinin izolasyon için hazırlanması	26
3.2.1.2. Gayta örneklerinin izolasyon için hazırlanması	26
3.2.2. İzolasyon	27
3.2.2.1. Preparatların fotoğraflarının çekilmesi	27
3.2.2.2. İzolasyonda kullanılan besiyerleri	27
3.2.2.3. Saf kültürlerin muhafaza edilmesi	28
3.2.2.4. Probiyotik olabilme özelliğinin belirlenmesi	28
3.2.3.1. Düşük pH'ya (pH 3,5) dayanıklılık testi	29
3.2.3.2. Safra tuzuna dayanıklılık testi	29
3.2.4. Laktobasillerin tanısı	29
3.2.4.1. Glikozdan gaz oluşturma	30
3.2.4.2. Arjininden amonyak oluşturma	30
3.2.4.3. 15°C ve 45°C'de gelişme	31
3.2.4.4. Karbonhidrat fermantasyon testleri	31
3.2.5. Enterokokların tanısı	31
3.2.5.1. 10°C ve 45°C'de gelişme	32
3.2.5.2. pH 9.6'da gelişme	32
3.2.5.3. %6.5 NaCl'de üreme	33

3.2.5.4. %0.1 metilen mavisi indirgeme testi	33
3.2.5.5. Şeker fermantasyon testleri	34
3.2.6. Laktik asit bakterilerinin antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi	34
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	35
4.1. İzolasyon Sonuçları	35
4.2. Asit Koşullara Dayanım Testi Sonuçları	42
4.3. Safra Tuzlarına Dayanım Testi Sonuçları	47
4.4. Tanı Testi Sonuçları	51
4.4.1. Laktobasil tanısı	51
4.4.2. Enterokokların tanısı	57
4.4.3. Antibiyotik duyarlılık durumları	60
4.4.3.1. Laktobasillerin antibiyotik duyarlılıkları	60
4.4.3.2. Enterokokların antibiyotik duyarlılıkları	65
5. SONUÇ	69
KAYNAKÇA	70
ÖZGEÇMİŞ	81
EKLER	82
EK 1 Laktobasillerin Aside Direnç Deneylerine Ait Optik Yoğunluk Ölçüm Sonuçları	83
EK 2. Enterokokların Aside Direnç Deneylerine Ait Optik Yoğunluk Ölçüm Sonuçları	86
EK 3. Basillerin Safra Tuzlarına Direnç Deneylerine Ait Optik Yoğunluk Sonuçları	87
EK 4. Enterokokların Safra Tuzuna Direnç Deneylerine Ait Optik Yoğunluk Ölçüm Sonuçları	90
EK 5. Laktobasillerin Tanı Testi Sonuçları	91
Ek 6. Enterokokların Tanı Testi Sonuçları	94
EK 7. Laktobasillerin Antibiyotik Duyarlılıkları (zon çapı, mm)	95
EK 8. Enterokokların Antibiyotik Duyarlılıkları (zon çapı mm)	96

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 4.1. Laktobasillerin mikroskopik görünümüleri	39
Şekil 4.2. Enterokokların mikroskopik görünümüleri.....	40
Şekil 4.3. Bifidobakterlerin mikroskopik görünümüleri	41
Şekil 4.4. Laktobasillere ait optik yoğunluk verileri.....	46
Şekil 4.5. Enterokoklara ait optik yoğunluk verileri.....	46
Şekil 4.6. Laktobasillere ait optik yoğunluk verileri.....	50
Şekil 4.7. Enterokoklara ait optik yoğunluk verileri.....	51
Şekil 4.8. Antibiyotik denemelerinde kullanılan Petri kutularının görünümü.....	62

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa
Çizelge 2.1. Ticari probiyotik üretiminde kullanılan bazı mikroorganizmalar.....	5
Çizelge 2.2. Probiyotik bakteriyel ve maya kültürleri ve bunlarla ilgili klinik çalışmalarını	15
Çizelge 3.1. İzolasyon örneği alınan bireylerin yaş gruplarına ve cinsiyetlerine göre dağılımı	25
Çizelge 3.2. Kullanılan antibiyotikler ve konsantrasyonları.....	26
Çizelge 4.1. Hasta ve sağlıklı bireylerden sağlanan örneklerde laktik asit bakterilerine ait sayım sonuçları (kob/g).....	36
Çizelge 4.2. İzolasyon materyaline göre izolatların dağılımı	38
Çizelge 4.3. İzolatların mikroskopik görünümüne ve izolasyon kökenlerine göre dağılımı	42
Çizelge 4.4. Laktobasillerin pH 3,5 besiyerinde gelişme durumları (log ₁₀ kob/ml) ...	43
Çizelge 4.5. Enterokokların pH 3,5 besiyerinde gelişme durumları (log ₁₀ kob/ml) ...	44
Çizelge 4.6. Laktobasillerin pH 3,5 besiyerinde optik yoğunluğunda meydana gelen değişimler	45
Çizelge 4.7. Enterokokların pH 3,5 besiyerinde optik yoğunluğunda meydana gelen değişimler	45
Çizelge 4.8. Laktobasillerin safra tuzu içeren besiyerinde gelişme durumları (log ₁₀ kob/ml).....	48
Çizelge 4.9. Enterokokların safra tuzu içeren besiyerinde gelişme durumları (log ₁₀ kob/ml).....	49
Çizelge 4.10. Laktobasillerin safra tuzu içeren besiyerinde gelişme durumları	49
Çizelge 4.11. Enterokokların safra tuzunda optik yoğunluğunda meydana gelen değişimler	50
Çizelge 4.12. İzolatların fermentatif özelliklerine göre gruplandırılması.....	52
Çizelge 4.13. Laktobasillerin izolasyon kaynakları ve yaş gruplarına göre dağılımı	54
Çizelge 4.14. Enterokokların izolasyon kaynakları ve yaş gruplarına göre dağılımı	58
Çizelge 4.15. Laktobasillerin türlere göre dağılımı	60
Çizelge 4.16. Enterokokların türlere göre dağılımı.....	61
Çizelge 4.17. Laktobasillerin antibiyotiklere duyarlılık durumları.....	61
Çizelge 4.18. Antibiyotik duyarlılıklarına göre laktobasil suşlarının dağılımı	64
Çizelge 4.19. Enterokokların antibiyotiklere duyarlılık durumları.....	66
Çizelge 4.20. Antibiyotik duyarlılıklarına göre suşlarının yüzdeleri.....	66

1. GİRİŞ

Tükettiğimiz gıdalar ile sağlığımız arasında güçlü bir ilişki mevcuttur. Son yıllarda fonksiyonel gıdalar üzerinde yoğun çalışmalar yapılmaktadır. Fonksiyonel gıdalar, temel besin gereksinimini karşılama yanında doğal olarak içerdikleri özel, fizyolojik aktif bileşenleri ile kardiyovasküler bozukluklar, kanser, diyabet, hipertansiyon gibi kronik hastalıklardan korunmada ve/veya tedavi etmede etkili olabilen, yaşam kalitesini yükselten besinler olarak tanımlanmaktadır.

Fonksiyonel gıdalarla ilgili ilk çalışmalar Japonya’da başlamıştır. Bu ülkede farklı bir gıda kategorisinde ele alınan fonksiyonel gıdalar yasallaştırılmış, ‘Sağlık için Özgün Gıda’nın (Food for Specified Health Use) kısaltılmış ismi olan FOSHU olarak tanımlanmıştır. FOSHU’ya göre Fonksiyonel Gıdalar; (a) içerdiği öğelerle sağlık üzerinde olumlu etki yapmalı, (b) alerjik etki göstermemeli, (c) sağlık ve hijyen riski taşımamalı ve (d) bu tanımlara uygun gıdaların yararları bilimsel olarak kanıtlanmalıdır.

Laktik asit bakterilerinin gerçekleştirdiği fermantasyonlarla üretilen çeşitli ürünler de fonksiyonel gıdalar arasında yer almaktadır. Bu bağlamda çoğunlukla laktik asit bakterilerden hazırlanan probiyotik gıdaların fonksiyonel gıda olarak kullanımı ve bu konu üzerinde yapılan araştırmalar son 10-15 yılda hız kazanmıştır. Doğal ekosistemde bulunan, bağırsak florasını düzenleyerek konakçı sağlığı üzerinde olumlu etkileri olan mikroorganizmalar ‘probiyotik’ olarak tanımlanmaktadır. Probiyotik içerikli ürünler özellikle Japonya, Uzakdoğu ülkeleri ve Avrupa Birliğine üye olan ülkelerde yaygın olarak kullanılmaktadır. Amerika Birleşik Devletleri’nde ise son birkaç yıldır probiyotik ürünlere olan ilgi giderek artış göstermiştir. Sağlıklı gıda tüketimi bilincinin gelişmesi sonucu ortaya çıkan tüketici talebi gıda endüstrisinin probiyotik ürünlere olan ilgisini arttırmıştır. Probiyotik olarak satılan ürünler ya direkt olarak mikroorganizmaların çeşitli vitamin, enzim ve aroma bileşenleri ile birlikte tablet veya kapsül şeklinde hazırlanarak paketlenmesi veya herhangi bir taşıyıcı gıda ortamına ilave edilmesi yöntemi ile üretilmektedir. Ülkemizde probiyotik ürün üretimi ve tüketimi kısıtlıdır. Buna karşın yurt dışında

probiyotik adı altında satılan ürünlerin sayısı oldukça fazladır. Probiyotik üretiminde yaygın olarak kullanılan laktik asit bakterileri *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* ve *Enterococcus* cinsine ait türlerdir. Bu mikroorganizmaların ortak özelliği kemoorganotrofik olmaları ve karbonhidratları fermente ederek laktik asit oluşturmalarıdır. Bir mikroorganizmanın probiyotik olarak kabul edilebilmesi için; (a) insanların kullanımına yönelik hazırlanan ürünlerde kullanılan mikroorganizmalar insanlardan izole edilmiş suşlardan seçilmelidir, (b) mide-bağırsak sisteminde probiyotik etkinin oluşabilmesi için kullanılan suşlar mide asitliğine ve safra tuzlarına karşı dirençli olmalıdır, (c) patojenlerle rekabet edebilmesi için probiyotiklerin bağırsak epitellerine tutunabilmesi veya agregasyon oluşturabilmesi gerekmektedir, (d) probiyotik mikroorganizmalar gelişmiş teknikler kullanılarak tanımlanmış güvenilir suşlar olmalıdır. Tüm bunların yanı sıra seçilen suşların teknolojik özelliklerinin probiyotik ürün üretimine uygun olması gerekmektedir. Probiyotik üretiminde yararlanılan laktik asit bakterileri sindirim sisteminin doğal üyeleridir ve faydalı olarak nitelendirilen bu bakterilerin gıdaların sindirimine, vitamin üretimine ve zararlı mikroorganizmaların neden olduğu hastalıkların önlenmesine yardımcı olduğu bilinmektedir. Hastalıkların tedavisi masraflı ve zaman alıcı olduğundan, son yıllarda hastalıklardan korunma esas alınmaktadır. Bu durum da probiyotiklere yönelik çalışmalara hız kazandırmaktadır.

Bu bilgiler ışığında çalışmada, öncelikle gastrit ve non-spesifik gastrit rahatsızlığı bulunan bireylerden alınan gastrik biyopsi ve gayta örnekleriyle sağlıklı bireylerden alınan gayta örneklerinden laktik asit bakterilerinin izolasyonu yapılmıştır. İzolatların probiyotik özelliklerinin belirlenmesi açısından asit ortama (pH 3,5) ve safra tuzuna dirençlilikleri incelenmiş ve biyokimyasal tanı testleri yapılmıştır. İzolatların tanımlanmasından sonra asit ortama ve safra tuzuna direnç gösteren farklı türlere ait suşlar seçilmiş ve antibiyotik dirençliliklerine bakılmıştır. Elde edilen sonuçlardan sağlıklı bireyler ile gastrit rahatsızlığı bulunan bireylerin bağırsak florası arasındaki benzerlikler ve/veya farklılıklar tespit edilmiş, gayta ve gastrik biyopsiden izole edilen suşlar kıyaslanmış sonuç olarak Türk insanının sindirim sistemi doğal florasında bulunan ve probiyotik aday olarak önerilebilecek suşlar belirlenmiştir.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Probiyotiklerin tanımı

İnsan vücudu trilyonlarca bakteriye ev sahipliği yapan bir ekosistemdir. Sindirim sisteminde deride, ürogenital sistemde, ağız ve burun boşluğunda kısaca insan vücudunun bakteri gelişimine uygun kısımlarında çok sayıda ve farklı türlerden mikroorganizma yer almaktadır (Sanders, 2000). Memelilerin bağırsak sistemleri; bağırsak mikroflorası olarak bilinen ve çoğunluğu anaerob olan pek çok mikroorganizma türünün yaşayabildiği bir ortamdır. Bu ortamda 500'ün üzerinde bakteri türünün olduğu tespit edilmiştir (Tannock, 1997).

Bağırsak sisteminde bulunan faydalı mikroorganizmaların gıdaların sindirimine yardımcı olmak, canlıyı patojen mikroorganizmalardan korumak ve canlının savunma mekanizmasını desteklemek gibi işlevleri vardır. Doğumdan hemen sonra ortamdaki, anneden ve anne sütünden kazanılan doğal floradaki ana gruba laktik asit bakterileri oluşturmaktadır (Karahana ve Çakmakçı, 1996). Bağırsak florasını düzenleyerek konakçı sağlığı üzerinde faydalı etkileri olan mikroorganizmalar 'probiyotik' olarak tanımlanmaktadır.

Laktik asit bakterileri ile ilgili ayrıntılı çalışmalara 1900'lü yılların başında başlanırsa da laktik asit bakterilerinin gıda fermantasyonundaki rolü 1857 yılında Pasteur tarafından bulunmuştur. *Bacterium lactis* 1873 yılında Lister tarafından izole edilen ilk saf bakteri kültürüdür (Stiles ve Holzapfel, 1997). Probiyotikler ve sağlığa olumlu etkileri üzerine ilk çalışma ise 19. yüzyılın sonlarında Rus bilim adamı Metchnikoff tarafından yapılmıştır. Metchnikoff mikroflarının oluşması üzerine sistematik olarak çalışmış ve fermente süt ürünlerinin otointoksikasyonu, yani vücutta bulunan toksik bir maddeden zehirlenmeyi engellediğini öne sürmüştür (Fuller, 1989; Fuller, 1999; Gismondo ve Drago, 1999). Parker probiyotikleri bağırsak dengesinin sağlanmasına yardım eden organizmalar olarak tanımlamıştır. Fakat bu tanımlama antibiyotikleri de kapsamaktadır (Fuller, 1999; Salminen vd., 1999; Schrezenmeir ve Vrese, 2001). Fuller ise probiyotikleri konakçının intestinal mikroflorasının gelişimini teşvik eden,

yararlı etkileri olan canlı mikrobiyal besin elementleri olarak tanımlamıştır. Bu tanımlama Huis in't Veld tarafından, insanların veya hayvanların doğal mikroflorasına ait özellikleri geliştiren, tüketilmeleri sonucunda ağızda gastrointestinal sistemde, üst solunum yollarında ya da ürogenital kanallarda yararlı etkileri ile konakçının sağlığında iyileşmeye sebep olan tek veya karışık canlı mikroorganizma kültürleri şeklinde genişletilmiştir (Klaenhammer ve Kullen, 1999). Yapılan son çalışmalarda, probiyotiklerin canlı olmayan formlarının da sağlık üzerine yararlı etkileri olduğu öne sürülmektedir (Salminen vd., 1999). Bağırsak mikroflorasının bileşim ve aktivitesindeki olumsuz değişimleri minimum düzeye indirmek ve bunun bireye olan etkilerini sınırlamak için geliştirilen diyetetik yöntemler içinde öncelikle probiyotiklerin kullanılmasının yanında, özellikle son yıllarda bu mikroorganizmaların gelişmesini teşvik etmek amacıyla prebiyotiklerden de yararlanılmaktadır (Fuller ve Gibson, 1998). Prebiyotikler bağırsaklardaki belirli bakterilerin gelişim ve aktivitelerini teşvik ederek bireyin sağlığına yararı dokunan ve sindirilmeyen gıda bileşeni olarak tanımlanmaktadır. Prebiyotiklerin etkili olabilmesi için, sindirim sisteminin üst kısımlarında hidrolize ve absorbe olmaması, kalın bağırsağa geçerek orada bağırsak bakterileri tarafından kullanılabilmesi gerekir. Bu kriterleri taşıyan en uygun prebiyotikler oligosakkaritlerdir. Fruktooligosakkaritler, inülin ve türevleri prebiyotiklere örnek olarak verilebilir (Macfarland ve Cummings, 1999; Gibson ve Roberfroid, 1995).

2.2. Probiyotik Olarak Kullanılan Mikroorganizmalar

Probiyotik bakteriler, probiyotik canlı mikrobiyal kültürler ve mikroorganizmaların fermente ürünleri olarak 2 grup halinde açıklanabilir. Bu türler mide-bağırsak florasının önemli popülasyonunu oluşturmaktadır. Probiyotik olarak kullanılan en yaygın laktik asit bakterileri sınıflandırmada 6 gruba ayrılırlar (Tannock, 1997). Bunlar; *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* ve *Bifidobacterium*'dur. Laktik asit bakterileri dışında probiyotik olarak kullanılan diğer mikroorganizmalar ise *Bacillus*, *Saccharomyces* ve *Aspergillus*'tur. Çizelge 2.1'de insan beslenmesinde ve hayvan yemi üretiminde kullanılan probiyotik mikroorganizmaların listesi verilmiştir.

Çizelge 2.1. Ticari probiyotik üretiminde kullanılan bazı mikroorganizmalar

İnsanlar için kullanılanlar	Hayvan beslemede kullanılanlar
<i>L. acidophilus</i>	<i>L. acidophilus</i>
<i>L. casei</i> Shirota	<i>L. casei</i>
<i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	<i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>
<i>L. johnsonii</i>	<i>L. plantarum</i>
<i>L. reuteri</i>	<i>L. reuteri</i>
<i>L. rhamnosus</i>	<i>Bifidobacterium bifidum</i>
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
<i>B. bifidum</i>	<i>Streptococcus thermophilus</i>
<i>B. breve</i>	<i>Pediococcus pentosaceus</i>
<i>B. longum</i>	<i>Enterococcus faecium</i>
<i>B. infantis</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>Streptococcus thermophilus</i>	<i>Aspergillus oryzae</i>
<i>Saccharomyces boulardii</i>	
<i>Torulopsis spp.</i>	

Laktobasiller Gr (+), sporsuz, hareketsiz, katalaz (-), fakültatif anaerob, çubuk veya kokobasil şeklinde mikroorganizmalardır (Gomes ve Malcata, 1999). Laktobasillerin klasik sınıflandırmaları fermentatif özelliklerine göre yapılmaktadır. Bunlar;

1. Obligat homofermantatif laktobasiller: Empden-Meyerhof Parnas metabolik yolunu kullanarak heksozları sadece laktik asite fermente ederler. Örneğin; *L. acidophilus*, *L. delbrueckii*, *L. helveticus*.
2. Fakültatif heterofermantatif laktobasiller: Empden-Meyerhof Parnas metabolik yolunu kullanarak heksozları sadece laktik asite fermente ederken bazı türler ise glikoz sınırlamasında laktik, asetik, formik asit ve CO₂ üretmektedir. Pentozları da fosfoketolaz yolunu kullanarak laktik ve asetik asite fermente ederler. Örneğin; *L. casei*, *L. plantarum*, *L. sake*.
3. Obligat heterofermantatif laktobasiller: Heksozları laktik, asetik asit, etanol ve CO₂'e, pentozları ise laktik ve asetik asite fermente ederler. Örneğin; *L. bifermantas*, *L. brevis* ve *L. fermentum* (Kandler ve Weiss, 1986; Schleifer, 1987).

Enterokoklar, sporsuz, Gram (+), katalaz (-), fakültatif anaerob, 10°C ve 45°C'de, pH 9,6'da, %6,5 NaCl' de %40 safra tuzunda gelişebilen, kok şeklinde mikroorganizmalardır. Bağırsak florasında yer alan *S. faecalis* ve *S. faecium* yapılan yeni sınıflandırmayla *E. faecalis* ve *E. faecium* olarak tanımlanmışlardır (Kandler ve Weiss, 1986). *E. faecium* ve *E. faecalis*, bağırsak hastalıklarındaki etkileri nedeniyle geçmişte kullanılmıştır. Bakteriyosin üretimi gibi mikrobiyolojik özelliklere sahip olsalar da patojenlere antimikrobiyal direnç aktarımına neden olabileceklerinden endişe edilmektedir. Bu bakterilerin ticari formları ilaç preparasyonları veya gıdalara canlı bakteri eklenmesiyle hazırlanmaktadır (Mombelli ve Gismondo, 2000).

Bifidobakteriler, mutlak anaerob, heterofermentatif, Gr(+), *Bifidobacterium indicum* ve *B. asteroides* hariç diğer türleri katalaz (-), sporsuz, Y şeklinde, kısa, kenarları yuvarlak çubuklardır (Kandler ve Weiss, 1986). İnsan ve hayvanların bağırsak florasında ve kanalizasyon sularında bulunurlar. Anne sütüyle beslenen bebeklerin bağırsak florasının %99'unu *Bifidobacterium* türleri oluşturur. *B. bifidum* ve *B. longum* bifidus sütü ve bifidus yoğurdu gibi fermente süt ürünlerinin üretiminde starter kültür olarak kullanılmaktadırlar. Ayrıca bu kültürler bazı laktik asit bakterisi kültürleri ile beraber bifiyoghurt ve biogarde gibi fermente süt ürünlerinde ve ticari probiyotik preparatlarında kullanılmaktadırlar (Ünlütürk ve Turantaş, 1998; Gomes ve Malcata, 1999).

2.3. Probiyotik Mikroorganizmalarda Aranacak Özellikler

Probiyotiklerin bulunduğu konakçıda diğer mikroorganizmalara karşı güçlü etkileri olduğu ve konakçıya yararları olduğu kesin olarak kabul edilmiştir. Ancak probiyotik olarak kullanılacak mikroorganizmalarda bazı özelliklerin bulunması istenmektedir. Bunlar;

- Güvenilir olmalıdır. Kullanıldığı insan ve hayvanda yan etki oluşturmamalıdır.
- Sağlıklı insan bağırsağından alınmış olmalıdır.
- Stabil olmalıdır. Düşük pH ve safra tuzları gibi olumsuz çevre koşullarından etkilenmeden bağırsakta metabolize olmalıdır.
- Bağırsak hücrelerine tutunabilmeli ve kolonize olabilmelidir.

- Karsinojenik ve patojenik bakterilere antagonistik etki yapmalıdır.
- Antimikrobiyal maddeler üretmelidir.
- Konakçıda hastalıklara direnç gibi yararlı etkiler oluşturabilmelidir.
- Antibiyotiklere dirençli olmalıdır. Antibiyotiğe bağlı ortaya çıkan hastalıklarda (diyare) bağırsak florasını düzenlemek amacı ile kullanılabilirdiğinden, bağırsaktaki antibiyotiklerden etkilenmemelidir.
- Üretim ve depolama sırasında canlılığını ve aktivitesini koruyabilmelidir.
- Probiyotikler patojenik olmamalı ve toksin üretmemelidir. Çok suşlu preparatların hazırlanmasına uygun olmalıdır
- Probiyotik üretiminde kullanılan suşlar aktarılabılır antibiyotik direnç genleri içermemelidir (Gismondo ve Drago, 1999; Yılsay ve Kurdal, 2000; Yıldırım ve Yıldırım, 2000; Saarela vd., 2000).

Laktik asit bakterilerinin gastrointestinal sistemde canlılıklarını korumaları ince bağırsakta safra tuzuna ve düşük pH'ya dayanımlarına bağlıdır. Ağız yoluyla vücuda alınan mikroorganizmalar gastrointestinal sistemden geçişleri sırasında canlılıklarını korumalarını engelleyen bir takım stres faktörlerine maruz kalırlar. (Marteu vd., 1997). Bu faktörlerden bir tanesi de antibiyotiklerdir. Probiyotik bakteriler ve bu bakterilerin kullanılmasıyla hazırlanan ürünler bağırsak sisteminde antibiyotik kullanımına bağlı olarak oluşan kolitlerin iyileştirilmesinde kullanılabilir. Antibiyotik metabolitleri hastaların bağırsaklarında bulunabilir. Bu nedenle sadece antibiyotiğe dirençli olan probiyotik suşları bağırsaklarda kolonize olabilmektedir. Bu sonuç da, antibiyotiğe dirençli laktik asit bakterilerin tıbbi açıdan önemini ortaya koymaktadır. Yapılan laboratuvar çalışmalarında laktobasillerin bağırsak sisteminde antibiyotiğe dirençli patojenlerin plazmidlerini parçaladıkları belirlenmiştir (Tannock, 1997).

Bu bakteriler, organik asitler, hidrojen peroksit (H₂O₂), karbondioksit (CO₂), diasetil, asetaldehit (Speckman ve Collins, 1968; Karahan, 1992; Tamime ve Robinson, 1999), reuterin ve bakteriyosin (Kuleaşan ve Çakmakçı, 2002a; 2002b) gibi pek çok antimikrobiyal bileşeni üreterek, bağırsaklarda istenmeyen mikrofloranın çoğalma hızını kontrol ederler ve mikrofloranın dengede olmasını sağlarlar.

Yapılan araştırmalar kanser hastalığı üzerinde beslenmenin önemli bir etken olduğunu göstermektedir (Williams ve Wynder, 1996). Buna karşın probiyotik bakterilere hazırlanan diyetlerin kanser riskini azaltabildiği ispatlanmıştır (Hirayama ve Rafter, 1999). Araştırmalar probiyotik bakterilerin bağırsaklarda ve diğer organlarda mutajenik ve genotoksik etkileri engelleyebildiğini ortaya koymuştur (Sanders, 1999).

2.4. Probiyotik Mikroorganizmaların Etki Mekanizması

Probiyotiklerin etki mekanizmasına yönelik çalışmalar, bağırsak florasının düzensizliğiyle ortaya çıkan gastrointestinal sistemdeki bozukluklara dayanarak yapılmaya başlanmıştır (Salminen vd., 1999). Probiyotiklerin konakçıyı bağırsak sistemi bozukluklarına karşı nasıl koruduğunu açıklamaya çalışan birçok mekanizma bulunmaktadır.

Probiyotiklerin etkileri açısından üç mekanizma önerilmektedir (Goldin ve Gorbach, 1984; Salminen, 1998; Salminen, 1999; Rolfe, 2000; Forestier vd., 2001; akır vd., 2002). Bunlar;

- 1) Patojen ve zararlı bakterilerin sayılarını azaltmak,
 - a. Antimikrobiyal bileşikler üretmeleri,
 - b. Besin elementleri için rekabet etmeleri,
 - c. Kolonizasyon bölgeleri için rekabet etmeleri,
- 2) Mikrobiyal metabolizmayı (enzimatik aktiviteyi) değiştirmek,
 - a. Sindirim sistemini teşvik eden enzimlerin üretimi (rneğin; laktaz),
 - b. Amonyak, amin veya toksik enzimlerin üretiminin azalması,
 - c. Bağırsak duvarının fonksiyonlarını iyileştirmesi,
- 3) Bağışıklık sistemini iyileştirmek,
 - a. Antikor düzeyinin artması,
 - b. Makrofaj aktivitesinin artmasıdır.

2.5. Probiyotik Mikroorganizmaların Sağlık Açısından Yararları

Fermente ürünlerin ve probiyotiklerin çeşitli gastrointestinal hastalıkları önlediği ve tedavi ettiğini açıklayan yüzlerce yayın bulunmaktadır (Karahana ve Çakmakçı, 1996; Kailasapathy ve Rybka, 1997; Çakır vd., 2001; Çakır ve Çakmakçı, 2002). Ancak probiyotiklerin sağlık açısından yararlarının tam olarak anlaşılabilmesi için yapılan çalışmalarda denek sayıları artırılmalı, kullanılan probiyotik mikroorganizma cins ve tür düzeyinde tanımlanmalıdır. Laktik asit bakterilerinin etki mekanizmaları daha iyi anlaşıldıkça ve kontrollü çalışmalarla aynı genetik yapıya sahip suşlar arasındaki farklılıklar tam olarak ortaya konuldukça, suşlara özgü tahmin edilen probiyotik etki kanıtlanmış olacaktır (Çakır, 2003). Probiyotiklerin sağlık açısından yararları aşağıda ayrıntılı olarak ele alınmıştır.

2.5.1. Bağırsak patojenlerinin kontrolündeki etkisi

Probiyotikler, patojen bakterilerin toksin üretimini veya metabolizmasını değiştirmek ya da canlı hücrelerin sayısını azaltmak gibi etkilere sahiptir (Fuller, 1989). Süt ürünlerindeki bazı kültürlerin bağırsak patojenlerinin kontrolündeki rolüne 1900'lü yıllardan beri dikkat çekilmektedir. Yapılan *in vivo* ve *in vitro* çalışmalar tüm *L. acidophilus* ve *B. bifidum* türlerinin bilinen gıda kaynaklı patojenlere ve gıdalarda bozulmaya neden olan mikroorganizmalara karşı inhibitör etki gösterdiğini belirtmektedir.

Birçok patojenin hastalık oluşturulabilmesi için bağırsak duvarına tutunması gerekir. Probiyotik mikroorganizmalar bu bölgeler için patojen bakterilerle yarışarak, onların tutunmasını önlemektedir (Fukushima vd., 1998).

2.5.2. Bağışıklık sistemine etkileri

Probiyotik bakterilerin canlı hücrelerinin bağırsaklarda bulunmaları halinde, bağışıklık sistemini uyardıkları ve kuvvetlendirdikleri belirtilmiştir (Mitsuoka, 1990; Ray, 1996). Probiyotik özellikteki laktik asit bakteri suşları ile fermente edilen süt

ürünlerinin tüketilmesiyle bağışıklığı arttıran peptidlerin üretiminde artış olduğu ve bunlardan bazılarının antitümör özelliğe sahip oldukları belirlenmiştir. Bağışıklık sisteminin uyarılması yoluyla serumda IgA gibi antikorların artması sonucunda virus, *Clostridium*, *E. coli* gibi patojenlere karşı vücudun dirençliliğinin arttığı kaydedilmiştir (Mitsuoka, 1990). Son yıllarda yapılan çalışmalar probiyotiklerin, spesifik ve spesifik olmayan bağışıklık sistemini güçlendirerek, bağırsak hastalıklarına karşı konakçıyı koruduğunu ortaya koymuştur (Fukushima vd., 1998).

Fang vd. (2000) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, 30 adet sağlıklı gönüllü rastgele seçimle üç gruba bölünmüş ve bu gruplara 7 gün süreyle *Lactobacillus* GG, *Lactococcus lactis* ve plasebo (etil selüloz) verilmiştir. Çalışmanın 1., 3. ve 5. günlerinde tüm deneklere enteropatojenik enfeksiyon benzeri olarak, ağızdan etkinliği azaltılmış *Salmonella typhi* Ty21a aşısı verilmiştir. Bütün deneklerin aşuya karşı çok iyi yanıt vermelerine rağmen, değişik deneme grupları arasında IgA, IgG ve IgM salgılayan B lenfosit hücre sayısında bir değişiklik gözlenmiştir. *Lactobacillus* GG kombinasyonu ile birlikte uygulanan aşı grubunda spesifik IgA'da önemli artış eğilimleri belirlenmiştir. *L. lactis* ile birlikte aşuyu alan deneme grubunda nötrofillerde komponent reseptörlerinin (CR3) ekspresyonu çok yüksek düzeylerde belirlenirken, *Lactobacillus* GG ve plasebo verilen gruplarda benzer etki görülmemiştir. Bu sonuçlar, probiyotiklerin oral yolla alınan *S. typhi* aşısına karşı farklı immun yanıtlar verdiği ve bu tepkilerin probiyotik mikroorganizmanın türüne bağlı olduğunu göstermiştir. Bifidobakterler *in vivo* koşullarda, yüksek oranlarda IgA oluşumunu teşvik etmektedir. Bir araştırmada, *B. animalis*, *B. longum*, *B. breve* türlerinden *B. breve*'nin tüm suşları ile bir *B. longum* izolatlarının IgA sentezini önemli oranlarda yükselttiği tespit edilmiştir (Lee vd., 1999).

Süleyman Demirel Üniversitesi Araştırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından desteklenen 458 no'lu projede, bu çalışmada izole edilen 8 adet *L. plantarum*, 2 adet *L. rhamnosus* ve 3 adet *E. faecalis* ile karışık kültür hazırlanmış, hazırlanan karışık probiyotik kültürle, standart *Lactobacillus* GG ve skim milk ile 28 gün boyunca beslenen farelerdeki OVA spesifik IgE düzeyleri arasındaki ilişki araştırılmıştır. Çalışmada 60 adet erkek Balb-c fare kullanılmıştır. Bu farelerin 20 adedi 28 gün

boyunca standart olarak kullanılan 0,2 ml skim milk içerisinde 10^9 kob/ml olacak şekilde ayarlanmış *Lactobacillus* GG (LGG, ATCC-53103) suşu ile, 20 adedi 0,2 ml skim milk içerisinde 10^9 kob/ml olacak şekilde hazırlanan karışık suşlu probiyotik kültür ile, 20 adedi de günde 0,2 ml skim milk ile beslenmiştir. Denemede karışık suşlu probiyotik ve standart probiyotik verilen grupların IgE düzeylerinin, sadece skim milk verilen gruba göre daha düşük olduğu ve bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edilmiştir (Can, 2003). Bu açıdan probiyotikler allerjilerin önlenmesinde önemli etkiye sahiptir.

2.5.3. Antikarsinojenik etki

İstenmeyen bazı bakteriler, bağırsaklarda aminlerin ve amonyağın emilmesini zorlaştırırlar. Bu da kanser oluşumunda, tansiyon ve kolesterolün yükselişinde etkili olan nitrozaminlerin serumda artışına neden olur. Probiyotik bakteriler enterik bakterilerin aktivitelerini engelleyerek, serumda nitrozaminlerin artışını dolaylı olarak önlerler. İstenmeyen birçok bakteri türünün bağırsaklarda gıdalarla alınan karsinojenlerin öncül maddelerini aktive eden enzimleri üreterek, aktif karsinojen maddelerin oluşumuna neden oldukları belirtilmiştir. Probiyotik bakteriler, istenmeyen mikroorganizmaların çoğalmasını inhibe ederek bu enzimlerin oluşmasını engellerler (Jay, 1986; Ray, 1996). Araştırmalar, diyetin bileşiminde bulunan besinlere bağlı olarak kanser oluşumunun arttığını veya azaldığını göstermiştir (Sanders, 1999).

1962 yılında laktik asit bakterilerinin antikarsinojenik etkiye sahip olduğu ileri sürülmüştür. Daha sonraki yıllarda hayvanlar üzerinde yapılan araştırmalarda; deney hayvanları yoğurt ve yoğurda *L. acidophilus*, *L. bulgaricus*, *L. casei*, *Bifidobacterium*'un türleri gibi bakteriler eklenerek beslenmiş, çalışma sonucunda deney hayvanları üzerinde antikarsinojenik bir etki bulunmuş ve tümör riskinin azaldığı belirtilmiştir. Birçok araştırmada, probiyotik bakterilerin fazla miktarda ağızdan alımı sonucunda, istenmeyen bağırsak bakterilerinin oluşturduğu karsinojenik olmayan maddelerin karsinojen maddelere dönüşümünde rol oynayan

beta-glukoronidaz, azoredüktaz ve nitroredüktaz enzimlerinin azalmasını sağladığı belirtilmiştir. *L. acidophilus*'un fermente ürünlerle birlikte alınmasıyla bağırsaklardaki bu enzimlerin düzeyinde iki ile dört kat azalma saptanmıştır.

Aso ve Akazan (1992), çalışmalarında 10^{10} kob/g düzeyinde *L. casei* toz preparatından bir yıl boyunca günde üç defa tüketen insanlarda mesane kanseri tedavi sürecinin hızlandığını tespit etmişlerdir. Bir başka çalışmada ise *L. acidophilus* tüketiminin kalınbağırsak kanserini önlediği tespit edilmiştir (Goldin ve Gorbach, 1984). Bu çalışmaya sağlıklı bireylerden 21 adet gönüllü katılmış ve *L. acidophilus* kültürü süt veya yoğurda katılarak (asidofiluslu süt veya yoğurt) deneklere verilmiştir. Araştırmacılar bir aylık uygulama periyodundan sonra dışkıdaki prokarsinogenleri karsinogenlere dönüştüren bakteriyel enzim konsantrasyonunda önemli azalmalar olduğunu bildirmişlerdir. Benzer çalışmalarda *L. acidophilus* katılmayan sütlerde ise aynı sonuç alınamamıştır (Murray, 1998; Gmeiner vd., 2000).

2.5.4. Laktoz hidrolizi

Bazı bireylerde laktoz kullanılmamaktadır. Laktoz intolerant kişiler genetik rahatsızlık nedeniyle, laktozu hidrolize edecek β -galaktozidaz enzimini üretmezler. Sadece Kuzey Avrupalılar, Beyaz Amerikalılar ve Afrika'da bazı kabilelerdeki bireyler laktozu parçalayacak β -galaktozidaz enzimini oluştururlar (Jay, 1986). Laktoz intolerant kişiler süt veya dondurma ile laktoz aldıklarında, laktoz ince bağırsakta emilmeden kalın bağırsağa geçer, Kalın bağırsakta laktoz değişik bakteriler tarafından glikoz ve galaktoza hidrolize edildikten sonra asit ve gaz dönüştürülür. Asit ve gaz oluşumu bağırsaklardan sıvı emilimini engeller ve bunun sonucunda bağırsak şişliği şeklinde rahatsızlıklar ortaya çıkar. Süt ürünlerine probiyotik bakteri ilave edilmesinin laktoz intoleransına yararlı etkileri iki mekanizma ile açıklanmaya çalışılmaktadır. Bunlardan birincisi, fermantasyon ile süt ürünlerinde bulunan laktozun parçalanması, ikincisi ise laktaz enzimi üreten probiyotiklerin gastrointestinal bölgelerdeki çoğalmasdır (Karahan ve Çakmakçı, 1998; Ouwehand ve Salminen, 1998; Rolfe, 2000; Çakır ve Çakmakçı, 2002).

Yoğurdun, asidofilus eklenmiş sütün ve probiyotik bakterilerin farmakolojik ürünlerinin tüketilmesi, ince bağırsaklara laktozu hidrolize edecek canlı bakteri sağladığından, laktozdan kaynaklanan rahatsızlıklar görülmez. Fermente ürünlerde laktoz, laktik asit bakterileri tarafından parçalandığından ve ürünlerde bakterilerin ürettiği β -galaktozidaz enziminin bulunması nedeniyle fermente gıdaların sağlık üzerine faydaları bulunmaktadır. *L. bulgaricus* ve *Streptococcus thermophilus* mide asitliğine dayanamaz ve normal bağırsak bakterisi değildirler. Fakat süte göre yoğurtta bulunan laktozun azalması, bağırsak rahatsızlıklarının ortaya çıkmasını engeller. Bağırsak bakterileri ve çoğunlukla bazı *Lactobacillus* türleri, belirli koşullarda ince bağırsaklara yerleşerek yiyeceklerle alınan laktozu hidrolize ederler (Gismondo ve Drago, 1999).

2.5.5. Serum kolesterol düzeyinin düşürülmesi

Bazı kan lipidlerinin yüksek düzeyleri kardiyovasküler hastalıklar açısından risk faktörüdür. Birçok araştırmacı laktik kültür içeren süt ürünleri ve probiyotiklerin kolesterol düşürücü etkileri olduğunu bildirmiştir (Murray 1998, Taylor ve Williams 1998, Rolfe 2000). Probiyotik bakterilerin serum kolesterolünü düşürücü etkileri ve mekanizması tam olarak açıklanamamıştır. Probiyotik bakteriler ile üretilen fermente süt ürünlerinin veya bu bakterilerin canlı hücrelerinin vücuda alınması ile insanlarda düşük kolesterol düzeyinin oluşmasının üç faktörden kaynaklandığı bildirilmiştir.

- Bazı bağırsak bakterileri yiyeceklerle alınan kolesterolü metabolize ederek, kana geçişini azaltmaktadır.
- Bakteriler bağırsaklarda kolesterol öncül maddelerini veya kolesterolü azaltmaktadır.
- Bazı laktobasillerin safra tuzlarını parçalamasıyla safra tuzlarının karaciğer tarafından emilmesi engellenmektedir. Böylece safra tuzu absorbe edemeyen karaciğerin, safra tuzu sentezlemek için fazla miktarda serum kolesterolünü kullanması sonucunda serumda kolesterol miktarı azalmaktadır (Vaughan vd., 1999).

Rossi vd. (1999) yaptıkları çalışmada *E. faecium*, *L. acidophilus*, *L. jugurti*, *S. salivarius* subsp. *thermophilus* ve *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*'un *in vitro* koşullarda kolesterol konsantrasyonunu azaltma ve safra tuzları varlığında gelişebilme yeteneklerini araştırmışlardır. Araştırma sonunda her iki özelliğin de çalışılan türlere bağlı olarak değiştiği tespit edilmiştir. Ayrıca kültürler tekli veya karışık starterler halinde, kurutulmuş peyniraltı suyu tozu ile desteklenen soya sütüne katılarak, fermantasyon sonunda fizyokimyasal ve duyuşal değerlendirmeye alınmışlardır. Değerlendirme sonunda fermente ürünlerden en beğenilenin *E. faecium* ile *L. jugurti* (1:1 oranında) kombinasyonu kullanılarak yapılan fermente ürün olduğu ve bu kültürlerin kolesterolü % 43 oranında düşürdüğü tespit edilmiştir.

2.5.6. Bağırsak enfeksiyonu ve antibiyotik tedavisinin yan etkilerini önleme

Bazı hastalıkların tedavisi amacıyla kullanılan oral antibiyotik ilaçlar da bağırsak florasının dengesini bozmakta ve hatta sonuçta kolit (kalın bağırsak iltihabı) oluşumuna sebep olabilmektedir. Yoğurt tüketimi, antibiyotik tedavisi nedeni ile bağırsak florasında meydana gelen bozulmayı düzelterek antibiyotiklerin bu yan etkisini ortadan kaldırmaktadır. Antibiyotik tedavisinden sonra, bağırsak sisteminde dengeli bir şekilde gelişmekte olan *Lactobacillus* türleri azalmakta ve kuvvetli patojen olan *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Enterobacteria* türleri, anaerobik spor oluşturan mikroorganizmalar ile maya ve küfler gibi normalde sayıları az olan mikroorganizmaların sayısı artmaktadır. Bu etkiler yoğurt tüketimi ile önlenmektedir (Jay, 1986; Ray 1996).

Hatakka vd. (2001) araştırmalarında, gündüz kreşte bakılan çocuklarda uzun süreli probiyotik süt kullanımının, çok sık görülen solunum yolları ve gastrointestinal enfeksiyonlar üzerindeki etkilerini çift kontrollü denemelerle incelemişlerdir. Araştırmalarda elde edilen sonuçlara göre *L. rhamnosus* GG katılarak verilen sütü tüketen çocuklarda rotavirüsten kaynaklanan diyarenin şiddetinin azaldığı, antibiyotik kullanımından kaynaklanan diyarenin ise önemli ölçüde önlendiği tespit edilmiş, ancak solunum yolu enfeksiyonlarının önlenmesinde daha az etkili olduğu belirlenmiştir.

2.5.7. Vitamin üretimi

Probiyotik bakterilerin bağırsak florasında yeterli sayıda bulduklarında, vitamin ve amino asit sentezledikleri belirtilmiştir. Bu bakterilerin ürettiği vitaminlerin en önemlileri, tiamin (B₁), riboflavin (B₂), piridoksin (B₆) ve naftokinin (K)'dir. *B. bifidum* bağırsak florasında bulunduğu, bağırsaklarda B₆ vitamininin % 400 arttığı belirtilmiştir (Erkmen, 2000; Kavas, 2000).

2.5.8. Diğer faydaları

Bunların dışında probiyotik bakterilerin maya enfeksiyonlarını azaltma, bağırsaklarda Ca⁺² emilimini artırma, hormonal sistemi uyarma, büyümeyi aktive etme gibi birçok faydaları vardır (Yılsay ve Kurdal, 2000; Erkmen, 2000). Çizelge 2.2'de probiyotik bakteri ve mayalar ile bu kültürlerle yapılan klinik çalışmalar gösterilmiştir (Lee ve Salminen, 1995).

Çizelge 2.2. Probiyotik bakteriyel ve maya kültürleri ve bunlarla ilgili klinik çalışmaları

Probiyotik Suşu	Klinik Çalışma Sonuçları
<i>Lactobacillus acidophilus</i> LC1	Bağırsıklık sistemini güçlendirme, bağırsak hücrelerine tutunabilme özelliği, bağırsakta dengeyi sağlayıcı etki
<i>Lactobacillus acidophilus</i> NFCO 1748	Radyoterapiye bağlı diyareyi önleyici etki, peklilik sorununda tedavi edici özellik
<i>Lactobacillus</i> GG	Antibiyotik kullanımına bağlı diyareyi önleyici etki, rotavirüs kaynaklı diyare tedavisinde kullanımı, besin allerjilerinin tedavisi
<i>Lactobacillus casei</i> Shirota	Bağırsak rahatsızlıklarını önleyici etki, bağırsak sisteminde dengenin sağlanması, mesane kanserini önleme
<i>Bifidobacterium bifidum</i>	Rotavirus diyarede tedavi edici etki, bağırsak florasında dengenin sağlanması
<i>Saccharomyces boulardii</i>	Seyahat ishalini önleyici etki

2.6. Asitlik ve Safra Tuzlarına Direnç

Bir mikroorganizmanın probiyotik özelliklerini gösterebilmesi için bağırsak sisteminde ve endüstriyel işlemler sırasında canlı kalması gerekmektedir. Ağız yolu ile alınan probiyotiklerin bağırsak sisteminde fayda sağlayabilmeleri için, bağırsağa ulaşmadan önce midenin asit ortamından (pH 1,5-3,0) canlı olarak geçebilmeleri gerekmektedir. Bu nedenle probiyotik mikroorganizma seçiminde ilk aranması gereken kriter suşların asit dirençleridir (Dunne vd. 1999; Fernández vd. 2003). *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* türlerinden bazılarının düşük pH'ya karşı dirençli oldukları, ancak bifidobakterlerin laktobasillere kıyasla daha az dirençli oldukları bilinmektedir.

Probiyotik seçiminde kullanılan diğer bir kriter ise suşların safra tuzlarına direnç özellikleridir (Lee ve Salminen, 1995). Safra tuzları kolesterolün suda çözünebilir son ürünüdür (Patel vd., 2004). Safra asitleri karaciğerde, kolesterolden sentezlenerek safra kesesine iletilmekte, oradan da konjuge formunda, günde 500-700 ml miktarında ince bağırsağa salgılanmaktadır. Daha sonra safra asitleri kalın bağırsağa geçip orada mikrobiyel aktivite sonucu tamamen kimyasal değişimlere (dekonjugasyon, dehidroksilasyon, dehidrojenasyon ve deglukuronidasyon) uğramaktadır (Dunne vd. 1999). Safra asitlerinin konjuge olan ve olmayan formları özellikle mikroorganizmalar üzerinde antimikrobiyel etkiye sahiptir. Ancak bu etki konjuge olmayan formlarda ve Gram pozitif mikroorganizmalarda daha belirgin olarak ortaya çıkmaktadır. Yapılan *in vitro* çalışmalarla bifidobakterler ile laktobasillerin safra tuzlarına dirençleri karşılaştırıldıklarında bifidobakterlerin daha dirençli oldukları ancak direncin türe bağlı olarak değiştiği belirtilmektedir (Tahri vd. 1996). Ayrıca Patel vd. (2004) tarafından düşük pH'da mikroorganizmaların safra tuzuna dirençlerinin daha az olduğu da belirtilmiştir.

Tahri vd. (1997) yaptıkları diğer bir araştırmada değişik bifidobakter türlerinin safra tuzları ve değişik pH'lardaki kolesterol assimilasyonunu incelemişler ve *B. breve* ATCC 15700 suşunun kolesterolü %51 oranında asimile edebildiğini belirlemişlerdir. Charteris vd. (1998b) ise *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium*'un

probiyotik olabilecek suşlarının bağırsak sisteminden geçiş toleranslarını *in vitro* olarak inceledikleri araştırmalarında; gastrik ortamda pH 2’de, sadece bir laktobasil suşunun (*L. fermentum* KLD) dirençli olduğunu ancak, ortama süt proteinleri katılarak yapılan denemede ise *L. casei* 2123 ve *B. infantis* 25962 suşlarının %100 geçiş toleransı gösterdiklerini belirlemişlerdir.

Prasad vd. (1999) Yeni Zelanda Sütçülük Araştırma Enstitüsü’nde (New Zealand Dairy Research Institute; NZDRI) bulunan 2000’den fazla laktik asit bakterisi üzerinde bir tarama çalışması yaparak, probiyotik olabilecek suşları belirlemeye çalışmışlardır. Araştırmada ön değerlendirmeler sonucu belirlenen 200 adet suş arasından, 3 adedi süt ürünleri, 1 adedi ise insan orijinli olmak üzere 4 adet probiyotik olabilecek suş seçilmiştir. Seçilen bu suşların, ticari *L. acidophilus* LA-1 ve *L. rhamnosus* GG suşlarına kıyasla düşük pH ve yüksek safra tuzlarına; insan orijinli suşların da süt ürünlerinden izole edilen suşlara oranla daha dirençli olduğu tespit edilmiştir. Araştırma sonunda seçilen bu suşların gerek klâsik gerekse moleküler tekniklerle yapılan tanıları sonunda *L. acidophilus* HN017, *B. lactis* HN019 (DR10), *L. rhamnosus* HN001 (DR20) ve *L. rhamnosus* HN067 olduğu belirlenmiştir.

Ticari et starter kültürlerinin probiyotik olabilme özelliklerinin araştırıldığı bir çalışmada ise, pH 3’deki direncin türlere bağlı olarak değiştiği belirlenmiştir. pH 6’daki %0,3 safra tuzu konsantrasyonunun, direnci belirlemek için yapılan taramalarda kritik değer olarak kabul edilmiştir. Bu çalışmada *L. sake* (RM10) ve *P. acidilactici* (P2)’nin düşük pH ve yüksek safra tuzu konsantrasyonlarında en dirençli suşlar olduğu tespit edilmiştir (Erkkilä ve Petäjä, 2000).

Vinderola ve Reinheimer (2003) *L. casei* ve *L. rhamnosus*’un asit ortama *L. acidophilus*’a göre daha duyarlı olduğunu belirlemiştir. Mide özsuyuna benzeyen ortamda *L. casei* ve *L. rhamnosus*’un hücre sayısının 2,7-5,9 logaritmik birim azaldığını bildirmişlerdir. Buna karşın Prasad vd. (1999) ise *L. rhamnosus* suşlarının asit ve safra tuzunda *L. acidophilus*’a göre daha dayanıklı olduğunu belirtmişlerdir.

Fernández vd. (2003) bağırsak sıvılarına dayanım açısından *L. acidophilus*’un *L. gasseri*’ye göre daha dayanıklı olduğunu, sütün tüm suşların tüm koşullarda canlı

kalmasını teşvik ettiğini ifade etmişlerdir. Yaptıkları çalışmada *L. acidophilus* ve *L. gasseri*'nin mide pH'sında (2-2,5) en az 90 dakika canlı kalabildiklerini, bu sürenin bağırsağın aktif bölgelerine ulaşmak için yeterli olduğunu belirtmişlerdir.

Patel vd. (2004) tarafından yapılan bir çalışmada 3 laktobasil suşunun safra tuzlarına direnci incelenmiştir. *L. reuteri* (NCIMB 1195), *L. acidophilus* (NCIMB 8821) ve *L. plantarum* (NCIMB 8826) fosfat-tuz tamponunda pH 7.0'de 4 saat %2 safra tuzu konsantrasyonuna maruz bırakılmıştır. Ortama hububat ekstraktlarının eklenmesiyle glikoz ve serbest amino azotu konsantrasyonlarındaki artışlar da belirlenmiştir. Bu katkıların olmaması durumunda safra tuzlarına en fazla direnci *L. reuteri* gösterirken, *L. acidophilus* en fazla etkilenen suşlar olmuştur. Hububat ekstraktlarının eklenmesi her 3 suşun toleransını arttırmıştır. Arpa ve buğday ekstraktlarının canlılığı artırıcı etkileri benzer düzeydeyken, malt ekstraktlarının eklenmesi canlılık üzerinde daha fazla etkili olmuştur.

Vinderola ve Reinheimer (2003)'a göre, safra tuzlarının varlığı probiyotik organizmalara göre laktik asit bakterileri için daha fazla inhibe edici etkiye sahiptir. *S. thermophilus* suşlarının çoğu %0,5 safra tuzu ile inhibe olmaktadır. *Lactococcus lactis* suşları %1 safra tuzuna az ya da çok dirençli bulunmuştur. *L. acidophilus* en iyi gelişimi gösterirken, bunu *L. casei*, *L. rhamnosus* ve bifidobakterler takip etmektedir.

du Toit vd. (1998) ise, domuz dışkısından izole edilen *L. reuteri* BFE 1058 ve *L. johnsonii* BFE 1061'i safra tuzlarına dirençli bulmuştur. %0,3 (w/v) oxgall varlığında gelişimin azalma süresi 10 dakikadan azdır. *L. johnsonii* BFE 1058, 25 dakikalık gelişim gecikmesiyle safra tuzlarına toleranslı kabul edilmiştir. Doğal domuz safrası oxgall'a kıyasla daha kuvvetli bakterisidal etki göstermiştir. Safra tuzuna tolerans suşların ince bağırsağın üst kısımlarında canlılığı ve gelişimi açısından önemlidir.

2.7. Antibiyotik Duyarlılıkları

Doğumdan sonra 20-25 gün içinde normal bağırsak mikroflorasının ekolojik dengesi stabil hale gelir. Böylece insanlar hastalıklardan korunur. Organizmadaki mikrobiyel yapının ekolojik dengesini etkileyen başlıca faktörler; antibiyotikler, stres, beslenme şekli ve aşırı temizliktir. Antibiyotik kullanımı faydalı bağırsak mikroflorasını olumsuz yönde etkiler ve normal mikrofloranın oluşturduğu ekosistemin dengesinde değişikliklere yol açar. 40 yıldan uzun bir süredir antibiyotikler insanların, hayvanların ve tarımsal bitkilerin enfeksiyöz hastalıklarının tedavisinde kullanılmaktadır. Dünya çapında antibiyotik kullanımının başlıca sonucu enfeksiyöz hastalıkların tedavisinde bu maddelerin etkenliğini kısıtlayan, dirençli bakteriyel suşların ortaya çıkması olmuştur. Benzer direnç genlerinin farklı cinslerden bakteriler arasında ve farklı ekolojik niçelerde yaşayan bakterilerde belirlenmesi dirençlilik determinantının mikrobiyel dağılımındaki karmaşıklığı göstermektedir. Başlangıçta bir ülkede veya coğrafik bölgede görülen dirençli suşlar yer değiştirmekte ve daha sonra başka ülkelerde ve oldukça uzaktaki yerlerde görülmektedir. Modern hayvan yetiştiriciliğinde antibiyotikler sadece bağırsak sistemindeki hastalıklara karşı tedavi edici olarak kullanılmakla kalmamakta, genç hayvanlarda gelişimin teşvik edilmesi amacıyla da kullanılmaktadır. Dirençli formlar genç hayvanların gelişimini teşvik etmek amacıyla tedavi edici dozdan az miktarda antibiyotik verilmesi sonucunda da meydana gelmektedir (Levy, 1987).

Böylece antibiyotiklerin etkisini önemli ölçüde azaltan patojen mikroorganizmaların dirençli formları besin zinciri aracılığıyla gıdalardan insan sindirim sistemine aktarılabilmektedir (Klein, 2003). Bu sebeple mikrobiyel enfeksiyonların tedavisinde ciddi sorunlar yaşanmaktadır.

Bakterilerde antibiyotik direnci yapısal olabileceği gibi sonradan da kazanılabilir. Yapısal dirençlilik doğal bir oluşumdur ve tür özelliği olarak ortaya çıkar. Ancak kazanılmış dayanıklılık genetik mutasyon ve diğer bakterilerden DNA aktarımıyla meydana gelebilir (Saarela vd., 2000).

Tek bir antibiyotiğe direnç sorun yaratmazken, çeşitli antibiyotiklere direnç tedaviyi imkansızlaştırmakta ve ölümlerin artmasına neden olmaktadır. Elde edilen bulgular, tek bir antibiyotiğin uzun süre kullanılmasının, yapısal olarak farklı diğer antibiyotiklere dirençli bakterilerin doğal seleksiyonuna yol açabileceğini göstermiştir. Pek çok örnekte tek bir antibiyotiğe direnç; daha küçük, konjugatif olmayan plazmidlerde belirlenirken, çoklu antibiyotik direncinin daha büyük ve daha fazla aktarılabilen plazmidlerde yer aldığı gözlenmiştir.

Yapılan çeşitli çalışmalarda *E. coli* ve *S. aureus* gibi enfeksiyöz etkenlerin aktarılabılır çoklu direnç plazmidlerine sahip olduğu belirlenmiştir. Bağırsak florasının doğal üyelerinden olan ve probiyotik kültürlerin üretiminde kullanılan *Lactobacillus* ve *Bifidobacter* suşları ise GRAS (güvenle kullanılabilir) olarak kabul edildiğinden antibiyotik dirençlilikleri ve virulans özelliklerinin incelenmesi gözardı edilebilmektedir.

Probiyotik kültürlerde yaygın olarak bulunan laktobasiller tedavi amaçlı kullanılan antibiyotiklerin pek çoğuna doğal olarak direnç gösterebilmektedir. Fakat antibiyotik dirençliliğinin aktarımının çok yaygın bir özellik olmadığı belirlenmiştir (Nicas vd.,1989; Svensson vd., 1990; Charteris vd., 1998b; Saarela vd., 2000).

Antibiyotik dirençliliğinin mikroorganizmalar arasında aktarımı; konjugatif plazmidler, transpozonlar, integron ve insersiyon elementlerinin yanı sıra litik ve ılımlı bakteriyofajlar aracılığıyla gerçekleştirilmektedir. Antibiyotik direnç mekanizmaları, antibiyotiklerin enzimatik inaktivasyonu (örneğin; β -laktamazlar, aminoglikozidler, transpozonlar, aminoglikozid, asetil-nükleotidil- ve fosforil-transferazlar), antibiyotiklerin hücre içerisine alınımının sınırlanması (örneğin; penisilin bağlayan proteinler), antibiyotiklerin hücre dışına çıkarılması ya da hedefin değiştirilmesi (23S rRNA'nın metilizasyonu), topoizomerazların amino asit dizisinin mutasyonu şeklindedir (Davies 1997; Teuber vd., 1999).

1950'lerin sonundan 1980'lere kadar süt starter kültür bakterilerinin antibiyotik duyarlılıkları ve duyarlılığa etki eden faktörler üzerinde çalışmalar yapılmıştır.

Reinbold ve Reddy (1974), mezofilik laktik streptokoklar, enterokoklar, laktobasiller, löykonostok, stafilokokların yanı sıra süt ve gıdalarda bulunan diğer bakterileri içeren 42 farklı izolatın 30 adet antibiyotik ve antimikrobiyel etkene duyarlılıklarını incelemişlerdir. Yaptıkları çalışmada besiyeri olarak Elliker laktik agar kullanmışlar ve mikroorganizmaları optimum gelişme sıcaklıkları ve sürelerine göre inkübe etmişlerdir. Çalışmada çoklu ticari duyarlılık diskleri kullanılmıştır. Çalışma sonucunda *S. thermophilus* dışında kullanılan mikroorganizmaların hemen hemen hepsinin 8 farklı sulfonamide kesin direnç gösterdiği tespit edilmiştir. Starter kültür olarak kullanılan streptokokların çoğunun ve *L. bulgaricus*'un mastitis kontrolünde kullanılan 16 antibiyotiğe ve antimikrobiyel etkene duyarlı olduğu belirlenmiştir. *L. dextranicum*, *S. faecalis*, *S. durans* ve *Brevibacterium linens* suşlarının ise kullanılan antibiyotiklere orta duyarlılıkta olduğu belirlenmiştir. Sütteki antibiyotik kalıntıları starter kültürlerin asitliliği geliştirmesine mani olmaktadır.

Sinha (1984), laktik streptokokların antibiyotik dirençliliği üzerine fosfatlarla tamponlanmış besiyerlerinin etkisi üzerine yaptığı çalışmada; laktik streptokoklarda aminoglikozid antibiyotiklere direnç artarken, eritromisin, penisilin, tetrasikline duyarlılığının arttığı belirlenmiştir.

Larsen ve Añon (1989), gliserol, glikoz veya sükroz ilave edilmiş, su aktivitesi 0.943-0.992'e ayarlanmış olan, penisilin ve gentamisin bulunan sütlerde *S. thermophilus* ve *L. bulgaricus*'un asit oluşturma özelliğini incelemişlerdir. *S. thermophilus* ATCC 19258 ve CRL 10 suşlarının bulunduğu ortamda su aktivitesi gliserol ile 0,92'den 0,95'e düşürüldüğünde ve *L. bulgaricus* ATCC 11842 bulunan ortamda ise 0,992'den 0,985'e doğru değiştirildiğinde penisiline dirençlerinin arttığı belirlenmiştir. *L. bulgaricus* CRL 420 suşunda, düşük su aktivitesinde tüm penisilin konsantrasyonlarında düşük asit üretimi gözlenmiştir. *S. thermophilus* CRL 410'un penisiline duyarlılığı su aktivitesi glikoz ile ayarlandığında artmış, sükroz kullanımı ile asit üretimi 0,985 su aktivitesinde kontrol değeri olan 0,992 su aktivitesine göre daha yüksek bulunmuştur.

Antibiyotik duyarlılığının incelenmesinde çeşitli teknikler kullanıldığından sonuçların karşılaştırılması her zaman mümkün olmamaktadır. Laktobasiller arasında antibiyotik dirençliliği et ürünlerinin yanı sıra insan ve hayvan mide bağırsak sisteminden izole edilen suşlarda da belirlenmiştir.

Yokokuro ve Mutai (1976), yaptıkları çalışmada insan dışkılarından izole edilen 45 adet *L. fermentum* suşunda penisilin direncinin minimum inhibe edici konsantrasyonunun (MIC) sadece 2 izolatta 17 ve 13 U/ml olduğunu, diğer izolatların ise 0,03-0,44 U/ml konsantrasyonda inhibisyon gösterdiklerini tespit etmişlerdir.

Sönmez vd., (1999), tavuk bağırsaklarından izole ettikleri 3 adet *L. acidophilus*, 5 adet *L. agilis*, 2 adet *L. animalis*, 2 adet *L. brevis*, 2 adet *L. coryneformis* subsp. *torquens*, 9 adet *L. fermentum* ve 17 adet *L. plantarum* olmak üzere toplam 40 izolatanın antibiyotik dirençliliklerini incelemişlerdir. Çalışma sonucunda laktobasil suşlarının penisilin grubu antibiyotiklerden amoksisilin, ampisilin ve karbenisiline %100, penisiline %97.5, oksasiline %70, metisiline %35 oranında duyarlı olduklarını tespit etmişlerdir. Buna karşın, kloramfenikol %92.5, tetrasiklin %85, makrolidlerden eritromisin %85 ve rifampisin %82.5 değerleriyle laktobasillere yüksek düzeyde etkili diğer antibiyotikleri oluşturmuşlardır. Ancak aminoglikozidlere (kanamisin, gentamisin, neomisin, streptomisin) karşı suşların %50'den fazlası direnç göstermiştir. Linkomisin, nistatin, spektinomisin ve peptid grubu antibiyotiklerden basitrasine dirençli suşların oranı ise %60-90 arasında değişmiştir. Yine peptid grubu antibiyotiklerden polimiksin B'ye karşı suşların %100'ü dirençli bulunmuştur.

2.8. Endüstriyel Açıdan Probiyotikler

Endüstriyel açıdan probiyotik kültürler; istenen reolojik, organoleptik özelliklere ve tekstüre sahip olan probiyotik süt ürünlerinin hazırlanmasındaki etkileri ve bu ürünlerde canlı kalma süreleri açısından değerlendirilmektedir. Güvenli olduğu bilinen ve probiyotik özelliğe sahip olan suşların seçimi, inokülasyonu, inkübasyon koşulları, mikroorganizmalar arası ilişkiler, ürünlerin muhafazası süresince bakteri

suşlarının canlı kalması ve probiyotik ürünlerin insan sağlığı üzerindeki etkileri, üretim açısından önemli kriterlerdir.

Yapılan çalışmalarda pek çok probiyotik mikroorganizmanın sütte gelişiminin zayıf olduğu ve son üründe canlı kalamadığı belirlenmiştir. Asit gelişimini hızlandırmak amacıyla probiyotikler geleneksel starter kültürlerle birlikte kullanılabilir. Sütte gelişen türler, genellikle klasik yöntemlerle yapılan ürünlerden daha farklı bir fermente ürün tadı meydana getirirler. Endüstriyel alanda probiyotik mikroorganizmaların kullanımında nasıl başarılı olunacağı üzerine bilgiler artmıştır. Bu deneyimlerin çoğu *L. acidophilus*, *B. adolescentis*, *B. bifidum*, *B. infantis* ve *B. longum* ile yapılan çalışmalar sonucu elde edilmiştir.

Bifidobakteriler obligat anaerob ve laktobasiller mikroaerofilik mikroorganizmalardır. Çeşitli bifidobakteri türlerinin farklı oksijen isteğine sahip olduğu gözlenmiştir. Süt işletmelerinde probiyotik bakterileri ilave etmeden önce sütte bulunan oksijenin uzaklaştırılması bifidobakteri ve *L. acidophilus*'un birlikte gelişmelerini sağlar. Ürünün oksijen geçirgenliği olmayan bir ambalaj materyaliyle paketlenmesi de bifidobakterinin, ürünün rafta beklediği süre içinde canlı kalmasını sağlar. Ambalaj materyali laktobasiller için de önemlidir.

Sütün bileşimi ve sıcaklığı starter kültürlerin ve probiyotik suşların gelişimi için önemlidir. Kazein miktarı, hidrolize olmuş peynir suyu proteinleri, maya ekstraktı, glikoz, vitaminler ve mineraller probiyotik suşların canlılığını ve gelişmelerini etkileyip, ürün tekstürünü iyileştirebilir. Protein miktarındaki artış fermente sütlerde pH'yı düşürür ve depolama sırasında pH değişimlerini engeller. Böylece probiyotik hücrelerin canlı kalma sürelerini artırır. Pek çok bifidobakteri türü diğer bağırsak bakterileri tarafından kullanılmayan laktoz, polisakkaritler ve oligosakkaritleri kullanır. Bu bileşenler bazen probiyotiklerin ve sindirim sistemindeki bifidobakterilerin bağırsakta yaşayabilen türlerinin gelişimini arttırmak için ürüne ilave edilir. Sütte bulunan antimikrobiyal maddeler, deterjan kalıntıları, dezenfektanlar ve bakteriyofajlar probiyotik mikroorganizmaların ve kullanılan bütün starter kültürlerin gelişmesini engeller.

Farklı bakteri suşları arasındaki gelişme özellikleri ve canlılıklarını koruyabilme özellikleri değişiktir. Probiyotik ve doğal starter kültürlerin kullanılmasında bu özellikler önemlidir. Bu yüzden ürünlerde karışık suşlar kullanılırken bu özelliklere dikkat edilmelidir. Genel olarak, laktobasiller daha yüksek oksijen toleransına ve düşük pH'da gelişebilme özelliklerine bağlı olarak bifidobakterlerden daha uzun süre canlı kalırlar. Farklı bifidobakter suşlarının karşılaştırılması sonucu *B. longum*'un sütte daha kolay geliştiği ve diğer bifidobakter'ler kadar oksijene duyarlı olmadığı tespit edilmiştir. *B. longum*'un safra tuzlarına toleranslı olduğu yapılan çalışmalar sonucu bulunmuştur. *B. animalis* fermente süt ürünlerinde iyi geliştiği için "bifidus" ürünlerinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu suşlar insan orijinli değildir. Bazı bifidobakteri türleri son ürünlerde litrede 0.4 g'dan fazla asetik asit üretirler. Bifidobakterilerin asetik asitin üretimi ortama *L. acidophilus*'un katılmasıyla artırılabilir. *L. acidophilus*, *B. bifidum*'un gelişimini teşvik etmektedir (Yaygın ve Kılıç, 1993; Svensson, 1999; Başyığıt, 2002).

Sütten daha yararlı olmalarından dolayı probiyotik türlerin kullanımına artan bir ilgi vardır. Probiyotik bakterinin aktivitesi ve gelişmesi için gerekli koşulların bilinmesi, üretim aşamasında uygun yöntemlerle ihtiyaç duyulan bu ürünlerin üretilmesini kolaylaştırmıştır (Başyığıt, 2002). *B. longum*'un bifidogenik faktörlerle Cottage ve Edam peynirinde kullanılması, *B. longum* ve *B. infantis* ile Cottage peynirine yumuşak yapının kazandırılması üzerine çalışmalar yapılmıştır. Soya sütünün laktik asit bakterileri ve bifidobakterler ile fermantasyonu üzerine çalışmalar da bulunmaktadır (Svensson, 1999). Başyığıt vd. (2003), tarafından laktik asit bakterilerinin depolama sırasındaki canlı kalabilme özelliklerinin belirlenmesi amacıyla yapılan bir araştırmada 10^7 düzeyindeki karışık suşlu probiyotik kültür ile yapılan dondurmada, probiyotik kültürün -20°C 'de 2 ay boyunca canlılığını devam ettirdiği tespit edilmiştir.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

Gastrit ve non-spesifik gastrit rahatsızlığı bulunan 21 bireyden alınan gastrik biyopsi ve dışkı örnekleri ile 13 sağlıklı bireyden sağlanan dışkı örnekleri izolasyon materyali olarak kullanılmıştır. Gastrik biyopsi örnekleri S.D.Ü. Araştırma ve Uygulama Hastanesi İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı'nda, Prof. Dr. Mehmet İŞLER ve ekibi tarafından alınmıştır. Çizelge 3.1'de izolasyon örneği alınan bireylerin yaş gruplarına ve cinsiyetlerine göre dağılımı verilmiştir.

Çizelge 3.1. İzolasyon örneği alınan bireylerin yaş gruplarına ve cinsiyetlerine göre dağılımı

Gruplar	YAŞLAR			CİNSİYET	
	<40 Yaş (A)	40-55 Yaş (B)	>55 Yaş (C)	Kadın	Erkek
Hasta	6	8	7	12	9
Kontrol	7	6	–	10	3

Bireylerin 13'ü 40 yaş altı gruptan, 14'ü 40-55 yaş grubundan 7'si ise 55-70 yaş grubundan seçilmiştir. 40 yaşın altı A , 40-55 yaş arası B ve 55 yaşın üstü ise C harfi ile gösterilmiştir. Kontrol grubu bireyleri son 1 ay içinde antibiyotik, son 15 gün içinde ağrı kesici ilaç kullanmamış ve kronik bir rahatsızlığı olmayanlar arasından seçilmiştir. 55-70 yaş grubunda sağlıklı bireylere ulaşamaması nedeniyle kontrol grubunda bu yaş grubu temsil edilmemiştir.

Bağırsak florasının ayrımı, tanısı ve izolatların antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesinde özel besiyerleri ve antibiyotik disklerinden (Oxoid) yararlanılmıştır. Kullanılan antibiyotikler ve konsantrasyonları Çizelge 3.2'de verilmiştir.

Çizelge 3.2. Kullanılan antibiyotikler ve konsantrasyonları

Antibiyotik	Konsantrasyon	Kısaltma
Amoxycillin	10 µg	AML
Amoxycillin-clavulanic acid	30 µg	AMC
Bacitracin	10 IU	B
Carbenicillin	100 µg	CAR
Cephalothin	30 µg	KF
Chloramphenicol	30 µg	C
Clindamycin	2 µg	DA
Nystatin	100 IU	NS
Ofloxacin	5 µg	OFX
Polymyxin	300 IU	PB
Streptomycin	10 µg	S
Vancomycin	30 µg	Va

3. 2. Metod

3.2.1. Örneklerin izolasyon için hazırlanması

3.2.1.1. Gastrik biyopsi örneklerinin izolasyon için hazırlanması

Endoskopi sırasında alınan gastrik biyopsi örnekleri, steril şartlarda 1 ml steril fizyolojik tuzlu su içerisine aktarılmış ve sterilize edilmiş homojenizatör (LG-1064 Tissue Grander, Glass Pestle) kullanılarak homojenize edilmiştir (Kontula vd., 2000).

3.2.1.2. Gayta örneklerinin izolasyon için hazırlanması

Darası tartılmış steril gayta kaplarında laboratuvara getirilen gayta örnekleri tartılıp, steril fizyolojik tuzlu su ile 1/10 oranında seyreltilmiş ve steril cam baget ile homojenize edilmiştir.

3.2.2. İzolasyon

Gayta örneklerinden 10^{-7} 'ye kadar steril fizyolojik tuzlu su (FTS) ile seri dilüsyonlar hazırlanmıştır. Hazırlanan 10^{-5} , 10^{-6} ve 10^{-7} dilüsyonlardan 0,1'er ml alınarak de Man Rogasa Sharp agar (MRS, Merck) besiyerine yayma kültür yöntemi ile ekim yapılmıştır.

Gastrik biyopsi örneklerinden ise 10^{-2} 'ye kadar dilüsyon hazırlanmıştır. Hazırlanan dilüsyonlardan aseptik koşullarda MRS agar besiyerine yayma kültür yöntemi ile ekim yapılmıştır. Ekim yapılmış olan Petri kutuları anaerobik koşullarda, anaerob jar içerisinde Oxoid Anaero Gen compact kullanılarak 37°C 'de 48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda izolatların koloni morfolojisi, Gram reaksiyonları ve katalaz aktiviteleri incelenmiştir (Erkkilä ve Petäjä, 2000). Sporsuz, Gram pozitif, kok ve çubuk şekilli, katalaz reaksiyonu negatif olan kolonilerin saf kültürleri elde edilip, stoklanmıştır (deMan vd., 1960; Aslım, 1994; Thornton, 1996; Hartemink vd., 1997; Sönmez vd., 1999).

3.2.2.1. Preparatların fotoğraflarının çekilmesi

Gram boyama sonrasında hazırlanan preparatlardan basil, kok ve bifidobakterlerin tipik mikroskobik görüntüsüne sahip olanların fotoğrafları S.D.Ü. Deneysel ve Gözlemsel Öğrenci Araştırma Merkezi'nde ışık mikroskobu (Nikon, Eclipse 600) kullanılarak çekilmiştir.

3.2.2.2. İzolasyonda kullanılan besiyerleri

Gayta örneklerinden laktobosilerin izolasyonu için MRS agar, bakterilerin aktifleştirilmesi için ise MRS sıvı besiyeri kullanılmıştır. Anerobik, mikroaerofilik olan laktobasillerin hava ile temasını engellemek için hazırlanan (% 0,05 sistein-HCl içeren MRS sıvı besiyerinin üzerine 0,5 ml sıvı parafin ilave edilmiştir (deMan vd., 1960; Aslım, 1994; Manero ve Blanch, 1999; Kontula vd., 2000; Temmerman vd., 2003).

MRS Sıvı Besiyeri	
Pepton	10.0 g
Maya ekstraktı	5.0 g
Et ekstraktı	10.0 g
D-Glikoz	20.0 g
Sodyum asetat 3H ₂ O	5.0 g
Dipotasyum hidrojen fosfat	2.0 g
Magnezyum sülfat 7H ₂ O	0.2 g
Manganez sülfat 4H ₂ O	0.05 g
Tween 80	1 ml
Triamonyum sitrat	2.0 g
Destile su	1000 ml

pH 6.2 ± 0.2 'ye ayarlanıp, 5'er ml'lik hacimler halinde tüplere dağıtılmıştır. Besiyeri içeren tüpler 121°C'de 15 dakika sterilize edilmiştir. MRS sıvı besiyerine %1.5 agar ilave edilerek MRS agar hazırlanmıştır.

3.2.2.3. Saf kültürlerin muhafaza edilmesi

Saf kültürlerin muhafaza edilmesinde % 10'luk Crossley Milk Medium (Oxoid) kullanılmıştır. Crossley Milk Medium besiyeri 3' er ml'lik hacimler halinde tüplere dağıtılmış, üzerine sıvı parafin eklenerek 121°C'de 5 dakika süreyle sterilize edilmiştir. Daha sonra MRS sıvı besiyerinde aktifleştirilmiş kültürlerden tüplere % 1 oranında inoküle edilerek 37°C'de inkübasyona bırakılmıştır. Besiyeri rengi maviden yeşile döndüğü zaman inkübasyona son verilerek, karıştırılan kültürler aseptik koşullarda eppendorf tüplerine alınmış ve -80°C'de muhafaza edilmiştir (Çakır, 1996 ; Manero ve Blanch, 1999).

3.2.2.4. Probiyotik olabilme özelliğinin belirlenmesi

Probiyotik olarak kullanılacak suşların belirlenmesi amacıyla düşük pH (pH 3,5) ve safra tuzuna dayanıklılık testleri yapılmıştır.

3.2.3.1. Düşük pH'ya (pH 3,5) dayanıklılık testi

Sterilize edildikten sonra pH'sı 3,5'e ayarlanan steril MRS sıvı besiyeri aseptik koşullarda steril spektrofotometre tüplerine 5'er ml olacak şekilde dağıtılmıştır. MRS sıvı besiyerinde 18 saatte geliştirilen taze kültürlerin pH'ları ölçülmüş ve %1 oranında pH'sı 3,5'e ayarlanmış MRS sıvı besiyerine inokülasyon yapılmıştır. Bu kültürler 37°C'de 3 saat inkübe edilmiş ve inkübasyonun 0., 30., 60., 90., 120., 150. ve 180. dakikalarında spektrofotometrede (Spectronic 20D) 650 nm dalga boyunda optik yoğunluklarındaki değişim tespit edilmiştir. Ayrıca inkübasyonun başlangıcında ve sonunda pH 3,5'deki kültürlerden 1'er ml alınarak, 9 ml steril fizyolojik tuzlu su ile 10⁻⁶'ya kadar seri dilüsyonları hazırlanmış ve 10⁻⁶, 10⁻⁵, 10⁻⁴ ve 10⁻³. dilüsyonlardan MRS Agara damla kültür yöntemiyle ekim yapılmıştır. Bu petri kutuları 37°C'de 48 saat inkübe edilmişlerdir. İnkübasyon sonunda MRS Agar üzerinde gelişen koloniler sayılmıştır (Prasad vd., 1999; Erkkilä ve Petäjä, 2000; Xanthopoulos vd., 2000).

3.2.3.2. Safra tuzuna dayanıklılık testi

%0,3 safra tuzu (Oxoid) içeren steril MRS sıvı besiyerine 18 saatlik taze kültürlerden %1 oranında inoküle edilmiştir. 37°C'de 3 saat boyunca inkübe edilmiş ve başlangıçtan itibaren her yarım saatte bir, spektrofotometrede 650 nm dalga boyunda optik yoğunluklarındaki değişim tespit edilmiştir. Ayrıca düşük pH'ya dayanıklılık testinde olduğu gibi 3 saatlik inkübasyonun başlangıcında ve sonunda kültürlerden 1'er ml alınarak 10⁻⁶'ya kadar seri dilüsyonları hazırlanmış ve 10⁻⁶, 10⁻⁵, 10⁻⁴, 10⁻³, dilüsyonlardan MRS agara damla kültür yöntemiyle ekim yapılmıştır. 37°C'de 48 saatlik inkübasyondan sonra MRS agar üzerinde gelişen koloniler sayılmıştır (Prasad vd., 1999; Erkkilä ve Petäjä, 2000; Xanthopoulos vd., 2000).

3.2.4. Laktobasillerin tanısı

İzole edilen tüm laktobasil suşlarının düşük pH'ya ve safra tuzuna dayanıklılık testleri yapıldıktan sonra, izolatların tanımlama testleri yapılmıştır. Klasik tanımlamada; glikozdan gaz oluşturma, arjininden amonyak oluşturma, 15°C ve

45°C'de gelişme testleri yapılmıştır. Ayrıca arabinoz, früktoz, galaktoz, ksiloz, laktoz, maltoz, mannitol, mannoz, melezitoz, melibioz, rafinoz, ramnoz, riboz, sellobioz, sorbitol, sükroz ve trehalozun karbon kaynağı olarak kullanımı testleri uygulanmıştır (deMan vd., 1960; Aslım, 1994; Thornton, 1996; Bogovic ve Rogelj, 1998; Sönmez vd., 1999).

3.2.4.1. Glikozdan gaz oluşturma

İzole edilen laktobasillerin glikozdan gaz oluşturma özelliklerinin belirlenmesi amacıyla durham tüpleri içeren MRS sıvı besiyeri kullanılmıştır (Schillinger ve Lücke, 1987). Steril besiyerine aseptik koşullarda taze kültürden % 1 düzeyinde inokülasyon yapılmış ve 37°C'de 24-48 saat inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda durham tüpleri içinde gaz oluşumu incelenmiştir (Harrigan ve Mc Cance, 1966; Kandler ve Weiss, 1986).

3.2.4.2. Arjininden amonyak oluşturma

Arjininden amonyak oluşturma yeteneğinin saptanmasında Arjinin MRS sıvı besiyeri kullanılmıştır. MRS sıvı besiyerine % 0.3 oranında L-arjinin monohidroklorit ilave edilmiş, 5'er ml besiyeri tüplere dağıtıldıktan sonra 121°C'de 15 dakika sterilize edilmiştir. Arjinin MRS sıvı besiyerine aseptik koşullarda aktif kültürlerden %1 oranında inokülasyon yapıldıktan sonra, 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Bu sürenin sonunda Nessler reaktifi kullanılarak renk değişimi incelenmiştir.

Nessler Reaktifi	
Potasyum iyodür	70 g
Civa iyodür	100 g
Potasyum hidroksit	100 g
Destile su	1000 ml

Arjinin MRS sıvı besiyerinde geliştirilmiş 24 saatlik kültürlerden beyaz bir zemin üzerine bir miktar (1ml veya 1 öze dolusu) aktarılmıştır. Üzerine aynı miktar Nessler reaktifi ilave edilmiştir. Renk kırmızı-turuncuya dönüşmüşse reaksiyon pozitif, renk

limon sarısı olmuşsa reaksiyon negatif olarak değerlendirilmiştir (Harrigan ve McCance, 1966; Kandler ve Weiss, 1986; Çakır, 1996; Sönmez vd., 1999).

3.2.4.3. 15°C ve 45°C’de gelişme

Aktif kültürlerden steril MRS sıvı besiyerine %1 oranında inokülasyon yapılmış ve 15°C ve 45°C’de 48 saat inkübe edilmiştir Süre sonunda MRS sıvı besiyerinde bulanıklık oluşumuna göre değerlendirme yapılmıştır. Bulanıklık görülen tüpler (+), görülmeyenler ise (-) olarak değerlendirilmiştir (Harrigan ve McCance, 1966; Kandler ve Weiss, 1986; Schillinger ve Lücke, 1987; Çakır, 1996; Sönmez vd., 1999).

3.2.4.4. Karbonhidrat fermantasyon testleri

MRS sıvı besiyerinden D-glikoz ve et ekstraktı çıkarılarak temel besiyeri hazırlanmıştır. Besiyeri bileşimine sterilizasyondan önce %0.004 oranında klorofenolred indikatörü ilave edilmiş, besiyeri tüplere 5’er ml dağıtıldıktan sonra 121°C’de 15 dakika sterilize edilmiştir. Testi yapılacak karbonhidratların (arabinoz, früktoz, galaktoz, ksiloz, laktoz, maltoz, mannitol, mannoz, melibioz, rafinoz, ramnoz, riboz, sellebiyoz, sorbitol, sükroz ve trehaloz) %10’luk çözeltisi hazırlanmış, tinalizasyondan sonra son konsantrasyon %2 olacak şekilde besiyerine ilave edilmiştir. Hazırlanan besiyerine aktif kültürlerden %1 oranında inokülasyon yapılarak 37°C’de 24-48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda tüplerdeki renk değişimi incelenmiştir (Harrigan ve McCance, 1966; Kandler ve Weiss, 1986; Schillinger ve Lücke, 1987; Çakır, 1996; Sönmez vd., 1999).

3.2.5. Enterokokların tanısı

İzotların düşük pH’ya ve safra tuzuna dayanıklılık testleri yapıldıktan sonra enterokokların tanısı için gerekli testler yapılmıştır (Cowan ve Steel, 1966;, Harrigan ve McCance, 1966; Tunail ve Köşker, 1986; Holt vd., 1994; Salminen ve Wright, 1998; Durlu-Özkaya, 2001).

3.2.5.1. 10°C ve 45°C’de gelişme

Aktif kültürlerden steril MRS sıvı besiyerine %1 oranında inokülasyon yapılarak 10°C’de ve 45°C’de 48 saat inkübasyona bırakılmış ve bu sürenin sonunda oluşan bulanıklık dikkate alınarak değerlendirme yapılmıştır (Sandine vd., 1962; Cowan ve Steel, 1966; Harrigan ve McCance, 1966; Tunail ve Köşker, 1986; Holt vd., 1994; Salminen ve Wright, 1998; Durlu-Özkaya, 2001).

3.2.5.2. pH 9.6’da gelişme

Bu test için Glikoz Fenol Fitaleyn sıvı besiyeri hazırlanmıştır. 5’er ml steril besiyeri içeren tüplere aktif kültürden %1 oranında inokülasyon yapılmış ve 37°C’de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Pembe besiyeri renginin açık sarıya dönüşmesi ve oluşan bulanıklığa göre değerlendirme yapılmıştır (Sandine vd., 1962; Cowan ve Steel, 1966; Harrigan ve McCance, 1966; Tunail ve Köşker, 1986; Holt vd., 1994; Salminen ve Wright, 1998; Durlu-Özkaya, 2001).

Glikoz Fenol Fitaleyn Sıvı Besiyeri

Nutrient broth	425 ml
%20’lik glikoz çözeltisi	25 ml
Glisin tampon çözeltisi	50 ml
%0.2’lik fenol fitaleyn çözeltisi	25 ml

Glisin tampon çözeltisi 0.6 g glisin (glikokol) ve 0.35 g NaCl 60 ml suda çözülmüş ve 0.1 N NaOH ile 100 ml’ye tamamlanarak hazırlanmıştır. %20’lik glikoz çözeltisi dışındaki maddeler ayrı ayrı 121°C’de 15 dakika sterilize edilmiş, glikoz ise steril filtreden geçirilerek sterilize edilmiştir. Sterilizasyondan sonra glikoz besiyerine ilave edilmiş ve pH 9,6’ya ayarlanmıştır. Daha sonra aseptik koşullarda 5’er ml olacak şekilde steril tüplere dağıtılmıştır (Sandine vd., 1962; Cowan ve Steel, 1966; Harrigan ve McCance, 1966; Tunail ve Köşker, 1986; Holt vd., 1994; Salminen ve Wright, 1998; Durlu-Özkaya, 2001).

3.2.5.3. %6.5 NaCl'de üreme

%6,5 NaCl'de üreme testi için Yeast Glikoz Lemko sıvı besiyeri kullanılmıştır. Bu besiyerinden 5'er ml içeren tüplere aktif kültürden %1 oranında inokülasyon yapılmış, 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmış ve üreme, gelişen bulanıklık dikkate alınarak değerlendirilmiştir (Sandine vd., 1962; Cowan ve Steel, 1966; Harrigan ve McCance, 1966; Tunail ve Köşker, 1986; Holt vd., 1994; Salminen ve Wright, 1998; Durlu-Özkaya, 2001).

Yeast Glikoz Lemko Sıvı Besiyeri

Pepton	10 g
Lab-lemko et ekstraktı	10 g
D-Glikoz	5 g
Maya ekstraktı	3 g
Destile su	1000 ml

Yukarıda verilen bileşime %6.5 olacak şekilde NaCl ilave edildikten sonra pH 7,0'ye ayarlanmış ve besiyeri 5'er ml olacak şekilde tüplere dağıtıldıktan sonra 121°C'de 15 dakika sterilize edilmiştir.

3.2.5.4. %0.1 metilen mavisi indirgeme testi

Steril %0.1 metilen mavisi içeren skim milk (%10) besiyerine aktif kültürden %1 oranında inokülasyon yapıldıktan sonra 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonucu mavi rengin beyaza dönüşümü ve pıhtı oluşumu esas alınarak sonuçlar değerlendirilmiştir (Sandine vd., 1962; Cowan ve Steel, 1966;, Harrigan ve McCance, 1966; Tunail ve Köşker, 1986; Holt vd., 1994; Salminen ve Wright, 1998; Durlu-Özkaya, 2001).

Metilen Mavisi İçeren Skim Milk Besiyeri: %10'luk skim milk besiyeri hazırlanarak, 121°C'de 5 dakika sterilize edilmiştir. %1'lik steril metilen mavisi hazırlanarak, sterilize edilmiş ve son konsantrasyon %0.1 olacak şekilde steril skim milk

besiyerine ilave edilmiştir. Bu şekilde hazırlanan besiyeri aseptik koşullar altında steril tüplere bölünmüş ve sterilite kontrolünden sonra kullanılmıştır.

3.2.5.5. Şeker fermantasyon testleri

MRS sıvı besiyerinden D-glikoz ve et ekstraktı çıkarılarak temel besiyeri hazırlanmıştır. Besiyeri bileşimine sterilizasyondan önce %0.004 oranında klorofenolred indikatörü ilave edilmiş, besiyeri tüplere 5'er ml dağıtıldıktan sonra 121°C'de 15 dakika sterilize edilmiştir. Testi yapılacak karbonhidratların (arabinoz, ksiloz, laktoz, mannitol, melibioz, rafinoz, ramnoz, sorbitol, sükroz ve trehaloz) %10'luk çözeltisi hazırlanmış tinalizasyondan sonra son konsantrasyon %2 olacak şekilde besiyerine ilave edilmiştir. Hazırlanan besiyerine aktif kültürlerden %1 oranında inokülasyon yapılmış üreme sonucu rengin sarı olması, asit oluşumunu ve reaksiyonun pozitif olduğunu göstermiştir (Harrigan ve McCance, 1966; Kandler ve Weiss, 1986; Schillinger ve Lücke, 1987; Çakır, 1996; Sönmez vd., 1999).

3.2.6. Laktik asit bakterilerinin antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi

Crosley Milk Medium'da muhafaza edilen saf laktobasil kültürleri ve enterokoklar MRS sıvı besiyerinde 16-18 saatlik inkübasyon süreleri ile 2 kez aktifleştirilmiştir. Bu kültürlerin optik yoğunlukları MRS sıvı besiyerinde McFarland ölçüm cihazı kullanılarak 1,5'e ayarlanmıştır (Danielsen vd., 2003). Duyarlılık denemeleri için 15 cm çapında Petri kutuları kullanılmıştır. MRS agar besiyeri 50 ml hazırlanmıştır. Sterilize edilip, 45-50°C'ye kadar soğutulan besiyerlerine optik yoğunluğu ayarlanmış suşlardan %1 oranında inokülasyon yapılmıştır. İyice karıştırılan besiyeri sonra steril Petri kutularına dökülmüştür. Bu şekilde hazırlanan bakteri aşılınmış MRS agar üzerine antibiyotik diskleri Petri kutusunun kenarından 10 mm ve birbirlerinden 15 mm uzaklıkta olacak şekilde yerleştirilmiştir. 37°C'de 18 saat inkübasyondan sonra Petri kutularında oluşan inhibisyon zonlarının çapı ölçülmüştür. Elde edilen inhibisyon alanı çaplarından suşların antibiyotiklere duyarlılıkları belirlenmiştir (Çavuş, 1985; Çetin ve Gürler, 1989; Sönmez vd., 1999).

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. İzolasyon Sonuçları

Örnekler 3.2.1.'de belirtildiği şekilde izolasyona hazırlanmış ve uygun dilüsyonlardan MRS Agar besiyerine ekim yapılmıştır. Anaerobik koşullarda 37°C'de 48 saatlik inkübasyon sonucunda sayım yapılmış ve farklı morfolojik özelliklere sahip koloniler seçilmiştir.

İzolatların suş numaralarının verilmesinde izolasyon kaynağı, hastanın yaşı ve sayısı dikkate alınmıştır. Hastalardan izole edilen suşlar için izolasyon materyali gayta ise A harfi ile, gastrik biyopsi ise B harfi ile gösterilmiştir. Yaş grupları ise hasta 40 yaşın altında ise A harfi ile, 40-55 yaş arasında ise B harfi ile, 55 yaşından büyükse C harfi ile simgelenmiştir. Bu harflerden sonra gelen sayı, hasta sayısını ifade etmektedir. En son rakamlar ise suş sayısıdır. Örneğin BC16-17 nolu suş gastrik biyopsiden izole edilmiş, 55 yaşın üzerindeki 16. bireyden sağlanmıştır.

Kontrol grubunda ise sadece gayta örneği alındığı için yaş grubuna ve hasta sayısına göre kodlama yapılmıştır. Kontrol grubundan alınan izolatlar K harfi ile simgelenmiştir. Bu şekilde yapılan tanımlamanın daha sonra sonuçların değerlendirilmesinde kolaylık sağlayacağı düşünülmüştür.

Bu çalışmada; laktobasil, enterokok, streptokok ve bifidobakterilerin sayımında ve izolasyonunda MRS+sistein agar kullanılmıştır. Dışkı kökenli laktik asit bakterilerinin izolasyonunda kullanılan besiyeri bu dört grubun gelişmesine de uygun bulunmuştur (Hartemink vd., 1997). Mccann vd. (1995) ticari probiyotiklerde bulunan laktik streptokokların sayımı amacıyla M17 agar ve MRS agar besiyerlerini kıyaslamış, iki farklı besiyerinde de elde edilen sayım sonuçları arasında önemli bir farklılık belirlememişlerdir.

Probiyotik bakterileri içeren süt ürünlerindeki *L. acidophilus* ve bifidobakterilerin sayımı amacıyla da MRS agar (Bile-MRS Agar ve LP-MRS Agar) kullanılmıştır.

MRS agar besiyeri koloni tanıma kolaylığı sağlaması ve doğru sayım sonucu alınabilmesi nedeniyle tercih edilmektedir (Vindexola ve Beinheimer, 1999).

Laktik asit bakterilerinin sayısı açısından hasta ve sağlıklı bireyler arasındaki farkı belirlemek amacıyla sayım yapılmıştır. Sayım sonuçları Çizelge 4.1’de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Hasta ve sağlıklı bireylerden sağlanan örneklerde laktik asit bakterilerine ait sayım sonuçları (kob/g)

HASTA			KONTROL	
Birey No	Gayta (A) kob/g	Gastik Biyopsi (B) kob/g	Birey No	Gayta (A) kob/g
1	-	-	1	$1,9 \times 10^9$
2	$2,4 \times 10^8$	$1,4 \times 10^3$	2	$9,9 \times 10^9$
3	$4,25 \times 10^8$	$9,7 \times 10^3$	3	$1,2 \times 10^{10}$
4	$3,0 \times 10^9$	-	4	$1,7 \times 10^9$
5	$1,05 \times 10^9$	-	5	$7,8 \times 10^8$
6	$1,8 \times 10^8$	$4,5 \times 10^7$	6	-
7	$1,7 \times 10^7$	$1,6 \times 10^3$	7	$1,7 \times 10^9$
8	$4,6 \times 10^8$	$3,9 \times 10^3$	8	$2,6 \times 10^{10}$
9	-	-	9	$1,3 \times 10^9$
10	$2,6 \times 10^9$	7×10^1	10	$5,9 \times 10^9$
11	-	$2,2 \times 10^3$	11	$1,6 \times 10^8$
12	-	-	12	$2,0 \times 10^8$
13	9×10^9	-	13	$1,0 \times 10^9$
14	$3,0 \times 10^{10}$	-		
15	-	$1,2 \times 10^2$		
16	$2,3 \times 10^8$	$9,5 \times 10^2$		
17	$2,2 \times 10^9$	-		
18	$3,1 \times 10^{10}$	$3,5 \times 10^3$		
19	$4,9 \times 10^8$	$3,5 \times 10^1$		
20	$1,6 \times 10^9$	-		
21	$2,4 \times 10^8$	-		

Gastrik biyopsi (GB) örnek miktarlarının azlığı nedeniyle 21 adet örneğin 11 adedinde sayım sonucu alınabilmiştir. GB örneklerinde laktik asit bakteri sayısı $3,5 \times 10^1$ - $4,5 \times 10^7$ kob/g arasında değişmekle birlikte, örneklerin çoğunda 10^2 - 10^3 kob/g olarak belirlenmiştir.

Marcon (1997), farklı diyetlerin uygulanması ve çevresel faktörlerin etkisiyle, dışkıdan yapılan sayımda stabil bir bağırsak mikroflorasında sayıları en azından 10^{10} kob/g'a ulaşan birkaç yüz farklı mikroorganizmanın bulunduğunu belirtmiştir. Bu flora beslenme, stres ve antibiyotik kullanımı gibi çevresel faktörlerden etkilenebilmektedir.

L. casei Shirota suşu kullanılarak fermente edilmiş bir süt ürünü ile beslenmenin bağırsak florası üzerindeki etkilerinin incelendiği çalışmada Rogosa Agarda yapılan sayımlarda toplam laktobasil sayılarının yaklaşık olarak 10^7 kob/g düzeyinde olduğu belirlenmiştir (Spanhaak vd., 1998).

Morelli vd. (2003) tarafından yapılan bir çalışmada ise 24-48 yaş arasındaki 12 gönüllü 15 gün boyunca insan orijinli liyofilize laktobasil suşları ve prebiyotiklerden oluşan yeni bir simbiyotik preparatı ile beslenmiş ve denemenin başında 5., 10. ve 15. günlerinde dışkıda toplam laktik asit bakterisi sayımı yapılmıştır. Gönüllülerden simbiyotik preparat ile beslenmeye başlamadan önce alınan dışkı örneklerinde, toplam laktik asit bakterisi sayısının 4×10^4 - $7,6 \times 10^7$ kob/g arasında değiştiği tespit edilmiştir.

Silvi vd. (2002) ise yaşlı bireylerden sağladıkları dışkı örneklerinde ortalama laktik asit bakterisi sayısını 10^9 kob/g düzeyinde belirlemişlerdir.

Yapılan çalışmada, hasta ve kontrol grubu dışkı örneklerinde benzer sonuçlar elde edilmiştir. Ancak kontrol grubunda $1,6 \times 10^8$ - $2,6 \times 10^{10}$ kob/g olan laktik asit bakteri sayısı, hasta grubunda $1,7 \times 10^7$ - $3,1 \times 10^{10}$ kob/g arasında değişmiştir. Yapılan Pearson K^2 testi sonucunda önem düzeyi %50'den büyük olduğu için ($p > 0,5$) her iki grup arasında laktik asit bakterilerinin sayısı açısından önemli farklılık bulunmadığı tespit

edilmiştir. Yapılan kaynak araştırması sırasında gastrik biyopsi örneklerinde sayım sonucuna dayanan bir bilgiye rastlanmadığı için sonuçlar kıyaslanamamıştır.

İzolasyon işlemleri sonucunda tüm gruplardan toplam 158 adet izolat elde edilmiştir. İzolasyon materyaline göre izolatların dağılımı Çizelge 4.2’de verilmiştir.

Çizelge 4.2. İzolasyon materyaline göre izolatların dağılımı

İzolasyon materyali	Hasta	Kontrol	Toplam
Gayta (G)	82	59	141
Gastrik biyopsi (GB)	17	–	17
Toplam	99	59	158

İzolatların 141 adedi gayta örneklerinden elde edilirken, gastrik biyopsi örneklerinden sağlanan izolat sayısı 17 adettir. Kontrol grubundan gastrik biyopsi alınmaması ve hasta gruplarından alınan gastrik biyopsi örneklerinin miktarının az olması izolat sayısını sınırlandırılmıştır.

İzolatların seçiminde laktobasillere özgü krem renkli, mat ve düzgün kenarlı kolonilere ve enterokoklara özgü küçük, beyaz ya da soluk renkli ve düzgün kenarlı tipik kolonilere öncelik verilmiştir. Bifidobakterilere özgü beyaz ya da krem renkli, küçük, mat koloniler de seçilerek izolatlar arasında yer almıştır. Saflık kontrolleri yapılan izolatların mikroskobik görünümü, Gram reaksiyonu ve katalaz aktiviteleri incelenmiştir. Çeşitli boyutlarda çubuk şekilli, G (+) görünümlü ve katalaz negatif izolatlar laktobasil, kok, G (+) görünümlü ve katalaz negatif izolatlar enterokok ya da streptokoklara özgü tanı testleri yapılmak üzere ayrılmıştır. Pleomorfik görünümlü, G (+), katalaz negatif izolatlar bifidobakter şuşları olarak değerlendirilmiştir. G (-) ve katalaz pozitif reaksiyon veren 14 adet izolat deneme dışı bırakılarak, 144 adet izolatla çalışmaya devam edilmiştir. Şekil 4.1, 4.2 ve 4.3’de izolatların mikroskobik görünümleri verilmiştir.

Şekil 4.1. Laktobasillerin mikroskopik görünümü

Şekil 4.2. Enterokokların mikroskopik görünümüleri

Şekil 4.3. Bifidobakterlerin mikroskopik görüntüleri

İzolatların mikroskopik görünümüne ve izolasyon kökenlerine göre dağılımı Çizelge 4.3’de verilmiştir.

Çizelge 4.3. İzolatların mikroskopik görünümüne ve izolasyon kökenlerine göre dağılımı

Bakteri	HASTA		KONTROL	
	G	GB	G	TOPLAM
Laktobasil	64	8	39	111
Kok	12	9	12	33
Bifidobakteri	6	—	8	14
TOPLAM	82	17	59	158

Yapılan çalışmada hastaların gaytasından 64 adet laktobasil, 12 adet kok ve 6 adet bifidobakter izole edilmiştir. Gastrik biyopsi örneklerinden ise 8 adet laktobasil ve 9 adet kok izole edilmiştir. Gastrik biyopsi örneğinden bifidobakter izole edilememiştir. Kontrol grubundan ise 39 adet laktobasil, 12 adet kok ve 8 adet bifidobakter olmak üzere toplam 59 adet bakteri izole edilmiştir.

4.2. Asit Koşullara Dayanım Testi Sonuçları

Probiyotik bakterilerin bağırsak sisteminde yararlı etkilerini gösterebilmeleri, midenin asit ortamında canlı olarak geçmelerine bağlıdır. Bu nedenle probiyotik bakterilerin seçiminde asidik koşullara dayanım önem taşımaktadır.

İzolasyonu tamamlanan 111 adet laktobasil, 33 adet kok izolatına 3.2.3.1.’de belirtildiği şekilde asidik koşullara dayanım testi uygulanmıştır. 14 adet bifidobakter izolatı canlılıklarını kısa sürede yitirdiğinden deneme dışı kalmıştır. Aside dayanımın belirlenmesi açısından optik yoğunluktaki değişim ve sayım yöntemlerinden yararlanmıştır. Her iki değerlendirme açısından izolatların 3 grupta toplandığı belirlenmiştir. 67 adet laktobasil suşunun sayım sonuçları değişmeden sabit kalırken, 21 adet suşun sayısı azalmıştır. 23 adet suş ise deneme periyodunda gelişme göstermiştir. Kokların aside dayanımları ise laktobasillere göre daha az bulunmuştur.

İzolaların 18 adedinde sayısal azalma belirlenirken, 4 adedi değişmeden kalmış, 11 adet izolatta ise artış belirlenmiştir. Laktobasillerin 58 ve kokların 19 adedinde optik yoğunluk ve sayım sonuçları uyum göstermemiştir.

Çizelge 4.4'de laktobasillerden, Çizelge 4.5'de ise enterokoklardan deneme başlangıcında ve 3 saat sonra elde edilen sayım sonuçları verilmiştir. Gelişme gözlenen izolatlara koyu renkle işaretlenmiştir.

Çizelge 4.4. Laktobasillerin pH 3,5 besiyerinde gelişme durumları (\log_{10} kob/ml)

Suşlar	Başlangıç	3. saat	Suşlar	Başlangıç	3. saat	Suşlar	Başlangıç	3. saat
AA1-1	6,39	6,17	AA13-59	6,30	5,22	AK2-7	6,20	6,36
AA1-2	7,36	7,94	AA14-60	7,27	7,07	AK2-8	6,46	6,55
AA2-3	5,89	5,56	BB16-64	5,65	5,50	AK3-10	6,50	6,53
AA4-8	6,98	5,54	AB16-65	6,0	6,22	AK4-11	7,30	7,34
AC3-10	7,78	7,79	AB16-661	6,27	6,20	AK4-120	6,95	6,71
AC3-11	7,51	6,77	AB16-67	6,0	6,06	AK4-121	6,04	6,81
AC3-13	7,04	6,88	AB16-68	6,81	6,86	AK4-13	7,07	6,39
AC3-14	5,64	5,63	AB16-69	6,79	6,39	AK4-14	5,30	6,30
AC3-16	7,49	7,39	AA17-72	6,28	5,69	AK4-16	6,49	6,17
AB5-17	4,75	4,63	AA17-73	6,75	6,86	AK4-18	5,32	7,17
AB5-18	6,53	6,57	AA17-74	6,43	5,60	AK4-19	5,54	5,41
AB5-19	4,02	4,31	BB16-75	6,81	7,20	AK4-20	5,97	6,30
AB5-20	6,40	5,89	AB16-77	7,51	7,0	AK4-21	6,85	7,13
AB6-21	6,38	5,71	BC18-80	6,67	6,49	AK5-22	6,67	6,59
AB6-25	5,87	5,91	BC18-81	6,18	6,58	AK5-23	6,36	6,57
AC3-27	5,74	5,68	AC18-82	5,41	5,88	AK6-24	6,69	6,89
AB7-30	5,56	5,77	AC18-84	5,62	5,83	AK6-26	5,11	4,65
AB7-31	3,20	3,51	AC18-85	6,69	6,69	AK6-27	6,55	6,27
AB7-32	6,89	6,97	AC18-86	7,07	6,83	AK7-28	7,11	7,43
AB7-33	6,44	5,74	AC18-87	6,16	6,29	AK7-29	7,39	7,04
AB7-34	6,87	7,07	AC18-88	5,69	5,91	AK7-31	7,11	7,0
AB7-35	6,04	6,32	AB19-93	7,17	6,36	BK8-34	6,96	6,52
BC8-36	5,52	6,39	AB19-94	6,78	6,53	BK8-35	7,04	6,85
AC8-38	5,23	5,65	BB19-95	5,96	6,39	BK8-36	7,14	7,07
AC10-39	7,0	6,83	AB20-96	6,05	6,19	BK9-38	3,82	3,45
AC10-40	7,32	7,32	AB20-961	7,72	7,77	BK9-39	7,34	7,49
AC10-41	6,45	6,17	AB20-97	6,17	6,04	BK9-40	6,06	6,56

Suşlar	Başlangıç	3. saat	Suşlar	Başlangıç	3. saat	Suşlar	Başlangıç	3. saat
AC10-42	6,37	6,19	AB20-98	3,69	4,50	BK9-41	6,60	6,93
AC10-43	7,41	7,41	AB20-99	6,68	5,23	BK9-42	6,40	6,47
BC11-45	5,69	5,52	AB20-100	6,21	6,29	BK10-44	6,76	6,61
AC12-46	6,82	6,17	AC21-101	7,39	7,54	BK10-47	5,48	5,63
AC12-47	7,30	7,49	AC21-102	6,05	5,65	BK10-48	7,74	6,69
BC12-50	6,72	6,66	AC21-103	5,76	5,77	BK11-50	4,26	6,23
AA13-51	6,66	6,61	AC21-1031	6,35	6,32	BK11-51	5,78	5,75
AA13-53	6,99	6,32	AC21-105	7,2	7,2	BK13-54	6,70	5,53
AA13-55	7,0	6,96	AK1-1	6,36	6,34	BK13-55	6,08	5,83
AA13-56	6,89	6,39	AK1-4	4,68	3,51	BK13-56	6,23	6,34

Çizelge 4.5. Enterokokların pH 3,5 besiyerinde gelişme durumları (log₁₀kob/ml)

Suşlar	Başlangıç	3. saat	Suşlar	Başlangıç	3. saat
AB4-6	4,55	4,50	AC18-83	6,84	6,92
AC3-9	7,39	5,25	BB19-90	6,38	6,90
AC3-15	6,51	6,47	BC21-104	6,25	6,46
AB6-22	5,79	5,57	AC21-106	6,74	6,73
AB6-23	6,11	5,50	AK1-3	7,23	6,11
AB6-24	6,30	6,56	AK1-5	6,30	6,94
BB6-26	6,70	6,79	AK4-18	5,91	5,51
AB7-29	5,51	5,56	AK6-25	6,95	6,98
AC12-48	6,87	5,90	AK7-31	6,71	5,56
AA14-58	3,20	3,51	AK7-32	6,13	5,77
BA15-62	5,95	5,78	BK9-43	5,68	5,36
BA15-63	6,68	6,20	BK10-45	6,00	5,74
AB16-66	6,76	7,39	BK10-46	7,07	7,07
BA17-70	6,27	6,11	BK11-49	6,40	5,69
BA17-71	4,85	3,20	BK12-52	4,91	5,36
BB16-76	6,0	5,61	BK13-53	5,69	5,69
BC18-78	5,63	6,11			

Çizelge 4.6 ve 4.7, 30 dakikada bir yapılan optik yoğunluk ölçümleri sonucundaki verilerin değerlendirilmesiyle elde edilmiştir. Bazı laktobasil suşlarına ait yoğunluk verileri Şekil 4.4'de, enterokok suşlarına ait olanlar ise Şekil 4.5'de gösterilmiştir. Laktobasillere ait ölçüm sonuçları Ek 1'de, enterokoklara ait ölçüm sonuçları ise Ek 2'de sunulmuştur.

Çizelge 4.6. Laktobasillerin pH 3,5 besiyerinde optik yoğunluğunda meydana gelen değişimler

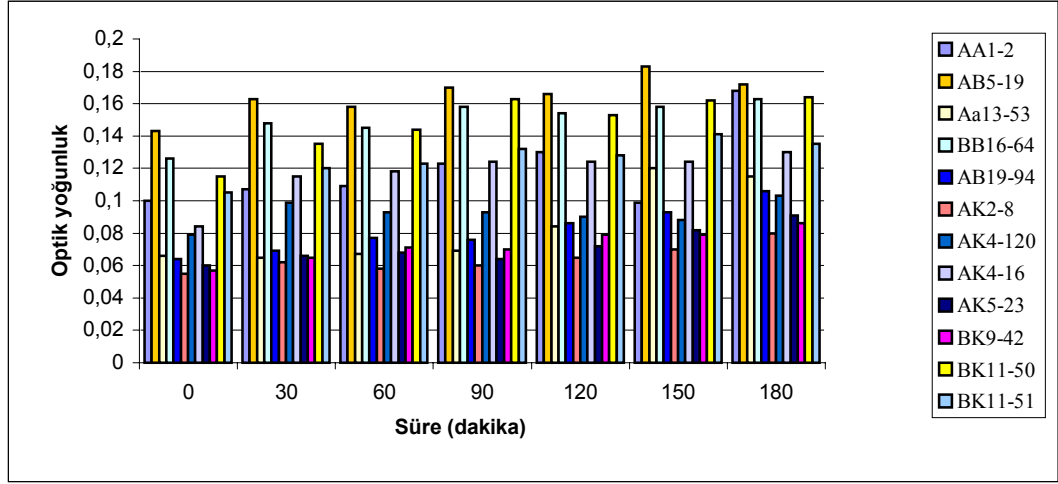
AA1-1 +	AB7-30 +	BC12-50 ++	BB16-75 ++	AB20-98 +++	AK4-13 *	BK8-35 *
AA1-2 +++	AB7-31 *	AA13-51 +	AB16-77 +++	AB20-99 *	AK4-14 ++	BK8-36 +++
AA2-3 +	AB7-32 ++	AA13-53 +++	BC18-80 ++	AB20-100 +	AK4-16 +++	BK9-38 +++
AA4-8 *	AB7-33 ++	AA13-55 +	BC18-81 *	AC21-101 ++	AK4-18 +++	BK9-39 ++
AC3-10 *	AB7-34 ++	AA13-56 *	AC18-82 ++	AC21-102 *	AK4-19 +++	BK9-40 +++
AC3-11 ++	AB7-35 *	AA13-59 +	AC18-84 ++	AC21-103 +++	AK4-20 ++	BK9-41 ++
AC3-13 *	BC8-36 ++	AA14-60 *	AC18-85 ++	AC21-1031 *	AK4-21 ++	BK9-42 +++
AC3-14 +	AC8-38 ++	BB16-64 +++	AC18-86 *	AC21-105 *	AK5-22 +++	BK10-44 *
AC3-16 ++	AC10-39 *	AB16-65 +	AC18-87 +	AK1-1 +	AK5-23 +++	BK10-47 *
AB5-17 +++	AC10-40 +++	BB16-661 +	AC18-88 ++	AK1-4 +	AK6-24 *	BK10-48 +
AB5-18 ++	AC10-41 +	AB16-67 +	AB19-93 *	AK2-7 *	AK6-26 +	BK11-50 +++
AB5-19 +++	AC10-42 +	AB16-68 ++	AB19-94 +++	AK2-8 +++	AK6-27 +++	BK11-51 +++
AB5-20 +	AC10-43 +	AB16-69 *	BB19-95 ++	AK3-10 +	AK7-28 ++	BK13-54 ++
AB6-21 ++	BC11-45 *	AA17-72 +++	AB20-96 ++	AK4-11 +++	AK7-29 +++	BK13-55 +
AB6-25 *	AC12-46 *	AA17-73 ++	AB20-961 +	AK4-120 +++	AK7-31 *	BK13-56 +++
AC3-27 *	AC12-47 ++	AA17-74 *	AB20-97 +	AK4-121 +	BK8-34 +	

*: Optik yoğunlukta düşüş var, +:Canlı fakat gelişme yok, ++ : Zayıf gelişme, +++ : İyi gelişme

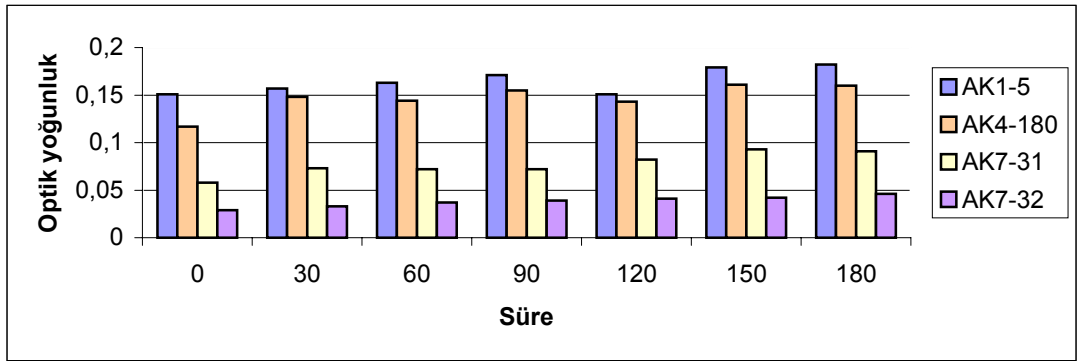
Çizelge 4.7. Enterokokların pH 3,5 besiyerinde optik yoğunluğunda meydana gelen değişimler

AB4-6 ++	BA15-63 ++	AK1-5 +++
AC3-9 +	AB16-66 ++	AK4-180 +++
AC3-15 *	BA17-70 ++	AK6-25 ++
AB6-22 +	BA17-71 ++	AK7-31 +++
AB6-23 *	BB16-76 *	AK7-32 +++
AB6-24 ++	BC18-78 ++	BK9-43 +
BB6-26 ++	AC18-83 ++	BK10-45 +
AB7-29 *	BB19-90 *	BK10-46 *
AC12-48 *	BC21-104 +	BK11-49 *
AA14-58 +	AC21-106 *	BK12-52 ++
BA15-62 *	AK1-3 +	BK13-53 +

*: Optik yoğunlukta düşüş var, +:Canlı fakat gelişme yok, ++ : Zayıf gelişme, +++ : İyi gelişme



Şekil 4.4. Laktobasillere ait optik yoğunluk verileri



Şekil 4.5. Enterokoklara ait optik yoğunluk verileri

Laktobasiller ve koklarda asit koşullarda azalma yaklaşık 10^1 - 10^2 kob/ml olarak gerçekleşirken, artışlar 10^1 kob/ml düzeyinde belirlenmiştir. Yapılan çeşitli çalışmalarda pH 3'de izolatların sayılarında belirgin bir değişim meydana gelmediği (Erkkilä ve Petäjä, 2000; Prasad vd., 1999) ya da sayının çok az düzeyde azaldığı (Prasad vd., 1999) bildirilmiştir. Vinderola ve Reinheimer (2003) ise mide öz suyuna benzer bir ortam hazırlayarak 24 adet probiyotik bakterinin asit ortamda dayanımını incelemiş, pH 3'de 3 saat sonunda *L. casei* ve *L. rhamnosus*'un 2,7-5,9 logaritmik birim azaldığını belirlemiştir. Ehrmann vd. (2002) ördek kökenli 112 adet laktik asit bakterisinden sadece 2 adedinin pH 3 ve 2'de 4 saat sonunda canlı kalabildiğini bildirmiştir.

Aside dayanım özelliğinin suşdan suşa farklılık göstermesi araştırma sonuçları arasında önemli değişime yol açmaktadır. Laktik asit bakterilerinin bağırsağa ulaşması için geçen 90 dakikalık sürede canlı kalması probiyotik olarak seçimleri açısından yeterli olmaktadır (Chang vd., 2001). Bu çalışmada hasta ve kontrol gruplarından izole edilen laktobasillerin % 54'ü kokların ise % 48'i pH 3.5'de 180 dakika boyunca canlılıklarını korudukları için probiyotik olma özelliği taşımaktadır.

4.3. Safra Tuzlarına Dayanım Testi Sonuçları

Laktik asit bakterilerinin probiyotik özellikte olabilmesi için mide asitliğinden geçebilen bakterilerin bağırsak sistemine ulaştıklarında safra tuzuna dirençli olmaları istenmektedir. Bu yüzden safra tuzlarına karşı direnç, probiyotik bakterilerin seçiminde diğer önemli bir kriterdir (Çakır 2003). Gilliland vd. (1984) ve Goldin ve Gorbach (1992) tarafından yapılan çalışmalarda farklı safra tuzu konsantrasyonları denenmiş ve % 0,3'lük safra tuzu konsantrasyonunun suşların safra tuzuna toleransının belirlenmesi için kritik miktar olduğu tespit edilmiştir.

Bu nedenle yapılan çalışmada da % 0,3'lük safra tuzu konsantrasyonu kullanılmıştır. Bu aşamada, izolasyonu tamamlanan 111 adet laktobasil ve 33 adet kok izolatına 3.2.3.2'de belirtildiği şekilde optik yoğunluktaki değişim ve sayım yöntemi kullanılarak safra tuzlarına dayanım testleri yapılmıştır. Elde edilen verilere göre 41 adet laktobasil suşunun sayısının arttığı, 21 adet suşun sayısının azaldığı ve 49 adet suşun sayısında ise değişim olmadığı belirlenmiştir. Bu sonuçlar asit koşullara dayanım testi sonuçları ile kıyaslandığında, laktobasillerin ve kokların safra tuzuna dayanımlarının aside dayanımdan daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Prasad vd. (1999) süt ürünlerinden izole ettiği probiyotik olabilecek 3 adet suşla yaptığı çalışmada suşların düşük pH'da canlılıklarını devam ettirirken, bağırsaklardaki yüksek safra konsantrasyonunda gelişip çoğalabildiklerini belirtmiştir.

Çizelge 4.8'de laktobasillerin, Çizelge 4.9'da ise enterokokların deneme başlangıcında ve 3 saat sonra elde edilen sayım sonuçları verilmiştir. Gelişme gözlenen izolatlar koyu renkle işaretlenmiştir.

Çizelge 4.8. Laktobasillerin safra tuzu içeren besiyerinde gelişme durumları (log₁₀kob/ml)

Suşlar	Başlangıç	3. saat	Suşlar	Başlangıç	3. saat	Suşlar	Başlangıç	3. saat
AA1-1	5,68	5,74	AA13-59	6,65	6,81	AK2-7	6,91	6,77
AA1-2	6,69	6,81	AA14-60	6,56	6,54	AK2-8	6,81	6,86
AA2-3	6,91	6,20	BB16-64	6,61	6,60	AK3-10	6,62	6,57
AA4-8	6,63	6,77	AB16-65	6,59	6,65	AK4-11	7,12	7,51
AC3-10	7,02	7,14	AB16-661	5,56	5,38	AK4-120	6,87	7,20
AC3-11	3,20	5,71	AB16-67	6,77	6,46	AK4-121	7,32	7,39
AC3-13	6,79	7,27	AB16-68	6,76	6,92	AK4-13	5,69	5,57
AC3-14	5,68	5,74	AB16-69	6,81	6,81	AK4-14	7,14	7,21
AC3-16	7,69	7,76	AA17-72	6,0	5,84	AK4-16	5,79	5,79
AB5-17	7,20	7,84	AA17-73	7,17	7,63	AK4-18	5,17	5,23
AB5-18	6,83	7,04	AA17-74	6,14	5,58	AK4-19	6,20	5,82
AB5-19	6,25	6,20	BB16-75	7,17	7,32	AK4-20	6,42	6,46
AB5-20	6,53	7,21	AB16-77	5,74	5,84	AK4-21	6,85	6,89
AB6-21	6,0	6,20	BC18-80	6,93	6,91	AK5-22	6,85	6,91
AB6-25	7,1	7,0	BC18-81	5,89	6,83	AK5-23	6,97	7,0
AC3-27	6,14	6,12	AC18-82	6,94	6,04	AK6-24	7,07	7,38
AB7-30	5,20	6,5	AC18-84	6,59	7,04	AK6-26	6,60	6,60
AB7-31	6,7	6,81	AC18-85	6,57	6,78	AK6-27	5,84	6,84
AB7-32	7,25	7,81	AC18-86	7,44	6,25	AK7-28	6,43	7,0
AB7-33	6,83	6,93	AC18-87	6,35	6,18	AK7-29	6,54	6,95
AB7-34	6,95	7,41	AC18-88	6,93	7,02	AK7-31	6,30	6,58
AB7-35	6,3	6,27	AB19-93	6,85	5,78	BK8-34	6,56	6,07
BC8-36	6,30	6,7	AB19-94	6,90	7,36	BK8-35	6,34	6,38
AC8-38	6,81	6,23	BB19-95	6,41	5,97	BK8-36	6,81	6,55
AC10-39	6,70	6,80	AB20-96	6,93	6,20	BK9-38	6,51	6,58
AC10-40	7,95	7,68	AB20-961	6,80	7,17	BK9-39	7,34	7,49
AC10-41	6,60	7,72	AB20-97	6,41	7,44	BK9-40	6,07	7,0
AC10-42	6,76	7,40	AB20-98	6,53	6,85	BK9-41	6,63	6,60
AC10-43	7,52	7,75	AB20-99	6,60	6,92	BK9-42	6,0	6,68
BC11-45	5,91	5,48	AB20-100	6,17	6,14	BK10-44	7,30	7,32
AC12-46	7,64	6,53	AC21-101	7,20	7,25	BK10-47	6,63	6,04
AC12-47	7,36	8,25	AC21-102	6,61	6,72	BK10-48	5,50	5,53
BC12-50	6,75	7,15	AC21-103	6,23	6,11	BK11-50	5,62	5,69
AA13-51	6,11	7,38	AC21-1031	5,36	5,49	BK11-51	6,69	7,25
AA13-53	7,06	7,17	AC21-105	6,95	7,47	BK13-54	6,74	6,90
AA13-55	6,55	6,50	AK1-1	5,95	6,17	BK13-55	6,69	5,93
AA13-56	6,28	6,70	AK1-4	7,30	6,63	BK13-56	6,82	7,34

Çizelge 4.9. Enterokokların safra tuzu içeren besiyerinde gelişme durumları (log₁₀kob/ml)

Suşlar	Başlangıç	3. saat	Suşlar	Başlangıç	3. saat
AB4-6	6,43	6,14	AC18-83	6,84	6,92
AC3-9	6,41	6,34	BB19-90	6,07	6,04
AC3-15	6,51	6,63	BC21-104	6,41	5,95
AB6-22	6,41	6,20	AC21-106	7,04	7,11
AB6-23	5,39	5,17	AK1-3	6,69	6,90
AB6-24	6,34	6,20	AK1-5	6,14	7,74
BB6-26	6,55	6,86	AK4-18	5,54	6,69
AB7-29	4,69	5,69	AK6-25	6,76	7,0
AC12-48	6,79	6,46	AK7-31	7,34	7,36
AA14-58	6,79	7,11	AK7-32	7,0	6,51
BA15-62	6,04	6,38	BK9-43	5,66	6,04
BA15-63	7,80	6,74	BK10-45	6,77	6,38
AB16-66	6,97	6,91	BK10-46	6,47	6,61
BA17-70	6,89	6,89	BK11-49	7,39	6,14
BA17-71	6,41	6,61	BK12-52	6,81	6,69
BB16-76	7,20	6,0	BK13-53	7,04	7,11
BC18-78	6,71	6,68			

Çizelge 4.10 ve 4.11, 30 dakikada bir yapılan optik yoğunluk ölçümleri sonucundaki verilerin değerlendirilmesiyle elde edilmiştir. Bazı laktobasil suşlarına ait yoğunluk verilerine dayanılarak çizilen gelişim kurveleri Şekil 4.6'da, enterokok suşlarına ait gelişim kurveleri ise Şekil 4.7'de gösterilmiştir. Tüm laktobasil suşlarına ait ölçüm sonuçları Ek 3'de, enterokoklara ait ölçüm sonuçları ise Ek 4'de sunulmuştur.

Çizelge 4.10. Laktobasillerin safra tuzu içeren besiyerinde gelişme durumları

AA1-1 *	AB7-30 ++	BC12-50 +++	BB16-75 +++	AB20-98 +++	AK4-13 +	BK8-35 +
AA1-2 +++	AB7-31 +++	AA13-51 +++	AB16-77 ++	AB20-99 +++	AK4-14 ++	BK8-36 +++
AA2-3 ++	AB7-32 ++	AA13-53 ++	BC18-80 ++	AB20-100 ++	AK4-16 +	BK9-38 ++
AA4-8 +++	AB7-33 ++	AA13-55 ++	BC18-81 ++	AC21-101 +++	AK4-18 ++	BK9-39 ++
AC3-10 +++	AB7-34 +++	AA13-56 ++	AC18-82 +++	AC21-102 *	AK4-19 ++	BK9-40 +++
AC3-11 ++	AB7-35 ++	AA13-59 ++	AC18-84 ++	AC21-103 ++	AK4-20 ++	BK9-41 ++
AC3-13 +++	BC8-36 +++	AA14-60 *	AC18-85 ++	AC21-1031 ++	AK4-21 +	BK9-42 *
AC3-14 *	AC8-38 +++	BB16-64 ++	AC18-86 +++	AC21-105 ++	AK5-22 ++	BK10-44 ++
AC3-16 +++	AC10-39 +++	AB16-65 ++	AC18-87 ++	AK1-1 +	AK5-23 +++	BK10-47 ++
AB5-17 +++	AC10-40 +++	BB16-661 ++	AC18-88 ++	AK1-4 ++	AK6-24 +++	BK10-48 ++
AB5-18 ++	AC10-41 +++	AB16-67 +++	AB19-93 ++	AK2-7 ++	AK6-26 +	BK11-50 ++

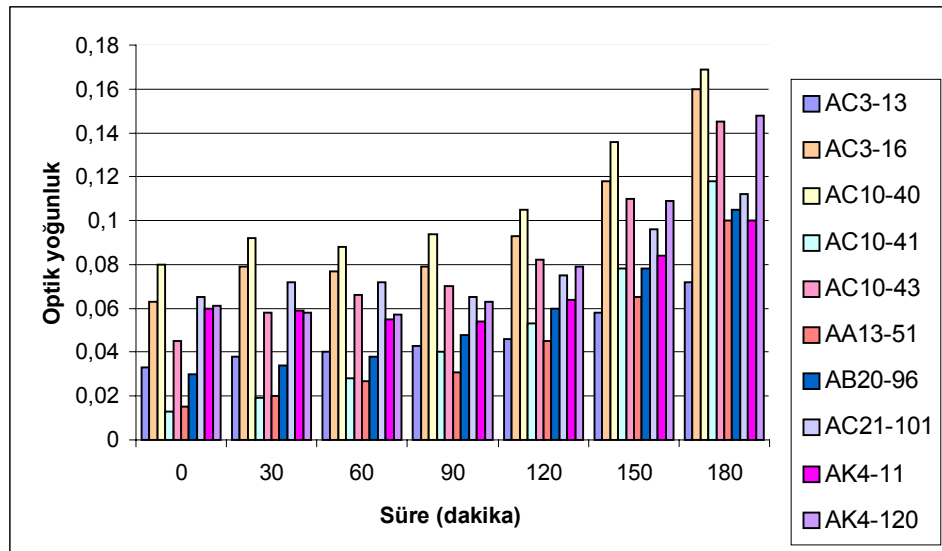
AB5-19 ++	AC10-42 ++	AB16-68 +++	AB19-94 ++	AK2-8 ++	AK6-27 ++	BK11-51 ++
AB5-20 ++	AC10-43 +++	AB16-69 ++	BB19-95 ++	AK3-10 ++	AK7-28 +++	BK13-54 ++
AB6-21 ++	BC11-45 ++	AA17-72 ++	AB20-96 +++	AK4-11 +++	AK7-29 ++	BK13-55 ++
AB6-25 ++	AC12-46 ++	AA17-73 +++	AB20-961 +++	AK4-120 +++	AK7-31 ++	BK13-56 +++
AC3-27 ++	AC12-47 ++	AA17-74 ++	AB20-97 ++	AK4-121 ++	BK8-34 ++	

*: Optik yoğunlukta düşüş var, +:Canlı fakat gelişme yok, ++ : Zayıf gelişme, +++ : İyi gelişme

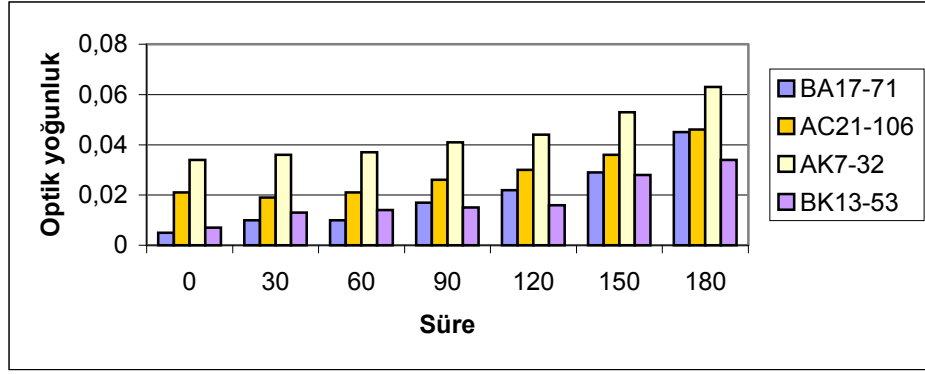
Çizelge 4.11. Enterokokların safra tuzunda optik yoğunluğunda meydana gelen değişimler

Safra Tuzu		
AB4-6 +	BA15-63 ++	AK1-5 ++
AC3-9 ++	AB16-66 ++	AK4-180 ++
AC3-15 ++	BA17-70 ++	AK6-25 ++
AB6-22 ++	BA17-71 +++	AK7-31 ++
AB6-23 ++	BB16-76 +	AK7-32 +++
AB6-24 ++	BC18-78 ++	BK9-43 ++
BB6-26 ++	AC18-83 ++	BK10-45 ++
AB7-29 ++	BB19-90 ++	BK10-46 ++
AC12-48 ++	BC21-104 ++	BK11-49 ++
AA14-58	AC21-106 +++	BK12-52 ++
BA15-62 ++	AK1-3 ++	BK13-53 +++

*: Optik yoğunlukta düşüş var, +:Canlı fakat gelişme yok, ++ : Zayıf gelişme, +++ : İyi gelişme



Şekil 4.6. Laktobasillere ait optik yoğunluk verileri



Şekil 4.7. Enterokoklara ait optik yoğunluk verileri

Yapılan bu çalışmada laktobasil suşlarının % 81'inin %0.3'lük safra tuzu konsantrasyonunda gelişebildiği tespit edilmiştir. Prasad (1999) yaptığı çalışmada elde ettiği izolatların %77'sinin safra tuzunda gelişebildiğini belirtmiştir. Bu sonuç çalışmamızda elde edilen sonuç ile yakın benzerlik göstermektedir. Çalışmada sayıları azalan izolatlarda canlılığın % 80 oranında korunduğu belirlenmiştir. Bu türlerin probiyotik özellikte olabileceği belirtilebilir, fakat düşük pH+safra tuzlarına dirençleri de incelenmelidir. Laktobasiller ve koklarda safra tuzu içeren besiyerinde sayısal artış ve azalışların 10^1 kob/ml düzeyinde olduğu belirlenmiştir. Erkkilä ve Petäjä, (2000) pH 7'de % 0,3'lük safra tuzu konsantrasyonunda bakteri sayısında değişme belirlemezken düşük pH'da hücrelerin safra tuzundan daha fazla etkilendiğini belirlemişlerdir.

4.4. Tanı Testi Sonuçları

4.4.1. Laktobasil tanısı

Probiyotik olarak seçilebilecek suşların belirlenmesinde düşük pH ve/veya safra tuzlarına dayanım testleri önem taşımakla birlikte bu özellikler taksonomik açıdan bilgi verici nitelikte değildir. Son yıllarda probiyotiklerin patojen içermemesi ve tanımlanmış suşlardan oluşturulması yönündeki çabalar yoğunluk kazanmıştır. Hem oluşturulması planlanan probiyotiğin güvenilir olması hem de bağırsak florasını oluşturan türlerin belirlenmesi açısından tanı testleri önem taşımaktadır. Bu çalışmanın başlangıcında özellikle sindirim sisteminde canlılığını koruyabilen izolatların tanısı gerçekleştirilmiştir.

Laktobasillerin morfolojik özelliklerini gösteren izolatların 15⁰C ve 45⁰C’de gelişme, glikozdan gaz ve arjininden amonyak oluşturma durumları incelenmiştir. Hammes ve Vogel, (1995) tarafından yeniden düzenlenen laktobasil taksonomisinde hücre duvarının peptidoglukan yapısı, bazı enzimlerin elektroforetik hareketliliği % G+C oranı, 15⁰C’de gelişme ve arjininden amonyak oluşturma testlerine ait sonuçlar dikkate alınmaktadır. Bu çalışmada gerçekleştirilen 15⁰C’de gelişme ve arjininden amonyak oluşturma testleri dikkate alınarak düzenlenen Çizelge 4.12. incelendiğinde;

1. Genel olarak 15⁰C’de gelişmeyen ve arjininden amonyak oluşturmeyen obligat homofermantatif (Grup 1) özellikte 18 adet,
2. Çoğunlukla 15⁰C’de gelişip, arjininden amonyak oluşturmeyen fakültatif heterofermantatif (Grup 2) özellikte 10 adet,
3. Çoğunlukla her iki teste pozitif reaksiyon veren türleri içeren obligat heterofermantatif (Grup 3) özellikte 27 adet izolat belirlenmiştir.

Çizelge 4.12. İzolatların fermentatif özelliklerine göre gruplandırılması

Grup I	Grup II	Grup III
AC3-13	AC3-14	AC3-16
AB5-18	AB5-18	AB5-19
AC10-42	AB5-20	AB7-30
AC12-46	AB6-21	AB7-33
AC12-47	AC3-27	BC8-36
BC12-50	AB6-77	AC8-38
AA13-51	BC18-81	AC10-39
AA13-59	AB20-100	AC10-40
BB16-64	AC21-1031	AC10-41
AA17-72	AC21-105	AC10-43
AA17-73		AA13-5
BC18-80		AB16-65
AC18-85		AB16-69
AK4-13		AC18-84
AK4-19		AB20-96
AK8-34		AB20-98
AK10-44		AC21-101
AK11-50		AK1-4
		AK4-14
		AK4-20
		AK6-26
		AK6-27
		AK8-35
		AK10-49
		AK11-51
		AK13-54
		AK13-55

15⁰C’de gelişme göstermeyen ancak arjininden amonyak oluşturan AA1-1, BB16-75, AC18-87 ve AB19-93 suşlarının ise bu özelliklere sahip türleri içeren Grup 1 veya Grup 3’e dahil olabileceği belirlenmiştir. İzolatların gruplandırılmasında moleküler düzeyde gerçekleştirilen testlerin uygulanması önem taşımaktadır. Bu nedenle yapılacak çalışmalarla klasik tanı testlerinin modern moleküler tekniklerle desteklenmesi planlanmaktadır.

Laktobasillerin klasik testlerle tür düzeyinde tanısında çeşitli karbonhidratları fermente etme özellikleri incelenmektedir (Kandler ve Weiss, 1986). Bu çalışmada, laktobasil suşlarının 16 adet karbonhidratı fermente etme özelliği 3.2.4.4.’de açıklandığı şekilde incelenmiş ve suşlar tür düzeyinde adlandırılmıştır. Ancak bazı suşların bazı karbonhidratları fermente etme özelliklerinin adlandırdıkları türle uyumlu olmadığı belirlenmiştir. En fazla iki karbonhidratı fermente etme açısından farklılık gösteren suşlar diğer özellikleri dikkate alınarak değerlendirilmiştir. Bu izolatlar tanı test sonuçlarının verildiği Ek 5 üzerinde işaretlenmiştir.

Bu test sonuçlarına göre toplam 111 suşdan 19 adedinin *L. agilis* (% 17), 14 adedinin *L. fermentum* (% 12), 10 adedinin *L. maltaromicus* (% 9), 10 adedinin *L. murinus* (% 9) ve 8 adedinin *L. plantarum* (% 7) olduğu belirlenmiştir. Tanısı gerçekleştirilen diğer türler ise *L. acidophilus*, *L. bavaricus*, *L. brevis*, *L. casei*, *L. casei* subsp. *casei*, *L. casei* subsp. *rhamnosus*, *L. fermentum* var. *cellobiosus*, *L. intestinalis*, *L. johnsonii* ve *L. rhamnosus*’dur. 28 adet suşun ise tanısı yapılamamıştır. Çizelge 4.13.’de izolatların izolasyon kaynakları, izole edildikleri bireylerin yaş grupları ve türlere göre yüzde dağılımları verilmiştir.

Çizelge 4.13. Laktobasillerin izolasyon kaynakları ve yaş gruplarına göre dağılımı

İZOLATLAR	HASTA		YAŞ DAĞILIMI			KONTROL	YAŞ DAĞILIMI	
	G	GB	A	B	C		A	B
<i>L. acidophilus</i>	1 (%1,5)	-	-	1(%3,5)	-	1(%2,5)	1(%4)	-
<i>L. agilis</i>	11 (%17)	1 (%14)	3 (%23)	2 (%7)	7 (%23)	7 (%18)	4 (%16)	3(%20)
<i>L.bavaricus</i>	1(%1,5)	-	-	1(%3,5)	-	-	-	-
<i>L. brevis</i>	1 (%1,5)	-	-	1(%3,5)	-	-	-	-
<i>L. casei</i>	3 (%4,5)	-	-	1(%3,5)	2(%6)	1 (%2,5)	-	1(%7)
<i>L. casei</i> subsp. <i>casei</i>	3 (%4,5)	-	-	1(%3,5)	2(%6)	2(%5)	1(%4)	1(%7)
<i>L.casei</i> subsp. <i>rhamnosus</i>	1 (%1,5)	1 (%14)	-	1(%3,5)	1(%3)	2(%5)	2(%8)	-
<i>L. fermentum</i>	11 (%17)	-	2 (%15)	6(%20)	3 (%3)	3(%7,5)	1(%4)	2(%13)
<i>L. fermentum</i> var. <i>cellobiosus</i>	1 (%1,5)	-	-	-	1(%3)	-	-	-
<i>L. intestinalis</i>	2 (% 3)	-	1 (%7,6)	-	1(%3)	1(%2,5)	1(%4)	-
<i>L. johnsonii</i>	1 (% 1,5)	-	-	-	1 (%3)	-	-	-
<i>L. matoramicus</i>	8 (%12)	1(%14)	1 (%7,6)	3(%10)	5(%16)	1(%2,5)	1(%4)	-
<i>L. murinus</i>	4 (%6)	3 (%42)	-	4 (%14)	3(%10)	3(%7,5)	1(%4)	2(%13)
<i>L. plantarum</i>	1 (%1,5)	1 (%14)	-	-	2(%6)	6(%15)	5(%20)	1(%7)
<i>L. rhamnosus</i>	1 (%1,5)	-	-	1(%3,5)	-	1(%2,5)	1(%4)	-
Tanımsız	16 (%24)	-	6(%46)	7(%24)	3(%9)	12(%30)	7(%28)	5(%33)
TOPLAM	66	7	13	29	31	40	25	15

Elde edilen bulgular daha önce yapılmış çalışmaların bulgularıyla benzerlikler göstermekle birlikte, izolatların türlere göre dağılımı ve yüzdeleri açısından farklılıklar da bulunmaktadır. Japon bireylere ait dışkı örneklerinden izole edilen 84 laktobasilin DNA-DNA hibridizasyonu ile tanısı yapılmış ve izolatların 11 adedi *L. crispatus*, 9 adedi *L. fermentum*, 25 adedi *L. gasseri*, 5 adedi *L. plantarum*, 13 adedi *L. paracasei*, 2 adedi *L. reuteri*, 4 adedi *L. rhamnosus* ve 15 adedi *L. salivarius* olarak adlandırılmıştır (Song vd., 1999). Bu çalışmada elde edilen izolatlar arasında *L. crispatus*, *L. gasseri*, *L. reuteri* ve *L. salivarius* bulunmamakla birlikte Song vd. (1999)'nin bulgularından farklı olarak *L. acidophilus*, *L. agilis*, *L. bavaricus*, *L. brevis*, *L. casei*, *L. casei* subsp. *casei*, *L. fermentum* var. *cellobiosus*, *L. intestinalis*,

L. johnsonii, *L. maltaramicus* ve *L. murinus* bulunmaktadır. Japonlarda florada 8 tür ağırlık kazanırken yapılan çalışmada 15 türün olduğu belirlenmiştir. Her iki çalışmada da tanısı yapılmış ortak türler ise *L. fermentum*, *L. plantarum* ve *L. rhamnosus*'dur.

Aynı araştırmacıların yaptığı diğer bir çalışmada ise, dışkı örneklerinde yaygın olarak bulunan laktobasil türlerinin *L. acidophilus*, *L. crispatus*, *L. delbrueckii*, (subsp. *bulgaricus* ve subsp. *lactis*), *L. fermentum*, *L. gasseri*, *L. johnsonii*, *L. paracasei*, (subsp. *paracasei* ve subsp. *tolerans*), *L. plantarum*, *L. rhamnosus*, *L. reuteri*, *L. salivarius*, (subsp. *salicinus* ve subsp. *salivarius*) olduğu bildirilmiştir (Song vd., 2000). Tür çeşitliliği açısından (14 tür) çalışmamızla benzerlik bulunmasına rağmen, izole edilen türler açısından farklılıklar gözlenmiştir. Beslenme alışkanlıkları, çevresel faktörler, hastalıklara bağlı olarak ortaya çıkan fiziksel ve zihinsel streslerden kolaylıkla etkilenen bağırsak florası bireyden bireye farklılık gösterebildiği gibi (Lizko vd., 1984, Ahrné, 1998) farklı iki ülkenin insanlarında da floranın farklılık göstermesi olağan kabul edilebilir.

Ahrné vd., (1998) rektal biyopsi örneklerinden izole ettikleri laktobasil türlerinin ağırlıklı olarak *L. paracasei* subsp. *paracasei*, *L. plantarum* ve *L. rhamnosus*'dan oluştuğunu, bu türlerin sırasıyla bireylerin % 27, % 52, %26'sından izole edildiğini bildirmişlerdir. *L. plantarum*'un baskın laktobasil türü olduğunu gösteren bulgular bizim bulgularımızla benzerlik göstermemektedir. Ayrıca diğer türler açısından da farklı sonuçlar elde edilmiştir. *L. acidophilus*'un sindirim sistemindeki baskın laktobasil türü olduğunu ileri süren çalışmalarla (Moore ve Holdman, 1974; Hertges, 1983) çalışmamız arasında da benzerlik bulunmamaktadır. *L. plantarum* bitkisel materyallerden izole edilebilmektedir ve son yıllarda insan sindirim sisteminin normal mikroflorasındaki yeri dikkat çekici bulunmaya başlanmıştır (Cebeci ve Gürkan, 2003). Sönmez vd. (1999)'nin etlik piliçlerde probiyotik kullanımı üzere yaptığı çalışmada da probiyotik verilen civcivlerin bağırsak florasında *L. plantarum*'un baskın tür olduğu belirlenmiştir.

Kontula vd. (2000) ise bağırsak biyopsilerinden izole edilen türleri *L. cellobiosus*, *L. paracasei*, *L. rhamnosus* ve *L. salivarius* olarak bildirmişlerdir. Yapılan çalışmada gastrik biyopsi örneklerinde bulunan laktobasil türleri ise *L. agilis*, *L. maltaromicus*, *L. murinus*, *L. plantarum* ve *L. rhamnosus*'dur. Bu türlerin tümüne dışkı örneklerinde de rastlanmıştır. Yapılan kaynak araştırmasında gastrik biyopsi florasına ait bulgulara rastlanmadığından kıyaslama yapılması mümkün olmamıştır. Daha sonra yapılacak çalışmalarla izolat sayısının artırılması ve tutunma özelliklerinin incelenmesi yoluyla doğal floranın midedeki etkilerinin belirlenmesi planlanmaktadır.

Türlerin hasta ve kontrol gruplarına göre dağılımında genel olarak benzerlikler bulunmakla birlikte *L. fermentum*, *L. maltaromicus*, *L. plantarum* ve *L. rhamnosus*'un düzeylerinde farklılıklar görülmüştür. Fakat Pearson K² testi ile yapılan istatistik analiz sonucunda türler arasında önemli bir farklılığın bulunmadığı belirlenmiştir. *L. plantarum* hasta grubu dışkısında %1.5, kontrol grubunda ise %15 oranında bulunmuştur. Hasta grubundaki rahatsızlıklar floranın dengesini bozmuş olabileceği gibi *L. plantarum*'un herhangi bir nedenle bulunmaması rahatsızlığa yol açmış da olabilir. *L. fermentum* ve *L. maltaromicus*'un hasta grubu doğal florasında, kontrol grubuna göre daha fazla bulunduğu belirlenmiştir. Sağlıklı bireylerde doğal floranın sağlık üzerindeki olumlu etkileri bilinmekle beraber, suşlar arasındaki etkileşimler ve bunların yansımaları hakkında yeterli bilgi bulunmamaktadır. Hasta grubu florasında bulunan *L. bavaricus*, *L. brevis*, *L. fermentum* var. *cellobiosus* ve *L. johnsonii*'ye kontrol grubu doğal florasında rastlanmamıştır. Özellikle ticari preparatların ve fermente süt ürünlerinin üretilmesinde yaygın olarak kullanılan *L. johnsonii*'nin hasta grubu florasından izole edilmesi oldukça ilginçtir. Ancak her 4 izolatın da 1'er adet elde edilebilmiş olması ve kontrol grubu ile hasta grubu sayılarının farklılığı bu sonuca yol açmış olabilir.

55 yaş üstü bireylere ait sonuçlarımız, 65-87 yaş grubundaki sağlıklı bireylerin dışkı örneklerinin incelendiği bir Avrupa Birliği projesinin sonuçları ile benzerlikler ve farklılıklar göstermiştir. Silvi vd. (2003)'nin gerçekleştirdiği çalışmada izole edilen suşların türlere göre dağılımı incelenmiş; *L. acidophilus*, *L. brevis*, *L. buchneri*, *L.*

cellobiosus, *L. curvatus*, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *L. fermentum*, *L. paracasei* subsp. *paracasei*, *L. plantarum*, *L. rhamnosus*, *L. salivarius* ve *Lactobacillus sp.*'ın varlığı belirlenmiştir. *L. acidophilus*, *L. brevis*, *L. fermentum*, *L. plantarum*, *L. rhamnosus* türleri her iki çalışmada da ortak olan türlerdir. Ancak türlerin oransal dağılımında farklılıklar bulunmaktadır.

Tüm çalışmalar dikkate alındığında *L. acidophilus*, *L. fermentum*, *L. plantarum* ve *L. rhamnosus*'un doğal floranın üyelerinden olduğu sonucuna varılmaktadır. Bunlardan üçü ticari probiyotik preparatlarının bileşiminde de yaygın olarak kullanılmaktadır. Çakır'ın (2003) yaptığı çalışmada piyasadan toplanan 11 adet ticari probiyotikte, *L. acidophilus*, *L. plantarum* ve *L. rhamnosus* suşlarının bulunduğu belirlenmiştir. Ancak florada bulunmasına rağmen *L. fermentum*'un ticari probiyotik kültürlerde kullanımına dair bulgulara rastlanmamıştır.

4.4.2. Enterokokların tanısı

Gram negatif, katalaz aktivitesi göstermeyen, morfolojik olarak enterokok özelliğindeki 33 suşun ileri tanı testleri gerçekleştirilmiştir. 33 suşa ait özelliklerin gösterildiği Ek 6 incelendiğinde 10⁰C'de üreme testine AC3-15, BB19-90, AK4-18 ve AK7-32 suşlarının olumsuz sonuç verdikleri, BB19-90, AK7-32, BK9-39, BK9-43 suşlarının 45⁰C'de üremedikleri, AB7-29, AK4-18, BK9-39, AK9-42, BK11-49 suşlarının %6,5 NaCl'de üreyebildikleri görülmektedir. Tüm suşlar pH 9,6'da ve % 0,1 metilen mavisi bulunan sütte gelişme göstermiştir. Enterokokların genel olarak 10⁰C'de ve 45⁰C'de, % 6,5 NaCl'de, % 40 safra tuzunda ve % 0,1 metilen mavisi içeren sütte ve pH 9,6'da gelişebildikleri kabul edilmekle birlikte moleküller çalışmalarına dayalı genotipik tanıdan farklı özelliklere sahip suşların da *Enterococcus* cinsi içinde yer aldığı belirlenmiştir (Manero ve Blanch, 1999). Bu nedenle genel karakterleri açısından enterokoklar arasında yer alabileceği düşüncesiyle bu testlere farklı reaksiyon veren tüm suşlara tür ayırımı testleri uygulanmıştır.

Bu temel testlere ilave olarak suşların çeşitli karbonhidratları fermente etme durumları incelenmiştir. İzolatların tümü laktoz, mannitol, sükroz ve trehalozda gelişirken, BK9-42 dışındaki tüm suşlar sorbitolü kullanmıştır. AC12-48, BK9-39 ve BK13-54 suşları ramnozu, AB4-6 AB7-29, BB16-76, BC21-104, BK9-39 suşları rafinozu, BB16-76 suşu melebiyozu fermente edememiştir. AC3-15, AB6-24, BB19-90, AC21-105, AC21-106, AK1-3 AK7-32, BK11-49 suşları ise ksilozu kullanabilen izolatlardır.

Bu test sonuçlarına göre 33 suşdan 20 adedinin *E. saccharolyticus*, 5 adedinin (AB4-6, AB6-24, BB6-26, BB16-76, BC21-104) *E. faecalis*, 3 adedinin (BA15-62, AK7-32, BK9-43) *E. malodoratus*, 3 adedinin ise (AC3-15, AB7-29, AK4-18) *E. cecorum* olduğu belirlenmiştir. 3 adet suşun (AC3-9, AC12-48, BB19-90, BK11-49) ise tanısı yapılamamıştır. Çizelge 4.14.'de izolatların yüzde oranları izolasyon kaynakları ve izole edildikleri bireylerin yaş gruplandırması gösterilmiştir.

Çizelge 4.14. Enterokokların izolasyon kaynakları ve yaş gruplarına göre dağılımları

İZOLATLAR	HASTA		YAŞ DAĞILIMI			KONTROL	YAŞ DAĞILIMI	
	G	GB	A	B	C		A	B
<i>E. cecorum</i>	2 (%17)	-	-	1(%11)	1(%14)	1 (%9)	1(%17)	-
<i>E. faecalis</i>	2 (%17)	3(%33)	-	4 (%45)	1 (%14)	-	-	-
<i>E. malodoratus</i>	-	1 (%11)	1(%20)	-	-	2 (%18)	1(%17)	1 (%14)
<i>E. saccharolyticus</i>	7 (%58)	4(%45)	4(%80)	3(%33)	4(%57)	9 (%81)	4(%66)	5(%72)
Tanımsız	1(%8)	1(%11)	-	1(%11)	1(%14)	-	-	1(%14)
TOPLAM	12	9	5	9	7	12	6	7

E. malodoratus suşlarından 1'i (BA15-62) ve *E. saccharolyticus* suşlarından 3'ü (BA15-63, BA17-70, BA17-71) gastrik biyopsi örneklerinden izole edilmiştir. Aynı materyalden elde edilen 2 suş (BB19-90, BK11-49) ise tanımlanamamıştır.

Enterokok türleri arasında *E. saccharolyticus*'un baskın türü oluşturması ilgi çekici bulunmuştur. İnsan bağırsağında *E. faecium* ve *E. faecalis*'in en sık rastlanan türler olduğunu belirten çeşitli çalışmalara rastlanmıştır (Reuter 1990; Lecler vd., 1996; Manero ve Blanch 1999; Klein, 2003). Bu açıdan elde edilen sonuçlar farklılık göstermektedir. Bu çalışmada *E. faecium* izole edilmezken, *E. faecalis* suşları da izolatların sadece %14'ünü oluşturmaktadır. İzolatların %9'unu oluşturan *E. cecorum* ise daha önce yapılan çalışmalarda insan kökenli izolatlar arasında bulunmamakta, bu suşun domuz, kanatlı kümes hayvanları ve küçükbaş hayvanlara özgü olduğu bildirilmektedir. Yapılan çalışmada ancak fenotipik özelliklere dayandırılan tanının, genotipik tanı ile güçlendirilmesinden sonra bulguların kesin olarak değerlendirilmesi mümkün olabilecektir. İzolatlar arasında yer alan *E. malodoratus* bağırsak kökenli türler arasında yer almamaktadır. İnsana özgü bağırsak kökenli enterokoklar *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. durans/ hirae*, *E. gallinarum* ve *E. casseliflavus* olarak verilmiştir (Klein, 2003).

Sindirim sisteminde çok sayıda türle temsil edilen enterokokların birkaç türü ticari probiyotik bileşiminde yer almıştır. *E. azikeevi*, *E. faecium* ve *E. faecalis* ticari probiyotiklerde kullanılan türler olarak belirlenmiştir. Ancak enterokok türlerinin probiyotik preparatların bileşiminde yer alması laktobasil türleri kadar yaygın değildir. Özellikle *E. faecalis* suşlarının endokartidis gibi klinik enfeksiyonlara yol açtığı bilinmektedir. Ayrıca bu bakteriler fırsatçı patojenler olarak bilinmekte ve sularda fekal bulaşının bir göstergesi olarak da kullanılmaktadır (Leclerc vd., 1996). Bununla birlikte enterokoklar fermente süt ürünleri de dahil olmak üzere birçok ortamda yaygın olarak bulunmakta ve kolayca izole edilebilmektedir. Probiyotik olarak kullanılacak *Enterococcus* türlerinin kesin tanıların yapılması ve sağlık üzerinde olumsuz etkileri bulunmadığının kanıtlanmış olması gerekmektedir (Çakır, 2003).

4.4.3. Antibiyotik duyarlılık durumları

4.4.3.1. Laktobasillerin antibiyotik duyarlılıkları

Tedavi amacıyla insanlar tarafından kullanılan antibiyotiklerin bağırsak florasında önemli paya sahip laktobasillere ve enterokoklara yaptığı etkinin belirlenmesi için 3.2.6.'da belirtildiği şekilde antibiyotik duyarlılık testleri yapılmıştır. Bu amaçla düşük pH'ya ve safra tuzuna dirençli olan 33 adet laktobasil ve 10 adet enterokok suşu seçilerek denemede kullanılmıştır. Çizelge 4.15'de antibiyotik duyarlılık testlerinde kullanılan laktobasiller, Çizelge 4.16'da ise enterokoklar verilmiştir. Çizelge 4.17'de ise laktobasillerin antibiyotiklere duyarlılık durumları verilmiştir. Şekil 4.8.'de antibiyotik denemelerinde kullanılan Petri kutularının görünümü verilmiştir. Antibiyotik denemelerinde elde edilen zon çapları ise Ek 7 ve Ek 8'de gösterilmiştir.

Seçilen 33 adet laktobasil izolatu içinde 5'er adet *L. agilis* ve *L. fermentum* bulunmaktadır. Bu izolatları 4 adet *L. murinus*, 3'er adet *L. murinus*, *L. rhamnosus*, *L. intestinalis*, 2'şer adet *L. acidophilus*, *L. casei* subsp. *casei*, *L. casei* subsp. *rhamnosus*, *Lactobacillus* sp., *L. maltaromicus* ve *L. plantarum* izlemektedir. İzolatlar arasında 1 adet de *L. johnsonii* bulunmaktadır.

Çizelge 4.15. Laktobasillerin türlere göre dağılımı

Tür adı	Adet	Oran (%)
<i>L. acidophilus</i>	2	6,06
<i>L. agilis</i>	5	15,15
<i>L. casei</i> subsp. <i>casei</i>	2	6,06
<i>L. casei</i> subsp. <i>rhamnosus</i>	2	6,06
<i>L. fermentum</i>	5	15,15
<i>L. intestinalis</i>	3	9,09
<i>L. johnsonii</i>	1	3,03
<i>L. maltaromicus</i>	2	6,06
<i>L. murinus</i>	4	12,12
<i>L. plantarum</i>	2	6,06
<i>L. rhamnosus</i>	3	9,09
<i>L. sp.</i>	2	6,06
Genel Toplam	33	100,0

Çizelge 4.16. Enterokokların türlere göre dağılımı

Tür Adı	Adet	Oran (%)
<i>E. cecorum</i>	1	10
<i>E. faecium</i>	2	20
<i>E. malodoratus</i>	3	30
<i>E. saccharolyticus</i>	4	40
Genel Toplam	10	100,0

Çizelge 4.17. Laktobasillerin antibiyotiklere duyarlılık durumları

	AMC	AML	B	C	CAR	DA	KF	NS	OFX	PB	S	Va
AA4-8	+	+	+	+	+	+	+	+++	++	+++	+++	+++
AB5-18	+	+	+	+	+	+	+	+++	++	+++	+++	+++
AB6-21	+	+	+	+	+	+	+	+++	++	+++	+++	+++
AB6-25	+	+	+	+	+	++	+	+++	+	+++	+++	+++
AB7-35	+	+	++	+	+	+	+	+++	+++	+++	+++	+++
AC8-38	+	+	++	+	+	+	+	+++	++	+++	+++	+++
AC10-39	+	+	+++	+	+	+++	+	+++	+	+++	+++	+
AA13-53	+	+	+	+	+	+	+	+++	++	+++	+++	+++
BB16-661	+++	+	+++	+	+	+	+	+++	+	+++	+++	+++
AB16-68	+	+	+++	+	+	+	+	+++	+	+++	+++	+++
AA17-73	+	+	+	+	+	+	+	+++	+++	+++	+++	+++
BB16-75	+	+	+	+	+	+	+	+++	+++	+++	+++	+++
AC18-85	+	+	+++	+	+	+	+	+++	+++	+++	+++	+++
AB19-94	+	+	+	+	+	+	+	+++	+++	+++	+++	+++
AB20-96	+	+	+	+	+	++	+	+++	++	+++	+++	+++
AB20-100	+	+	+	+	+	+	+	+++	+++	+++	+++	+++
AC21-101	+	+	+++	+	+	+	+	+++	+++	+++	+++	+++
AC21-103	+	+	+	+	+	+	+	+++	+++	+++	+++	+++
AK4-11	+	+	+++	+	+	+	+	+++	++	+++	+++	+++
AK4-120	+	+	+	+	+	+	+	+++	++	+++	+++	+++
AK4-121	+	+	+++	+	+	+	+	+++	+++	+++	+++	+++
AK4-14	+	+	+	+	+	+	+	+++	++	+++	+++	+++
AK4-18	+	+	+++	+	+	+	+	+++	+++	+++	+++	+++
AK5-22	+	+	+	+	+	+	+	+++	++	+++	+++	+++
AK6-27	+	+	+	+	+	+	+	+++	++	+++	+++	+++
AK7-28	+	+	+	+	+	++	+	+++	+++	+++	+++	+++
AK7-29	+	+	+++	+	+	+	+	+++	+	+++	+++	+++
BK8-36	+	+	++	++	+	+	+	+++	+	+++	+++	+
BK9-38	+	+	+++	+	+	+++	+	+++	+	+++	+++	+
BK9-40	+	+	+++	+	+	+	+	+++	+++	+++	+++	+++
BK9-42	+	+	++	+	++	+	++	+++	++	+++	+++	+
BK13-56	+	+	+	+	+	+	+	+++	++	+++	+++	+++

+++ dirençli, ++ orta düzeyde duyarlı, + duyarlı

Şekil 4.8. Antibiyotik denemelerinde kullanılan Petri kutularının görünümü

Yapılan duyarlılık testleri sonucunda gastrik biyopsi ve dışkıdan izole edilen laktobasillerin antibiyotiklere dirençlilik açısından önemli farklılıklar gösterdiği *L. intestinalis* BB16-661, *L. maltaromicus* AC21-101, *L. murinus* AK4-121, *L. plantarum* BK9-40 ve *L. rhamnosus* AK4-18 6 antibiyotiğe dirençli, 6 antibiyotiğe duyarlı iken, *L. agilis* AB6-35 ve AK4-11 suşlarının 5 antibiyotiğe dirençli, 1 antibiyotiğe orta düzeyde duyarlı, *L. agilis* AA17-73, *L. fermentum* BK9-38, *L. johnsonii* AK7-28 suşunun 5 adedine dirençli, *L. agilis* AB6-25 suşunun 4 antibiyotiğe dirençli olduğu, *L. agilis* BK9-42 suşunun 3 antibiyotiğe dirençli, 4 adedine orta düzeyde duyarlı ve 5 adedine duyarlı olduğu belirlenmiştir. *L. casei* subsp. *casei* AC10-39 suşu 5 antibiyotiğe direnç gösterirken, *L. casei* subsp. *casei* AA13-53'ün 4 adedine dirençli, *L. casei* subsp. *rhamnosus* AB6-21'in 4 adedine dirençli, 1 adedine orta düzeyde duyarlı olduğu, *Lactobacillus* sp. AB16-68 suşunun 5 antibiyotiğe dirençli, *L. sp.* AK8-36 suşunun 3 adedine dirençli, 2 adedine orta düzeyde duyarlı olduğu tespit edilmiştir.

Laktobasil suşları penisilin grubu antibiyotiklerden amoksisilin klavulanik aside %100, amoksisiline ve karbenisiline %97 oranında duyarlı bulunmuştur. Kloramfenikol ve sefalotin %97, klindamisin %82 değerleriyle laktobasillere yüksek düzeyde etkili diğer antibiyotikleri oluşturmaktadır. Ancak basitrasine karşı suşların %33'ü direnç göstermiş, ofloksasine suşların %45'i orta düzeyde duyarlı iken %30'u dirençli bulunmuştur. Nistatine, streptomisine ve peptid grubu antibiyotiklerden polimiksin B'ye karşı suşların %100'ü direnç gösterirken, suşların %82'sinin vankomisine dirençli olduğu belirlenmiştir. Çizelge 4.18.'de antibiyotik duyarlılıklarına göre laktobasil suşlarının yüzdeleri verilmiştir.

Çizelge 4.18. Antibiyotik duyarlılıklarına göre laktobasil suşlarının dağılımı

Antibiyotik	Dirençli		Orta Duyarlı		Duyarlı	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
AMC	1	3,03	0	0	32	96,96
AML	0	0	0	0	33	100
B	11	33,33	4	12,12	18	54,54
C	0	0	1	3,03	32	96,96
CAR	0	0	1	3,03	32	96,96
DA	3	9,09	3	9,09	27	81,81
KF	0	0	1	3,03	32	96,96
NS	33	100	0	0	0	0
OFX	10	30,30	15	45,45	8	24,24
Pb	33	100	0	0	0	0
S	33	100	0	0	0	0
Va	27	81,81	0	0	6	18,18

Sönmez vd. (1999) tarafından yapılan çalışmada tavukların körbağırsağından izole edilen laktobasil suşları amoksisilin ve karbenisiline %100 duyarlı iken polimiksin B'ye ise suşların %100'ünün dirençli oldukları tespit edilmiştir. Bu sonuçlar çalışmada elde edilen sonuçlar ile benzerlik göstermektedir. Ancak Sönmez vd. (1999) streptomisine karşı suşların %50'den fazlasının direnç gösterdiğini, basitrasine dirençli suşların oranının ise %60-90 arasında değiştiğini ifade etmektedirler. Karahan ve Çakmakçı (1995) tavuk körbağırsağından izole ettikleri suşların yüksek oranda basitrasine dirençli olmalarını, basitrasinin tavuk yemlerinde gelişmeyi düzenleyici olarak kullanılmasına bağlamaktadırlar. Yapılan çalışmada basitrasine suşların %33'ü direnç gösterirken, %13'ünün orta düzeyde duyarlı olduğu tespit edilmiştir. Ancak suşların %100'ünün streptomisine ve polimiksin B'ye dirençli olduğu belirlenmiştir. Bu açıdan yapılan çalışmalar kıyaslandığında tavuk körbağırsağından izole edilen suşların insan gastrik biyopsi ve dışkı örneklerinden izole edilen suşlardan sadece basitrasine direnç açısından farklılık gösterdiği, diğer antibiyotiklerde direncin birbirine yakın hatta streptomisin ve polimiksin B'de daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçlardan yola çıkarak insan florasından izole edilen laktobasillerin tavuk florasından izole edilenlerden daha yüksek antibiyotik dirençliliğine sahip oldukları söylenebilir.

Temmerman vd. (2003) tarafından yapılan bir araştırmada 8 Avrupa ülkesinden toplanan 55 probiyotik üründen izole edilen 187 izolatin antibiyotik duyarlılıkları

incelenmiş ve izolatların %65'nin vankomisine dirençli oldukları, buna karşın kloramfenikole direnç gösteren izolatların oranının ise %11 olduğu ifade edilmiştir. Sarra vd. (1982) ise 30 adet *L. acidophilus* izolatından sadece 4 adedinin vankomisine, 7 adedinin ise kloramfenikole dirençli olduğunu tespit etmişlerdir. Bu çalışmada ise izolatların %82'si vankomisine direnç gösterirken, kloramfenikole dirençli izolat tespit edilememiş, izolatların %97'sinin kloramfenikole duyarlı olduğu sadece %3'ünün orta düzeyde duyarlı olduğu tespit edilmiştir. İzole edilen *L. acidophilus* AB5-18 ve AK4-14 suşlarının ise vankomisine direnç gösterirken, kloramfenikole duyarlı oldukları belirlenmiştir.

Saarela vd. (2000) *L. casei* ve *L. rhamnosus*'un vankomisine dirençli olduklarını ifade etmektedir. Yapılan çalışmada incelenen 2 adet *L. casei* subsp. *casei* ve 3 adet *L. rhamnosus* suşunun vankomisine dirençli oldukları tespit edilmiştir. Vankomisin yeni nesil antibiyotiği olduğu için laktobasillerde vankomisinin aktarılabılır özellikleriyle ilgili kaynak bilgisine rastlanamamıştır. Bu sebeple vankomisine direnç gösteren laktobasillerin çok uzun süredir güvenli probiyotik olarak kullanımı oldukça yaygındır. Yapılan çalışmada incelenen 40 adet izolattan 7 adedi (AC8-38, AC10-39, AK1-5, BK8-36, BK9-38, BK9-39, BK9-42) dışındakiler vankomisine direnç göstermiştir.

4.4.3.2. Enterokokların antibiyotik duyarlılıkları

İzole edilen enterokokların antibiyotik duyarlılıkları incelendiğinde ise, *E. faecalis* BB6-26 ve *E. malodaratus* AK7-32 suşlarının 7 antibiyotiğe direnç gösterdikleri, *E. saccharolyticus* AK1-5 suşunun ise sadece 4 antibiyotiğe karşı dirençli, 2 adedine orta düzeyde duyarlı, 6 adedine ise duyarlı olduğu tespit edilmiştir. Yapılan çalışma sonucunda antibiyotik dirençliliklerine göre izolatları sıralarsak, en yüksek direnci *E. faecalis* BB6-26 gösterirken, bu suşu sırasıyla *E. malodaratus* AK7-32, BA15-62, *E. saccharolyticus* BK12-52, *E. cecorum* AB7-29, *E. faecalis* AB4-5, *E. saccharolyticus* BC18-78, *E. malodaratus* BK9-43, *E. saccharolyticus* AK7-31 ve AK1-5 suşları izlemektedir.

Çizelge 4.19.'da enterokokların antibiyotiklere duyarlılık durumları, Çizelge 4.20'de ise antibiyotik duyarlılıklarına göre suşların yüzdeleri verilmiştir.

Çizelge 4.19. Enterokokların antibiyotiklere duyarlılık durumları

	AMC	AML	B	C	CAR	DA	KF	NS	OFX	PB	S	Va
AB4-6	+	+	+++	+	+	++	+	+++	++	+++	+++	+++
BB6-26	+	+	+++	++	+++	+	+	+++	+++	+++	+++	+++
AB7-29	+	+	+++	+	+	+	+	+++	+++	+++	+++	+++
BA15-62	+	+	+++	+	+	++	+	+++	+++	+++	+++	+++
BC18-78	+	+	+++	+	+	++	+	+++	++	+++	+++	+++
AK1-5	+	+	+++	+	+	+	+	+++	+	+++	+++	+++
AK7-31	+	+	+++	+	+	+	+	+++	+	+++	+++	+++
AK7-32	+++	+	+++	+	+	+	+	+++	+++	+++	+++	+++
BK9-39	+	+	+	+	+	+++	+	+++	+	+++	+++	+
BK9-43	+	+	+	+	+	+++	+	+++	+	+++	+++	+++
BK12-52	+	+	+	+++	+	++	+	+++	+++	+++	+++	+++

+++ dirençli, ++ orta düzeyde duyarlı, + duyarlı

Çizelge 4.20. Antibiyotik duyarlılıklarına göre suşlarının yüzdeleri

	Dirençli		Orta Duyarlı		Duyarlı	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
AMC	1	10	0	0	9	90
AML	0	0	0	0	10	100
B	9	90	0	0	1	10
C	0	0	2	20	8	80
CAR	1	10	0	0	9	90
DA	1	10	4	40	5	50
KF	0	0	0	0	10	100
NS	10	100	0	0	0	0
OFX	5	50	3	30	2	20
Pb	10	100	0	0	0	0
S	10	100	0	0	0	0
Va	9	90	0	0	1	10

İzole edilen enterokoklar amoksisilin ve sefalotine %100, amoksisilin- kluvulanik asit ve karbenisiline %90, kloramfenikole %80, klindamisine ise %50 oranında duyarlılık göstermişlerdir. İzolatlar nistatin, polimiksin B ve streptomisine %100 direnç gösterirken, basitrasin ve vankomisine %90, ofloksasine ise %50 direnç göstermişlerdir.

Temmerman vd. (2003) tarafından yapılan çalışmada izole edilen enterokokların disk difüzyon yöntemi kullanılarak antibiyotik duyarlılıkları incelenmiş ve %38'inin vankomisine dirençli oldukları belirlenmiştir. Bu çalışmada ise disk difüzyon yöntemi kullanılarak enterokoların %81'inin vankomisine dirençli oldukları belirlenmiştir.

Tüm izolatların düşük pH ve safra tuzu dirençleri değerlendirildiğinde *L. brevis* AB5-19, *L. fermentum* AB20-98, BK13-56, *L. plantarum* BK9-40 ve *L. rhamnosus* AK4-180 suşlarının hem optik yoğunluklarındaki, hem de sayım sonuçlarındaki artışa göre asit ortama en dayanıklı suşlar olduğu belirlenmiştir. Safra tuzuna dirençte ise hem optik yoğunluk, hem de sayım sonuçları en fazla artan suşlar *L. agilis* AA1-2, AC3-10, AK4-11, *L. casei* subsp. *casei* AC10-41, *L. fermentum* AB7-34, AK6-24, BK13-56, *L. johnsonii* AK7-28, *L. maltaromicus* BC8-36, AC10-43, *L. murinus* AB20-99, *L. plantarum* BC12-50, AK4-120, BK9-40, *L. spp.* AB5-17, AA13-51, AB16-68'dir.

Hem asit ortama, hem de safra tuzuna optik yoğunluk ve sayım sonuçları açısından en dirençli suşların *L. agilis* AA1-2, *L. plantarum* BK9-40 ve *L. fermentum* BK13-56 olduğu tespit edilmiştir. Enterokoklarda düşük pH ve safra tuzuna direnç açısından uyum gösteren bir suşa rastlanmamakla birlikte, *E. saccharolyticus* AK1-5 suşunun düşük pH'da, *E. saccharolyticus* BA17-71 suşunun ise % 0.3'lük safra tuzu konsantrasyonunda optik yoğunluk ve sayım sonucu açısından uyum gösterdiği belirlenmiştir.

Suşların antibiyotik dirençlilikleri dikkate alındığında *L. plantarum* BK9-40 ve *L. rhamnosus* AK4-180'in vankomisin dahil 6 antibiyotiğe dirençli oldukları, *L. agilis*

AK4-11 ve *L. johnsonii* AK7-28 suşlarının ise vankomisinle birlikte 5 antibiyotiğe dirençli oldukları tespit edilmiştir.

Suşlar her üç özellik açısından incelendiğinde, *L. agilis* AA1-2, *L. plantarum* BK9-40, *L. fermentum* BK13-56, *E. saccharolyticus* AK1-5, BA17-71 suşlarının istenilen niteliklere sahip olduğu belirlenmiştir.

SDÜBAP 458 nolu projede *L. plantarum* BK9-40' ın dışında, *L. plantarum* AC10-43, AB16-77, AK2-8, AK4-120, AK5-22, AK7-29, AK7-31, BK9-40 ve *L. rhamnosus* AK6-27, AK7-32 de kullanılarak probiyotik hazırlanmış ve kültürün farelerdeki OVA spesifik IgE düzeylerini düşürdüğü tespit edilmiştir. Bu nedenle her 3 özellik açısından probiyotik olma özelliği taşıyan 5 adet suşa ilaveten, allerjiye karşı kullanılan bu kültürün de daha sonra yapılacak çalışmalarda incelenmesine devam edilecektir.

Ancak tanı testleri açısından her iki çalışma arasında farklılık belirlenmiştir. Bu çalışmada izole edilen ve SDÜBAP 458 nolu proje kapsamında API 50CHL hazır test kitleriyle *L. plantarum* AC10-43, AB16-77, AK2-8, AK4-120, AK5-22, AK7-29, AK7-31, BK9-40 ve *L. rhamnosus* AK6-27, AK7-32 olarak tanımlanan suşlara, klasik karbonhidrat fermantasyon testleriyle *L. maltaromicus* AC10-43, *L. sp.* AB16-77, AK2-8, *L. plantarum* AK4-120, BK9-40, *L. intestinalis* AK5-22, *L. rhamnosus* AK6-27, *L. casei* subsp. *rhamnosus* AK7-29, *E. saccharolyticus* AK7-31, *E. malodatratus* AK7-32 tanısı konmuştur. Benzer sonuçlar diğer araştırmalarda da elde edilmiştir (Klijin vd., 1991; Prasad vd., 1998). Biyokimyasal testlerle izolatların farklı şekillerde adlandırılmış olması moleküler düzeyde tanı testlerinin gerekliliğini ortaya koymaktadır.

5. SONUÇ

Probiyotikler ve sindirim sisteminin doğal florasına yönelik çalışmalar yenidir ve yapılan çalışma, bu açıdan ülkemizdeki bir eksikliği gidermeye yönelik planlanmıştır.

Doğal floranın yapısı açısından elde edilen bulgular, çeşitli ülkelerde yapılan çalışmaların sonuçlarıyla kıyaslandığında önemli farklılıklar bulunduğu sonucuna varılmıştır. ABD, çeşitli Avrupa ülkeleri ve Japonya'da ticari probiyotik preparatları üretilmekle birlikte, floradaki farklılıklar ülkemize özgü preparatların geliştirilmesini gereklilik haline getirmiştir. Bu çalışma ile ilk adım atılarak probiyotik olma özelliklerinin bazıları açısından incelenmiş bir kültür koleksiyonu elde edilmiştir. Elde edilen bulgulara bağlı olarak enterokokların probiyotik preparatların hazırlanmasında potansiyel mikroorganizmalar oldukları sonucuna varılmıştır, ancak bifidobakterlere ait deneme sonuçlarının da alınmasından sonra hükme varılmasının yararlı olacağı düşünülmektedir.

Suşların güvenilirlik ve sağlığa yararlı özellikleri önce hayvan denemeleri ile daha sonra da gönüllü bireylerle çalışılarak tespit edilmelidir. Bu da disiplinler arası bir çalışmayı gerektirmektedir. Bu özelliklere sahip suşları içeren probiyotik özellikteki gıdaların üretilmesinin yanı sıra liyofilize toz veya tablet halinde ticari preparatların tüketiciye sunulması açısından gerekli çalışmaların yapılması planlanmaktadır.

KAYNAKÇA

- Ahrné, S., Nobaek, B., Jeppsson, B., Adlerberth, I., Wold, A. E., Molin, G., 1998. The normal *Lactobacillus* flora of healthy human rectal and oral mucosa. *Journal of Applied Microbiology*. 85, 88-94.
- Aslım, B., 1994. *Lactobacillus bulgaricus* ve *Streptococcus thermophilus* bakterilerinin metabolik ve antimikrobiyal aktiviteleri üzerine bazı fiziksel ve kimyasal mutajenlerin etkisi. G. Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Ankara.
- Aso, Y., Akazan, H., 1992. Prophylactic effect of a *Lactobacillus casei* preparation on the recurrence of superficial bladder cancer. *Urol. Int.*, 49, 125-129.
- Başığit, G., 2002. Probiyotiklere biyoteknolojik yaklaşımlar. Yüksek Lisans Semineri (yayınlanmamış), 33s, Isparta.
- Başığit, G., Karahan, A. G., Çakmakçı, L. M., 2003. Probiyotik bakterilerin dondurma üretiminde kullanılması. XIII. Biyoteknoloji kongresi, Çanakkale.
- Bogovic, M., Rogelj, I., 1998. Isolation and characterization of two bacteriocins of *Lactobacillus acidophilus* LF221. *Applied Microbial Biotechnology*, 49, 606-612.
- Can, R., 2003. Probiyotiklerin allerji üzerine etkisi. S.D.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Uzmanlık Tezi (yayınlanmamış), 70s, Isparta.
- Cebeci, A., Gürakan, C., 2003. Properties of potential probiotic *Lactobacillus plantarum* strains. *Food Microbiology*, 20,511-518.
- Chang, Y., Kim, J., Kim, H., Kim, W., Kim, Y., Park, Y., 2001. Selection of a potential probiotic *Lactobacillus* strain and subsequent *in vivo* studies. *Antonie van Leeuwenhoek*. 80, 193-199.
- Charteris, W.P., Kelly, P.M., Morelli, L., Collins, J.K., 1998b. Antibiotic susceptibility of potentially probiotic *Lactobacillus* species. *J. Food Prot.* 61, 1636-1696.
- Cowan, S. T., Steel, K. J., 1966. Manual for the identification of medical bacteria. University Press, 217 s, Cambridge.
- Çakır, İ., 1996. Et tavuklarının körbarsak florasında yer alan laktobasillerin proteolitik aktiviteleri ve organik asit oluşturma yeteneklerinin belirlenmesi. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi (yayınlanmamış), 58s, Ankara.

- Çakır, İ., Karahan, A. G., Çakmakçı, M. L., 2001. Probiotic and functional properties of some traditional Turkish foods. In: Proceedings of the 1st Euroasian Congress on Molecular Biotechnology. Editor Z. Demirbağ, Vol. 1, KTU Publishing Section, Trabzon, pp. 89-93.
- Çakır, İ., Çakmakçı, M. L., 2002. Probiyotik teknolojisi ve Türkiye'deki durumu. pp. 179-187. Türkiye 7. Gıda Kongresi kitabı, Ankara Üniversitesi, 182 s., Ankara.
- Çakır, İ., Karahan, A. G., Çakmakçı, M. L., 2002. Probiyotikler ve etki mekanizmaları. Gıda Mühendisliği Dergisi, 6 (12); 15-19.
- Çakır, İ., 2003. Laktobasillus ve bifidobakterlerde bazı probiyotik özelliklerin belirlenmesi. Ankara Üniversitesi Doktora Tezi (yayınlanmamış), 84s, Ankara.
- Çavuş, A., 1985. süt ürünlerinden izole edilmiş bazı laktik asit bakterilerinin antibiyotiklere dirençliliklerinin saptanması. A. Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Ankara.
- Çetin, E. T., Gürler, N., 1989. Bakterilerin antibiyotiklere duyarlılık deneyinin yapılması. Kükem Dergisi, 12 (2); 54-55.
- Danielsen, M., Wind, A., 2003. Susceptibility of *Lactobacillus* spp. to antimicrobial agents. International Journal of Food Microbiology, 82, 1-11.
- Davies, J.E., 1997. Origins, acquisition and dissemination of antibiotic resistance determinants. In: Chadwick DJ&Goode J (Eds.) Antibiotic Resistance. Origins, evolution, selection and spread (pp. 15-27). John Wiley&Sons, Chichester.
- DeMan J.C., Rogosa M., Sharpe M.E., 1960. A medium for the cultivation of *Lactobacilli*. Appl. Bacteriol., 23, 130-138.
- Dunne, C., Murphy, L., Flynn, S., O'Mahony, L., O'Halloran, S., Feeney, M., Morrissey, D., Thornton, G., Fitzgerald, G., Daly, C., Kiely, B., Quigley, E. M. M., O'Sullivan, G. C., Shanahan, F. and Collins, J. K., 1999. Probiotics: From myth to reality. Demonstration of functionality in animal models of disease and in human clinical trials. Antonie van Leeuwenhoek, 76; 279-292.
- Durlu-Özkaya, F., 2001. Salamura beyaz peynirden izole edilen bazı laktokok, enterokok ve laktobasil suşlarının proteolitik aktivite, bakteriyosin etkenliği ve biyojen amin oluşumu açısından karşılaştırılması. Ankara Üniversitesi Doktora Tezi (yayınlanmamış), 134s, Ankara.
- Du Toit, M., Franz, C. M. A. P., Dicks, L. M. T., Schillinger, U., Haberer, P., Warlies, B., Ahrens, F., Holzapfel, W. H., 1998. Characterisation and

selection of probiotic lactobacilli for a preliminary minipig feeding trial and their effect on serum cholesterol levels, faeces pH and faeces moisture content. *International Journal of Food Microbiology*, 40, 93-104.

- Ehrmann, M. A., Kurzak, P., Bauer, J., Vogel, R. F., 2002. Characterisation of Lactobacilli towards their use as probiotic adjuncts in poultry. *Journal of Applied Microbiology*, 92, 966-975.
- 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.
- Erkmen, O., 2000. Probiyotik bakterilerin önemi. *Gıda Bilimi ve Teknolojisi*, 5 (1), 26-32.
- Fang, H., Tuomola, E., Arvilommi, H., Salminen, S., 2000. Modulation of humoral immune response through probiotic intake. *FEMS Immun. Med. Microbiol.*, 29, 47-52.
- Fernández, M. F., Boris, S., Barbés, C., 2003. Probiotic properties of human lactobacilli strains to be used in the gastrointestinal tract. *Journal of Applied Microbiology*, 94, 449-455.
- Forestier, C., De Champs, C., Vatoux, C., Joly, B., 2001. Probiotic activities of *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus*: *in vitro* adherence to intestinal cells and antimicrobial properties. *Res. Microbiol.*, 42, 39-44.
- Fukusihma, Y., Kawata, Y., Hara, H., Terada, A., Mitsuoka, T., 1998. Effect of probiotic formula on intestinal immunoglobulin. A production in healthy children. *Int. J. Food Microbiol.*, 42, 39-44.
- Fuller, R., 1989. Probiotics in man and animals. *Journal of Applied Bacteriology*, 66, 365-378.
- Fuller, R., 1999. Probiotics, Colonic Microbiota. *Nutrition and Health*, 89-99.
- Fuller, R., Gibson, G.R., 1998. Probiotics and prebiotics-microbes on the menu. *Carbohydrates*, 9,3.
- Gibson, G.R., Roberfroid, M.B., 1995. Dietary modulation of the human colonic microbiota:introducing the concept of probiotics. *J. Nutr.*, 125, 1401-1402.
- Gilliand, S., Staley, T., Bush, L., 1984. Importance of bile tolerance of *Lactobacillus acidophilus* used as dietary adjunct. *Journal of Dairy Science*. 67, 3045-3051.

- Gismondo, M.R., Drago, L., 1999. Review of probiotics available to modify gastrointestinal flora. *International Journal of Antimicrobiol Agents*, 12, 287-292.
- Gmeiner, M., Kneifel, W., Kulbe, K. D., Wouters, R., De Boever, P., Nollet, L., Verstraete, W., 2000. influence of a synbiotic mixture consisting of *Lactobacillus acidophilus* 74-2 and a fructooligosaccharide preparation on the microbial ecology sustained in a simulation of the human intestinal microbial ecosystem (SHIME reactor). *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 53, 219-223.
- Goldin, B. R., Gorbach, S. L., 1984. The effect of milk and *Lactobacillus* feeding on human intestinal bacterial enzyme activity. *Amer. J. Clin. Nutr.*, 39, 756-761.
- Goldin, B. R., Gorbach, S. L., 1992. Probiotics for humans. In R. Fuller, *Probiotics-the scientific basis* (pp. 355-376). London, Chapman and Hall.
- Goldin, B.R., 1998. Health benefits of probiotics. *British Journal of Nutrition*, 80, 203-207.
- Gomes, M. P., Malcata, F. X., 1999. *Bifidobacterium* spp. and *Lactobacillus acidophilus*: biological, technological and therapeutical properties relevant for use as probiotic. *Trends in Food Science&Technology*, 10, 139-157.
- Hammes, W. P., Vogel, R. F., 1995. The genus *Lactobacillus*. In: B. J. B. Wood and W. H. Holzapel (editors), *The Lactic Acid Bacteria, The Genera of Lactic Acid Bacteria*, Vol. 2. Blackie Academic, London, 19-54.
- Harrigan, W. F., McCance, M. E., 1966. *Laboratory Methods in Microbiology*. Academic press, London and New York, 362 p.
- Hartemink, R., Domenech, V.R., Rombouts, F.M., 1997. LAMVAB-A new selective medium for the isolation of lactobacilli from faeces. 29, 77-84.
- Hatakka, K., Savilahti, E., Pönkä, A., Meurman, J. H., Poussa, T., Näse, L., Saxelin, M. and Korpela., 2001. Effect of long term consumption of probiotic milk on infections in children attending day care centers: double blind, randomised trial. *British Microbiology Journal*, 322, 1-5.
- Henriksson, A., 1993. *Lactobacillus* colonisation of the porcine gastrointestinal tract. Department of General and Marine Microbiology University of Göteborg, Sweden.
- Hentges, D. J., 1983. *Human intestinal microflora in health and disease*. New York: Academic Press.
- Hirayama, K., Rafter, J., 1999. the role of lactic acid bacteria in colon cancer prevention: Mechanistic considerations. *Antonie van Leewenhoek*, 76, 391-394.

- Holt, J. G., Krieg, N. R., Sneath, P. H. A., Staley, J. T. , Williams, S. T., 1994. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. Ninth Edition, Williams&Wilkins, Baltimore, 787 s.
- Jay, J., M., 1986. Modern Food Microbiology. 3rd. Ed., Van Nostrand Reinhold Compony Inc., New York, pp. 362-399.
- Kailasapathy, K., Rybka, S., 1997. *L. acidophilus* and *Bifidobacterium* spp.- their therapeutic potential and survival in yogurt. The Aust. J. Dairy Technol., 52; 28-35.
- Kandler, O., Weiss, N., 1986. Genus *Lactobacillus* Beijerinck. In Bergey's Manual of Systematic Bacteriology ed. Sneath, P.H.A., Mair, N.S., Sharpe, M. E. And Holt, J.G. Vol.2, pp.1209-1234. Baltimore, MD: Williams and Wilkins.
- Karahan, A. G., 1992. *Streptococcus diacetylactis*'ten yüksek düzeyde diasetil oluşturan mutantların eldesi ve bunların doğal suşa oranla faj duyarlılıklarının belirlenmesi. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Bilimi ve Teknolojisi, Doktora Tezi (yayınlanmamış), 118s, Ankara.
- Karahan, A. G. ve Çakmakçı, M. L., 1995. Cıvciv körbağırısından izole edilen bazı laktobasil suşlarının çeşitli antibiyotiklere dirençleri. Tarım Bilimleri Dergisi, 1 (1), 7-12.
- Karahan, A. G. ve Çakmakçı, M. L., 1996. Probiyotikler. Gıda Dergisi, 21 (4), 297-302.
- Karahan, A. G. ve Çakmakçı, M. L., 1996. Etlik piliç barsak florası üzerine yemin etkisi. Tarım Bilimleri Dergisi, 2 (1), 37-41.
- Karahan, A. G. ve Çakmakçı, M. L., 1998. Determination of some properties of *Lactobacillus* strains isolated from cecum. J. Agri. Sci. 4, 59-64.
- Kavas, G., 2000. Bifidobakterlerin metabolizma üzerindeki etkileri, yararları, fermente süt ürünleri ile kullanımı. Gıda Dergisi, 6 (2), 78-83.
- Klaenhammer, R., Kullen, J.M., 1999. Selection and design of probiotics. International Journal of Food Microbiology, 50, 45-57.
- Klaenhammer, T. R., 2000. Probiotic bacteria: Today and tomorrow. Journal of Nutrition.130, 415-416.
- Klein, G., 2003. Taxonomy, ecology and antibiotic resistance of enterococci from food and the gastro-intestinal tract. International Journal of Food Microbiolgy. 88, 123-131.
- Klijin, N., Weerkamp, A. H., De Vos, W. M., 1991. Identification of mesophilic lactic acid bacteria by using polymmerase chain reaction- amplified variable regions of 16S rRna and spesific DNA probes. Appl. Environ. Microbiol., 57 (11), 3390-3393.

- Kontula, P., Suihko, M.-L., Suortti, T., Tenkanen, M., Mattila-Sandholm, T., von Wright, A., 2000. The isolation of lactic acid bacteria from human colonic biopsies after enrichment on lactose derivatives and rye arabinoxylo-oligosaccharides. *Food Microbiology*, 17, 13-22.
- Kuleaşan, H., Çakmakçı, M.L., 2002a. Laktobasiller tarafından üretilen bakteriyosinlerin tanımlanması, sınıflandırılması ve bunların bazı gıda kaynaklı patojenler üzerindeki etkilerinin belirlenmesi. Ankara Üniversitesi Doktora Tezi (yayınlanmamış), 79s, Ankara.
- Kuleaşan, H., Çakmakçı, M.L., 2002b. Effect of reuterin produced by *Lactobacillus reuteri* on the surface of sausages to inhibit the growth of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* spp. *Nahrung Food*, 46, No, 6, 408-410.
- Larsen, R.F., Añon, M.C., 1989. Interaction of antibiotics and water activity on *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus*. *Journal Of Food Science*. Volume 54, No. 922-924.
- Lee, Y., Salminen, S., 1995. The coming of age of probiotics. *Trends in Food Science & Technology*, Vol 6, 241-245.
- Lee, Y. K., Nomoto, K., Salminen, S., Gorbach, S. L., 1999. *Handbook of Probiotics*. A Wiley-Interscience Publication. 211 p. Canada.
- Levy, B. S., 1987. Antibiotic use for growth promotion in animals.. ecologic and public health consequences. *J. Food Protec.* 50, (7), 616-620.
- Lizko, N. N., Silov, V. M., Syrych, G. D., 1984. Die besonderheiten der bildung einer dysbakteriase des darms beim menschen unter extrembedingungen. *Die Nahrung*. 28, 599-605.
- Macfarland, G.T., Cummings, J. H., 1999. Probiotics and prebiotics: can regulating the activities of intestinal bacteria benefit health? *British Medical J.*, 318, 999-1003.
- Marcon, M. J., 1997. Probiotics in health and medicine: moving from fashion to scientific validity. *Clinical Microbiology Newsletter*, 19(12), 89-96.
- Mccann, T., Egan, T., Weber, G., 1995. Assay procedures for commercial probiotic cultures. *Journal of Food Protection*. Vol. 59, No 1, 41-45.
- Manero, A., Blanch, R. A., 1999. Identification of *Enterococcus* spp. with a biochemical key. *Applied and Environmental Microbiology*, Vol 65, No 10, 4425-4430.
- Marteau, P., Minekus, M., Havenoar, R., Huis in't Veld, J. H. J., 1997. Survival of lactic acid bacteria in a dynamic model of the stomach and small intestine: Validation and the effects of bile. *J., Dairy Sci.*, 80, 1031-1037.

- Mitsuoka, T., 1990. Bifidobacteria and their role in human health. *Journal of Industrial Microbiology*, 6, 263-268.
- Moore, W. E. C., Holdeman, L. V., 1974. Human faecal flora of 20 Japanese-Hawaiians. *Applied Microbiology*. 27, 961-979.s
- Mombelli, B., Gismondo, M.R., 2000. The use of probiotics in medical practise. *Antimicrobial Agents*, 16, 531-536.
- Morelli, L., Zonenschain, D., Callegari, M. L., Grossi, E., Maisano, F., Fusillo, M., 2003. Assessment of a new synbiotic preparation in healty volunteers: survival, persistence of probiotic strains and its effect on the indigenous flora. *Nutrition Journal*, 2, 11,1-6.
- Murray, F. ,1998. Characterization of the microbial ecosystem of cereal fermentation using molecular biological methods. Ph.D. Thesis, 145 p., Technischen Universität München.
- Nicas, T.I., Cole, C.T., Preston, D.A., Schabel, A.A., Nagarajan, R., 1989. Activity of glycopeptides against vancomycin-resistant gram-positive bacteria. *Antimicrob. Agents Chemother.* 33, 1477-1481.
- Northold, M.D., 1984. Growth and inactivation of pathogenic microorganisms during manufacture and storage of fermented. *Dairy journal*, 38, 135-150.
- Ouwehand, A. C. and Salminen, S. J., 1998. The health effects of cultured milk products with viable and non-viable bacteria. *Int. Dairy Journal*. 8, 749-758.
- Patel, H. M., Pandiella, S. S., Wang, R. H., Webb, C., 2004. Influence of malt, wheat, and barley extracts on the bile tolerance of selected strains of lactobacilli. *Food Microbiology*, 21, 83-89.
- Prasad, J., Gill, H., Smart, J. and Gopal, P. K., 1999. Selection and characterization of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains for use as probiotic. *Int. Dairy Journal*, 8, 993-1002.
- Ray, B., 1996. *Fundamental Food Microbiology*. CRC Press, Inc., New York, pp. 191-200.
- Reinbold, G.W., Reddy, M.S., 1974. Sensitivity or resistance dairy starter and associated microorganisms to selected antibiotics. *J. Milk Food Technol.*, Vol. 37, No. 10, 517-521.
- Reuter, G., 1990. Bifidobacteria cultures as components of yoghurt like products. *Bifidobacteria and Microflora*, 9, 107-118.
- Rolfe, R. D., 2000. The role of probiotic cultures in the control of gastrointestinal health. *J. Nutr.*, (Supplement), 130, 396-402.

- Rossi, E. A., Vendramini, R. C., Carlos, I. Z., Pei, Y. C. and DeValdez, G. F., 1999. Development of a novel fermented soymilk product with potential probiotic properties. *Eur. Food. Res. Technol.*, 209, 305-307.
- Saarela, M., Mogensen, G., Fonden, R., Mättö, J., Mattila-Sandholm, T., 2000. Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties. *Journal of Biotechnology*, 84, 197-215.
- Salminen, S., 1998. Probiotics: Scientific support for use. *Food Technology*, 53 (11);66.
- Salminen, S., vonWright, A., 1998. Current probiotics-safety assured? *Microbial. Ecol. Health Dis.*, 10; 68-77.
- Salminen, S., vonWright, A., Morelli, L., Marteau, P., Brassart, D., deVos, W. M., Fondén, R., Saxelin, M., Collins, K., Mogensen, G., Birkeland, S. E. and Mattila-Sandholm, T., 1998. Demonstration of safety of probiotics-a review. *Int. J. Food Microbiol.* 44,93-106.
- Salminen, S., 1999. Probiotics: Scientific support for use. *Food Technology*, 53;66.
- Salminen, S., Ouwehand, A., Benno, Y., Lee, K., 1999. Probiotics: How should they be defined? *Trends in Food Science and Technology*, 10, 107-110.
- Sanders, M.E., 1999. Probiotics. *Food Technology*, Vol. 53, No. 11, 67-77.
- Sanders, M. E, 2000. Considerations for use of probiotic bacteria to modulate human health. *J. Nutr.*, 130, 384-390.
- Sandine, W. E., Elliker, P. R., Hays, H., 1962. Cultural studies on *Streptococcus diacetylactis* and other members of the lactic streptococcus group *Can. J. Microbiol.* 8, 2,161-174.
- Sarra, P. G., Vescovo, M., Morelli, L., Cabras, M., 1982. Antibiotic resistance in *L. acidophilus* and *L. reuteri* from animal gut. *Ann. Microbiol. Enzymol.* 32, 71-76.
- Schleifer, K.H., 1987. Recent changes in the taxonomy of lactic acid bacteria. *FEMS Microbiology Reviews*, 46, 201-203.
- Schillinger, U., Lücke, F. K., 1987. Identification of lactobacilli from meat and meat products. *Food Microbiology*, 4, 199-208.
- Schrezenmeir, J., Vrese, M., 2001. Probiotics, prebiotics, and synbiotics-approaching a definition. *Am J. Clin. Nutr.*, 73, 361-365.
- Shanahan, F. and Collins, J. K., 1999. Probiotics: From myth to reality. Demonstration of functionality in animal models of disease and in human clinical trials. *Antonie van Leeuwenhoek*, 76, 279-292.

- Silvi, S., Verdenelli, M.C., Orpianesi, C., Cresci, A., 2002. Isolation and identification of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains from faecal samples of elderly subjects for a possible probiotic use in functional foods. *Journal of Food Engineering*, 56, 195-200.
- Silvi, S., Verdenelli, M. C., Orpianesi, C., Cresci, A., 2003. EU project Crownalife: functional foods, gut microflora and healthy ageing: Isolation and identification of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains from faecal samples of elderly subjects for a possible probiotic use in functional foods. *Journal of Food Engineering*, 56; 195-200.
- Sinha, R.P., 1984. Effect of buffering media with phosphates on antibiotic resistance of lactic streptococci. *Applied and Environmental Microbiology*. 1175-1177.
- Song, Y.-L., Kato, N., Matsumiya, Y., Liu, C.-X., Kato, H., Watanabe, K., 1999. Identification of and hydrogen peroxide production by fecal and vaginal lactobacilli isolated from Japanese women and newborn infants. *J. Clin. Microbiol.* 37, 3062-3064.
- Song, Y.-L., Kato, N., Liu, C.-X., Matsumiya, Y., , Kato, H., Watanabe, K., 2000. Rapid identification of 11 human intestinal *Lactobacillus* species by multiplex PCR assays using group- and species specific primers derived from the 16S-23S rRNA intergenic spacer region and its flanking 23S rRNA. *FEMS Microbiology Letters*. 187, 167-173.s
- Sönmez, N., Çakmakçı, M.L., Karahan, A.G., 1999. Probiyotik kullanımı ve ülke şartlarında geliştirilmesi. Ankara Üniversitesi Araştırma Fonu Müdürlüğü, Araştırma Projesi (yayınlanmamış), Ankara.
- Spanhaak, S., Havenaar, R., Schaafsma, 1998. The effect of consumption of milk fermented by *Lactobacillus casei* strain *shirota* on the intestinal microflora and immune parameters in humans. *European Journal of Clinical Nutrition*. 52, 899-907.
- Speckman, R. A., Collins, E. B., 1968. Diacetyl biosynthesis in *Streptococcus diacetilactis* and *Leuconostoc citrovorum*. *J. Bacteriol.* 95 (1): 174-180.
- Stiles, M.E., Holzappel, W.H., 1997. Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. *International Journal of Food Microbiology*, 36, 1-29.
- Svensson, U., 1999. Endüstriyel Perspektives. Probiotics, A critical review. Tannock, W. G., University of Otago. New Zealand.
- Swensson,, J.M., Facklam, R.R., Thornsberry, C., 1990. Antimicrobial susceptibility of vancomycin-resistant *Leuconostoc*, *Pediococcus*, and *Lactobacillus* species. *Antimicrobiol. Agents Chemother.* 34, 543-549.

- Tannock, G. W., 1997. Probiotic properties of lactic acid bacteria: plenty of scope for fundamental R&D. *Tibtech.*, Vol 15, 270-274.
- Teuber, M., Meile, L., Schwarz, F., 1999. Acquired antibiotic resistance in lactic acid bacteria from food. *Antonie van Leeuwenhoek*, 76, 115-137.
- Tunail, N., Köşker, Ö., 1986. Süt Mikrobiyolojisi. A. Ü. Ziraat Fakültesi Yayınları, No: 966, Ankara.
- Tahri, K., Grill, J. P., Schnider, F., 1996. *Bifidobacteria* strain behavior toward cholesterol: Coprecipitation with bile salts and assimilation. *Curr. Microbiol.*, 33; 187-193.
- Tahri, K., Grill, J. P. and Schneider, F., 1997. Involvement of trihydroxylated bile salts in cholesterol assimilation by *Bifidobacteria*. *Current Microbiology*, 34, 79-84.
- Tamime, A. Y., Robinson, R. K., 1999. *Yoghurt: Science and Technology*. Woodhead Publishing Limited, Cambridge.
- Taylor, G. R. J. and Williams, C. M., 1998. Effects of probiotic and prebiotics on blood lipids. *Brit. J. Nutr.*, 80 (Suppl. 1), 225-230.
- 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.
- Thornton, G. M., 1996. Probiotic bacteria. Selection of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains from the healthy human gastrointestinal tract: characterization of novel *Lactobacillus* derived antibacterial protein. PhD thesis, National University of Ireland.
- Tunail, N., Köşker, Ö., 1986. Süt Mikrobiyolojisi. A. Ü. Ziraat Fakültesi Yayınları, No: 966, Ankara.
- Ünlütürk, A., Turantaş, F., 1998. *Gıda Mikrobiyolojisi*. Mengi Tan Basımevi, İzmir.
- Vaughan, E. E., Mollet, B., de Vos, W. M., 1999. Functionality of probiotics and in testinal tract tunnel. *Food Biotechnology*, 10, 505-510.
- Vinderola, C. G., Reinheimer, J. A., 2003. Lactic acid starter and probiotic bacteria: a comparative 'in vitro' study of probiotic characteristic and biological barrier resistance. *Food Research International*. 36, 895-904.
- Williams ve Wilkins, 1994. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 9th Edition.
- Williams, G.M., Wynder, E.L., 1996. Diet and cancer: A synopsis of causes and prevention strategies. In 'Nutrition and Press, Inc., Boca Raton, Fla.

- Xanthopoulos, V., Litopoulou-Tzanetaki, E., Tzanetakis, N., 2000. Characterization of *Lactobacillus* isolates from infant faeces as dietary adjuncts. *Food Microbiology*, 17, 205-215.
- Yaygın, H., Kılıç, S., 1993. Süt endüstrisinde saf kültürler. Altındağ Matbaacılık, 108, İzmir.
- Yıldırım, Z., Yıldırım, M., 2000. Probiyotik özellik gösteren bifidobakteriler. Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu (Ed. M. Demirci), Tekirdağ, 266-271.
- Yılsay, T. Ö., Kurdal, E., 2000. Probiyotik süt ürünlerinin beslenme ve sağlık üzerindeki etkisi. VI. Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu (Ed. M. Demirci), Tekirdağ, 279-286.
- Yokokura, T., Mutai, M., 1976. Penicillin resistance and its elimination by treatment with acriflavine in *Lactobacillus fermentum*. *Jap. J. Microbiol.* 20, 241-242.

ÖZGEÇMİŞ

Adı – Soyadı : Gülden BAŞYİĞİT
Doğum Yeri : İstanbul
Doğum Yılı : 03.10.1977
Medeni Hali : Bekar

Eğitim ve Akademik Durumu:

Lise : 1992 - 1995
Lisans : 1996 - 2000

Yabancı Dil : İngilizce

İş Deneyimi _____:

2000 – 2002 Sorumlu Yöneticilik (Katre Unlu Mamulleri Lmt.Şti.)

2002 – 2004 Araştırma Görevlisi (SDÜ, Ziraat Fak., Gıda Müh. Bölümü)

EKLER

EK 1 Laktobasillerin Aside Direnç Deneşlerine Ait Optik Yoğunluk Ölçüm Sonuçları

Sıra No	Bakteri No	pH	0	30	60	90	120	150	180
1	AA1-1	4,5	0,025	0,023	0,020	0,022	0,024	0,015	0,027
2	AA1-2	4,3	0,100	0,107	0,109	0,123	0,130	0,099	0,168
3	AA2-3	4,9	0,008	0,008	0,008	0,013	0,006	0,004	0,01
4	AA4-8	5,0	0,025	0,019	0,017	0,014	0,014	0,014	0,014
5	AC3-10	4,8	0,019	0,010	0,014	0,011	0,009	0,000	0,016
6	AC3-11	4,9	0,018	0,024	0,023	0,022	0,021	0,024	0,028
7	AC3-13	4,58	0,036	0,030	0,028	0,028	0,028	0,028	0,028
8	AC3-14	4,8	0,016	0,016	0,018	0,019	0,018	0,015	0,015
9	AC3-16	4,68	0,043	0,052	0,053	0,055	0,058	0,057	0,059
10	AB5-17	4,7	0,008	0,019	0,024	0,023	0,03	0,028	0,033
11	AB5-18	5,05	0,020	0,020	0,030	0,032	0,032	0,033	0,034
12	AB5-19	4,80	0,143	0,163	0,158	0,170	0,166	0,183	0,172
13	AB5-20	4,7	0,008	0,012	0,010	0,010	0,010	0,009	0,010
14	AB5-21	4,7	0,010	0,010	0,016	0,011	0,017	0,017	0,015
15	AB6-25	4,7	0,020	0,014	0,016	0,010	0,009	0,008	0,007
16	AC3-27	5,1	0,005	0,000	0,048	0,053	0,071	0,080	0,080
17	AB7-30	4,5	0,013	0,014	0,013	0,009	0,010	0,013	0,017
18	AB7-31	5,4	0,004	0,004	0,003	0,002	0,004	0,001	0,001
19	AB7-32	5,23	0,010	0,011	0,019	0,021	0,020	0,019	0,021
20	AB7-33	5,35	0,002	0,004	0,013	0,015	0,014	0,015	0,016
21	AB7-34	4,99	0,018	0,025	0,033	0,035	0,034	0,035	0,036
22	AB7-35	4,3	0,119	0,135	0,143	0,093	0,085	0,075	0,070
23	BC8-36	4,6	0,020	0,026	0,024	0,019	0,024	0,020	0,031
24	AC8-38	4,3	0,039	0,049	0,053	0,053	0,049	0,051	0,054
25	AC10-39	5,4	0,018	0,018	0,012	0,012	0,013	0,015	0,014
26	AC10-40	4,66	0,045	0,058	0,056	0,058	0,061	0,060	0,063
27	AC10-41	4,7	0,014	0,009	0,012	0,010	0,018	0,015	0,018
28	AC10-42	4,8	0,018	0,026	0,017	0,017	0,019	0,016	0,021
29	AC10-43	4,69	0,052	0,047	0,049	0,049	0,051	0,052	0,052
30	BC11-45	4,8	0,055	0,050	0,041	0,036	0,038	0,043	0,044
31	AC12-46	4,5	0,032	0,017	0,018	0,014	0,012	0,013	0,010
32	AC12-47	4,65	0,043	0,054	0,056	0,056	0,058	0,057	0,062
33	BC12-50	5,23	0,008	0,018	0,016	0,017	0,016	0,016	0,018
34	AA13-51	4,6	0,023	0,024	0,028	0,029	0,033	0,027	0,024
35	AA13-53	5,1	0,066	0,065	0,067	0,069	0,084	0,120	0,115
36	AA13-55	4,7	0,020	0,022	0,023	0,020	0,024	0,021	0,022
37	AA13-56	5,29	0,031	0,027	0,025	0,025	0,023	0,023	0,023
38	AA13-59	4,5	0,032	0,032	0,031	0,024	0,030	0,028	0,033
39	AA14-60	4,4	0,042	0,042	0,039	0,039	0,044	0,043	0,039
40	BB16-64	5,0	0,126	0,148	0,145	0,158	0,154	0,158	0,163

Sıra No	Bakteri No	pH	0	30	60	90	120	150	180
41	AB16-65	3,8	0,030	0,034	0,038	0,031	0,036	0,032	0,036
42	BB16-661	4,2	0,096	0,088	0,097	0,127	0,103	0,105	0,100
43	AB16-67	4,2	0,023	0,025	0,019	0,019	0,023	0,022	0,023
44	AB16-68	4,57	0,031	0,046	0,043	0,044	0,044	0,045	0,048
45	AB16-69	5,41	0,022	0,018	0,017	0,017	0,016	0,016	0,016
46	AA17-72	4,1	0,031	0,040	0,047	0,042	0,045	0,047	0,051
47	AA17-73	3,58	0,007	0,012	0,018	0,019	0,025	0,023	0,021
48	AA17-74	5,1	0,015	0,009	0,007	0,008	0,010	0,007	0,007
49	BB16-75	4,1	0,042	0,047	0,045	0,044	0,057	0,060	0,050
50	AB16-77	4,5	0,038	0,043	0,044	0,047	0,052	0,047	0,069
51	BC18-80	4,7	0,019	0,025	0,027	0,027	0,027	0,017	0,030
52	BC18-81	3,8	0,055	0,055	0,056	0,053	0,052	0,054	0,052
53	AC18-82	4,4	0,030	0,033	0,036	0,035	0,034	0,036	0,042
54	AC18-84	3,9	0,027	0,024	0,025	0,025	0,037	0,031	0,034
55	AC18-85	4,35	0,020	0,027	0,027	0,027	0,029	0,033	0,034
56	AC18-86	3,9	0,060	0,070	0,070	0,064	0,059	0,058	0,033
57	AC18-87	4,0	0,048	0,051	0,040	0,044	0,047	0,048	0,050
58	AC18-88	3,64	0,012	0,007	0,019	0,018	0,018	0,014	0,025
59	AB19-93	4,6	0,009	0,006	0,004	0,004	0,004	0,004	0,003
60	AB19-94	4,3	0,064	0,069	0,077	0,076	0,086	0,093	0,106
61	AB19-95	4,2	0,043	0,047	0,046	0,044	0,048	0,045	0,053
62	AB20-96	4,2	0,073	0,077	0,080	0,079	0,081	0,084	0,088
63	AB20-961	4,8	0,056	0,053	0,053	0,054	0,059	0,059	0,058
64	AB20-97	4,9	0,056	0,059	0,055	0,058	0,058	0,058	0,054
65	AB20-98	5,1	0,250	0,293	0,29	0,289	0,271	0,268	0,277
66	AB20-99	5,29	0,028	0,029	0,023	0,025	0,023	0,024	0,023
67	AB20-100	3,85	0,086	0,082	0,087	0,097	0,091	0,090	0,090
68	AC21-101	4,8	0,025	0,025	0,020	0,020	0,020	0,023	0,027
69	AC21-102	4,9	0,033	0,020	0,021	0,018	0,024	0,008	0,013
70	AC21-103	4,0	0,028	0,037	0,047	0,044	0,043	0,045	0,050
71	AC21-1031	4,0	0,061	0,061	0,063	0,057	0,056	0,055	0,054
72	AC21-105	3,53	0,036	0,030	0,026	0,028	0,025	0,025	0,026
73	AK1-1	4,7	0,018	0,017	0,018	0,015	0,016	0,017	0,018
74	AK1-4	4,8	0,006	0,006	0,004	0,005	0,008	0,006	0,009
75	AK2-7	5,28	0,036	0,027	0,026	0,026	0,024	0,024	0,024
76	AK2-8	4,5	0,055	0,062	0,058	0,060	0,065	0,070	0,080
77	AK3-10	4,6	0,023	0,021	0,022	0,021	0,021	0,021	0,024
78	AK4-11	4,64	0,036	0,043	0,054	0,057	0,056	0,059	0,060
79	AK4-120	4,1	0,079	0,099	0,093	0,093	0,090	0,088	0,103
80	AK4-121	4,2	0,042	0,039	0,038	0,039	0,045	0,043	0,043
81	AK4-13	5,41	0,043	0,043	0,040	0,043	0,046	0,051	0,050
82	AK4-14	5,17	0,011	0,010	0,015	0,018	0,014	0,018	0,019
83	AK4-16	5,0	0,084	0,115	0,118	0,124	0,124	0,124	0,130

Sıra No	Bakteri No	pH	0	30	60	90	120	150	180
84	AK4-18	5,1	0,117	0,148	0,144	0,155	0,143	0,161	0,160
85	AK4-19	5,10	0,095	0,129	0,126	0,135	0,129	0,145	0,138
86	AK4-20	5,29	0,005	0,004	0,006	0,011	0,009	0,013	0,014
87	AK4-21	5,56	0,028	0,031	0,029	0,030	0,031	0,031	0,032
88	AK5-22	4,50	0,086	0,089	0,095	0,095	0,101	0,110	0,119
89	AK5-23	4,5	0,060	0,066	0,068	0,064	0,072	0,082	0,091
90	AK6-24	4,4	0,093	0,063	0,003	0,060	0,066	0,065	0,075
91	AK6-26	4,2	0,034	0,029	0,030	0,025	0,028	0,029	0,034
92	AK6-27	4,3	0,057	0,065	0,062	0,070	0,077	0,086	0,096
93	AK7-28	4,1	0,056	0,056	0,048	0,047	0,054	0,056	0,062
94	AK7-29	4,1	0,074	0,073	0,080	0,077	0,108	0,123	0,114
95	AK7-31	4,2	0,037	0,038	0,033	0,033	0,038	0,034	0,033
96	BK8-34	5,4	0,007	0,007	0,006	0,011	0,006	0,008	0,009
97	BK8-35	5,4	0,027	0,03	0,022	0,023	0,024	0,029	0,026
98	BK88-36	4,7	0,126	0,141	0,144	0,147	0,153	0,144	0,147
99	BK9-38	5,30	0,012	0,015	0,058	0,059	0,084	0,110	0,106
100	BK9-39	4,5	0,052	0,053	0,063	0,064	0,066	0,066	0,07
101	BK9-40	5,0	0,017	0,019	0,058	0,064	0,080	0,111	0,097
102	BK9-41	4,7	0,024	0,033	0,046	0,021	0,031	0,048	0,038
103	BK9-42	4,0	0,057	0,065	0,071	0,070	0,079	0,079	0,086
104	BK10-44	4,5	0,038	0,028	0,027	0,017	0,015	0,002	0,015
105	BK10-47	4,65	0,018	0,015	0,015	0,014	0,014	0,012	0,012
106	BK19-48	5,0	0,007	0,000	0,002	0,001	0,007	0,001	0,011
107	BK11-50	5,10	0,115	0,135	0,144	0,163	0,153	0,162	0,164
108	BK11-51	5,3	0,105	0,120	0,123	0,132	0,128	0,141	0,135
109	BK13-54	5,25	0,010	0,014	0,015	0,016	0,017	0,016	0,018
110	BK13-55	4,6	0,019	0,014	0,012	0,011	0,023	0,019	0,020
111	BK13-56	5,0	0,051	0,052	0,086	0,094	0,111	0,137	0,133

EK 2. Enterokokların Aside Direnç Deneşlerine Ait Optik Yoğunluk Ölçüm Sonuçları

Sıra No	Bakteri No	pH	0	30	60	90	120	150	180
1	AB4-6	4,6	0,011	0,011	0,011	0,011	0,010	0,017	0,017
2	AC3-9	5,8	0,012	0,010	0,012	0,011	0,013	0,011	0,015
3	AC3-15	4,7	0,012	0,012	0,008	0,007	0,012	0,009	0,01
4	AB6-22	4,8	0,002	0,000	0,007	0,003	0,008	0,002	0,004
5	AB6-23	4,6	0,021	0,017	0,019	0,012	0,014	0,014	0,012
6	AB6-24	4,5	0,013	0,014	0,014	0,015	0,014	0,014	0,019
7	BB6-26	5,15	0,000.	0,008	0,019	0,019	0,022	0,021	0,022
8	AB7-29	4,8	0,011	0,008	0,009	0,007	0,007	0,006	0,008
9	AC12-48	5,5	0,024	0,025	0,020	0,020	0,020	0,015	0,013
10	AA14-58	4,5	0,016	0,017	0,016	0,016	0,015	0,018	0,018
11	BA15-62	4,3	0,022	0,016	0,013	0,014	0,017	0,014	0,012
12	BA15-63	5,23	0,009	0,017	0,015	0,016	0,016	0,015	0,019
13	AB16-66	5,0.	0,008	0,010	0,009	0,006	0,013	0,017	0,016
14	BA17-70	5,3	0,003	0,004	0,013	0,014	0,014	0,014	0,017
15	BA17-71	4,5	0,012	0,013	0,014	0,013	0,012	0,012	0,017
16	BB16-76	5,9	0,013	0,010	0,006	0,007	0,007	0,005	0,005
17	BC18-78	4,0.	0,027	0,027	0,030	0,030	0,031	0,034	0,039
18	AC18-83	4,15	0,049	0,052	0,063	0,053	0,056	0,052	0,055
19	BB19-90	5,6	0,014	0,011	0,007	0,009	0,014	0,008	0,008
20	BC21-104	4,8	0,006	0,008	0,007	0,008	0,013	0,009	0,010
21	AC21-106	6,2	0,021	0,021	0,026	0,017	0,013	0,015	0,015
22	AK1-3	6,0	0,019	0,017	0,015	0,015	0,019	0,016	0,021
23	AK1-5	4,7	0,151	0,157	0,163	0,171	0,151	0,179	0,182
24	AK4-180	5,1	0,117	0,148	0,144	0,155	0,143	0,161	0,16
25	AK6-25	4,99	0,007	0,015	0,025	0,026	0,026	0,027	0,030
26	AK7-31	3,8	0,058	0,073	0,072	0,072	0,082	0,093	0,091
27	AK7-32	4,1	0,029	0,033	0,037	0,039	0,041	0,042	0,046
28	BK9-43	5	0,002	0,000	0,001	0,003	0,005	0,017	0,002
29	BK10-45	4,6	0,013	0,013	0,012	0,012	0,011	0,010	0,016
30	BK10-46	4,7	0,026	0,021	0,018	0,018	0,017	0,017	0,018
31	BK11-49	4,8	0,061	0,056	0,042	0,038	0,042	0,050	0,054
32	BK12-52	4,6	0,018	0,018	0,018	0,018	0,021	0,025	0,023
33	BK13-53	4,6	0,026	0,024	0,03	0,025	0,028	0,027	0,027

EK 3. Basillerin Safra Tuzlarına Direnç Deneylerine Ait Optik Yoğunluk Sonuçları

Sıra No	Bakteri No	0	30	60	90	120	150	180
1	AA1-1	0,005	0,005	0,005	0,005	0,003	0,005	0,003
2	AA1-2	0,006	0,009	0,013	0,013	0,019	0,020	0,026
3	AA2-3	0,010	0,009	0,010	0,012	0,013	0,017	0,018
4	AA4-8	0,021	0,025	0,023	0,026	0,026	0,031	0,041
5	AC3-10	0,019	0,016	0,020	0,027	0,035	0,035	0,050
6	AC3-11	0,013	0,014	0,013	0,014	0,014	0,016	0,019
7	AC3-13	0,033	0,038	0,040	0,043	0,046	0,058	0,072
8	AC3-14	0,004	0,005	0,003	0,003	0,002	0,007	0,002
9	AC3-16	0,063	0,079	0,077	0,079	0,093	0,118	0,160
10	AB5-17	0,008	0,008	0,010	0,014	0,017	0,023	0,042
11	AB5-18	0,019	0,017	0,015	0,020	0,025	0,031	0,037
12	AB5-19	0,050	0,057	0,055	0,056	0,059	0,060	0,066
13	AB5-20	0,004	0,010	0,011	0,010	0,011	0,014	0,025
14	AB6-21	0,006	0,006	0,008	0,007	0,007	0,010	0,014
15	AB6-25	0,000	0,004	0,004	0,005	0,005	0,007	0,010
16	AC3-27	0,002	0,003	0,004	0,004	0,007	0,010	0,017
17	AB7-30	0,002	0,003	0,004	0,006	0,004	0,008	0,012
18	AB7-31	0,003	0,002	0,005	0,007	0,011	0,016	0,034
19	AB7-32	0,024	0,025	0,024	0,026	0,028	0,032	0,033
20	AB7-33	0,019	0,019	0,026	0,026	0,028	0,031	0,035
21	AB7-34	0,024	0,027	0,029	0,034	0,039	0,048	0,052
22	AB7-35	0,013	0,016	0,013	0,015	0,018	0,016	0,017
23	BC8-36	0,001	0,009	0,012	0,014	0,017	0,016	0,036
24	AC8-38	0,019	0,026	0,030	0,033	0,037	0,044	0,048
25	AC10-39	0,039	0,039	0,043	0,046	0,049	0,052	0,053
26	AC10-40	0,080	0,092	0,088	0,094	0,105	0,136	0,169
27	AC10-41	0,013	0,019	0,028	0,040	0,053	0,078	0,118
28	AC10-42	0,025	0,016	0,017	0,020	0,022	0,027	0,032
29	AC10-43	0,045	0,058	0,066	0,070	0,082	0,110	0,145
30	BC11-45	0,044	0,047	0,048	0,050	0,052	0,055	0,056
31	AC12-46	0,012	0,014	0,016	0,016	0,018	0,026	0,028
32	AC12-47	0,022	0,025	0,025	0,03	0,034	0,064	0,100
33	BC12-50	0,044	0,040	0,038	0,039	0,047	0,055	0,056
34	AA13-51	0,015	0,020	0,027	0,031	0,045	0,065	0,100
35	AA13-53	0,036	0,033	0,036	0,040	0,043	0,050	0,060
36	AA13-55	0,010	0,009	0,010	0,009	0,011	0,012	0,020
37	AA13-56	0,021	0,024	0,025	0,024	0,026	0,028	0,030
38	AA13-59	0,023	0,026	0,026	0,030	0,033	0,040	0,042
39	AA14-60	0,037	0,032	0,028	0,030	0,029	0,032	0,030
40	BB16-64	0,003	0,002	0,004	0,007	0,010	0,017	0,024
41	AB16-65	0,027	0,027	0,025	0,024	0,025	0,029	0,031
42	BB16-661	0,004	0,010	0,010	0,010	0,009	0,011	0,011

Sıra No	Bakteri No	0	30	60	90	120	150	180
43	AB16-67	0,037	0,039	0,042	0,045	0,049	0,052	0,62
44	AB16-68	0,039	0,041	0,040	0,042	0,048	0,051	0,055
45	AB16-69	0,021	0,016	0,017	0,017	0,017	0,022	0,030
46	AA17-72	0,027	0,028	0,026	0,026	0,028	0,029	0,031
47	AA17-73	0,048	0,048	0,047	0,057	0,065	0,075	0,084
48	AA17-74	0,010	0,014	0,013	0,013	0,016	0,015	0,018
49	BB16-75	0,028	0,028	0,028	0,035	0,044	0,050	0,059
50	AB16-77	0,009	0,011	0,011	0,012	0,010	0,014	0,015
51	BC18-80	0,015	0,017	0,017	0,019	0,023	0,024	0,023
52	BC18-81	0,005	0,009	0,008	0,009	0,010	0,015	0,020
53	AC18-82	0,011	0,021	0,029	0,027	0,035	0,040	0,053
54	AC18-84	0,032	0,034	0,037	0,038	0,044	0,045	0,051
55	AC18-85	0,018	0,023	0,023	0,027	0,029	0,032	0,034
56	AC18-86	0,045	0,062	0,062	0,064	0,067	0,071	0,077
57	AC18-87	0,020	0,025	0,024	0,024	0,026	0,029	0,029
58	AC18-88	0,019	0,015	0,018	0,022	0,025	0,027	0,032
59	AB19-93	0,026	0,028	0,030	0,028	0,027	0,029	0,029
60	AB19-94	0,045	0,047	0,047	0,049	0,055	0,057	0,063
61	AB19-95	0,046	0,050	0,052	0,050	0,052	0,053	0,052
62	AB20-96	0,030	0,034	0,038	0,048	0,060	0,078	0,105
63	AB20-961	0,018	0,020	0,029	0,031	0,040	0,039	0,043
64	AB20-97	0,011	0,014	0,016	0,017	0,020	0,026	0,028
65	AB20-98	0,047	0,053	0,065	0,070	0,072	0,073	0,076
66	AB20-99	0,112	0,114	0,112	0,120	0,120	0,132	0,145
67	AB20-100	0,027	0,029	0,030	0,030	0,037	0,041	0,042
68	AC21-101	0,065	0,072	0,072	0,065	0,075	0,096	0,112
69	AC21-102	0,024	0,017	0,014	0,016	0,016	0,018	0,021
70	AC21-103	0,018	0,024	0,028	0,026	0,029	0,032	0,031
71	AC21-1031	0,011	0,021	0,019	0,018	0,016	0,017	0,018
72	AC21-105	0,027	0,029	0,029	0,031	0,034	0,043	0,048
73	AK1-1	0,010	0,009	0,008	0,008	0,009	0,010	0,011
74	AK1-4	0,020	0,015	0,016	0,019	0,019	0,024	0,028
75	AK2-7	0,076	0,078	0,081	0,083	0,087	0,090	0,108
76	AK2-8	0,038	0,039	0,039	0,042	0,045	0,047	0,053
77	AK3-10	0,009	0,012	0,014	0,014	0,014	0,026	0,024
78	AK4-11	0,060	0,059	0,055	0,054	0,064	0,084	0,100
79	AK4-120	0,061	0,058	0,057	0,063	0,079	0,109	0,148
80	AK4-121	0,033	0,037	0,039	0,038	0,037	0,042	0,050
81	AK4-13	0,006	0,004	0,004	0,005	0,006	0,006	0,006
82	AK4-14	0,018	0,018	0,019	0,020	0,023	0,028	0,033
83	AK4-16	0,002	0,002	0,001	0,001	0,002	0,002	0,002
84	AK4-18	0,006	0,006	0,008	0,010	0,012	0,011	0,014
85	AK4-19	0,003	0,005	0,005	0,006	0,007	0,008	0,014

Sıra No	Bakteri No	0	30	60	90	120	150	180
86	AK4-20	0,016	0,017	0,017	0,017	0,020	0,025	0,029
87	AK4-21	0,008	0,006	0,006	0,007	0,005	0,008	0,011
88	AK5-22	0,036	0,036	0,034	0,039	0,044	0,061	0,066
89	AK5-23	0,032	0,030	0,036	0,040	0,047	0,058	0,069
90	AK6-24	0,021	0,024	0,027	0,030	0,035	0,042	0,059
91	AK6-26	0,028	0,027	0,027	0,030	0,028	0,027	0,028
92	AK6-27	0,039	0,044	0,043	0,043	0,049	0,049	0,052
93	AK7-28	0,045	0,056	0,054	0,060	0,061	0,068	0,071
94	AK7-29	0,031	0,035	0,033	0,036	0,040	0,044	0,049
95	AK7-31	0,001	0,010	0,009	0,009	0,010	0,012	0,020
96	BK8-34	0,010	0,010	0,008	0,009	0,010	0,001	0,015
97	BK8-35	0,025	0,027	0,029	0,027	0,026	0,027	0,028
98	BK8-36	0,043	0,043	0,047	0,054	0,057	0,063	0,085
99	BK9-38	0,013	0,012	0,012	0,016	0,017	0,021	0,025
100	BK9-39	0,061	0,058	0,058	0,059	0,056	0,061	0,067
101	BK9-40	0,013	0,012	0,012	0,014	0,018	0,024	0,036
102	BK9-41	0,010	0,009	0,011	0,012	0,013	0,016	0,019
103	BK9-42	0,016	0,011	0,013	0,013	0,013	0,013	0,013
104	BK10-44	0,025	0,026	0,030	0,031	0,035	0,040	0,048
105	BK10-47	0,009	0,018	0,018	0,019	0,017	0,038	0,035
106	BK10-48	0,016	0,017	0,017	0,018	0,020	0,026	0,036
107	BK11-50	0,003	0,003	0,004	0,005	0,006	0,005	0,012
108	BK11-51	0,025	0,022	0,022	0,028	0,026	0,030	0,036
109	BK13-54	0,024	0,037	0,028	0,032	0,041	0,038	0,040
110	BK13-55	0,015	0,016	0,014	0,017	0,016	0,020	0,022
111	BK13-56	0,028	0,025	0,031	0,036	0,038	0,047	0,060

EK 4. Enterokokların Safra Tuzuna Direnç Deneylelerine Ait Optik Yoğunluk Ölçüm Sonuçları

Sıra No	Bakteri No	0	30	60	90	120	150	180
1	AB4-6	0,017	0,017	0,015	0,018	0,016	0,019	0,019
2	AC3-9	0,017	0,015	0,015	0,016	0,019	0,023	0,032
3	AC3-15	0,003	0,005	0,006	0,009	0,007	0,015	0,016
4	AB6-22	0,007	0,007	0,008	0,011	0,013	0,018	0,026
5	AB6-23	0,004	0,007	0,010	0,010	0,006	0,008	0,011
6	AB6-24	0,095	0,092	0,087	0,088	0,092	0,098	0,101
7	BB6-26	0,017	0,013	0,017	0,020	0,023	0,025	0,029
8	AB7-29	0,016	0,016	0,018	0,022	0,025	0,028	0,034
9	AC12-48	0,024	0,019	0,017	0,022	0,023	0,027	0,028
10	AA14-58	0,016	0,014	0,012	0,014	0,016	0,016	0,025
11	BA15-62	0,020	0,020	0,023	0,024	0,023	0,031	0,034
12	BA16-63	0,016	0,013	0,014	0,019	0,021	0,022	0,026
13	AB16-66	0,036	0,028	0,030	0,033	0,035	0,042	0,046
14	BA17-70	0,016	0,012	0,016	0,018	0,020	0,022	0,027
15	BA17-71	0,005	0,010	0,010	0,017	0,022	0,029	0,045
16	BB16-76	0,008	0,008	0,007	0,007	0,007	0,01	0,008
17	BC18-78	0,024	0,027	0,029	0,03	0,031	0,034	0,038
18	AC18-83	0,037	0,032	0,038	0,039	0,043	0,046	0,052
19	BB19-90	0,107	0,100	0,096	0,098	0,099	0,110	0,116
20	BC21-104	0,003	0,003	0,005	0,005	0,007	0,010	0,014
21	AC21-106	0,021	0,019	0,021	0,026	0,030	0,036	0,046
22	AK1-3	0,014	0,014	0,016	0,019	0,024	0,030	0,035
23	AK1-5	0,047	0,046	0,050	0,054	0,06	0,066	0,070
24	AK4-180	0,006	0,006	0,008	0,010	0,012	0,011	0,014
25	AK6-25	0,012	0,010	0,012	0,016	0,017	0,019	0,020
26	AK7-31	0,053	0,058	0,056	0,056	0,058	0,059	0,068
27	AK7-32	0,034	0,036	0,037	0,041	0,044	0,053	0,063
28	BK9-43	0,000	0,002	0,003	0,005	0,007	0,009	0,012
29	BK10-45	0,024	0,018	0,018	0,023	0,025	0,032	0,034
30	BK10-46	0,041	0,043	0,041	0,045	0,042	0,046	0,047
31	BK11-49	0,009	0,010	0,013	0,013	0,016	0,021	0,022
32	BK12-52	0,012	0,014	0,015	0,017	0,019	0,023	0,027
33	BK13-53	0,007	0,013	0,014	0,015	0,016	0,028	0,034

EK 5. Laktobasillerin Tanı Testi Sonuçları

Suşlar		Gram reaksiyonu	Katataz testi	15Ocede gelişme	450Cde gelişme	Arjinden Amonyak oluşturma	Glukozdan gaz oluşturma	Arabinoz	Celebioz	Früktöz	Galaktöz	Laktöz	Maltoz	Mannitol	Mannoz	Melibioz	Rafinoz	Ramnoz	Riboz	Sorbitol	Sükroz	Trehaloz	Xylose
AA1-1	?	+	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-
AA1-2	<i>L. agilis</i>	+	-	-	+	+ ²	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+z	+	+	-
AA2-3	?	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+z	+	+	+	+	-
AA4-8	<i>L. fermentum</i>	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+z	+	-	+	+	-
AC3-10	<i>L. agilis</i>	+	-	-z	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+ ²	+	+	+	+	-
AC3-11	<i>L. fermentum</i> var. <i>cellobiosus</i>	+	-	-z	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+
AC3-13	<i>L. murinus</i>	+	-	-	+	-	-	- ²	+	+	+	+	+	- ²	+	+	+	-	+	-	+	+	+ ²
AC3-14	?	+	-	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-
AC3-16	<i>L. maltaromicus</i>	+	-	+ ²	+ ²	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-
AB5-17	?	+	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+	-
AB5-18	<i>L. acidophilus</i>	+	-	-	- ²	-	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	-
AB5-19	<i>L. brevis</i>	+	-	+	-	+	+	- ²	-	- ²	+	+	+	- ²	-	+	+	-	+	-	+	-	+
AB5-20	<i>L. bavaricus</i>	+	-	+	+ ²	-	-	-	+	+	+	+	+	+ ²	+	+	-	-	+	-	+	+ ²	-
AB6-21	<i>L. casei</i> subsp. <i>rhamnosus</i>	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	- ²	+	+	+	+	-
AB6-25	<i>L. agilis</i>	+	-	-	+	+ ²	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+ ²	+	+	+	+	-
AC3-27	<i>L. plantarum</i>	+	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+z	+	+ ²	+	+	-
AB7-30	?	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
AB7-31	<i>L. casei</i>	+	-	+	+z	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+ ²	-	-	+	- ²	+	+	-
AB7-32	<i>L. fermentum</i>	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	- ²	-	+	+	-
AB7-33	?	+	-	+	+z	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+z	+	-	+	+	-
AB7-34	<i>L. fermentum</i>	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+ ²	+	+ ²	+	+z ²	+	-	+	+	-
AB7-35	<i>L. agilis</i>	+	-	-z	-z ²	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	- ²	-	+	+	+	+	-
BC8-36	<i>L. maltaromicus</i>	+	-	+ ²	+z	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+z	+	- ²	+	+	-
AC8-38	<i>L. murinus</i>	+	-	+ ²	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	- ²	+z	+	-	+	+	-
AC10-39	<i>L. casei</i> subsp. <i>casei</i>	+	-	+	+z	+z	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+ ²	+ ²	-	+	- ²	+	+	-
AC10-40	<i>L. casei</i>	+	-	+	-	+	-	-	+	+	+	- ²	+	+	+	+	+ ²	-	- ²	+	+	+	-
AC10-41	<i>L. casei</i> subsp. <i>casei</i>	+	-	+	+ ²	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+ ²	-	-	+	- ²	+	+	-
AC10-42	<i>L. agilis</i>	+	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	- ²	-	+	-	+	+	-
AC10-43	<i>L. maltaromicus</i>	+	-	+ ²	+ ²	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+z	+	+	+	+	-
BC11-45	<i>L. murinus</i>	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	-
AC12-46	?	+	-	-	+z	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+z	+	-	+	-
AC12-47	<i>L. agilis</i>	+	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-
BC12-50	<i>L. plantarum</i>	+	-	- ²	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+ ²	+	+	+ ²
AA13-51	?	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
AA13-53	<i>L. casei</i> subsp. <i>casei</i>	+	-	+	+ ²	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+ ²	-	-	+	- ²	+	+	-

Suşlar		Gram reaksiyonu	Katılaş testi	15Ode gelişme	450Cde gelişme	Ajirinden Amonyak oluşturma	Glukozdan gaz oluşturma	Arabinoz	Cellebioz	Früktroz	Galaktöz	Laktöz	Maltöz	Mannitol	Mannoz	Melibrioz	Rafnoz	Ramnoz	Riboz	Sorbitol	Sükroz	Trehaloz	Xylose
AA13-55	<i>L. fermentum</i>	+	-	+z	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+ ²	+	+	- ²	-	+	+ ²	+	+	-
AA13-56	?	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+z	+z	+	+	+	+	-
AA13-59	<i>L. maltaromicus</i>	+	-	-	+ ²	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+z	+	+	+	+	-
AA14-60	<i>L. intestinalis</i>	+	-	+ ²	+z	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+z	+z	+	+z	+	+	-
BB16-64	<i>L. murinus</i>	+	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	-
AB16-65	<i>L. casei</i> subsp. <i>casei</i>	+	-	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+z	+	+	-
AB16-66	<i>L. intestinalis</i>	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
AB16-67	?	+	-	-	+			-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-
AB16-68	?	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-
AB16-69	<i>L. maltaromicus</i>	+	-	+ ²	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+z	+	- ²	+	+	-
AA17-72	?	+	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+z	+	+	+	+	+
AA17-73	<i>L. agilis</i>	+	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-
AA17-74	<i>L. agilis</i>	+	-	-	+z	+ ²	+z	--	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-
BB16-75	<i>L. murinus</i>	+	-	-	+	+	+	- ²	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	-
AB16-77	?	+	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
BC18-80	<i>L. agilis</i>	+	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+z ²	+	+	+	+	-
BC18-81	<i>L. casei</i> subsp. <i>rhamnosus</i>	+	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+ ²	+ ²	- ²	+	+	+	+	-
AC18-82	<i>L. fermentum</i>	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+ ²	+	+ ²	+	-	-
AC18-84	<i>L. johnsonii</i>	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-
AC18-85	<i>L. intestinalis</i>	+	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	- ²	+	+	-	- ²	-	+	-	-
AC18-86	<i>L. agilis</i>	+	-	-	+	+ ²	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-
AC18-87	<i>L. fermentum</i>	+	-	-z	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+ ²	+	+	+	-	+	-	+	+	+ ²
AC18-88	<i>L. agilis</i>	+	-	-z	+	-	-	-	+z	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-
AB19-93	<i>L. fermentum</i>	+	-	-	+	+	+	-	- ²	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	+	+ ²
AB19-94	<i>L. fermentum</i>	+	-	-	+z	+	-	-	+	+	+	+	+	+ ²	+	+	+	-	+	-	+	+	+ ²
AB19-95	<i>L. fermentum</i>	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+ ²	+	+	+	+ ²	+	+ ²	+	+	+ ²
AB20-96	<i>L. maltaromicus</i>	+	-	+ ²	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+z	+	+	+	+	-
AB20-961	<i>L. murinus</i>	+	-	-	+	+	+	- ²	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	-
AB20-97	<i>L. maltaromicus</i>	+	-	-	+ ²	+z	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-
AB20-98	<i>L. fermentum</i>	+	-	+ ²	- ²	+	-	-	+	+	+	+	+	+ ²	+	+	+	-	+	-	+	+	-
AB20-99	<i>L. murinus</i>	+	-	z	+	-	-	- ²	+	+	+	+	+	+z	+	+	+	+z	+	-	+	+	-
AB20-100	<i>L. rhamnosus</i>	+	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+ ²	-	- ²	+	+	+	+	-
AC21-101	<i>L. maltaromicus</i>	+	-	+ ²	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+z	+	+	+	+	-
AC21-102	<i>L. agilis</i>	+	-	-z	+	+ ²	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-
AC21-103	<i>L. fermentum</i>	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	+	+	-
AC21-1031	<i>L. maltaromicus</i>	+	-	+ ²	-z	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+z	+	+	+	+	-
AC21-105	?	+	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+
AK1-1	<i>L. plantarum</i>	+	-	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	- ²	+	+	+

Suşlar		Gram reaksiyonu	Katılaş testi	150Cde gelişme	450Cde gelişme	Ajından Amonyak oluşurma	Glükozdan gaz oluşurma	Arabinoz	Cellebioz	Früktöz	Galaktöz	Laktöz	Maltöz	Mannitol	Mannoz	Melibioz	Rafinoz	Ramnoz	Riboz	Sorbitol	Sükroz	Trehaloz	Xylose
AK1-4	<i>L. maltaromicus</i>	+	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+ ³	-	+	- ²	+	+	-
AK2-7	?	+	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
AK2-8	?	+	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
AK3-10	<i>L.plantarum</i>	+	-	+	+ ²	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-Z
AK4-11	<i>L. agilis</i>	+	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	- ³	+Z ²	+	+	+	+	-
AK4-120	<i>L.plantarum</i>	+	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-
AK4-121	<i>L. murinus</i>	+	-	+ ²	- ²	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+ ²	+	+	-
AK4-13	<i>L. agilis</i>	+	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+ ²	+	+	+	+	+ ²
AK4-14	<i>L. acidophilus</i>	+	-	+ ²	+	+ ²	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+Z	-	-	-	+	+	-
AK4-16	<i>L. agilis</i>	+	-	-	+Z	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	- ²	-	+	- ²	+	+	-
AK4-180	<i>L. rhamnosus</i>	+	-	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+ ²	-	+	+	+	+	-
AK4-19	?	+	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
AK4-20	<i>L. paracasei</i> spp. <i>paracasei</i>	+	-	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+	- ²	+	+ ²	-	+	- ²	- ²	+	+	-
AK4-21	?	+	-	+	+	-	+Z	+	+	+	+	+	+Z	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
AK5-22	<i>L.intestina</i>	+	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	- ²	+	-	+	+	-
AK23	<i>L.plantarum</i>	+	-	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+Z ²	+	+	+	+	+
AK6-24	<i>L. fermentum</i>	+	-	+	+	+	+	+Z	+Z	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+Z	+	+	-Z
AK6-26	?	+	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-
AK6-27	<i>L. rhamnosus</i>	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+ ²	-	+	+	+	+	+	-
AK7-28	<i>L. johnsonii</i>	+	-	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+Z	+	+	+	+	-
AK7-29	<i>L. casei</i> subsp. <i>rhamnosus</i>	+	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+ ²	-	+	+	+	+	+	-
BK8-34	<i>L. agilis</i>	+	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	- ²	-	+	+	+	+	-
BK8-35	?	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+
BK8-36	?	+	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+Z	+	+	+	+	+
BK9-38	<i>L.fermentum</i>	+	-	-	+	+	-	+Z	+	+	+	+	+	+ ²	+	+	+	+ ²	+	-	+	+	-
K39	<i>L. murinus</i>	+	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+Z	-	+	-	+	+	-
BK9-40	<i>L. plantarum</i>	+	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
BK9-41	<i>L. murinus</i>	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	-
BK9-42	<i>L. agilis</i>	+	-	+ ²	+	+ ²	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+ ²	+	+	+	+	-
BK10-44	<i>L. murinus</i>	+	-	-	+	-	+	-	- ²	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+ ²
BK10-47	<i>L.agilis</i>	+	-	-	+Z	+ ²	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+Z ²	+	+	+	+	-
BK10-48	<i>L. casei</i> subsp. <i>casei</i>	+	-	+	+Z	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+Z	+	+	+	+	-
BK11-50	<i>L.agilis</i>	+	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+ ²	+	+	+	+	-
BK11-51	<i>L. agilis</i>	+	-	+ ²	+Z	+ ²	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+Z ²	+	+	+	+	-
BK13-54	<i>L. casei</i>	+	-	+	+Z	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+ ²	+ ²	- ²	+	- ²	+	+	-
BK13-55	?	+	-	+	+	+	+Z	-	+	+	+	+	+	+	-	Y	-	-	+	-	-	+	+
BK13-56	<i>L. fermentum</i>	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+ ²	+	+	+	-	+	+ ²	+	+	+

Ek 6. Enterokokların Tanı Testi Sonuçları

Suşlar		Gram reaksiyonu	Katalaz reaksiyonu	10°C'de gelişme	45°C'de gelişme	PH 9,6da gelişme	% 6.5 NaCl de gelişme	% 0.1 metilen mavisi	Arabinoz	Laktoz	Mannitol	Melibioz	Rafinoz	Ramnoz	Sorbitol	Sükroz	Treloz	Xyloze
AB4-6	E. f	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+ ³	-	+	+	+	+	-
AC3-9	?	+	-	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-
AC3-15	E. c	+	-	-	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
AB6-22	E. s	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-
AB6-23	E. s	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-
AB6-24	E. f	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+ ²	+ ²	+	+	+	+	+
BB6-26	E. f	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+ ³	+ ³	+	+	+	+	-
AB7-29	E. c	+	-	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+ ²	+	+	+	-
AC12-48	?	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-
AA14-58	E. s	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	- ²	+	+	+	+	-
BA15-62	E. m	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-
BA15-63	E. s	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-
AB16-66	E. s	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-
BA17-70	E. s	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-
BA17-71	E. s	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-
BB16-76	E. f	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-
BC1878	E. s	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-
AC18-83	E. s	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-
BB19-90	?	+	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
BC21-104	E. f	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+ ²	+	-	+	+	+	+	-
AC21-106	E. s	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+ ²
AK1-3	E. s	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+ ²
AK1-5	E. s	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-
AK4-180	E. c	+	-	-	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+ ²	+	+	+	-
AK6-25	E. s	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-
AK7-31	E. s	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-
AK7-32	E. m	+	-	-	- ²	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
BK9-43	E. m	+	-	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-
BK10-45	E. s	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-
BK10-46	E. s	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-
BK11-49	?	+	-	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
BK12-52	E. s	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-
BK13-53	E. s	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-
<i>E. faecalis</i>		+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	v	+	+	+	v
<i>E. saccharolyticus</i>		+	-	+	+	ND	+	+	-	ND	+	+	+	ND	+	ND	ND	-
<i>E. malodaratus</i>		+	-	-	+	ND	+	+	-	+	+	+	+	+	d	+	+	v
<i>E. cecorum</i>		+	-	+	-	ND	-	+	-	+	+	d	+	-	d	+	+	-

E. f: *E. faecalis*, E. s: *E. saccharolyticus*, E. m: *E. malodaratus*, E. c: *E. cecorum*

EK 7. Laktobasillerin Antibiyotik Duyarlılıkları (zon çapı, mm)

Suşlar	AMC	AML	B	C	CAR	DA	KF	NS	OFX	PB	S	Va
AA4-8	40	3,9	26,7	33,2	42,8	30	33	-	18,4	-	-	-
AB5-18	40	41,6	29	34	23	32	36,8	-	18	-	-	-
AB6-21	44,5	40	29	31	44	34	36	-	17,5	-	-	-
AB6-25	37,2	35	-	30,3	33	10,4	21	-	31,6	-	-	-
AB7-35	40	40	9	31,2	34,6	13	23	-	-	-	-	-
AC8-38	42	35	16	32,7	38,5	33	29,7	-	15	-	-	25
AC10-39	42	40	13,5	37,5	42	-	36,5	-	24	-	-	27,5
AA13-53	45	39,6	27,4	36	38,6	30	36	-	15,5	-	-	-
BB16-661	14,3	32,4	11,4	32,4	37,2	27,2	26,6	-	24,2	-	-	-
AB16-68	32	32,4	11,4	32,4	37,2	27,2	26,6	-	24,2	-	-	-
AA17-73	39	39,8	25	28,4	40	25,2	31	-	13	-	-	-
BB16-75	36	36	27	31	42	27,4	32,4	-	9	-	-	-
AC18-85	44	41	13	30,8	47	36	33	-	12	-	-	-
AB19-94	40	37,8	25,1	32	42,5	31	33	-	15	-	-	-
AB20-96	34	33,2	-	29	31	10	21	-	15,8	-	-	-
AB20-100	39,8	36,8	25	31	40	26	31	-	11	-	-	-
AC21-101	44,6	42,8	10,7	38	39,8	12	26	-	12	-	-	-
AC21-103	40	39,6	28	31,6	41	30	32,8	-	14,8	-	-	-
AK4-11	34,5	37	8,3	28,3	31	16,6	19	-	18,2	-	-	-
AK4-120	40	38	26	33	41	31	33	-	15	-	-	-
AK4-121	46,8	47,6	14	42	44	17	30	-	-	-	-	-
AK4-14	42	38	30	32,6	44,8	16,4	36	-	18,4	-	-	-
AK4-18	32,3	31,8	11	31	39,6	25	23	-	-	-	-	-
AK5-22	40	37	27,3	31,7	43,2	31	23	-	16,1	-	-	-
AK6-27	42	40	27,4	33	44	34	35	-	15	-	-	-
AK7-28	38	42,5	8,3	33,5	34,8	10	24,1	-	13,8	-	-	-
AK7-29	34,9	32,4	13,8	33,6	42	19,5	23,7	-	24,3	-	-	-
BK8-36	40,1	44	17,4	17,4	23,4	35	19,3	-	19,4	-	-	28,4
BK9-38	40	39	13	36	42	8	32	-	39	-	-	26,5
BK9-39	40,8	40,8	19	32	43	-	34	-	20	-	-	28
BK9-40	34,7	32	11	29	39,7	31	23,8	-	9,3	-	-	-
BK9-42	38	20,6	16	37	21,5	15,2	17	-	16,5	-	-	24,3
BK13-56	39,8	42	28,7	32,4	40	31	32,5	-	15	-	-	-

EK 8. Enterokokların Antibiyotik Duyarlılıkları (zon çapı mm)

Suşlar	AMC	AML	B	C	CAR	DA	KF	NS	OFX	PB	S	V _a
AB4-6	36,4	16	9	30	31,5	10,7	22,5	-	14	-	-	-
BB6-26	39	36	9,5	14,8	14,8	12,7	22	-	9,8	-	-	-
AB7-29	35,6	34	10,9	28,4	31	12	22,7	-	13	-	-	-
BA15-62	34,4	31	8	26,5	28	9	18,4	-	12	-	-	-
BC18-78	38,2	38	10	32	38	11	23	-	16	-	-	-
AK1-5	38	40	8,5	14,5	34	31	26	-	14,8	-	-	23,2
AK7-31	45,2	45,6	14,2	38	21,5	28,8	36	-	21	-	-	-
AK7-32	18,4	35,8	8	25	29,4	12	21,4	-	-	-	-	-
BK9-43	38	32	26	31	42	8,3	38	-	19	-	-	-
BK12-52	38	33	8	30	32	11	21,5	-	13,3	-	-	-