

**TAVUKTAN İZOLE EDİLEN *LACTOBACILLUS* CİNSİ
BAKTERİLERİN, ÇEŞİTLİ PATOJEN BAKTERİLER ÜZERİNE
ANTAGONİSTİK ETKİSİNİN İNCELENMESİ**

Özge AYKANAT

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**TEMMUZ 2008
ANKARA**

Özge AYKANAT tarafından hazırlanan TAVUKTAN İZOLE EDİLEN *LACTOBACILLUS* CİNSİ BAKTERİLERİN, ÇEŞİTLİ PATOJEN BAKTERİLER ÜZERİNE ANTAGONİSTİK ETKİSİNİN İNCELENMESİ adlı bu tezin Yüksek Lisans tezi olarak uygun olduğunu onaylarım.

Doç. Dr. Nihal YÜCEL
Tez Danışmanı, Biyoloji Anabilim Dalı

Bu çalışma, jürimiz tarafından oy birliği ile Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Cumhuri ÇÖKMÜŞ
Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara Üniversitesi
Doç. Dr. Nihal YÜCEL
Biyoloji Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi
Prof. Dr. Belma ASLIM
Biyoloji Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Tarih: 2 / 7 / 2008

Bu tez ile G.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu Yüksek Lisans derecesini onamıştır.

Prof. Dr. Nermin ERTAN
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada orijinal olmayan her türlü kaynağa eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Özge AYKANAT

**TAVUKTAN İZOLE EDİLEN *LACTOBACILLUS* CİNSİ BAKTERİLERİN,
ÇEŞİTLİ PATOJEN BAKTERİLER ÜZERİNE ANTAGONİSTİK
ETKİSİNİN İNCELENMESİ
(Yüksek Lisans Tezi)**

Özge AYKANAT

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Temmuz 2008**

ÖZET

Bu çalışmada, tavuk bağırsağından izole edilen 47 Laktobasil izolatının, *Shigella* sp., *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella dublin*, *Salmonella typhimurium*, *Campylobacter jejuni* ATCC 33291, *Campylobacter jejuni* ve *Listeria monocytogenes*' e karşı inhibisyon etkisi araştırılmıştır. En yüksek inhibisyon etkisinin *L. monocytogenes*' e (34 mm) karşı olduğu belirlenmiştir. Laktobasil izolatlarının 23' ü API 50 CHL ile tanımlanmıştır. Bu izolatlardan 10' u *L. acidophilus* (%43,5), 2' si *L. salivarius* (%8,7), 1' i *L. delbrueckii* ssp. *delbrueckii* (%4,4), 1' i *L. fermentum* (%4,4), 9' u *Lactobacillus* sp. (%39,1) olarak tanımlanmıştır. Çalışmada, asit ve H₂O₂ üretimi denatüre edildikten sonra inhibisyon etkisi gösteren izolatlar seçilmiştir. Sadece *L. acidophilus* (A11)' un bakteriyosin ve bakteriyosin benzeri madde ürettiği ve bu maddenin pH 2-8 aralığında dirençli olduğu belirlenmiştir. Bu bakteriyosin ve bakteriyosin benzeri madde katalaz ve tripsine dirençli, proteinaz K' ya duyarlı bulunmuştur. Ayrıca bu antimikrobiyal madde 40°C ve 60°C' de 10-30 dakika dirençlilik gösterirken, 80°C ve 100°C' de duyarlılık göstermiştir.

Bakterilerde kontrolsüz antibiyotik kullanımına bağlı olarak artan antibiyotik dirençliliği, patojen bakterilerin etkisiz hale getirilmesini zorlaştırmaktadır. Bu kapsamda tanımlaması yapılan *Campylobacter*' lerin antibiyotik dirençliliği araştırılmış ve en yüksek direnç *C. coli*' de belirlenmiştir. *C. coli*, gentamisin, kanamisin, nalidiksik asit, streptomisin ve eritromisine %100,0; *C. jejuni* ise streptomisine %80,0 , tetrasikline %73,4 , nalidiksik asite %66,7 oranında dirençli bulunmuştur. *C. lari* ise nalidiksik asite %100,0 , streptomisine %66,7 , tetrasikline %33,3 oranında dirençli bulunmuştur.

Bilim Kodu : 203.1.010
Anahtar Kelimeler : *Lactobacillus* spp., antagonistik aktivite, tavuk, *Campylobacter*, antibiyotik
Sayfa Adeti : 99
Tez Yöneticisi : Doç. Dr. Nihal Yücel

**ANTAGONISTIC EFFECT OF LACTOBACILLI ISOLATED
FROM CHICKEN ON SOME PATHOGENIC BACTERIA**

(M. Sc. Thesis)

Özge AYKANAT

GAZI UNIVERSITY

INSITITUE OF SCIENCE AND TECHNOLOGY

July 2008

ABSTRACT

In this study, the inhibitory effect of 47 lactobacil isolates which isolated from chicken intestine against *Shigella* sp., *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella dublin*, *Salmonella typhimurium*, *Campylobacter jejuni* ATCC-33291, *Campylobacter jejuni* and *Listeria monocytogenes* was investigated. The highest inhibitory effect is detected against *L. monocytogenes*. The 23 isolates of lactobacilli are identified with API 50 CHL. From those isolates are identified as 10(43,5%) *L. acidophilus*, 2(8,7%) *L. salivarius*, 1(4,4%) *L. fermentum*, 1(4,4%) *L. delbrueckii* ssp. *delbrueckii*, 9(39,1%) *Lactobacillus* sp. In this research, the isolates which showed inhibitor effect were selected after H₂O₂ and acid production were eliminated. It is determined that *L. acidophilus* (A11) was the only bacteria which producing bacteriocin and bacteriocin-like substance and this substance was resistant between pH 2-8. It is demonstrated that this bacteriocin and bacteriocin-like substance were resistant to catalase, trypsin and were sensitive to proteinase K. Also this antimicrobial substance was showed resistant to 10-30 minutes at 40°C, 60°C and sensitive at 80°C, 100°C.

Growing antibiotic resistance according as uncontrolled antibiotic usage at bacteria, is complicating to defuse pathogen bacteria. In this extent, antibiotic resistant of *Campylobacter* which were identified was investigated and *C. coli* was determined the most resistance bacteria. *C. coli* was determined 100% resistant to gentamicin, kanamycin, nalidixic acid, streptomycin, erythromycin and it was obtained that *C. jejuni* had been resistant to streptomycin 80,0%, tetracycline 73,4%, nalidixic acid 66,7%. *C. lari* was determined resistant to nalidixic acid 100,0%, streptomycin 66,7%, tetracycline 33,3%.

Science Code : 203.1.010

Key Words : *Lactobacillus* spp., antimicrobial activity, chicken, *Campylobacter*, antibiotic

Page Number : 99

Advisor : Assoc. Prof. Dr. Nihal Yücel

TEŞEKKÜR

Çalıőmalarım boyunca yardım ve katkılarıyla beni yönlendiren, her türlü bilgi ve desteğini benden esirgemeyen saygı değer hocam Doç. Dr. Nihal YÜCEL' e, yine çalıőmalarım boyunca yardımlarını esirgemeyen Prof. Dr. Belma ASLIM, Araő. Gör. Dr. Zehra Nur YÜKSEKDAĞ, Araő. Gör. Ebru YILMAZ ve tüm laboratuvar arkadaşlarım ile maddi ve manevi destekleri ile beni hiçbir zaman yalnız bırakmayan aileme katkılarından dolayı teőekkürü bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
TEŞEKKÜR.....	viii
İÇİNDEKİLER.....	ix
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	xii
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	xiii
RESİMLERİN LİSTESİ.....	xiv
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xvi
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI.....	3
2.1. Laktik Asit Bakterileri.....	3
2.1.1. Laktik asit bakterileri tarafından üretilen antimikrobiyal maddeler.....	4
2.1.2. <i>Lactobacillus</i> cinsi bakterilerin genel özellikleri.....	11
2.2. <i>Campylobacter</i> ' lerin Genel Özellikleri.....	13
2.3. <i>E. coli</i> ' nin Genel Özellikleri.....	22
2.4. <i>Shigella</i> ' nın Genel Özellikleri.....	25
2.5. <i>Listeria</i> ' nın Genel Özellikleri.....	27
2.6. <i>Salmonella</i> ' nın Genel Özellikleri.....	29
3. MATERYAL VE METOD.....	33
3.1. Materyal Örnekleri.....	33
3.2. Araştırmada Kullanılan Besiyerleri.....	33

Sayfa

3.3. Laktobasillerin İzolasyonu.....	38
3.4. <i>Campylobacter</i> Türlerinin İdentifikasyonu.....	39
3.4.1. Gram boyama ve mikroskopik görüntü	39
3.4.2. Katalaz testi	39
3.4.3. API Campy uygulaması.....	40
3.5. Antimikrobiyal Aktivite.....	41
3.5.1. Laktobasillerin çeşitli patojenler üzerine inhibisyon etkisi (genel inhibisyon).....	41
3.5.2. Laktobasil izolatlarının identifikasyonu.....	42
3.5.3. Laktobasil izolatlarının bakteriyosin ve bakteriyosin benzeri madde üretimlerinin belirlenmesi.....	43
3.5.4. <i>Lactobacillus</i> izolatlarında belirlenen bakteriyosin ve/veya bakteriyosin benzeri maddenin karakterizasyonu.....	45
3.6. Termofilik <i>Campylobacter</i> Türlerinin Antibiyotik Duyarlılık Testleri.....	46
4. BULGULAR.....	49
4.1. Laktobasillerin İzolasyonu.....	49
4.2. <i>Campylobacter</i> Türlerinin İdentifikasyonu.....	50
4.3. Laktobasillerin Çeşitli Patojenler Üzerine İnhibisyon Etkisinin Belirlenmesi	52
4.4. Laktobasil İzolatlarının İdentifikasyonu.....	58
4.5. API ile Tanımlanan Laktobasil İzolatlarının Bakteriyosin ve/veya Bakteriyosin Benzeri Madde Üretimlerinin Belirlenmesi.....	61
4.5.1. Asit üretimi nötralize edilen <i>Lactobacillus</i> izolatlarının antimikrobiyal aktivitesi	61
4.5.2. Asitlik ve H ₂ O ₂ üretimleri giderilmiş <i>Lactobacillus</i> izolatlarının antimikrobiyal aktivitesi.....	62

	Sayfa
4.6. <i>L. acidophilus</i> ' un Ürettiği Bakteriyosin ve Bakteriyosin Benzeri Maddenin Karakterizasyonu.....	65
4.6.1. Enzim duyarlılığı.....	65
4.6.2. Farklı pH derecelerinin etkisi.....	65
4.6.3. Sıcaklığın etkisi.....	65
4.7. Termofilik <i>Campylobacter</i> Türlerinin Antibiyotik duyarlılıkları.....	70
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	77
KAYNAKLAR.....	89
ÖZGEÇMİŞ.....	99

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Probiyotik üretiminde kullanılan bazı mikroorganizmalar.....	10
Çizelge 2.2. Bazı <i>Campylobacter</i> türlerinin karakteristik özellikleri.....	14
Çizelge 2.3. Termofilik <i>Campylobacter</i> ' lerin biyotiplendirme şeması.....	15
Çizelge 2.4. <i>Campylobacter</i> türleri ve oluşturdukları hastalıklar.....	18
Çizelge 3.1. Araştırmada kullanılan antibiyotik diskleri ve duyarlılık sınırları.....	47
Çizelge 4.1. <i>Campylobacter</i> izolatlarının, tavuk örneklerinden alındığı bölgelere göre dağılımı.....	50
Çizelge 4.2. Laktobasil izolatlarının çeşitli patojen bakterilere karşı oluşturdukları inhibisyon zon çapları.....	54
Çizelge 4.3. Laktobasil örneklerinin API (50 CHL) ile tanımlama sonuçları.....	59
Çizelge 4.4. Laktobasil izolatlarının asitliği denatüre edildikten sonra, patojen bakterilere karşı oluşturdukları zon çapları.....	63
Çizelge 4.5. Bakteriyosin ve bakteriyosin benzeri madde üreten <i>L. acidophilus</i> (A11)' un farklı enzimler varlığında <i>S. typhimurium</i> ' a karşı oluşturduğu inhibisyon zon çapları.....	66
Çizelge 4.6. Bakteriyosin ve bakteriyosin benzeri madde üreten <i>L. acidophilus</i> ' un farklı pH derecelerinde <i>S. typhimurium</i> ' a karşı oluşturduğu inhibisyon zon çapları.....	67
Çizelge 4.7. Bakteriyosin ve bakteriyosin benzeri madde üreten <i>L. acidophilus</i> ' un farklı sıcaklık derecelerinde ve farklı sürelerde <i>S. typhimurium</i> ' a karşı oluşturduğu inhibisyon zon çapları.....	67
Çizelge 4.8. <i>C. jejuni</i> izolatlarının antibiyotik duyarlılık testi bulguları.....	70
Çizelge 4.9. <i>C. coli</i> izolatlarının antibiyotik duyarlılık testi bulguları.....	72
Çizelge 4.10. <i>C. lari</i> izolatlarının antibiyotik duyarlılık testi bulguları.....	74
Çizelge 4.11. Tavuk örneklerinden izole edilen termofilik <i>Campylobacter</i> ' lerin bazı antibiyotiklere dirençlilikleri	76

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 4.1. Laktobasil izolatlarının tür ve cins yüzdelerine göre dağılımı grafiği.....	58
Şekil 4.2. <i>C. jejuni</i> izolatlarının antibiyotik duyarlılık yüzde dağılımı grafiği.....	71
Şekil 4.3. <i>C. coli</i> izolatlarının antibiyotik duyarlılık yüzde dağılım grafiği.....	73
Şekil 4.4. <i>C. lari</i> izolatlarının antibiyotik duyarlılık yüzde dağılım grafiği.....	75

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 4.1. <i>Lactobacillus</i> sp. mikroskopik görüntüsü.....	49
Resim 4.2. Laktobasillerin MRS Agar’ daki koloni görüntüsü.....	49
Resim 4.3. <i>C. jejuni</i> ’ nin Campylobacter Selective Agar’ daki görüntüsü.....	51
Resim 4.4. Bağırsaktan izole edilen <i>C. jejuni</i> ’ nin API sonucu.....	51
Resim 4.5. <i>Lactobacillus</i> izolatlarının <i>S. typhimurium</i> üzerine genel inhibisyon etkisi.....	56
Resim 4.6. <i>L. salivarius</i> ’ un <i>Shigella</i> sp. üzerine genel inhibisyon etkisi.....	56
Resim 4.7. Laktobasillerin <i>L. monocytogenes</i> ’ e karşı oluşturdukları inhibisyon etkisi.....	57
Resim 4.8. Laktobasil izolatlarının <i>C. jejuni</i> ’ ye karşı oluşturdukları inhibisyon etkisi.....	57
Resim 4.9. API 50 CHL ile tanımlanan Laktobasil’ in inkübasyondan önceki görüntüsü.....	60
Resim 4.10. API 50 CHL ile tanımlanan Laktobasil’ in inkübasyondan sonraki görüntüsü	60
Resim 4.11. Asitlik denatüre edildikten sonra <i>L. salivarius</i> (F7)’ un <i>S. typhimurium</i> üzerine etkisi.....	64
Resim 4.12. Asitlik ve H ₂ O ₂ üretimi denatüre edildikten sonra <i>L. acidophilus</i> (A11)’un <i>S. typhimurium</i> ’ a karşı oluşturduğu inhibisyon etkisi	64
Resim 4.13. Bakteriyosin ve bakteriyosin benzeri maddenin <i>S. typhimurium</i> ’ a karşı tripsin varlığında dirençliliği, proteinaz K varlığında duyarlılığı	68
Resim 4.14. <i>L. acidophilus</i> (A11)’ un ürettiği bakteriyosin ve bakteriyosin benzeri antimikrobiyal maddenin pH 2, 4, 6 ve 7’ de <i>S. typhimurium</i> ’ a karşı oluşturduğu zon çapları	68

Resim	Sayfa
Resim 4.15. <i>L. acidophilus</i> (A11)' un ürettiği bakteriyosin ve bakteriyosin benzeri antimikrobiyal maddenin farklı sıcaklıklarda <i>S. typhimurium</i> ' a karşı gösterdiği inhibisyon etkisi.....	69
Resim 4.16. <i>L. acidophilus</i> (A11)' un ürettiği bakteriyosin ve bakteriyosin benzeri antimikrobiyal maddenin farklı sıcaklıklarda <i>S. typhimurium</i> ' a karşı gösterdiği inhibisyon etkisi.....	69
Resim 4.17. <i>C. jejuni</i> izolatının antibiyotiklere duyarlılıkları.....	71
Resim 4.18. <i>C. coli</i> izolatının antibiyotiklere duyarlılıkları.....	73
Resim 4.19. <i>C. lari</i> izolatının antibiyotiklere duyarlılıkları.....	75

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılan bazı simge ve kısaltmalar açıklamaları ile birlikte aşağıda verilmiştir.

Simgeler	Açıklama
μ	Mikron
$^{\circ}$	Derece
α	Alfa
Kısaltmalar	Açıklama
NCCLS	National Committee for Clinical Laboratory Stansarts
IMVIC	Indol, Metil red, Vagos-proskaur, Citrat testleri
ATCC	American Type Culture Collection
API	Application Programming Interface
rRNA	Ribozomal RNA
Rpm	Rounds per minute
cfu	Colony forming unit
mM	Milimolar
N	Normal
kDa	Kilodalton
ml	Mililitre
mm	Milimetre
μm	Mikrometre
gr	Gram
dk	Dakika

Kisaltmalar**Açıklama****MRS**

de Man, Ragosa Sharpe

LBP

Lactose-Bromcresol Purple

MHA

Mueller-Hinton Agar

SF

Serum Fizyolojik

1. GİRİŞ

Gıda endüstrisinde temel amaç tüketiciye kaliteli, sağlıklı ve güvenilir gıdalar sunmaktır. Bu amaca ulaşabilmek için mikroorganizmaların kontrol altına alınması gerekmektedir. Ancak mikroorganizmaların her yerde bulunmaları ve uygun ortam buldukları zaman çoğalmaları kontrollerini zorlaştırmaktadır. Mikrobiyal bulaşmalar gıdanın kalitesini ve güvenilirliğini etkileyen en önemli faktördür. Böyle gıdaların tüketimi, insan sağlığı açısından ciddi sorunlar oluştururken aynı zamanda ekonomik açıdan da önemli kayıplara neden olmaktadır [Franco, 1988].

Tavuk eti ve ürünleri, hazırlanmaları için gerekli olan sürenin kısa olması, yağ içeriklerinin ve maliyetlerinin düşük olması nedeniyle çok tüketilen gıdaların başında gelmektedir. Türkiye’de 2004 yılı itibariyle kişi başına yıllık 13 kg tavuk eti tüketildiği belirlenmiştir. İnsan beslenmesinde büyük yeri olan tavuk eti, aynı zamanda enfeksiyon kaynağı da olabilmektedir. Bu enfeksiyonlara neden olan bakteriler arasında *Salmonella*, *Campylobacter jejuni* ve *Escherichia coli* sık rastlanırlardandır.

Son yıllarda bu konu ile ilgili yapılan çalışmalarda, hem *Salmonella* hem de *Campylobacter* enfeksiyonlarında bir artış olduğu bildirilmiştir. Tavukların normal bağırsak, safra kesesi ve dışkı florasında bulunan termofilik *Campylobacter*’ ler, yeterli sanitasyon ve dezenfeksiyon kurallarına uyulmayan işletmelerde, tavuk karkasını kontamine ederek campylobacteriosis’ e neden olurlar. Campylobacteriosis, hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerdeki insanlarda görülen en yaygın enterik hastalıklardandır. Bu hastalığın bulaşmasında da en önemli kaynak tavuklardır.

Ayrıca insanlarda, *Campylobacter*’ den ileri gelen hastalıkların tedavisinde kullanılan antibiyotiklere karşı kazanılan direnç ve bu direncin aktarımı da önemli bir sorundur. Bu konuda yapılan çalışmalarda, çeşitli gıda ürünlerinden ve hastalardan izole edilen *Campylobacter* ve diğer patojen bakterilerin antibiyotiklere karşı dirençlilik düzeyinin gittikçe arttığı gözlenmiştir.

Tüm bu nedenlerden dolayı gıdaların güvenliğinin sağlanmasında mümkün olduğunca doğal katkı maddelerinin kullanımı önerilmektedir. Biyokontrol olarak adlandırılan bu yöntemde, antagonistik mikroorganizmaların ve metabolitlerinin kullanımıyla, patojen ve bozulma etmeni mikroorganizmaların inaktive edilmesi sağlanmaktadır. Gram (+) ve gram (-) mikroorganizmaların önemli bir kısmı antimikrobiyal bileşenler üretmelerine rağmen, gıdaların biyokontrolünde laktik asit bakterileri (LAB)' nin ayrı bir önemi vardır. LAB' den *Lactobacillus*' lar fermantasyon teknolojisinin tipik bakterileri olup, gıdalarda uzun yıllardan beri güvenli bir şekilde kullanılmaktadırlar [Kleerebezm ve Hügeholz, 2003; Martinez ve ark., 2000]. Bu bakteriler ürettikleri, laktik asit, hidrojen peroksit, diasetil ve bakteriyosin gibi organik asitler ile patojen ve kontaminant mikroorganizmaların gelişmelerini inhibe ederler [Zhu ve ark., 2000].

Bu çalışmada, tavuk bağırsağından izole edilen *Lactobacillus*' ların, antimikrobiyal etkilerinden faydalanarak patojen ve bozulma etmeni olabilen bazı bakterilere (*L. monocytogenes*, *E. coli*, *Shigella* sp., *S. dublin*, *S. typhimurium*, *S. enteritidis*, *C. jejuni* ve *C. jejuni* ATCC 33291) karşı oluşturdukları inhibisyon etkileri araştırılmıştır. Ayrıca tavuktan izole edilen *Campylobacter* türlerinin antibiyotik dirençlilikleri de bu kapsamda incelenmiştir.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Laktik Asit Bakterileri

Laktik asit bakterileri farklı cinsleri olan (*Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragonococcus*, *Aerococcus*, *Vagococcus* ve *Weissela*), kok veya çubuk şeklinde, gram-pozitif, fakültatif anaerob, katalaz negatif, hareketsiz (bir iki ayrıcalık gösteren üye dışında), sitokromu olmayan, spor oluşturmeyen, karbonhidrat fermantasyonu sırasında son ürün olarak laktik asit üreten bakterilerdir [Hofvendahl ve Hahn-Hägerdal, 2000].

Su ve toprakta hemen hemen hiç rastlanılmayan bu bakterilere, süt ve süt ürünlerinde, bitki ve bitki atıklarında, insan ve diğer canlıların bağırsak sistemlerinde rastlanır. Ayrıca sağlıklı kadınların vajen florasında dominant olarak bulunmaktadır. Laktik asit bakterileri genellikle, vitamince zengin, maya ekstraktı, domates suyu, peynir altı suyu, süt serumu veya kan içeren karmaşık besiyerlerinde iyi gelişirler [Mc Groarty, 1994; Tunail ve Köşker, 1989].

Laktik asit bakterileri laktik asiti homofermantatif ve heterofermantatif olmak üzere iki şekilde fermente ederler. Homofermantatif laktik asit bakterileri glukozu, Fruktoz Di Fosfat (FDP) yolu ile parçalayarak fermentasyon sonucu % 99 oranında laktik asit, % 1 oranında diğer bileşikleri meydana getirirler [Kleerebezm ve Hugeholz, 2003].

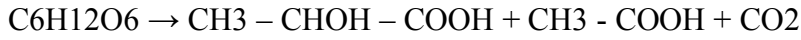
Homofermantatif yol:



Heterofermantatif laktik asit bakterileri, glukozu Hezoz Mono Fosfat (HMF) yolu ile parçalayarak fermentasyon sonucu % 70 laktik asit üretirler. % 30 oranında da

diğer bileşikleri, özellikle asetik asit, etil alkol ve karbondioksiti oluştururlar [Kleerebezm ve Hugeholz, 2003].

Heterofermentatif yol:



2.1.1. Laktik asit bakterileri tarafından üretilen antimikrobiyal maddeler

Laktik asit, uçucu organik asitler ve etanol

Laktik asit bakterilerinin hakim florayı oluşturduğu fermentasyon ortamlarında; hidrojen peroksitin oluşumunun yanı sıra, pH' nın düşmesine neden olan asidik son ürünlerin birikimi, gram pozitif ve gram negatif bakterileri de içine alan geniş bir inhibitör etki meydana getirmektedir. Zayıf asitlerin düşük pH' da nötral pH' ya göre daha fazla antimikrobiyal etkiye sahip olduğu uzun zamandır bilinmektedir.

Asetik asit, laktik aside göre daha güçlü ve geniş etki spektrumunu olan bir inhibitör aktiviteye sahiptir. Asetik asit mayalar, küfler ve bakterilere karşı inhibitör etki göstermektedir (Blom ve Mörtvedt, 1991).

Laktik kültürler tarafından üretilen bir diğer ürün olan etanolün, gıda sistemlerinde düşük miktarlarda üretilmesinden dolayı, inhibisyona katkısı minimum düzeydedir (Caplice ve Fitzgerald, 1999).

Hidrojen peroksit (H₂O₂)

Laktik asit bakterileri, oksijen varlığında flavin enzimleri katalizörlüğünde ve elektron transportu yoluyla hidrojen peroksit üretmektedirler (Kandler, 1983; Condon, 1983; Condon 1987).

Hidrojen peroksit, membran lipitlerinin peroksidasyonuna yol açarak membran geçirgenliğini artırmakta ve bakterisidal etki ortaya çıkmaktadır. Bu güçlü

oksidasyon etkilerinin yanı sıra, söz konusu oksijen metabolitleri hücrel proteinlerin ve nükleik asitlerin temel moleküler yapılarının yıkımına da yol açmaktadır. Sonuç olarak, H₂O₂ antibakteriyal etkisini hem tek başına, hem de başka yapılar ile reaksiyona girerek gösterebilmektedir (Kong ve Davison, 1980).

Karbondioksit

Karbondioksit, bir çok peynir çeşidinde gaz kabarcığı oluşumundan sorumlu olmanın yanı sıra, laktik asit bakterilerinin antagonistik aktivitelerine de katkıda bulunmaktadır. Mevcut moleküler oksijenin yer değiştirmesi ile anaerobik bir ortam yaratmadaki rolü, hücre içi ve hücre dışı pH' yı düşürmesi ve hücre membranı üzerinde gösterdiği parçalayıcı etki (Eklund, 1984) karbondioksiti birçok mikroorganizma için inhibitör bir madde haline sokmaktadır.

Düşük moleküler ağırlığa sahip antimikrobiyal maddeler

Laktik asit bakterilerinin antimikrobiyal aktivite içeren düşük moleküler ağırlığa sahip bileşikler ürettiği de saptanmıştır. Bu moleküller; düşük pH değerlerinde aktivite göstermeleri, ısıya dayanıklı olmaları, geniş aktivite spektrumu içermeleri ve asetonda çözünme özellikleri ile karakterize edilmektedir (Axelsson, 1990).

Bakteriyosinler

Bakteriyosinler, bakteriler tarafından üretilen, antibakteriyal etkiye sahip ve protein yapıda olan ya da proteinler ile birlikte bazı yan gruplar da içerebilen metabolitlerdir (Tagg et al., 1976, Klaenhammer, 1993).

Bakteriyosinler, üretici hücreler üzerinde öldürücü etki yapmayan, sınırlı sayıdaki bakterilere etkili olan maddelerdir [Tagg ve ark., 1976].

Protein veya peptitlerden oluşan bakteriyosinin antagonistik etkisi olduğu ve bakteriyosinin proteolitik enzimlerle inhibe olabileceği açıklanmıştır [Carminati ve ark., 1988].

Ayrıca bakteriyosinlerin, gıda bozulmalarına neden olan bakteriler ve gıda kaynaklı patojenler üzerinde etkili oldukları da belirlenmiştir [Klaenhammer, 1993].

Bakteriyosinlerin Sınıflandırılması

Bakteriyosinler için farklı sınıflandırmalar yapılmakla birlikte, daha çok Klaenhammer'in özellikle gram (+) bakterileri dikkate alarak yaptığı sınıflandırma kullanılmaktadır. Biyokimyasal özellikleri dikkate alınarak yapılan sınıflandırmada, bakteriyosinler moleköl büyüklüğü, kimyasal yapıları, etki mekanizmaları ve ısı stabilitelere göre genel olarak 4 sınıfa ayrılmışlardır.

Grup I bakteriyosinler:

Bu gruptaki bakteriyosinler daha çok "lanthionine" içermeleri nedeniyle lantibiyotikler olarak adlandırılmakta ve yapılarında bilinen amino asitlerden farklı olarak lanthionine (Lan) ve methyllanthionine (MeLan) amino asit türevlerini içermektedirler. Bununla birlikte yapılarında biyokimyasal özelliklerini etkileyen dehydroalanine ve dehydrobutyrine de bulunmaktadır [Towomey ve ark., 2002].

Bu gruptaki bakteriyosinlerin moleköl ağırlıkları 5 kDa' dan daha düşüktür. Bu grupta yer alan nisin, lacticin 3147A ve 3147B ile plantaricin C' nin ısı stabiliteleleri yüksek olup, asidik pH' da 100°C' ye kadar stabilitelelerini koruyabilmektedirler [Chen ve Hoover, 2003].

Bu gruptaki bakteriyosinler, kimyasal yapılarına ve antimikrobiyal aktivitelelerine göre I A ve I B lantibiyotikleri olmak üzere iki gruba ayrılırlar.

Grup IA; bu gruptaki bakteriyosinler net pozitif yüke sahip ve hidrofobik polipeptid yapısındadırlar. Membran aktif peptidler olup, bakteri zarında gözenek oluşturarak antimikrobiyal aktivite göstermektedirler. Grup I B'deki bakteriyosinlere kıyasla daha esnek bir yapıya sahiptirler [Chen ve Hoover, 2003; Towomey ve ark., 2002].

Grup IB; bu gruptaki bakteriyosinler yüksüz veya negatif yüklü olup, globüler peptid yapısındadırlar. Spesifik enzimleri inhibe ederek antimikrobiyal aktivite göstermektedirler [Towomey ve ark., 2002].

Grup II bakteriyosinler:

Bu gruptaki bakteriyosinler Grup I' den farklı olarak lanthionine içermezler. Ayrıca, molekül ağırlıkları 10 kDa' dan daha düşük olup, ısı stabilitesine sahiptirler. Bu gruptaki bazı bakteriyosinler 100°C' den 121°C' ye kadar olan sıcaklıklara karşı stabildirler. Antimikrobiyal aktiviteleri, membran aktif olmalarından kaynaklanmaktadır. Çok sayıda bakteriyosin içeren bu grup 3 alt gruba ayrılmaktadır [de Martinis ve ark., 2002].

Grup IIA; bu gruptakiler özellikle *Listeria*' ya karşı aktif olup, yapılarında bulunan peptid'in N-terminalinin sonunda Try-Gly-Asn-Gly-Val-Xaa-Cys amino asit dizisine sahiptirler [Chen ve Hoover, 2003].

Grup IIB; bu gruptaki bakteriyosinler primer yapıları birbirinden farklı iki polipeptid içerirler. Ayrı ayrı aktivite gösterebildikleri gibi, etkin bir şekilde aktif hale gelebilmeleri için her ikisinin de aktif olması gerekmektedir. İki polipeptidin aktif hale gelmesiyle, hücre membranında gözenek oluşturarak antimikrobiyal aktivite göstermektedir [Hechard ve Sahl, 2002].

Grup IIC; bu gruptaki bakteriyosinler, Grup II deki bakteriyosinlerin özelliklerini gösteren, Grup IIA ve IIB dışındaki diğer bakteriyosinlerdir. Bu gruptakilerin birçoğu sistein aminoasit rezidüsü içermekte ve bu bakteriyosinlere thiolbiotic' ler

veya cystibiotic' ler denilmektedir. Tiyo-aktif bakteriyosinler olup, aktiviteleri için indirgenmiş cystine rezidüsüne gereksinim duyarlar [De Martinis ve ark., 2002].

Grup III bakteriyosinler:

Bu gruptaki bakteriyosinler daha büyük molekül ağırlığına (>30kDa) sahip olup, ısıya karşı duyarlı peptid zincirlerinden oluşmaktadırlar [De Martinis ve ark., 2002]. Ancak bu gruptaki bakteriyosinler henüz yeterince karakterize edilememişlerdir.

Grup IV bakteriyosinler:

Bu gruptaki bakteriyosinler ise büyük ve kompleks moleküller olup, aktiviteleri için karbonhidrat veya lipid bileşenlerine gereksinim duymaktadırlar. Bu bakteriyosinler hakkındaki bilgiler yetersiz olup, biyokimyasal olarak henüz yeterince karakterize edilememişlerdir [Chen ve Hoover, 2003].

Probiyotikler ve Laktobasiller

Değişik sebeplerden ileri gelen ve insan sağlığı üzerinde olumsuz etkileri olan farklı oluşumlara karşı uzun yıllardan beri değişik antibiyotikler kullanılmıştır. Antibiyotiklerin belli periyotlarda ve belli dozlardaki kullanımı neticesinde, metabolizmada gözlenen rahatsızlıklar tedavi edilebilmiştir. Ancak zaman içerisinde kullanılan antibiyotik türleri ve bunların tedavideki dozlarının insan metabolizmasında yararlı faaliyetleri olan (özellikle de intestinal florada) mikroorganizmaları inaktive ettiği ya da popülasyonunu azalttığı ve bunun neticesinde de normal floranın bozularak, vücutta antibiyotiklerden kaynaklanan bazı rahatsızlıkların (alerji, diyare, gaz vb. gibi) ortaya çıktığı belirlenmiştir [Timmerman ve ark., 2004; Penner ve ark., 2005].

Bunun yanında araştırmacılar günlük yaşamın getirdiği bazı olumsuzluklardan (çevrede olan ani değişimler, su ve besinlerin kaliteleri, hayvansal ürünlerin aşırı miktarları, kafein, alkol kullanımı) ve değişik türdeki patojenlerin enfeksiyonlarından dolayı

(sinirsel yorgunluk ve stres gibi) vücudun normal florasının etkilendiğini de ortaya koymuşlardır [Timmerman ve ark., 2004; Penner ve ark., 2005].

Vücudun doğal intestinal florasında bulunan ve organizma için yararlı olan bakterilerin gitgide sayılarının azalması, tamamen yok olması karşısında bilim dünyası bu yararlı florayı korumak ya da tekrar geri kazanmak için arayışa girmiş ve “probiyotik mikroorganizmalar” değişik ürünler (mandıra ürünleri, meyve suları, çikolata ve et ürünleri) ile tüketime sunulmuşlardır [Timmerman ve ark., 2004; Penner ve ark., 2005].

1912 Nobel Tıp Ödülünü kazanan Rus bilim adamı Élie Metchnikoff, bilim dünyasında probiyotiklerin kaşifi sayılabilir. Metchnikoff yoğurt, kefir ve peynir gibi süt ürünlerinde bulunan asit yapan mikroorganizmaların bağırsaktaki hastalık yapan mikroorganizmaları nötralize ettiğini saptamıştır. Metchnikoff, Bulgaristan ve Kafkasya’ da yaşayan insanların giderek daha uzun ömürlü olmalarını, probiyotiklerce zengin gıdaları fazla tüketmelerine bağlamıştır [Schrezenmeir ve de Vrese, 2001].

Probiyotikler, alternatif biyoteknolojik ürünlerin başında gelmektedir. Bu bakteriler genel olarak gram (+), anaerop ve zararsız olup, sindirim kanalında mikroflora dengesini düzenleyerek patojenik mikroorganizmaların zararlı hale geçmesini ve üremesini önlerler. Probiyotik mikroorganizmaların çoğu insan ve hayvanların sindirim kanalı mikroflorasında doğal olarak bulunmakla birlikte, her biri belli bir hayvan türüne adapte olmuştur.

Probiyotikler esas olarak laktik asit bakterileridir. Bunun yanında araştırmalar mayaların da probiyotik özelliğe sahip olduğunu göstermiştir. Bir probiyotik ürün, bu mikroorganizmalardan birini ya da birkaçını içerebilir. İçerdiği mikroorganizma sayısı arttıkça probiyotiğin kullanım alanı genişlemektedir [Timmerman ve ark., 2004; Penner ve ark., 2005].

Çizelge 2.1. Probiyotik üretiminde kullanılan bazı mikroorganizmalar

İnsanlar için kullanılanlar	Hayvan beslemede kullanılanlar
<i>L. acidophilus</i>	<i>L. acidophilus, Bacillus mesentericus</i>
<i>L. casei</i>	<i>L. casei, B. licheniformis</i>
<i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	<i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus, B. subtilis</i>
<i>L. johnsonii</i>	<i>L. plantarum, B. natto</i>
<i>L. reuteri</i>	<i>L. reuteri, B. toyoi</i>
<i>L. rhamnosus</i>	<i>L. fermentum, Pediococcus pentosaceus</i>
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	<i>L. brevis, Aspergillus oryzae</i>
<i>B. bifidum</i>	<i>L. helveticus, Candida pintolopesii</i>
<i>B. breve</i>	<i>B. bifidum, Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>B. longum</i>	<i>B. brevis, Torulopsis spp.</i>
<i>B. infantis</i>	<i>B. pseudolongum, Pediococcus acidilactici</i>
<i>S. salivarius</i> subsp. <i>thermophilus</i>	<i>B. thermophilus</i>

Toksik amonyak ve amin üreten mikroorganizmaların çoğalmalarını engelleyerek bu maddelerin birikimini önlerler. B grubu vitaminleri sentezleyerek sindirime katkıda bulunurlar. Selülaz, ksilinaz, lipaz, proteaz, betaglukanaz ve amilaz gibi sindirimde çok önemli olan enzimleri üretirler. Probiyotiklerin ayrıca yangı azaltıcı ve antitümör etkisinin olduğu da ileri sürülmektedir [Alp ve Kahraman, 1996; Huber, 1988; Şanlı ve Kaya, 1991; Yalçın ve Öno1, 1999].

Probiyotiklerin tüm bu etkileri, bakterinin suşuna, verilen dozuna, kullanıldığı zamana ve kullanım koşullarına göre değişebilir. Birden fazla bakteri suşu içeren probiyotikler daha çok hayvan türünde etkili olmaktadır. Ayrıca probiyotiklerin devamlı verilmesi halinde daha etkili olacakları bildirilmektedir [Canibe ve ark., 2001].

2.1.2. *Lactobacillus* cinsi bakterilerin genel özellikleri

Lactobacillus cinsi bakteriler *Lactobacillaceae* familyasına ait olup Laktik asit bakterileri grubundandır [Daeschel, 1989; Tunail ve Köşker, 1989; Tekinşen ve Atasever, 1994].

Lactobacillus cinsi bakteriler anaerobik, gram pozitif, katalaz negatif, spor oluşturmeyen bakterilerdir ve genelde hareketsiz olsalar da bazı türleri flagellalara sahiptirler. Çoğu *Lactobacillus* cinsi bakteriler çubuk (basil) şeklindedir, ancak bazı türleri farklı uzunlukta ve zincir şeklindedir (koko-basil) [Tunail ve Köşker, 1989; Halkman, 1991, Yetişmeyen,1995].

Elektron mikroskopuyla yapılan incelemelerde *Lactobacillus* cinsi bakterilerin 5 ana kısımdan oluştuğu gösterilmiştir. Bunlar hücre çeperi, sitoplazmik membran, ribozomlar ve nükleer (kromozomlar ve plazmidler) elementlerdir [Sneath ve ark., 1986].

Hücre çeperi; *Lactobacillus* cinsi bakterilerde 20–40 nm kalınlığında, mineral maddeler (tuz vb.), su ve metabolitleri geçirebilen peptidoglikan (murein) bir tabakaya sahiptirler. Peptidoglikan, N-asetilglukozamin ve N-asetilmurminik asit monomerlerinden oluşurlar. Hücre çeperinde bu monomerlerin dışında teikoik asit, şekerler, proteinler ve nötr polisakaritler de bulunur. Teikoik asit hücre çeperinin negatif yükünden ve antijenik karakterinden sorumludur. Teikoik asit, ribitol fosfat veya gliserol fosfat polimerlerinden oluşurlar. Bakterilerin hücre çeperi, çoğalma ve azotlu maddelerin parçalanmasında rol alan proteaz enzimlerine sahiptirler [Sneath ve ark., 1986].

Sitoplazmik membran; Laktik asit bakterilerinin (LAB) proteinleri kullanabileceği büyüklüğe getirilmesi burada bulunan enzimler yardımıyla sitoplazmik membranda gerçekleştirilmektedir. Bunun yanında sitoplazmik membranda fosfotransferaz enzimleriyle aktif taşımada yapılmaktadır. Peptidoglikanların ekstrasellüler

polimerizasyonu için gereken enzimler de sitoplazmik membranda bulunmaktadır [Sneath ve ark., 1986].

Ribozomlar; Laktik asit bakterilerinde ribozomlar 70 S tipindedir, 70 S, 50 S büyük ve 30 S küçük olmak üzere iki alt üniteden oluşur. 50 S' lik büyük alt birim 50 S rRNA ve 23S rRNA ile yaklaşık 35 çeşit protein; 30 S' lik küçük alt birim ise 16 S rRNA ve 25 farklı protein içerir. Laktik asit bakterilerinin birbirlerinden ayırımında 16S rRNA' nın özelliklerinden yararlanılmaktadır ve 16S rRNA' nın değişen ve değişmeyen kısımlar bulunur. Değişen kısımlar yakın akrabaları, değişmeyen kısımlar ise uzak akrabalıkların tespitinde kullanılmaktadır [Sneath ve ark., 1986].

Plazmid: Laktik asit bakterilerinin çoğu en az bir adet plazmid içerir. Plazmidler, ekzopolisakkarit ve antimikrobiyal madde sentezi gibi koruma görevi üstlenmiştir [Sneath ve ark., 1986].

Laktik asit bakterileri yüksek tuz konsantrasyonunda gelişebildikleri gibi düşük pH' larda asit ve organik asit üretirler. Bu bakteriler ürettikleri laktik asit, hidrojen peroksit, diasetil ve bakteriyosin gibi organik asitler ile patojen ve kontaminant mikroorganizmaların gelişmelerini inhibe ederler [Zhu ve ark., 2000].

Laktik asit bakterileri tarafından sentezlenen bakteriyosinler, protein yapısındaki antimikrobiyal bileşenler olup, inhibisyon etkileri daha çok yakın türler üzerine bulunmaktadır. Bakteriyosinlerin tanımlanmasına yönelik ilk çalışma 1925' te *E. coli* tarafından sentezlenen kolisin 77' nin tespit edilmesiyle başlamıştır. *E. coli* izolatlarının yanı sıra *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Staphylococcus* ve *Enterococcus* gibi birçok mikroorganizma bakteriyosin üretmektedir. Ancak daha çok gıdalarda güvenli olduğu düşünülen laktik asit bakterileri tarafından sentezlenen bakteriyosinler üzerinde araştırma yapılmakta ve gıdalarda bu bakteriyosinler kullanılabilir. Bu nedenle laktik asit bakterileri, özellikle de *Lactobacillus* ve *Lactococcus* tarafından sentezlenen bakteriyosinler daha önemlidir. LAB' den elde edilen ve gıdalarda yaygın olarak kullanılan bakteriyosinler nisin adı ile kullanıma sunulmaktadır [Kurt ve Zorba, 2005].

2.2. *Campylobacter*' lerin Genel Özellikleri

Campylobacter' ler son sınıflandırmaya göre *Campylobacteriaceae* familyası *Eubacteria* grubuna bağlı "rRNA Superfamilia VI" içinde yer alır. *Campylobacteriaceae* familyasında *Campylobacter* ve *Arcobacter* soyları bulunur. *Campylobacteriaceae* familyası; *Campylobacter* cinsinden 18 tür (*C. jejuni*, *C. coli*, *C. fetus*, *C. lari*, *C. upsaliensis*, *C. hyointestinalis*, *C. spurotum*, *C. helveticus*, *C. mucosalis*, *C. concisus*, *C. rectus*, *C. showae*) ve alttür, *Arcobacter* cinsinden 4 tür içerir.

Campylobacter' ler gram (-), hareketli, spor oluşturmeyen, 0,2–0,5 µm çapında, 0,5-5 µm uzunluğunda mikroorganizmalardır. Besiyerinde yayılan tarzda, pembemsi gri, mukoid kaygan koloniler oluştururlar. Mikroskopik görüntüsü "S" harfi, helikal veya spiral formdadır. Eski kültürlerde iğ veya kokoid şeklindedirler. Hücreler bir veya iki ucunda bulunan flagella sayesinde karakteristik tirbüşon tarzında hareket ederler. Nadiren kısa yada uzun zincirler oluşturabilirler. Spiral şekil mukoza membranının kolonizasyonunu kolaylaştırır ve organizmanın mukus boyunca diğer bakterilerin ayak uyduramayacağı bir hızda ilerlemesini sağlar.

Mikroaerofiliktirler ve üremeleri için % 5 oranında O₂, % 10 oranında CO₂ ve % 85 oranında N₂' ye gereksinim duyarlar. Bazı türler aerobik şartlarda (% 20 O₂) yavaş üreme gösterirler. Diğer bakterilerin ortamdaki O₂' ye karşı koruyucu enzimatik sistemleri (aerotolerans aktivite) bulunurken, *Campylobacter* türlerinde bu mevcut değildir. *Campylobacter*' ler düşük aerotolerans aktivite ve üreyebilmek için mikroaerofilik ortama ihtiyaç duymaları nedeniyle diğer bakterilere nazaran rekabetçi özellikleri zayıftır. Isı düştüğünde ve ortamdaki besin miktarı azaldığında hızla kültürde üretilmeyen, ancak canlı ortamda enfeksiyon oluşturabilen formlara dönüşmekte, bu sayede besinler üzerindeki ve doğadaki varlıklarını sürdürebilmektedirler [Darka ve Yılmaz, 2004; Griffiths ve Park, 1990; Gülmez, 1999].

Bütün *Campylobacter*' ler genelde pH 4,9-9,5 değerleri arasında üreyebilir, optimum pH 6,5-7,5' dur. *Campylobacter*' lerin üreyebildiği optimum NaCl yoğunluğu %0,5' tir. Tüm *Campylobacter* türleri 37°C' de üreyebilirler. Patojen termofilik türler (*C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari*) ise 42°C' de daha iyi üreme gösterir. Skirrow ve Benjamin (1980) termofilik *Campylobacter*' lerin 30,5-45°C' leri arasında üreyebildiklerini, ancak 25°C' de üreyemediklerini saptamıştır [Skirrow ve Benjamin, 1980].

Termofilik *Campylobacter*' ler oksidaz, katalaz, nitrat pozitif; metil red ve voges-proskauer negatif özelliktedir, jelatini hidrolize etmezler. *C. lari* dışındaki termofilik *Campylobacter*' ler üreaz negatiftir. Karbonhidratı okside yada fermente etmezler, enerji gereksinimlerini aminoasit veya trikarboksilik asit siklusu ara ürünlerinden sağlarlar. Metabolizmada son ürün olarak nötral yada asidik ürünler üretmezler, (Çizelge 2.2), (Çizelge 2.3).

Çizelge 2.2. Bazı *Campylobacter* türlerinin karakteristik özellikleri [Stern ve ark., 1992].

Tür adı	Üreme özellikleri					Antibiogram		Biyokimyasal Testler					
	25°C	42°C	%1 Glisin	%3,5 NaCl	%0,1 Tmao	Na	Sef	1	2	3	4	5	6
<i>C. jejuni</i>	-	+	+	-	-	S	R	+	+	+	-	+	* +
<i>C. coli</i>	-	+	+	-	-	R	R	+	+	+	D	+	-
<i>C. lari</i>	-	+	+	-	+	R	R	+	+	+	-	+	-
<i>C. fetus</i> <i>spp.fetus</i>	+	D	+	-	D	R	S	+	+	+	-	+	-
<i>C.f.spp.</i> <i>veneralis</i>	+	-	-	-	-	R	S	+	+	+	-	+	-

Tmao: trimethylamine azooxyde **Na:** Nalidixic acid **Sef:** Sefhalothin **1:** oksidase **2:** catalase **3:** NO₃ reduction **4:** H₂S, TSI içinde, **5:**H₂S, kağıt şeritle **6:** Hippurat hidrolizi * hippurat negatif türler bildirilmiştir. **S:** duyarlı **R:** dirençli **D:** değişken, 18-89 türler pozitif

Çizelge 2.3. Termofilik *Campylobacter*' lerin biyotiplendirme şeması [Lior, 1984].

Biyokimyasal testler	<i>C. jejuni</i>				<i>C. coli</i>		<i>C. lari</i>	
	1	2	3	4	1	2	1	2
Hippurat hidrolizi	+	+	+	+	-	-	-	-
Hızlı H ₂ S hidrolizi	-	-	+	+	-	-	+	+
DNA hidrolizi	-	+	-	+	-	+	-	+

Cudjoe ve Kapperud (1991) ise laktik asidin *C. jejuni* ile kontamine tavuk karkaslarında önemli bakterisidal etki yaptığını kanıtlamıştır [Cudjoe ve Kapperud, 1991].

Termofilik *Campylobacter*' lerin gıda kökenli bulaşma yolları

Campylobacter' ler pek çok evcil, yabani, memeli hayvanların ve kuşların bağırsaklarında kommensal olarak bulunurlar. Normal bağırsak, safra kesesi ve dışkı mikrobiyotasında yer alan termofilik *Campylobacter*' ler personel alet ve ekipmanın yeterli nitelikte olmadığı, sanitasyon ve dezenfeksiyon kurallarına yeterince uyulmayan işletmelerde kesim işlemleri süresince yada ileri aşamalarda karkası kontamine ederek campylobacteriosis olgusuna neden olmaktadır.

Campylobacter' ler her ne kadar mikroaerofilik mikroorganizmalar olsalar da gıdalar termofilik *Campylobacter*' lerin yaşamsal aktivitesini devam ettirebildiği ortamlardır. *Campylobacter* türlerine bağlı gastroenterit olgularının tavuk eti tüketimine bağlı olarak artması, araştırmacıları bu ilişkiyi tanımlamak üzere harekete geçirmiştir. Özellikle kanatlı eti ve iç organları, kırmızı et ve iç organlar, pastörize edilmemiş yada yetersiz pastörize edilmiş süt; yine yeterince klorlanmamış sular ve kontamine sular campylobacteriosis' e sebep olur. Ayrıca ortamda bulunan salata, ekmeğe gibi besinlerin çapraz kontaminasyonu besinlerle bulaşmaya sebep olur [Atabay ve Corry, 1998].

Yapılan epidemiyolojik çalışmalar, ızgara tarzında piliç eti pişirirken çiğ materyal ile pişmiş materyali bulaştırmanın ve bulaşık elleri ağza götürmenin çok yaygın olduğu, *Salmonella*' ya kıyasla elle temasın ve kısa süreli çapraz kontaminasyonun *Campylobacter* yönünde daha riskli olduğunu göstermiştir. Amerika' da pişmiş piliç etinin çiğ piliç etiyle kontaminasyonunun, sporadik *Campylobacter* enfeksiyonlarında birinci derecede etkili olduğu bildirilmiştir. Yapılan bir araştırmada *Campylobacter* enfeksiyonu geçiren 10 hastanın enfeksiyondan 1-7 gün önce çiğ piliç etiyle temas ettikleri anlaşılmıştır [Hopkins ve Scott, 1983].

Dawkins ve ark. (1988) yaptıkları bir araştırmada iyi hijyenik önlemlerin alındığı küçük mutfaklarda bile piliç etlerinin işlenmesi esnasında çalışanların; ellerini, tezgahları ve temas edilen diğer yüzeyler ile pişmiş materyali kolayca kontamine edebildiklerini, enfektif dozun düşük olması nedeniyle elleri ağza götürmek suretiyle kendilerini de kolayca enfekte edebileceklerini bildirmiştir.

Campylobacter türlerinin patojenitesi

Son yıllarda gıda mikrobiyolojisinde meydana gelen gelişmelere rağmen dünyadaki gıda kaynaklı hastalıklarda bir azalma görülmemektedir. Amerika' da 1982 verilerine göre, meydana gelen 220 gıda kaynaklı hastalığın % 68,7' sinin bakteriyel, bakteriyel kökenli hastalıkların da % 0,9' unun *C. jejuni*' den kaynaklandığı bildirilmiştir. *Campylobacter* türlerinden *C. coli*, *C. jejuni* ve *C. lari* insan enteritlerinden sorumlu tutulmuş ise de bunlar arasında *C. jejuni*' nin daha önemli olduğu çalışmalarda bildirilmiştir.

Campylobacter türlerinin enfeksiyon dozu çok yüksek değildir; 500-1000 organizma ile enfeksiyon oluşturabilirler. Enfeksiyona çocuk ve bebekler daha duyarlıdır [Humphrey, 1999].

Patojen türler mide asiditesine duyarlıdır. Ancak bakteri, yağlı besinler, süt ve su ile birlikte alındığında asidin zararlı etkisi azalır. Tavuk etlerindeki kontaminasyon düzeyi, tavuk başına 10^2 - 10^5 bakteri olarak saptanmıştır. Moleküler çalışmalar da,

tavuklardan ve insanlardan izole edilen *Campylobacter* suşlarının genotipik benzerliğini ortaya koymuş ve bu ilişkiyi kanıtlamıştır [Altekruse ve ark., 1999; Blaser, 2000; Darka ve Yılmaz, 2004].

Her ne kadar *Campylobacter* enfeksiyonunun oluşumu tam olarak anlaşılmamış ise de; hareket, tutunma yeteneği ve ürettiği toksinin virulans üzerinde etkili olduğu bilinmektedir.

Deneysel araştırmalar ve klinik çalışmalar, hastalık oluşumunda invazyonun veya endotoksin üretiminin yada her ikisinin birden rol oynadığını göstermektedir. Termofilik *Campylobacter* türlerinin oluşturduğu toksinler incebağırsak epitel hücrelerinde hasar ve kanamalara, mukozal atrofi, mukozal ülserasyona ve dejenerasyona sebep olmaktadır. Ayrıca, *C. jejuni*' nin insanlarda akut kolit, apenditis, kolesistitis, abortus, glomerulonefritis ve pulmoner hemoraji vakalarından izole edildiği, Gullian-Barre Sendromu ve Reiter Sendromu gibi immunolojik düzeydeki hastalıkların da postinfeksiyöz komplikasyon olduğu bildirilmiştir. İnsandaki campylobacteriosis' te kırgınlık, baş ağrısı, yüksek ateş, karın ağrısı, sulu ve kanlı ishal semptomları gözlenmekte ve hastalık salmonellosis' e oranla daha ağır seyretmektedir (Çizelge 2.4).

İyi bir protein kaynağı olmasının yanı sıra ucuz, yağsız ve kolay pişirilebilir olması nedeniyle gelişmiş ülkelerde 1970, ülkemizde 1983' den sonra tavuk eti üretimi hızla artmıştır. Tavuk etinde yaklaşık % 20 protein vardır. Diğer etlerle karşılaştırıldığında proteince zengin olduğu görülür.

Dünyadaki birçok ülkede termofilik *Campylobacter*' leri araştırma amacıyla yapılan çalışmalarda piyasada satışı sunulan kanatlı etlerinin yaklaşık % 100' e varan oranda kontamine olduğu vurgulanmıştır. *Campylobacter*' lerin sebep olduğu campylobacteriosis hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerdeki insanlarda görülen en yaygın enterik hastalıklardan birisidir. Bu hastalığın bulaşmasında da en önemli kaynak tavuklardır. Bu hastalığın tedavisinde kullanılan antibiyotiklere karşı kazanılan direnç ve bu direncin aktarımı da önemli bir sorundur.

Çizelge 2.4. *Campylobacter* türleri ve oluşturdukları hastalıklar [Arda ve ark., 1997].

Campylobacter türü	Canlı türü	Oluşturduğu infeksiyon
<i>C. fetus</i> subsp. <i>fetus</i>	Koyun	Epizootik abortus, bağırsak ve safra kesesi komensali
	Sığır	Sporadik abortus, bağırsak ve safra kesesi komensali
	At, Keçi	Sporadik abortus
	İnsan	Sporadik abortus, septisemi
<i>C. fetus</i> subsp. <i>venerealis</i>	Sığır	Venereal infeksiyon, infertilite, sporadik abortus
	İnsan	Septisemi
<i>C. upsaliensis</i>	Köpek, Kedi	Gastroenteritis, septisemi, bağırsak komensali
	İnsan	Gastroenteritis, septisemi
<i>C. helveticus</i>	Köpek, Kedi	Gastroenteritis, septisemi, bağırsak komensali
<i>C. mucosalis</i>	Domuz	Proliferatif enteritis ve ileitis
<i>C. hyoilei</i>	Domuz	Proliferatif ileitis
<i>C. coli</i> <i>C. lari</i> <i>C. jejuni</i>	Koyun	Epizootik abortus, kuzularda besi ishali, bağırsak komensali
	Sığır	Sporadik abortus, buzağılarda ishal, mastitis, bağırsak komensali
	Köpek, Kedi	Gastroenteritis, sporadik abortus, bağırsak komensali
	At	Enteritis, septisemi

Çizelge 2.4. (Devam) *Campylobacter* türleri ve oluşturdukları hastalıklar

<i>C. coli</i> <i>C. lari</i> <i>C. jejuni</i>	Tavuk	Civcivlerde ishal, vibrionik hepatitis, bağırsak ve safra komensali
	İnsan	Gastroenteritis, septisemi, Gullian-Barre Sendromu ilişkisi
	Diğer	Sporadik abortus, enteritis, bağırsak komensali
<i>C. sputorum</i> subsp. <i>bubulus</i>	Sığır	Boğa prepusyumunda komensal
	İnsan	Gastroenteritis
<i>C. sputorum</i> subsp. <i>fecalis</i>	Sığır, Koyun	Enteritis, bağırsakta komensal
<i>C. sputorum</i> subsp. <i>sputorum</i>	İnsan	Ağız boşluğunda komensal
<i>C. hyointestinalis</i>	Domuz	Proliferatif enteritis ve ileitis
	Sığır	Enteritis, bağırsak komensali
	İnsan	Enteritis
<i>C. gracilis</i>	İnsan	Yumuşak doku proliferasyonu
<i>C. concisus</i>	İnsan	Periodontitis
<i>C. showae</i>	İnsan	Periodontitis
<i>C. curvus</i>	İnsan	Periodontitis
<i>C. rectus</i>	İnsan	Periodontitis

Campylobacter'lerin antibiyotik dirençlilik mekanizmaları

Araştırmacılar antibiyotik dirençli *Campylobacter* spp. insidensinin insan sağlığını tehdit edici bir oranda olduğunu vurgulamışlardır [Rautelin ve ark., 1991; Rönner ve ark., 2004].

Spesifik antibiyotiklere direnç; ilacı kavramanın azaltılması, geçirgen olmama ya da antimikrobiyalin bir kısmı için efflux mekanizması, enzim atağı ya da ilacın etki göstereceği spesifik hedef bölgelerinin organizma tarafından modifikasyonu gibi birkaç yolla kazanılabilir. Organizmalar ilacın etki edeceği spesifik hedef bölgesinin duyarlı olmayan bir bölgeye duplikasyonu ile modifiye eder, bu da antibiyotik duyarlılık adımının 'bypass'ına sebep olur [Olah ve ark., 2004].

Son zamanlarda bazı organizmalarda multiple antimikrobiyal direnç kazanma için bir mekanizma olan integronlar belirlenmiştir. İntegronlar antimikrobiyal direnç sağlayabilen genlerin ve diğer genlerin transkripsiyonuna öncülük eden mevcut genetik elementlerden oluşur. Class 1 integronlar klinik izolatlarda en sık rastlanan integronlardandır. Kaset formunda integre edilen direnç genleri integras enziminin (int 1) integronu kodlamasıyla oluşur. 50' nin üzerinde, antibiyotik ve antiseptik sınıfının direncini veren kaset biçiminde kodlanmış gen bildirilmiştir. İntegronların kaset bölgeleri hastalık durumunda insan sağlığı için potansiyel bir risk olan multiple antibiyotik direnç formuna dönüşmesine yol açabilir. İntegronlar; klinik izolatlarda multiple dirençten sorumlu 8' den fazla direnç kaseti içerirler [Olah ve ark., 2004].

İntegronlara ek olarak; efflux pompalarından kaynaklanan diğer bir antibiyotik direnç mekanizması vardır. Bu pompalar, proton gradiyentine göre bakteriyel sitoplazmadaki bileşikleri karşılıklı taşıyan proton (H⁺) pompalarıdır. Efflux pompalarıyla ilgili çalışmalardan biri Pumbwe ve Piddock' un *Campylobacter* spp.' nin klinik ve kanatlı izolatlarında tanımladığı multidrug efflux pompası (CmeB)' nin varlığıdır. Amerika' da yapılan bir araştırmada hindilerden izole edilen *Campylobacter*'lerin PCR ile % 36,2' sinde multidrug efflux pompası (CmeB) tespit

edilirken, int 1 bulunamamıştır. Nalidiksik asite dirençte CemB genlerinin rol oynadığı tespit edilmiştir [Olah ve ark., 2004].

Lee ve ark., kanatlılardan izole ettikleri *Campylobacter jejuni*' lerin % 21' inin integraz 1' e sahip olduklarını saptamıştır [Lee ve ark., 2002].

Campylobacter türlerinde tetrasiklin direncinin plazmid aracılığı ile taşındığı düşünülmekte ve bunu destekleyen birçok araştırma bulunmaktadır. Tayvan' da yapılan bir araştırmada incelenen tüm tavuk eti kökenli izolatlar tetrasikline dirençli bulunmuş, bu izolatların % 98' inin *tet O* prob geni taşımakta olduğu, *tet O* geni taşımakta olanların ise % 87' sinin bu geni plazmid üzerinde, % 11' inin kromozomları üzerinde taşıdığı tespit edilmiştir [Lee ve ark., 1994].

Termofilik *Campylobacter*' lerin antibiyotik duyarlılıkları

Termofilik *Campylobacter*' ler makrolidlere, florokinolonlara, aminoglikozitlere, kloramfenikol ve tetrasikline duyarlıdır. Trimethoprim yüksek oranda dirençlidir bazı suşlar β -laktamaz üretir bu sayede Sefalosporinleri içeren β -laktamlara dirençlidir [Nachamin ve Skirrow, 1998].

Son zamanlarda *Campylobacter* enteriti tedavisinde kullanılan florokinolon antibiyotiklerine dirençliliklerinden dolayı tehlikeli infeksiyonlar için ilaç seçiminde antibiyotik dirençli *Campylobacter*' ler endişe uyandırmaktadır. Eritromisin' e direnci daha zor kazanabilmelerine karşın *C. jejuni*' de direnç % 5' ten azken, *C. coli*' de % 80' e kadar ulaşabilmektedir. Kinolonlara karşı direnç DNA giraz' larındaki nokta mutasyon sayesinde orta seviyede olmasına karşın diğer antibiyotiklere dirençleri çiftlikteki mevcut mikrobiyotadan gelen özel dirençlilik genlerini edinmeyi gerektirir [Nachamin ve Skirrow, 1998].

Bütün termofilik *Campylobacter* türleri sefalotine dirençlidir, *C. lari* nalidiksik asite dirençli, *C. jejuni* ve *C. coli* direnç kazanabilse de genel olarak duyarlıdır. Ciddi enterit tedavisinde eritromisin önerilmektedir [Nachamin ve Skirrow, 1998].

2.3. *E. coli*' nin Genel Özellikleri

E. coli ilk kez 1881 yılında Alman bilim adamı Theodore Escherich tarafından bir çocuğun dışkılarından izole edilmiş ve *Bacterium coli commune* olarak adlandırılmıştır, daha sonra bu bakteriye *Escherichia coli* adı verilmiştir [Halkman ve ark., 1994]. 1950' li yıllardan beri sıcakkanlı hayvanların normal bağırsak florasında yer alan bir bakteri olarak kabul edilmesinden dolayı fekal kontaminasyonun göstergesi olarak değerlendirilmektedir [Tunail, 1999].

E. coli' nin optimum gelişme sıcaklığı 37°C, optimum pH' sı 7,2' dir. 44,5°C' de laktozdan gaz oluşturur. Glikozu asit oluşturarak katabolize eder, laktoz, mannitol pozitif olup hareketlidir. İndol ve metil red testi pozitif, voges prouskauer ve sitrat testi negatif olmasından dolayı IMVIC testleri (++--). Üre besiyerinde üreyi kullanmadığı için üreyemez. Voges Proskauer (VP), sitrat, malonat, adenitolüre, inositol, jelatin, hidrojen sülfür, KCN testi negatiftir. Nitratı nitrite indirger, sakaroz, salisin ve dulsidol testleri değişkendir. Ortho Nitrofenol P-D-Galactopronosid (ONPG) pozitif sonuç verir. Bazı suşları hemolitikdir, suşların çoğu lizin dekarboksilaz enzimi üretir. Laktozu geç kullanan ya da kullanmayan, hareketsiz veya indol negatif suşları vardır. Laktozu 24 saatten geç fermente eden suşlarına parakoli-koliform denir [Halkman ve ark., 1997].

E. coli' nin patojenitesi

E. coli normal bağırsak florasının bir parçası olmasına rağmen; yeni doğan bebeklerde menenjitin, kadınlarda sistit ve nefritin, diyareye bağlı hastalıkların ciddi belirgin formları ile dizanteriden sorumlu, tüm dünyadaki insanları etkileyen en yaygın gram negatif patojendir. Bu gibi hastalıklara neden olan *E. coli* suşları bir ya da birden fazla virulans faktörlerine sahiptir [Taremi ve ark., 2006].

Dünyada su kaybı yüzünden yılda yaklaşık 5 milyon ishal ölümleri meydana geldiği belirlenmiştir. Büyük bir kısmı yeni doğan ve küçük çocuklarda olmakla beraber en fazla sayıda enteropatojenik *E. coli* kaynaklıdır. Hayatı tehdit edici *E. coli*

infeksiyonları tüm dünyada meydana gelmekte, en yaygın gelişmekte olan ülkelerde görülmektedir [Taremi ve ark., 2006].

İshalden sorumlu virulans faktörler sıklıkla plazmidde kodlanır. Transdüksiyonla bir zincirden diğerine uzayarak ya da rekombinasyonla kodlanabilir. Sonuçta virulans faktörlerin çeşitli kombinasyonlarının meydana geldiğini görürüz. Böylece diareye sebep olan *E. coli* suşları hastalık üretme mekanizmasına göre sınıflandırılabilir. Bunlar dört grupta incelenmektedir. Son yıllarda bu ayrıma Enteroaggregatif (EAggEC) ve Fakültatif Enteropatojenik *E. coli* de eklenmiştir [Doyle, 1989; Taremi ve ark., 2006; Frazier ve Westthoff, 1988].

Enterotoksijenik E. coli: Enterotoksin üreten *E. coli* Enterotoksijenik *E. coli* olarak tanımlanmaktadır ve LT denilen Heat-Labil toksin ile ST denilen Heat-Stable toksinin birini ya da her ikisini üretir. Bu grup özellikle hijyenik koşulları iyi olan ülkelere, daha düşük hijyenik standartlara sahip sıcak iklimli ülkelere gidenlerde görülen “turist hastalığı” diye adlandırılan hastalıkların % 60-70’ inden sorumludur. Ayrıca gelişmemiş ülkelerdeki bebeklerde enterit olarak ortaya çıkan hastalığın etmenidir. Etkenin en çok fekal kontaminasyonlu su ve bu tür sularla temas eden çiğ sebzelerden bulaştığı bildirilmiştir. Gelişmekte olan ülkelere çocuk ve bebeklerdeki diyarenin önemli bir nedenidir. İnsanlarda sebep olduğu enfeksiyon koleraya benzemektedir [Tunail, 1999; Taremi ve ark., 2006; Padhye ve Doyle, 1992].

Enterohemorajik E. coli (EHEC): EHEC ilk kez 1982 yılında şiddetli karın ağrısı ve çok kanlı diyare ile karakterize edilen hemolitik kolitin etiyolojik ajanı olarak tanımlanmıştır. EHEC, *E. coli* grupları arasında en patojen olanıdır. En yaygın EHEC serotipi O157:H7’ e ait olarak belirlense de başka EHEC serotipleri de belirlenmiştir. Fimbrial antijenle bağırsak epiteline yapışır. EHEC bir ya da iki adet antijenik olarak belli toksin üretir. Toksinle biyolojik kimliği ve antijenik yapısı *Shigella dysenteriae*’ nin toksinine benzerliğinden dolayı *Shigella* benzeri toksin denir. Vero hücrelerini öldürme yeteneklerinden dolayı Verotoksin olarak da adlandırılırlar. Hemorajik kolit salgınları kontamine gıdalardan kaynaklandığı kadar bakım evlerinde ve günlük bakım merkezlerinde kişiden kişiye geçebilmektedir. Patojen *E. coli* gruplarında

EPEC, ETEC, EIEC' nin kaynağı insan olup, bu mikroorganizmalar gıdaya kanalizasyon ve işleyenlerin aracılığı ile bulaşır. EHEC kaynağı ise süt ve sığırlardır. Gıdaya bulaşması sığır dışkısı, et, süt işletmeleri ile olur. *E. coli* O157:H7' nin -20°C' de biftek yüzeyinde 9 aydan fazla yaşayabildiği belirtilmiştir [Taremi ve ark., 2006].

Enteroinvasiv E. coli (EIEC): EIEC' in en büyük virulans faktörü epitel hücreleri istila etmesidir. Hücreler içinde çoğalmakta ve yanındaki hücrelere yayılmakta, bu şekilde kolon ülserasyonuna ve kanlı diyareye neden olmaktadır. EIEC' in kolon içine girme yeteneğinin plazmidde bağımlı olduğu ve bu plazmidlerin birçok membran proteinlerini kodladığı bildirilmiştir [Tunail, 1999; Padhye ve Doyle, 1992; Gonul ve Karapınar, 1994].

Enteropatojenik E. coli (EPEC): EPEC diare oluşma mekanizması zayıf anlaşılmış organizmaların bir karışımından oluşmuştur. Klasik EPEC bir düzine ya da daha fazla serotip içerir [Taremi ve ark., 2006]. Bu bakteri grubu 1940-1950' li yıllarda Amerika' da ciddi sorunlara yol açmış bebeklerde neden olduğu hastalıklarla ölüm oranı % 50' lere ulaşmıştır. Günümüzde ise iyi hijyenik standartlara sahip olan ülkelerde seyrek olmakla birlikte, gelişmekte olan ülkelerde çocuklarda görülen diyarenin en önemli nedenlerinden biridir. Hastane personeli ve yeni doğanlarda görülme olasılığı yüksektir. Yetişkinleri etkileyen su ve gıda kaynaklı salgınlar söz konusudur. Bu salgınlarda klorlanmamış kuyu suyu, önceden pişirilmiş soğuk domuz eti ve etli börek gibi gıdaların kaynak teşkil ettiği belirtilmektedir [Tunail, 1999; Padhye ve Doyle, 1992; Gonul ve Karapınar, 1994; Gonzalez ve ark., 2000].

Enteroadgregatif E. coli (EAggEC): Hep-2 hücrelerine belirgin bir şekilde yapışmaları ile karakterize edilirler. Çocuklardaki inatçı ishalin sebebi olarak belirlenmiştir [Gonzalez ve ark., 2000].

Gültekin ve ark., Sivas yöresinde 231 ishallerde tespit ettikleri ishal etkeni mikroorganizmalar arasından, % 4,3 EPEC, % 3 ETEC, % 1,3 oranında EIEC bakterilerini ürettiklerini bildirmişlerdir [Gültekin ve ark., 1987].

İstanbul’ da yapılan bir çalışmada, 1890 ishali vakanın % 30,8’ inden patojen bakteri izole edilmiş, izole edilen patojenlerin 62’ sinin (% 5,35) EPEC olduğu bildirilmiştir [Öztürk ve ark., 1994].

2.4. *Shigella*’ nın Genel Özellikleri

Biyokimyasal ve kültür özellikleri

Shigella’ lar laktoz içeren EMB, Endo ve McConkey gibi ayırt edici besiyerlerinde laktozu fermente etmezler. *Shigella* türleri; gram negatif, fakültatif anaerobik, çubuk şeklinde, hareketsiz, oksidaz negatif, katalaz pozitif (*S. dysenteriae* 'nın bir serotipi hariç), sitrat ve H₂S negatif reaksiyon göstermektedirler. Birkaç istisnanın dışında, karbohidratları gaz oluşturmaksızın fermente etme özelliğine sahiptirler. DNA homolojilerine göre *Escherichia* türleri ile *Shigella* türleri birbirleriyle % 70-100 oranında ilişkilidirler. Bu nedenle biyokimyasal testlerle bu iki türün birbirinden ayrılması oldukça zordur [Çakır, 2000].

Antijenik yapıları:

Genetik olarak *Shigella* kökenleri (suşları) *E. coli*’ den ayırt edilemezler. Birçok taksonomist onların aynı tür olduğuna inanır. *Shigella*’ lar basilli dizanteri yapmalarına karşın, *E. coli*’ nin çoğu kökeni bu tabloyu meydana getirmez. Bu nedenle iki ayrı genus (cins) içinde incelenmeleri kabul edilmiştir.

Shigella türleri dört serotip olarak sınıflandırılırlar:

1. Serogrup A: *S. dysenteriae* (12 serotip)
2. Serogrup B: *S. flexneri* (6 serotip)
3. Serogrup C: *S. boydii* (18 serotip)
4. Serogrup D: *S. sonnei* (1 serotip)

A ve C gruplarındakiler fizyolojik olarak birbirlerine benzerler; *S. sonnei* (grup D) biyokimyasal metabolizma testleri ile ayırt edilebilir [Hale ve Keusch, 1996].

Basilli dizanteri olarak da bilinen shigellosise neden olan *Shigella* cinsi bakterilerin doğal florası insanların ve maymunların bağırsak sistemleridir. Bu cinse dahil olan organizmalar, direkt dışkı bulaşması ile ya da dışkı bulaşmış gıdalar ve sular aracılığı ile yayılmaktadır. Özellikle kişisel hijyen koşullarına dikkat edilmeden üretilmiş gıdalar hastalığın yayılmasında en önemli etken durumundadır. Bu gıdalardan bazıları; tavuk eti, balık eti veya diğer deniz ürünlerini içeren salatalar, çiğ olarak tüketilen sebzeler, çiğ kıyım, midye ve diğer deniz ürünleridir. Uygun koşullarda üretilmeyen içme suları, özellikle gelişmekte olan ülkelerde shigellosisin yayılmasının başlıca nedeni olarak kabul edilmektedir. Shigellosis olayında enfeksiyon dozu 10^1 ile 10^4 hücre/insan arasında değişmektedir [Çakır, 2000].

Shigella spp.'nin neden olduğu gastrointestinal enfeksiyonlar genellikle karın ağrısı ve krampları, ishal (bazen kanlı) nedeniyle aşırı su kaybı ve bağırsaklarda ülser benzeri yanmalar şeklinde ortaya çıkmaktadır. Belirtilerin ortaya çıkma süresi 12 saat ile 50 saat arasında değişmekle birlikte, bazı durumlarda tipik olarak 4 gün sürmekte, nadiren 10 - 14 güne kadar uzadığı da bilinmektedir [Çakır, 2000].

Shigella türlerinin virülens etkisi, enfeksiyona neden olan suşların bağırsak mukozasını aşarak (invasiv etki) epitel hücrelere yerleşmesi ile meydana gelmektedir. Virülens suşların 120-140 megadalton büyüklüğünde bir plazmid taşıdıkları ve invasiv etkiye neden olan genlerin bu plazmidde kodlu olduğu belirlenmiştir. Virülens etki aynı zamanda sıcaklığa bağlı olarak değişmektedir. Örneğin 30°C 'de geliştirilen hücrelerde invasiv etki görülmezken; 37°C 'de gelişen hücrelerde görülmektedir. Bunun nedeni virülens etkiden sorumlu olan plazmidin kaybedilmesi değil, sadece ekspresyonunun engellenmesidir. 30°C 'de geliştirilen hücreler sıcaklık 37°C 'ye yükseltildiğinde, 2-3 saat içinde tekrar virülens etki gösterebilmektedir. Bu nedenle, virulent plazmide sahip *Shigella* ile kontamine olmuş gıda maddelerinin düşük sıcaklıklarda korunması, riski ortadan kaldırmamaktadır. Çünkü mide-bağırsak sisteminde *Shigella* tekrar virülens özellik

kazanmaktadır. Shigellosise neden olan Shiga toksini, sitotoksik özellikte olup etki mekanizması memelilerde ve bakteriyel sistemlerde protein sentezinin engellenmesine neden olmaktadır. Shiga toksininin biyosentez genleri kromozomda bulunmaktadır [Çakır, 2000].

Fiziksel ve kimyasal ajanlara direnç:

Enterobacteriaceae' nin diğer üyelerine göre daha az dayanıklıdırlar. Birçok dezenfektan sıklıkla kullanılan konsantrasyonlarda etkilidir. Yüksek asit konsantrasyonlarına dayanamazlar. Bu nedenle dışkı vücut dışına çıktığında süratle asitleştiği için dışkı örneklerinin taşınması için tamponlanmış besiyerleri kullanılmalıdır (Carry Blair, Amies ve Stuart gibi). Nemli ortamlarda düşük ısıyı tolere ederler, oda sıcaklığındaki sularda 6 ay canlı kalabilirler.

2.5. *Listeria'* nın Genel Özellikleri

Listeria' lar ilk olarak 1911 yılında Hulphers tarafından hasta tavşanların karaciğerinde oluşan nekrotik odaklardan izole edilmiş ve *Bacillus hepatitis* olarak isimlendirilmiştir. Daha sonraları bu bakteriye *Listeria monocytogenes* adı verilmiştir [Gelin ve Broome, 1989].

Listeria' lar; gram pozitif, kısa çubukçuklar veya kokobasiller şeklinde olup uçları yuvarlak görünümündedir. Tek tek, ikili, kısa zincirler halinde, bazen de "V" şeklinde görülürler. Bu mikroorganizmalar 0,4-0,5 mikron çapında, 0,5-2,0 mikron uzunluğunda, sporsuz ve kapsülsüzdürler. *Listeria'* lar 6-20 mikron uzunluğunda filamentlere sahiptirler. 20-25°C' de 24 saatlik kültürlerde aktif olarak hareket ederlerken, 37°C' de hareketleri daha zayıftır.

Aerob ve fakültatif anaerob özelliklere sahiptirler. *Listeria* türlerinin gelişmesi için optimum sıcaklık dereceleri 30-37°C olmakla birlikte, 1-45°C arasında da gelişebilme yeteneğine sahiptirler. *Listeria* cinsi içerisinde patojen olan ve üzerinde en çok durulması gereken tür *Listeria monocytogenes'* dir. *Listeria'* lar glukoz

fermentasyonu sonucunda laktik asit üretirler, H₂S oluşturmazlar. Metil red, voges-proskauer ve katalaz reaksiyonları pozitif, indol, oksidaz ve üre reaksiyonları negatiftir. Esculin ve sodyum hippuratı hidrolize ederler. Ancak jelatin, kazein ve sütü hidrolize edemezler. Trypticase Soy Agar' da 45° lik açı ile Henry' e göre yapılan aydınlatmada koloniler, mavi, mavi-yesil fluoresans verirler. Palcam Agarda siyah koloniler verirler [Mueller, 1988].

Gıda kaynaklı *Listeria* infeksiyonlarının çoğunun, süt ürünlerinden kaynaklanmasına karşın, yapılan çalışmalar et ve kanatlı eti ve ürünlerinin de *Listeria*' lar ile önemli düzeyde kontamine olduğunu ve infeksiyonlara neden olduğunu ortaya koymaktadır (Farber ve Peterkin, 1991). Kanatlı eti tüketiminden kaynaklanan listerioz olgularına ilişkin olarak yapılan bir çalışmada Schuchat ve ark., insanlardaki tüm listeriozis olgularının % 6' sının az pişmiş piliç eti tüketimi sonucu şekillendiğini bildirmişlerdir.[Schuchat ve ark., 1991].

Listeria türleri içerisinde *Listeria monocytogenes* (*L. monocytogenes*) insan ve hayvanlarda ciddi sporadik enfeksiyonlar oluştururken, *Listeria ivanovii* (*L. ivanovii*) sadece hayvanlarda hastalık oluşturmaktadır [Müller, 1988; Seeliger ve Jones, 1986; Terplan, 1989; Fleming ve ark., 1985]. Listeriozis ender rastlanan bir hastalık olmasına rağmen (3-10 vaka/bir milyon kişi/yıl) vakalarının % 30' nun ölümlle sonuçlanması bakımından özel bir değer kazanmaktadır [Terplan, 1989]. Listeriozis özellikle son yıllarda bazı ülkelerde gıdalardan kaynaklanan ve ölümlle sonuçlanan çok sayıda enfeksiyon vakasının ortaya çıkması nedeniyle dünya gıda endüstrisini yakından ilgilendiren önemli bir sorun haline gelmiştir [Terplan, 1989; Fleming ve ark., 1985].

Listeriozis her ne kadar her yaştaki insanlarda görülse de gebeler, yaşlılar, yeni doğan bebekler, şeker hastaları, alkol bağımlıları, AIDS' liler, böbrek hastaları ve bağışıklık sistemi baskılanmış kişilerde daha sık görülür. Meninjitis, meningoensefalitis, meninjitisle ayrı veya beraber seyreden septisemi, abort, ölü doğum, enfekte olmuş yavrular, diyare, pnömoni, endokartis, mastitis ve konjunktivitis gibi semptomlar görülür [Shelef, 1998].

2.6. *Salmonella*'nın Genel Özellikleri

Salmonella'lar *Enterobacteriaceae* ailesinde yer alan düz çomakçıklar şeklinde yaklaşık olarak 0,7-1,5x2,0-5,0 nm boyutlarında, iki türü hariç (*S. gallinarum*, *S. pullorum*) peritrik flagellaları aracılığı ile hareketli, sporsuz, kapsülsüz, gram negatif, aerob veya fakültatif anaerob ve 20–40°C'leri arasında üreyebilen bir bakteridir. Genellikle küçük, yuvarlak S tipi koloniler yapar. M koloni oluşturan *S. schottmuelleri* (*S. paratyphi B*) gibi bakteriler bulunur. Uygunsuz ortamda üreyen *Salmonella*'lar R koloniler de yaparlar. Karbonhidratlardan laktoz, sakkaroz, adonitol ve salisin'e etki etmezler ve bu şekilde diğer bakterilerden ayırt edilirler. H₂S yaparlar (*S. paratyphi A* hariç), ayrıca mannitolden de asit ve gaz oluştururlar, fakat sükrozu kullanmazlar. IMVIC testi (-,+,-,+), üre negatif, ONPG deneyi negatif, lizin ve ornitin dekarboksilaz testleri gruplara göre değişik özellikler gösterir. Isı, kuruluk, gün ışığı ve antiseptiklere duyarlı fakat soğuk ortamlara, bazı boyalara (malaşit yeşili gibi) ve nemli ortama çok dirençlidirler.

Antijenik yapı:

Salmonella'lar da somatik (O), Kirpik (H) ve Yüzeysel (Vi, M, Fimbria) antijenleri bulunur.

Somatik (O) antijeni; bütün *Salmonella*'larda bulunur. Bu antijen protein ve lipidlere bağlı olan bir polisakkarit olup hapten özelliğindedir. Bu polisakkarite bağlı 3 – 4 adet monosakkaritin oluşturduğu oligosakkarit grupları, özgül antijenlik özelliğini oluşturur. Isıya (110°C' de 2,5 saat), alkol (% 96'lık alkole 4 saat) ve asitlere dirençlidir. Formol etkisiyle aktivitesini kaybeder. Bu özellikleri serolojik testler için özgül antijenlerin hazırlanabilmesini sağlar. O antijenleri 1, 2, 3... şeklinde sayılarla adlandırılır.

Kirpik (H) antijeni; hareketli olan bakterilerde bulunur. Protein yapısında, ısı, alkol, asit ve proteolitik fermentlerin etkisiyle parçalanır. Formole dirençlidir. Bu özelliği ile serolojik testler için antijen süspansiyonu hazırlanır. H antijeni, spesifik faz veya

Faz 1 antijeni ve non spesifik veya Faz 2 antijeni adı verilen iki antijenik özellik gösterir. Faz 1 antijenler a, b, c gibi adlandırılırken, Faz 2 antijenleri 1, 2, 3 diye adlandırılır.

Vi antijeni; somatik antijenin dışında glikolipit yapısında bir antijendir. Bütün *Salmonella*'larda bulunmaz. Vi antijeni, O antiserumu ile aglütinasyonu engellediği için 60°C' de 1 saat ısıtılan bakteri Vi antijenini kaybederek O antiserumu ile aglütinasyon verebilir.

M antijeni; mukoid koloni yapan bakterilerde bulunur. O antiserumu ile aglütinasyonu engellediği için 100°C' de 2,5 saat ısıtılarak etkisi giderilebilir.

Fimbria (Pilus) antijeni; formole dayanıklı fakat 100°C' de 30 dakikada kaybolan bir antijendir. Kendi spesifik antiserumu ile aglütinasyon yapar [Arda ve ark., 1997; Bekar, 1997; Krieg ve Holt, 1984; Davison ve ark., 1999; Jordan ve Pattison, 1996].

Salmonella'ların A' dan G' ye kadar isimlendirilmiş 11 serotipi mevcuttur. A grubu *S. paratyphi A*; B grubu *S. paratyphi B*; C grubu *S. paratyphi C*; D grubu ise *S. typhi* ve *S. enteridis*'den oluşur. Ayrıca D2, D3, E1, E2, E3, F ve G serotipleri isimlendirilmiştir [Davison ve ark., 1999].

Salmonella cinsi bakterilerin yaptıkları hastalıklar

Salmonella cinsi bakterileri kaplumbağa ve reptillerin normal florasında olabilirken, homoterm (insan ve memeli canlılar) grubu canlıların intestinal florasında normal bir flora üyesi olarak bulunmazlar [Yurtalan ve Ateş, 2002; Miyamoto ve ark., 1999]. *Salmonella*'ların, kanatlılarda intestinal bölgedeki kolonizasyonunda esas alan kursak ve sekumdur. Normal bağırsak florası mikroorganizmalarının ürettiği asetik asit, laktik asit ve formik asit gibi metabolik ürünlerin, bağırsak pH' sını düşürmeleri, bağırsakta patojenik gram negatif bakterilerin yaşamalarını engellemektedir [Yurtalan ve Ateş, 2002; Craven ve Williams, 1997].

Salmonella cinsinde yer alan bakterilerden, tavuk tifosu denilen hastalığın etkeni olan *Salmonella gallinarum* ilk olarak Klein tarafından 1889'da bulunmuş, Taylor ve ark., 1952'de *S. gallinarum-pullorum* olarak tanımlamışlardır. *Salmonella enteritidis*' de ilk kez 1888' de Gaertner tarafından izole edilmiştir [Krieg ve ark., 1984]. Özellikle *S. enteritidis* yumurta üretim çiftliklerini tehdit etmektedir [Davison ve ark., 1999].

Genel olarak *Salmonella* türlerinin sebep olduğu hastalıklar üç ana başlıkta toplanır:

1. Genel enfeksiyon niteliğindeki hastalıklar
2. Enterokolitler
3. Sepsis ve lokalize organ hastalıkları

Bunların sebep olduğu bakteriyemiler, insanlarda aynı zamanda genel enfeksiyon veya besin zehirlenmesi yapabilen ve bir kısmı hayvanlar için de patojen olan bazı *Salmonella*' lar tarafından meydana getirilirler. Bakterilerin bağırsaklardan hızla kana karışması, çeşitli organlara yayılması ve yerleşmesi ile oluşan bir tablodur. *S. typhi*' nin yayılımı genellikle insan kaynaklıdır ve sıklıkla sepsise neden olur. Diğer suşlar ise genellikle hayvan kaynaklı bulaş gösterirler ve sepsis dışındaki salmonelloz vakalarına yol açarlar [Küçüker ve ark., 1997; Onul, 1980].

Salmonellozis genellikle bütün hayvan türlerinde gözlenen, *Salmonella* cinsine ait bakteriler tarafından oluşturulan perakut septisemi, akut ve kronik enteritis ile karakterize zoonotik bir enfeksiyondur [Arda ve ark., 1997; Bekar, 1997].

Türkiye' de ve dünyada *Salmonella* etkenlerinin tespitine yönelik çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Kalender ve ark., Elazığ bölgesinde yaptıkları bir çalışmada Salmonellozis yönünden inceledikleri tavuk örneklerinin % 10,8' inde, Gülyaz ve Taştan, Erzurum-Erzincan yörelerindeki kanatlı mezbahalarında yaptıkları çalışmada, örneklerin % 5,1' nde, Bekar ve ark., Ankara yöresindeki tavuk karkaslarında yaptıkları çalışmalarda ise % 11,2 oranında *Salmonella* türlerinin

varlığını bildirmişlerdir. İstanbul bölgesinde yapılan bir çalışmada ise serolojik incelemeler neticesinde, tavukçuluk işletmelerinin % 46,2' sinin *S. enteritidis* ile kontamine olduğu belirtilmiştir [Kalender ve Muz, 1999; Gülyaz ve Taştan, 1996; Bekar ve ark., 1993; Özdemir, 1999].

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Materyal Örnekleri

Araştırmada, 15.04.2006-15.05.2006 tarihleri arasında Ankara ilinde bir mezbahadan kesim anında tavuk bağırsaklarından alınan örneklerden Laktobasil cinsine ait bakterilerin izolasyonu yapılmıştır. Çalışmanın devamında ise izolasyonu ve identifikasyonu yapılan izolatların çeşitli patojenler üzerine olan antimikrobiyal aktivitesi incelenmiştir. Toplam 8 farklı tavuk örneğinden Laktobasil cinsine ait 47 adet bakteri izole edilerek çalışma bu bakteriler ile yürütülmüştür.

Araştırmada Ankara Üniversitesi Gıda Hijyeni Bölümü'nden temin edilen tanımlanmış *Campylobacter jejuni* ATCC 33291 izolatı ile Gazi Üniversitesi Mikrobiyoloji Laboratuvarından temin edilen, tavuk bağırsağından izole edilmiş olan termofilik *Campylobacter* izolatları kullanılmıştır. Ayrıca çalışmada Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı Merkez Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü'nden temin edilen *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella dublin*, *Salmonella typhimurium*, *Shigella* sp., *Listeria monocytogenes* izolatları kullanılmıştır.

3.2. Araştırmada Kullanılan Besiyerleri

MRS (de man, ragosa sharpe) broth (Merck, No: 1.10661)

Pepton	10 gr
Maya özütü	5 gr
Et özütü	10 gr
Glikoz	20 gr
Potasyum fosfat	2 gr
Sodyum asetat	5 gr
Magnezyum sülfat	0,2 gr
Manganez sülfat	0,05 gr
Amonyum sitrat	2 gr

Sodyum klorür	0,4 gr
Soyum asetat	1,5 gr
Bromcresol purple	0,04 gr

Agar ve jelatin hariç tüm maddeler 1000 ml distile suya tamamlanıp, besiortamının pH' sı $6,8\pm 0,2$ ' ye ayarlanmıştır. pH' sı ayarlanan besiortamına içerikte bulunan miktar kadar agar ve jelatine eklendikten sonra besiortamı 121°C ' de 15 dakika steril edilmiştir. Steril edilen besiortamı 50°C ' ye kadar soğutulduktan sonra steril plaklara yaklaşık 12-13 ml kadar dökülmüştür.

Nutrient broth (Merck, No:1.05443)

Et özütü	1 gr
Maya özütü	2 gr
Pepton	5 gr
Sodyum Klorid	5 gr

Karışımdan 8 gr alınıp tartıldıktan sonra 1000 ml distile su ile tamamlanmıştır. pH $6,8\pm 0,2$ ' ye ayarlanıp, 5' er ml tüplere pipetlendikten sonra tüplerin ağzı pamukla kapatılıp, 121°C ' de 15 dakika otoklavda steril edilmiştir.

Nutrient agar (Merck, No:1.05450)

Et özütü	1 gr
Maya özütü	2 gr
Pepton	5 gr
Sodyum Klorid	5 gr
Agar	12 gr

Karışımdan 20 gr tartıldıktan sonra 1000 ml distile su ile tamamlanmıştır ve pH $6,8\pm 0,2$ ' ye ayarlanıp, 121°C ' de 15 dakika otoklavda steril edilmiştir. Steril edildikten sonra yaklaşık 50°C ' ye kadar soğutulup steril edilmiş olan plaklara yaklaşık 12-13 ml kadar dökülmüştür.

Campylobacter enrichment broth (LABM, Lab 135)

Et peptonu	10 gr
Lactoalbumin hidrolizat	5 gr
Maya özütü	5 gr
Sodyum klorid	0,01 gr
Haemin	0,5 gr
α -ketoglutarik asit	1 gr
Sodyum metabisülfid	0,5 gr
Sodyum karbonat	0,6 gr

Karışımdan 27,6 gr tartıldıktan sonra 1000 ml distile su ile tamamlanmıştır. Besi ortamının pH' sı $7,4\pm 0,2$ ' ye ayarlandıktan sonra tüplere 5' er ml pipetlenip 121°C ' de 15 dakika otoklavda steril edilmiştir.

Campylobacter enrichment agar

Et peptonu	10 gr
Lactoalbumin hidrolizat	5 gr
Maya özütü	5 gr
Sodyum klorid	0,01 gr
Haemin	0,5 gr
α -ketoglutarik asit	1 gr
Sodyum metabisülfid	0,5 gr
Sodyum karbonat	0,6 gr
Agar	12 gr

Tüm karışım 1000 ml distile suyla tamamlanıp, pH 7,4±0,2' ye ayarlandıktan sonra 121°C' de 15 dakika otoklavda steril edilmiştir. Steril edildikten sonra yaklaşık 50°C' ye kadar soğutulup steril edilmiş olan plaklara yaklaşık 12-13 ml kadar dökülmüştür.

Campylobacter selective agar (LABM, Lab 112)

Pepton karışımı	25 gr
Bakteriyolojik kömür	4 gr
Sodyum klorid	3 gr
Sodyum deoksikolat	1 gr
Ferroz sülfat	0,25 gr
Sodyum pirüvat	0,25 gr
Agar	12 gr
Distile su	1000 ml

Karışımından 45,5 gr tartıldıktan sonra 1000 ml distile su ile tamamlanıp, 121°C' de 15 dakika otoklavda steril edilmiştir. Steril edildikten sonra yaklaşık 50°C' ye kadar soğutulup steril edilmiş olan plaklara yaklaşık 12-13 ml kadar dökülmüştür.

Colombia blood agar base (LABM, Lab 1)

Colombia pepton karışımı	23 gr
Mısır nişastası	1 gr
Sodyum klorid	5 gr
Agar	12 gr

Karışımından 41 gr tartıldıktan sonra 1000 ml distile su ile tamamlanıp, pH 7,4±0,2' ye ayarlanmıştır. Besi ortamı 121°C' de 15 dakika otoklavda steril edildikten sonra yaklaşık 50°C' ye kadar soğutulup üzerine % 7 oranında kan ilave edilmiştir. Karışım iyice karıştırıldıktan sonra steril petri kutularına yaklaşık 12-13 ml kadar dökülmüştür.

Fizyolojik su

Sodyum klorür	8,75 gr
Distile su	1000 ml

Karışım 121°C' de 15 dakika otoklavda steril edilmiştir.

Mueller-hinton agar (LAB M, Lab 39)

Beef infusion solids	2 gr
Acid hydrolysed casein	17,5 gr
Nişasta	1,5 gr
Agar No.1	17 gr

Tüm karışım 1000 ml distile su ile tamamlanıp 121°C' de 15 dakika otoklavda steril edilmiştir. Steril edildikten sonra yaklaşık 50°C' ye kadar soğutulup steril edilmiş olan plaklara yaklaşık 12-13 ml kadar dökülmüştür.

3.3. Laktobasillerin İzolasyonu

Araştırmada tavuk bağırsağından steril eküvyonla alınan örnekler en kısa zamanda laboratuara ulaştırılarak MRS (de Man, Ragosa Sharpe) Broth içerisine alınmıştır. Alınan örnekler MRS Broth içerisinde vortex yardımı ile karıştırılmıştır. Daha sonra 9 ml' lik hazırlanan fizyolojik su içerisine örnekten 1 ml ilave edilerek örneğin farklı dilüsyonları hazırlanmıştır. Örneğin hazırlanan 10^{-4} , 10^{-5} ve 10^{-6} dilüsyonlardan 100' er µl drigalski ile MRS Agar ve LBP (Lactose-Bromcresol Purple) Agar bulunan plaklara ekim yapılmıştır. Ekimden sonra petriler anaerobik kitle (Merck, Anaerocult C) beraber anaerobik jar içerisinde etüve kaldırılmıştır. Etüvde 37°C' de 72 saat inkübasyona bırakılmıştır. 72 saat sonunda Laktobasil kolonisine benzeyen koloniler MRS Broth' a alınarak 37°C' de 72 saat inkübasyona bırakılmıştır. Bu süre sonunda tüm örneklerden gram boyama yapılarak Laktobasil olduğu düşünülen örneklerden tekrar MRS Agar' a ekim yapılmıştır. İnkübasyondan sonra Laktobasil

kolonilerine benzeyen koloniler tekrar seçilerek gram boyama ile doğrulandıktan sonra bu kolonilerden MRS Broth' a alınmıştır [Gómez ark., 2002].

Stok Kültür Hazırlama: Ependrof ve kriolar içerisine 500 µl gliserin konularak steril edilmiştir. Sterilizasyondan sonra ependrof ve kriolar içerisine izolatların 24 saatlik aktif kültürlerinden 1000 µl aktararak izolatların stok kültürleri hazırlanmıştır. Hazırlanan stok kültürler -20°C ve -80°C' ye kaldırılarak saklanmıştır.

Laktobasil izolasyonu 8 farklı tavuk bağırsağı örneğinden yapılmıştır. Bu örneklerden 1. örnekten; 1, 2. örnekten; 6, 3. örnekten; 8, 4. örnekten; 10, 5. ve 6. örnekten; hiç izole edilememiştir, 7. örnekten; 17, 8. örnekten 5 olmak üzere toplam 47 adet Laktobasil izole edilmiştir.

3.4. *Campylobacter* Türlerinin İdentifikasyonu

Tanımlamada ilk olarak izolatların gram boyama, mikroskopik görüntü ve katalaz testine bakılmıştır. Bu ön tanımlamadan sonra *Campylobacter* izolatları API Campy (bioMerieux, Ref 20 800) kullanılarak tanımlanmıştır.

3.4.1. Gram boyama ve mikroskopik görüntü

Saf kültür örneklerinden hazırlanan preparatlar gram boyama yöntemi ile boyandıktan sonra mikroskopun immersiyon objektifinde incelenmiştir. İncelemede gram (-), spiral, virgül ve martı kanadı formda görülen mikroorganizmalar *Campylobacter* sp. olarak değerlendirilmiştir.

3.4.2. Katalaz testi

% 3' lük hidrojen peroksit (H₂O₂) solüsyonundan temiz bir lam üzerine bir damla damlatıldıktan sonra, saf kültürden öze ile alınan iki-üç koloni lam üzerindeki H₂O₂ damlasına bırakılmıştır. Birkaç saniye içinde oluşan kabarcık biçimindeki gaz oluşumu pozitif reaksiyon olarak kabul edilmiştir.

3.4.3. API Campy uygulaması

Bakteri izolatlarının tür düzeyindeki teşhislerinde, *Campylobacteriaceae* familyası içerisinde yer alan *Campylobacter*' leri tanımlamak için spesifik olan, minyatürize edilmiş biyokimyasal test kitleri (API Campy bioMerieux, Ref 20 800) kullanılmıştır. API Campy şeritleri dehidrate edilmiş maddeleri içeren 20 mikrotüp içerir.

Gram boyama gibi ön tanımlama testleri ile *Campylobacter* olarak belirlenen izolatlarından, kanlı agar plaklarına tek koloni ekim yapıldıktan sonra 24-48 saat $36^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$ ' de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan sonra steril eküvyon ile kültürden alınarak McFarland 6 bulanıklığına denk gelene kadar API NaCl % 0,85 (3 ml) süspansiyonunun içerisine karıştırılmıştır. Stripin üre-pal aralığındaki mikrotüpçüklere steril mikropipet ile 80-100 μl kadar ilave edilmiştir ve üre testini içeren mikrotüpçüğün üzerine mineral oil damlatılmıştır. Stripin bu ilk kısmı, strip kapakları kapatılıp, izolat numaraları yazıldıktan sonra aerobik şartlarda 24 saat $36^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$ ' de inkübasyona bırakılmıştır.

Stripin ikinci kısmı olan glu-ero aralığında ise; daha önceki süspansiyondan, 150 μl API AUX (7 ml) süspansiyonuna ilave edilmiştir. Bu aralıktaki mikrotüpçüklere steril mikropipetle yeni solüsyondan konulmuştur ve stripin bu kısmı, strip kapakları kapatılıp, izolat numaraları yazıldıktan sonra anaerobik şartlarda 24 saat $36^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$ ' de inkübasyona bırakılmıştır.

İnkübasyon süresi sonunda stripin birinci kısmında bulanık mikrotüpçüklere belirtilen ayıraçlar damlatılmıştır ve stripin birinci ve ikinci kısmından elde edilen sonuçlar kaydedilmiştir. Bu sonuçlar ve katalaz testi sonuçları bir bilgisayar programı kullanılarak değerlendirilmiştir.

3.5. Antimikrobiyal Aktivite

3.5.1. Laktobasillerin çeşitli patojenler üzerine inhibisyon etkisi (genel inhibisyon)

Laktobasillerin patojen bakterilere karşı oluşturdukları inhibisyon etkisini belirlemek için test bakterileri olarak *C. jejuni*, *C. jejuni* ATCC 33291, *E. coli*, *S. enteritidis*, *S. dublin*, *S. typhimurium*, *Shigella* sp., *L. monocytogenes* kullanılmıştır.

Test mikroorganizmalarından *Campylobacter*ler; *Campylobacter* Enrichment Broth' da anaerobik kitle (Merck, Anaerocult C) beraber anaerobik jar içerisinde 42°C' de 24 saat, diğer patojenler ise; Nutrient Broth' da 37°C' de 24 saat inkübasyona bırakılarak aktive edilmiştir ve aktif kültürler McFarland 2' ye ayarlanmıştır. Laktobasil izolatları ise MRS Broth' da anaerobik kitle (Merck, Anaerocult C) beraber anaerobik jar içerisinde 37°C' de 24 saat inkübasyona bırakılarak aktive edilmiştir.

Laktobasillerin patojenlere karşı oluşturdukları inhibisyon etkisini belirlemek için agar difüzyon yöntemi kullanılmıştır. Çalışmada *Campylobacter* örnekleri için Mueller Hinton Agar, diğer patojen bakteriler için ise Nutrient Agar kullanılmıştır. Tüm test bakterilerinin aktif kültürlerinden üreyebildikleri uygun besiyortamına 50 µl ekilerek drigalski özesi ile plağı tamamen kaplayacak şekilde yayılmıştır. Daha sonra ekim yapılan plaklara steril çubuklarla 1cm çapında kuyular açılmıştır. Bu kuyuların tabanları steril agarla sıvanmıştır. Kuyuların tabanına sıvanan agar donduktan sonra kuyulara aktif Laktobasil kültürlerinden 100 µl eklenmiştir. *Campylobacter* ekili plaklar anaerobik kit ilave edilerek anerobik jara yerleştirildikten sonra 42°C' de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. *E. coli*, *S. enteritidis*, *S. dublin*, *S. typhimurium*, *L. monocytogenes*, *Shigella* sp. ekili plaklar ise aerobik ortamda 37°C' de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda kuyu çevresinde oluşan temiz inhibisyon zon çapları mm olarak ölçülerek kaydedilmiştir [Joshi ve ark., 2006].

Belirlenen zon çapları incelenerek hemen hemen her patojende etkili olan ve en yüksek zon çapını oluşturan Laktobasil izolatlarından 23 adeti API ile tanımlanmak üzere seçilmiştir ve çalışmanın geri kalan kısmına API ile tanımlanan izolatlar ile devam edilmiştir. Belirlenen izolatları tanımlamak için API 50 CHL kullanılmıştır.

3.5.2. Laktobasil izolatlarının identifikasyonu

Tanımlamada ilk olarak 47 adet izolatın gram boyama ve mikroskopik özelliklerine bakılmıştır. Ayrıca örneklerin katalaz testi de yapılmıştır. Bu n tanımlama uygulamalarından sonra patojen bakterilere karşı oluşturdukları genel inhibisyon etkileri göz önüne alınarak seçilen 23 izolat API 50 CHL (bioMerieux, Ref 50 300) kullanılarak tanımlanmıştır.

Gram boyama ve mikroskopik görüntüsü

Saf kültür örneklerinden hazırlanan preparatlar gram boyama yöntemi ile boyandıktan sonra, mikroskopun immersiyon objektifinde incelenmiştir. Gram (+), ubuk formunda görülen mikroorganizmalar *Lactobacillus* sp. olarak değerlendirilmiştir.

Katalaz testi

% 3' lk hidrojen peroksit (H₂O₂) solüsyonundan temiz bir lam üzerine bir damla damlatıldıktan sonra saf kültürden ze ile alınan iki-üç koloni lam zerindeki H₂O₂ damlasına bırakılmıştır. Birkaç saniye içinde oluşan kabarcık biçimindeki gaz oluşumu pozitif reaksiyon olarak kabul edilmiştir.

API 50 CHL uygulaması

Bakteri izolatlarının tür düzeyindeki teşhislerinde, *Lactobacillaceae* familyası için spesifik olan, minyatürize edilmiş biyokimyasal test kitleri (API 50 CHL bioMerieux, Ref 50 300) kullanılmıştır. API 50 CHL sistemi 49 minyatürize edilmiş

biyokimyasal test ve verilerin kullanıldığı teşhis düzenidir. API 50 CHL şeritleri dehidrate edilmiş maddeleri içeren 49 mikrotüp içerir.

Saf bakteri kültüründen MRS agar plaklarına yoğun bir şekilde ekildikten sonra anaerobik şartlarda 37°C' de 24-48 saat inkübasyona bırakılmıştır.

Bakteri süspansiyonu hazırlamak için; plaktaki örnekten, steril pastör pipeti ile yoğun bir şekilde alınmış ve 2 ml süspansiyon içeren besiyortamında emülsiyon haline getirilmiştir. Bu süspansiyondan, bir başka 5 ml' lik süspansiyon içerisine, McFarland 2 bulanıklığını yakalayana kadar damlatılarak, yeni homojen bakteri süspansiyonları hazırlanmıştır. Hazırlanan süspansiyondan ise daha önce damlatılan miktarın 2 katı kadar API 50 CHL medium besiyortamına konulmuştur. API test mikrotüplerinin tüp kısımlarına içinde hava kalmayacak şekilde steril uçlu mikropipet kullanılarak besiyortamından konulmuştur. Ekim yapılan tüpler üzerine mineral oil damlatılarak hava ile teması kesilmiştir.

Mikrotüplerden oluşan striplerin kapakları kapatılmıştır. Suş numaraları inkübasyon kutularına yazılarak suşların karışması önlenmiş ve 37°C' de 24-48 saat inkübe edilmiştir. 24 saat sonunda oluşan değişiklikler kaydedilmiştir ve tekrar 24 saat daha anaerobik şartlar altında 37°C' de inkübasyona bırakılmıştır. 48 saat sonundaki değişikliklerde kaydedildikten sonra tüm elde edilen sonuçlar bir bilgisayar programı kullanılarak değerlendirilmiştir.

3.5.3. Laktobasil izolatlarının bakteriyosin ve bakteriyosin benzeri madde üretimlerinin belirlenmesi

Bu aşamada tavuk bağırsağından izole edilerek tanımlaması yapılan 23 Laktobasil izolatı kullanılmıştır ve bunların bakteriyosin ve/veya bakteriyosin benzeri antimikrobiyal madde üreten üretenleri araştırılmıştır.

Asit üretimi nötralize edilen *Lactobacillus* izolatlarının antimikrobiyal aktivitesi

Laktobasillerin patojen bakterilere karşı oluşturdukları inhibisyonda asitliğin etkisini ortadan kaldırmak için ortamın asitliği denatüre edilmiştir. Bunun için Laktobasil izolatlarının aktif kültüründen % 1 oranında MRS Broth besiyerine aktararak içerisinde anaerobik kit bulunan anaerobik jarda 37°C' de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. 24 saat sonunda kültürlerin pH' sı ölçülmüş ve yaklaşık 4,5 civarında olduğu belirlenmiştir. Asitliği denatüre etmek amacı ile 1 N NaOH kullanılarak kültürlerin pH' sı 7' ye ayarlanmıştır. pH' sı ayarlanan kültürler 5000 rpm' de 15 dakika santrifüj edilip, süpernatant (berrak kısım) 0,22 µm' lik disposble filtre ile süzümüştür.

Test bakterileri ve *Lactobacillus* izolatları aktifleştirildikten sonra, asitliği denatüre edilen *Lactobacillus'* ların, test bakterilerine karşı oluşturdukları inhibisyon zon çapını belirlemek için, daha önce genel inhibisyon etkisinin belirlenmesinde uygulanan agar difüzyon yöntemi kullanılmıştır. İnkübasyon sonunda oluşan zon çapları ölçülmüştür [Khalid ve ark., 1999].

Asitlik ve H₂O₂ üretimleri giderilmiş *Lactobacillus* izolatlarının antimikrobiyal aktivitesi

Asitlik denatüre edildikten sonra oluşan zon çaplarına bakılarak ≥ 5 mm' zon oluşturan Laktobasil izolatları seçilmiştir. Bu izolatların, H₂O₂ üretimi katalaz enzimi kullanılarak denatüre edildikten sonra bakteriyosin ve/veya bakteriyosin benzeri antimikrobiyal madde üretilip üretilmediği incelenmiştir.

Seçilen izolatların asit ve H₂O₂ üretimini denatüre edildikten sonra *E. coli* hariç tüm patojen bakterilere karşı oluşturdukları inhibisyon etkileri çalışılmıştır. Asitlik nötralize edildikten sonra hiçbir izolat *E. coli'* ye karşı inhibisyon etkisi göstermediği için bu aşamada çalışılmamıştır. Bu aşamadaki antimikrobiyal aktiviteyi belirlemek için ilk olarak aktif Laktobasil kültürlerinden % 1 oranında MRS Broth besiyerine ilave edilmiş ve 37°C' de 16-18 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda

kültürlerin pH' sı 1 N NaOH kullanılarak 7' ye ayarlandıktan sonra kültürler 5000 rpm' de 15 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj işleminden sonra kültürlerin süpernatant kısmı 0,22 µm' lik disposble filtre ile süzölmüştür. Süzölen süpernatantlara 1mg/ml oranında katalaz (Merck, Bactident Katalase No:1.11351.) ilave edilerek 25°C' de 30 dakika bekletilmiştir. Asit ve H₂O₂ üretimi denatüre edilen bu Laktobasil izolatlarının, patojen bakterilere karşı gösterdikleri inhibisyon etkisi, genel inhibisyonadaki gibi agar difüzyon yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. 24 saatlik inkübasyon sonunda kuyuların çevresinde oluşan zon çapları ölçölmüştür [Ogun ve ark., 2003; Schillinger ve Lücke, 1989; Lozano ve ark., 2006].

Bu işlemlerin sonrasında Laktobasil izolatlarının oluşturduğu zon çaplarına bakılarak, bu izolatların bakteriyosin ve/veya bakteriyosin benzeri antimikrobiyal madde üretilip üretilmediği belirlenmiştir.

3.5.4. *Lactobacillus* izolatlarında belirlenen bakteriyosin ve/veya bakteriyosin benzeri maddenin karakterizasyonu

Bu aşamada asitlik ve H₂O₂ üretimi giderildikten sonra, test bakterilerine karşı inhibisyon etkisi gösteren izolatlar seçilmiştir. Bu izolatların sahip oldukları bakteriyosin ve/veya bakteriyosin benzeri maddenin yapısını belirlemek için çeşitli enzimler, farklı pH' lar ve farklı sıcaklık derecelerine duyarlılıklarına bakılmıştır.

Enzimin etkisi

Bu aşamada Laktobasil izolatının ürettiği bakteriyosin ve bakteriyosin benzeri maddenin yapısını belirleyebilmek amacıyla, pH' sı 7' ye ayarlanan süpernatantlara çeşitli enzimler uygulanmıştır. Kültür süpernatantına; proteinaz K (1mg/ml) (Roche No:3115879) 1 N NaOH' de (pH 6,5), tripsin (1mg/ml) (Sigma, No: T1426) 0,05 M tris hidroklorid' de (pH 8) çözölerek uygulandıktan sonra, 0,22 µm' lik disposble filtreden geçirilmiştir. Proteinaz K ve tripsin ilaveli süpernatantlar 37°C' de 1 saat bekletildikten sonra, genel inhibisyonadaki gibi agar difüzyon yöntemi kullanılarak

çalışılmıştır. İnkübasyon sonunda oluşan zon çapları ölçülmüştür [Stromfova ve ark., 2003; Karaoğlu ve ark., 2003].

pH' nin etkisi

Laktobasil izolatının ürettiği bakteriyosin ve bakteriyosin benzeri antimikrobiyal maddeye pH' ın etkisini belirlemek amacıyla 1 N NaOH ve 1 N HCl kullanılarak süpernatantın pH' sı 2, 4, 6, 7, 8, 10, 12 olmak üzere farklı pH' lara ayarlanmıştır. Farklı pH' lara ayarlanan süpernatantlar 4 saat oda sıcaklığında bekletildikten sonra, genel inhibisyondaki gibi agar difüzyon yöntemi kullanılarak çalışılmıştır ve inkübasyon sonunda oluşan zon çapları belirlenmiştir [Stromfova ve ark., 2003; Karaoğlu ve ark., 2003; Khalid ve ark., 1999].

Sıcaklığın etkisi

Bu aşamada sıcaklığın etkisini belirlemek amacıyla ilk olarak süpernatantın pH' sı 1 N NaOH kullanılarak nötrale edilmiştir. Nötr pH' lı süpernatant 40°C, 60°C, 80°C ve 100°C' de sıcak su banyosunda 10 dakika ve 30 dakika bekletildikten sonra, genel inhibisyondaki gibi agar difüzyon yöntemi kullanılarak çalışılmıştır. İnkübasyon sonunda kuyular çevresinde oluşan zon çapları ölçülerek kaydedilmiştir. [Stromfova ve ark., 2003; Karaoğlu ve ark., 2003; Khalid ve ark., 1999].

3.6. Termofilik *Campylobacter* Türlerinin Antibiyotik Duyarlılık Testleri

Termofilik *Campylobacter*'lerin antibiyotik duyarlılıkları National Committee for Clinical Laboratory Standarts (NCCLS) kurallarına uygun olarak, disk difüzyon yöntemi ile saptanmıştır.

Termofilik *Campylobacter* türleri, *Campylobacter* Enrichment Broth' ta 42°C' de Mc Farland 0,5' e denk gelecek bulanıklığa ulaşana kadar inkübe edilmiştir. *Campylobacter* izolatlarının süspansiyonlarına, steril eküvyon batırılarak alınan örnekler, içerisinde Mueller Hinton Agar (MHA) bulunan plakların yüzeyine

eküvyon yardımı ile homojen bir şekilde yayılmıştır. MHA yüzeyi kuruduktan sonra test edilecek antibiyotik diskleri 3' er cm arayla yerleştirilmiştir ve 37°C' de 72 saat inkübasyon bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda oluşan zon çapları, NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standarts) tarafından zor üreyen mikroorganizmalar için önerilen zon çapı tablosu ile karşılaştırılarak, *Campylobacter* izolatlarının bu antibiyotiklere duyarlılık ve dirençlilikleri belirlenmiştir [Matthew, 2000].

Standart diskler

Araştırmada Termofilik *Campylobacter* türlerinin antibiyotik duyarlılıklarını belirlemek için kloramfenikol, siprofloksasin, gentamisin, eritromisin, nalidiksik asit, tetrasiklin, kanamisin, streptomisin ampisilin antibiyotikleri (Oxoid) kullanılmıştır. Çizelge 3.1. 'de kullanılan antibiyotikler ve bu antibiyotiklerin duyarlılık sınırları gösterilmiştir.

Çizelge 3.1. Araştırmada kullanılan antibiyotik diskleri ve duyarlılık sınırları [Matthew, 2000].

Antibiyotikler	Antibiyotik Konsantrasyonu (µg)	Zon Çapı (mm)		
		Dirençli	Orta Duyarlı	Duyarlı
Kloramfenikol (C)	30	≤12	13–17	≥18
Siprofloksasin (CIP)	5	≤15	16–20	≥21
Gentamisin (CN)	10	≤12	13–14	≥15
Eritromisin (E)	15	≤13	14–17	≥18
Nalidiksik asit (NA)	30	≤13	14–18	≥19
Tetrasiklin (TE)	30	≤14	15–18	≥19
Kanamisin (K)	30	≤13	14–17	≥18
Streptomisin (S)	10	≤11	12–14	≥15
Ampisilin (AMP)	10	≤11	12–14	≥15

McFarland bulanıklık tüpü

0,5 Mc Farland standardına uygun bulanıklık tüpü hazırlamak için; baryum klorür ve sülfürik asit kullanılarak hazırlanan bu solüsyon deney tüplerine 5'er ml ilave edilerek oda sıcaklığında, karanlıkta saklanmıştır.

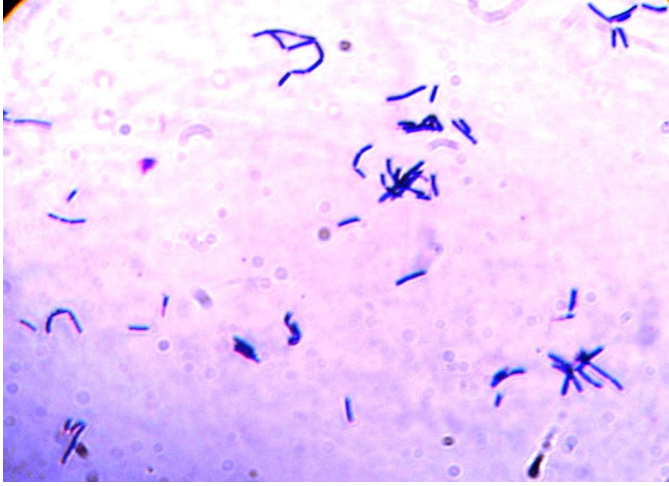
0,048 M BaCl ₂ (% 1,175 gr BaCl ₂ ·2H ₂ O)	0,5 ml
+0,18 M H ₂ SO ₄ / H ₂ O (% 1 v/v)	99,5 ml

0,5 Mc Farland = 10⁸ cfu/ml

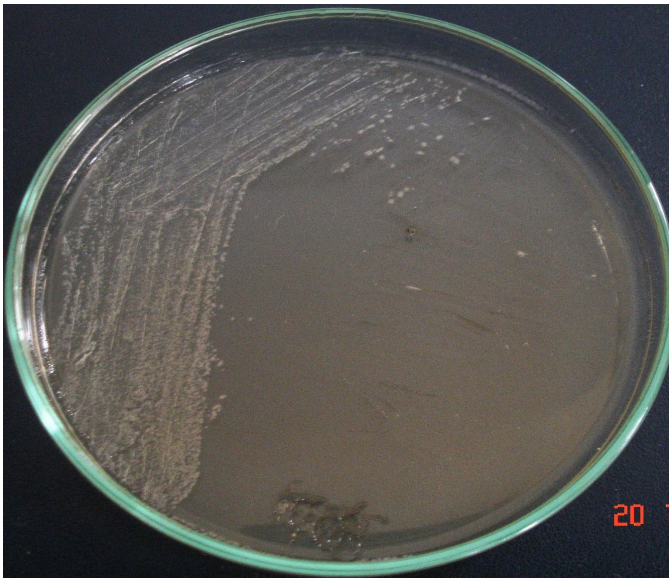
4. BULGULAR

4.1. Laktobasillerin İzolasyonu

Çalışmada kullanılan Laktobasiller tavuk bağırsağından izole edilmiştir. İzolasyon mezbahadan farklı zamanlarda alınan 8 tavuk örneğinden yapılmıştır; bu örneklerden 1. örnekten; 1, 2. örnekten; 6, 3. örnekten; 8, 4. örnekten; 5. ve 6. örnekten; hiç izole edilememiştir, 7. örnekten; 17, 8. örnekten 5 olmak üzere toplam 47 Laktobasil izole edilmiştir.



Resim 4.1. *Lactobacillus* sp. mikroskopik görüntüsü



Resim 4.2. Laktobasillerin MRS Agar' daki koloni görüntüsü

4.2. *Campylobacter* Türlerinin İdentifikasyonu

Çalışmada tavuk örneklerinin bağırsak, kanat, göğüs ve but kısımlarından izole edilen *Campylobacter*' lerin tanımlamaları API Campy (Biomerieux Sa, Ref 20 800) kullanılarak yapılmıştır. Tanımlaması yapılan *Campylobacter*' lerin 15' i *C. jejuni* (% 71,4), 3' ü *C. coli* (% 14,3), 3' ü ise *C. lari* (% 14,3) olarak bulunmuştur (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1. *Campylobacter* izolatlarının, tavuk örneklerinden alındığı bölgelere göre dağılımı

Tavuk Örnekleri	<i>Campylobacter</i> Türleri					
	<i>C. jejuni</i>	%	<i>C. coli</i>	%	<i>C. lari</i>	%
Bağırsak	10	47,6	2	9,5	1	4,8
Göğüs	-	-	1	4,8	2	9,5
Kanat	3	14,3	-	-	-	-
But	2	9,5	-	-	-	-
Toplam	15	71,4	3	14,3	3	14,3



Resim 4.3. *C. jejuni*' nin Campylobacter Selective Agar' daki görüntüsü



Resim 4.4. Bağırsaktan izole edilen *C. jejuni*' nin API sonucu

4.3. Laktobasillerin Çeşitli Patojenler Üzerine İnhibisyon Etkisinin Belirlenmesi

47 adet Laktobasil izolatının agar difüzyon yöntemi kullanılarak gram (+) (*L. monocytogenes*) ve gram (-) (*E. coli*, *Shigella* sp., *S. dublin*, *S. typhimurium*, *S. enteritidis*, *C. jejuni* ve *C. jejuni* ATCC 33291) bakteriler üzerine genel inhibisyon etkisine bakılmıştır. İnceleme sonucunda Laktobasil izolatlarının gram (+) bakterilere, gram (-) bakterilerden daha etkili olduğu belirlenmiştir.

Araştırmada kullanılan gram (-) bir bakteri olan *E. coli*' ye karşı en yüksek zon çapını 16 mm ile A1 kodlu *L. acidophilus*' un gösterdiği, en küçük zon çapını ise 4 mm ile F1 kodlu *Lactobacillus* sp. ve F7 kodlu *L. salivarius*' un gösterdiği belirlenmiştir.

Çalışmada test bakterilerinden *Shigella* sp.' ya karşı en yüksek zon çapını 22 mm ile F14 kodlu *Lactobacillus* sp. oluştururken, en küçük zon çapını 8 mm ile F2, F3 ve F17 kodlu *Lactobacillus* sp. izolatları ile A1 kodlu *L. acidophilus*' un oluşturduğu belirlenmiştir.

Bu çalışmada gram (-) bir bakteri olan *Salmonella* cinsinde yer alan *S. typhimurium*, *S. enteritidis* ve *S. dublin*' e karşı *Lactobacillus*' ların oluşturdukları inhibisyon etkisi araştırılmıştır. Bu 47 izolatın 29' unun *S. dublin*' e, 24' ünün *S. typhimurium*' a ve 18' inin *S. enteritidis*' e karşı inhibisyon gösterdiği belirlenmiştir. *S. typhimurium*' a karşı oluşan en yüksek zon çapını 16 mm ile A11 kodlu *L. acidophilus*, en küçük zon çapını ise 6 mm ile A19 kodlu *L. acidophilus* ile F1 ve F5 kodlu *Lactobacillus* sp. izolatlarının oluşturduğu belirlenmiştir. *S. dublin*' e karşı oluşan en yüksek zon çapını 14 mm ile A12, A27 ve E2 kodlu *Lactobacillus* sp. izolatları oluştururken, en küçük zon çapını 6 mm ile A1 ve A29 kodlu *L. acidophilus* ile F16 ve E5 kodlu *Lactobacillus* sp. izolatlarının oluşturduğu belirlenmiştir. Laktobasil izolatlarının *S. enteritidis*' e karşı oluşturdukları en yüksek zon çapı ise *S. dublin*' de olduğu gibi 14 mm olarak belirlenmiştir. En yüksek zon çapını F12 kodlu *Lactobacillus* sp. oluştururken, en küçük zon çapını 4 mm ile A14 kodlu *Lactobacillus* sp. oluşturmuştur.

Ayrıca çalışmada Laktobasil izolatlarının *C. jejuni*' nin 2 izolatına (*C. jejuni* ve *C. jejuni* ATCC 33291) karşı oluşturduğu inhibisyon etkisi incelenmiştir. Laktobasil izolatlarının 45' i *C. jejuni* ATCC 33291' e, 43' ü ise *C. jejuni*' ye karşı inhibisyon etkisi göstermiştir. *C. jejuni* ATCC 33291' e karşı oluşan en yüksek zon çapını 26 mm ile A19 kodlu *L. acidophilus* oluştururken, *C. jejuni*' ye karşı en yüksek zon çapını 24 mm ile A2, A3, A11 ve A19 kodlu *L. acidophilus* ile A8 ve F5 kodlu *Lactobacillus* sp. izolatlarının oluşturduğu belirlenmiştir. *C. jejuni* ATCC 33291' e karşı oluşan en küçük zon çapını ise 12 mm ile A27, F2 ve F9 kodlu *Lactobacillus* sp. izolatları oluştururken, *C. jejuni*' ye karşı en küçük zon çapını 10 mm ile A16, A27, F17, E2 ve E3 kodlu *Lactobacillus* sp. izolatları oluşturmuştur.

Gram (+) bir bakteri olan *L. monocytogenes*' e karşı ise tüm Laktobasil izolatların 33' ünün inhibisyon etkisi gösterdiği belirlenmiştir. Ayrıca tüm test bakterileri içerisinde, en yüksek inhibisyon zon çaplarının *L. monocytogenes*' e karşı olduğu belirlenmiştir. *L. monocytogenes*' e karşı en yüksek zon çapını 34 mm ile F7 kodlu *L. salivarius*' un oluşturduğu, en küçük zon çapını ise 8 mm ile A14 kodlu *Lactobacillus* sp.' nin oluşturduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.2).

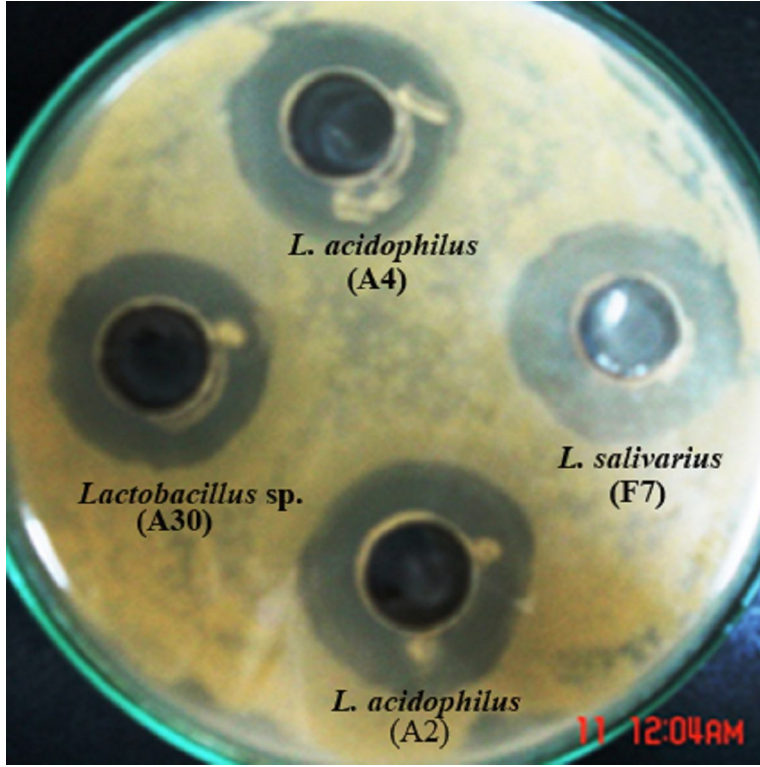
Çizelge 4.2. Laktobasil izolatlarının çeşitli patojen bakterilere karşı oluşturdukları inhibisyon zon çapları (mm) (Genel İnhibisyon)

Suş Kodu	<i>E. coli</i>	<i>Shigella sp.</i>	<i>S.typhimurium</i>	<i>S. dublin</i>	<i>S.enteritidis</i>	<i>L.monocytogenes</i>	<i>C.jejuni</i> *	<i>C. jejuni</i>
A1	16±1	8±0	-	6±1	-	-	14±1	14±0
A2	-	10±1	10±0	12±1	-	26±0	14±0	24±0
A3	-	10±1	-	-	-	24±1	22±1	24±0
A4	-	14±0	8±1	-	-	22±1	20±0	22±1
A5	-	-	12±1	12±1	-	-	14±1	22±1
A6	-	-	-	-	-	-	16±1	24±0
A7	-	12±0	-	-	-	-	16±0	22±1
A8	-	12±0	-	-	-	20±0	18±1	22±0
A9	-	10±0	10±1	10±1	-	20±1	18±0	24±1
A10	-	-	-	10±0	-	-	14±1	22±0
A11	6±0	14±1	16±1	8±1	10±1	22±2	18±0	24±1
A12	-	12±1	12±1	14±1	8±0	12±1	16±0	20±1
A13	12±1	16±1	12±1	-	12±0	16±1	22±1	14±1
A14	-	14±0	-	-	4±1	8±1	16±0	18±0
A15	10±1	12±0	-	-	6±1	12±1	20±1	11±0
A16	12±0	16±0	8±0	8±0	-	-	20±1	10±0
A17	-	16±0	8±1	-	12±1	22±1	14±1	18±0
A18	-	14±1	-	-	6±1	12±1	14±1	20±0
A19	-	12±1	6±1	-	-	24±1	26±1	24±0
A21	14±1	14±0	-	-	10±1	20±1	20±1	20±1
A22	6±0	14±0	-	-	-	-	16±0	22±0
A27	-	12±0	-	14±1	-	-	12±1	10±0
A28	-	8±1	10±0	8±1	8±1	22±1	-	-
A29	-	12±1	12±1	6±0	8±0	20±0	14±1	22±1

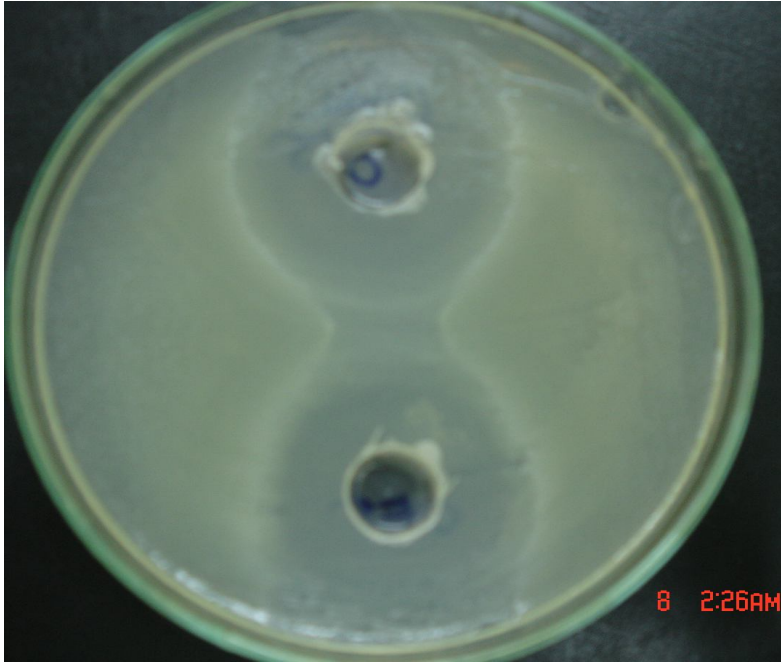
Çizelge 4.2. (Devam) Laktobasil izolatlarının çeşitli patojen bakterilere karşı oluşturdukları inhibisyon zon çapları (mm)
(Genel İnhibisyon)

Suş Kodu	<i>E. coli</i>	<i>Shigella sp.</i>	<i>S.typhimurium</i>	<i>S. dublin</i>	<i>S. enteritidis</i>	<i>L.monocytogenes</i>	<i>C. jejuni</i> *	<i>C. jejuni</i>
A30	-	12±1	12±1	10±1	8±0	24±1	14±1	22±1
F1	4±0	12±0	6±1	12±1	-	24±0	14±0	-
F2	-	8±0	-	10±0	-	28±0	12±1	16±0
F3	-	8±1	-	14±1	-	30±1	14±1	22±0
F4	7±1	9±1	16±0	14±1	7±1	30±1	20±1	16±0
F5	-	10±1	6±1	12±1	-	22±1	18±1	24±1
F6	6±0	12±1	-	-	-	26±1	18±1	20±0
F7	4±0	18±1	10±1	-	12±1	34±2	14±1	-
F8	-	18±1	-	10±1	-	26±1	16±0	-
F9	-	14±1	-	8±0	-	24±1	12±1	22±1
F10	6±0	16±1	12±1	12±0	-	-	16±1	20±1
F11	-	14±0	-	10±1	-	24±0	-	18±1
F12	9±1	16±1	12±2	11±1	14±1	20±1	20±2	18±1
F13	-	20±0	12±0	10±1	12±0	26±1	16±1	22±1
F14	-	22±0	12±1	10±0	10±0	28±1	14±0	20±0
F15	-	18±1	-	8±1	-	24±2	16±0	22±1
F16	10±0	16±1	12±0	6±1	7±1	26±1	16±1	20±1
F17	-	8±1	-	10±0	-	-	18±01	10±1
E1	-	16±0	-	-	-	-	14±0	18±0
E2	-	16±1	12±1	14±1	-	-	16±1	10±0
E3	10±1	18±1	-	-	-	-	20±0	10±0
E4	10±0	18±1	-	-	-	-	22±1	11±0
E5	8±0	20±0	14±1	6±0	8±1	30±1	22±1	11±1

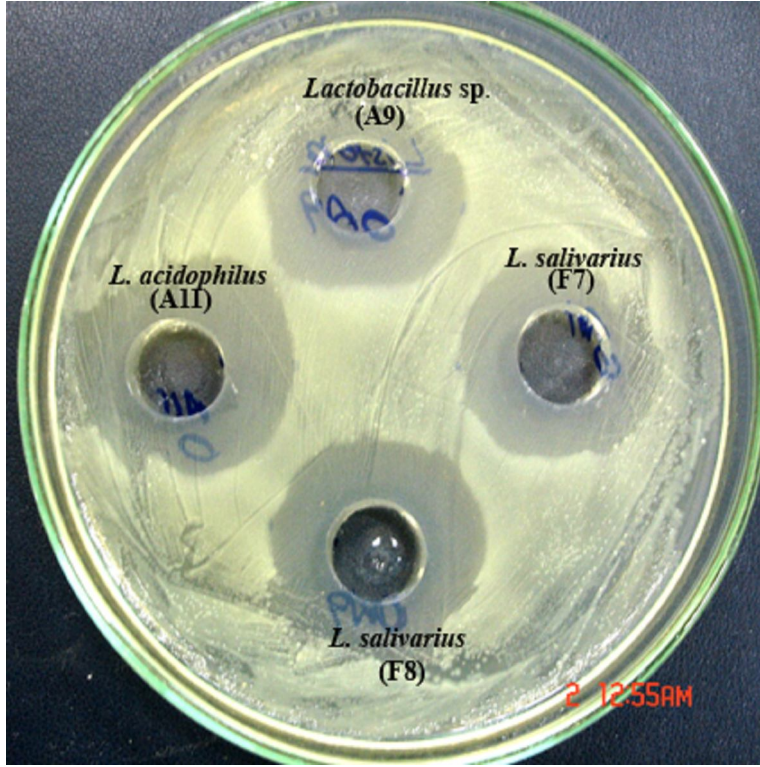
(-) : İnhibisyon oluşmadı, (*) : *C. jejuni* (ATCC-33291)



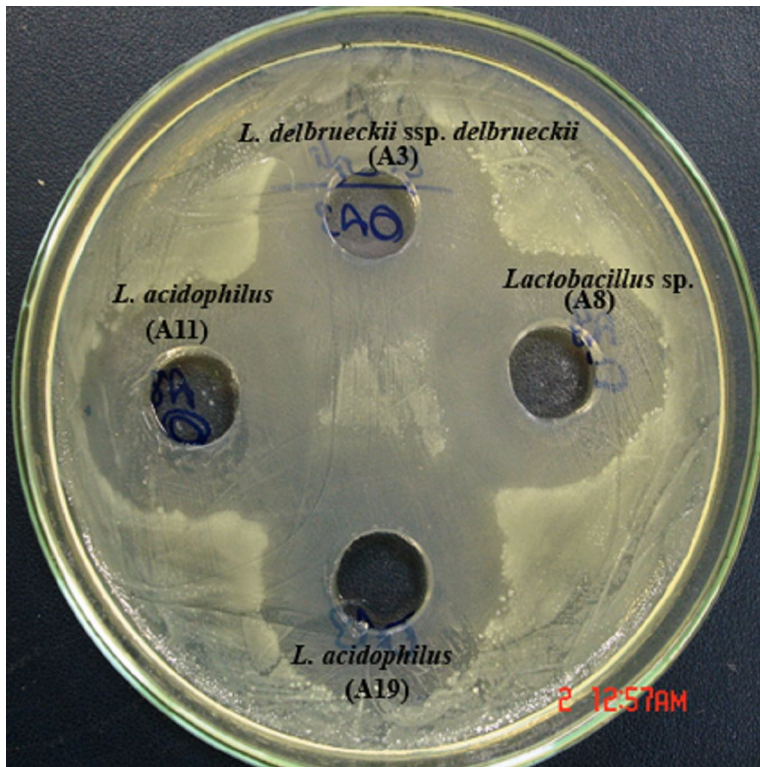
Resim 4.5. *Lactobacillus* izolatlarının *S. typhimurium* üzerine genel inhibisyon etkisi



Resim 4.6. *L. salivarius*' un *Shigella* sp. üzerine genel inhibisyon etkisi



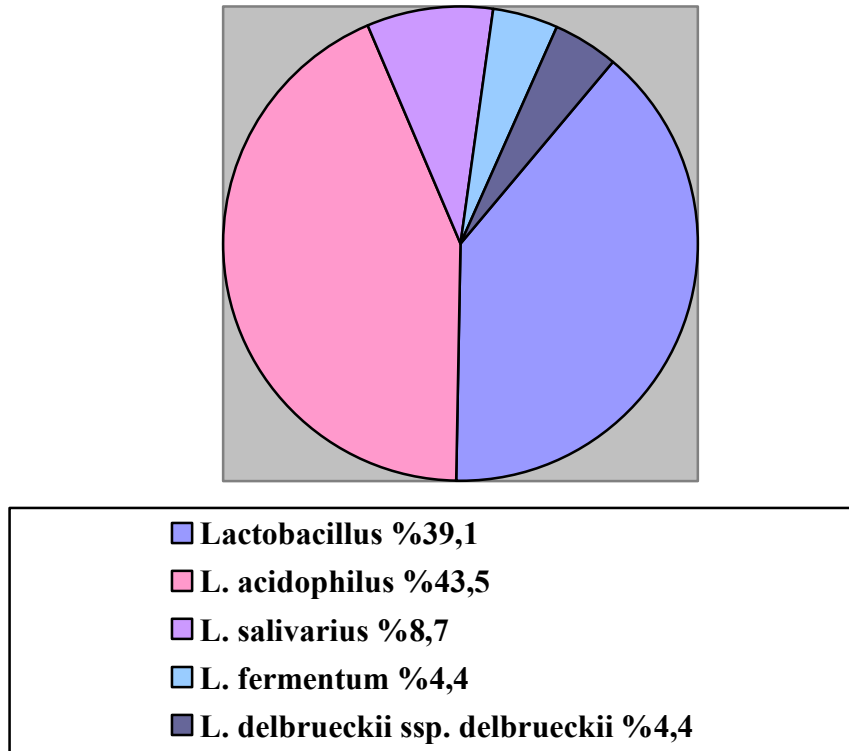
Resim 4.7. Laktobasillerin *L. monocytogenes*' e karşı oluşturdukları inhibisyon etkisi



Resim 4.8. Laktobasil izolatlarının *C. jejuni*' ye karşı oluşturdukları inhibisyon etkisi

4.4. Laktobasil İzolatlarının İdentifikasyonu

Tüm Laktobasil izolatlarının gram boyama, mikroskopik özellikleri ve katalaz testi sonuçları incelendiğinde, 47 izolatın hepsinin gram (+), basil şeklinde ve katalaz (-) reaksiyon gösterdiği belirlenmiştir. Ön tanımlama işlemleri yapılan bu izolatların, patojen bakterilere karşı oluşturduğu genel inhibisyon zon çaplarına (çizelge 4.2) bakılarak, hemen hemen tüm patojenlere karşı etkili ve yüksek derecede zon oluşturan Laktobasil izolatlarından 23' ü seçilmiştir. Seçilen bu 23 Laktobasil izolatının tanımlanması API (API 50 CHL) kullanılarak yapılmıştır ve çalışmanın devamına tanımlanan bu izolatlarla devam edilmiştir. API ile tanımlanan 23 Laktobasil izolatının, 14' ü tür seviyesinde, 9' u ise cins seviyesinde belirlenmiştir. Bu izolatların, 10' u *L. acidophilus* (% 43,5), 2' si *L. salivarius* (% 8,7), 1' i *L. delbrueckii* ssp. *delbrueckii* (% 4,4), 1' i *L. fermentum* (% 4,4), 9' u ise *Lactobacillus* sp. (% 39,1) olarak tanımlanmıştır (Şekil 4.1, Çizelge 4.3).



Şekil 4.1. Laktobasil izolatlarının tür ve cins yüzdelere göre dağılımı

Çizelge 4.3. Laktobasil örneklerinin API (50 CHL) ile tanımlama sonuçları

Bakteri No	Tanımlanan Bakteri Adı	% Benzerlik
A1	<i>L. acidophilus</i>	% 98,6
A2	<i>L. acidophilus</i>	% 99,3
A3	<i>L. delbrueckii ssp. delbrueckii</i>	% 98,1
A4	<i>L. acidophilus</i>	% 99,3
A11	<i>L. acidophilus</i>	% 99,9
A13	<i>L. acidophilus</i>	% 99,6
A17	<i>L. acidophilus</i>	% 98,2
A19	<i>L. acidophilus</i>	% 99,8
A21	<i>L. acidophilus</i>	% 98,2
A29	<i>L. acidophilus</i>	% 93,1
F6	<i>L. fermentum</i>	% 99,8
F7	<i>L. salivarius</i>	% 99,9
F8	<i>L. salivarius</i>	% 99,9
F15	<i>L. acidophilus</i>	% 93,7
A30	<i>Lactobacillus sp.</i>	% 100,0
F2	<i>Lactobacillus sp.</i>	% 100,0
F3	<i>Lactobacillus sp.</i>	% 100,0
F4	<i>Lactobacillus sp.</i>	% 100,0
F12	<i>Lactobacillus sp.</i>	% 100,0
F13	<i>Lactobacillus sp.</i>	% 100,0
F14	<i>Lactobacillus sp.</i>	% 100,0
F16	<i>Lactobacillus sp.</i>	% 100,0
E5	<i>Lactobacillus sp.</i>	% 100,0



Resim 4.9. API 50 CHL ile tanımlanan Laktobasil' in inkübasyondan önceki görüntüsü



Resim 4.10. API 50 CHL ile tanımlanan Laktobasil' in inkübasyondan sonraki görüntüsü

4.5. API ile Tanımlanan Laktobasil İzolatlarının Bakteriyosin ve/veya Bakteriyosin Benzeri Madde Üretimlerinin Belirlenmesi

4.5.1. Asit üretimi nötralize edilen *Lactobacillus* izolatlarının antimikrobiyal aktivitesi

Tavuk bağırsağından izole edilen Laktobasil'lerden genel inhibisyon sonucunda test bakterilerine karşı yüksek inhibisyon zonu oluşturan 23 Laktobasil izolatı seçilerek API (50 CHL) ile tanımlanmıştır. Tanımlaması yapılan bu izolatların test bakterilerine karşı asitlik nötralize edildikten sonra tekrar inhibisyon etkisi araştırılmıştır.

Asitlik nötralize edildikten sonra tanımlaması yapılan 23 izolatın hiçbirinin *E. coli*'ye karşı inhibisyon etkisi göstermediği, *Shigella* sp.'ye ise sadece A30 (2 mm) ve F12 (3 mm) kodlu izolatların inhibisyon etkisi gösterdiği belirlenmiştir.

Denatürasyon işleminden sonra izolatların *Salmonella* türleri üzerine inhibisyon etkisi incelendiğinde ise en yüksek zon çapının *S. typhimurium*'a karşı olduğu belirlenmiştir. En yüksek zon çapı *S. typhimurium*'da 10 mm, *S. dublin*'de ve *S. enteritidis*'de 6mm olarak ölçülmüştür. Oluşan en küçük zon çapları ise *S. typhimurium* ve *S. dublin*'de 2 mm, *S. enteritidis*'de 4 mm olarak ölçülmüştür.

Laktobasil izolatlarının *C. jejuni* üzerine inhibisyon etkisi incelendiğinde ise *C. jejuni*'nin her iki izolatına (*C. jejuni* ve *C. jejuni* ATCC 33291) karşı oluşan en yüksek zon çapı 6 mm olarak ölçülürken, en küçük zon çapı *C. jejuni* ATCC 33291'e karşı 2mm, diğer *C. jejuni*'ye karşı ise 4 mm olarak ölçülmüştür.

Çalışmada kullanılan 23 izolatın asitliği denatüre edildikten sonra, 12' sinin *L. monosytogenes*'e karşı inhibisyon etkisi gösterdiği belirlenmiştir. *L. monocytogenes*'e karşı en yüksek zon oluşumu 6 mm, en küçük zon oluşumu ise 2 mm olarak belirlenmiştir.

Laktobasil izolatlarının inhibisyon etkisi göstermelerinde etkili olan asitlik elemine edildikten sonra tüm test bakterilerine karşı oluşan en yüksek zon çapını 10 mm ile *L. acidophilus* (A11)' un *S. typhimurium'* a karşı oluşturduğu belirlenmiştir. Asitlik denatüre edildikten sonra yapılan incelemeler sonucunda bazı Laktobasil izolatlarının, bazı test bakterileri üzerine inhibisyon etkisinin azaldığı, bazılarının ise inhibisyon etkisini tamamen kaybettiği belirlenmiştir (Çizelge 4.4).

4.5.2. Asitlik ve H₂O₂ üretimleri giderilmiş *Lactobacillus* izolatlarının antimikrobiyal aktivitesi

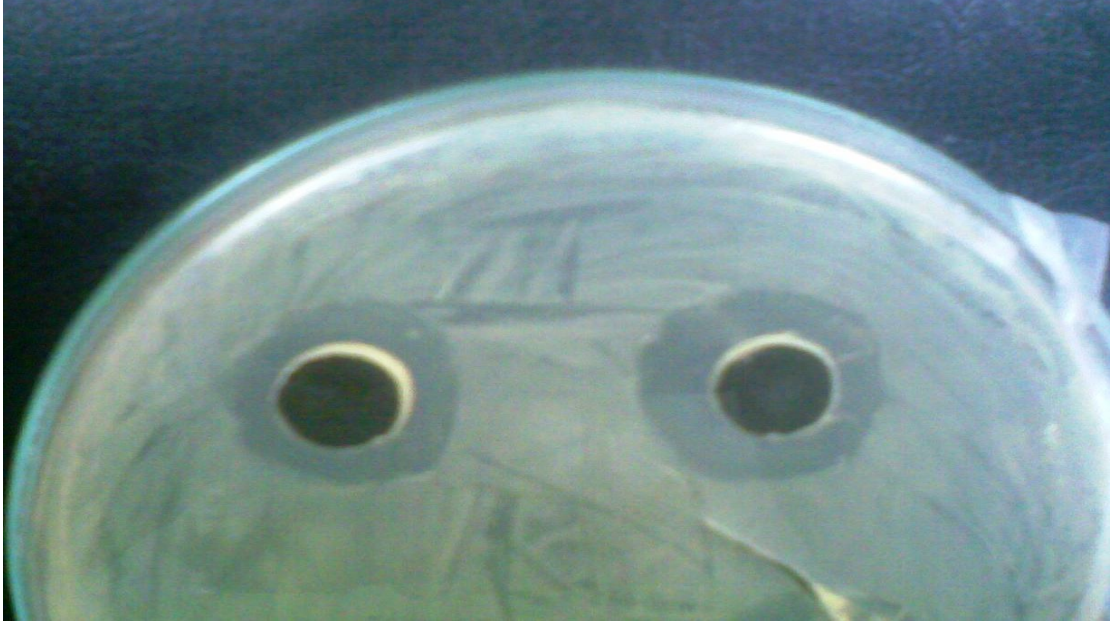
Asitlik nötralize edildikten sonra oluşan zon çaplarına bakılarak ≥ 5 mm zon oluşturan izolatlar seçilmiştir (Çizelge 4.4). Bu izolatların asit ve H₂O₂ üretimi denatüre edilerek Laktobasillerin bakteriyosin ve/veya bakteriyosin benzeri antimikrobiyal madde üretimleri araştırılmıştır.

Bunu belirlemek için çizelge 4.4' e göre seçilen *Lactobacillus* izolatlarının pH' sı 7' ye ayarlandıktan sonra 1mg/ml oranında katalaz enzimi ilave edilmiştir. İzolatların asit ve H₂O₂ üretimi giderildiğinde bakteriyosin ve/veya bakteriyosin benzeri madde üreten tek suş A11 kodlu *L. acidophilus* olmuştur ve bu suşun *S. typhimurium'* a karşı inhibisyon etkisi gösterdiği belirlenmiştir. Bu çalışma sonucunda A11 kodlu *L. acidophilus'* un *S. typhimurium'* a karşı oluşturduğu zon çapı 8 mm olarak ölçülmüştür.

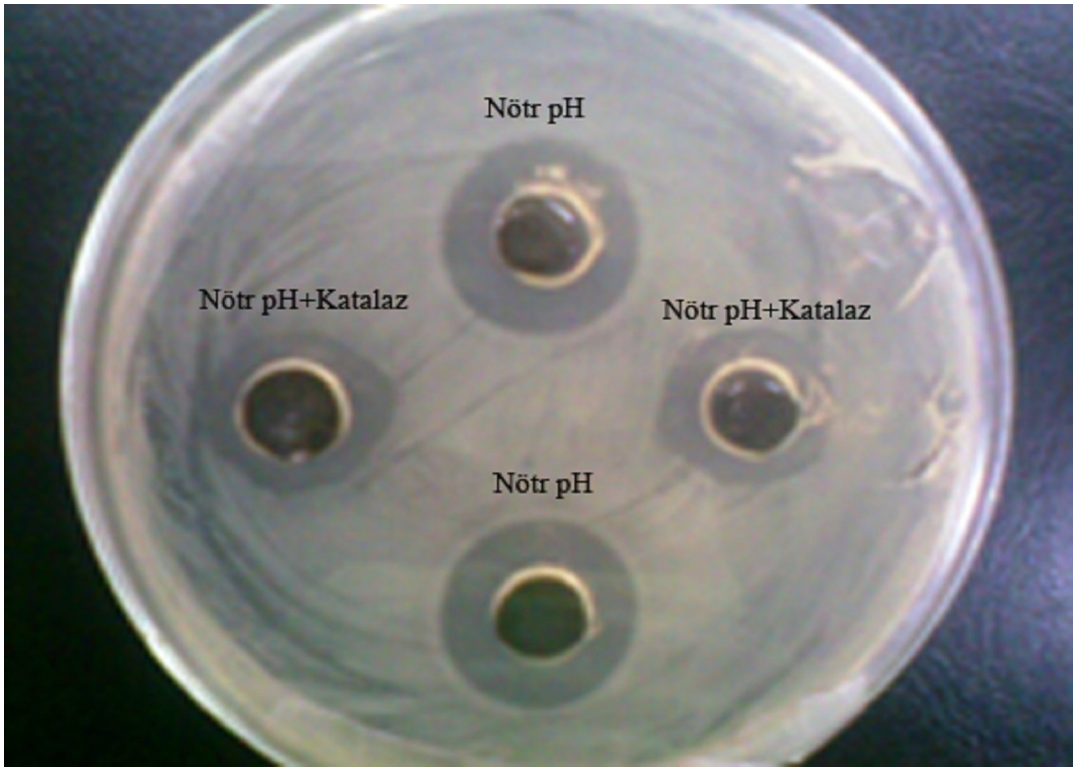
Çizelge 4.4. Laktobasil izolatlarının asitliği nötralize edildikten sonra, patojen bakterilere karşı oluşturdukları zon çapları (mm)

Suş Kodu	<i>E. coli</i>	<i>Shigella sp.</i>	<i>S. typhimurim</i>	<i>S. dublin</i>	<i>S. enteritidis</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>C. jejuni</i> *	<i>C. jejuni</i>
A1	-	-	-	-	4±1	-	6±1	-
A2	-	-	4±1	-	-	-	6±1	-
A3	-	-	4±1	4±0	-	-	4±0	-
A4	-	-	2±0	4±1	-	-	4±0	-
A11	-	-	10±1	-	4±0	2±0	2±0	-
A13	-	-	4±1	-	4±0	-	2±1	-
A17	-	-	4±0	-	6±1	6±1	-	-
A19	-	-	2±0	6±0	6±1	4±1	-	-
A21	-	-	-	4±1	-	6±0	2±0	-
A29	-	-	-	4±1	6±0	-	-	-
A30	-	2±1	2±0	-	-	2±0	-	-
F2	-	-	-	-	4±1	6±1	-	-
F3	-	-	6±0	2±0	-	6±0	-	4±1
F4	-	-	-	-	-	-	-	-
F6	-	-	6±1	3±1	-	4±1	-	6±0
F7	-	-	4±1	-	-	6±1	-	-
F8	-	-	-	-	-	4±0	-	6±0
F12	-	3±1	2±0	-	-	-	-	-
F13	-	-	2±0	-	6±1	2±0	-	-
F14	-	-	-	-	4±1	2±0	-	-
F15	-	-	-	-	-	-	-	6±1
F16	-	-	-	-	-	-	4±0	-
E5	-	-	-	--	-	-	-	6±1

(-) : İnhibisyon oluşmadı, (*) : *C. jejuni* ATCC-33291



Resim 4.11. Asitlik denatüre edildikten sonra *L. salivarius* (F7)' un *S. typhimurium* üzerine etkisi



Resim 4.12. Asitlik ve H_2O_2 üretimi denatüre edildikten sonra *L. acidophilus* (A11)' un *S. typhimurium*' a karşı oluşturduğu inhibisyon etkisi

4.6. *L. acidophilus*' un Ürettiği Bakteriyosin ve/veya Bakteriyosin Benzeri Maddenin Karakterizasyonu

A11 kodlu *L. acidophilus* (A11)' un ürettiği bakteriyosin ve/veya bakteriyosin benzeri maddenin yapısını belirleyebilmek amacıyla bu izolatın süpernatantına çeşitli enzimler, farklı sıcaklıklar ve farklı pH' lar uygulanarak incelenmiştir.

4.6.1. Enzim duyarlılığı

L. acidophilus (A11)' un ürettiği bakteriyosin ve/veya bakteriyosin benzeri antimikrobiyal maddenin yapısını belirlemek için süpernatanta tripsin ve proteinaz K enzimleri uygulanmıştır. Uygulama sonucunda *L. acidophilus* (A11)' un tripsin varlığında inhibisyon etkisi göstermeye devam ettiği, proteinaz K varlığında ise inhibisyon etkisinin kaybolduğu belirlenmiştir. *L. acidophilus* (A11)' un tripsin enzimi varlığında *S. typhimurium*' a karşı oluşturduğu inhibisyon zon çapı 6 mm olarak ölçülmüştür (Çizelge 4.5).

4.6.2. Farklı pH derecelerinin etkisi

Farklı pH' ların etkisini belirlemek için *L. acidophilus* (A11) kültür süpernatantının pH' sı 2, 4, 6, 7, 8, 10, 12 olmak üzere farklı pH' lara ayarlanarak çalışılmıştır. 24 saatlik inkübasyonun sonunda pH 2' de *L. acidophilus* (A11)' un *S. typhimurium*' a karşı oluşturduğu inhibisyon zon çapı 8 mm olarak ölçülürken, pH 4, 6 ve 7' de inhibisyon zon çapı 10 mm olarak ölçülmüştür. pH 8, 10 ve 12' de ise inhibisyon etkisi gözlenmemiştir (Çizelge 4.6).

4.6.3. Sıcaklığın etkisi

L. acidophilus (A11)' un ürettiği bakteriyosin ve/veya bakteriyosin benzeri antimikrobiyal maddenin sıcaklığa duyarlılığını belirleyebilmek için pH' sı nötralize edilen *L. acidophilus* (A11)' un süpernatant kısmı sırasıyla 40°C, 60°C, 80°C ve 100°C' de sıcak su banyosunda 10 dakika ve 30 dakika bekletildikten sonra

çalışılmıştır. Süpernatant 40°C ve 60°C’ de 10 dakika bekletildikten sonra *S. typhimurium*’ a karşı 6 mm çapında zon oluştururken, 40°C ve 60°C’ de 30 dakika bekletildiğinde 4 mm çapında zon oluşturmuştur. 80°C ve 100°C’ de 10 ve 30 dakika bekletildikten sonra ise *L. acidophilus* (A11)’ un *S. typhimurium*’ a karşı inhibisyon etkisinin kaybolduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.7).

Çizelge 4.5. Bakteriyosin ve bakteriyosin benzeri madde üreten *L. acidophilus* (A11)’ un farklı enzimler varlığında *S. typhimurium*’ a karşı oluşturduğu inhibisyon zon çapları (mm)

İndikatör Suş	Enzim Duyarlılığı	
	Proteinaz K	Tripsin
<i>L. acidophilus</i> A11	-	6±0

(-): İnhibisyon yok

Çizelge 4.6. Bakteriyosin ve bakteriyosin benzeri madde üreten *L. acidophilus*' un farklı pH derecelerinde *S. typhimurium*' a karşı oluşturduğu inhibisyon zon çapları (mm)

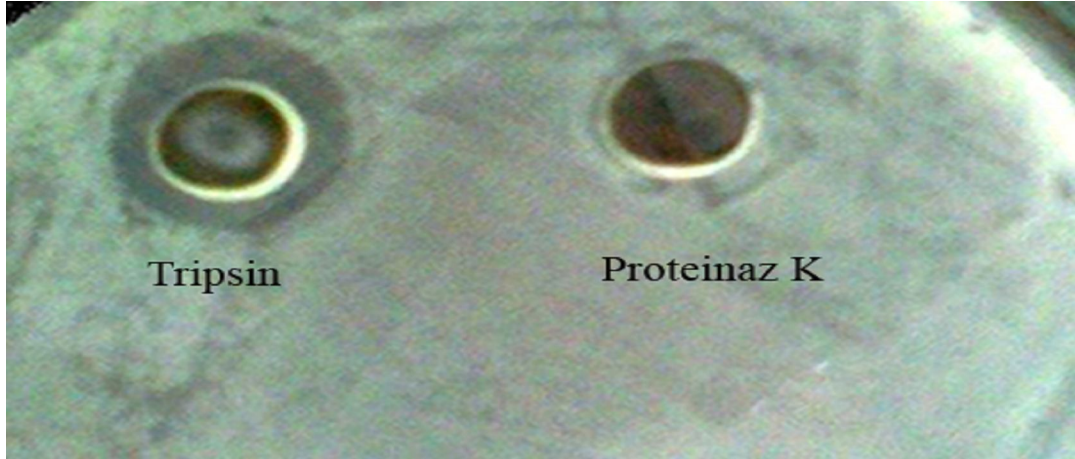
İndikatör Suş	Farklı pH Derecelerine Duyarlılık						
	pH 2	pH 4	pH 6	pH 7	pH 8	pH 10	pH 12
<i>L. acidophilus</i> A11	8±0	10±0	10±0	10±0	-	-	-

(-) : İnhibisyon oluşmadı

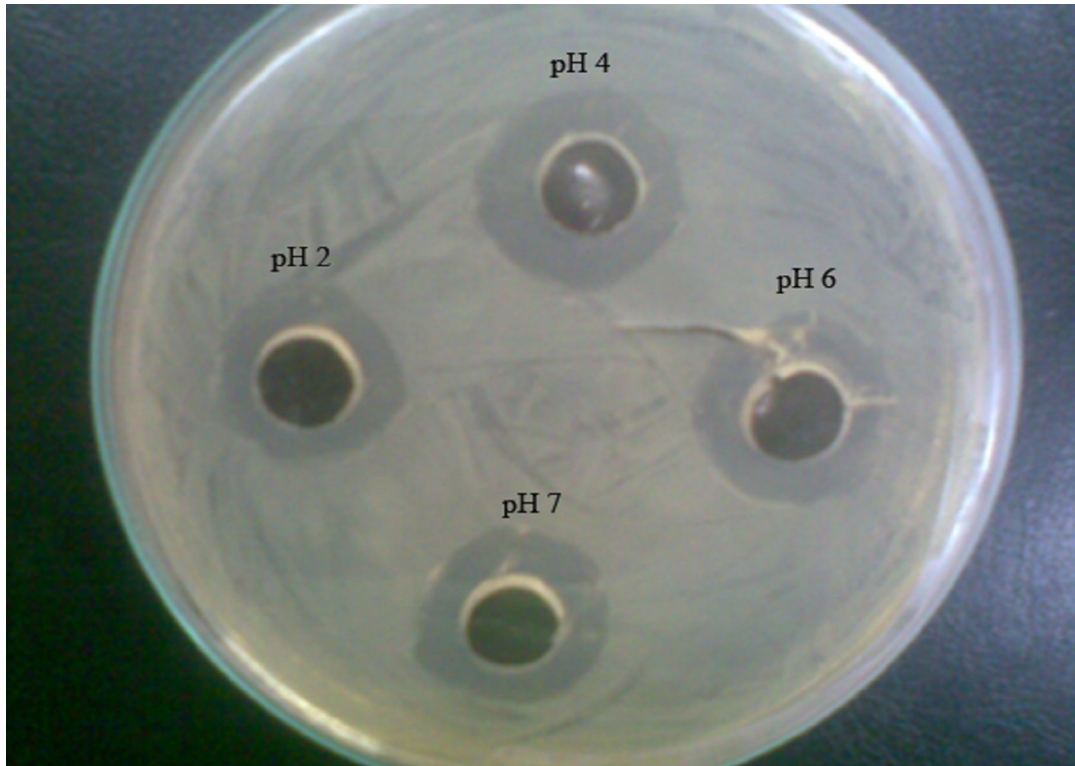
Çizelge 4.7. Bakteriyosin ve bakteriyosin benzeri madde üreten *L. acidophilus*' un farklı sıcaklık derecelerinde ve farklı sürelerde *S. typhimurium*' a karşı oluşturduğu inhibisyon zon çapları (mm)

İndikatör Suş	Farklı Sıcaklık Derecelerine Duyarlılık							
	40°C		60°C		80°C		100°C	
	10 dk	30 dk	10 dk	30 dk	10 dk	30 dk	10 dk	30 dk
<i>L. acidophilus</i> A11	6±0	4±1	6±1	4±1	-	-	-	-

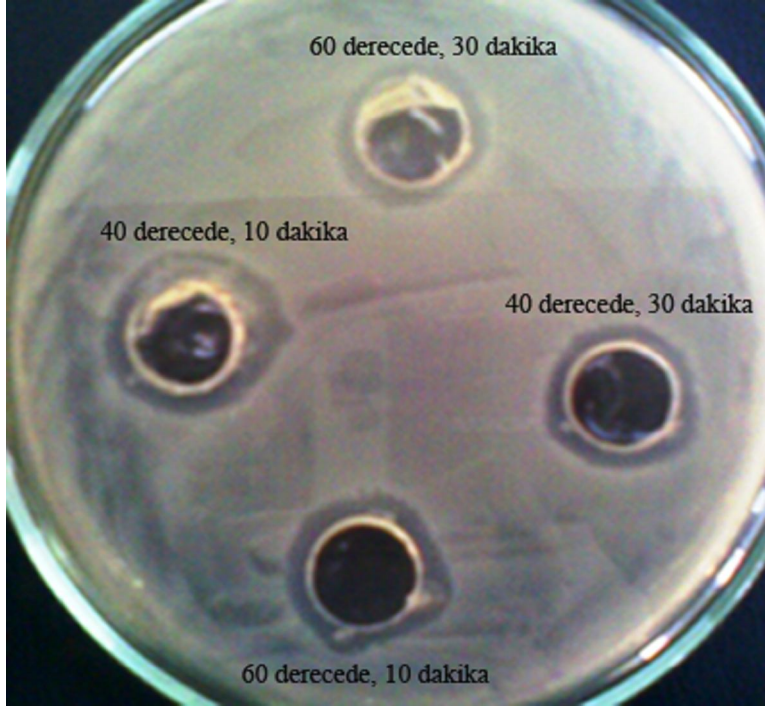
(-) : İnhibisyon oluşmadı, dk: dakika



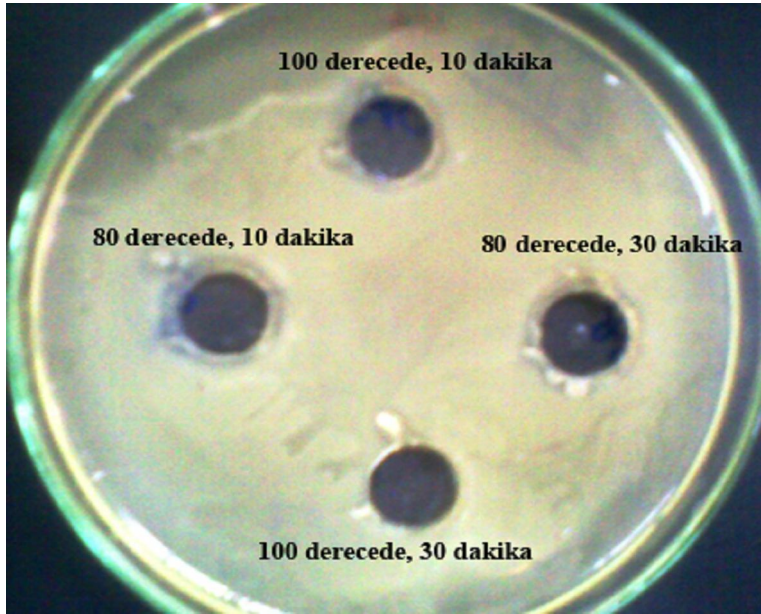
Resim 4.13. Bakteriyosin ve bakteriyosin benzeri maddenin *S. typhimurium*' a karşı tripsin varlığında dirençliliği, proteinaz K varlığında duyarlılığı



Resim 4.14. *L. acidophilus* (A11)' un ürettiği bakteriyosin ve bakteriyosin benzeri antimikrobiyal maddenin pH 2, 4, 6 ve 7' de *S. typhimurium*' a karşı oluşturduğu zon çapları



Resim 4.15. *L. acidophilus* (A11)' un ürettiği bakteriyosin ve bakteriyosin benzeri antimikrobiyal maddenin farklı sıcaklıklarda *S. typhimurium*' a karşı gösterdiği inhibisyon etkisi



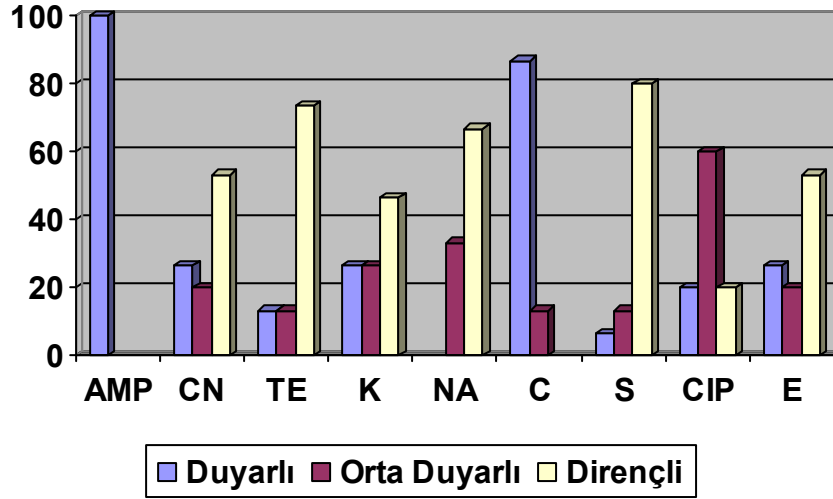
Resim 4.16. *L. acidophilus* (A11)' un ürettiği bakteriyosin ve bakteriyosin benzeri antimikrobiyal maddenin farklı sıcaklıklarda *S. typhimurium*' a karşı gösterdiği inhibisyon etkisi

4.7. Termofilik *Campylobacter* Türlerinin Antibiyotik Duyarlılıkları

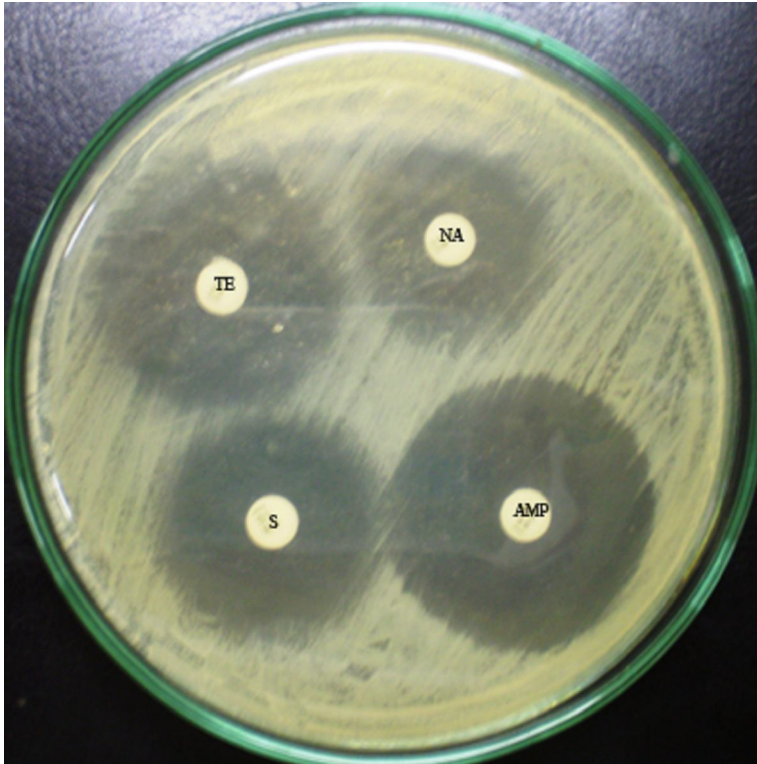
Çizelge 4.8. *C. jejuni* izolatlarının antibiyotik duyarlılık testi bulguları

Antibiyotikler	Duyarlı (S)		Orta duyarlı (I)		Dirençli (R)	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
Ampisilin (AMP)	15	100,0	-	-	-	-
Gentamisin (CN)	4	26,7	3	20,0	8	53,3
Tetrasiklin (TE)	2	13,3	2	13,3	11	73,4
Kanamisin (K)	4	26,7	4	26,7	7	46,6
Nalidiksik asit (NA)	-	-	5	33,3	10	66,7
Kloramfenikol (C)	13	86,7	2	13,3	-	-
Streptomisin (S)	1	6,7	2	13,3	12	80,0
Siprofloksasin (CIP)	3	20,0	9	60,0	3	20,0
Eritromisin (E)	4	26,7	3	20,0	8	53,3

Çizelge 4.8.' e göre *C. jejuni* izolatlarının, % 53,3 oranında gentamisin, % 73,4 oranında tetrasiklin, % 46,6 oranında kanamisin, % 66,7 oranında nalidiksik asit, % 80,0 oranında streptomisin, % 20,0 oranında siprofloksasin, % 53,3 oranında eritromisin antibiyotiklerine dirençli oldukları, % 20,0 oranında gentamisin, % 13,3 oranında tetrasiklin, % 26,7 oranında kanamisin, % 33,3 oranında nalidiksik asit, % 13,3 oranında kloramfenikol, % 13,3 oranında streptomisin, % 60,0 oranında siprofloksasin, % 20,0 oranında eritromisin' e orta duyarlı, bunun yanı sıra % 100,0 oranında ampisilin, % 26,7 gentamisin, % 13,3 tetrasiklin, % 26,7 kanamisin, % 86,7 kloramfenikol, % 6,7 streptomisin, % 20,0 siprofloksasin, % 26,7 oranında eritromisin' e duyarlı oldukları tespit edilmiştir.



Şekil 4.2. *C. jejuni* izolatlarının antibiyotik duyarlılık yüzde dağılımı

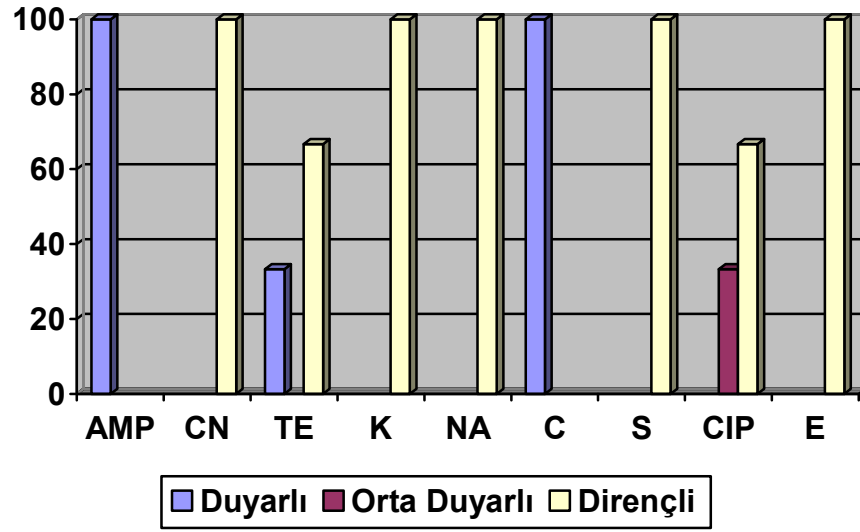


Resim 4.17. *C. jejuni* izolatının antibiyotiklere duyarlılıkları

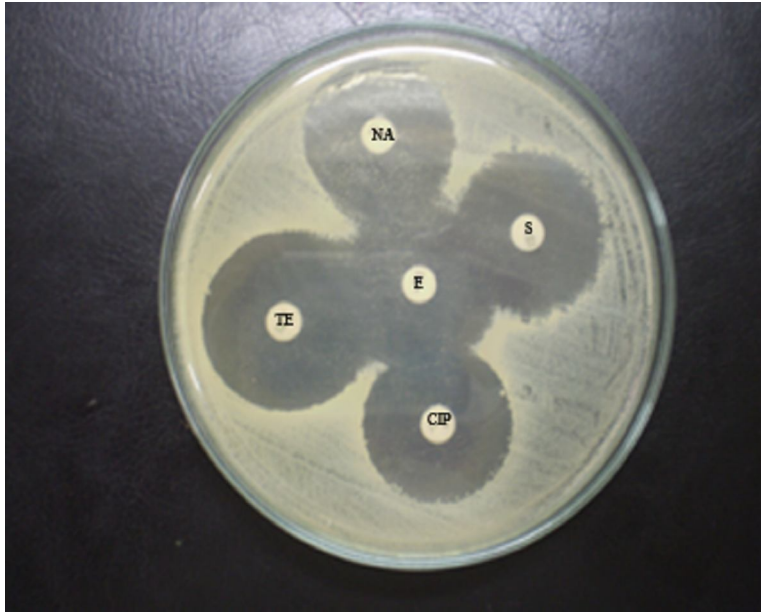
Çizelge 4.9. *C. coli* izolatlarının antibiyotik duyarlılık testi bulguları

Antibiyotikler	Duyarlı (S)		Orta duyarlı (I)		Dirençli (R)	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
Ampisilin(AMP)	3	100,0	-	-	-	-
Gentamisin (CN)	-	-	-	-	3	100,0
Tetrasiklin (TE)	1	33,3	-	-	2	66,7
Kanamisin (K)	-	-	-	-	3	100,0
Nalidiksik asit (NA)	-	-	-	-	3	100,0
Kloramfenikol (C)	3	100,0	-	-	-	-
Streptomisin (S)	-	-	-	-	3	100,0
Siprofloksasin (CIP)	-	-	1	33,3	2	66,7
Eritromisin (E)	-	-	-	-	3	100,0

Çizelge 4.9.' a göre *C. coli* izolatlarının, % 100,0 oranında gentamisin, % 66,7 oranında tetrasiklin, % 100,0 oranında kanamisin, % 100,0 oranında nalidiksik asit, % 100,0 oranında streptomisin, % 66,7 oranında siprofloksasin, % 100,0 oranında eritromisin antibiyotiklerine dirençli oldukları, % 33,3 oranında siprofloksasin' e orta duyarlı, bunun yanı sıra % 100,0 oranında ampisilin, % 33,3 oranında tetrasiklin, % 100,0 oranında kloramfenikol' e duyarlı oldukları tespit edilmiştir.



Şekil 4.3. *C. coli* izolatlarının antibiyotik duyarlılık yüzde dağılım grafiği

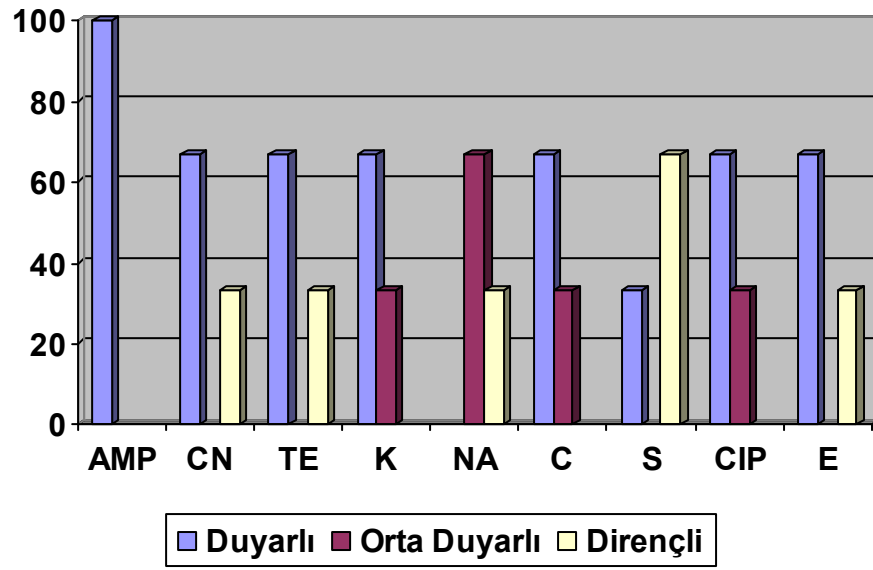


Resim 4.18. *C. coli* izolatının antibiyotiklere duyarlılıkları

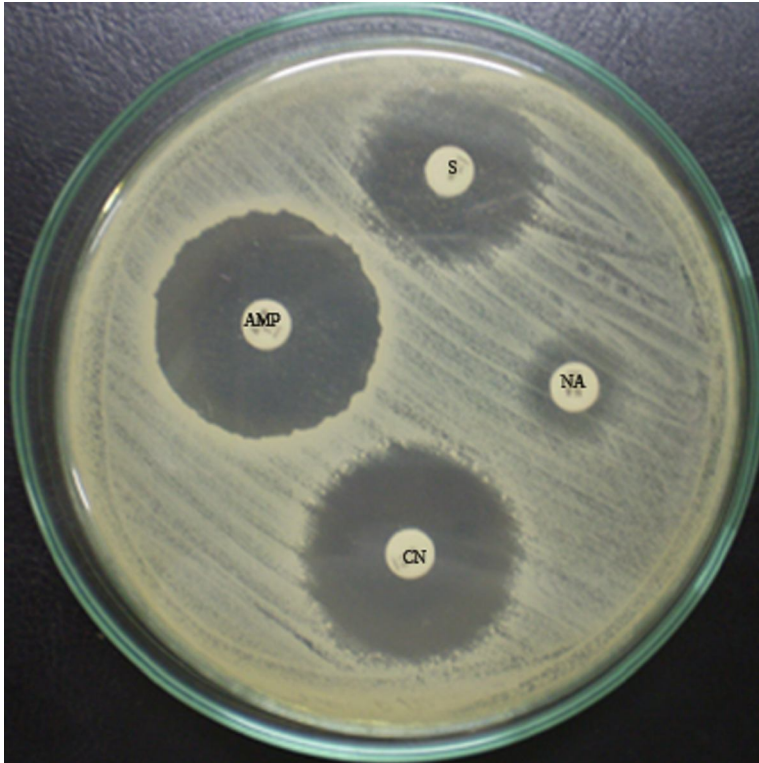
Çizelge 4.10. *C. lari* izolatlarının antibiyotik duyarlılık testi bulguları

Antibiyotikler	Duyarlı (S)		Orta duyarlı (I)		Dirençli (R)	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
Ampisilin (AMP)	3	100,0	-	-	-	-
Gentamisin (CN)	2	66,7	-	-	1	33,3
Tetrasiklin (TE)	2	66,7	-	-	1	33,3
Kanamisin (K)	2	66,7	1	33,3	-	-
Nalidiksik asit (NA)	-	-			3	100,0
Kloramfenikol (C)	2	66,7	1	33,3	-	-
Streptomisin (S)	1	33,3	-	-	2	66,7
Siprofloksasin (CIP)	2	66,7	1	33,3	-	-
Eritromisin (E)	2	66,7	-	-	1	33,3

Çizelge 4.10.' a göre *C. lari* izolatlarının, % 33,3 oranında gentamisin, % 33,3 oranında tetrasiklin, % 100,0 oranında nalidiksik asit, % 66,7 oranında streptomisin, % 33,3 oranında eritromisin antibiyotiklerine dirençli oldukları, % 33,3 oranında kanamisin, % 33,3 oranında kloramfenikol, % 33,3 oranında siprofloksasin' e orta duyarlı, % 100,0 oranında ampisilin, % 66,7 oranında gentamisin, % 66,7 oranında tetrasiklin, % 66,7 oranında kanamisin, % 66,7 oranında kloramfenikol, % 33,3 oranında streptomisin, % 66,7 oranında siprofloksasin, % 66,7 oranında eritromisin' e duyarlı oldukları tespit edilmiştir.



Şekil 4.4. *C. lari* izolatlarının antibiyotik duyarlılık yüzde dağılım grafiği



Resim 4.19. *C. lari* izolatının antibiyotiklere duyarlılıkları

Çizelge 4.11. Tavuk örneklerinden izole edilen termofilik *Campylobacter*' ler in bazı antibiyotiklere dirençlilikleri

Antibiyotikler	<i>C. jejuni</i>		<i>C. coli</i>		<i>C. lari</i>	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
Ampisilin	-	-	-	-	-	-
Gentamisin	8	53,3	3	100,0	1	33,3
Tetrasiklin	11	73,4	2	66,7	1	33,3
Kanamisin	7	46,6	3	100,0	-	-
Nalidiksik asit	10	66,7	3	100,0	3	100,0
Kloramfenikol	-	-	-	-	-	-
Streptomisin	12	80,0	3	100,0	2	66,7
Siprofloksasin	3	20,0	2	66,7	-	-
Eritromisin	8	53,3	3	100,0	1	33,3

Antibiyoqram sonucunda *Campylobacter* izolatlarının (15'i *C. jejuni*, 3' ü *C. coli*, ve 3'ü *C. lari*) en fazla streptomisin, nalidiksik asit ve tetrasiklin antibiyotiklerine dirençli oldukları belirlenirken, tüm izolatların ampisilin ve kloramfenikole duyarlı oldukları belirlenmiştir. Türle göre antibiyotik dirençlilikleri incelendiğinde en yüksek direnç *C. coli*' de gözlenmiştir. Çalışmada *C. coli*' nin gentamisin, kanamisin, nalidiksik asit, streptomisin ve eritromisine % 100,0 oranında dirençli olduğu bulunmuştur. *C. jejuni*' nin ise çoğu antibiyotiğe *C. lari*' ye göre daha dirençli olduğu belirlenmiştir. *C. jejuni* streptomisine % 80,0 , tetrasikline % 73,4 , nalidiksik asite % 66,7 oranında dirençli bulunurken, *C. lari* streptomisine % 66,7 , tetrasikline % 33,3 , nalidiksik asite ise % 100,0 oranında dirençli bulunmuştur *C. jejuni*' nin ise çoğu antibiyotiğe *C. lari*' ye göre daha dirençli olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.11).

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Tavuk bağırsağından izole edilen *Lactobacillus*' ların, agar difüzyon yöntemi kullanılarak *L. monocytogenes*, *E. coli*, *S. dublin*, *S. enteritidis*, *S. typhimurium*, *C. jejuni* ATCC 33291 ve *C. jejuni* üzerine genel inhibisyon etkisi incelenmiştir. Toplam 47 Laktobasil izolatının, 17' sinin *E. coli*, 44' ünün *Shigella* sp., 24' ünün *S. typhimurium*, 29' unun *S. dublin*, 18' inin *S. enteritidis*, 33' ünün *L. monocytogenes*, 45' inin *C. jejuni* ATCC 33291 ve 43' ünün *C. jejuni*' ye karşı genel inhibisyon etkisi gösterdiği belirlenmiştir. Araştırma sonucunda izolatların, gram (+) bir bakteri olan *L. monocytogenes*' e, gram (-) bakterilerden *E. coli*, *Shigella* sp., *S. dublin*, *S. typhimurium*, *S. enteritidis*, *C. jejuni* ve *C. jejuni* ATCC 33291' e göre daha yüksek zon oluşturdukları belirlenmiştir. Oluşan en yüksek zon çapını, 34 mm ile *L. salivarius* (F7)' un *L. monocytogenes*' e karşı oluşturduğu belirlenmiştir. Laktobasil izolatlarının *C. jejuni* ATCC 33291' e karşı oluşturdukları en yüksek zon çapı 26 mm olarak ölçülürken, *C. jejuni*' de 24 mm, *Shigella* sp.' de 22 mm, *E. coli*' de 14 mm, *S. typhimurium*' da 16 mm, *S. dublin*' de 14 mm, *S. enteritidis*' de ise 14 mm olarak ölçülmüştür. Buna karşılık en küçük zon çapını 4 mm ile *Lactobacillus* sp. (F1)' nin *E. coli*' ye karşı oluşturduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.2).

2007 yılında yapılan bir çalışmada araştırmacılar, ev yapımı yoğurttan 63 adet Laktobasil izole ettikten sonra, agar difüzyon yöntemini kullanarak bu izolatların antagonistik aktivitelerini belirlemişlerdir. Bu izolatlardan sadece 4' ünün, gram (+) ve gram (-) bakterilerin her ikisine birden antagonistik aktivite gösterdiğini tespit etmişler ve bu 4 izolatı *L. plantarum* olarak tanımlamışlardır. Araştırmacılar tanımladıkları bu izolatlardan *L. plantarum* AA135' in, gram (+) ve gram (-) bakterilere karşı daha fazla inhibisyon etkisi gösterdiğini bulmuşlardır [Amer, 2007].

2006 yılında yapılan bir çalışmada araştırmacılar, bitkilerden izole ettikleri laktik asit bakterilerinin *E. coli*, *S. aureus* ve *B. cereus* üzerine antimikrobiyal etkisini araştırmışlardır. *Lactobacillus* cinsinde yer alan 10 izolattan en fazla CA44 izolatının antimikrobiyal aktivite gösterdiğini belirlemişlerdir. Ayrıca CA44 izolatının, test

bakterilerinden en fazla *E. coli*' ye karşı inhibisyon etkisi gösterdiğini belirlemişlerdir [Joshi ve ark., 2006].

Jin ve ark. yaptıkları çalışmada tavuk bağırsağından izole ettikleri 12 Laktobasil izolatının, *E. coli* serotipleri ve farklı *Salmonella* türlerine karşı inhibisyon etkisi gösterdiğini belirlemişlerdir [Jin ve ark., 1996].

Bu çalışmada izole edilen Laktobasillerin, indikatör patojenlere karşı oluşturdukları genel inhibisyon zon çaplarına bakılarak, hemen hemen her patojende etkili olan ve yüksek zon oluşturan 23 izolat, API (50 CHL) ile tanımlanmak üzere seçilmiştir. Bu Laktobasil izolatlarının 10' u *L. acidophilus* (% 43,5), 2' si *L. salivarius* (% 8,7), 1' i *L. delbrueckii ssp. delbrueckii* (% 4,4), 1' i *L. fermentum* (% 4,4), 9' u ise *Lactobacillus* sp. (% 39,1) olarak tanımlanmıştır (Çizelge 4.3).

Çalışmada kullanılan *Lactobacillus* izolatlarının, patojen bakterilere karşı oluşturdukları inhibisyonda, asitliğin etkisini belirlemek amacıyla, bu izolatların asitliği denatüre edilmiştir. Asitlik denatüre edildikten sonra Laktobasillerin bazı patojenlere karşı hiç zon oluşturmadıkları, bazılarının ise zon çaplarının küçüldüğü belirlenmiştir. F7 kodlu *L. salivarius*, asitliği denatüre edilmeden önce *C. jejuni* (ATCC 33291)' ye karşı 14 mm çapında bir zon oluştururken, *L. salivarius*' un asitliği denatüre edildikten sonra zon oluşturmadığı belirlenmiştir. Bu durum da, bu izolatın *C. jejuni* ATCC 33291' e karşı oluşturduğu inhibisyonun tamamının asitlikten kaynaklandığını göstermektedir. A11 kodlu *L. acidophilus* asitlik denatüre edilmeden önce *S. typhimurium*' a karşı 16 mm çapında bir zon oluştururken, asitlik denatüre edildikten sonra bu zon çapının 10 mm' ye düştüğü belirlenmiştir. Bu durum da, bu izolatın patojene karşı antimikrobiyal etkisine asitliğin yanında başka antimikrobiyal maddelerinde etkili olabileceğini göstermektedir. Ayrıca API (50 CHL) ile tanımlaması yapılan 23 Laktobasil izolatının hiçbirinin, asitlik denatüre edildikten sonra *E. coli*' ye karşı zon oluşturmadığı belirlenmiştir. Bu Laktobasil izolatlarının asitliği denatüre edildikten sonra, *Shigella* sp.' de 2 izolatın, *S. dublin*' de 7, *S. typhimurium*' da 13, *S. enteritidis*' de 9, *L. monocytogenes*' de 12, *C. jejuni*

ATCC 33291' de 8, *C. jejuni*' de ise 5 izolatın inhibisyon etkisi göstermeye devam ettiği belirlenmiştir (Çizelge 4.4).

API ile tanımlaması yapılan *Lactobacillus* izolatlarının asitliği denatüre edildikten sonra, *E. coli* üzerine inhibisyon etkisinin tamamı kaybolurken, *Shigella* sp.' de % 91,2' sinin, *S. typhimurium*' da % 43,7' sinin, *S. dublin*' de % 69,7' sinin, *S. enteritidis*' de % 60,9' unun, *L. monocytogenes*' de % 47,8' inin, *C. jejuni* ATCC 33291' de % 65,2' sinin, *C. jejuni*' de ise % 78,3' ünün inhibisyon etkisinin kaybolduğu belirlenmiştir. Test bakterilerine karşı inhibisyon zon çapı belirlenen değerlerde ise genel inhibisyon zon çaplarına göre küçülme olduğu belirlenmiştir.

Ammor ve ark., laktik asit bakterilerinin antibakteriyal aktiviteleri ile ilgili yaptıkları çalışmada, izolatların asitliğini nötralize ettikten sonra inhibisyon zon çaplarında küçülmenin olduğunu belirlemişlerdir [Ammor ve ark., 2006]. Asitlik denatüre edildikten sonra zon çapının küçülmesi bu çalışma ile paralellik göstermektedir.

Bu çalışmada, asitlik denatüre edildikten sonra patojenlere karşı ≥ 5 mm zon çapı gösteren *Lactobacillus* izolatları seçilmiş ve bunların inhibisyon oluşturma yeteneklerine, H_2O_2 ' in etkisi araştırılmıştır. Bu amaçla Laktobasil kültür süpernatantları nötralize edildikten sonra katalaz enzimi kullanılarak H_2O_2 denatüre edilmiştir ve denatürasyon sonucunda sadece A11 kodlu *L. acidophilus*' un *S. typhimurium*' a karşı inhibisyon etkisi gösterdiği belirlenmiştir. Genel inhibisyon sonucunda *L. acidophilus*' un *S. typhimurium*' a karşı oluşturduğu inhibisyon zon çapı 16 mm iken, asitlik denatüre edildikten sonra 10 mm' ye, nötralize edilen süpernatanta katalaz enzimi ilave edildikten sonra ise zon çapının 8 mm' ye düştüğü belirlenmiştir (Çizelge 4.5).

Coconnier yaptığı çalışmada, *L. acidophilus* LB izolatının insan bağırsağında bulunan hücre içi *S. typhimurium*' u etkisiz hale getirdiğini ve antibakteriyal özelliği nedeniyle maymuna uygulandığında bakteri kolonizasyonunu azalttığını göstermiştir [Coconnier, 1997].

Garriga ve ark. yaptıkları çalışmada, tavuk bağırsağından izole ettikleri 296 adet laktik asit bakterisinin inhibitör aktivitesini incelemişlerdir. Bu izolatlardan 77' sinin *S. enteritidis* ve *E. coli*' ye karşı inhibisyon etkisi gösterdiğini belirlemişlerdir. Araştırmacılar, inhibisyon etkisi belirlenen izolatlardan indikatör organizmalara karşı güçlü inhibisyon etkisi gösteren, antibiyotik dirençliliği olan 8 izolat seçmişlerdir. Araştırma sonucunda, *L. salivarius* olarak tanımlanan bu 8 izolatın süpernatantına katalaz enzimi uyguladıktan sonra inhibisyon etkisinin devam ettiğini bildirmişlerdir [Garriga ve ark., 1998].

1989 yılında Almanya' da yapılan bir çalışmada araştırmacılar et ve et ürünlerinden *L. plantarum*, *L. curvatus* ve *L. sake* türlerini içeren toplam 221 Laktobasil izole etmişler ve bu izolatların organik asit ve H₂O₂ üretimini elemine ederek antagonistik aktivitesini çalışmışlardır. Çalışmada 19 *L. sake*' nin 6' sının inhibitör aktivite gösterdiğini belirlemişler ve bakteriyosin ürettiği düşünülen bu 6 izolattan *L. sake* (Lb 706) izolatını, *L. monocytogenes*' e, *S. aureus*' a, *S. typhimurium*' a ve diğer laktik asit bakterilerine karşı denemişlerdir. *L. sake* (Lb 706)' nin, *L. monocytogenes* ve diğer laktik asit bakterilerine karşı inhibisyon etkisi gösterirken, *S. aureus* ve *S. typhimurium*' a karşı inhibisyon etkisi göstermediğini belirlemişlerdir [Schillinger ve Lücke, 1989]. Bu çalışmada ise *Lactobacillus* sp. izolatlarının, *L. monocytogenes* ve *S. typhimurium*' a karşı genel inhibisyon etkisi gösterdiği, ayrıca asit ve H₂O₂ üretimini denatüre edildikten sonra ise *L. acidophilus* (A11) izolatının sadece *S. typhimurium*' a karşı inhibisyon etkisi gösterdiği bulunmuştur.

Bu çalışmada *L. acidophilus* (A11)' un salgıladığı bakteriyosin ve bakteriyosin benzeri antimikrobiyal maddenin yapısını belirlemek için izolatın çeşitli enzimlere, farklı pH' lara ve farklı sıcaklık derecelerine duyarlılıkları incelenmiştir. Bu amaçla *L. acidophilus* (A11) kültür süpernatantına katalaz, proteinaz K ve tripsin enzimleri uygulanmıştır. *L. acidophilus* (A11)' un ürettiği bakteriyosin ve bakteriyosin benzeri antimikrobiyal maddenin proteinaz K enzimi varlığında duyarlılık gösterirken, katalaz ve tripsin enzimi varlığında dirençlilik gösterdiği belirlenmiştir. Katalaz enzimi varlığında *S. typhimurium*' a karşı oluşan inhibisyon zon çapı 8 mm iken, tripsin varlığında ise 6 mm olarak ölçülmüştür (Çizelge 4.5).

Brezilya’ da yapılan bir çalışmada araştırmacılar, et ve et ürünlerinden izole ettikleri laktik asit bakterilerinin patojenlere karşı etkisini araştırmışlardır. Çalışmada laktik asit bakterileri (LAB)’ nin *S. aureus* ve *L. innucua*’ yı inhibe ettiğini bulmuşlardır. Ayrıca LAB tarafından üretilen inhibitör bileşiklerin, α -kimotripsin, pronoz E ve fisin enzimlerine duyarlıyken, tripsine dirençlilik gösterdiğini bulmuşlardır. Bu çalışma sonunda araştırmacılar izole ettikleri laktik asit bakterilerinin ürettiği bakteriyosinlerin gıda kökenli patojenler ve bozulma etmeni olan bakterilerin gelişimini inhibe etmede koruyucu olarak kullanılabileceği bildirmişlerdir [Bromberg ve ark., 2004].

2003 yılında ülkemizde yapılan bir çalışmada vajen kökenli 100 izolatın, 6’ sının bakteriyosin ürettiğini belirleyen araştırmacılar, bu çalışmada 6 izolatın çeşitli proteolitik enzimlere duyarlılığını araştırmışlardır. Araştırma sonucunda 6 izolattan proteinaz K’ ya 2’ sinin duyarlı, 4’ ünün orta duyarlı olduğunu, tripsine 5’ inin duyarlı, 1’ inin orta duyarlı olduğunu, katalaza ise 6 izolatın hepsinin dirençli olduğunu bulmuşlardır [Karaoğlu A. ve ark., 2003].

1999’ da Pakistan’ da yapılan bir çalışmada araştırmacılar, klinik bir örnekten izole ettikleri *Lactobacillus* spp.’ nin ürettiği bakteriyosine (Lactocin LC-09) çeşitli enzimler uygulamışlardır. Sonuçta bakteriyosinin tripsin, subtilisin ve pronoz E’ ye duyarlı olduğunu, katalaza ise dirençli olduğunu bulmuşlardır [Khalid ve ark., 1999]. Bu araştırma sonucunda ise *L. acidophilus* (A11)’ un ürettiği bakteriyosin ve bakteriyosin benzeri antimikrobiyal madde katalaz ve tripsine dirençli iken, proteinaz K’ ya duyarlı bulunmuştur.

Bu çalışmada bakteriyosin ve bakteriyosin benzeri madde üreten izolatın kültür süpernatantı 2, 4, 6, 7, 8, 10, 12 gibi farklı pH derecelerinde çalışılmıştır. *L. acidophilus* (A11)’ un, pH 2, 4, 6, 7’ de *S. typhimurium*’ a karşı inhibisyon etkisi gösterirken, pH 8, 10, 12’ de inhibisyon etkisinin kaybolduğu belirlenmiştir. Bakteriyosin ve bakteriyosin benzeri antimikrobiyal madde üreten *L. acidophilus* (A11)’ un asidik pH’ larda duyarlılık gösterirken, bazik pH derecelerinde dirençlilik gösterdiği belirlenmiştir (Çizelge 4.6).

Chaveerach ve ark., yaptıkları çalışmada, tavuk bağırsağından izole edilen *Lactobacillus* (P93)' un, *Campylobacter* gelişimini inhibe ederken, *E. coli* ve *Enterococcus*' un *Campylobacter* gelişimini inhibe etmediğini belirlemişlerdir. Bu inhibitör etki gösteren *Lactobacillus* izolatını *L. fermentum* olarak tanımlamışlar ve bu izolatın ürettiği antimikrobiyal maddenin yapısını belirlemek için süpernatantı farklı pH' larda incelemişlerdir. pH 4,5 ve 6' da inhibisyon etkisinin devam ettiğini, pH 7' den itibaren inhibisyon etkisinin kaybolduğunu belirlemişlerdir. Ayrıca süpernatanta katalaz enzimi uygulandıktan sonra inhibisyon zon büyüklüğünün de azaldığını belirlemişlerdir [Chaveerach ve ark., 2004]. Bu çalışmada da inhibisyon etkisi belirlenen *Lactobacillus* izolatlarına katalaz enzimi uygulandıktan sonra inhibisyon zon çapında küçülme olduğu, ayrıca pH 8' den itibaren inhibisyonun kaybolduğu bulunmuştur.

2003 yılında ülkemizde yapılan bir çalışmada araştırmacılar, bakteriyosin üreten 6 izolatın farklı pH derecelerine duyarlılıklarını araştırmışlardır. Araştırma sonucunda pH 3' de 2' sini dirençli, 4' ünü duyarlı; pH 4,5' da 6' sını dirençli; pH 7' de 5' ini dirençli, 1' ini duyarlı; pH 9' da ise 5' ini duyarlı olarak bulmuşlardır [Karaoğlu A. ve ark.,2003].

Yine ülkemizde yapılan başka bir çalışmada araştırmacılar, *L. salivarius* M7 tarafından üretilen Salivarisin B proteininin yapısını araştırmışlardır. Çalışmada bu proteinin pepsin, tripsin, kimotripsinin gibi protein parçalayan enzimlerden etkilenmediğini, proteinaz K' ya karşı ise kısmen duyarlı olduğunu ve pH 3-9 aralığında aktif olduğunu belirlemişlerdir [Çataloluk ve Gürakan, 2003]. Bu çalışmada da bakteriyosin ve bakteriyosin benzeri antimikrobiyal madde üreten *L. acidophilus* (A11)' un katalaz ve tripsine dirençli iken, proteinaz K' ya duyarlı olduğu, ayrıca pH 8' e kadar dirençliliğini koruduğu tespit edilmiştir.

1999' da Pakistan' da yapılan bir çalışmada araştırmacılar, inceledikleri Laktobasilin ürettiği bir bakteriyosinin, farklı pH derecelerine dirençliliklerini araştırmışlardır. pH 3-7 aralığında dirençlilik gösterdiği ve bu dirençliliğin pH 4 ve 5' de maksimum seviyede olduğunu belirlemişlerdir [Khalid ve ark., 1999]. Bu araştırmada da

L. acidophilus (A11)' un ürettiği bakteriyosin ve bakteriyosin benzeri antimikrobiyal maddenin asit pH' larda dirençlilik gösterirken, bazik pH' larda duyarlılık gösterdiği belirlenmiştir.

Bu araştırmada *L. acidophilus* (A11)' un ürettiği bakteriyosin ve bakteriyosin benzeri antimikrobiyal maddenin sıcaklığa karşı duyarlılığını belirlemek amacıyla yapılan çalışma sonucunda 40°C ve 60°C' de 10 ve 30 dakika bekletildiğinde *S. typhimurium*' a karşı dirençlilik gösterirken, 80°C ve 100°C' de 10 ve 30 dakika sonunda *S. typhimurium*' a karşı duyarlılık gösterdiği belirlenmiştir. 40°C ve 60°C' de 10 dakika bekletildikten sonra zon çapı 6 mm olarak ölçülürken, 40°C ve 60°C' de 30 dakika bekletildikten sonra zon çapı 4 mm olarak ölçülmüştür (Çizelge 4.7).

2003 yılında Nijerya' da yapılan bir çalışmada araştırmacılar, fermente gıda ürünlerinden izole ettikleri *L. plantarum* ve *L. brevis*' in, patojen ve bozulma etmeni olan mikroorganizmalara karşı inhibitör etki gösterdiklerini belirlemişlerdir. *L. brevis*' in ürettiği bakteriyosinin 121°C' de 60 dakika, *L. plantarum*' un ürettiği bakteriyosinin ise 121°C' de 10 dakika dayanıklı olduğunu bulmuşlardır [Ogunbanwo ve ark., 2003].

Bu konu ile ilgili ülkemizde yapılan bir çalışmada ise araştırmacılar, vajen kökenli 100 izolatın, 6' sının bakteriyosin ürettiğini belirlemişler ve bu 6 izolatın ürettiği bakteriyosinin sıcaklığa duyarlılığını belirlemek için incelemişlerdir. Araştırma sonucunda 60°C 10 dakika bekletildiğinde 6 izolattan, 4' ünün dirençli, 1' inin orta duyarlı, 1' inin ise duyarlı olduğunu, 70°C, 80°C, 90°C' de 10 dakika bekletildikten sonra ise 4' ünün dirençli, 2' sinin duyarlı olduğunu bulmuşlardır. 100 °C' de 10 dakika bekletildikten sonra ise 3' ünün dirençli, 1' inin orta duyarlı, 2' sinin duyarlı olduğunu bulmuşlar ve 30 ile 60 dakika bekletildikten sonra ise 6 izolattan 2' sinin dirençli, 4' ünün duyarlı olduğunu belirlemişlerdir. Araştırmacılar çalışma sonucunda sıcaklık artışı ile bakteriyosinlerin dirençliliğinin azaldığını bildirmişlerdir [Karaoğlu A. ve ark., 2003].

Mısır’ da yapılan bir çalışmada araştırmacılar, yoğurttan izole ettikleri *L. plantarum*’ un (AA110, AA125, AA135, AA140) gıda kökenli patojenlere karşı gösterdiği antagonistik aktiviteyi belirlemişlerdir. Çalışmada kullanılan izolatlardan *L. plantarum* AA135’ in gıda kökenli patojenlere karşı salgıladığı antimikrobiyal maddenin 121°C’ de 30 dakika bozulmadan kalabildiğini bulmuşlardır. Ayrıca araştırmacılar bu izolatın salgıladığı antimikrobiyal maddenin katalaz ve lizozim enzimine dirençli, tripsin, pepsin ve papain enzimine duyarlı olduğunu belirlemişlerdir [Amer, 2007].

Mısır’ da yapılan bir başka çalışmada araştırmacılar, ev yapımı peynirlerden 63 *L. acidophilus* izole etmişlerdir. Sadece 6 izolatın bozulma nedeni olan mikroorganizmalara (*S. aureus* ve *B. cereus*) ve patojen mikroorganizmalara (*E. coli*, *Salmonella* sp. ve *Shigella* sp.) karşı inhibisyon etkisi gösterdiğini ve bu 6 izolattan da *L. acidophilus* AA11’ in daha fazla antimikrobiyal aktivite gösterdiğini belirlemişlerdir. Araştırmacılar *L. acidophilus* AA11 izolatının bakteriyosinini karakterize etmek amacıyla, bakteriyosine çeşitli enzimler uygulamışlar ve uygulama sonucunda bu izolatın ürettiği bakteriyosinin, lizozim ve katalaza dirençlilik gösterirken, pepsin ve tripsine duyarlılık gösterdiğini belirlemişlerdir. Ayrıca bu bakteriyosinin 100°C’ de 30 dakika bekletildiğinde dirençli olduğunu, 121°C’ de 15 dakikada ise duyarlılık gösterdiğini bulmuşlardır. Yapılan incelemeler sonucunda da araştırmacılar bu izolatın ürettiği bakteriyosinin acidocin AA11 olduğunu belirlemişlerdir [Amer, 2006]. Bu çalışmada da 23 Laktobasil izolatının *L. monocytogenes*, *Shigella* sp. ve *E. coli*’ ye karşı inhibisyon etkisi gösterdiği belirlenmiştir. Bu izolatlardan *L. acidophilus* (A11) izolatının bakteriyosin ve bakteriyosin benzeri bir antimikrobiyal madde ürettiği ve bu maddenin katalaz ve tripsine dirençli iken, proteinaz K’ ya duyarlı olduğu belirlenmiştir. Ayrıca bu maddenin 40°C ve 60°C’ de 10 dakika ve 30 dakika sıcaklığa dirençli iken, 80°C’ den itibaren duyarlı olduğu bulunmuştur.

Ülkemizde yapılan bir çalışmada da araştırmacılar, farklı marketlerden 10 farklı sucuk ve sosis markasından 97 adet *Lactobacillus* sp. izole etmişler ve bu izolatlardan 39’ unu *L. plantarum* olarak tanımlamışlardır. Araştırmacılar çalışmada

18 *L. plantarum* izolatının bakteriyosin ve bakteriyosin benzeri madde ürettiğini, 21' inin ise bu maddeleri üretmediğini belirlemişlerdir. Ayrıca bakteriyosin üreten *L. plantarum* AX13L izolatının, diğer izolatlara göre, tüm test bakterilerine karşı daha fazla inhibisyon etkisi gösterdiğini bulmuşlardır [Toksoy ve ark., 1999].

Laktik asit bakterileri, fermente et, süt, sebze, meyve ve tahıl ürünlerinin üretim ve olgunlaştırılmasında önemli rol oynamaları nedeni ile gıda teknolojisinde büyük önem taşımaktadır. Çeşitli gıdaların bu yöntemle muhafazası en eski gıda muhafaza metotlarından birisi olarak kabul edilmektedir. Günümüzde modern işleme ve koruma yöntemleri geliştirilmiş olmasına rağmen, özellikle son yıllarda tüketicilerin doğal ve katkısız ürünlere gösterdikleri talep artışı, laktik asit bakterilerinin potansiyel gıda koruyucusu olarak önemini arttırmıştır. Bu özelliklerinden dolayı, laktik asit bakterileri pek çok canlı organizmadan izole edilerek incelenmiştir. Ancak bu konu ile ilgili yapılan araştırmalar incelendiğinde, tavuk orjinli çalışmalara fazla rastlanmamıştır.

Bu konu ile ilgili Brezilya' da yapılan bir çalışmada araştırmacılar, tavuklardan izole ettikleri *L. fermentum* izolatlarının probiyotik özelliklerini araştırmışlardır. Bu amaçla başta tavuk bağırsağı olmak üzere çeşitli organlardan izole ettikleri *L. fermentum* izolatlarının, asit, pH ve antimikrobiyal aktivitelerini incelemişlerdir. Bu kriterlere dirençli olan izolatları tavuk yemlerine ilave ederek, tavuklardaki etkilerini incelemişlerdir. Sonuç olarak bu yemlerin, antibiyotik etkisine benzer etki gösterdiğini belirlemişlerdir [Reque ve ark., 2000].

Dünyada antibiyotik direnci yüksek olan, gıda kaynaklı patojen infeksiyonlarının artışı gün geçtikçe daha çok dikkat çekmekte ve WHO tarafından önemli bir ulusal sağlık problemi olarak değerlendirilmektedir. Son zamanlarda florokinolon antibiyotiklerine dirençliliklerinden dolayı, tehlikeli infeksiyonlar için ilaç seçiminde antibiyotik dirençli *Campylobacter'* ler endişe uyandırmaktadır. Sistemik enfeksiyonların tedavisinde aminoglikozit grubuna giren gentamisin, enteritlerin tedavisinde florokinolon grubuna giren siprofloksasin gibi antibiyotikler sıklıkla kullanılmaktadır.

Özellikle tavuk etinden kaynaklanan enterit vakalarında siprofloksasin dirençli *Campylobacter* etkenlerinde artış gözlenmektedir. İnsanlarda *Campylobacter*'lerden ileri gelen hastalıkların tedavisinde kullanılan antibiyotiklere karşı kazanılan direnç ve bu direncin aktarımı gün geçtikçe önemli bir sorun haline gelmektedir. Antibiyotik dirençli suşlar hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerde bildirilmiştir. Ancak kontrolsüz antibiyotik kullanımı gelişmekte olan ülkelerde daha yaygındır.

Bu çalışmada tavuk örneklerinin çeşitli bölgelerinden izole edilen *Campylobacter* izolatları API Campy kullanılarak tanımlanmıştır. Bu izolatların 15'i *C. jejuni* (% 71,4), 3'ü *C. coli* (% 14,3), diğer 3'ü ise *C. lari* (% 14,3) olarak bulunmuştur (Çizelge 4.1).

Bu çalışmada tanımlanan 21 *Campylobacter* izolatının (15'i *C. jejuni*, 3'ü *C. coli*, ve 3'ü *C. lari*) antibiyotik dirençliliği araştırılmış ve en yüksek direnç *C. coli*'de belirlenmiştir. *C. coli*, gentamisin, kanamisin, nalidiksik asit, streptomisin ve eritromisine % 100,0 oranında dirençli bulunmuştur. *C. jejuni* streptomisine % 80,0, tetrasikline % 73,4, nalidiksik asite % 66,7 oranında dirençli bulunurken, *C. lari* streptomisine % 66,7, tetrasikline % 33,3, nalidiksik asite ise % 100,0 oranında dirençli bulunmuştur. Bu sonuçlar tür düzeyinde birbirleri ile karşılaştırıldığında, her 3 türünde nalidiksik asit ve streptomisine yüksek oranda dirençli olduğu bulunmuştur (Çizelge 4.11).

Kayseri'de 1996 yılında dışkı örneklerinden *Campylobacter*'lerin antibiyotik duyarlılıklarının araştırıldığı bir çalışmada araştırmacılar, siprofloksasine *C. jejuni*'nin % 28, *C. coli*'nin % 22 dirençli olduğunu bulurlarken; eritromisine *C. jejuni*'nin % 28 orta duyarlı, *C. coli*'nin % 58 orta duyarlı olduğunu bulmuşlardır [Bredie ve Boer, 1992]. Bu çalışmada ise siprofloksasine *C. coli* % 66,7, *C. jejuni* % 20,0 dirençli bulunmuştur. Eritromisine ise *C. jejuni* % 53,3, *C. coli* % 100,0, *C. lari* ise % 33,3 dirençli bulunmuştur. Araştırmacıların bulduğu *C. coli* izolatlarının siprofloksasine olan direnci, bu çalışmadaki *C. coli*'nin siprofloksasin direncine yakın bulunmuştur (Çizelge 4.11).

Son yıllarda yapılan bir çalışmada araştırmacılar, *Campylobacteriosis* tedavisinde kullanılan antibiyotiklere dirençlilik oranını araştırmışlardır. Bu araştırma sonucunda, siprofloksasin direncini en yüksek Avusturya' da (% 47), en düşük Danimarka' da (% 6) tespit etmişler, tetrasiklin direncini en yüksek Amerika' da (% 66) ve Avusturya' da (% 47), en düşük Danimarka' da (% 7), eritromisin direncini ise Avusturya ve Danimarka' da en düşük iken, aksine ABD' de % 20 olduğunu bildirmişlerdir [Ergüler, 2007]. Bu çalışmada elde ettiğimiz antibiyotik dirençlilik sonuçları siprofiloksasin açasından Avusturya ve Danimarka ile paralellik göstermiştir, tetrasiklin direnci Avusturya ve Amerika ile yakın sonuçlar gösterirken Danimarka' daki sonuçlara göre daha yüksek bulunmuştur, eritromisin direnci ise bu ülkelerdeki dirençlilik sonuçlarına göre bu çalışmada daha yüksek bulunmuştur.

Birçok çalışmada araştırmacılar, veterinerlikte ilk haftadan itibaren etlik piliçlerin aşı problemlerinin ortadan kaldırılması ya da üçüncü veya dördüncü haftada piliçlerin *E. coli*' den kaynaklanan solunum yolu hastalıklarından korunmaları için siprofloksasin ve enrofloksasin gibi üçüncü kuşak kinolon türevi antibiyotiklerin kullanılmasının, *Campylobacter* izolatları arasında bu antibiyotiklere direncin yayılmasına yol aıtığını göstermişlerdir [Taremi ve ark., 2006]. Bu çalışmada *Campylobacter*' lerin antibiyotik dirençliliklerindeki yükseklik, araştırmacıların yaptığı çalışma ile paralellik göstermektedir.

2005 yılında İran'da yapılan bir çalışmada araştırmacılar, tavuk etlerinden izole edilen *Campylobacter* türlerinin antibiyotiklere dirençliliklerini araştırmışlar ve en yüksek nalidiksik aside (% 75), daha sonra siprofloksasin (% 69,4), tetrasiklin (% 45,8), kloramfenikol (% 2,8) ve gentamisine (% 1,4) direnç tespit ettiklerini bildirmişlerdir [Taremi ve ark., 2006]. Bu çalışmada belirlenen nalidiksik asit ve tetrasikline direnci, İran' da yapılan çalışma ile benzerlik gösterirken, diğer antibiyotiklere dirençliliğin farklı olması ise bölgesel farklılığa ve kontrol dışı ilaç kullanımının bağlanabilir.

Andersen ve ark., 1996-2003 yılları arasında tavuk etlerinden izole edilen *C. jejuni* izolatlarında, tetrasiklin, nalidiksik asit ve siprofloksasine direnç saptarken araştırma

sonucunda son 7 yıllık periyotta florokinolon direncinin arttığını bildirmişlerdir [Andersen ve ark., 2006]. Artan siprofloksasin direnci bu çalışmada da belirlenmiştir.

Lucey ve ark., yaptıkları çalışmada insan ve hayvanlardan 55 adet *Campylobacter* izole etmişler ve bu izolatların 47'sini *C. jejuni*, 8'ini *C. coli* olarak tanımlamışlardır. Çalışmada araştırmacılara ayrıca *Campylobacter*'lerin antibiyotik dirençliliklerini incelemişler ve tüm izolatların % 1,9'unun gentamisine, % 24,5'inin tetrasikline, % 17'sinin nalidiksik asite, % 1,9'unun siprofloksasine, % 11,3'ünün eritromisine, % 17'sinin ampisiline ve % 3,8'inin kloramfenikole dirençli olduğunu bulmuşlardır [Lucey ve ark., 2000].

Kanatlı endüstrisi klorotetrasiklin, streptomisin, tetrasiklin ve florokinolonları içine alan birçok ilacın kullanımını onaylamaktadır (FDA). Bu ilaçlar su ve yemlere katılarak kullanılmakta, dolayısıyla toplu olarak yetiştirilen kanatlıların doğal olarak birey başına aldıkları dozun belirlenmesi zorlaşmaktadır ve sonuç olarak dozun kullanım miktarı üzerine çıkması mümkündür. Bu yüzden aynı çiftlikte yetiştirilen kanatlılar, antimikrobiyal ajanlara farklı oranlarda dirençlilik gösterebilmektedirler [Olah ve ark., 2004].

Bakterilerde kontrolsüz antibiyotik kullanımına bağlı olarak artan antibiyotik dirençlilikleri, patojen bakterilerin gün geçtikçe etkisiz hale getirilmesini zorlaştırmaktadır. Bu nedenle günümüzde, bakterilerin uzaklaştırılmasında kullanılan antibiyotikler yerine, daha çok doğal gıda koruyucusu olan probiyotiklerin kullanımı tercih edilmektedir. Bu çalışma ile de, tavuklardan izole edilen Laktobasillerin, üretebildikleri çeşitli inhibitör maddelerin etkisi ile, tavuklarda enfeksiyonlara neden olabilen bazı patojen bakterileri, kontrollü bir şekilde ortamdan uzaklaştırılabileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Alp, M., Kahraman, R., “Probiyotiklerin Hayvan Beslemede Kullanılması”, *Istanbul Üniv. Vet. Fak. Derg.*, 22(1), 1-8 (1996).
- Altekruse, S. F., Stern, N. J., Fields, P. I., et al., “*C. jejuni* an emerging foodborn pathogen”, *Emerge Inf Dis*, 5:28-35 (1999).
- Amer, A. E. A., “Chromosomal genes-mediated inhibition of intestinal and foodborne pathogens by *Lactobacillus acidophilus* AA11”, *Rev Latinoam Microbiol.*, 48 (1):24-30 (2006).
- Amer, A. E. A., “Characterization of a bacteriocin-like inhibitory substance produced by *Lactobacillus plantarum* isolated from Egyptian home-made yogurt”, *Science Asia*, 33;313-319 (2007).
- Ammor, S., Tauveron, G., Dufour, E., Chevallier, I., “Antibacterial activity of lactic acid bacteria against spoilage and pathogenic bacteria isolated from the same meat small-scale facility 1-screening and characterization of the antibacterial compouns”, *Food Control*, 17: 454-461 (2006).
- Andersen, S. R., Saaddbye, P., Naseer, M. S., “Antimicrobial resistance among *Campylobacter jejuni* isolated from raw poultry meat at retail level in Denmark”, *Int J. Food Microbiol.*, 107: 250-255 (2006).
- Arda, M., Minbay, A., Leloğlu, N., Akay, Ö., İzgür, M. ve ark., “Özel Mikrobiyoloji”, *Medisan Yayınevi*, Ankara, 50-55 (1997).
- Atabay, H. I., Corry, J. E. L., “The isolation and prevalence of campylobacters from diary cattle using a variety of methods”, *J. Appl. Micro.*, 84: 733-740, (1998).
- Aydın N., “Bazı Bakteriyel Patojenlerin Yumurta Kabuğundan Penetrasyonu”, *Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri*, 1-5 (2005).
- Bekar, M., Yıldız, A., Akman, A., “Tavuk mezbahalarının *Salmonella* yönünden taranması”, *Merk Vet Kont Arş Enst Yay.*, Ankara, 4: 1-24 (1993).
- Bekar, M., “Enterobacteriaceae Mikroorganizmaların Genel Karakterleri ve Tanı Yöntemleri”, *Merk Vet Kont Arş Enst*, Ankara, 38-99 (1997).
- Blaser, M. J., “*Campylobacter jejuni* and related species. In: Mandell, G. L., Bennett, J. E., Dolin, R., eds., “Principles and practice of infectious diseases”, 5. ed. *Philadelphia*:Churchill Livingston, 2276-85 (2000).

Blom, H. and Mörtvedt, C., "Antimicrobial substances produced by food associated microorganisms". *Biochem. Soc. Trans.*, 19; 694-698 (1991).

Bredie, W. L. P., Boer, E. de, "Evaluation of the MPN, Anderson-Braid-Parker, Petrifilm *E. coli* and Flourocult ECD method for enumeration of *E. coli* in foods of animal origin", *Int. J. Food Microbiol.*, 16: 197-208 (1992).

Bromberg, R., Moreno, I., Zaganini, C. L., Delboni, R. R., de Oliveire, J., "Isolation of bacteriocin-producing lactic acid bacteria from meat and meat products and its spectrum of inhibitory activity", *Brazillian Journal of Microbiology* 35; 137-144 (2004).

Canibe, N., Engberg, R. M., Jensen, B. B., "An Overview of the Effect of Organic Acids on Gut Flora and Gut Health", *Journal of Anim. Sci.*, 79: 2123-2133 (2001).

Carminati, D., Giraffa, G. and Bossi, M. G., "Bactericin-like inhibitors of *S. lactis* against *Listeria monocytogenes*", *J. Food Protect.*, 52 (9): 614-617 (1988).

Caplice, E. and Fitzgerald, G. F., "Food fermentations: role of microorganisms in food production and preservation". *Int. J. Food Microbiol.*, 50; 131-149 (1999).

Chaveerach, P., Lipman, L. J. A., van Knapen, F., "Antagonistic activities of several bacteria on in vitro growth of 10 strains of *Campylobacter jejuni/coli*", *International Journal of food Microbiology*, 90; 43-50 (2004).

Chen, H., Hoover, D., G., "Bacteriosins and their food applications", *Comphrensive Reviews In Food Science and Food Safety*, 2: 82-100 (2003).

Cocconnier, M. H., Lievin, V., Bernert-Camard, M. F., Hudault, S., Servin, A. L., "Antimicrobial effect of the adhering human *Lactobacillus acidophilus* strain LB", *Antimicrob Agents Chemother* 41: 1046-1052 (1997).

Condon, S., "Aerobic metabolism of lactic acid bacteria". *Irish J. Food Sci. Technol.*, 7; 15-25 (1983).

Condon, S., "Responses of lactic acid bacteria to oxygen". *FEMS Microbiol. Rev.*, 46; 269-280 (1987).

Craven S. E., Williams, D. D., "Inhibition of *Salmonella typhimurium* attachment to chicken cecal mukus by intestinal isolates of *Enterobacteriaceae* and Lactobacilli", *Avian Dis.*, 41: 548-558 (1997).

Cudjoe, K. S., Kapperud, G., “The effect of lactic acid sprays on *Campylobacter jejuni* inoculated onto poultry carcasses”, *Acta. Vet. Sca.*, 32:491-498 (1991).

Çakır, İ., “Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları”, Genişletilmiş 2. Baskı; *Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü yayını*. Sim Matbaası, Ankara, 25. Bölüm, 522 s. (2000).

Çataloluk, O., Gürakan, G. C., “Characterization of salivaricin B, a protein expressed by *Lactobacillus salivarius* M7”, *Turk J. Biol.* 27: 131-136 (2003).

Daeschel, M. A., “Antimicrobial substances from lactic acid bacteria for use as food preservatives”, *Food Technol.*, 164-167 (1989).

Darka, O., Yılmaz, Y., “Tavuk eti ve campylobacteriosis”, Derleme. *Hacettepe tıp dergisi*, 35:100-102 (2004).

Davison, S., Benson, C. E., Henzler, D. J., Et al., “Field observation with *Salmonella enteritidis* bacterins”, *Avian Dis*, 43: 664- 669 (1999).

deMartinis, E. C. P., Alves, V. F., Franco, B. D. G. M., “Fundamentals and perspectives for the use of bacteriocins produced by lactic acid bacteria in meat products”, *Food Reviews International*, 18 (2-3): 191-208 (2002).

Doyle, M. P., “Foodborn Pathogens”, *Marcel Dekker Inc.*, New York, 787-790 (1989).

Eklund, T., “The effect of carbon dioxide on bacterial growth and on uptake processes in the bacterial membrane vesicles”. *Int. J. Food Microbiol.*, 1; 179 (1984).

Ergüler, Ö., “Ankara yöresinde tüketime sunulan tavuklardan *Campylobacter* türlerinin izolasyonu”, Yüksek lisans tezi, *Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Ankara, 89-90 (2007).

Farber, J. M., Peterkin, P. I., “*Listeria monocytogenes*, a food-borne pathogen”, *Microbial. Rev.*, 55: 476-551 (1991).

Fleming, D. W., Cochi, S. L., Kristine, L., McDonald, M. D., Brandom, J., Hayes, P. S., Plikaytis, B., Holmes, M. B., Audurier, A., Broome, C. L. and Reingold, A. L., “Pastorized Milk as a Vehicle of Infection in an Outbreak of Listeriosis”, *N. Engl. J. Med.*, 312, 7: 404-407 (1985).

Franco, D. A., “*Campylobacter* species: Considerations for controlling a foodborne pathogen”, *J. Food Prot.* 51 (2): 145-153 (1988).

Frazier, F. C., Westthoff, D. C., “Food Microbiology 4th ed.”, *McGraw-Hill Book Company*, Princenton, 539 (1988).

Garriga, M., Pascual, M., Monford, J. M. and Hugas, M., "Selection of lactobacilli for chicken probiotic adjuncts", *Journal of Applied Microbiology*, 84, 125-132 (1998).

Gelin, B. G. and Broome, C. V., " Listeriosis ", *JAMA*, 261(9): 1313-1320 (1989).

Ghalefka, D., "İstanbul piyasasında satışı sunulan çeşitli kanatlı eti ve et ürünlerinde *Campylobacter jejuni*" nin varlığı üzerine araştırmalar", Doktora tezi, *İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, İstanbul, 5-10 (1995).

Gómez, R., Munoz, M., de Ancos B. and Cano, P., "New procedure for the Detection of Lactic Acid Bacteria in Vegetables Producing Antibacterial Substances", *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.*, 35, 284-288 (2002).

Gonul, A. Ş., Karapınar, M. P., "*E. coli*: Patojenitesi ve gıdalardaki önemi", *Tr. J. Biology.*, 24: 47-60 (1994).

Gonzalez A. G. V., Rosa, A. C. P., Andrade, J. R. C., Tibana, A., "Enteropathogenity markers in *E. coli* strains isolated from soft white cheese and poultry in Rio de Janeiro, Brazil", *Food Microbiol.*, 17: 321-328 (2000).

Griffiths, P. L., Park, R. W. A., "Campylobacters associated with human diarrheal disease", *J. Appl. Bact.*, 69: 281-301 (1990).

Gülmez, M., "*Campylobacter* izolasyonunda bazı kültürel tekniklerin karşılaştırılması ve tavul etlerinde termofilik *Campylobacter*" lerin araştırılması", *Kafkas Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, Doktora Tezi, 1999.

Gültekin, A., Gökalp., Bakıcı, M. Z., Oğuz, A., Sağnak, G., "Sivas yöresinde hastalık etkenleri", *İnfeksiyon Derg.*, 1: 239-246 (1987).

Gülyaz, V., Taştan, R., "Erzurum ve Erzincan illerinde kanatlı mezbahalarının *Salmonella* yönünden taranması", *Vet Mikrobiol Derg.*, İstanbul, 27: 33-41 (1996).

Hale, T. L., Keusch, G. T., "*Shigella*", *In: Baron's Medical Microbiology* (Barron S et al, eds.), 4th ed., Univ of Texas Medical Branch. ISBN 0-9631172-1-1. (2), (1996).

Halkman, K., "Tarım Mikrobiyolojisi", No: 1214, *A. Ü. Ziraat Fak. Yayınları*, Ankara, 82 (1991).

Halkman, A. K., Doğan, H. B., Çakır, İ., Kral, N., İnan, T. T., Çoşansu, S., Gürsu, G., "Gıdalarda Fekal Koliform Aranması", *Ankara Üniversitesi Araştırma Fonu 97111201 nolu proje*, Ankara, 8-28 (1997).

Halkman, A. K., Doğan, H. B., Noveir, M. R., “Gıda maddelerinde *Salmonella* ile *E. coli* arama ve sayılma yöntemlerinin karşılaştırılması”, Gıda Teknolojisi Derneği, *Armoni Matbaacılık*, İstanbul, 93 (1994).

Héchar, Y., Sahl, H. G., “Mode of action of modified and unmodified bacteriosins from Gram-positive bacteria”, *Biochimie*, 84: 545-557 (2002).

Hofvendahl, K. and Hahn-Hägerdal, B., “Factors affecting the fermentative lactic acid production from renewable resources”, *Enzyme Microb. Technol.*, 26: 87-107 (2000).

Hopkins, R. S. and Scott, A. S., “Handlig raw chickens as a source for sporadic *Campylobacter jejuni* infections.” *J. Of Inf. Dis.* 148: 4, 770 (1983).

Huber, G. W., “Antifungal and Antiviral Agent”, in: Ed. Booth N. H., McDonald L.E., Veterinary Pharmacology and Therapeutics, 6.th edition, *Iowa State University Press/Ames, Iowa* p.849-860 (1988).

Humprey, T.J., “The significance of *Campylobacter* species as foodborne pathogen”, *The Society of Food Hygiene and Technology*, Technical Reports, 1 (1999).

Jin, L. Z., Ho, Y. W., Abdullah, N., Ali, M. A. and Jalaludin, S., “Antagonistic effects of intestinal *Lactobacillus* isolates on pathogenes of chicken”, *Letters in Applied Microbiology*, 23, 67-71 (1996).

Jordan, F. T. W. and Pattison, M., “Poultry Disease”, *W.B. Saunders Company Ltd.*, Fourth Edition London., 10-36 (1996).

Joshi, V. K., Sharma, S. and Rana, S. N., “Production, purification, stability and efficacy of bacteriocin from isolates of natural lactic acid fermentation of vegetables”, *Food technol. Biotechnol.*, 44 (3): 435-439 (2006).

Kalender, H., Muz, A., “Elazığ bölgesindeki tavuklardan izole edilen *Salmonella* türlerinin tiplendirilmesi”, *Tr J Vet Anim Sci.*, 23: 297-303 (1999).

Kandler, O. “Carbonhydrate metabolism in lactic acid bacteria”. *Antonie van Leeuwenhoek*, 49; 209-224 (1983).

Karaoğlu, A. Ş., Aydın, F., Kılıç, S. S., Kılıç, A. O., “Antimicrobial Activity and Characteristicts of Bacteriocins Produced by Vaginal *Lactobacilli*”, *Turk J Med Sci*, 33;7-13 (2003).

Kazwala, R. R., Collis, D. J., Hannan, R. A., Crinon, P. A. R., Mahony, H. O., “Factors responsible fort he introduction and spread of *Campylobacter jejuni* infection in commerical poultry production”, *The Veterinary Record.*, 126: 305-306 (1990).

Klaenhammer, R. T. "Genetics of bacteriocins produced by lactic acid bacteria". *FEMS Microbiology Reviews*, 12; 39-86 (1993).

Khalid, F., Sıddıqı, R., Moıgani, N., "Detection and characterization of a heat stable bacteriocin (Lactocin LC-09) produced by a clinical isolate of Lactobacilli", *Medical Journal of Islamic Academy of Sciences*, 12:3, 67-71 (1999).

Kleerebezm, M. and Hügeholz, J., "Metabolic pathway engineering in lactic acid bacteria", *Current Opinion in Biotechnology*, 14: 232-237 (2003).

Kong, S. and Davison, A. J., "The role of interactions between O₂, H₂O₂, OH, e- and O₂- in free radical damage to biological systems". *Arch. Biochem. Biophys.*, 204; 13-29 (1980).

Krieg, N. R., Holt, J. G., "Bergey' s Manuel of Systematic Bacteriology", *Williams&Wilkins Baltimore*, MD 21202 U.S.A., 427- 458 (1984).

Kurt, Ş., Zorba, Ö., "Bakteriyosinler ve gıdalarda kullanım olanakları", *YYÜ Vet Fak Derg.*, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, 65080-VAN, 16 (1): 77-83 (2005).

Küçüker, M. A., Tümbay, E., Anđ, Ö., "Tıbbi Mikrobiyoloji", *Nobel Tıp Kitabevi*, İstanbul, 202-204 (1997).

Lee, C. Y., Tai, C. L., Lin, S. C., Chen, Y. T., " Occurrence of plasmids and tetracycline resistance among *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolated from whole market chickens and clinical samples", *Int. J. Food Microbiol.*, 24: 161-170 (1994).

Lee, M. D., Sanchez, S., Zimmer, M., Idris, U., Berrang, M. E., McDermott, P. F., "Class 1 integron-associated tobramycin-gentamicin resistance in *Campylobacter jejuni* isolated from the broiler chicken house environment", *Natimic. Agents Chemoter.*, 46: 2660-2664 (2006).

Lior, H., "New, extended biotyping scheme for *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli* and *Campylobacter laridis*", *J. Clin. Microbiol.*, 20: 636-640 (1984).

Lozano, N. J. C., Useros, R. J., Martinez, P. C. M., Torre, H. A., "Effect of a bacteriocin produced by *Pediococcus acidilactici* against *Listeria monocytogenes* and *Clostridium perfringens* on Spanish raw meat", *Meat Science*, 72: 57-61 (2006).

Lucey, B., Crowley, D., Molonet, P., Cryan, B., Daly, M., Halloran O., F., Threlfall, E. J., Fanning, S., "*Campylobacter* spp. Human and animal origin", *Emergy Infect Dis.*, 6 (1): 5-50 (2000).

Martinez-Bueno, M., Valdivia, E., Galvez, A., Maqueda, M., "pS86 a new theta-replicating plasmid from *Enterococcus faecalis*", *Curr. Microbiol.*, 41: 257-261 (2000).

Mc Groarty, J. A., "Cel surface appandages of Lactobacilli", *FEMS Microbiol. Lett.*, 124: 405-410 (1994).

Miyamoto, T., Kitaoka, D., Withanage, G. S. et al., "Evaluation of the efficacy of *Salmonella enteritidis* oil-emulsion bacterin in an intravaginal challenge model in hens", *Avian Dis.*, 43: 497-505 (1999).

Mueller, H. E., "Listeriosis in Animals", *Infeksiyon Dergisi*. (Turkish J. Infection), 2, (4): 505-519 (1988).

Ogunbanwo, S. T., Sanni, A. I. and Onilude, A. A., "Characterization of bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum* F1 and *Lactobacillus brevis* OG1", *African Journal of Biotechnology*, 2 (8), 219-227, (2003).

Olah , P. A., Sherwood, J. S., Elijah, L. M., Dockter, M. R., Doetkott, C., Miller, Z., Loggue , C. M., "Comparison of antimicrobial resistance in *Salmonella* and *Campylobacter* isolated from Turkeys in the Midwest USA", *Food Microbiol.*, 21: 779-789 (2004).

Onul, B., "İnfeksiyon Hastalıkları", *Ankara Üniversitesi Basımevi*, 6.baskı, Ankara, 855-870, (1980).

Özdemir, Ü., "İstanbul ve çevresindeki tavukçuluk işletmelerinde *Salmonella enteritidis*' in ELISA ile serolojik incelenmesi", *Vet Mikrobiol Derg.*, İstanbul, 30: 31-35 (1999).

Öztürk, R., Midilli, K., Okyay, K., Eroğlu, C. Aygün, G., Kenani, Y., Sarsan, A., "Çocuk ve erişkin gurubu sürgün olgularında *Camylobacter jejuni* sıklığının araştırılması", *Türk Mikrobiol. Cem. Der.*, 24: 42-45 (1994).

Matthew, A. W., "Zor üreyen mikroorganizmalar", National Committee for Clinical Laboratory Performance Standarts for Antimicrobial Susceptibility Test, Approved Standard, *N.C.L.S. Inc.*, Villanova, P.A., 131-135 (2000).

Nachamin, I., Skirrow, M. B., "*Capmpylobacter, Helicobacter* and *Arcobacter*", Topley & Wilson" s Microbiology and Microbial Infections, *Oxford University Pres Inc.*, 1237-1256 (1998).

Padhye, N. V., Doyle, M. P., "*E. coli* O157:H7 epidomiology, pathogenesis and methods for detection in food", *Journal Food Protect.*, 55 (7): 555-556 (1992).

Penner, R., Fedorak, N. R., Madsen, L. K., “Probiotics and nutraceuticals: non-medicinal treatments of gastrointestinal diseases”, *Current Opinion in Pharmacology*, 5 (6): 596-603 (2005).

Rautelin, H., Renkonen, O. V., Kosunen, T. U., “Emergence of fluoroquinolone resistance in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in subjects from Finland”, *Antimicrob. Agents Chemother.*, 35: 2065-2069 (1991).

Reque, F. E., Pandey, A., Franco, G. S., Soccol, R. C., “Isolation, identification and physiological study of *Lactobacillus fermentum* LBP for use as probiotic in chickens”, *Brazilian Journal of Microbiology* 31: 303-307 (2003).

Rönner, A. C., Engvall, E. O., Andersson, L., Kaijser, B., “Species identification by genotyping and determination of antibiotic resistance in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* from humans and chickens in Sweden” , *Int. J. Of Food Microbiol.*, 96: 173-179 (2004).

Schillinger, U. and Lücke, F. K., “Antibacterial activity of *Lactobacillus sake* isolated from meat”, *Applied and Environmental Microbiology*, 1901-1906, (1989).

Schrezenmeir, J., de Vrese, M., “Probiotics, prebiotics, and synbiotics approaching a definition”, *Am J Clinical Nutr*, 2; 361S-364S (2001).

Schuchat, A., Swaminathan, B., Broome, C. V., “Epidemiology of human listeriosis”, *Clin. Microbiol. Rev.*, 4: 169-173 (1991).

Seeliger, H. P. R. and Jones, D., “Genus *Listeria*”, *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. P. H. A., Sneath, N. S., Mair, M. E., Sharpe and J. G., Holt, The Williams and Wilkins Co., Baltimore. 1235-1245 (1986).

Shelef, L. A., “Survival of *L. monocytogenes* in ground beef on liver during storage at 4 and 25° C”, *Journal of Food Microbiology*, 44: 141-144 (1998).

Skirrow, M. B. and Benjamin, J., “1001 *Campylobacters*; cultural characteristics of intestinal *Campylobacters* from man and animals”, *J. Hyg.* 85: 427-442 (1980).

Sneath, P., H., A., Mair, N., S. and Holt, J., G., “Bergey's Manual of Systemic Bact., Volume 2”, *Willims & Wilkins.*, London, 1208-1304 (1986).

Stern, N.J., Patton, M. C., Doyle, M. P., Park, C. E., McCardel, B. A., “*Campylobacter*”, Compendium For the Microbiologic Examination of Foods, 3 ed, *APHA*, NW Washington DC, 475-495 (1992).

Strompfova, V., Laukova, A., Mudronova, D., “Effect of bacteriocin-like substance produced by *Enterococcus faecium* EF55 on the composition of avain gastrointestinal mictoflora”, *Acta Vet. Brno*, 72: 559-564 (2003).

Şanlı, Y., Kaya, S., “Veteriner Farmakoloji ve İlaçla Sağaltım Seçenekleri”, *Feryal Matbaacılık San. ve Tic. Ltd.Şti.*, Ankara, 1-788 (1991).

Tagg, J. R., Dajani, A. S. and Wannamaker, L. W., “Bacteriocin of Gram positive Bacteria”, *Bacteriological Reviews*, 40: 722-756 (1976).

Taremi, M., Dallal, M. M. S., Gachkar, L., MoezArdlan, S., Zolfagharin, K., Zali, M. R., “Prevalence and antimicrobial resistance of *Campylobacter* isolated from retail raw chicken and beef meat, Tehran, Iran”, *Int. J. Food Microbial*, 17: 321-325 (2006).

Tekinşen, O. C., ve Atasever, M., “Süt Ürünleri Üretiminde Starter Kültür”, *Selçuk Ü. Vet. Fak. Yayınları*, Konya, 150 (1994).

Terplan, G., “Listeria’ lar, Gıda Maddelerinde Bulunuşu ve Sağlık Yönünden Önemi. Mikroorganizmalar ile Gıda Teknolojisi ve Gıda Hijyeni Arasındaki İlişkiye Bir Örnek *Listeria*”, Seminer, *İstanbul Üniv. Vet. Fak.*, İstanbul, (1989).

Timmerman, H. M., Koning, C. J. M., Mulder, L., Rombouts, F. M., Beynen, A. C., “Monostrain, multistrain and multispecies probiotics-A comparison of functionality and efficacy”, *International Journal of Food Microbiology*, 96, 219- 233 (2004).

Toksoy, A., Beyatlı, Y., Aslım, B., “Sucuk ve sosislerden izole edilen *Lactobacillus plantarum* suşlarının bazı metabolik ve antimikrobiyal aktivitelerinin incelenmesi”, *Tr. J. Of Veterinary and Animal Sicences*, 23: 533-540 (1999).

Tunail, N. ve Köşker, Ö., “Süt Mikrobiyolojisi”, No:1116, *A. Ü. Ziraat Fak. Yayınları*, Ankara, 113 (1989).

Tunail, N., “Mikrobiyel enfeksiyonlar ve intoksikasyonlar”, Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları, *Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü*, Ankara, 59-86 (1999).

Twomey, D., Ross, R. P., Ryan, M., Meany, B., Hill, C., “Lantibiotics produced by actic acid bacteria: structure, function and application”, *Antonie van Leeuwenhoek*, 82: 165-185 (2002).

Yalçın, S., Önol, A. G., “Ekmek Mayasının Broyler ve Yumurta Tavuğu Rasyonlarında Kullanımı”, VIV. *Poultry Yutav’ 99 Uluslar arası Tavukçuluk Fuarı ve Konferansı 3-6 Haziran Bildiriler Kitabı*, İstanbul, 441-448 (1999).

Yetişmeyen, A., “Süt Teknolojisi”, *A. Ü. Ziraat Fak. Yayınları*, Ankara, No: 1420, 229 (1995).

Yurtalan, S., Ateş, M., “Broyler civcivlerde deneysel *Salmonella enteritidis* enfeksiyonu üzerine bağırsak mikroflorasının ve laktozun etkisi”, *Vet Mikrobiol Derg*, İstanbul, 33: 3-20 (2002).

Zhu, W. M., Liu, M. and Wu, D. Q., “Isolation and characterization of a new bacteriocin from *Lactobacillus gasseri* KT7”, *J. Appl. Microbiol.*, 88: 877-886 (2000).

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : AYKANAT, Özge
Uyruğu : T.C.
Doğum tarihi ve yeri : 19.05.1983 Ankara
Medeni hali : Bekar
Telefon : 0 (533) 440 69 74
Faks : -
e-mail : ozgeeayk@yahoo.com.tr

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet tarihi
Yüksek lisans	Gazi Üniversitesi /Biyoloji Bölümü	2008
Lisans	Gazi Üniversitesi/ Biyoloji Bölümü	2005
Lise	Ankara Lisesi	2000

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2004	Ankara eğitim ve Araştırma Hastanesi	Staj
2006-2008	Gazi Üniversitesi	Ücretli Asistanlık

Yabancı Dil

İngilizce

Hobiler

Bilgisayar, müzik dinleme, kitap okuma

