



**SÜT VE SÜT ÜRÜNLERİNDEN İZOLE EDİLEN
GRAM-POZİTİF VE GRAM-NEGATİF BAKTERİLERİN
PATOJENİTE KRİTERLERİNİN İNCELENMESİ**

Müge KERA

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

MAYIS 2019

Müge KERA tarafından hazırlanan “SÜT VE SÜT ÜRÜNLERİNDEN İZOLE EDİLEN GRAM-POZİTİF VE GRAM-NEGATİF BAKTERİLERİN PATOJENİTE KRİTERLERİNİN İNCELENMESİ” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Gazi Üniversitesi Biyoloji Ana Bilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. Neslihan GÜNDOĞAN

Biyoloji Ana Bilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.

.....

Başkan: Prof. Dr. Nilüfer CİHANGİR

Biyoloji Ana Bilim Dalı, Hacettepe Üniversitesi

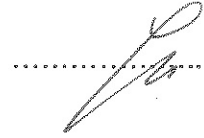
Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.

.....

Üye: Prof. Dr. Sumru ÇITAK

Biyoloji Ana Bilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum.

.....

Tez Savunma Tarihi: 10/05/2019

Jüri tarafından kabul edilen bu tezin Yüksek Lisans Tezi olması için gerekli şartları yerine getirdiğini onaylıyorum.

.....
Prof. Dr. Sena YAŞYERLİ
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.


Müge KERA

10/05/2019

SÜT VE SÜT ÜRÜNLERİNDEN İZOLE EDİLEN GRAM-POZİTİF VE GRAM-NEGATİF BAKTERİLERİN PATOJENİTE KRİTERLERİNİN İNCELENMESİ

(Yüksek Lisans Tezi)

Müge KERA

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Mayıs 2019

ÖZET

Bu araştırmanın amacı, Ankara’da bir süt işletmesinden, semt pazarlarından ve çeşitli pastanelerden satın alınan toplam 100 adet çiğ süt, peynir ve dondurma örneğinden izole edilen 67 *Bacillus* spp. izolatının slime, biyofilm, proteaz, lipaz, lesitinaz, jelatinaz, DNaz, hemoliz ve siderofor aktivitesi, amino asit dekarboksilaz aktivitesi ve antibiyotik dirençliliğini incelemektir. Çalışmada ayrıca aynı gıda örneklerinden izole edilen 20 *Escherichia coli* izolatının slime, biyofilm, hemoliz, siderofor ve amino asit dekarboksilaz aktivitesi, antibiyotik dirençliliği ve geniş spektrumlu beta laktamaz (GSBL) üretimi incelenmiştir. 67 *Bacillus* izolatının 36’sı (%53,7) *Bacillus subtilis*, 12’si (%17,9) *Bacillus cereus*, 10’u (%14,9) *Bacillus megaterium*, 6’sı (%9) *Bacillus licheniformis*, 2’si (%3) *Bacillus circulans*, 1’i (%1,5) *Bacillus brevis* olarak tanımlanmıştır. *Bacillus* izolatlarının %94,1’inde slime, %91’inde biyofilm oluşumu, %79,1’inde hemolitik aktivite, %79,1’inde DNaz aktivitesi, %79,1’inde lipaz üretimi, %76,7’inde jelatinaz üretimi, %62,7’inde siderofor üretimi, %61,2’inde proteaz üretimi, %41,8’inde lesitinaz üretimi saptanmıştır. *E. coli* izolatlarının %100’ünün slime, %90’ının siderofor, %90’ının biyofilm oluşumu ve %70’inin hemolitik aktivitesi pozitif olarak bulunmuştur. *Bacillus* izolatlarının amino asit dekarboksilaz aktivitesine göre izolatların %100’ü arjinin ve histidin pozitif, %98,5’i tirozin, %92,5’i lizin, %92,5’i ornitin pozitifdir. *E. coli* izolatlarının dekarboksilaz aktivitesine göre %100’ü lizin, ornitin ve tirozin, %65’i arjinin, %60’ı histidin pozitifdir. *Bacillus* ve *E. coli* izolatlarının antibiyotik dirençliliklerinin saptanmasında disk difüzyon yöntemi kullanılmıştır. *E. coli*’lerin GSBL üretimini belirlemek için çift disk sinerji testi uygulanmıştır. *Bacillus* izolatları (%79,2) novobiyosin, (%71,6) ampisilin, (%70,1) basitrasin, (%67,2) penisilin, (%52,2) eritromisin, (%16,4) tetrasiklin, (%11,9) vankomisin, (%7,5) kloramfenikol ve (%7,5) amikasin antibiyotiklerine dirençli bulunmuştur. *E.coli* izolatlarının 16’sı (%80) GSBL pozitif bulunmuştur. *E. coli* izolatları (%100) ampisilin, (%55) gentamisin, (%50) kloramfenikol, (%45) seftazidim, (%40) aztreonam, (%40) tetrasiklin, (%30) amoksisilin-klavulanik asit, (%30) siprofloksasin, (%30) amikasin, (%25) sefotaksim, (%15) seftriakson, (%15) ertapenem antibiyotiklerine dirençli bulunurken (%100) imipeneme duyarlı olarak bulunmuştur.

Bilim Kodu : 20304
Anahtar Kelimeler : *Escherichia coli*, *Bacillus*, Süt, Dondurma, Peynir, Patojenite Kriteri
Sayfa Adeti : 153
Danışman : Prof. Dr. Neslihan GÜNDOĞAN

PATHOGENICITY CRITERIA OF GRAM POSITIVE AND GRAM NEGATIVE BACTERIA ISOLATED FROM MILK AND DAIRY PRODUCTIONS

(M.Sc. Thesis)

Müge KERA

GAZİ UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

May, 2019

ABSTRACT

The aim of the present study is to investigate the slime, biofilm, lipase, lechitinase, gelatinase, DNase, hemolysin and siderophore production, amino acid decarboxylase activity and antibiotic resistance of 67 *Bacillus* spp. isolates from 100 raw milk, cheese and ice cream samples purchased from open bazaars, pastry shops and dairy plants in Ankara. The present study is also carried out to identify slime, biofilm, hemolysin, siderophore and amino acid decarboxylase properties, antibiotic resistance and extended spectrum β -lactamase (ESBL) production of 20 *Escherichia coli* isolates isolated from these samples. Of the 67 *Bacillus* isolates, 36 (53.7%) were identified as *Bacillus subtilis*, 12 (17.9%) as *Bacillus cereus*, 10 (14.9%) as *Bacillus megaterium*, 6 (9%) as *Bacillus licheniformis*, 2 (3%) as *Bacillus circulans*, 1 (1.5%) as *Bacillus brevis*. A high proportion of *Bacillus* isolates had slime formation (94.1%), biofilm formation (88.1%), hemolytic activity (79.1%), DNase activity (79.1%), lipase production (79.1%), gelatinase production (76.7%), siderophore production (62.7%), protease production (61.2%), lechitinase production (41.8%). The frequency of positive slime formation, biofilm formation, siderophore production and hemolysis for *E. coli* isolates were 100%, 90%, 70% respectively. Decarboxylase activity was quite common for *Bacillus* isolates and 100% of the isolates could decarboxylate arginine and histidine. The isolates also could decarboxylate tyrosine (98.5%), lysine (92.5%), ornithine (92.5%). The ability to decarboxylate lysine, ornithine and tyrosine was present in all isolates of *E. coli* 100% and 65%, and 60% of the isolates also decarboxylate arginine and histidine respectively. Resistance to antimicrobials was tested in all *Bacillus* and *E. coli* isolates by the disk diffusion method. The double-disk synergy test was used to determine ESBL production in *E. coli*. *Bacillus* isolates were found to be resistant to (79.2%) novobiocin, (71.6%) ampicillin, (70.1%) bacitracin, (67.2%) penicillin, (52.2%) erythromycin, (16.4%) tetracycline, (11.9%) vancomycin, (7.5%) chloramphenicol and (7.5%) amikacin. ESBL production was detected in 16 (80%) *E. coli* isolate. The study also showed that *E. coli* isolates exhibit to (100%) ampicillin, (55%) gentamicin, (50%) chloramphenicol, (45%) ceftazidime, (40%) aztreonam, (40%) tetracycline, (30%) amoxicillin-clavulanic acid, (30%) ciprofloxacin, (30%) amikacin, (25%) cefotaxime, (15%) ceftriaxone, (15%) ertapenem but sensitive to (100%) imipenem.

Science Code : 20304
Key Words : *Escherichia coli*, *Bacillus*, Milk, Ice Cream, Cheese, Pathogenicity
Page Number : 153
Supervisor : Prof. Dr. Neslihan GÜNDOĞAN

TEŞEKKÜR

Çalışmalarım boyunca değerli yardım ve bilgileriyle beni yönlendiren, destek ve katkılarını benden esirgemeyen değerli danışman hocam Prof. Dr. Neslihan GÜNDOĞAN'a, yine çalışmalarım süresince yardım ve desteklerini her an hissettiren Prof. Dr. Nihal YÜCEL, Prof. Dr. Sumru ÇITAK, Araş. Gör. Meryem Burcu KÜLAHÇI'ya, bu süreçte her an destek olan, dostluğunu eksik etmeyen Pınar MEMİŞ'e ve tüm laboratuvar arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım. İlk kelimemi öğrenmemden bugüne kadar yanımda olan, maddi ve manevi desteklerini hep yanımda hissettiğim babam Enver TÜRK'e, annem Ayşe TÜRK'e, ablam Derya KAYABAĞLI'ya, kardeşim Özge TÜRK'e, beni kendi evlatlarından ayırmayan ikinci annem Huriye KERA'ya ve hep desteğini hissettiğim ikinci babam Yaşar KERA'ya teşekkürlerimi sunarım. Laboratuvar çalışmalarım, tez yazım sürecimde ve hayatın her evresinde yanımda olan elimi hiç bırakmayan sevgili eşim Haydar Mehmet KERA'ya teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	xi
ŞEKİLLERİN ÇİZELGESİ	xv
RESİMLERİN ÇİZELGESİ	xvi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xviii
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI.....	7
2.1. Süt ve Süt Ürünlerinin Mikroflorası.....	7
2.2. <i>E. coli</i> 'nin Genel Özellikleri	10
2.3. <i>E. coli</i> Suşlarının Biyokimyasal Özellikleri	11
2.4. <i>E. coli</i> Sınıflandırması.....	13
2.4.1. Shiga toksin üreten <i>E. coli</i>	15
2.4.2. Enteropatojenik <i>E. coli</i>	16
2.4.3. Enterotoksijenik <i>E. coli</i>	17
2.4.4. Enteroinvazif <i>E. coli</i>	18
2.4.5. Enteroagregatif <i>E. coli</i>	19
2.4.6. Diffüz agregatif <i>E. coli</i>	19
2.5. <i>E. coli</i> Suşlarının Epidemiyolojisi.....	20
2.6. <i>E. coli</i> 'nin Patojenite Kriterleri	23
2.7. <i>Bacillus</i> Cinsinin Genel Özellikleri.....	26
2.8. <i>Bacillus</i> Cinsinin Biyokimyasal Özellikleri	28

	Sayfa
2.9. <i>Bacillus subtilis</i> 'in Genel Özellikleri	29
2.10. <i>Bacillus cereus</i> 'un Genel Özellikleri	31
2.11. <i>Bacillus megaterium</i> 'un Genel Özellikleri.....	32
2.12. <i>Bacillus licheniformis</i> 'in Genel Özellikleri.....	33
2.13. <i>Bacillus circulans</i> 'ın Genel Özellikleri.....	33
2.14. <i>Bacillus brevis</i> 'ın Genel Özellikleri	34
2.15. <i>E. coli</i> ve <i>Bacillus</i> Suşlarında Slime ve Biyofilm Oluşumu	34
2.16. <i>Bacillus</i> ve <i>E. coli</i> Suşlarında Hemolitik Aktivite	41
2.17. <i>Bacillus</i> Türleri ve <i>E. coli</i> 'de Siderofor Üretimi.....	41
2.18. <i>Bacillus</i> Türlerinde Bazı Enzim Aktiviteleri.....	42
2.19. <i>Bacillus</i> Türlerinde DNaz Aktivitesi.....	43
2.20. <i>Bacillus</i> Türleri ve <i>E.coli</i> 'de Amino Asit Dekarboksilaz Aktivitesi.....	43
2.21. <i>Bacillus</i> Türleri ve <i>E. coli</i> 'de Antimikrobiyal Direnç.....	44
2.22. <i>E. coli</i> 'de Geniş Spektrumlu Beta Laktamaz (GSBL) Aktivitesi.....	45
3. MATERYAL VE METOD	47
3.1. <i>Bacillus</i> Türlerinin İzolasyonu	47
3.2. <i>E. coli</i> İzolasyonu.....	48
3.3. <i>Bacillus</i> ve <i>E. coli</i> İzolasyonu ve İdentifikasyonunda Kullanılan Besiyerleri ve Testler	48
3.3.1. Tamponlanmış Peptonlu Su	48
3.3.2. Nutrient Agar.....	49
3.3.3. Eosine Methylene Blue Agar	49
3.3.4. Kanlı Agar	49
3.3.5. Triple Sugar Iron Agar	50
3.3.6. Gram boyama yöntemi	51
3.3.7. Katalaz testi.....	51

	Sayfa
3.3.8. Üreaz testi.....	51
3.3.9. İndol testi.....	52
3.3.10. Metil Red (MR) – Voges Proskauer (VP) testi	53
3.3.11. Sitrat testi.....	55
3.3.12. Karbonhidrat fermentasyon testi	56
3.4. Slime Faktör Testi	57
3.5. <i>Bacillus</i> Türlerinde Biyofilm Oluşumunun Ölçülmesi	58
3.6. <i>E. coli</i> 'de Biyofilm Oluşumunun Ölçülmesi.....	59
3.7. <i>Bacillus</i> Türlerinde Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi	62
3.8. <i>Bacillus</i> Türlerinde DNaz Aktivitesi Testi.....	66
3.9. <i>Bacillus</i> Türleri ve <i>E. coli</i> 'nin Hemolitik Aktivite Testi.....	67
3.10. <i>Bacillus</i> Türleri ve <i>E. coli</i> 'nin Siderofor Aktivitesi Testi	68
3.11. <i>E. coli</i> ve <i>Bacillus</i> Türlerinde Amino Asit Dekarboksilaz Aktivitesinin Belirlenmesi.....	70
3.12. <i>Bacillus</i> Türlerinin Antibiyotik Dirençlilik Aktivitesinin Belirlenmesi	71
3.13. <i>E. coli</i> 'de Antibiyotik Dirençliliğinin ve Geniş Spektrumlu Beta-Laktamaz (GSBL) Aktivitesinin Belirlenmesi.....	72
4. BULGULAR	77
4.1. Congo Red Agar (CRA) İle Slime Sonuçları	79
4.1.1. <i>Bacillus</i> türlerinin slime sonuçları.....	79
4.1.2. <i>E. coli</i> izolatlarında slime sonuçları	82
4.2. Mikroplate ile Biyofilm Ölçüm Sonuçları	83
4.2.1. <i>Bacillus</i> izolatlarının biyofilm ölçüm sonuçları	83
4.2.2. <i>E. coli</i> izolatlarının biyofilm ölçüm sonuçları.....	89
4.3. <i>Bacillus</i> Türlerinde Enzim Aktivitesi Sonuçları	91
4.4. <i>Bacillus</i> Türlerinde DNaz Aktivitesi Sonuçları	96
4.5. Hemolitik Aktivite Testi Sonuçları	100

	Sayfa
4.5.1. <i>Bacillus</i> türlerinde hemolitik aktivite testi sonuçları	100
4.5.2. <i>E. coli</i> izolatlarının hemolitik aktivite sonuçları	103
4.6. Siderofor Testi Sonuçları	104
4.6.1. <i>Bacillus</i> izolatlarının siderofor testi sonuçları.....	104
4.6.2. <i>E. coli</i> izolatlarının siderofor testi sonuçları	107
4.7. Amino Asit Dekarboksilaz Testi Sonuçları.....	108
4.7.1. <i>Bacillus</i> izolatlarının amino asit dekarboksilaz aktivitesi sonuçları	108
4.7.2. <i>E. coli</i> 'nin amino asit dekarboksilaz testi sonuçları.....	111
4.8. Antibiyotik Duyarlılık Testi Sonuçları.....	113
4.8.1. <i>Bacillus</i> türlerinde antibiyotik duyarlılık testi sonuçları	113
4.8.2. <i>E. coli</i> izolatlarında antibiyotik duyarlılık tesiti sonuçları	120
4.9. <i>E. coli</i> İzolatlarının Geniş Spektrumlu Beta Laktamaz (GSBL) Aktivitesi Testi Sonuçları.....	122
5. TARTIŞMA	123
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	137
KAYNAKLAR	139
ÖZGEÇMİŞ	153

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Diyarojenik <i>E.coli</i> 'nin 5 farklı sınıfının karakteristik özellikleri	14
Çizelge 2.2. <i>Bacillus</i> cinsinin taksonomik sınıflandırılması.....	27
Çizelge 3.1. <i>Bacillus</i> türlerinin antibiyotik dirençliliğinin belirlenmesinde kullanılan antibiyotikler	71
Çizelge 3.2. Kirby-Bauer Disk Difüzyon yönteminde kullanılan antibiyotikler ve zon çapları	72
Çizelge 3.3. Çift disk sinerji yönteminde kullanılan antibiyotikler	74
Çizelge 4.1. Gıda örneklerinden izole edilen <i>Bacillus</i> izolatlarının dağılımı	77
Çizelge 4.2. Gıda örneklerinden izole edilen <i>Bacillus</i> türlerinin gıda örneklerine göre dağılımı	78
Çizelge 4.3. Gıda örneklerinden izole edilen <i>E. coli</i> izolatlarının dağılımı.....	78
Çizelge 4.4. Çiğ süt örneklerinden izole edilen <i>Bacillus</i> izolatlarının slime sonuçları ..	79
Çizelge 4.5. Peynir örneklerinden izole edilen <i>Bacillus</i> izolatlarının slime sonuçları ...	80
Çizelge 4.6. Dondurma örneklerinden izole edilen <i>Bacillus</i> izolatlarının slime sonuçları	80
Çizelge 4.7. Gıda örneklerinden izole edilen slime (+) ve slime (-) <i>Bacillus</i> izolatlarının dağılımları	81
Çizelge 4.8. Gıda örneklerinden izole edilen slime (+) ve slime (-) <i>Bacillus</i> türlerinin dağılımları	81
Çizelge 4.9. Çiğ süt örneklerinden izole edilen <i>E. coli</i> izolatlarının slime sonuçları	82
Çizelge 4.10. Peynir örneklerinden izole edilen <i>E. coli</i> izolatlarının slime sonuçları	82
Çizelge 4.11. Gıdalardan izole edilen <i>E. coli</i> izolatlarında slime oluşumunun yüzdeleri	83
Çizelge 4.12. Çiğ süt örneklerinden izole edilen <i>Bacillus</i> izolatlarının TSB+%1 Glikoz'da 24 saat ve 48 saat sonundaki tutunma sonuçları	83
Çizelge 4.13. Peynir örneklerinden izole edilen <i>Bacillus</i> izolatlarının TSB+%1 Glikoz'da 24 saat ve 48 saat sonundaki tutunma sonuçları	84

Çizelge	Sayfa
Çizelge 4.14. Dondurma örneklerinden izole edilen <i>Bacillus</i> izolatlarının TSB+%1 Glikoz'da 24 saat ve 48 saat sonundaki tutunma sonuçları	85
Çizelge 4.15. Gıda örneklerinden izole edilen <i>Bacillus</i> izolatlarının TSB+%1 glikozlu besiyerinde 24 ve 48 saat inkübasyon sonucunda biyofilm oluşumları	85
Çizelge 4.16. Gıda örneklerinden izole edilen <i>Bacillus</i> türlerinin 37 °C'de TSB+%1 glikozlu besiyerinde 24 saat sonundaki tutunma yüzdeleri	87
Çizelge 4.17. Gıda örneklerinden izole edilen <i>Bacillus</i> türlerinin 37 °C'de TSB+%1 glikozlu besiyerinde 48 saat sonundaki tutunma yüzdeleri	88
Çizelge 4.18. Çiğ süt örneklerinden izole edilen <i>E. coli</i> izolatlarının TSB ve TSB+%1 glikozlu besiyerinde 24 saat sonundaki tutunma sonuçları	89
Çizelge 4.19. Peynir örneklerinden izole edilen <i>E.coli</i> izolatlarının TSB ve TSB+%1 Glikozda 24 saat sonundaki tutunma sonuçları	90
Çizelge 4.20. Gıda örneklerinden izole edilen <i>E. coli</i> izolatlarının 37 °C'de TSB'de 24 saat sonundaki tutunma yüzdeleri	91
Çizelge 4.21. Gıda örneklerinden izole edilen <i>E. coli</i> izolatlarının 37 °C'de TSB+%1 Glikoz'da 24 saat sonundaki tutunma yüzdeleri.....	91
Çizelge 4.22. Çiğ süt örneklerinden elde edilen <i>Bacillus</i> izolatlarının enzim aktivitesi sonuçları.....	92
Çizelge 4.23. Peynir örneklerinden izole edilen <i>Bacillus</i> izolatlarının enzim aktivitesi sonuçları.....	93
Çizelge 4.24. Dondurma örneklerinden izole edilen <i>Bacillus</i> izolatlarının enzim aktivitesi sonuçları.....	94
Çizelge 4.25. Gıdalardan izole edilen <i>Bacillus</i> izolatlarının enzim aktiviteleri dağılımları.....	94
Çizelge 4.26. Gıda örneklerinden izole edilen <i>Bacillus</i> türlerinin enzim aktivitesi sonuçları	95
Çizelge 4.27. Çiğ süt örneklerinden izole edilen <i>Bacillus</i> izolatlarının DNaz aktivitesi sonuçları.....	96
Çizelge 4.28. Peynir örneklerinden elde edilen <i>Bacillus</i> izolatlarının DNaz aktivitesi sonuçları.....	97
Çizelge 4.29. Dondurma örneklerinden izole edilen <i>Bacillus</i> izolatlarının DNaz aktivitesi sonuçları.....	98

Çizelge	Sayfa
Çizelge 4.30. Gıdalardan izole edilen <i>Bacillus</i> izolatlarının gıda örneklerine göre DNaz aktivitesi dağılımları.....	98
Çizelge 4.31. Gıda örneklerinden izole edilen <i>Bacillus</i> türlerinin DNaz aktivitesi sonuçları	99
Çizelge 4.32. Gıda örneklerinden izole edilen <i>Bacillus</i> izolatlarının hemolitik aktivite yüzdeleri	100
Çizelge 4.33. Çiğ süt örneklerinden elde edilen <i>Bacillus</i> izolatlarının hemolitik aktivite sonuçları	100
Çizelge 4.34. Peynir örneklerinden izole edilen <i>Bacillus</i> izolatlarının hemolitik aktivitesi sonuçları.....	101
Çizelge 4.35. Dondurma örneklerinden izole edilen <i>Bacillus</i> izolatlarının hemolitik aktivitesi sonuçları.....	102
Çizelge 4.36. Gıda örneklerinden izole edilen <i>Bacillus</i> türlerinin hemolitik aktivite sonuçları	102
Çizelge 4.37. Çiğ süt örneklerinden elde edilen <i>E. coli</i> izolatlarının hemolitik aktivite sonuçları	103
Çizelge 4.38. Peynir örneklerinden izole edilen <i>E. coli</i> izolatlarının hemolitik aktivite sonuçları	103
Çizelge 4.39. Gıda örneklerinden izole edilen <i>E. coli</i> izolatlarında hemolitik aktivite yüzdeleri	103
Çizelge 4.40. Çiğ süt örneklerinden izole edilen <i>Bacillus</i> izolatlarının siderofor aktivitesi sonuçları.....	104
Çizelge 4.41. Peynir örneklerinden izole edilen <i>Bacillus</i> izolatlarının siderofor aktivitesi sonuçları.....	105
Çizelge 4.42. Dondurma örneklerinden izole edilen <i>Bacillus</i> izolatlarının siderofor aktivitesi sonuçları.....	105
Çizelge 4.43. Gıda örneklerinden izole edilen <i>Bacillus</i> izolatlarının siderofor aktivitesi sonuçları.....	106
Çizelge 4.44. Gıda örneklerinden izole edilen <i>Bacillus</i> türlerinin siderofor aktivitesi sonuçları	106
Çizelge 4.45. Gıda örneklerinden izole edilen <i>E. coli</i> izolatlarında siderofor oluşumu yüzdeleri	107
Çizelge 4.46. Çiğ süt örneklerinden izole edilen <i>E. coli</i> izolatlarının siderofor aktivitesi sonuçları.....	107

Çizelge	Sayfa
Çizelge 4.47. Peynir örneklerinden izole edilen <i>E. coli</i> izolatlarının siderofor aktivitesi sonuçları.....	107
Çizelge 4.48. Çiğ süt örneklerinden izole <i>Bacillus</i> cinsine ait izolatların aminoasit dekarboksilaz testi sonuçları.....	108
Çizelge 4.49. Peynir örneklerinden izole edilen <i>Bacillus</i> cinsine ait izolatlarının amino asit dekarboksilaz testi sonuçları	109
Çizelge 4.50. Dondurma örneklerinden izole edilen <i>Bacillus</i> cinsine ait izolatların amino asit dekarboksilaz testi sonuçları.....	110
Çizelge 4.51. Gıdalardan izole edilen <i>Bacillus</i> türlerinin aminoasit dekarboksilaz aktivite sonuçları	110
Çizelge 4.52. Gıdalardan izole edilen <i>E. coli</i> izolatlarının aminoasit dekarboksilaz aktivite sonuçları	111
Çizelge 4.53. Çiğ süt örneklerinden izole edilen <i>Bacillus</i> türlerinin antibiyotik duyarlılık testi sonuçları	114
Çizelge 4.54. Peynir örneklerinden izole edilen <i>Bacillus</i> türlerinin antibiyotik duyarlılık testi sonuçları	116
Çizelge 4.55. Dondurma örneklerinden izole edilen <i>Bacillus</i> türlerinin antibiyotik duyarlılık testi sonuçları	118
Çizelge 4.56. Gıda örneklerinden izole edilen <i>E. coli</i> izolatlarının antibiyotik dirençlilikleri	120
Çizelge 4.57. Çiğ süt örneklerinden izole edilen <i>E. coli</i> izolatlarının antibiyotik dirençlilikleri	120
Çizelge 4.58. Peynir örneklerinden izole edilen <i>E. coli</i> izolatlarının antibiyotik dirençlilikleri	121
Çizelge 4.59. Gıda örneklerinden izole edilen GSBL (+) ve GSBL (-) <i>E. coli</i> izolatlarının dağılımı	122

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Diyarojenik <i>E. coli</i> izolatlarının frekans dağılımı	14
Şekil 2.2. <i>B. subtilis</i> grubunda taksonomik gelişme	30
Şekil 2.3. <i>B. cereus</i> grubunda taksonomik gelişme	32
Şekil 4.1. Gıda örneklerinden izole edilen <i>Bacillus</i> izolatlarının türlere göre dağılımı	77
Şekil 4.2. Gıdalardan izole edilen <i>Bacillus</i> izolatlarının DNaz aktivitesi yüzde dağılımları	98
Şekil 4.3. <i>E. coli</i> izolatlarının aminoasit dekarboksilaz aktivitesi dağılımı	112

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 2.1. <i>E. coli</i> elektron mikroskobu görüntüsü.....	11
Resim 2.2. Eozin Metilen Blue Agar’da <i>E. coli</i> görüntüsü	12
Resim 2.3. <i>Bacillus</i> ’un mikroskobik görüntüsü.....	28
Resim 3.1. TSI agarda fermentasyon sonucu oluşan renk değişimleri	51
Resim 3.2. Üre testi; sarı tüp: negatif; pembe tüp: pozitif.....	52
Resim 3.3. İndol testi; koloni üzerinde pembe tabaka oluşan tüp: pozitif; sarı tabaka oluşan tüp: negatif	53
Resim 3.4. Metil red pozitif	54
Resim 3.5. Koloni üzerinde siyah tabaka olan tüp: Voges proskauer pozitif, siyah tabaka olmayan tüp voges proskauer negatif.....	55
Resim 3.6. Sitrat testi: Yeşil tüp: negatif; mavi tüp: pozitif	56
Resim 3.7. Karbonhidrat fermentasyon testi: sarı tüp; negatif sonuç, mor tüp; pozitif sonuç.....	57
Resim 3.8. Slime testi: siyah koloni üremesi: pozitif sonuç	58
Resim 3.9. Tryptic Soy Broth besiyerine ekim yapılmış ve 48 saat inkübasyona bırakılmış izolatlar.....	59
Resim 3.10. Kristal viyole ile boyanmış mikropateler	61
Resim 3.11. Etil alkol ile boyası çözdürülen mikropateler	62
Resim 3.12. Koloni etrafında zon olan suşlar; proteaz pozitif sonuç, koloni etrafında zon olmayan suşlar; proteaz negatif sonuç.....	63
Resim 3.13. Koloni etrafındaki şeffaf zon; lipaz pozitif sonuç	64
Resim 3.14. Koloni etrafında siyah zonların oluşumu: lesitinaz pozitif, koloni etrafında siyah zon olmayan suşlar: lesitinaz negatif sonuç	65
Resim 3.15. Sıvı besiyeri olan tüp; jelatinaz pozitif sonuç, katı besiyeri olan tüp jelatinaz negatif sonuç	66
Resim 3.16. Koloni etrafında oluşan berrak zonlar: DNaz pozitif sonuç, koloni etrafında zon oluşmaması: DNaz negatif sonuç.....	67
Resim 3.17. Koloni etrafında siyah zon oluşumu; hemoliz pozitif sonuç, koloni etrafında zon oluşmaması; hemoliz negatif sonuç	68

Resim	Sayfa
Resim 3.18. Kolonilerin etrafında sarı zon oluşumu: siderofor pozitif sonuç	69
Resim 3.19. Tirozin testi: sarı tüp; negatif, mor tüp; pozitif sonuç	70
Resim 3.20. Arjinin testi: sarı tüp; negatif, mor tüp; pozitif sonuç	70
Resim 3.21. <i>E. coli</i> 'nin Antibiyotik duyarlılık testi.....	74
Resim 3.22. Çift disk sinerji testi: GSBL pozitif sonuç.....	75

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	Açıklamalar
%	Yüzde
°	Derece
°C	Derece santigrat
μ	Mikron
μg	Mikrogram
μm	Mikrometre
BaCl ₂	Baryumklorür
CaCO ₃	Kalsiyum karbonat
Cfu	Colony forming unit
dk	Dakika
FeCl ₃ .6H ₂ O	Demir III klorür
FeSO ₄	Demir sülfat
g	Gram
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
H ₂ S	Hidrojen sülfür
H ₂ SO ₄	Sülfirik asit
HCl	Hidroklorik asit
K ₂ HPO ₄	Dipotasyum fosfat
KCN	Potasyum siyanür
KOH	Potasyum hidroksit
Lt	Litre
MgSO ₄	Magnezyum sülfat
ml	Mililitre
mm	Milimetre
MnSO ₄	Mangan sülfat
N	Normal
NaCl	Sodyum klorür

Simgeler**Açıklamalar****Ph**

Asitlik değeri

β

Beta

Kısaltmalar**Açıklamalar*****B. anthracis****Bacillus anthracis****B. brevis****Bacillus brevis****B. cereus****Bacillus cereus****B. circulans****Bacillus circulans****B. licheniformis****Bacillus licheniformis****B. megaterium****Bacillus megaterium****B. mycoides****Bacillus mycoides****B. subtilis****Bacillus subtilis***CAS**

Chrome Azurol Sulphate

CFU

Coloni Forming Units

CLSI

Clinical and Laboratory Standards Institute

DAECDiffüz aderens *E. coli***DNA**

Deoksiribonükleik asit

DNaz

Deoksiribonükleaz

E. coli*Escherichia coli***EAEC**Enteroagregatif *E. coli***EHEC**Enterohemorajik *E. coli***EIEC**Enteroinvazif *E. coli***EPEC**Enteropatojenik *E. coli***EPS**

Ekstra sellüler polisakkarit

ETECEnterotoksijenik *E. coli***FDA**

Food and Drug Administration

GSBL

Geniş spektrumlu beta laktamaz

HACCP

Hazard Analysis and Critical Control Point

HC

Hemorajik kolitis

Hep-2

Human epitelyal tip 2

Kısaltmalar	Açıklamalar
HUS	Hemolitik üremik sendrom
<i>L. monocytogenes</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>
LEE	Locus of enterocyte effacement
MR	Metil red
PZR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
STEC	Shiga toksin üreten <i>E. coli</i>
TSB	Tryptic soy broth
TSE	Türk Standartları Enstitüsü
VP	Voges proskauer
VTEC	Verotoksijenik <i>E. coli</i>

1. GİRİŞ

İnsan beslenmesinde çok önemli yere sahip olan süt, hijyenik koşullarda üretilmediği, saklanmadığı, işlenmediği, gerekli kontrollerinin yapılmadığı durumlarda insan sağlığı açısından zararlı olabilmektedir. Çiğ süt az sayıda bakteri içerse bile sağımdan sonra çevreden çeşitli yollarla bulaşan mikroorganizmaların etkisiyle oldukça kısa sürede bozulur ve insanlarda hastalıklara yol açan birçok patojenin potansiyel kaynağını oluşturur. Bu nedenle çiğ süt insan gıdası olarak doğrudan tüketime uygun değildir [1].

Çiğ sütün kalitesini, sağımı yapılan hayvanın sağlık durumundan son ürüne dönüşünceye kadar geçen sürede etkileyen birçok faktör bulunmaktadır. Memeden bulaşan mastitisin dışında sağım aletleri, sağım yapan kişi, hava, sinek, su ve yem yoluyla süte mikroorganizma kontaminasyonu olabilir. Bunun dışında sütün nakli sırasında ve üretim aşamasında bulaşmalar da meydana gelebilmektedir. Türkiye’de yüksek kaliteye sahip çiğ sütler daha çok içme sütlerine işlenirken, peynir yapımı için kullanılan çiğ süt genellikle düşük kalitelidir. Düşük kaliteli olarak nitelendirilen çiğ sütlerin toplam bakteri sayısı oldukça yüksektir. Buna bağlı olarak da uygulanan ısıtma işlem sonrası sütte kalan mikroorganizma sayısı ve türü de yüksektir. Bu mikroorganizmalardan endospor oluşturan *Bacillus*’ların bazı türleri sütte canlı kalabilmektedir [1].

Peynir hem içerdiği besin maddelerinin insan beslenmesindeki tartışılmaz önemi, hem de ekonomik getirisi bakımından süt endüstrisinin en ayrıcalıklı ürünlerinden biridir. Peynir kalitesinde en önemli faktörlerden bir tanesi, üretimde kullanılan çiğ sütün mikrobiyal yükü dolayısıyla mikroflorasıdır [2].

Peynirin ham maddesi olan süt, insanların sağlıklı beslenebilmesi için yararlı bir kaynak olmasının yanında pek çok mikroorganizmanın gelişmesine de olanak sağlayan çok iyi bir besin ortamıdır. Çeşitli kaynaklardan süte bulaşan mikroorganizmalar, süt içerisinde hızlı bir şekilde çoğalır ve bu mikroorganizmalar çiğ süt veya yetersiz ısıtma işlem uygulanmış sütler kullanılarak üretilen peynirlere de büyük ölçüde geçmektedir. Bunun yanında peynir sütünün mikroflorasını peynir yapımı aşamalarındaki kontaminasyon da etkilemektedir [3-5].

Özellikle geleneksel ve yöresel tip peynir üretimi yapan işletmelerde temizlik ve hijyen gerektiği şekilde yapılmadığından, mikroorganizma bulaşma kaynağı oldukça fazladır. Sağım, taşıma ve depolama sırasında hijyenik koşullara yeterince uyulmaması sonucunda süte birçok mikroorganizma bulaşabilmektedir. Bu sütler kullanılarak üretilen peynirlerin olgunlaştırılmadan satışa sunulması ise patojen mikroorganizmaların canlı kalma olasılığı nedeniyle tüketici sağlığı açısından risk taşımaktadır [6].

Dondurma besin değerinin yüksek olmasına, beslenme fizyolojisindeki önemine ve her yaşta tüketiciye hitap eden ve bu nedenle sevilerek tüketilen bir ürün olmasına karşın, çoğu patojen mikroorganizmaların gelişimi için de son derece uygun bir ortamdır. Mikrobiyal kalitesi düşük ham maddelerin kullanılması, ilkel üretim teknolojileri vb. nedenlerle patojen mikroorganizmaları veya bunların toksinlerini içeren dondurmalar gıda zehirlenmelerine neden olarak, halk sağlığı açısından önemli sorunlar oluşturabilmektedir. Dondurma, üretim sırasında ısıtıl işlem uygulanan ve mikroorganizma gelişimine olanak vermeyecek şekilde düşük sıcaklıklarda muhafaza edilen bir ürün olduğundan, ilk bakışta mikrobiyolojik açıdan güvenilir kabul edilebilir. Ancak üretimin çeşitli aşamalarında hijyen koşullarının sağlanamaması gibi nedenlerle çok sayıda mikroorganizma dondurmaya kontamine olabilir. Bu mikroorganizmaların bazıları hastalık yapıcı nitelikte olmakla beraber insan sağlığı açısından da tehlike arz edebilir [7,8].

Peynir ve dondurma tüketime hazır gıdalar oldukları için üretim sonrasında herhangi bir işleme tabi tutulmaksızın satışa sunulurlar. Bu nedenle peynir ve dondurmanın mikrobiyolojik yönden mükemmel olması gerekir. Bu süt ürünlerine kontamine olmuş mikroorganizmaların büyük bir kısmı ham madde ve katkı maddelerinden kaynaklanmaktadır. Patojen mikroorganizmaların bulaşması ise alet ve ekipmanlardan, sudan çevreden, çalışanlardan, ambalaj materyallerinden ve dağıtım sırasında meydana gelmektedir [3].

Tüm ekosistemlerdeki mikroorganizmalar biyofilm olarak adlandırılan yapısal topluluklar içinde çoğalırlar [9]. Biyofilm, cansız veya canlı bir yüzeye tutunmuş bakteriler tarafından üretilen polimerik bir matriks içinde bulunan yapısal bakteriyel topluluklarıdır [10]. Gıda işletmelerinde bulunan ekipmanların yüzeyinde bakteriyel biyofilm oluşumu, ürünün çapraz kontaminasyon tehlikesini arttırır. Biyofilm içinde üreyen ve çoğalan patojenik

veya bozulma etkeni olan mikroorganizmaların artması, gıdalarda son ürünün kalitesi ve güvenliği üzerinde olumsuz bir etkiye sahip olabilir [11].

Çoğu bakteri, süt işletmelerindeki pastörizatörler, dolum makineleri, depolama tankları, soğutma boruları gibi gıdayla temas eden tüm yüzeylerde ve hatta plastik eldivenler ve yer paspasları gibi temizleme ve taşıma aletlerinde biyofilmler oluşturabilir ve böylece gıda kontaminasyonunun ana kaynağı olabilirler. *Bacillus* türlerinin ve *Escherichia coli* gibi bazı serotipleri patojenik olan bakterilerin süt işletmelerinde kalıcılığının olası bir nedeni biyofilm oluşturmalarıdır. Biyofilm üretimi, bakterilerin abiyotik veya biyotik yüzeylere bağlanma, çoğalma ve slime olarak da bilinen hücre dışı bir matris üretme yeteneğine bağlıdır. *Bacillus* sporları çok hidrofiliktir ve kolayca çelik, cam ve lastik yüzeylere yapışır. Alet ve ekipmanların yüzeylerdeki kısa temizleme programları bütün sporları elemine etmeyebilir. Yüzeylere tutunan sporların, dezenfektan ile elemine edilmesi daha da zordur. Birçok *Bacillus* sporu sütte ısıl aktivasyonda hızlıca çimlenir ve uygun koşullar bulup çoğaldıklarında, oluşturdukları biyofilm sayesinde yok edilmeleri oldukça zordur [11, 12].

Buna rağmen genellikle çiğ sütteki patojenler, sütün ısıl işlemi sonrasında önemli ölçüde elemine olurlar. Ancak bazı bakterilerin ısıya dirençli enzimleri çiğ sütte varlıklarını sürdürürler. Süt ürünlerinin kalitesi, ısıl işlem öncesi çiğ sütteki psikrotrofik flora tarafından üretilen ısıya dirençli enzimlerden ve süt ürünlerinin soğukta depolanması boyunca gelişen psikrotroflar tarafından üretilen diğer metabolitlerden etkilenir [5].

Süt ürünlerinin psikrotrof florası, süt öğelerini ayrıştırabilecek mikrobiyal kökenli proteaz ve lipaz gibi ekstrasellüler enzimler üretirler. Genel olarak Gram-pozitif mikroorganizmalar proteolitik ve lipolitik aktivite sergilemektedirler. *Bacillus* türleri, proteaz, lipaz, lesitinaz ve fosfolipaz gibi çeşitli hücre dışı sindirim enzimleri üretirler. Isıya dayanıklı proteolitik ve lipolitik enzimler, ısıl işlem sonrası gıdaların depolanma sırasındaki kalitesini olumsuz yönde etkiler. Örneğin *B. cereus*, lesitinaz (fosfolipaz-C) üreterek sütlerde “bitty cream” yani “parçalı krema” adlı bozulmaya ve benzer etkilere yol açmaktadır. Mikrobiyal kaynaklı lipaz, peynirde ransit hatalara, proteaz ise UHT sütte jelleşme ve acı tat oluşumuna yol açabilir. Bunlar ekonomik olarak önemli kayıplara yol açan psikrotrofik bakteriyel enzimlerdir [5].

Birçok patojenik bakteri hücre dışı DNaz üretme yeteneğine sahiptir. DNaz zedelenmiş dokularda bulunan hücrelerin DNA'sını eriterek tahrip eder. Böylece patojenler daha kolay yayılma olanağı bulurlar. Yaralarda bulunan ve yapısının büyük bir bölümünü ölmüş fagositik hücreler oluşturan irindeki DNA'ları eridiğinden içlerinde bulunan mikroorganizmalar daha kolayca ve serbest hareket edebilmektedirler.

Hemolizinler, bazı Gram-pozitif ve negatif mikroorganizma tarafından sentezlenen, toksik karakterde, alyuvarları parçalama özelliği bulunan maddelerdir. Hemolizinler alyuvarların membranında zedelenmeler yaparak hemoglobinin dışarı çıkmasına yol açarlar. Mikroorganizmaların bir kısmı kanlı agarda alfa hemoliz (koloni etrafında tam açılmanın olmadığı yeşilimsi görünüm), bir kısmı ise tam hemoliz (beta hemoliz) oluşturabilir [13].

Sideroforlar (mikrobiyal demir şelatörleri), Deoksiribonukleaz (DNaz) ve hemolizinler, ekstrasellüler nitelikte virülans faktörleridir. Bunlar mikroorganizmaların yayılma kabiliyetlerine (invazif özellik) ve hastalık oluşturmalarına yardımcı olurlar.

Demir birçok ve aerotolerant mikroorganizmanın yaşaması ve çoğalması için gerekli bir elementtir. Ayrıca, demir içeren bazı enzimlerin (sitokrom, katalaz) sentezleri içinde demire gereksinim vardır. Gram-pozitif bakterilerde demir kompleksleri, hücre dışı ortamdan spesifik membrana bağlı reseptörler ve ABC tip taşıyıcılara ait taşıma proteinleri tarafından alınır. *E. coli*'de demir bağlayan protein (enterochelin) bulunmaktadır. Bu protein polimerize ferrik demiri solubulize ederek hücre içine girmesine yardımcı olur. Demir bağlayan proteinlere bakterilerde siderofor adı verilmektedir. Konakçı serumunda bulunan transferrin, süt, sıvı ve mukozalarda bulunan laktoferrin demir içeren birer protein olarak bilinmektedir. Ayrıca kanda da hemin bulunmaktadır. Ortamlarda demirin bulunması bakterilerin üremesi ve toksin sentezleri üzerine olumlu etkide bulunur. Elementer demir, bakteriyel metabolizma için gerekli bir kofaktör olduğundan in vivo olarak demir alımı; bakterilerin virülans özelliği için önemli bir adımdır [14].

Aminoasitlerin dekarboksilasyonu sonucunda oluşan biyojen aminler (BA), gıdaların bozulması ve gıda güvenliği ile yakından ilişkilidir. Bu aminler, hammaddeye özgü dekarboksilaz aktivitesi sonucunda üretilebildikleri gibi, dekarboksilaz pozitif mikroorganizmaların uygun koşullar altında gerçekleştirdikleri enzim akitivtesi ile de

oluşturulmaktadır. Peynir, BA üretimi için ideal bir ortam oluşturmaktadır. Bunların miktar ve tipini belirleyen ana faktörlerden biri ve en önemlisi, peynirin proteolizine bağlı olarak BA üretimine uygun aminoasitlerin ve aminoasitleri dekarboksile edebilen bakterilerin varlığıdır. Pek çok bakteriyel tür, peynirlerde BA oluşumu üzerinde etkili olabilmektedir [15].

Son yıllarda antibiyotiklere karşı giderek artan direnç sorunu tüm dünyayı tehdit eder hale gelmiştir. Buna bağlı olarak direnç kazanmış mikroorganizmaların neden olduğu infeksiyonlar yaygınlaşmıştır. Çiftlik hayvanlarının bağırsak floralarında bulunan antibiyotik dirençli mikroorganizmaların, hayvan beslenmesinde büyüme destekleyici olarak kullanılan antibiyotiklerden ileri geldiği düşünülmektedir. Gastrointestinal sistemde bulunan mikroorganizmalar ve patojenler arasında gen transferinin olduğu bildirilmektedir. Bu sebeple kısa bir süre sonra patojen mikroorganizmaların çoğunun, birçok antibiyotiğe karşı dirençli olabilme ihtimali yüzünden hastalıkların sağaltımının güçleşmesi söz konusudur [16].

Beta-laktam antibiyotiklerini hidrolize ederek inaktif hale getiren beta-laktamaz enzim üretimi, başta *Enterobacteriaceae* üyeleri olmak üzere birçok bakteri türünün en önemli direnç mekanizmalarından birisidir. Bugüne kadar 350'ye yakın beta-laktamaz enzimi tanımlanmıştır. Bunların yaklaşık 150'si geniş spektrumlu beta laktamazlar (GSBL, extended-spectrum beta-lactamases, ESBL) olup plazmidik özellikleri nedeniyle bakteriler arasında transfer edilebilir. GSBL'ler Gram-negatif basillerde bulunan, geniş spektrumlu sefalosporinler ve aztreonam karşı dirençten sorumlu olan enzimlerdir.

Özellikle *Klebsiella* türleri ve *E. coli* başta olmak üzere, GSBL üretimi patojen bakteriler arasında hızla yayılması son yıllarda ciddi sorunlar oluşturmaktadır [17,18].

Yapılan literatür araştırmasında *Bacillus* türlerinin çeşitli gıda örneklerinden izolasyonuna dair çalışmalara sıklıkla rastlanmış ancak çiğ süt, peynir ve dondurmada izole edilen *Bacillus* türlerinin slime, biyofilm ve siderofor üretimi, aminoasit dekarboksilaz ve DNaz aktivitelerine ait toplu bir çalışmaya rastlanamamıştır. Ayrıca çiğ süt, peynir ve dondurmada izole edilen *E. coli* izolatlarının slime, biyofilm ve siderofor üretimi ve aminoasit dekarboksilaz aktivitelerine dair ülkemizde yapılan çok az çalışma mevcuttur.

Bu çalışma kapsamında Ankara’da tüketime sunulan çiğ süt, peynir ve dondurma, *Bacillus* türleri ve *E. coli*’nin bulunma sıklığı açısından incelenmiştir. İzole edilen *B. subtilis*, *B. cereus*, *B. megaterium*, *B. licheniformis*, *B. circulans* ve *B. brevis* izolatlarının slime, biyofilm, lipaz, proteaz, lesitinaz, jelatinaz, DNaz enzim aktiviteleri, siderofor oluşumu, hemolitik aktivite, aminoasit dekarboksilaz aktivitesi ve antibiyotik dirençliliği incelenmiştir. Aynı gıda örneklerinden *E. coli* izolatlarının da slime, biyofilm, siderofor oluşumu, hemolitik aktivite, aminoasit dekarboksilaz aktivitesi, antibiyotik dirençliliği ve geniş spektrumlu beta laktamaz (GSBL) aktivitesi incelenmiştir.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Süt ve Süt Ürünlerinin Mikroflorası

Çiğ süt, bir veya daha fazla inek, keçi, koyun veya mandanın sağılmasıyla elde edilen, 40 °C'nin üzerinde ısıtılmamış veya eşdeğer etkiye sahip herhangi bir işlem görmemiş kolostrum dışındaki meme bezi salgısıdır [19].

Süt beslenmede büyük öneme sahip olan temel besin maddesi olmasına karşın bir çok mikroorganizmanın üremesi için de mükemmel bir ortam oluşturmaktadır. Süt memede bulunduğu dönemde sterildir, ancak sağım sonrasında ve sağımdan sonra çeşitli aşamalarda süte mikroorganizmalar bulaşabilir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda süütün memede bulunduğu dönemde bile az sayıda ancak insanda hastalık etmeni olmayan mikroorganizma içerdiği gösterilmiştir [20].

Süt sağıldığında, mikrobiyolojik florası ne olursa olsun üç aşamada mikroorganizmalar ile karşılaşabilmekte ve önlem alınmadığı takdirde kontamine olabilmektedir. Bu aşamalar sırasıyla; meme kanalı, meme başları ve meme lobunun dış yüzeyi yani hayvanın kendisinden gelen etmenler, sağım aletleri ve sütü tüketiciye ulaştırana kadar bekletme koşullarıdır. Bu aşamaların üzerinde titizlikle durulması gerektiği aksi takdirde tüketicinin çok ciddi sorunlarla karşılaşacağı açıktır [20].

Çiğ süttten izole edilen psikrotrof gram pozitif bakterilerden *Bacillus*, *Clostridium*, *Corynebacterium*, *Microbacterium*, *Micrococcus*, *Arthobacter*, *Streptococcus*, *Staphylococcus* ve *Lactobacillus* dışında diğer gruplar ısıya dayanıklı psikrotrof bakteri içerirler. Mikrobiyal türler arasında süte uygulanan ısı işlemler sonrasında canlı kalabilen bakteriler *Bacillus* türleridir ve bunlar süttten izole edilen en yaygın Gram pozitif bakterilerdir. Fizyolojik özelliklerine göre bu bakteriler mezofilik, termofilik ve psikrotrof suşlar içermektedirler [20]. *Bacillus spp.* grubu oldukça heterojen bir bakteri grubudur ve farklı besinsel ihtiyaçları ile karakterize edilmektedirler. Bu bakteri grubu geniş sıcaklık ve pH değerleri aralığında gelişebilmekte ve osmotik basınca farklı direnç göstermektedir. Farklı fizyolojik özelliklerinden dolayı süt ve ürünlerinden izole edilen bu bakterilerin

prosedürlerinin standardizasyonu ve inaktivasyon koşullarının tanımlanması oldukça zordur [20].

Sütte hastalığa neden olan ya da olmayan mikroorganizmaları genel hatlarıyla belirtmek gerekirse;

Laktozu fermente eden bakteriler: Laktobasiller, Streptokoklar, *E. coli*.

Proteolitik bakteriler: *B. cereus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus calidolaktis*, *Pseudomonas fluorescens*.

Lipolitik bakteriler: *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas lipolyticum*.

Termofilik bakteriler: *Corynebacterium*, Mikrokoklar, Streptokoklar ve *Bacillus* cinsi.

Psikrotrofilik bakteriler: *Pseudomonas* cinsi, *Serratia* cinsi, *Alcaligenes*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium*.

Anormal renge neden olan bakteriler: *Serratia marcescens*, *Pseudomonas synchyanea*, *Micrococcus roseus*.

Patojen bakteriler: *Brucella abortus*, *Streptococcus agalactica*, *Streptococcus pyogenes*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Salmonella* spp., *Listeria* spp., *Staphylococcus aureus* olmak üzere sınıflandırmak olanaklıdır [21].

Süt yukarıda belirtildiği gibi hastalık etkeni olsun olmasın bir çok mikroorganizma gelişimi için uygun bir ortamdır. Çiğ süt içerisinde hastalık oluşturan mikroorganizmaların hiçbir koşulda bulunmaması gerekmektedir. *Brucella abortus*, Enterokoklar, *Mycobacterium tuberculosis*, A grubu Streptokoklar, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* ve Riketsiyalar infekte sütle bulaşabilen mikroorganizmalardır.

Koliform, *Salmonella* ve Enterokokların, çiğ sütlerin yapısında bulunması o sütün bağırsak orijinli bir kaynakla temas ettiğinin ve söz konusu bu süt içerisinde her türlü hastalığın nedeni olabilecek mikroorganizmaların bulunabileceğinin ifadesi olarak gösterilmektedir.

Bazı araştırmacılar, sütün koliform ya da enterokokal organizmalar ile bulaşma nedenini, sağım aletlerinin yetersiz temizliğine ve uygun olmayan hijyenik koşullarda gerçekleştirilen sağma işlemine bağlamakta ve besin maddelerinin üretiminde ve işlenmesinde genellikle temizlik ölçüsü ve indikatörü olarak gösterilmektedirler [21]. Toplam bakteri sayısının yüksek bulunduğu sütlerin hijyenik koşullar altında sağılmadığı kabul edilmektedir. Toplam bakteri sayısının az ya da çok olmasına göre sütün içerdiği mikroorganizma tipleri de farklılık göstermektedir [22].

Sütte bulunan psikrotrofilik bakterilerin ana kaynakları toprak, su, hayvan ve bitkilerdir. Diğer bakterilerin tersine bu mikroorganizmaların üreme hızları düşük ısıda artmaktadır. Bu nedenlerden dolayı sağım aletleri, depolama tank ve kapları çiğ sütlerin psikrotrofilik bakteriler ile kontaminasyonu için önemli bir kaynaktır. Sağım aletlerinin ve depolama tanklarının temizliğine dikkat ederek psikrotrofilik bakterilerin üremesi kontrol altına alınabilir. Çiğ sütlerde *Bacillus*, *Clostridium* gibi spor oluşturan termofilik bakterilerin bulunması yine çevresel kaynaklı kontaminasyonu ve sanitasyon koşullarının uygulanmadığını göstermektedir. Ayrıca bu bakterilerin çiğ sütlerde bulunma oranı mevsime bağlı olarak değişiklik göstermektedir [23].

Çiğ sütte Gram pozitif spor oluşturan bakteriler, Gram negatif psikotorofik bakterilere göre daha az bulunmaktadır. Çiğ sütte bu bakterilerin daha az bulunması oluşum sürelerinden (yaklaşık 8,5 saat) ve 27°C aralığındaki sıcaklıklarda lag fazının uzun olmasından kaynaklanmaktadır. Bununla birlikte bu bakteriler süt 10°C’de uzun süre depolandığında ya da gelişmiş teknolojik koşullar sağlandığında baskın hale gelmektedir [5].

Gripffiths ve Phillips çalışmalarında sütün izole edilen *Bacillus* spp suşlarının yaklaşık %50’sinin 2°C’de dahi gelişme yetenekleri olduğunu saptamışlardır. Bu nedenle, *Bacillus* spp. günümüzde süt ve ürünlerinde mikrobiyal bozulmalarda önemli bakteriler olarak görülmektedirler ve süt endüstrisinde önemli ekonomik kayıplara neden olmaktadır [24, 25].

Protein ve kalsiyum bakımından oldukça zengin bir besin maddesi olan peynirde, farklı kaynaklardan bulaşan birçok mikroorganizma grubu çok hızlı bir çoğalma gösterirler. Bu mikroorganizmalardan bazıları saprofit olup peynirde bulunan protein, yağ ve karbonhidrat gibi besin kaynaklarını kullanarak kötü tat ve aromaya sebep olan metabolitleri üretirler.

Bunun sonucu olarak peynirlerde acılaşma, kokuşma, ekşime gibi bozulmalar oluşur ve bu durum ekonomik kayıplara yol açar [26].

Peynirlere çeşitli kaynaklardan bulaşan bu mikroorganizmalar içerisinde, en zararlı grubu koliform bakteriler oluşturmaktadır. Bu bakteriler, süt şekerini asit ve gazla çevirmekte ve oluşan gaz peynirinin iç kısmında toplanarak gözeneklerin oluşmasına neden olmaktadır. Bununla birlikte, koliform grubu bakteriler peynirin tat ve aromasını da değiştirmektedirler. Peynirde sirke asidi oluşturmaları, *Citrobacter*'in H₂S meydana getirmesi ve *E. coli*'nin proteinlerden pis kokulu indol oluşturmaları peynirde arzu edilmeyen durumların açığa çıkmasına sebep olmaktadır. Diğer yandan, koliform grubu bakterilerin mevcudiyeti besin kaynağının insan ve sıcakkanlı hayvanlar tarafından kirletilmiş olduğunu göstermektedir [26].

Bacillus türleri de peynire işlenecek sütte uygulanan pastörizasyon sıcaklıklarında canlı kalabilmektedir. Bu bakteriler de süütün pıhtılaşma süresini ve pıhtı kalitesini olumsuz yönde etkileyen bakterilerdir. Bu bakteriler sütte yavaş geliştiğinden, peynirdeki olumsuz etkileri 10⁶ kob/ml'yi aştığında ortaya çıkmaktadır [27, 28].

Dondurma besin değeri yüksek olan, kolay dindirilebilen, A ve C vitaminleri bakımından da zengin bir besindir. Dondurmalar besin zehirlenmesi veya intoksikasyonuna neden olarak halk sağlığı sorunları arasında önemli bir yer tutar [29-31].

Listeria monocytogenes, *Salmonella spp.*, *Campylobacter spp.*, *Yersinia spp.*, *E. coli*, gibi mikroorganizmalar dondurmada kontaminasyona sebep olamakla beraber halk sağlığı açısından tehdit oluşturmaktadır [32, 33].

Wang ve arkadaşları (2001), dondurma örneklerinde %52, süt tozu örneklerinde %29, fermente süt örneklerinde %17 ve pastörize süt örneklerinde %2 oranında *B.cereus* varlığı saptamışlardır [28].

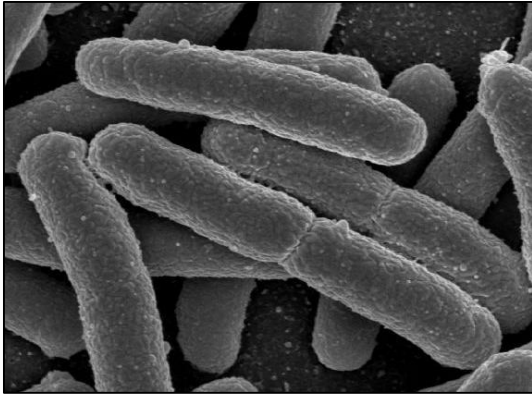
2.2. *E. coli*'nin Genel Özellikleri

İlk kez Theodor Escherich tarafından 1885 yılında ishalleri süt çocuklarının dışkılarından izole edilen *E. coli*, *Enterobacteriaceae* familyası içerisinde yer almaktadır. İlk olarak

Bacterium coli commune ismi ile tanınan bu mikroorganizmaya 1919 yılında Castellani ve Chalmer tarafından *Escherichia coli* adı verilmiştir [34].

Sıcakkanlı hayvanların ve insanların normal bağırsak florasını oluşturan bakteriler arasında bulunan *E. coli*, *Enterobacteriaceae* familyasının koliform bakteriler grubunun fekal koliformlar alt grubunun üyesidir. Biyolojik sınıflandırma olarak ise; *Eubacteria* alemi, *Proteobacteria* şubesi, *Gamma Proteobacteria* sınıfı, *Enterobacteriales* takımı ve *Enterobacteriaceae* ailesinde yer almaktadır [35, 36].

E. coli 2-6 µm boyutunda, 1-1,5 µm çapında, Gram negatif, çomak şeklinde ve spor oluşturmeyen bakteridir. Peritriş flagellaları sayesinde hareket özelliği göstermekle birlikte ender olarak hareketsiz özellik gösteren suşları da bulunmaktadır. *E. coli* suşlarında kapsül oluşturma yeteneği nadir olarak gözlenmektedir [34].



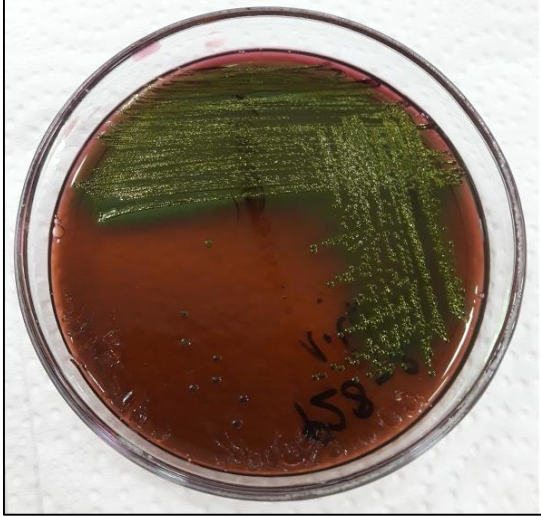
Resim 2.1. *E. coli* elektron mikroskobu görüntüsü [37]

E. coli'nin bütün tiplerinin doğal kaynağı sıcakkanlı hayvanların bağırsak sistemleridir. Buna bağlı olarak bu hayvanların dışkıları ile toprak ve suya, dolayısıyla tüm çevreye yayılırlar. Sağım ve kesim işlemlerinde süte ve ete kolaylıkla kontamine olabilirler. Hijyenik koşullara yeterince uyulmaması nedeni ile sıklıkla pek çok gıdada bulunabilirler.

2.3. *E. coli* Suşlarının Biyokimyasal Özellikleri

E. coli suşları genel üretim besiyerlerinde, 2-3 mm çapında hafif kabarık, düzgün kenarlı grimsi beyaz koloniler; Kanlı Agarda 2-3 mm çapında, gri koloniler; Mac Conkey Agarda 2-3 mm çapında, pembe-kırmızı laktoz pozitif koloniler; eosin metilen blue agarda ise

metalik r fle veren laktoz pozitif koloniler oluşturmaktadırlar [34]. Optimum gelişme sıcaklığı 37  C, optimum gelişme pH'ları 7,2'dir.



Resim 2.2. Eozin Metilen Blue Agar'da *E. coli* görüntüsü

E. coli suşları karbonhidrat fermentasyonu ile asit ve gaz oluşturmaktadırlar. Besiyerinde bulunan laktozu kullanarak laktoz fermentasyonu yapabilmektedirler ve diğer laktoz fermentasyonu yapan bakterilerden indol oluşumunun gözlenmesi ile ayırt edilebilmektedirler. Zenginleştirilmiş besiyerlerinde fakültatif anaerob olarak üreme gösteren *E. coli* suşlarının önemli biyokimyasal özellikleri nitrata nitrite indirgemesi, katalaz, indol, metil kırmızı sı deneylerinin pozitif; oksidaz, Voges Proskauer, Hidrojen sülfür oluşumu deneylerinin negatif olması, üreaz enzimi bulunmadığından dolayı üreaz oluşturmaması, KCN (Potasyum Siyanid)' li ortamda üreme yeteneğinin olmaması, jelatini hidroliz etmemesi ve nişastalı besiyerinde gaz oluşumunun gözlenmemesi olarak açıklanabilmektedir [34].

Mikroskobik incelemede kapsül görülmesi nadir olmasına rağmen birçok köken polisakkarit yapıda ancak serolojik deneylerle ortaya konabilen M ve K antijeni içeren mikrokapsüle sahiptir.

H antijeni içeren *E. coli* kökenleri çoğunlukla fimbria oluşturur ve bunlar protein yapıdadır. Fimbrialar hücrelere ve yüzeye tutunma özellikleri ile virulansta rol oynarlar.

Escherichia türleri oldukça dirençli bakterilerdir. 60 °C ısıda 30 dk oda ısısında uygun ortam koşullarında uzun süre canlı kalabilirler. *E. coli* kökenlerinin çoğu bakteriden bakteriye kolayca geçebilen direnç plazmidleri taşıdıklarından özellikle hastane ortamında çeşitli antimikrobiklere karşı kolayca direnç geliştirirler [38].

2.4. *E. coli* Sınıflandırması

E. coli kökenleri sahip oldukları antijenik özelliğine göre serolojik olarak serogrup ve serotiplerine ayrılır. “O” somatik antijenine göre serogruplarına, “H” kirpik antijenine göre serotiplerine ayrılır. O antijenleri ısıya dayanıklı lipopolisakkarit yapıda antijenlerdir. Kaynatmaya ve alkole dirençli, formole dayanıksızdır. *E. coli*’ lerde 170’ den fazla O antijeni belirlenmiştir.

Hareketli kökenlerdeki H kirpik antijenleri protein yapıda ve termolabildir, alkole dayanıksızdır. 60’ a yakın H antijeni belirlenmiştir. Çoğu köken üçüncü bir antijen olarak kapsüler “K” antijenini içerir. K antijeni de patogeneze önemli olmasına karşın serotiplendirmede nadiren kullanılır. Yaklaşık olarak 80 çeşidi saptanmıştır.

Fimbria antijenleri çok sayıda fimbria oluşturan bakterilerde O aglütinasyonunu engelleyebilen, oda sıcaklığında oluşturulmayıp 37 °C’ de oluşturulan, protein yapıda, çeşitli hücrelere bakterinin aderansını sağlayan antijenlerdir [38].

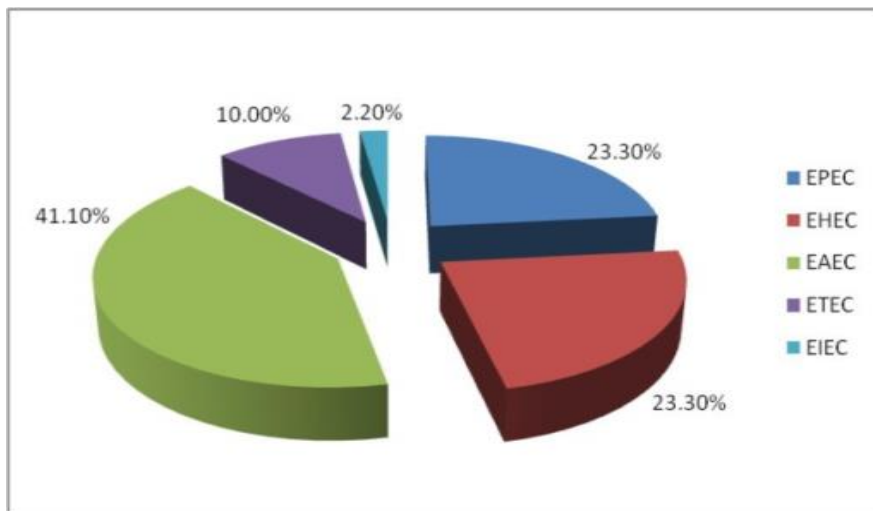
Süt çocuğu gastroenteritinin epidemiyolojisini aydınlatmak için serolojik tiplendirme ilk olarak Goldschmidt tarafından 1933 yılında kullanılmıştır. Ancak bu konudaki asıl ilerleme Kauffman tarafından 1944 yılında *E. coli*’nin serotiplerinin ayrıntılı olarak şematize edilmesi ile kaydedilmiştir. Halen modifiye edilmiş şekliyle bu şema kullanılmaktadır. Buna göre *E. coli*’ ler O (somatik), H (flagella) ve K (kapsül) yüzey antijenlerine göre sınıflandırılırlar. Başlangıçta O antiserumu ile aglütinasyon vermeyen ısıtıldıktan sonra aglütinasyon veren türlerin K antijenine sahip olduğu düşünülür. O ve H antijenlerinin özgül kombinasyonu izole edilen bir *E. coli*’nin serotipini tanımlar. Antijenler tek başlarına virulansı göstermezler. Ancak özgül virulans klonlarla ilişkili kromozomal göstergelerdir. Birçok *E. coli* kökeni patojen olmadığı ve değişik hastalıklarda farklı kökenler etken olduğu için salgınlarda ve çeşitli hastalıklarda üreyen *E. coli* kökenlerinin sınıflandırılması önemlidir. Kauffman’ın yaptığı bu çalışmadan sonra 1945’te

Bray ve 1948 yılında Giles ve Sangster tarafından çocuklarda görülen iki ishal salgınının hangi *E. coli* kökeninden kaynaklandığı belirlenebilmiştir [38].

Çizelge 2.1. Diyarojenik *E.coli*'nin 5 farklı sınıfının karakteristik özellikleri [39]

Patotip	Virulans Determinantları	Adezyon ve İnvazyon özellikleri	Hastalık ile ilişkisi
Enterotoksijenik <i>E. coli</i> (ETEC)	Isı-labil (LT) ve Isı- stabil (ST) enterotoksin	Adheziv ve non- invaziv	Seyahat ishali, Bebek ishali
Enteroinvaziv <i>E. coli</i> (EIEC)	Plasmid kodlanmış dış membran invazineri ve toksinleri	Kolon hücrelerinde invazyon	Shigella benzeridizanteri
Enteroaggregatif <i>E. coli</i> (EAEC)	Enteroaggregatif ısıya dayanıklı enterotoksin(EAST); agregatif adherens fimbria	Kümeler halinde adhezyon	Mukoid ishal, sulu ishal
Enteropatojenik <i>E. coli</i> (EPEC)	Yalancı pili oluşumu; kromozomal patojenite ada ürünleri (LEE)	Kümeler halinde adhezyon. A/E lezyon oluşumuna yol açmaktadır	Az gelişmiş Ülkelerde bebek ishali
Enterohemorajik <i>E. coli</i> (EHEC,STEC)	Shigasitotoksin; LEE patojenite ada ürünleri.	Yüksek derece adheziv. Non-invaziv	Kanlı ishal, Hemorajik kolitis (HC), Hemolitik Üremik Sendrom (HUS)

Bugün için ishale yol açan altı farklı *E. coli* tanımlanmıştır. Shiga toksin üreten *E. coli* (STEC) ya da Verotoksijenik *E. coli* (VTEC), Enteropatojenik *E. coli* (EPEC), Enterotoksijenik *E. coli* (ETEC), Enteroinvazif *E. coli* (EIEC), Enteroaggregatif *E. coli* (EAEC) ve Diffüz Adherens *E. coli* (DAEC). Ancak bunlardan DAEC' in klinik önemi çok net bilinmemektedir.



Şekil 2.1. Diyarojenik *E. coli* izolatlarının frekans dağılımı [39]

2.4.1. Shiga toksin üreten *E. coli* (STEC)

İshale neden olan *E. coli*'lerin STEC grubu, bu organizmaların ürettiği toksinlere göre adlandırıldığı ve HÜS veya hemorajik kolit oluşumunu belirleyen asıl genetik özellik tam olarak bilinmediği için EHEC'ten ziyade STEC şeklinde adlandırılır. EHEC kökenlerinin patojenitesinde Shiga toksinleri yanısıra yapışma ve bozma mekanizmaları da rol oynar. Shiga toksini (verotoksin) salgılayan *E. coli*'nin (STEC), yapışma ve bozma mekanizmasını sağlayan LEE (locus of enterocyte effacement: enterosit bozma lokusu) genleri de varsa bu kökenlere EHEC (örn: O157:H7) denir. Dolayısıyla EHEC olmayan, sadece Shiga toksini salgılayan STEC kökenleri de vardır. EHEC kökenleri aynı zamanda EHEC hemolizini de salgılar [38].

E. coli O157:H7 ve diğer STEC serotipleri insanlara genellikle az pişmiş biftek gibi etlerle bulaşır, çünkü bu bakteri sığırların ve diğer ot obur hayvanların sindirim kanalı normal florasında bulunur. Diğer bilinen bulaşma yolları ise çiğ süt, sosis, klorlanmamış çeşme suyu, elma şarabı, çiğ sebzeler ve lahana gibi yapraklı sebzeler yoluyla.

O157 STEC, kişiden kişiye kolayca yayılır, çünkü infeksiyon dozu çok düşüktür (<200 CFU); kişiden kişiye yayılma tarzında gözlenen salgınlar okullarda, uzun süreli bakım veren merkezlerde, kalabalık ailelerde ve kreşlerde gözlenir [35, 40, 41]. Hafif kansız ishal, ağır, kanlı ishal (hemorajik kolit) yanında mikroanjiopatik hemolitik anemi, trombositopeni ve akut böbrek yetmezliği ile özellikle HÜS'e ve ölüme yol açabilir [35,40]. Etkisi, hem Shiga toksinleri 1 ve 2, hem de yapışma ve bozma mekanizması ile ortaya çıkar. Bu toksinler patojenite adacıkları tarafından kodlanır. Shiga toksini A-B toksinleri grubundadır, yani bir A alt birimi ve pentamer yapısında B alt birimi vardır. Duyarlı hücre reseptörüne bağlanarak endositozla hücre içine alınır ve A alt birimi aktive olarak hücre ribozomunda protein sentezini durdurarak hücre ölümüne yol açar. Sindirim kanalı epitel hücrelerinden geçerek bağırsak, böbrek ve diğer organların kılcal endotellerini tahrip eder ve bunun sonucunda intravasküler koagülasyon ve sonunda da trombositopeni, mikroanjiyopatik hemolitik anemi ve böbrek yetmezliğine (HÜS'e) yol açar [38].

2.4.2. Enteropatojenik *E. coli* (EPEC)

Geçmiş yıllarda EPEC kökenleri; epidemiyolojik olarak sütçocuğu ishali ile birlikte olan, enterotoksin veya Shiga toksini üretmeyen ve invazif olmayan bazı *E. coli* serotipleri şeklinde tanımlanmıştı. Klasik EPEC serotipleri tipik olarak HeLa ve Hep-2 hücrelerine özgü bir lokalize aderens paterni göstermektedir.

Enteropatojenik *E. coli* infeksiyonunun histopatolojik olarak en önemli özelliği “yapışma ve bozma etkisi” (attaching and effacing effect)’ dir. Bu etki in vivo olarak floresan aktin boya testinde aktin agregasyonu şeklinde görülebilmektedir. Bu etkinin oluşması; bakterinin enterosite lokal aderensi, bakterinin enterosit sinyal sistemini uyarması ve enterositle bakteri arasında sıkı bir bağlanmanın gerçekleşmesi basamakları ile olur. Tam olarak bilinmemekle birlikte sonuçta enterositler arası sıkı bağların zayıflaması, mikrovillusların kaybolması ve doğrudan sıvı kaybı ile ishal geliştiği düşünülmektedir [40, 42, 43].

Enteropatojenik *E. coli* virulans faktörleri kromozom ve plazmidler üzerinde bulunan genlerin kontrolündedir. EPEC’in patojenitesinin tüm özelliklerini göstermesi için iki genetik elemanın olması gerekir: birincisi EPEC adherence factor (EAF) plazmidi denilen ve tip IV fimbriya veya demet oluşturan piluslar (bundle forming pilus: bfp) denilen pilusları kodlayan plazmidler taşır, ikincisi de yapışma ve bozma etkisidir ki “enterosit bozma lokusu” (locus of enterocyte effacement: LEE) denilen; bir T3SS (Type 3 secretion system: tip 3 sekresyon sistemini, intimin denilen dış membran adezini, transloke intimin reseptörü (Tir) ve diğer proteinleri kodlayan bir patojenite adası tarafından yönetilir [35, 40, 42]. Tipik EPEC’ten kast edilen organizmanın hem EAF plazmidi hem de LEE patojenite adasını birlikte taşımasıdır. Bu kökenler enterositlere lokal aderens göstererek bağlanır. Atipik EPEC kökenleri ise EAF plazmidleri taşımazlar, dolayısıyla bfp’leri yoktur ve bunlar daha az patojendir. bfp halat benzeri demet şeklinde agregre olmakta ve bakterinin reversibl otoagregasyonuna yol açmaktadır.

Bu özellikleriyle bfp’nin infeksiyonun başlangıcındaki aderensi yönlendirdiğine ve daha sonra bakterinin bağırsak yüzeyine dağılmasına yol açtığına inanılmaktadır. EPEC’in başlıca adezin faktörleri bfp, intimin ve T3SS’inde yer alan EspA proteindir [40, 42].

Çocuklarda ve küçük bebeklerde sıklıkla şiddetli, uzun süren, kansız diyare, kusma ve ateş şeklindeki bulgular EPEC hastalığının belirgin özellikleri ile kendisini gösterir.

EPEC infeksiyonunun kronik diyare ile ilişkili olduğu gösterilmiştir; malabsorbsiyon, malnutrisyon, kilo kaybı ve büyüme geriliği gibi sorunlara neden olabilir [38].

2.4.3. Enterotoksijenik *E. coli* (ETEC)

ETEC gelişmekte olan ülkelerde dehidratasyona yol açan bebek ishallerinin ve yolcu ishalinin en önemli sebebidir. ETEC gelişmekte olan ülkelerde ishal vakalarının yaklaşık % 20-30'undan sorumludur. Gelişmiş ülkelerde daha az rastlanır. ABD ve İsviçre'de yapılan çalışmalarda akut ishal ataklarındaki oranı sırasıyla %1,4 ve %4,2 olarak bulunmuştur [44].

Gelişmekte olan ülkelerde çocuklarda yılda 2-3 ishal atağına yol açar ve bu çocuklardaki ishal ataklarının yaklaşık % 25'inden sorumludur.

Tahminlere göre ETEC tüm dünyada yılda 5 yaş altında 380,000 çocuğun ölümüne sebep olmaktadır. ETEC ishali kontamine su ve gıdaların alımı ile oluşmaktadır ayrıca klinik hastalık oluşabilmesi için 108 bakteri alınması gereklidir. İnkübasyon periyodu 14-50 saattir [44].

Tipik semptom ve bulguları sulu, müküssüz, kansız, patlayıcı vasıflı ishal, karın ağrısı, bulantı ve kusmadır. Ateş az veya yoktur. ETEC suşları peynir, hamburger, sosis ve deniz ürünlerinde belirlenmiştir. Bu bulgu birçok gıdanın ETEC suşlarının üremesini destekleyebileceğini düşündürmektedir. İshal sıklığı günde birkaç kezden ondan fazlaya kadar değişebilir [44].

Dışkıda lökosit görülmemekle birlikte hastalık genellikle 3-5 gün içinde kendiliğinden düzelir ancak nadiren bir haftadan uzun sürebilir. Klinik spektrumdaki farklılıklar yaş ve immünite durumu yanında infekte eden inokulum büyüklüğüne de bağlı olabilir.

Hastalık genellikle hafif ve kendini sınırlayan özellikte olmasına rağmen nadir de olsa kolera benzeri ciddi dehidratasyon ile giden hastalık tablosu oluşabilir [44].

ETEC barsak mukozasında hemen hiç yapısal değişiklik oluşturmaz. İshal ince barsakta kolonizasyon ve ardından enterotoksin salgılanması sonrasında oluşur (sekretuvar ishal). ETEC suşları ısıya duyarlı (heat labile, LT) veya ısıya dayanıklı (heat stable, ST) enterotoksin salgılar; bazı suşlar hem LT hem de ST salgılayabilir. 180'den fazla *E.coli* serogrubundan az bir kısmı tipik olarak ETEC'dir. Bu serogruplar [06, 08, 015, 020, 025, 027, 063, 078, 080, 085, 0115, 0128ac (0128ab ve 0128ad dahil değil), 0139, 0148, 0153, 0159 ve 0167] genellikle diğer ishal ilişkili *E.coli*'lerden farklıdır [44].

2.4.4. Enteroinvazif *E. coli* (EIEC)

EIEC'nin tanımlanmasına neden olan salgın bir çeşit Fransız peyniri yenmesi sonrasında 1971'de olmuştur. Ancak klasik tanımlamanın aksine çoğu EİEC infeksiyonları ne dizanterik ne de kanlı ishal ile değil hafif ateş ile birlikte sulu ishal ile sonuçlanır [44].

EIEC suşları ince ve kalın bağırsağın mukoz membranına tutunmak için, mukoz membranın iç kesimlerinde kan yolu üzerinden enterositlere penetre olur. Lenfatik ve kan sisteminde çoğalmaları ile oluşan endotoksinler koliseptisemiye neden olur. Patojeniteleri, fagositoz ve aktive edilmiş komplement sisteminden kapsülleri aracılığıyla kurtulmalarına dayanır [45].

Basilli dizanteriye benzer çünkü *Shigella* ile aynı virülans genlerini taşır. EIEC sıklıkla salgınlarda görülür ancak gelişmekte olan ülkelerde endemik olarak da görülebilir [44].

Gelişmekte olan dünyada, sporadik ishallerin % 5 kadarı ve kanlı ishallerin % 20'si EIEC suşları ile meydana gelmektedir [44].

Tayland'da yapılan bir çalışmada sporadik ishal ataklarının % 5'i, kanlı ishal ataklarının % 10'unun EIEC'ye bağlı olduğu tespit edilmiştir. Bulaşma için yüksek sayılara ulaşması gereklidir çünkü erişkinde deneysel dizanteri oluşturmak için 108 bakteri gereklidir. Bu anlamda fligellozdan epidemiyolojik olarak farklıdır çünkü *Shigella* suşları ile hastalık oluşturmak için 104'ten az bakteri gerekmektedir. Bu bulgu aynı zamanda EIEC'nin muhtemelen gıda kaynaklı olduğunu gösterir. Gıdada EIEC çoğalarak yeterli inokulumu ulaşır [44].

2.4.5. Enteroagregatif *E. coli* (EAEC)

EAEC ilk kez 1987 yılında tanımlanmıştır. Genellikle ishal ile bağlantılıdır. EAEC gelişmekte olan ülkelerde özellikle 12 ayın üzerindeki çocuklarda akut ve persistan ishale neden olmaktadır. EAEC, AIDS ilişkili kronik ishal ve yolcu ishalinin etiyolojik ajanıdır. EAEC'in tipik hastalığı hafif ateş, kusma olmadan (veya nadir) sulu, müküslü, sekretuvar ishaldir. Hastaların 1/3'ünde gros kanlı ishal vardır. Sulu ishal haftalarca sürebilir [44].

A.B.D. Santiago'da, Nataro ve arkadaşları, *E. coli*'nin Hep-2 (human epitelyal tip 2) hücrelerine yapışma özelliği üzerinde çalışmışlardır. Yapılan araştırmalar sırasında, araştırmacılar yapışmayı iki kategoriye ayırmışlardır. Birincisi agregatif, ikincisi diffuz (gerçek) yapışmadır.

Deneyssel olarak yapılan çalışmalarda, agregatif yapışmada Hep-2 hücre kültürü kullanılmadığında, bakteri hücrelerinin birbirlerine karşılıklı yapışması sonucu yığılmış tuğlalar şeklinde dizildiği gözlenmiş, Hep-2 hücre kültürünün kullanıldığı çalışmada ise bakteri hücreleri, Hep-2 hücrelerine yapışarak küçük toplanmalar göstermiş ve Hep-2 hücrelerinin yokluğunda dağılmışlardır. Burada da diffuz yapışma gözlemlenmiştir. Agregatif özelliği bulunan *E. coli*'leri tanımlamak için, araştırmacılar enteroadherence-aggregative *E. coli* (EaggEC) adını önermişlerdir ve kısaltılmış olarak entroagregatif *E. coli* (EAEC) olarak isimlendirmişlerdir [45].

EAEC diye sınıflanan *E.coli* suşları değişik O ve H serotiplerinin kombinasyonuna sahiptir. Bu patojenlerin tanımlanması halen değişmektedir. Orijinal tanısal kriter (Hep2 hücre adherens paterni) muhtemelen gerçek patojen olmayan çok sayıda suşun belirlenmesine yol açmıştır. Gerçek patojenleri belirlemek için genetik kriterler daha uygun gibi görünmektedir.

2.4.6. Diffüz agregatif *E. coli* (DAEC)

Diffuz agregatif *E. coli* orijinal olarak; Hep-2 adeziv kullanarak mikrokolonileri oluşturmayan *E. coli*'lerden köken almaktadır.

EAEC keşfiyle birlikte birçok araştırmacı DAEC’i potansiyel bağımsız bir kategori olarak tanımlamaktadır.

Yamamoto ve arkadaşları, DAEC suşlarının Hep-2 hücreleri yüzeyinden uzanan parmak şeklindeki uzantılara girebildiğini göstermişleridir.

Ülkemizde ishale neden olan patojen *E. coli*’ lerin prevalansı ve önemi konusunda çalışmalar sınırlıdır. Son yıllarda bu konudaki tanı yöntemlerinde önemli değişiklikler olmuştur. Yeni tanı yöntemleri eşliğinde ishal yapan *E. coli*’ lerin tanımlanması tedaviye önemli katkılar sağlayacaktır [38].

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi (GÜTF) Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı’nda yapılmış bir çalışmada çocuk ve erişkin değişik yaş gruplarındaki hastalardan gönderilen dışkı kültürleri ishale neden olan *E. coli*’ler açısından lam aglütinasyon yöntemi ile taranmış, aynı çalışmada ishal yapan *E. coli*’ ler %44 oranında bulunmuştur. İshal olgularında, diğer patojen *E. coli* serogruplarına göre Enteropatojenik *E.coli* (EPEC) kökenlerine anlamlı düzeyde daha çok rastlanmıştır. 6 adet O111, 4 adet O44, 4 adet O1, 2 adet O126 ve 2 adet O26 serotipi tanımlanmıştır [38].

İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi ve Cerrahpaşa Tıp Fakültesi’ nin birlikte yaptığı bir çalışmada ishalleri hastalardan ve sağlıklı bireylerden alınan dışkı örnekleri Verotoksijenik *E. coli* (VTEC) varlığı bakımından Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ile incelenmiş, 9 dışkı örneği PZR yöntemi ile VTEC bakımından pozitif bulunmuş, bunlardan 2 köken *E. coli* O157 olarak tanımlanmıştır [43].

2.5. *E. coli* Suşlarının Epidemiyolojisi

E. coli serotipleri, farklı antijenik özellikleri ile çok sayıda serotipe ayrılmaktadır. Bunların çoğu sıcakkanlı hayvan bağırsaklarının doğal florası ve zararsız iken bazı suş ve serotipler insan ve hayvanlar için patojenite gösterir. Özellikle buzağı, kuzu, domuz yavruları ve civcivlerde önemli ekonomik kayıplara yol açabilen kolibasillosis etmenidir. İneklerde mastitis, kanatlılarda hava kesesi yangısı ve koligraniloma, kedi ve köpeklerde idrar yolları enfeksiyonları sık rastlanan *E. coli* enfeksiyonlarıdır. *E. coli*, insanlarda safra ve idrar yolları enfeksiyonları, menenjit, septisemi, arteriosklerosis, hemolitik üremik sendrom

(HUS) yara enfeksiyonları, çeşitli immünolojik hastalıklar ve karaciğer apsesi oluşturur. İnsanlarda nadiren sepsisemi yapar. Süt çocuklarında epidemik gastroenteritise neden olur. Patojenik *E. coli* suşlarının yayılmasında insandan insana bulaşma oldukça önemlidir. Seyahat diyaresi denilen küçük çaplı salgınlar bu şekilde bir yayılma sonucu olur.

Anaokulu ve kreşler ile bakım evleri gibi yerlerde de kişiden kişiye yayılma sıklıkla görülmektedir.

ETEC, EIEC, EPEC serotiplerinin başlıca kaynağının insan olduğu yukarıda belirtilmiştir. Patojenik grupların gıdalarda bulunma sıklığı üzerinde yapılan araştırmalar farklı sonuçları göstermektedir [44].

Eylül 1983'te ABD Washington D.C.'de 45 kişinin Fransa'dan ithal edilen brie peynirinden kaynaklanan benzer semptomlar taşıyan sulu diyare (%91) ve karın krampları (%80) göstermesi üzerine yapılan çalışmalarda hastalık etkeninin ısıya dayanıklı enterotoksin üreten *E. coli* O27:H20 olduğu saptanmıştır.

Benzer hastalıklar kısa bir süre sonra ve yine peynirden kaynaklanmak üzere ABD'nin 4 eyaletinde daha görülmüştür. ABD'de görülen ve ETEC serotiplerinin neden olduğu en büyük salgınlar; Meksika restoranında enfekte işçi tarafından hazırlanan yemeği yiyen 415 kişinin hastalanması, Miami'den kalkan bir yolcu gemisinde muhtemel yengeç salatasının neden olduğu ve gemidekilerin 1/3'ünün hastalanması, Texas'ta hastanedeki yemeği yiyen 3000 kişiden 282'sinin hastalanması şeklindedir [44].

Brezilya'da sığır eti, hamburger ve sosislerden yapılan analizlerde sırasıyla %5, %7,5 ve %10 ETEC suşlarına rastlanmıştır. Buna karşın ABD'de 78 peynir örneğinde ETEC suşları bulunamamıştır.

EIEC serotipleri ise yine ABD'de ve yine Fransa'dan ithal edilen peynirler ile salgına neden olmuştur. Bir diğer önemli salgın ise bir yolcu gemisinde patates salatasından kaynaklanmıştır. EIEC ve EPEC suşlarına nadir olarak gıdalarda rastlanılmıştır. EHEC suşlarına ise sığır kıymasında rastlanılmaktadır.

ABD'de Philadelphia eyaletinde 1971 yılında 5 erişkin hastada izlenen klinik seyir bilinen bağırsak hastalıkları ile açıklanamamış ve hiç bir etiyolojik etken saptanamayan benzer hastalıkların ABD'nin diğer eyaletleri ile Avrupa ve Japonya'ta ihbar edilmesi üzerine ABD Hastalık Denetim ve Önleme Merkezi 1973-1982 arasında geriye dönük olarak 300 *E. coli* suşunu serotiplendirmiş ve kanamalı ağır diyare geçiren California'lı 50 yaşında bir kadından izole edilen suşu *E. coli* O157:H7 olarak saptamıştır.

Bireysel vakalar dışında *E. coli* O157:H7 ilk olarak 1982 yılında ABD'de Oregon'da 26 ve Michigan'ta 21 olmak üzere 47 vaka ile ve her ikisi de yine daha öncekilere benzemeyen kanlı diyare şeklinde 2 salgın ile görülmüştür. Her iki salgında da köfteli sandviçlerin yenilmesinin hastalığa neden olduğu belirlenirken salgınların birinde aynı partiye ait donmuş köftelerde *E. coli* O157:H7'ye rastlanmıştır. Bundan hemen sonra benzer vakalar ABD, Kanada ve İngiltere'de görülmüş, daha sonra Meksika, Çin, Arjantin, Belçika gibi ülkelerde de aynı hastalığa rastlanmıştır, 1996 yaz aylarında ise Japonya'ta 27 kişinin ölümüne ve yüz binlerce hastalığa neden olan salgının etmeni *E. coli* O157:H7 olarak gösterilmiştir [44].

E. coli O157:H7 vakalarının çoğunda yeterince pişirilmemiş sığır kıyması hastalığa neden olmuştur. ABD'de bir lisede 1988 Ekim ayında görülen ve toplam 1562 öğrencinin 32'sinin (%2) *E. coli* O157:H7'nin neden olduğu hemorajik kolite yakalandığı vakada hasta çocukların büyük çoğunluğunun aynı gün okul kantininde ön pişirilmiş ve dondurulmuş köfte yedikleri saptanmıştır. Aynı gün tüm okuldaki öğrencilerin %8'inin aynı köfteden yedikleri tahmin edilmiş, üretici firmanın aynı tarihli ürünlerinde *E. coli* bulunmuş ancak *E. coli* O157:H7 bulunamamıştır.

Her ne kadar *E. coli* O157:H7 enfeksiyonlarının başlıca sorumluları arasında sığır kıyması gösteriliyor ise de oldukça seyrek olarak görülen vakalarda risk faktörü hakkında oldukça az bilgi vardır. İlginç olarak ayaküstü (fast food) restoranlarda çalışanların yüksek riske sahip olmadıkları ve kıyma tüketimine bağlı olarak enfeksiyon riskinin artmadığı gösterilmiştir. Bununla beraber yeterli pişirilmemiş et tüketimi ile *E. coli* O157:H7 enfeksiyonu arasında bir ilişki olduğu da açıktır.

İngiltere'de 1990 Eylül ayında üçü aynı lokantadan yiyen olmak üzere 16 kişide kanlı diyare görülmüş, bunlardan biri diyalize alınmış, tümünün dışkılarında *E. coli* O157: H7 bulunmuş, ancak lokantada aynı bakteriye rastlanılmamıştır.

Japonya'da 1996 yaz aylarında görülen salgının ise "daikon sprouts" denilen (turp filizi) 8-10 cm uzunluğunda salatalara ve yemeklere garnitür olarak katılan hatta doğrudan kendisi salata olarak tüketilen bir gıdadan başladığı sanılmaktadır. Bakteriye her ikisi de Japonya'ya özgü olan ve elle hazırlanan lokum benzeri bir tatlı ile "O-benta" denilen ve pilav, çiğ balık, turşu, salata, piliç veya domuz eti ile yapılan bir yemekte de rastlanılmıştır. Diyareli hastaların dışkılarından izole edilen 2000'den fazla *E. coli* suşunda enterotoksijenite ve sitotoksiste testleri yapılmış, 78 sitotoksik *E. coli* izolatlarının %70'i *E. coli* O26:K60:H11 olarak tanımlanırken *E. coli* O157:H7 serotipi 6 izolat (sitotoksik olanların %9'u) ile ikinci sırada yer almıştır. 1985 yılı Eylül ayında Ontario'ta görülen şiddetli hemorajik kolit salgınında bir yaşlılar bakım evindeki 55 kişi ve 18 çalışanda ishal görülmüş, bunlardan yaşları 78-99 arasında değişen 17 kişi ölmüştür. 38 hasta, 37 işçi ve 10 ölüden alınan örneklerde bütün enterik patojenler aranmıştır. 38 hastanın 19'unda verotoksin üreten *E. coli* (VTEC)'ye rastlanırken 10 ölüden alınan örneklerde bu bakteri görülmemiştir. Hiç bir örnekte başka bir enterik patojene rastlanılmamıştır. 19 hastadan izole edilen *E. coli* izolatlarının 18'inin *E. coli* O157:H7 olduğu belirlenmiştir.

E. coli O157:H7 salgınlarında kişiden kişiye bulaşmaların birinci derecede önemli olduğu, salgının yayılmasında bakım evi, sağlık ocağı, kreş gibi yerlerin sorumlu olduğu açık bir şekilde gösterilmiştir [44].

2.6. *E. coli*'nin Patojenite Kriterleri

E. coli'nin çeşitli konaklarda değişik dokuları infekte edebilmek için hücre yapısı ile ilgili veya hücre dışına salgılanan toksinler, enzimler gibi çok sayıda değişik patojenite kriteri vardır.

Adezinler: Fimbrialar adezyondan sorumlu en önemli bakteri yüzey adezinleri ya da ligandları olarak bilinmektedir. Her bakteri, ucunda adezin bulunan 100-200 fimbria taşıyabilir [46, 47].

Tip 1 fimbria eritrositleri aglütine etme yeteneğine sahip olup bu olay ortamda mannoz bulunması ile inhibe olur. Bu nedenle bu tip fimbriaya "mannoza duyarlı" fimbria adı da verilmektedir. Birçok dokuda özellikle de üriner sistemde D-mannoz reseptörlerinin yaygın olarak bulunduğu gösterilmiştir. Birçok *E. coli* suşu tip 1 fimbria bulundurmaktadır. Poliklonal antikor ve immün boyama yöntemleri kullanılarak alt üriner sistem infeksiyonlarından izole edilen *E. coli* suşlarının in vivo olarak tip 1 fimbria yaptığı gösterilmiştir. Tip 1 fimbria, *E. coli*'nin insan üretral mukoza epitel hücrelerine ve idrarda bulunan Tamm-Horsfall proteinlerine tutunmasını sağlamaktadır. Tip 1 fimbria yapan *E. coli* suşlarının Tamm-Horsfall proteinine kuvvetle bağlanmasında bu maddenin mannozdan zengin oluşu rol oynamaktadır. Üriner katetere bakteriyel adezyonda da yine tip 1 fimbria ekspresyonunun esas rolü oynadığı düşünülmektedir. Mannoza duyarlı adezinler, salgısal IgA'da bulunan mannoz ile de etkileşime girmektedirler. Tip 1 fimbria'nın mannoza duyarlı oluşu, D-mannoz içeren glikoproteinlerin oligosakkarid kısımlarının bu fimbria için reseptör oluşturabileceğini düşündürmektedir. Tip 1 fimbria gastrointestinal sistemdeki normal kolonizasyondan da sorumludur [47].

P fimbria insan eritrositlerini aglütine etme yeteneğine sahip, "mannoza dirençli" bir fimbriadır. P fimbria olarak adlandırılmasının nedeni, özgül olarak eritrosit ve üroepitelyal hücrelerdeki P kan grubu antijenlerine bağlanmasıdır. Bu tip fimbria ancak bazı *E.coli* suşları tarafından belirli çevresel üreme koşullarında yapılır. P fimbrialar üroepitelyal hücrelere yüksek kapasite ile bağlanırlar. P fimbrianın yapısı oldukça kompleks olup, birkaç farklı fimbria antijeni olarak eksprese edilmektedirler. Hem mannoza duyarlı hem mannoza dirençli fimbrialar aynı bakteri suşu üzerinde bulunabilmektedirler. Ayrıca özel bir grup glikosfingolipid, P fimbria için reseptör rolü oynamaktadır. Bu glikosfingolipidlerin Gal alfa 1-4 kısmı P fimbria için özgül bağlanma bölgesidir. Gal alfa 1-4 reseptörleri toplama kanalları, renal pelvis, üreter, mesane ve vajina epitellerinde mevcut olup, polimorf nüveli lökositlerde bulunmaz [46].

Endotoksin: Tüm aerobik ve bazı anaerobik gram negatif bakterilerde bulunan bir virulans faktörü olmakla birlikte bu toksinin aktivitesi lipopolisakkaridin lipid A komponenti ile ilişkilidir. Lipid A, hücre duvarının parçalanması sonucunda ortaya çıkar, makrofajların sitokin oluşturma ve salgılamasını arttırarak etki gösterir [47].

Hemolizin: Bu toksinin alfa hemolizin ve beta hemolizin olmak üzere iki çeşidi mevcuttur. Alfa hemolizin ısıya duyarlı hücre dışı bir proteindir. Daha çok idrar yolu infeksiyonları ve bağırsak dışı infeksiyonlarından izole edilen suşlarca üretilmektedir. Bunlar por oluşturan sitoliziner olup, transmembran iyon gradientlerini sekteye uğratmak suretiyle eritositlerin lizisine neden olur. Hücrelerden çıkan demir de siderofor sistemleri aracılığıyla bakterilerce kullanılmaktadır. Beta hemolizin ise alfa hemolizin ile aynı hemolitik aktivite oranına sahip hücre ile ilişkili hemolizindir [35].

Siderofor: Demirle bileşik yapan küçük moleküllerdir. Bakterilerin konakta canlı kalabilmesi için demir çok önemlidir. *E.coli*, siderofor-siderofor reseptör sistemi ve HEM alımı olmak üzere birçok demir ekstraksiyon mekanizması taşımaktadır. Siderofor sistemleri; IreA, IroN ve Iha gibi reseptörler ile enterobaktin ve aerobaktin gibi siderofor moleküllerinden oluşur. Ayrıca Iha reseptörlerinin aderans özellikleride bulunmaktadır [47].

Kapsül: *E.coli*'lerin bazı kökenlerinde kapsül veya mukoid madde sentezine rastlanmamasına karşın, kapsülle aynı özellikte ancak serolojik olarak ortaya konabilen, bakteri yüzeyine yakın yerleşmiş ve antijenik yeteneği olan yapılara rastlanılmaktadır ki bunlarda kapsül olarak adlandırılmaktadır. *E.coli*'nin kapsül yapısı polisakkarid zincirlerinden oluşmaktadır. *E.coli*'nin antijenite ve virulansı ile yakından ilgili olan kapsül antijeni (K antijeni), somatik antijeni (O antijeni) örter. Bu nedenle de, mikroorganizmalar O antiserumlarıyla aglutine olmazlar. *E.coli*'de K antijenleri, A, B ve L olmak üzere 3 antijenik tipe ayrılmaktadırlar. Ayrıca, *E.coli*'ler K antijenlerine göre de bir sınıflamaya tabi tutulmuşlardır (K1, K2, K3,.....K80 gibi). *E.coli*'nin kapsül yapısı hücre yüzeyi ile fagosit hücrelerinin temasını engelleyerek veya bakteri yüzey moleküllerini gizleyerek, fagositozu engeller. *E.coli* K1 suşunun siyalik asit kapsülü ise konak dokusuna benzer yapıda olduğu için immünojenik yanıt oluşturmamaktadır [48].

ETEC, EPEC, EHEC, EIEC tiplerinin yaptığı bağırsak hastalıkları dışında yaptığı hastalıklar da vardır.

Memeli ve kuşların bağırsaklarında normal flora elemanı olarak bulunan *E.coli*'ler, herhangi bir sebeple bulundukları yerden başka dokulara gelme imkanı buldukları zaman çeşitli ve bazen önemli yangılı enfeksiyonlara sebep olurlar [45]. Bakterilerin değişik

dokulara geçmeleri bağırsakların mekanik veya diğer biyolojik etkilerle (periton boşluğuna açılma) veya organizmanın savunma mekanizmasındaki bozukluklar dolayısıyla gerçekleşmekteyken ayrıca sterilitesine dikkat edilmeyen idrar sondaları, intravenöz kataterler bu bakterilerin diğer dokulara ve kana yayılmasına olanak sağlar. Bu şekilde bağırsak dışı dokulara geçerler. En çok üriner sistem, safta yolları ve safra kesesine geçerler. Akciğer ve peritona ulaşan *E.coli* bakterileri bu organlarda süpüratif enfeksiyonlar oluşturur [45]. Üriner sisteme bağlı olarak piyelit, piyelonefrit, ve en fazla da sistit'e yol açarlar [44, 50]. *E.coli*'lerin safra ve safra yollarına yerleşmeleri ile kolesistit ve kolanjit enfeksiyonları oluşur. *E.coli* daha çok yeni doğanda menenjit oluşturur. Bağırsakların bıçak veya mermi ile yaralanması ya da tifo, tümör gibi hastalıklar esnasında delinmeleri ile peritona geçen *E.coli* bakterileri diğer basillerle birlikte akut peritonit oluştururlar. Daha çok idrar yolu ve safra yolları enfeksiyonlarından veya başka bir lokalizasyondan 17 kaynaklanabilen ve organizmanın savunmasının zayıf olduğu durumlarda da daha kolay oluşan *E.coli*'ye bağlı septisemiler tipik sepsis tablosu verirler ve oldukça ağır seyrederler.⁴⁵ *E.coli* bakterilerinin yaptığı enfeksiyonlar arasında prostatitler, çeşitli perineal abseler, periton, akciğerler, kemikler, meninksler, tonsillit, faranjit, sinüzit, otit, yara enfeksiyonları gibi lokalize iltihaplanmalara da rastlanmaktadır [49].

2.7. *Bacillus* Cinsinin Genel Özellikleri

Bacillaceae familyası içerisinde *Bacillus* ve *Clostridium* olmak üzere iki ana alt grup bulunmaktadır [51, 52]. Carl Woese tarafından 1999'da 16 ve 18S rRNA dizilerinin karşılaştırılmasıyla oluşturulmuş sınıflandırmaya göre *Bacillus* cinsi mikroorganizmalar Eubakteri domanini içerisine dahil edilmiştir. *Bacillus* cinsi 34 tür ve birçok alt tür içeren çok büyük bir gruptur. *Bacillus* cinsinde çok çeşitli özellikler gösteren ve metabolizmaları da oldukça farklı türler bulunur [51].

Bacillus adı, 1872 yılında Ferdinand Cohn tarafından ilk defa kullanılmıştır [3,34]. *Bacillus* cinsi, Gram pozitif aerobik veya fakültatif anaerobik, spor oluşturan, çubuk şeklinde ya da düze yakın bakterilerdir. *Bacillaceae* familyası spor yapan bakterileri içinde toplayan tek familyadır.

Çizelge 2.2. *Bacillus* cinsinin taksonomik sınıflandırılması [53]

Domain	Bacteria (Eubacteria)
Alem	Firmicutes (Gram (+) Bakteri)
Sınıf	Bacilli
Takım	Bacillales
Familiya	<i>Bacillaceae</i>
Cins	<i>Bacillus</i>

Bacillus cinsi bakterilerde spor oluşumunu tetikleyen en önemli faktör ise besin yetersizliğidir. Ortamda besin olarak karbon, azot veya bazı durumlarda fosfor kaynağı olmadığı zaman *Bacillus* türlerinin büyüyen hücreleri sporlaşmaktadır. Spor oluşumu ayrıca aşırı yüksek ya da düşük sıcaklıklar ile mineral madde, tuz ve şeker gibi hipertonik ortam koşullarında da gerçekleşebilmektedir. Sporlar dormant (hareketsiz) halde olup ısı, radyasyon, kurutma, ekstrem pH koşulları ve toksik kimyasallara karşı dayanıklılık göstermektedir [46].

Sporları genellikle oval, yuvarlak ya da silindirik ve olumsuz koşullara karşı çok dirençlidir [54].

Elliyeye yakın türü bulunan *Bacillus* 'larda, endosporun hücre içindeki yeri farklıdır. *Bacillus* cinsi, sporlarının morfolojisine göre üç gruba ayrılır;

Grup 1; Sporları merkezi ya da terminal konumlanır. Elips ya da silindirik şeklindedir. Bu tip spora sahip *Bacillus* türleri; *B. anthracis*, *B. cereus*, *B. mycoides*, *B. thuringiensis* ve *B. megaterium*.

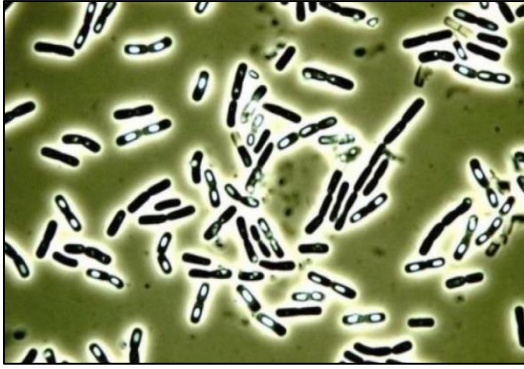
Grup 2; Elips ya da şişkin şekilli spor üretirler. *Bacillus pumilus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus circulans*, *B. coagulans*, *B. licheniformis*, *B. alvei*, *B. brevis* ve *B. macerans* türleri bu tip spor üretir.

Grup 3; Şişkin şekilli, subterminal ya da terminal konumlanmış sporlar üretirler. *B. sphaericus* türü bu gruba örnek olabilir [54].

Bacillus 'ların termofilik, mezofilik ve psikrofilik türleri bulunur. Çok yüksek sıcaklık derecelerinde bile canlı kalırlar. Karbon kaynağı olarak organik asit, şeker ve alkol içeren; nitrojen kaynağı olarak da amonyum bulunduran sentetik ortamlarda çok iyi gelişirler.

2.8. *Bacillus* Cinsinin Biyokimyasal Özellikleri

Genellikle 35-37 °C'de ve pH 7 civarında ürerler. Bazı suşlar tuzlara tolerans gösterirken bazıları tuzlara özel gereksinim gösterirler. Bütün türleri Nutrient Agar, Tryptic Soy Agar, Brain Heart Infusion ve Kanlı Agar gibi besiyerlerinde oldukça iyi ürerler. Vejetatif hücreler 0,5-1,2 µm ile 2,5-10 µm çapındadır. *Bacillus* cinsinin koloni morfolojisi ve büyüklüğü çok değişkendir ve pigmentler belirli yerlerde olabilir. Geneli beyaz veya krem renkli kolonilere sahiptir. Bazı türlerinde sarı, pembe, portakal rengi, kırmızı, kahverengi ve siyah renklerde pigmentli kolonilere de rastlanır [11].



Resim 2.3. *Bacillus*'un mikroskopik görüntüsü [55]

Şekerleri fermente ederler ve sonuçta gaz oluşumu görülmeksizin asit üretirler. Proteinleri ise, amonyak oluşturarak parçalarlar ve böylece kokuşmaya neden olurlar. Karbon kaynağı olarak organik asit, şeker ve alkol içeren; nitrojen kaynağı olarak da amonyum bulunduran sentetik ortamlarda çok iyi gelişirler. Birkaç *Bacillus* türü polipeptit sınıfı antibiyotik üretir. Bu bakterilerin yağları ve proteinleri parçalama yetenekleri çok yüksektir. Bu nedenle de basiller, sürekli çürüme ve bozulma ortamında bulunurlar. Tipik habitatları toprak olmasına rağmen doğada geniş olarak, süt ve süt ürünlerinden, hava, su ve yiyecek gibi birçok ortamdan elde edilirler [11].

B. anthracis ve *B. mycoides* hariç katalaz pozitifdir ve hemen hemen diğer türleri kamçıları nedeniyle hareketlidir [56].

Oksidaz pozitif ya da negatiftir. Çoğu türlerin hücre duvarında peptidoglikan vardır. En sık rastlanan fosfolipitler, fosfatidetanolamin ve fosfatidgliseroldür [11].

Bacillus'ların bazı türleri güçlü proteolitik özellik gösterir, buna karşın bazı türleri ya zayıf proteolitik özellik gösterir veya hiç göstermez. Aktif proteolitik türler genellikle ekşitilmeden pıhtılaştırılan süt ürünlerinde kullanılır. *B. cereus* bu özelliği gösteren bir türdür. *Bacillus* türleri arasında lipolitik olan bakterilerde bulunmaktadır [57].

Çiğ ve ısıtılmış işlem görmüş süt ve ürünlerinden *Bacillus* genusuna ait bakteriler arasından izole edilebilen yaygın bakteriler *B. stearothermophilus*, *B. licheniformis*, *B. coagulans*, *B. cereus*, *B. subtilis* ve *B. circulans*'tır. Bu psikrotrof aerobik ya da fakültatif anaerob bakterilerin sıcaklığa dayanıklı sporları süte ısı uygulamasından hemen sonra hızlı bir şekilde aktif olabilmektedir. *Pseudomonas spp.* ile ilişkili olarak *Bacillus spp.* vejetatif hücreleri ısıya dayanıklı ekstrasellüler ve intrasellüler hidrolitik enzimleri geniş spektrumda oluşturma kabiliyetindedirler [58].

Sütten izole edilen *Bacillus spp.* % 40-84 oranında hem proteolitik hem lipolitik aktivite gösterir ve yaklaşık %80'i fosfolipolitik aktivite gösterir [59]. Ayrıca *Bacillus* genusunun bazı türleri eş zamanlı olarak birden fazla çeşitte proteinaz üretebilir. Bununla beraber, hidrolitik özelliklerine göre bu enzimler *Pseudomonas fluorescens* tarafından oluşturulan hidrolitik enzimlerle kıyaslanabilir [46].

Hidrolitik ısıya dayanıklı enzimlere ek olarak *B. cereus*, *B. licheniformis* ve *B. subtilis* gibi *Bacillus* türleri gıda kaynaklı hastalıklara neden olabilen farklı tip toksinler oluşturabilirler. Süt ve ürünlerinde sıklıkla karşılaşılan bir kontaminant olan *B. cereus* enfeksiyon veya intoksikasyonlara neden olabilen çeşitli enterotoksinler üretebilmektedir. Örneğin hemolitik BL (HBL), non hemolitik enterotoksin (NHe) ve sitotoksin K (CytK) gastrointestinal hastalıklar ve/veya sistematik enfeksiyonlarla bağlantılıdır [46].

2.9. *Bacillus subtilis*'in Genel Özellikleri

1835'te Christian Gottfried Ehrenberg tarafından *Vibrio subtilis* olarak tanımlanan *B. subtilis*, 1872'de Ferdinand Cohn tarafından bugünkü adını almıştır. Bakterinin diğer adları *Bacillus uniflagellatus*, *Bacillus globigii* ve *Bacillus natto*'dur.

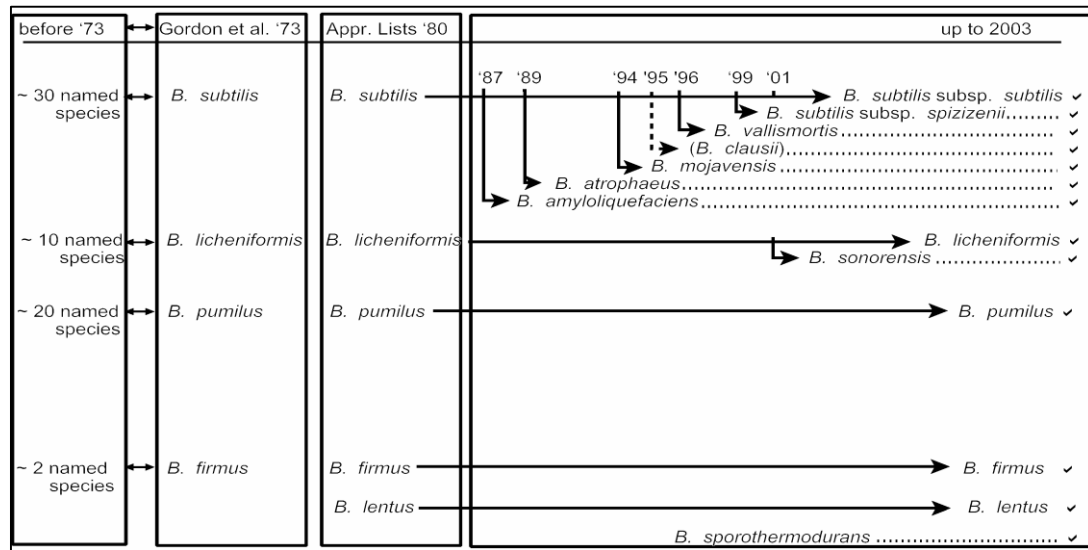
B. subtilis, oksijenli solunum yapan, 25-35 °C'de üreyen bir bakteri cinsidir. *B. subtilis*'in hareketli sporları oval ve subterminal olup, kapsülsüzdür ve ön zenginleştirme yapılmayan

besiyerinde rahatlıkla üreyebilme özelliğine sahiptir. Toprak kökenli bir bakteri olup, mezofiliktir. Vejetatif şekilleri dayanıksız olup, sporları bazen kaynama derecelerinde, birkaç saat dayanabilirler. Gram pozitifler. Bulaşma kaynağı; toz, toprak, su gibi temel alanlar olduğundan gıdalara kolaylıkla bulaşabilirler. Özellikle sütte çoğaldıkları zaman kazeini parçalayarak zehirli maddeler açığa çıkarırlar. Diğer besin maddelerinde üredikleri zaman toksin oluştururlar. *B. subtilis* kolonileri düzensiz, büyük bir dalgalanma marjına sahiptir. Beyaz ve donuk rengi ve kuru dokusu vardır. En uygun yetiştiği sıcaklık 25-35°C'dir.

Doğada yaygın olarak bulunmanın yanı sıra, aynı zamanda mikrobik bağırsak florasının bir parçasıdır. ABD Gıda ve İlaç Dairesi (FDA), *B. subtilis*'i bir GRAS (generally recognized of safe) organizması olarak sınıflandırır [60, 61].

B. subtilis, insanlarda düşük derecede patojeniteye sahip olup, "subtilisin" adı verilen proteolitik enzim üretmektedir. Subtilisin, düşük toksijenik özelliğe sahip olmakla beraber sürekli maruz kalındığında, alerjik reaksiyonlara neden olabilmektedir. *B. subtilis* sporları, pişmiş gıdalarda, yüksek sıcaklıklarda canlı kalabilmekte ve ekmek hamurunda "sünme" hastalığını oluşturmaktadır [62].

Ayrıca ürettiği subtilisin enzimi uzun süreli temasta dermak alerjik veya aşırı duyarlılığa sebep olduğu bilinmektedir.



Şekil 2.2. *B. subtilis* grubunda taksonomik gelişme [63]

2.10. *Bacillus cereus*'un Genel Özellikleri

Bacillaceae familyasına dahil olan *B. cereus* Gram pozitif, sporlu, enterotoksin üreten, aerob ve fakültatif anaerob bir bakteridir [47]. Optimum üreme sıcaklığı, suşlara göre 28–35 °C arasında değişmekle birlikte genellikle 30 °C'dir. Maksimum üreme sıcaklığı yine suşlara göre 37-48 °C arasında değişmektedir. Minimum üreme sıcaklığı da suşa bağlı olarak 10-18 °C arasındadır. Bazı kaynaklarda minimum sıcaklık 4–5 °C, maksimum sıcaklık ise 50 olarak verilmektedir. Spor germinasyonu için optimum sıcaklık 30 °C, minimum -1 °C ve maksimum 59 °C'dir. Gelişebildiği pH aralığı 4,9-9,3 olup optimum 7,0'dır. *B. cereus*; lesitinaz, jelatinaz, proteaz, amilaz aktivitesine sahip olup, nitrati indirger ve polimiksine dirençlidir. Birçok suşu da %7,5 tuzda üreyebilir. *Cereus* adını tahıl anlamındaki cereal 'dan almıştır [19].

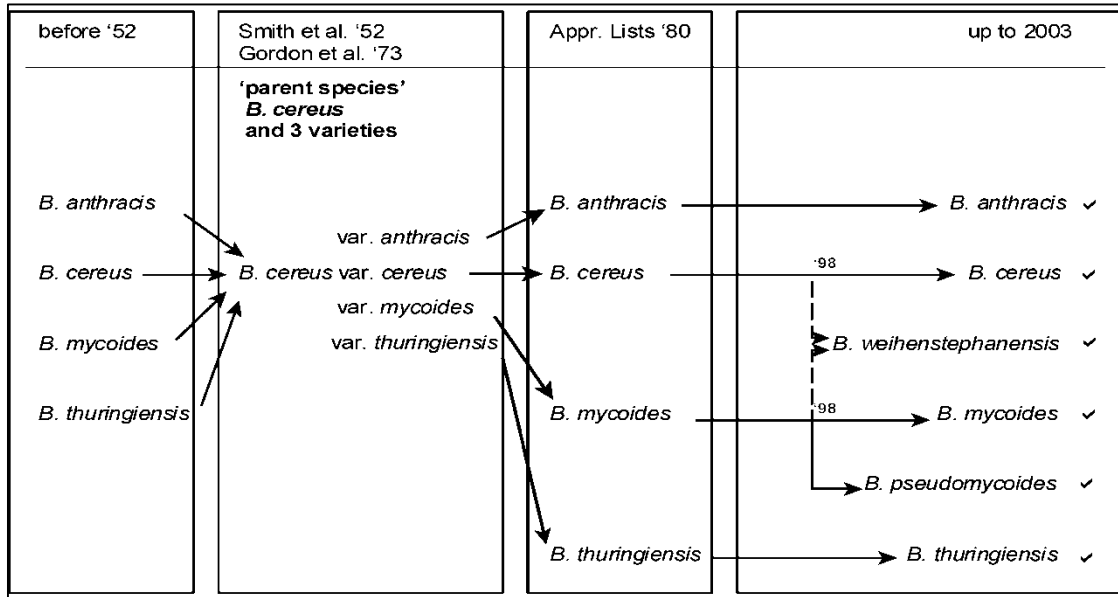
B. cereus, ilk defa Hauge (1950–1955) tarafından Norveç'te 600 kişiyi etkileyen 4 ayrı gıda zehirlenmesi vakasında, etiyolojik etmen olarak bildirilmiş ve 4 vakada da zehirlenmeye neden olan gıdanın, hazırlandıktan sonra bir gün bekletilmiş vanilyalı sos olduğu saptanmıştır. Bu olaydan sonra diğer birçok Avrupa ülkesinde de *B. cereus* vakası tespit edilmiştir. 1980 yılında *B. cereus* kaynaklı 9 gıda zehirlenmesi, 1981 yılında 8 gıda zehirlenmesi vakası, Hastalık Kontrol Merkezine rapor edilmiştir. *Staphylococcus aureus* intoksikasyonu (*B. cereus* kusma tipi sendrom) ve *C. perfringens* gıda zehirlenmesinin (*B. cereus* diyare tipi sendrom), benzer semptomları nedeniyle rapor edilmeyen gıda zehirlenmeleri vakaları da bulunmaktadır [19].

B. cereus'un gıdalarda tehdit oluşturmaya sebep olan üç faktör; termoruiik spor oluşturabilme, soğuk ve sıcakta hayatta kalma kapasitesi ve toksin üretimidir [64].

B. cereus, topraktaki sporlar gibi her yerde bol miktarda bulunur. Silaj, dışkı ve çöpte büyük miktarlarda bulunurlar. *B. cereus* grubu zoonozdan sorumlu değildir, ancak çevredeki yüksek varlığı nedeniyle inek dahil olmak üzere hayvanlar tarafından taşınabilirler. Sağım esnasında, hijyen koşulları tam olarak gözlenmediğinde çiğ sütleri basit bir şekilde kontamine ederler ve çok nadir durumlarda bu türlerin bazı suşları mastitise neden olabilirler [65].

Aerobik spor oluşturan basiller arasında, *B. cereus* çeşitli konulardan dolayı büyük bir endişe kaynağı olarak kalmaktadır. Bu bakteri, birkaç ısı işlem prosesine dayanabilir ve buna ek olarak bazı suşlar psikro toleransa sahiptir. Bu nedenle pastörize ve soğutulmuş süt ürünlerinin muhafaza kalitesini sınırlandırabilir [66].

B. cereus, yiyecek kaynaklı iki hastalık olan emet zehirlenmesi ve diyare iltihabının nedenidir. Mevcut veriler, vejetatif hücrelerin ve sporların, 10^2 - 10^3 spor/l'ye kadar çiğ sütte *B. cereus* bulunduğunu gösterir. Sporlar pastörize sütün yanı sıra ultra yüksek sıcaklıkta (UHT) işlenmiş süt tozu (10^2 ila 10^3 spor / g) ve kaşar gibi peynirlerde bulunurlar [66].



Şekil 2.3. *B. cereus* grubunda taksonomik gelişme [63]

2.11. *Bacillus megaterium*'un Genel Özellikleri

1884 yılında Heinrich Anton de Bary'a tarafından *B. megaterium* denilen suşlar tanımlanmış, ancak bir etimoloji vermemiştir. *B. megaterium*, optimum 30 °C civarında, 3 °C'den 45 °C'ye kadar sıcaklıklarda büyüyebilir. Antartika jeotermal göl gibi yerlerde bazı izolatların 63 °C'ye varan sıcaklıklarda büyüme gösterdiği bulunmuştur. Genel itibarı ile toprakta, bal, toksik çevrelerde bulunabilmektedir. *B. megaterium*, adını vejetatif hücrelerinin büyüklüğünün 1 µm'nin üzerinde olmasından almıştır. *B. megaterium* gıdalardan petrol atıklarına kadar çok çeşitli ekolojisi olan bakteridir.

B. megaterium 4,2 µm 'lık bir hücre uzunluğu ve 1,5- 2 µm arasında bir çapı ile bilinen büyük bakteri arasında yer almaktadır. 1960'larda, *B. subtilis*, *B. megaterium* biyokimya, sporulasyon ve bakteriyofajlara üzerinde yoğun çalışmalar için Gram-pozitif bakterilerin arasında ana model organizma olmuştur. *B. megaterium* hücre dışı enzim olarak penisilin amidaz üretebilmektedir. Penisilin amidaz birçok sentetik penisilinlerin üretmesinde yardımcı olmuştur [67].

2.12. *Bacillus licheniformis*'in Genel Özellikleri

Yeryüzündeki çoğu toprak ve bitki materyallerinden izole edilebilen *B. licheniformis* gram pozitif, fakültatif anaerob ve endospor formu saprofitik organizmalardır. *B. licheniformis* izolatları denitrifikasyon yeteneği göstererek besin döngüsünde önemli bir yer tutmaktadırlar. *B. licheniformis* genom sekansları belirlenmiş olan *Bacillus* cinslerinden *B. subtilis*'in olduğu grupta yer almaktadır.

Zenginleştirme kültürü bulunan ortamda *B. licheniformis* daha iyi gelişir. Çoğu suşunun arjinin dihidrolazı olumludur, penisilinaz indükleyebilir, polipeptid antibiyotikler üretebilirler. Glikoz veya nitrat içeren anaerobik ortamda büyürler. Basitrasin antibiyotığının üretilmesinde kullanılırlar [68].

Sukroz ve rafinozdan ekstrasellüler olarak levan üretirler. Demir içeren karbonhidratlı besiyerlerinde kırmızı pigment meydana getirirler. Eskimiş kültürlerinde bu renk kahverengine dönüşür. Kolonilerin yüzeyi pürüzlü, mat, opak olurlar ve kıl benzeri çıkıntıları vardır. Koloniler sümüksü, tepecik veya lop şeklindedir. Çubuklar genellikle zincir oluşturur. Uygun olmayan koşullarda spor oluştururlar. Sporları toprakta bulunur ve ısı işlemlerine dayanıklıdırlar. Pek çok gıda maddesinde 30-50 °C'lerde vejetatif olarak üreyebilirler İnsanda gıda zehirlenmelerine yol açarlar. Ayrıca böcek patojenidirler. Bakteriyemi, sepsisemi, periton iltihabı, korneal ülser ve göz iltihabı enfeksiyonlarından sorumludur. Diyare, kusma ve bulantı şeklinde besin zehirlenmesine yol açabilir [11].

2.13. *Bacillus circulans*'ın Genel Özellikleri

B. circulans tipik bir kemoorganoheterotrofik bakteridir. Mono-, di-, polisakaritleri ve polihidroksilik karbonu enerji ve elektron kaynağı olarak kullanırlar [69].

Çoğu suşun terminal ve subterminal sporları vardır. Nutrient agardaki kolonileri incedir. Belirgin rizoid kolonileri vardır. Bazı türleri selülozu hidrolize etmektedir. Birçok karbonhidrattan gaz oluşturmada asit oluştururlar. Glikozlu besiyerinde anaerobik koşullarda üretilbilirler. Sporlarına toprakta rastlanır [70].

2.14. *Bacillus brevis*'ın Genel Özellikleri

Pek çok suşunun gelişmesi için minimum besin ihtiyacı aminoasitlerdir. En sık olarak topraktan ve çeşitli gıdalardan izole edilirler. Sporları eliptiktir, glikozdan yavaş bir şekilde asit oluşturur veya asit oluşumu hiç yoktur [71]. Besin zehirlenmesine sebep olabilirler. Farklı sıcaklıklarda büyüme aralıkları vardır [11, 72].

2.15. *E. coli* ve *Bacillus* Suşlarında Slime ve Biyofilm Oluşumu

İlk kez 1982'de Christensen tarafından *Staphylococcus epidermidis* için tanımlanan slime faktörü, protein, hekzoaminler, nötral şekerler ve fosforlu bileşikler gibi birçok maddenin oluşturduğu karışık bir yapı olmakla birlikte [73,74] %40 karbonhidrat ve %27 protein içeren glikokaliks yapısında hücre dışı bir maddedir. Bu faktörün, mikroorganizmanın konak hücreye ve yapay yüzeylere adezyonunu sağlayarak etkili olduğu gösterilmiştir. Bu yüzeylerde fibrin, fibronektin ve slime faktörü ile bir biyofilm tabakası oluşmakta ve bu biyofilmden oluşan mikroorganizma çoğu kez sepsise yol açmaktadır [75-77].

Slime faktör mikroorganizmayı kaplayarak vücudun savunma mekanizmasından korur [78]. Ayrıca slime üreten mikroorganizmalara bağlı infeksiyonların tedavisinin daha güç olduğu gözlenmiştir [75]. Slime üreten suşlar, antibakteriyal tedaviye, slime oluşturmaya göre daha dirençli olabilirler [79].

Gıdada bulunan mikroorganizmaların slime faktör oluşturmaları da bizim çalışmalarımızda gösterilmiştir. Çiğ süt, peynir ve dondurma örneklerinden izole edilen *Bacillus* türleri ve *E. coli* izolatlarında slime faktör oluşumu tespit edilmiştir.

Biyofilm, mikrobiyal hücrelerin hücre dışı polimer matriksle birbirlerine ve yüzeye tutunarak toplanmasıdır. İlk olarak 17. yüzyılda Antony Van Leeuwenhoek basit mikroskobu kullanarak biyofilm yapısını dış plaklarında tespit etmiştir. Daha sonra

mikrobiyal biyofilmlerin keşfi ile de bu tespitin doğru olduğu kanıtlanmıştır. Heukelekian ve Heller deniz mikroorganizmalarında bakterilerin önce yüzeye tutunduklarını daha sonra bakteriyel gelişim ve aktivitelerinin meydana geldiğini saptamışlardır. Zoobel ise, su altında oluşan biyofilm yapısına katılan bakterilerin sayısının herhangi bir yüzeyde oluşanlara kıyasla daha az olduğunu gözlemlemiştir.

Işık mikroskobundan daha yüksek çözünürlüğü olan ve daha büyük görüntüleri sağlayan elektron mikroskobunun kullanılmasıyla biyofilm yapısı daha da aydınlatılmıştır. Jones ve arkadaşları taramalı ve geçirimli elektron mikroskobu ile biyofilm yapılarını incelemişlerdir. Atık su arıtım tesislerinde kırma taşı filtrelerinden elektron mikroskobu ile farklı morfolojideki mikroorganizma gruplarını gözlemlemişlerdir. Spesifik polisakkarit boyası olan Ruthenium kırmızısı ile boyayıp, osmium tetroksitle fikse edip incelediklerinde biyofilm yapısında tutunmayı sağlayan hücre dışı matriksin polisakkarit olduğunu kanıtlamışlardır.

Characklis 1973'ün başlarında endüstriyel su sistemlerinde biyofilm yapısını araştırmıştır. Bu çalışmada güçlü biyofilm yapısının dezenfektan ve klorine dirençli olduğu öne sürülmüştür. Marshall 1976 yılında çok ince ekstrasellüler polimer fibrillerin bakteri yüzeyine sabitlendiğini bildirmiştir. Costerton ve arkadaşlarının 1978'de diş plakları ve nehirlerdeki sesil hücre topluluklarında yaptıkları çalışmalarda yüzeylere tutunan mikroorganizmaların, ekolojik ortamlardan faydalandıkları belirtilmiştir. Yeterli besine sahip ekosistemlerde bakterilerin büyük kısmının biyofilm tabakasını oluşturan matrikste üredikleri ve bu sesil bakterilerin planktonik eşdeğerlerinden farklılık gösterdikleri belirtilmiştir. O tarihten itibaren ekolojik ortamda biyofilmler üzerine yapılan çalışmalar halk sağlığı ile ilişkili bulunduğundan paralel olarak ilerlemektedir [46]. Biyofilmlerin varlığı derin yer altı suları ve okyanusun derinleri dışında tüm doğal ekosistemlerde saptanmıştır [72].

Biyofilm, bakterilerin oluşturduğu kompleks bir organizasyondur. Organize bir yapı içerisinde birlikte yaşayan bakteriler yüzeylere tutunur ve birbirleriyle uyum içindedirler. Bakteriler, polisakkaritlerden, nükleik asitlerden, lipidlerden ve hücre dışı polimerik maddelerden oluşmuş matriksin içine gömülüdürler [80-82]. Fosil kayıtları üç milyar seneden beri prokaryotların biyofilmler halinde yaşadıklarını göstermektedir.

Biyofilm oluşumu çeşitli iç ve dış faktörlere bağlıdır. Örneğin; su aktivitesi, besin ihtiyacı, antimikrobiyal madde içeriği, potansiyel hidrojen (pH) değeri, asidite, oksijen değişkeni ve elektriksel değişkenlik gibi iç faktörler, yüzey materyali, yüzey alanı, yüzey düzgünlüğü, sıvının akış hızı, sınırlı besin maddesi gibi dış faktörler etkindir [82].

Biyofilm oluşum basamakları şöyledir:

Dönüşümlü tutunma: Bakteri hücresinin yüzeye ilk tutunmasında bakteri hücresi yüzey ile tam olarak temas etmemekte, ancak bakteri hücresi ile yüzey arasında uzun mesafeli etkileşimler meydana gelmektedir. Bu aşamada bakterinin yüzeye tutunması bakteriyel hücre yüzeyinin [83], tekstür [47], yüzey yükü [84], hidrofobiklik [85] pH, sıcaklık ve [85] besin maddelerinin varlığı [47, 86] gibi fizikokimyasal özelliklerine bağlıdır. Yüzeye tutunan hücreler çok az miktarda EPS'ye (ekstrasellüler polisakkarit) sahiptirler ve bağımsız hareket etme yeteneğindedirler [87]. Yüzey özellikleri bakteriyel tutunmada önemli rol oynar. Bakteriler türüne göre farklı yüzeylere farklı miktarlarda bağlanabilirler. Örneğin Sinde ve Carballo 2000'de *Salmonella* ve *Listeria*'nın hidrofobik yüzeylere hidrofilik yüzeylerden çok daha fazla miktarda tutunabildiklerini saptamışlardır. Hücreler bu aşamada, durulama gibi basit yıkama işlemleri ile kolayca yüzeyden uzaklaştırılabilirler.

Dönüşümsüz tutunma: Dönüşümlü tutunmadan dönüşümsüz tutunmaya geçiş EPS varlığında bakterinin yapmış olduğu zayıf bağların kalıcıya dönüşmesidir [88]. Dönüşümsüz tutunmayı yüzeyle kısa mesafeli etkileşimler sağlamaktadır. Bakteri hücreleri flagella (kamçı) ve pili(ince kıl) gibi organelleri ile ve EPS oluşturarak yüzeylere dönüşümsüz olarak bağlanırlar [89]. Dönüşümsüz tutunma aşamasından sonra biyofilm hücrelerini yüzeyden uzaklaştırabilmek için güçlü mekanik kuvvet, enzim, dezenfektan, deterjan, sanitizerler ve/veya yüksek ısıl işleme ihtiyaç vardır [88, 90, 91]. Gerke ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmada (1998) *Staphylococcus epidermidis* bakterisinin hücre içi polisakkarit ürettiğini bu şekilde yüzeye tutunup mikrokoloni geliştirip olgun biyofilm oluşturduğunu saptamışlardır [92].

Koloni gelişimi: Mikrokoloni gelişimi bakteri hücrelerinin yüzeyde birikmesi, mikroorganizmaların gelişmesi ve EPS üretimi sonucunda gerçekleşir. EPS bakteri ve alt katmanı arasında bağ oluşumuna katkıda bulunur, koloniyi her türlü çevresel strese karşı

stabil hale getirir [47, 93]. Bu sistemde bakterilerin yüzeyde toplanma işlemi planktonik hücrelerin sinyal molekülleriyle etkileşip bir araya gelmesiyle gerçekleşir. Bu aşamada bir bakteri hücresi yüzeyde koloni oluşturduktan sonra (ilk koloni), aynı yüzeyde diğer bakteriler de koloni oluşturur (ikincil koloni). Biyofilm büyüdükçe, polimer matriksinde kapsül oluşturmuş mikroorganizmalarda da artış görülür [94], çalışmalarında *Pseudomonas aeruginosa* PA14'susunun mikrokoloni oluşturabilmesi için pili 4 genine ihtiyacı olduğunu saptamışlardır [87]. Yüzme hareketinin, bakteriye yüzeydeki itici güçlerin üstesinden gelebilmesini ve alt katmana ulaşabilmesini sağladığı pili 4 yardımıyla uzama ve geri çekilme hareketleriyle mikrokolonileri oluşturduğu düşünülmektedir [50].

Olgun Biyofilm Oluşumu: Bu aşamada biyofilm hücreleri besin maddelerinin etkisiyle apartman yada mantar şeklinde yapılara dönüşürler [93, 95].

Çeşitli yüksekliklerde kuleler oluşturan mikrokolonilerin aralarında besinlerin ulaştırılması ve metabolik atık ürünlerin uzaklaştırılması için dolaşım sistemi olarak görev yapan su kanalları bulunmaktadır [94, 96]. Hücrelerin bu yapıya ulaşılabilmesi için yaklaşık 10 gün yada daha uzun bir süre gerekmektedir [96].

Biyofilm hücrelerinin koparak ayrılması: Biyofilm oluşumunda son aşama biyofilm hücrelerinin koparak ayrılmasıdır. Hücreler bu aşamada planktonik fazlarına geri dönerler [97]. Artan akış kuvveti [88], iç enzimatik bozulma, EPS ya da yüzey bağlayan proteinlerin açığa çıkması gibi hücre içinde görülen işlemler biyofilm hücrelerinin ayrılmasında önemli rol üstlenir [78]. Ayrıca ortamda besin maddelerinin tükenmesi de hücresel ayrılmaların önemli bir nedeni olabilmektedir [87, 98]. Bu ayrılma işlemi dış kuvvetlerin etkisiyle olabileceği gibi, biyofilm oluşum basamağının bir parçası olarak tek bir hücrenin veya çoklu hücrelerin kopmasının bir sonucu da olabilir [94].

Sıvı çevresel koşullarda hidrodinamik kuvvet, bakterinin yüzeye yaklaşması için önemlidir. Bakteriler, Brownian ve yerçekimi kuvveti gibi pasif hareketlerin yanı sıra, yüzeyin itici elektrostatik ve hidrodinamik güçlerine karşılık aktif hareketler yapabilmektedirler. Böylece yüzeyle etkileşim şansları artmaktadır. Biyofilm oluşum aşamasında, bakterinin hareketi yüzeye tutunmasına yardımcı olur. Hareket için gerekli yapı flajeldir. Sıvı/yarı katı besiyerlerinde yüzeye tutunmada veya yüzeye yayılmada

etkilidir [72]. Hareketsiz bakteriler de biyofilm oluşturma yeteneğine sahip olabilirler. Konjugatif plazmid *E.coli* suşları için gl bir adhezyon faktör olarak rol oynamaktadır. Biyofilm oluşumunda ilk adım olan geri dönüşümlü tutunma; çevrenin sıcaklığından, pH'sından, iyonik gücünden ve tutunacağı yüzeyin özelliğinden etkilenmektedir. Teflon, plastik gibi hidrofobik yüzeylerde cam ve metaller gibi hidrofilik yüzeylere nazaran daha iyi kolonize olurlar.

Sonraki adım geri dönüşümsüz tutunmadır. Hücreler bir araya gelip kümeleşirler. Termodinamik yönlerinin yanı sıra bakterinin yüzeye yapışmasında yardımcı olan organelleri bulunmaktadır. Bunlar; tip 1 flajel, pilus ve konjugatif pilustur. Bu yapıları sayesinde yüzeylere tutunma gerçekleşir. Piluslar ve konjugatif piluslar ile ayrıca hücreler arası etkileşimler de gerçekleşmektedir. Konjugatif piluslar ile yatay gen aktarımı gerçekleşir. Konjugatif plazmid, suşların olgun biyofilm yapısı oluşturmasını tetiklemektedir. Ayrıca plazmide bağlı virulans faktörleri oluşmaktadır.

Daha sonraki adım ise, olgun biyofilm yapısının oluşmasıdır. Bakteriler yüzeye tutunduktan sonra üç boyutlu gelişim göstererek olgun biyofilm yapısını oluştururlar. Çoğunlukla bakteriler arası etkileşimlere, çevrenin heterojenik fizikokimyasal yapısı neden olmaktadır. Böylece biyofilmdeki bakteriler, planktonik eşlerinden farklı fizyolojik özellikler sergilemektedirler. Ayrıca biyofilm yapısının oluşumunda ve olgunlaşmasında yüzey adhezinleri önemli katkıda bulunmaktadır. *E.coli*'nin yüzey adhezinleri şunlardır;

Ototransporter adhezinler: Gram negatif bakterilerde proteinlerin, hücrenin dışına doğru translokasyonunun sağlanması için sitoplazmik membran, periplazma ve dış membrandan geçmeleri gereklidir. Translokasyonun sağlanması için altı farklı salgı yolu vardır. Aralarında Tip 5 salgı yolu proteinlerin yüzeye ulaşmasını sağlamaktadır.

Sınırlı sayıda salgı faktörleri salgılanır çünkü translokasyon için gerekli bilgilerin çoğunu, salgılanacak proteinin kendisi içermektedir. Bu proteinlere, dış membrandan kendilerinin taşınmasını sağlayabildikleri için ototransporter denilmektedir. Gram negatif bakterilerin ototransporter proteinleri tanımlanmış ve üç grupta toplanmıştır. Bunlar; proteazlar, esterazlar ve adhezinlerdir.

Tip 5 salgı yolu: Ototransporter proteinler tip 5 salgı yolu ile hücre içinden dışına salgılanır. Antijen 43: Dış membran proteinidir. Hücreler arası tutunmayı sağlar. Ökaryotik hücelere veya cansız yüzeylere tutunan hücelerin, olgun biyofilm yapısı oluşturmalarında rol oynar.

AidA ve TibA proteinleri: Ökaryotik hücelere ve cansız yüzeylere tutunmayı, otoagregasyonu ve biyofilm oluşumunu sağlayan glikozillenmiş yüzey proteinleridir. Ayrıca patojenik *E.coli* suşlarında virulans faktör olarak da rol oynarlar.

E.coli adhezin potansiyeli: Genetik analizler sonucu, çeşitli *E.coli* adhezinlerinin kolonizasyon veya olgun biyofilm yapısı oluşumuna katkı sağladığı bulunmuştur.

Yapılan çalışmalar sonucunda, *yfaL*, *yeeJ*, *ypjA* ve *yecgV* genlerinin *E.coli*'nin tutunmasında rol oynadığı kanıtlanmıştır.

Çeşitli patojenik *E.coli* suşlarında bu adhezyon faktörlerine ek olarak flajel yapıları ve plazmidler sayesinde bakteri hüceleri diğer hücelere veya cansız yüzeylere yapışabilmektedirler.

Son adım dağılma evresidir. Hücre kümeleri arasında kanallar oluşur ve ayrılma gerçekleşir [72].

Biyofilmlerin gıda hijyen ve sanitasyonu açısından önemi büyüktür. Biyofilmler özel öneme sahiptirler. Özel öneme sahip olmalarının nedeni ise, uygun şartlar altında mikroorganizmaların gıda ve gıda temas yüzeyleri üzerinde tutunma ve gelişme kabiliyetidir. Eğer mikroorganizmalar temizleme sürecinde gıda temas yüzeylerinden tamamen uzaklaştırılmazsa, biyofilm oluşumuna yol açabilir. *Bacillus*'larda bu bakteriler arasında yer almaktadır. Bu nedenle; hijyenik fabrika düzeni, ekipman tasarımı, malzeme seçimi, fiziksel metotlarla birleşen dezenfektan ve deterjanların seçimi ve doğru kullanımı, gıda temas yüzeyleri üzerinde kontrol altına alınabilen biyofilm oluşumunu engelleyebilir [99].

Gıda işletim sistemlerinde biyofilm oluşması sonucunda gıdalar ve ekipmanları kontamine olurlar. Bu durum insan sağlığı açısından önemlidir. Gıdayla temas halinde bulunan

yüzeylerde bakteriyel yapışma gıdalarda bozulma ve bozulmaya bağlı olarak da hijyen problemlerine ve ekonomik kayıplara yol açmaktadır.

Biyofilmler özellikle gıda endüstrisinde mayalanma, süt ürünleri işleme, kanatlı etleri işleme ve kırmızı et işlemede sorun oluşturabilirler. Gıda endüstrisi içerisinde, süt işleme ekipmanlarında biyofilm oluşumu, önemli bir sorundur. Özellikle süt ürünlerinde kontaminasyon meydana geldiğinde, sorunun kaynağı olarak biyofilmler öne sürülür. Süt endüstrisi ekipmanları üzerinde biyofilm oluşumu, gıda zehirlenmesi ve ekipman bozulması yüzünden ciddi hijyen sorunlarına ve ekonomik kayıplara yol açabilmektedir.

Bacillus'lar işleme ekipmanlarında ısı değiştiricilere tutunmuş halde bulunabilmektedir. Pastörizatörlerin giriş ve çıkış kısımlarında biyofilm oluşumu görülebilir. *B. cereus* sporlarına sütte rastlanır ve bu sporlar işleme ekipmanlarındaki boruların yüzeylerinde birikmesinden dolayı sorunlara yol açmaktadır. Sütün pastörizasyon işlemi çoğu zaman ortamdaki sporları yok etmek için yeterli değildir. Bu uygulamayla sadece vejetatif hücreler öldürülür. Temizleme işlemi *B. cereus* sporları üzerine etkili değildir ve bu sporlar paslanmaz çelik yüzeyler üzerine tutunmaya devam ederler. Bu durum; *Bacillus* sporlarının sütte bulunduğu ve süt veya süt ürünlerinin oda sıcaklığında muhafaza edilmesi durumunda spor oluşturabileceğini göstermektedir [72].

Süt endüstrisi açısından biyofilm oluşumunda süt proteini önemli rol oynamaktadır. Paslanmaz çelik yüzey üzerinde yapılan bir çalışmada α -kazein, β -kazein, k-kazein ve α -laktalbumin gibi süt protein fraksiyonlarının bazı bakterilerin tutunmasını azalttığı, fakat ortama glutaraldehit eklendiğinde ise aynı bakterilerin tutunmasının arttığı tespit edilmiştir [72].

Ayrıca mikroorganizma topluluklarının oluşturduğu biyofilm yapısı, mikroorganizmanın kolonizasyonunu destekleyen, pH değişikliği, besin yetersizliği gibi olumsuz dış ortam koşullarına, antibiyotik, dezenfektan madde gibi kimyasallara karşı dayanıklı olmasını sağlayan önemli bir virülans faktörüdür. Özellikle üropatojenik *E. coli*'nin neden olduğu üriner sistem enfeksiyonları canlı dokuda oluşan biyofilm enfeksiyonlarına örnek gösterilebilir ve bu durum halk sağlığı açısından tehdit oluşturmaktadır [100].

2.16. *Bacillus* ve *E. coli* Suşlarında Hemolitik Aktivite

Bakteriyel hemolizinler bir grup ekstraselüler sitotoksik polipeptid olup, eritrositleri eritirler. Eritrosit üzerinde oluşturdıkları bu etkinin yanı sıra polimorf nüveli lökosit, monosit ve fibroblast gibi bir grup hücreye daha in vitro toksik etki etki gösterirler.

Patojenik suşlara sahip bakteriyel türler genel olarak hemolitik aktivite göstermektedir. Bu özellik, çoğu kez patojenik ve patojenik olmayan suşları ayırt edici bir grup özellik arasında yer almaktadır.

Hemolizin üretiminin genellikle demir fazlalığında baskılandığı, demir miktarının düşük olduğu durumlarda arttığı belirlenmiştir.

Yapılan çalışmalar hemolizin aktivitesinin *E. coli* ve *Bacillus* için virülans faktör olduğunu göstermektedir [45, 101].

2.17. *Bacillus* Türleri ve *E. coli*'de Siderofor Üretimi

Bilindiği gibi, patojenik mikroorganizmaların, hayatta kalabilmeleri ve enfeksiyon oluşturmaları için elementer demire ihtiyaçları vardır. İnsan vücudunda serbest demir olmadığı için, patojen mikroorganizmalar demir ihtiyacını genellikle demir içeren bileşikler (hemoglobın gibi) parçalayarak indirekt yolla sağlamaktadır [102].

Bakterilerin demir elde etme yollarından en iyi araştırılmış olanı sideroforlardır. Sideroforlar demir bağlama yeteneği olan düşük moleköl ağırlıklı bileşiklerdir [103, 104].

Bakterilerin çoğalmaları sırasında gereksinim duydukları demiri konak ile yarışarak sağlayabilmesi, enfeksiyonun devamı açısından önemlidir. Laktoferrin ve transferrin gibi demir bağlayan bileşiklerde de bulunabilen demir, ortamda bol olmasına rağmen bakterinin çoğalması sırasında hazırda mevcut değildir. Bu nedenle konakta varlığını sürdürmek için mikroorganizmalar, öncü demir moleküllerini kullanma yeteneklerini ortaya koyar ve bunu da, yüksek afiniteli demir kazanım sistemlerini eksprese ederek sağlar [105].

Önemli çevresel bir sinyal olan demir konsantrasyonu, çeşitli temel hücresel fonksiyonları kodlayan genlerin ekspresyonunun düzenlenmesiyle ilişkilidir. Bu amaçla eksprese edilen sideroforlar da, bakterinin demir kazanımının yanı sıra, enfekte konakta hücre hasarına neden olarak ek bir virülans faktörü özelliği gösterir [106].

E. coli'nin de içinde bulunduğu birçok enterik bakteri enterobaktin (fenolat) ve aerobaktin (hidroksamat) olmak üzere iki tip siderofor üretirken [107, 108]. Bazı *Bacillus* grupları tarafından üretilen basillibaktin bir fenolat grubu sideroforudur [101]. Bunlar arasında en yaygın tip fenolat tip siderofor olmasına rağmen bu sideroforun bakteriyel virulanstaki rolü henüz kesin olarak tespit edilmiş değildir [107,108]. Aerobaktin üretimi bakteriyel virulans açısından oldukça önemlidir [109]. *E. coli*'nin ürettiği aerobaktinlerin özellikle sistit ve pyelonefrit nedeni olduğu belirlenmiştir [47].

2.18. *Bacillus* Türlerinde Bazı Enzim Aktiviteleri

Bacillus türlerinin ürettiği bazı enzimler; proteaz, lipaz, jeletinaz, fosfolipazlardır. Süt ürünlerinin psikrotrof florası, süt öğelerini ayrıştırabilecek mikrobiyal kökenli proteaz ve lipaz gibi ekstraselüler enzimler üretirler. Bu enzimler, üretim hatalarında başrol oynayan süt yağ globüllerini ayrıştırabilmektedir. Örneğin, *B. cereus* bulaşması kaynaklı fosfolipaz C, pastörize sütlerde "bitty cream" yani "parçalı krema" adlı bozulmaya ve benzer etkilere yol açmaktadır.

Mikrobiyal kaynaklı lipaz, peynirde ransit hatalara, proteaz ise UHT sütte jelleşme ve acı tat oluşumuna yol açabilir. Bunlar ekonomik olarak önemli psikrotrofik bakteriyel enzimlerdir ve etkileri hızlıca ortaya çıkar. Bu enzimlerin belirlenmesi için hassas analizler, sütlerin rutin kontrolü sırasında yapılması kolay ve yaygın değildir. Oysa böyle ölçümler üretim kalitesi için bakteriyel sayımdan daha uygundur. Psikrotrofların farklı türleri ve suşları farklı miktarlara ulaştıkları zaman saptanabilir proteaz ve lipaz üretirler. Örneğin, bazı türlerde sayı $1,5 \times 10^6$ kob/g'a ulaştıkları zaman saptanabilir proteaz üretirken, bazılarında bu değer 105 kob/g'dır. Psikrotrofik bakteriler tarafından proteaz ve lipaz üretiminde gelişme sıcaklığının etkisi türlere göre spesifik olmaktadır. Ekstraselüler enzim sentezinin maksimum gelişmenin olduğu optimal sıcaklıkta olduğunu belirtilirken, diğer araştırmacılar daha yüksek sıcaklıklarda daha yüksek miktarlardaki enzim sentezinin meydana geldiğini öne sürmektedirler. Proteaz ve lipazın ikisinin birden sentezinin

psikrotrofik bakteri gelişme sıcaklığı olan 2 °C'de bastırılmış olduğunu açıkça gösterilmiştir. Bu bulgular, sütün 2°C'ye kadar soğutulması ile ürün kalitesinde ve raf ömründe iyileşme olacağını göstermektedir [1].

2.19. *Bacillus* Türlerinde DNaz Aktivitesi

DNaz, DNA molekülünü inhibe eden ekstrasellüler bir maddedir. DNaz enzimi üreten mikroorganizmalar, *Staphylococcus aureus*, *S. intermedius*, *S. hyicus*, *Streptococcus* ve *Serratia mercenscens*'tir. Bakterilerin DNaz üretebilme kapasiteleri halk sağlığı açısından risk oluşturabilir veya gıdalarda bozulmalara yol açabilir. Ülkemizde DNaz testi ile ilgili bildiriler sınırlıdır [110]. Bizim çalışmamızda *Bacillus* türlerinde DNaz aktivitesi araştırılmış ve elde edilen *Bacillus* izolatlarının %45'i DNaz aktivitesi açısından pozitif olarak saptanmıştır. Bu sonuçlar açısından çalışmamız önem taşımaktadır.

2.20. *Bacillus* Türleri ve *E.coli*'de Amino Asit Dekarboksilaz Aktivitesi

Biyojen aminler, çeşitli fermente gıdalarda bulunan düşük molekül ağırlıklı azotlu bileşiklerdir ve genel olarak amino asitlerin mikrobiyal dekarboksilasyonu ile üretilirler [111, 112].

Gıdalarda biyojen amin üretimi hem dekarboksilaz enzimi üretme kapasitesine sahip mikroorganizmaların varlığına hem de dekarboksilaz sentezi için gerekli şartların uygunluğuna bağlıdır [113].

Gıdalarda bulunan biyojen aminler, gıdaların bozulması ve gıda güvenliği ile yakından ilişkilidir. Histamin, tiramin, putresin, kadaverin gibi amino asit dekarboksilaz aktivitesi sonucu oluşan biyojen aminler, gıdalarda bozulma indikatörü olarak kullanılır [114].

Bizim çalışmamızda da *E. coli* ve *Bacillus* türlerinin histidin, arjinin, ornitin, tirozin ve lizin amino asitlerinin dekarboksilasyonu aktivitesi çalışılmıştır. Süt ve süt ürünlerinde amino asit dekarboksilaz aktivitesi ile üretilen biyojen aminler, gıda zehirlenmelerine yol açmaktadır [114].

2.21. *Bacillus* Türleri ve *E. coli*'de Antimikrobiyal Direnç

Antibiyotikler, bakteriler ve funguslar tarafından üretilen doğal antimikrobiyel metabolitlerdir. Bunlar, kendisini üreten mikroorganizma dışındaki ve antibiyotik üretmeyen etkenlere karşı inhibitör (statik) veya öldürücü (sidal) etkiye sahiptirler. Doğal antibiyotiklerin, mikroorganizmalar tarafından kolayca inhibe edilmesi nedeniyle semi sentetik olarak hazırlanmakta ve daha fazla dayanıklı olmaktadır. Antibiyotikler mikroorganizmalar üzerinde çok değişik tarzda etkili olmaktadır. Bunlar; hücre duvarı sentezine mani olanlar, sitoplazmik membranı etkileyenler, protein sentezine mani olanlar, nükleik asit fonksiyonunu ve sentezini bozanlar olarak ayrılmaktadır [1].

Halk sağlığı için ana problem, direnç genlerinin çevresel bakterilerden insan patojenlerine aktarılma tehlikesidir. Bakteriyel popülasyonlar arasında direnç genlerinin horizontal yayılabilme kabiliyetinden dolayı çevrede dirençli bakteri sayısındaki artış halk sağlığı için endişe vericidir. Bu sorun nedeniyle özellikle antibiyotik direnç genlerini kodlayan belirleyici genler ilgi toplamaktadır. Doğal çevrede bakteriler arasındaki gen transferi konjugasyon, transformasyon ve transdüksiyon mekanizmaları ile gerçekleşmektedir. Dirençli bakterilerin bu kabiliyeti ve direnç genlerinin bir ekosistemden diğerine taşınmaları rapor edilmiştir.

Ülkemizde antibiyotik duyarlılıkların saptanmasında yaygın olarak National Committee for Clinical Laboratory Standarts (NCCLS) önerileri uygulanmaktadır [1].

Antibiyotiklerin keşfedilmesi ile birlikte enfeksiyonların tedavi edilmesinde ciddi başarılar sağlanmıştır. Bunun yanında bilinçsiz ve yaygın antibiyotik kullanımı antibiyotik dirençliliğini ortaya çıkarmıştır.

Antimikrobiyal ajana karşı direnç kazanan mikroorganizma, o antimikrobiyalden etkilenmemektedir. Bu da tedavide başarısızlıklara neden olmaktadır. Direnç gelişiminin önüne geçmek amacı ile hastalara antibiyogram testleri uygulanmalı, doğru ve etkili olan antibiyotik veya antibiyotik kombinasyonları belirlenerek hastaların tedavi süreci etkin bir şekilde tamamlanmalıdır [34].

E. coli'nin de dahil olduğu *Enterobacteriaceae* familyasına etki eden antimikrobiyallerin tedavide kullanımını belirlemek amacıyla CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) tarafından dört gruptan oluşan bir antimikrobiyal sınıflandırma yapılmıştır. Bu sınıflandırmaya göre tedavide ilk seçenek olarak Grup A antimikrobiyalleri kullanılmalıdır. Eğer mikroorganizmalarda Grup A antimikrobiyallerine karşı direnç gelişimi gözleniyor ise Grup B antimikrobiyalleri ikinci seçenek olarak kullanılabilir. Mikroorganizmaların Grup B antimikrobiyallerine de direnç gelişimi gözleniyor ise üçüncü seçenek olan Grup C antimikrobiyalleri kullanılmalıdır. Üriner sistem enfeksiyonlarında ise yalnızca Grup U antimikrobiyalleri kullanılmalıdır [34].

Günümüzde antibiyotik direnci önemli bir halk sağlığı sorunudur. Antibakteriyel direnç, farklı mekanizmalar ile gelişebilir. Bazı mikroorganizmalar birkaç mekanizmayı barındırarak birden çok ilaca dirençli olma potansiyeli taşırlar. Birden çok ilaca dirençli Gram negatif enterik bakterilerin oluşması hem nozokomiyal, hem toplumdan kazanılan enfeksiyonların yönetiminde büyük bir problem oluşturmaktadır [103].

Enfeksiyon tedavisinde geniş çapta antibiyotik kullanımı, suyun da dahil olduğu çeşitli ortamlarda antibiyotiğe dirençli bakterilerin yayılmasına neden olmaktadır. Hayvan beslemede öncelikle antibiyotikli yemler kullanan gelişmiş ülkelerde sorun ciddi boyutlara ulaşmıştır [115- 117].

Beta-laktam antibiyotiklerin ve bu antibiyotiklerin inhibitör kombinasyonlarının sık kullanımı var olan direnç mekanizmalarını arttırmakla birlikte yeni direnç mekanizmalarının ortaya çıkmasına da neden olmaktadır. Sonuçta artan tedavi zorlukları ile karşı karşıya kalınmaktadır [103].

Bacillus'ların hem insan hem de hayvanlarda patojen olmaları, aktarılabilir plazmid veya kromozomal kökenli direnç genlerini taşımaları nedeniyle antibiyotik direncinin çevreye yayılmasında ve direnç genlerinin evriminde önem taşımaktadırlar [118].

2.22. *E. coli*'de Geniş Spektrumlu Beta Laktamaz (GSBL) Aktivitesi

Antibiyotiklere karşı direnç mekanizmaları içinde GSBL (geniş spektrumlu beta laktamaz) üretimi en iyi bilinen direnç mekanizmalarından biridir. Bu enzimler, beta-laktam

antibiyotiklerin, beta-laktam halkasındaki amid bağlarını parçalayarak antibakteriyel etkisini ortadan kaldıran enzimlerdir. Antibiyotiklere karşı giderek artan ve yaygınlaşan direnç tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de büyük bir sorundur. Geriye fazla alternatif antibiyotik seçeneği kalmadığı için GSBL üretimi, *E. coli*'nin de içinde bulunduğu *Enterobacteriaceae* üyelerinin geliştirdiği en önemli direnç mekanizmalarından biridir [119].

Çiftlik hayvanlarında antibakteriyel direnç genlerini taşıyan kommensal bakterilerin izole edilmesi ve direnç mekanizmasında rol oynayan bu tip enzimlerin varlığı nedeniyle, farklı çevrelerden izole edilen *E. coli* suşlarında GSBL aktivitesinin araştırıldığı epidemiyolojik çalışmalar önem kazanmaktadır. Çünkü bu enzimler insanlarla temas halinde olan ev hayvanlarından, çiftlik hayvanlarından ve yaşadıkları ortamlardan izole edilen etkenlerde artan oranlarda rapor edilmeye başlanmıştır [120- 123].

Hayvanlarda bulunabilen bu tip mikroorganizmalar hayvan sahipleri, çiftlik çalışanları ve hayvansal gıda tüketenler için tehdit oluşturmaktadır [121, 124].

Bu sebeplerden dolayı çalışmamızda çiğ süt, peynir ve dondurmadan izole edilmiş *E. coli* suşlarında GSBL aktivitesi profilinin araştırılması amaçlanmıştır.

3. MATERİYAL VE METOD

Araştırmamızda 06.07.2015-04.05.2017 tarihleri arasında Ankara'daki bir süt işletmesinden, semt pazarlarından ve çeşitli pastanelerden alınan 50 çiğ süt, 50 peynir (beyaz, lor, kaşar, tulum, çökelek) ve 25 dondurma örneğinde *E. coli* ve *Bacillus* türlerinin varlığı araştırılmıştır. Biyokimyasal testlerle tanımlanan izolatların doğrulanması BBL Crystal Enteric/Nonfermenter (E/NF) ile yapılmıştır. *Bacillus* izolatlarının slime ve biyofilm oluşturma, proteaz, lipaz, lesitinaz, jelatinaz, gibi bazı ekstrasellüler enzim aktiviteleri, DNaz aktivitesi, hemolitik aktivite, siderofor oluşum aktivitesi, amino asit dekarboksilaz aktivitesi ve antibiyotik duyarlılık testleri yapılmıştır. *E. coli* izolatlarının ise slime ve biyofilm oluşturma, hemolitik aktivite, siderefor oluşum aktivitesi, amino asit dekarboksilaz aktivitesi, antibiyotik duyarlılık testi ve geniş spektrumlu beta laktamaz (GSBL) aktivitesi testleri yapılmıştır.

3.1. *Bacillus* Türlerinin İzolasyonu

Araştırmamızda Türk Standardı (TS) TS 3135'te (TS-3155, 1998) belirtilen esaslara göre çiğ süt, peynir ve dondurma örnekleri çalışılmıştır. Ankara'nın semt pazarlarından, çeşitli pastanelerinden ve bir süt işletmesinden alınan çiğ süt, peynir ve dondurma örnekleri mikrobiyal yükleri etkilenmeyecek steril kaplara alınıp laboratuvara getirilmiş ve aynı gün çalışılmıştır. Örneklerden 5'er ml/gr tartılarak 45 ml tamponlanmış peptonlu su besiyerine aktararak mikroorganizmaların vejetatif formlarını yok etmek amacı ile 80 °C'de 15 dakika bekletilmiştir.

Ön zenginleştirmesi yapılan peptonlu sudan 0,1 ml örnek alınarak Nutrient agara yayma ekim yapılarak 37 °C de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Bu besiyerinde üreyen şüpheli *Bacillus* kolonilerinin tekrar nutrient agara tek koloni ekimi yapılmıştır. Nutrient agarda üreyen koloniler Gram boyama ile boyanarak mikroskopta sporlu basil olup olmadıkları kontrol edilmiştir. *Bacillus* şüpheli kolonilerini cins düzeyinde tanımlamak için biyokimyasal testler (indol, katalaz) yapılmış ve adlandırılmıştır. Katalaz reaksiyonu pozitif, indol testi negatif olan suşlara, sitrat, triple sugar iron (TSI), üre, voges proskauer (VP) testleri uygulanmıştır. *Bacillus* suşlarının çeşitli şekerleri kullanma yeteneklerini test etmek amacıyla fermentasyon testleri yapılmıştır. Kullanılan şekerler glikoz, laktoz, sükroz

ve maltoz'dur. Ayrıca ksiloz ve mannitol testleri de uygulanmıştır. Bu amaçla karbonhidrat fermentasyon besiyeri olarak Purple Broth Base-Difco (BD Difco 211558) kullanılmıştır.

Araştırmada manuel testler yanında suşların doğrulanması için BBL Crystal Identification System Gram-Positive ID Kit kullanılmıştır. Kit yardımıyla tanımlanması yapılan bakterilerin süt ve süt ürünlerinde bozulma yapması sebebi ile bazı enzim (proteolitik, lipolitik, lesitinaz, jelatinaz, DNaz) virülans faktörleri (slime, biyofilm, hemoliz, siderefor) aminoasit dekarboksilaz aktivitesi ve antibiyotik dirençliliği incelenmiştir.

3.2. *E. coli* İzolasyonu

Ön zenginleştirme için toplanan çiğ süt, dondurma ve peynir örneklerinin her birinden 5'er ml/g alınıp 45 ml peptonlu suya konulmuştur. Her bir örnekten 1 ml alınarak 10^{-2} den 10^{-8} e kadar seri dilüsyon yapılmıştır. Her dilüsyon tüpünden 0,1 ml alınarak kanlı agara yayma ekim yapılmış ve 37 °C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Kanlı agarda şüpheli görülen kolonilerden alınıp eosine methylene blue agara (EMB) tek koloni ekim yapılmıştır. 37 °C de 24 saat inkübe edilmiştir. Yeşil röfle veren şüpheli koloniler için Gram boyama uygulanmıştır. Cins düzeyinde tanımlama yapmak için çeşitli biyokimyasal testler (oksidaz, IMVIC) yapılmıştır. Ayrıca Hidrojen sülfür, laktoz, mannitol, sorbitol, lisin dekarboksilaz testleri uygulanmıştır.

3.3. *Bacillus* ve *E. coli* İzolasyonu ve İdentifikasyonunda Kullanılan Besiyerleri ve Testler

3.3.1. Tamponlanmış Peptonlu Su

Bileşimi	g/l
Pepton	10 g
Sodyum klorür	5 g
Disodyum hidrojen fosfat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$)	9 g/l
Dipotasyum fosfat (K_2HPO_4)	1,5 g/l
pH	7,0±0,2

Dehidre besiyeri 25,5 g/l olacak şekilde hazırlanmıştır. Hazırlanan besiyerinden 45 ml alınarak erlenlere dağıtılmıştır ve otoklavda 121 °C'de steril edilmiştir.

3.3.2. Nutrient Agar (NA, Oxoid BO0195)

Bileşimi	g/l
Trypton	5 g/l
Maya Ekstraktı	2,5 g/l
Glikoz	1 g/l
Agar	15 g/l
Distile su	1000 ml

pH $7,0 \pm 0,2$ ayarlanıp 121°C 'de 15 dakika steril edilip, petri kutularına dağıtılmıştır.

3.3.3. Eosine Methylene Blue Agar (EMB, Oxoid CM0069)

Bileşimi	g/l
Pepton	10 g/l
Dipotasyum fosfat (K_2HPO_4)	2 g/l
Laktoz	10 g/l
Eozin Y	0,4 g/l
Metilen mavisi	0,065 g/l
Agar	15 g/l

pH $6,8 \pm 0,2$ ayarlanıp 121°C 'de 15 dakika steril edilip, petri kutularına dağıtılmıştır.

3.3.4. Kanlı Agar (Blood agar, Oxoid CM0271)

Bileşimi	g/l
Proteaz pepton	15 g/l
Liver digest	2,5 g/l
Maya ekstraktı	5 g/l
Sodyum klorid	5 g/l
Agar	12 g/l

pH $7,4 \pm 0,2$ ayarlanıp 121°C 'de 15 dakika steril edilip besiyeri 45°C 'ye kadar soğutulduktan sonra üzerine %7 steril koyun kanı eklenip petri kaplarına dağıtılmıştır.

3.3.5. Triple Sugar Iron Agar (TSI) (Merck 1.03915)

Triple sugar iron agarda (TSI) bulunan glikoz, laktoz ve sükroz karbonhidratlarının fermente edilmesiyle oluşan asit, fenol kırmızısı indikatörü ile saptanır. Oluşan renk değişimleri asit üretimi için sarı, alkalizasyon için kırmızıdır. Laktoz ve sükroz glikoza göre daha yüksek konsantrasyonda bulunduğundan, uçta asit oluşumu bu şekerlere bağlıdır. Tüpün yatık alanında az miktarda asitin oksidasyonu ile baskılanarak yalnızca glikoz fermente olduğundan nötral veya bazik pH reaksiyonuna yol açar.

Triple Sugar Iron Agar (TSI) (Merck 1.03915)

Bileşimi	g/l
Pepton (kazeinden)	15 g/l
Pepton (etten)	5 g/l
Et ekstraktı	3 g/l
Maya ekstraktı	3 g/l
Sodyum klorür	5 g/l
Laktoz	10 g/l
Sükroz	10 g/l
D (+) Glikoz	1 g/l
Amonyum demir 3 sitrat	0,5 g/l
Sodyum tiosülfat	0,3
Fenol kırmızısı	0,024 g/l
Agar	12 g/l

pH 7,4±0,2 ayarlanarak besiyeri tüplere dağıtılmıştır. 121 °C’de 15 dk steril edilmiştir. Steril edilen tüpler yatık bir şekilde katılaşmaya bırakılmıştır. İncelenecek kültürden iğne öze ile yoğun miktarda alınan örneğin yatık agar yüzeyine sürme ekimi yapılmıştır. İşlem sonunda öze besiyerinin dik kısmına batırılıp çıkarılmıştır. 37 °C’de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır.



Resim 3.1. TSI agarda fermentasyon sonucu oluşan renk değişimleri

3.3.6. Gram boyama yöntemi

Klasik gram boyama yöntemi kullanılarak *Bacillus* türleri için Gram pozitif, basil ve sporlu basil, *E. coli* için Gram negatif ve kokobasil üreme gösteren koloniler çalışılmıştır.

3.3.7. Katalaz testi

Gram boyama ile teşhis edilen şüpheli koloniler, temiz bir lam üzerine serum fizyolojikle süspanse edilmiş, üzerine %3'lük hidrojen peroksit (H_2O_2) damlatılmıştır. Kabarcıkların görülmesi pozitif sonuç olarak kabul edilmiştir. Katalaz pozitif olan basil ve kokobasiller çalışılacak izolatlar olarak seçilmiştir.

3.3.8. Üreaz testi

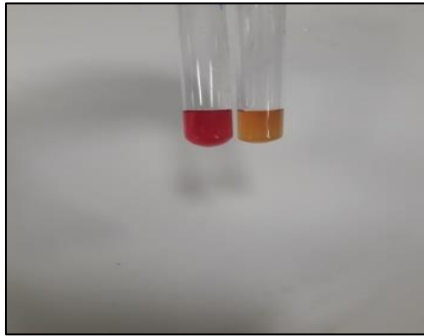
Şüpheli koloniler üreaz besiyerine inoküle edilip 37 °C'de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonucunda besiyerinin pembeye dönmesi pozitif, sarıya dönmesi negatif sonuç kabul edilmiştir.

Üre Agar Base (Merck 1.08492)

Bileşimi	g/l
Pepton	1 g/l
Glikoz	1 g/l

Sodyum klorid	5 g/l
Disodyum fosfat	1,2 g/l
Potasyum dihidrojen fosfat	0,8 g/l
Fenol kırmızısı	0,012 g/l
Agar	15 g/l
pH: 6,8+0,2	

Hazırlanan besiyerinden 2,4 g alınıp 95 ml distile su eklenmiş 115 °C de 20 dakika otoklavlanarak steril edilmiştir. 50 °C'ye kadar soğutulan besiyeri içine %40'lık üre solüsyonu, şırınga ucu filtreden geçirilip steril edildikten sonra eklenmiştir. Mikroorganizmanın taze kültüründen iğne öze ile 1-2 koloni alınmış ve tüpteki üreli besiyerine batırılarak ekim yapılmış ve 37 °C'de 1-5 gün inkübasyona bırakılmıştır. Tüplerin sarı rengin pembe-kırmızı renge dönüşmesi pozitif sonuç, renk değişimi olmaması negatif sonuç olarak değerlendirilmiştir. *Bacillus* türleri ve *E. coli* üreaz negatiftir.



Resim 3.2. Üre testi; sarı tüp: negatif; pembe tüp: pozitif

3.3.9. İndol testi

Nutrient agardaki stok kültürden öze ile alınıp, peptonlu su bulunan tüplere ekim yapılarak 35 °C'de 2 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda kültüre 0,5 ml Kovak's İndol ayracı (Merck 109293) damlatılmış ve tüpler çalkalanmıştır. Tüpün üst kısmında kiraz kırmızı renkte bir tabaka görülmesi pozitif, sarı renkte tabaka görülmesi negatif sonuç olarak değerlendirilmiştir. *Bacillus* türleri indol negatif, *E. coli* indol pozitifdir.



Resim 3.3. İndol testi; koloni üzerinde pembe tabaka oluşan tüp: pozitif; sarı tabaka oluşan tüp: negatif

3.3.10. Metil Red (MR) – Voges Proskauer (VP) testi

Her izolat için 2 ayrı Metil Red- Voges Proskauer (MR-VP) besi yeri içeren tüpler hazırlanmıştır. İzolatlar MR-VP besiyerine ekilip, 37 °C de 2-7 gün inkübe edilmiştir. Metil Red testi için, 5 ml kültüre 5 damla metil red indikatörü eklenmiştir. Renk kırmızı-pembeye dönerse test pozitif, sarı kalırsa negatif olarak değerlendirilmiştir.

Voges proskauer testi için 5 ml kültüre 5 damla alfa naftol-etil alkol solüsyonu, 5 damla potasyum hidroksit çözeltisi damlatılmıştır. Tüp içindeki kültürün üzerinde siyah bir tabaka oluşması voges proskauer pozitif, tabaka oluşmaması negatif olarak değerlendirilmiştir. *E. coli* Metil red pozitif, Voges proskauer negatiftir.

Metil Red-Voges Proskauer (MR-VP) Broth (Merck 1.05712.0500)

Pepton (etten)	7,0 g/l
D (+) Glikoz	5,0 g/l
Fosfat tamponu	5,0 g/l
pH 6,9±0,14	

Besiyerinden 17 g tartılıp 1000 ml distile suda çözündürülmüş ve 121 °C de 15 dakika steril edilmiştir.

MR indikatörü

Metil red	0,2 g/l
%95'lik etil alkol	50 ml
Damıtık su	50 ml

Metil red 50 ml etil alkol içinde homojen şekilde karıştıktan sonra çözeltiye 50 ml distile su eklenmiştir.

VP indikatörü

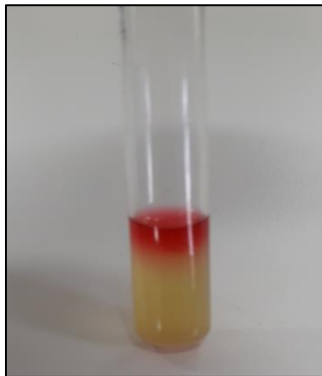
Alfa-naftol	5 g
Etil alkol	100 ml

5 g alfa-naftol 100 ml etil alkolde homojen hale getirilerek indikatör solüsyon hazırlanmıştır.

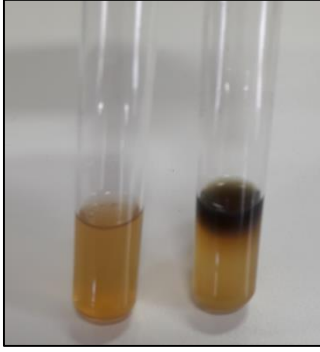
%40 KOH

Potasyum hidroksit	40 g
Distile su	100 ml

40 g potasyum hidroksit 100 ml distile suda çödürülerek homojen hale getirilmiş ve %40 lık KOH solüsyonu hazırlanmıştır.



Resim 3.4. Metil red pozitif



Resim 3.5. Koloni üzerinde siyah tabaka olan tüp: Voges proskauer pozitif, siyah tabaka olmayan tüp voges proskauer negatif

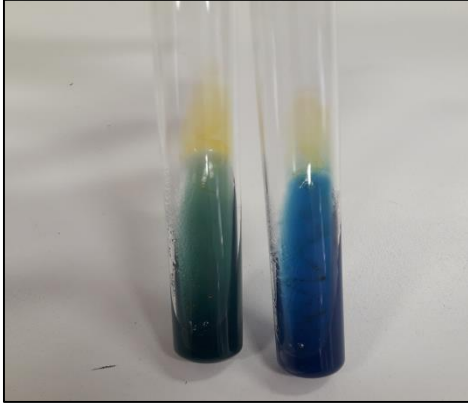
3.3.11. Sitrat testi

Stok kültürden öze ile alınan koloni tüplerdeki yatık simmon sitrat agar besiyerinin yüzeyine sürülerek ekilmiştir. Yeşil renkli besiyerinin mavi renk olması Sitrat (+) olarak değerlendirilmiştir. *E. coli* sitrat negatiftir.

Simmons Sitrat Agar (Oxoid CM 155)

Magnezyum sülfat	0,2 g/l
Amonyum dihidrojen fosfat	0,2 g/l
Sodyum amonyum fosfat	0,8 g/l
Sodyum sitrat	2,0 g/l
Sodyum klorid	5,0 g/l
Brom timol mavisi	0,08 g/l
Agar	15 g/l
pH 6,6±0,2	

Besiyerinden 22,3 g tartılıp 1000 ml distile suda çözdürülmüştür. Isıtılarak kaynar su banyosunda 10 dakika tutulmuştur. Sürekli karıştırılarak eritilmiştir. Besiyeri sıvı iken tüplere 7'şer ml olacak şekilde dağıtılmıştır. Hazırlanan tüpler 121 °C de 15 dakika steril edilmiştir. Otoklavdan çıkınca besiyeri sıvı iken tüpler bir çubuğa yatırılmış (tüpün dibinde 2-2,5 cm yüksekliğinde besiyeri kalınlığı olacak şekilde) besiyerinin katılaşması sağlanmıştır.



Resim 3.6. Sitrat testi: Yeşil tüp: negatif; mavi tüp: pozitif

3.3.12. Karbonhidrat fermentasyon testi

Purple broth base (BD Difco 211558)

Proteaz pepton No:3	10 g/l
Beef extract (Lab-Lemco powder)	1 g/l
Sodyum klorid	5 g/l
Brom cresol purple	0,02 g/l
Distile su	1000 ml

pH $6,8 \pm 0,2$ ayarlanıp indikatör madde ilave edildikten sonra içinde durham tüpü bulunan tüplere 9 ml besiyeri ilave edilmiştir. 121 °C de 15 dakika steril edilmiştir.

E.coli ve *Bacillus* için hazırlanan karbonhidrat solüsyonları glikoz, ksiloz, laktoz, sükroz, maltoz ve mannitoldür. 10 ml distile suya 1 g karbonhidrat konulacak şekilde tüm solüsyonlar hazırlanmıştır. Hazırlanan solüsyonlar 0,2-0,45 µm'lik membran filtre ile steril edilmiştir. Otoklavdan çıkan besiyerine 1'er ml olacak şekilde ilav edilmiştir. Her bir besiyerine bir öze dolusu izolat alınıp inoküle edilmiştir. 1-3 gün 37 °C de inkübasyona bırakılmıştır. Şekeri kullanarak asit üreten izolatlar, besiyerinin rengini sarıya dönüştürmüştür. Negatif tüpler ise besiyerinin rengi olan mor menekşe renkte kalmıştır.



Resim 3.7. Karbonhidrat fermentasyon testi: sarı tüp; negatif sonuç, mor tüp; pozitif sonuç

3.4. Slime Faktör Testi

E. coli ve *Bacillus* izolatlarının stok kültüründen alınıp Kongo red agara ekimi yapılmıştır. Siyah renkte oluşan koloniler +++, kırmızı koloniler ++, pembe koloniler + pozitif sonuç kabul edilirken krem renkli koloniler negatif sonuç kabul edilmiştir.

Congo Red Agar

Brain Heart Infusion Solid	17,5 g
Triptoz	10 g
Glikoz	2 g
Sodyum klorid	5 g
Disodyum hidrojen fosfat	2,5 g
Sükroz	50 g
Kongo kırmızısı	0,8 g
Agar	10 g
pH 7,3±0,2	

Besiyerinden 97,8 g tartılıp 1000 ml distile suda çözdürülmüştür. Otoklavda 121 °C'de 15 dakika stedil edilmiştir.



Resim 3.8. Slime testi: siyah koloni üremesi: pozitif sonuç

3.5. *Bacillus* Türlerinde Biyofilm Oluşumunun Ölçülmesi

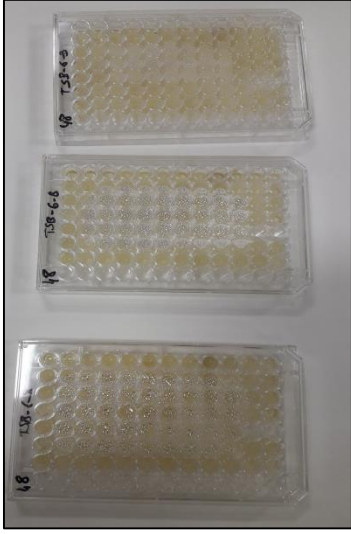
Bacillus izolatlarında biyofilm oluşumu mikropate yöntemiyle araştırılmıştır. Stok kültürdeki izolatlar nutrient agarda 24 saat inkübasyona bırakılmıştır.

Nutrient agarda üreyen taze kültürlerden, % 1 Glukoz içeren tryptic soy broth bulunan tüplere McFarland 0,5 bulanıklık olacak şekilde ekim yapılmıştır. Tüplerdeki bu süspansiyonlardan, mikropate kuyucuklarına, her bir süspansiyondan 2'şer kuyucuğa olacak şekilde 200'er µl dağıtılmıştır. Aynı işlem iki kere tekrarlanmıştır. Mikropatelerden bir grubu 24 saat, diğeri 48 saat 37 °C'de inkübasyona bırakılmıştır. Kontrol için ikişer kuyucuğa bakteri ekimi yapılmamış sadece 200 µl TSB besiyerinden eklenmiştir.

Tryptic Soy Broth (Merck 1.05459)

Bileşimi	g/l
Pepton (kazeinden)	17 g/l
Pepton (soy mealadan)	3 g/l
D (+) glukoz	2,5 g/l
Sodyum klorür	5 g/l
K ₂ HPO ₄	2,5 g/l
pH	7,3±02

Dehidre besiyeri 30 g/l olacak şekilde distile su içinde eritilmiş, tüplere dağıtılmış ve 121 °C'de 15 dk streil edilmiştir.



Resim 3.9. Tryptic Soy Broth besiyerine ekim yapılmış ve 48 saat inkübasyona bırakılmış izolatlar

24 saatlik inkübasyondan sonra plateler 3 kez distile su ile yıkanmıştır. Yıkama işleminin ardından kuyucuklara %0,1'lik kristal viyole solüsyonundan 200'er µl dağıtılmış ve oda sıcaklığında 15 dakika bekletilmiştir.

Bekleme süresinin ardından kuyucuklar tekrar 3 kez distile su ile yıkanmış ve ters çevrilerek kurumaya bırakılmıştır.

Kuruyan platelerin kuyucuklarına %95'lik etanol çözeltisinden 200 µl olacak şekilde eklenmiş ve 10 dakika bekletilmiştir.

Mikroplateler spektrofotometrede 540 nm'de okutulmuştur. Sonuçlar, kontrol için kullanılan mikroplate kuyucuklarının spektrofotometre cihazında okutulması ile elde edilen değerlere göre 1 pozitif (+), 2 pozitif (++), 3 pozitif (+++) ve negatif (-) olarak değerlendirilmiştir.

3.6. *E. coli*'de Biyofilm Oluşumunun Ölçülmesi

E. coli izolatlarının biyofilm oluşumu değerlendirilmesinde de mikroplate yöntemi kullanılmıştır. Stok kültürden alınan izolatlar Tryptic Soy Agar'a aktiveleştirilmek için ekilmiştir. İnkübasyon sonunda seçilen koloniler ile biyofilm çalışması yapılmıştır.

İnokulasyon

Tryptic Soy Agar'da üreyen kolonilerden seçilen izolatlar 5 ml'lik Tryptic Soy Broth'a (TSB) ekilmiş çalkalamadan 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra durgun faz kültürü vortekslenip, 1/100 oranında dilüe edilmiş ve dilüe edilen bakteri tekrar vortekslenmiştir.

Tryptic Soy Agar (TSA) (Merck 1.05458)

Bileşimi	g/l
Pepton (kazeinden)	15 g/l
Pepton (soy meal'dan)	5 g/l
Sodyum klorür	5 g/l
Agar	15 g/l
pH	7,3±02

Dehidre besiyeri 40 g/l olacak şekilde distile su eklenip 121 °C'de 15 dk streil edilmiştir.

Biyofilm kültürü

Tryptic Soy Broth besiyerinde gelişen bakteriden hazırlanan kültür sıvı besiyerine (TSB, TSB + %1 glikoz) 1/100 oranında dilüe edilip, her bir mikropate kuyucuğuna 200 µl dökülmüştür. Negatif kontrol kuyucuğu yalnız sıvı besiyeri ile doldurulmuştur.

Biyofilm oluşumundaki fenotipik ifadenin in vitro koşullarda değişmeye oldukça uygun olmasından ötürü hatalı sonuçları en aza indirmek için ve bilgilerin güvenilirliğini sağlamak için testler her bir suş için üç kere ve her deney de üç kere tekrarlanmıştır.

İnoküle edilen platelerin kapakları kapatılıp inkübasyona bırakılmıştır.

Tryptic Soy Broth (Merck 1.05459)

Bileşimi	g/l
Pepton (kazeinden)	17 g/l

Pepton (soy meal'dan)	3 g/l
D (+) glikoz	2,5 g/l
Sodyum klorür	5 g/l
K ₂ HPO ₄	2,5 g/l
pH	7,3±02

Dehidre besiyeri 30 g/l olacak şekilde distile su içinde eritilmiş, tüplere dağıtılmış ve 121 °C'de 15 dk streil edilmiştir.

Yıkama

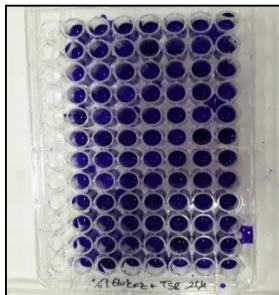
İnkübasyon sonrasında kuyucukların içi boşaltılmış ve her bir kuyucuk üç kez 300 µl' lik steril tamponlanmış fosfat tuzu (PBS) ile yıkanmıştır. Her yıkama sonrasında kuyucuklar boşaltılmıştır. Plateler ters çevrilerek kurumaya bırakılmıştır.

Fiksasyon

Yıkama işleminden sonra yapışan bakterilerin kalıntısı 150 µl metanol ile 20 dakikalık fiksasyondan sonra mikrolateler boşaltılmış bir gece ters pozisyonda oda sıcaklığında hava ile kurumaya bırakılmıştır.

Boyama

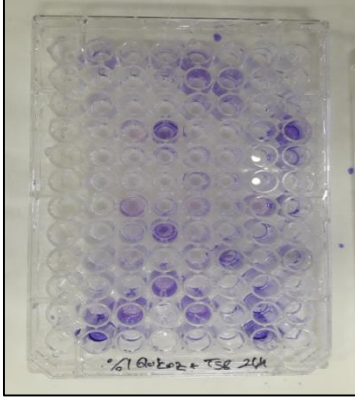
Her bir kuyucuktaki biyofilm tabakası 150 µl kristal viyole ile 15 dakika oda sıcaklığında boyanmıştır. Boyamadan sonra boyanın fazlası mikropipetle çekilmiş geri kalan kısım ise akan suda yıkanmıştır. Yıkama işlemine boya temizlenene kadar devam edilmiştir.



Resim 3.10. Kristal viyole ile boyanmış mikrolateler

Boyanın geri çözdürülmesi

Mikroplateler oda sıcaklığında kuruduktan sonra hücrelere bağlanan boya geri çözdürülmek üzere %33'lük glasiyel asetik asit ile yıkanmıştır. Mikroplatelerin kapakları kapatılmış oda sıcaklığında 30 dakika bekletilmiştir.



Resim 3.11. Etil alkol ile boyası çözdürülen mikroplateler

Sonuçların ölçülmesi

Boyanın geri çözdürülmesi işleminden sonra her bir kuyucuktaki optik yoğunluk (OD) 570 nm'de mikroplate okuyucuda ölçülmüştür. Sonuçlar TSB'deki negatif kontrol kuyucuklarının ortalamasına göre değerlendirilmiştir. Buna göre her bir aralık negatif kontrolün bir, iki, dört katı olacak şekilde belirlenmiştir.

3.7. *Bacillus* Türlerinde Enzim Aktivitesinin Belirlenmesi

Proteaz aktivitesi: *Bacillus* türlerinin proteolitik enzim aktiviteleri Skim Milk Agar (SMA)'da test edilmiştir. Saflaştırılan örneklerden iğne uçlu öze ile alınan bakteriler SMA'ya saplama şeklinde inoküle edilmiştir. Bakteriler izole edildikleri sıcaklık derecelerinde inkübasyon edilmiştir. Inkübasyon sonucu besiyerinde şeffaf zon oluşturan kolonilerin proteolitik aktiviteleri pozitif ve zon oluşturmayan kolonilerin ise negatif olarak değerlendirilmiştir [70].

Skim Milk Agar

Solüsyon A

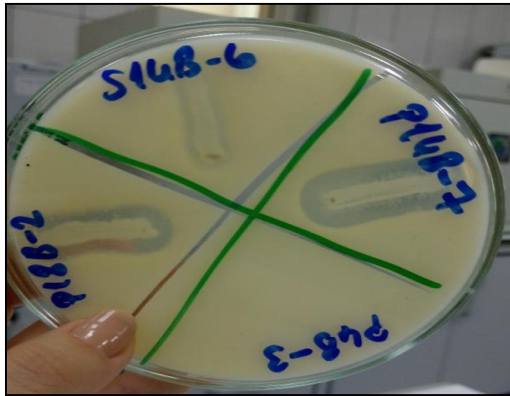
Nutrient Broth	1,3 g
Agar	1,6 g
Distile su	90 ml
pH 6,3 $\pm$ 0,2 ayarlanıp 121 °C’de 15 dk steril edilmiştir.	

Solüsyon B

% 10 luk skim milk besiyeri için;

Skim milk	1,0 g
Distile su	10 ml

1,5 atmosfer basınçta otoklavda 8 dk streil edilmiştir. Daha sonra A ve B solüsyonları karıştırılıp plaklara dökülmüştür.



Resim 3.12. Koloni etrafında zon olan suşlar; proteaz pozitif sonuç, koloni etrafında zon olmayan suşlar; proteaz negatif sonuç

Lipaz Aktivitesi: *Bacillus* türlerinin lipolitik enzim aktiviteleri Trybutryn Agar (TA)’da değerlendirilmiştir. *Bacillus* türlerinin lipaz enzim aktivitesi, oluşan hidroliz zonunun ölçülmesi ile belirlenmiştir. *Bacillus* kolonileri izole edildikleri sıcaklıkta (37 $\pm$ 1 °C’de 24 saat) inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonucunda ekimi yapılan bölge etrafındaki

şeffaf alanlar belirlenerek lipolitik zon çapları ölçülmüştür. Koloni etrafında 1 mm'lik hidroliz zonu zayıf lipolitik aktivite (+), 2-3 mm'lik hidroliz zonu orta derecede lipolitik aktivite (++), 3 mm'nin üzerindeki hidroliz zonu kuvvetli lipolitik aktivite (+++) olarak değerlendirilmiştir.

Tributyryn Agar Base (Merck 1.01957)

Bileşimi	g/l
Pepton (etten)	2,5 g/l
Pepton (kazeinden)	2,5 g/l
Maya ekstraktı	3,0 g/l
Agar	12 g/l
Distile su	1000 ml

pH 7,3±0,2 Hazırlanan besiyeri 121 °C'de 15 dk steril edilmiştir. Sterilizasyondan sonra plaklara dağıtılmıştır.



Resim 3.13. Koloni etrafındaki şeffaf zon; lipaz pozitif sonuç

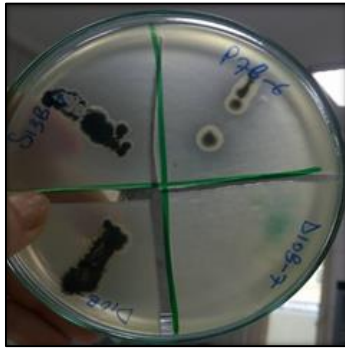
Lesitinaz Aktivitesi: *Bacillus* türlerinin lesitinaz aktivitesi Tryptic Soy Agarda değerlendirilmiştir.

Tryptic Soy Agar

Bileşimi	g/l
Pepton (kazeinden)	15 g/l

Pepton (soy meal'dan)	5 g/l
Sodyum klorid	5 g/l
Agar	15 g/l
pH 7,3±0,2	

Dehidre besiyeri 40 g/l olacak şekilde damıtık su içinde eritilip hazırlanmıştır. 121 °C'de 15 dk steril edildikten sonra steril besiyeri plaklara dağıtılmıştır.



Resim 3.14. Koloni etrafında siyah zonların oluşumu: lesitinaz pozitif, koloni etrafında siyah zon olmayan suşlar: lesitinaz negatif sonuç

Jelatin Hidrolizi Aktivitesi: *Bacillus* izolatlarının jelatin hidroliz testi için jelatin içeren sıvı besiyeri kullanılmıştır. Jelatinin hidrolize edildiği durumlarda, buzdolabından çıkarılınca, jelatinli ortamın sıvı halinde ve katılaşmadığı görülmüştür ve bu durum jelatinaz pozitif şeklinde değerlendirilmiştir. Jelatinaz negatif durumlarda tüpteki sıvı jelatinli besi yeri katılaşmış için bu durum da jelatinaz negatif olarak değerlendirilmiştir.

Jelatin içeren broth

Bileşim	g/l
Pepton	5 g/l
NaCl	5 g/l
Jelatin	120 g/l
Distile su	1000 ml

Hazırlanan besiyeri tüplere 5 ml olacak şekilde dağıtılmış 121 °C'de 15 dk steril edilmiştir. Sterilizasyondan sonra kültüre değdirilmiş olan iğne, dik olarak jelatinli besi yerlerine

daldırılmıştır. Tüpler 37°C de 15 gün kadar inkübe edilmiştir. Besiyeri oda sıcaklığında sıvı halde olacağı için sonuçların değerlendirilmesi tüpler 1-2 saat buzdolabında bekletildikten sonra yapılmıştır.



Resim 3.15. Sıvı besiyeri olan tüp; jelatinaz pozitif sonuç, katı besiyeri olan tüp jelatinaz negatif sonuç

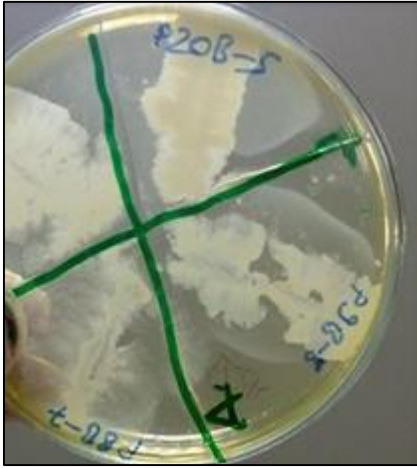
3.8. *Bacillus* Türlerinde DNaz Aktivitesi Testi

Saflaştırılan kolonilerden bir öze dolusu alınıp DNase test agara çizgi ekim yapılmıştır. 1 gece 37 °C’de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan sonra besiyerinde üreyen kolonilerin üzeri 1 N HCl ile kaplanmıştır. DNaz pozitif olan kolonilerin etrafında berrak zonlar görülmüştür.

DNase Test Agar (Merck 1.00317)

Bileşim	g/l
Triptoz	20 g/l
Sodyum klorür	5 g/l
Deoksiribonükleik asit	2 g/l
Agar	15 g/l
pH 7,3±0,2	

Dehidre besiyeri 42,0 g/l olacak şekilde damıtık su içinde ısıtılarak eritilmiş ve otoklavda 121 °C’de 15 dakika sterilize edilmiştir. Sterilizasyondan sonra 45-50 °C’de soğutulmuş ve steril petri kutularına dökülmüştür.



Resim 3.16. Koloni etrafında oluşan berrak zonlar: DNaz pozitif sonuç, koloni etrafında zon oluşmaması: DNaz negatif sonuç

3.9. *Bacillus* Türleri ve *E. coli*'nin Hemolitik Aktivite Testi

Hemolitik aktivitenin değerlendirilmesi için kanlı agar (Blood Agar Base) kullanılmıştır. Kanlı agarda koloni etrafında zon oluşumunun gözlenmesi pozitif sonuç, zon oluşumunun gözlenmemesi negatif sonuç olarak değerlendirilmiştir.

Blood agar base (Oxoid CM 331)

Bileşimi	g/l
Pepton	23 g/l
Nişasta	1 g/l
Sodyum klorid	5 g/l
Agar	10 g/l
Distile su	1000 ml

pH $7,3 \pm 0,2$ 'ye ayarlanıp besiyerindeki maddeler tartılarak distile suda çözdürülmüş otoklavda 121°C de 15 dakika steril edilmiştir. Otoklavdan sonra besiyeri 50°C 'ye kadar soğutulup içine %5'lik koyun kanı ilave edilmiş ve steril plaklara 10'ar ml dağıtılmıştır. Stok kültürden bir öze dolusu alınıp çizgi şeklinde besiyerine ekilmiştir. 37°C 'de 2 gün inkübasyona bırakılmıştır.



Resim 3.17. Koloni etrafında siyah zon oluşumu; hemoliz pozitif sonuç, koloni etrafında zon oluşmaması; hemoliz negatif sonuç

3.10. *Bacillus* Türleri ve *E. coli*'nin Siderofor Aktivitesi Testi

Siderofor testi için Chrome Azurol Sulphate (CAS) Agar kullanılmıştır. Tryptic soy agar besiyerine ekilip 24 saat inkübasyona bırakılan izolatlardan 2-3 koloni alınıp CAS agara ekim yapılmıştır. 35 °C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. CAS agar, Fe^{+3} ile Chrome Azurol Sulfonate (CAS) boyasının kompleks oluşturmasından dolayı mavi renktedir. İnkübasyondan sonra mavi renkteki CAS agar sarı renge dönmüştür. Sarı renge dönen plaklar siderofor varlığı yönünden pozitif kabul edilmiştir.

Chrome Azurol Sulphate (CAS) Agar

CAS indikatör solüsyonunun hazırlanması;

Chrome Azurol S (CAS)	60,5 mg
Demir-III klorid heksahidrat (Iron(III) chloride hexahydrate)	27 mg
Hidroklorik asit (HCl)	83,3 µl
Hexadecyltrimethylammonium bromid (HDTMA)	72,9 mg

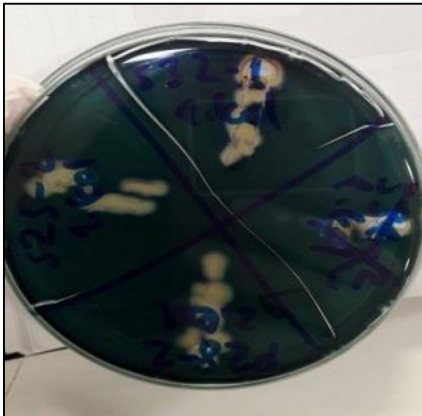
Solüsyonu hazırlamak için ilk olarak 60,5 mg CAS 50 ml distile suda çözdürülmüştür. Üzerine 10 ml Iron III solüsyonu eklenmiştir. (Iron III solüsyonu 100 ml distile suya eklenmiş 83,3 µl konsantre HCl üzerine 27 mg $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ ilave edilerek hazırlanmıştır). Hazırlanan solüsyona 40 ml distile suda çözdürülmüş 72,9 mg HDTMA yavaşça eklenmiştir. Hazırlanan solüsyon 121 °C'de 15 dakika steril edilmiştir.

Basal agarın hazırlanması;

3-(N-morpholino)propan sulfonik asit (MOPS)	3 g/l
Agar	1,5 g/l
Sodyum klorür	0,05 g/l
Potasyum fosfat	0,03 g/l
Amonyum klorür	0,01 g/l
L-asparjin	0,5 g/l
Distile su	83 g/l
% 50 Potasyum hidroksit	5 g/l

100 ml basal agar için verilen maddeler agar hariç 83 ml distile suda çözündürülmüştür. pH NaOH ile 6,8'e ayarlanmıştır. Daha sonra üzerine 1,5 g agar eklenmiştir. Solüsyon 121 °C'de 15 dakika steril edilmiştir.

Sterilizasyondan sonra basal agar ve CAS 50 °C sıcaklıktaki bir su küvetinde soğutulmuştur. Bu işlemten sonra basal agarın üzerine 2 ml %50 lik glukoz çözeltisi eklenmiştir. CAS indikatörü de bu solüsyonun üzerine yavaşça eklenmiş ve karıştırılmıştır. Solüsyon steril plaklara 30 ml olacak şekilde dağıtılmıştır. İzolatlar CAS agara inoküle edildikten sonra 30 °C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Inkübasyon sonunda kolonilerin etrafında sarı renk oluşması siderofor pozitif olarak değerlendirilmiştir.



Resim 3.18. Kolonilerin etrafında sarı zon oluşumu: siderofor pozitif sonuç

3.11. *E. coli* ve *Bacillus* Türlerinde Amino Asit Dekarboksilaz Aktivitesinin Belirlenmesi

İzolatların amino asit dekarboksilaz enzim aktivitesinin belirlenmesi için modifiye edilmiş sıvı besiyeri hazırlanmıştır. 5 g tripton, 4 g maya ekstraktı, 8 g et ekstraktı, 0,06 g bromocresol purple, 0,5 g tween 80, 0,2 g MgSO₄, 0,04 g FeSO₄, 0,1 g CaCO₃, 0,05 g MnSO₄ 1000 ml suda çözündürülüp hazırlanan besiyerine %0,5 oranında histidin, arjinin, tirozin, lizin ve ornitin amino asitlerinden birisi eklenmiştir. Hazırlanan besiyeri tüplere 7'şer ml dağıtılmıştır. 121 °C'de 15 dakika steril edilmiştir. Otoklavdan sonra pH asetik asit (%5) ya da sodyum hidroksit (1 N) kullanılarak 5,3'e ayarlanmıştır.

Tryptic soy agar besiyerinde çizgi ekimle üretilen *Bacillus* türleri ve *E. coli* izolatlarından öze ile 1-2 koloni alınarak hazırlanan besiyerine ekilmiştir. 37 °C de 2-3 gün inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonucunda aminoasitleri dekarboksile eden izolatların bulunduğu tüplerin rengi değişmiştir. İnkübasyondan önce sarı-yeşil olan besiyerleri inkübasyondan sonra mor renge dönmüştür.



Resim 3.19. Tirozin testi: sarı tüp; negatif, mor tüp; pozitif sonuç



Resim 3.20. Arjinin testi: sarı tüp; negatif, mor tüp; pozitif sonuç

3.12. *Bacillus* Türlerinin Antibiyotik Dirençlilik Aktivitesinin Belirlenmesi

Bacillus izolatları Mueller Hinton besiyerine ekilip 30-35 °C’de 24 saat inkübe edildikten sonra, kültürlerden 2-3 koloni alınarak, 0,5 Mcfarland bulanıklık standardına eşdeğer şekilde serum fizyolojik içinde süspanse edilmiştir. Süspansiyondan, steril eküvyon çubuk ile alınarak Mueller Hinton besiyeri yüzeyine sürme yöntemi ile ekilmiştir. Besiyeri yüzeyi kuruduktan sonra antibiyotik diskleri yerleştirilerek 37 °C’de 18-24 saatlik inkübasyon sonucunda oluşan antibiyotik inhibisyon zon çapları milimetrik olarak ölçülmüştür. Elde edilen zon çapları CLSI’da (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2009) [125] belirtilen zon çaplarıyla karşılaştırılarak izolatların antibiyotiklere hassas ve dirençli olarak değerlendirilmesi yapılmıştır.

Çalışmamızda *Bacillus* izolatlarının penisilin (P, 10U; Oxoid), ampisilin (AMP, 10µg, Oxoid), eritromisin (E, 15µg, Oxoid), amikasin (AK, 30µg; Oxoid), kloramfenikol (C, 30µg; Oxoid), vankomisin (VA, 30µg; Oxoid), tetrasiklin (TE, 30µg; Oxoid), basitrasin (B, 10U; Oxoid), novobiosin (NV, 30µg; Oxoid) antibiyotiklerine duyarlılıkları araştırılmıştır.

Çizelge 3.1. *Bacillus* türlerinin antibiyotik dirençliliğinin belirlenmesinde kullanılan antibiyotikler

Antibiyotikler	Antibiyotik konsantrasyonu (µg)	Zon çapı (mm)	
		Duyarlı	Dirençli
P	10 U	≥22	≤11
AMP	30 µg	≥29	≤20
E	15 µg	≥18	≤13
AK	30 µg	≥17	≤14
C	30 µg	≥18	≤12
VA	30 µg	≥12	≤9
TE	30 µg	≥19	≤14
B	10 U	≥13	≤8
NV	30 µg	≥22	≤17

P; penisilin, AMP; ampisilin, E; eritromisin, AK; amikasin, C; kloramfenikol, VA; vankomisin, TE; tetrasiklin, B; basitrasin, NV; novobiyosin,

3.13. *E. coli*'de Antibiyotik Dirençliliğinin ve Geniş Spektrumlu Beta-Laktamaz (GSBL) Aktivitesinin Belirlenmesi

Çalışmamızda *E. coli* izolatlarının antimikrobiyal antibiyotik duyarlılıkları CLSI'da (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2009) [125] belirtilen kriterlere göre Kirby-Bauer disk difüzyon, GSBL aktiviteleri ise çift disk sinerji yöntemi ile belirlenmiştir.

Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi

E. coli izolatları Mueller Hinton besiyerine ekilip 30-35 °C'de 24 saat inkübe edildikten sonra, kültürlerden 2-3 koloni alınarak, 0,5 McFarland bulanıklık standardına eşdeğer şekilde serum fizyolojik içinde süspansiyon edilmiştir. Süspansiyondan, steril eküvyon çubuk ile alınarak Mueller Hinton besiyeri yüzeyine sürme yöntemi ile ekilmiştir. Besiyeri yüzeyi kuruduktan sonra antibiyotik diskleri yerleştirilerek 37 °C'de 18-24 saatlik inkübasyon sonucunda oluşan antibiyotik inhibisyon zon çapları milimetrik olarak ölçülmüştür. Elde edilen zon çapları CLSI da [125] belirtilen zon çaplarıyla karşılaştırılarak izolatların antibiyotiklere hassas ve dirençli olarak değerlendirilmesi yapılmıştır.

Çalışmamızda *E.coli* izolatlarının Amikasin (AK, 30µg; Oxoid), Aztreonam (ATM, 30µg; Oxoid), Kloramfenikol (C, 30 µg; Oxoid), Seftazidim (CAZ, 30µg; Oxoid), Seftriakson (CRO, 30µg; Oxoid), Sefotaksim (CTX, 30µg; Oxoid), Tetrasiklin (TE, 30µg; Oxoid), Amoksisilin-klavulanik asit, (AMC, 20/10µg; Oxoid), Ampisilin-sulbaktam (SAM, 10/10µg; Oxoid), Ertapenem (ETP, 10µg; Oxoid), Gentamisin (CN, 10µg; Oxoid), İmipenem (IPM, 10µg; Oxoid), Siprofloksasin (CIP, 5µg; Oxoid) antibiyotiklerine duyarlılıkları araştırılmıştır.

Çizelge 3.2. Kirby-Bauer Disk Difüzyon yönteminde kullanılan antibiyotikler ve zon çapları

Antibiyotikler	Antibiyotik konsantrasyonu (µg)	Zon çapı (mm)	
		Duyarlı	Dirençli
AMP	10 µg	≥17	≤13
C	30 µg	≥18	≤12
IPM	10 µg	≥16	≤13
AK	30 µg	≥17	≤14
CIP	5 µg	≥21	≤15
CN	10 µg	≥15	≤12
TE	30 µg	≥15	≤11

Çizelge 3.2. (devam) Kirby-Bauer Disk Difüzyon yönteminde kullanılan antibiyotikler ve zon çapları

Antibiyotikler	Antibiyotik konsantrasyonu (µg)	Zon çapı (mm)	
		Duyarlı	Dirençli
ETP	10 µg	≥19	≤15
ATM	30 µg	≥22	≤15
CTX	30 µg	≥23	≤14
CAZ	30 µg	≥18	≤14
AMC	20/10 µg	≥18	≤13
CRO	30 µg	≥21	≤13

AMP; ampisilin, C; kloramfenikol, IPM; imipenem, AK; amikasin, CIP; siprofloksasin, CN; gentamisin, TE; tetrasiklin, ETP; ertapenem, ATM; aztreonam, CTX; sefotaksim, CAZ; seftazidim, AMC; amoksisilin-klavulanik asit, CRO; seftriakson

Mueller Hinton Agar (LabM 39)

Beef infusion solids	2 g
Asit Kazein Hidrolizat	17,5 g
Nişasta	1,5 g
Agar	17 g
Distile su	1000 ml

pH: 7,3±0,1'e ayarlanıp besiyerindeki maddeler tartılarak distile suda eridikten sonra otoklavda 121 °C'de 15 dakika steril edilmiştir.

McFarland bulanıklılık 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 BaCl₂ (%1,175 gr BaCl₂H₂O) 0,5 ml

+0,18 M H₂SO₄/ H₂O (%1 v/v) 99,5 ml

0,5 Mc Farland = 108 kob/ml



Resim 3.21. *E. coli*'nin Antibiyotik duyarlılık testi

Çift disk sinerji yöntemi

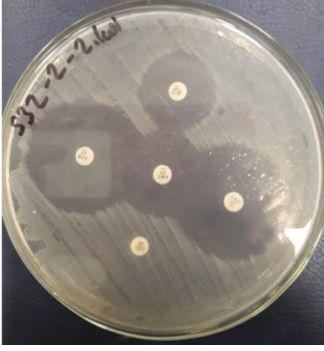
E. coli izolatları Mueller Hinton besiyerine ekilip 30-35 °C'de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra kültürlerden 2-3 koloni alınarak, 0,5 McFarland bulanıklık standardına eşdeğer şekilde serum fizyolojik içinde süspanse edilmiştir. Süspansiyondan, steril eküvyon çubuk ile alınarak Mueller Hinton besiyeri yüzeyine sürme yöntemi ile ekilmiştir. Plağın ortasına bir amoksisilin-klavulanik asit diski (AMC, 20/10 µg;Oxoid) ile disk merkezleri arasındaki uzaklık 25 mm olacak şekilde seftazidim (CAZ, 30 µg;Oxoid), seftriakson (CRO, 30 µg;Oxoid),sefotaksim (CTX, 30 µg;Oxoid), aztreonam (ATM, 30 µg;Oxoid) diskleri yerleştirilmiştir.

Bir gece 35 °C'de inkübasyondan sonra sefalosporin veya aztreonam etrafındaki inhibisyon zonunun amoksisilin-klavulanik asit diskine doğru genişlemesi veya arada bakterinin üremediği bir sinerji alanının bulunması GSBL (+) olarak yorumlanmıştır.

Çizelge 3.3. Çift disk sinerji yönteminde kullanılan antibiyotikler

Antibiyotikler	Antibiyotik konsantrasyonu (µg)	Zon çapı (mm)	
		Duyarlı	Dirençli
ATM	30 µg	≥22	≤15
CTX	30 µg	≥23	≤14
CAZ	30 µg	≥18	≤14
CRO	30 µg	≥21	≤13
AMC	20/10 µg	≥18	≤13

ATM; aztreonam, CTX; sefotaksim, CAZ; seftazidim, CRO; seftriakson, AMC; amoksisilin-klavulanik asit



Resim 3.22. Çift disk sinerji testi: GSBL pozitif sonuç

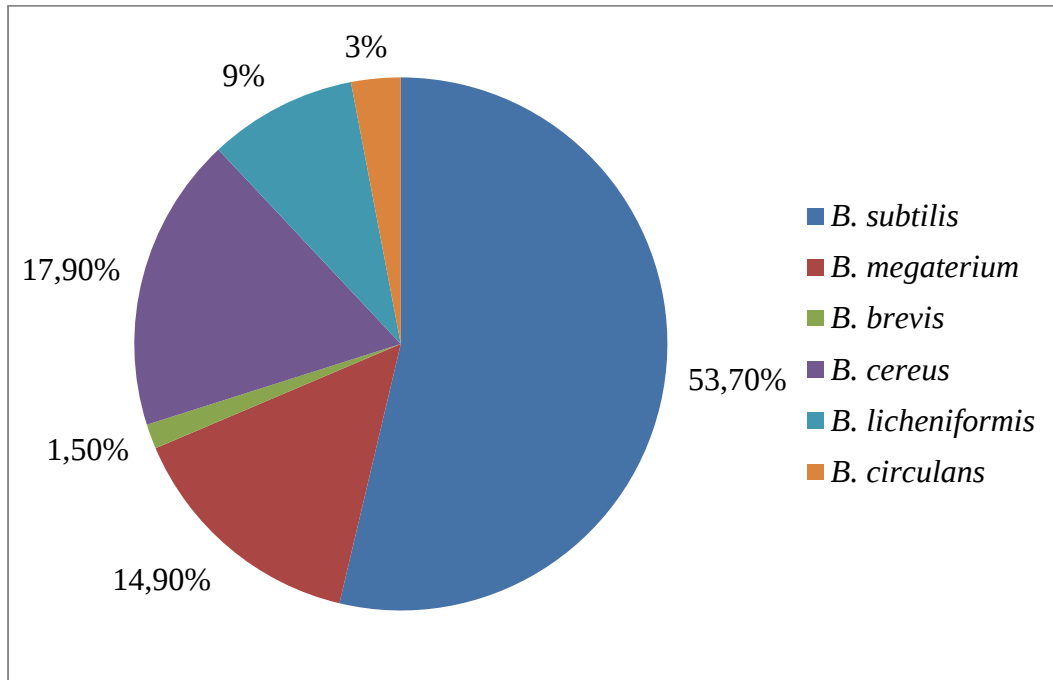
4. BULGULAR

Araştırmamızda Ankara ilinde satışa sunulan 40 çiğ süt, 40 peynir ve 20 dondurma olmak üzere 100 adet süt ve süt ürününden, Bergey's of Manual Systematic Bacteriology ve Manual of Clinical Microbiology'de belirtilen çeşitli biyokimyasal testlerle tanımlanmış olan 20 *E. coli* ve 67 *Bacillus* türü izole edilerek tanımlanmıştır. Bu türlerin tanımlamaları BBL Crystal E/NF ID kit ve BBL Crystal Gram-Positive ID kit ile doğrulanmıştır.

Çizelge 4.1. Gıda örneklerinden izole edilen *Bacillus* izolatlarının dağılımı

Gıda Örnekleri	Çalışılan Örnek Sayısı	İzolat Sayısı	%
Çiğ süt	40	30	75
Peynir	40	31	77,5
Dondurma	20	6	30
Toplam	100	67	100

Çizelgedeki sonuçlara göre 67 *Bacillus* türü izolatının 30'u (%75) çiğ süt örneklerinden, 31'i (%77,5) peynir örneklerinden, 6'sı (%30) dondurma örneklerinden izole edilmiştir (Çizelge 4.1).



Şekil 4.1. Gıda örneklerinden izole edilen *Bacillus* izolatlarının türlere göre dağılımı

Gıda örneklerinden izole edilen *Bacillus* cinsine ait 67 izolatın 36'sı (%53,7) *B. subtilis*, 12'si (%17,9) *B. cereus*, 10'u (%14,9) *B. megaterium*, 6'sı (%9) *B. licheniformis*, 2'si (%3) *B. circulans*, 1'i (%1,5) *B. brevis* olarak tanımlanmıştır (Çizelge 4.1., Şekil 4.1).

Çizelge 4.2. Gıda örneklerinden izole edilen *Bacillus* türlerinin gıda örneklerine göre dağılımı

Bakteri türleri	Peynir		Çiğ süt		Dondurma		Toplam	
	n	%	n	%	n	%	n	%
<i>B. subtilis</i>	16	51,6	18	60	2	33,3	36	53,7
<i>B. cereus</i>	4	12,9	6	20	2	33,3	12	17,9
<i>B. megaterium</i>	6	19,4	4	13,4	0	0	10	14,9
<i>B. licheniformis</i>	4	12,9	1	3,3	1	16,7	6	9
<i>B. circulans</i>	1	3,2	1	3,3	0	0	2	3
<i>B. brevis</i>	0	0	0	0	1	16,7	1	1,5
Toplam	31	100	30	100	6	100	67	100

n=İzolat sayısı

Peynir örneklerinden izole edilen *Bacillus* cinsi üyesi 31 izolatın 16'sı (%51,6) *B. subtilis*, 4'ü (%12,9) *B. cereus*, 6'sı (%19,4) *B. megaterium*, 4'ü (%12,9) *B. licheniformis*, 1'i (%3,2) *B. circulans* olarak tanımlanmıştır. Peynir örneklerinin hiçbirinden *B. brevis* izole edilememiştir (Çizelge 4.2).

Çiğ süt örneklerinden izole edilen *Bacillus* cinsi üyesi 30 izolatın 18'i (%60) *B. subtilis*, 6'sı (%20) *B. cereus*, 4'ü (13,4) *B. megaterium*, 1'i (%3,3) *B. licheniformis*, 1'i (%3,3) *B. circulans* olarak tanımlanmıştır. Çiğ süt örneklerinin hiçbirinden *B. brevis* izole edilememiştir (Çizelge 4.2).

Dondurma örneklerinden izole edilen *Bacillus* cinsi üyesi 6 izolatın 2'si (%33,3) *B. subtilis*, 2'si (%33,3) *B. cereus*, 1'i (%16,7) *B. licheniformis*, 1'i (%16,7) *B. brevis* olarak tanımlanmıştır. Dondurma örneklerinin hiçbirinden *B. megaterium* ve *B. circulans* izole edilememiştir (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.3. Gıda örneklerinden izole edilen *E. coli* izolatlarının dağılımı

Gıda Örnekleri	Çalışılan Örnek Sayısı	İzolat Sayısı	%
Çiğ süt	40	17	42,5
Peynir	40	3	7,5
Dondurma	20	-	-
Toplam	100	20	100

20 *E. coli* izolatının 17'si (%42,5) çiğ süt örneklerinden, 3'ü (%7,5) peynir örneklerinden izole edilmiştir. Dondurma örneklerinin hiçbirinden *E. coli* izole edilememiştir (Çizelge 4.3).

4.1. Congo Red Agar (CRA) İle Slime Sonuçları

4.1.1. *Bacillus* türlerinin slime sonuçları

Çizelge 4.4. Çiğ süt örneklerinden izole edilen *Bacillus* izolatlarının slime sonuçları

No	İzolat no.	Slime sonuçları
1	S33B-1	+
2	S36B-1	+
3	S27B-1	+
4	S39B-1	+
5	S32B-1	+
6	S28B-2	+
7	S38B-1	+
8	S39B-2	+
9	S28B-3	+
10	S32B-2	-
11	S31B-1	+
12	S29B-1	+
13	S26B-1	+
14	S3B-6	+
15	S1B-2	+
16	S13B-5	+
17	S24B-4	+
18	S12B-2	+
19	S19B-3	+
20	S12B-3	+
21	S15B-7	+
22	S2B-5	+
23	S19B-4	+
24	S14B-6	+
25	S4B-9	+
26	S13B-4	+
27	S10B-2	+
28	S17B-2	-
29	S1B-1	+
30	S24B-2	+

(+): pozitif, (-): negatif sonuç

Çiğ süt örneklerinden izole edilen *Bacillus* izolatlarının slime sonuçlarına göre 30 izolatın 28'i (%93,3) slime pozitif, 2'si (%6,7) slime negatif sonuç vermiştir (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.5. Peynir örneklerinden izole edilen *Bacillus* izolatlarının slime sonuçları

No	İzolat no.	Slime sonuçları
1	P33B-1	+
2	P29B-1	+
3	P35B-1	+
4	P30B-2	+
5	P29B-2	-
6	P37B-1	+
7	P32B-1	+
8	P35B-2	+
9	P34B-1	+
10	P37B-2	+
11	P7B-6	+
12	P16B-12	+
13	P16B-9	+
14	P13B-3	+
15	P22B-5	+
16	P22B-4	+
17	P21B-3	+
18	P14B-6	+
19	P14B-7	+
20	P12B-2	+
21	P16B-10	+
22	P18B-2	+
23	P6B-4	+
24	P14B-8	+
25	P20B-5	+
26	P2B-2	+
27	P4B-1	+
28	P1B-1	-
29	P2B-3	+
30	P16B-11	+
31	P17B-14	+

(+: pozitif, (-): negatif sonuç

Peynir örneklerinden izole edilen *Bacillus* izolatlarının slime sonuçlarına göre 31 izolatın 29'u (%93,5) slime pozitif, 2'si (%6,5) slime negatif sonuç vermiştir (Çizelge 4.5).

Çizelge 4.6. Dondurma örneklerinden izole edilen *Bacillus* izolatlarının slime sonuçları

No	İzolat no.	Slime faktör oluşum sonuçları
1	D16B-1	+
2	D15B-2	+
3	D14B-1	+
4	D9B-6	+
5	D10B-8	+
6	D10B-7	+

(+: pozitif, (-): negatif sonuç

Dondurma örneklerinden izole edilen *Bacillus* izolatlarının slime sonuçlarına göre 6 izolatın 6'sı (%100) slime pozitif sonuç vermiştir (Çizelge 4.6).

Çizelge 4.7. Gıda örneklerinden izole edilen slime pozitif (+) ve slime negatif (-) *Bacillus* izolatlarının dağılımları

Gıda örneği	Örnek sayısı	İzolat sayısı	Slime (+) n (%)	Slime (-) n (%)
Süt	40	30	28 (93,3)	2 (6,7)
Peynir	40	31	29 (93,5)	2 (6,5)
Dondurma	20	6	6 (100)	-
Toplam	100	67	63 (94)	4 (6)

n= İzolat sayısı, (+): slime pozitif, (-): slime negatif sonuç

Gıda örneklerinden izole edilen *Bacillus* izolatlarının slime oluşumuna bakılmıştır. Gıdalardan izole edilen 67 *Bacillus* izolatının 63'ü (%94) slime pozitif, 4'ü (%6) slime negatif bulunmuştur (Çizelge 4.7).

Çiğ süt örneklerinden izole edilen 30 *Bacillus* izolatının 28'i (%93,3) slime pozitif, 2'si (%6,7) slime negatif; peynir örneklerinden izole edilen 31 izolatın 29'u (%93,5) slime pozitif, 2'si (%6,5) slime negatif; dondurma örneklerinden izole edilen 6 izolatın 6'sı (%100) slime pozitif bulunmuştur (Çizelge 4.7).

Çizelge 4.8. Gıda örneklerinden izole edilen slime pozitif (+) ve slime negatif (-) *Bacillus* türlerinin dağılımları

Slime sonuçları		
İzolat adı/İzolat sayısı	24 saat	
	n (%)	
	(+)	(-)
<i>B. subtilis</i> (n=36)	35 (97,2)	1 (2,8)
<i>B. cereus</i> (n=12)	11 (91,7)	1 (9,1)
<i>B. megaterium</i> (n=10)	9 (90)	1 (10)
<i>B. licheniformis</i> (n=6)	6 (100)	-
<i>B. circulans</i> (n=2)	1 (50)	1 (50)
<i>B. brevis</i> (n=1)	1 (100)	-
Toplam (n=67)	63 (94,1)	4 (5,9)

n= İzolat sayısı, (+): slime pozitif, (-): slime negatif sonuç

Kongo kırmızılı agar kullanılarak yapılan çalışmada 67 adet *Bacillus* izolatının 63'ü (%94,1) pozitif, 4'ü (%5,9) negatif sonuç vermiştir. *B. subtilis* izolatlarının; 35'i (%97,2) pozitif, 1'i (%2,8) negatif sonuç vermiştir. *B. cereus* izolatlarının 11'i (%91,7) pozitif, 1'i

(%9.1) negatif sonuç vermiştir. *B. megaterium* izolatlarının 9'u (%90) pozitif, 1'i (%10) negatif sonuç vermiştir. *B. licheniformis* izolatlarında bütün izolatlar pozitif sonuç vermiştir. *B. circulans* izolatlarının; 1'i (%50) pozitif, 1'i (%50) negatif sonuç vermiştir. 1 *B. brevis* izolatu da pozitif sonuç vermiştir (Çizelge 4.8).

4.1.2. *E. coli* izolatlarında slime sonuçları

Çizelge 4.9. Çiğ süt süt örneklerinden izole edilen *E. coli* izolatlarının slime sonuçları

No	İzolat no.	Slime sonuçları
1	S25E-1	+
2	S23E-1	+
3	S11E-2	+
4	S32E-1	+
5	S19E-1	+
6	S26E-1	+
7	S31E-1	+
8	S13E-1	+
9	S20E-2	+
10	S32E-2	+
11	S3E-1	+
12	S30E-2	+
13	S7E-1	+
14	S39E-1	+
15	S37E-1	+
16	S14E-1	+
17	S12E-1	+

(+): pozitif, (-): negatif sonuç

Çiğ süt örneklerinden izole edilen *E. coli* izolatlarının slime sonuçlarına göre 17 izolatın 17'si de (%100) slime pozitif sonuç vermiştir (Çizelge 4.9).

Çizelge 4.10. Peynir örneklerinden izole edilen *E. coli* izolatlarının slime sonuçları

No	İzolat no.	Slime sonuçları
1	P28E-2	+
2	P17E-1	+
3	P5E-1	+

(+): pozitif, (-): negatif sonuç

Peynir örneklerinden izole edilen *E.coli* izolatlarının slime sonuçlarına göre 3 izolatın 3'ü de (%100) slime pozitif sonuç vermiştir (Çizelge 4.10).

Çizelge 4.11. Gıdalardan izole edilen *E. coli* izolatlarında slime oluşumunun yüzdeleri

Slime sonuçları		
İzolat adı/İzolat sayısı	24 saat	
	n (%)	
	(+)	(-)
<i>E. coli</i> (n=20)	20 (100)	-

n=izolat sayısı, (+): pozitif, (-): negatif sonuç

Kongo kırmızılı agar kullanılarak yapılan çalışmada 20 adet *E.coli* izolatının 20'si de (%100) pozitif sonuç vermiştir (Çizelge 4.11).

4.2. Mikroplate ile Biyofilm Ölçüm Sonuçları

4.2.1. *Bacillus* izolatlarının biyofilm ölçüm sonuçları

Çizelge 4.12. Çiğ süt örneklerinden izole edilen *Bacillus* izolatlarının TSB+%1 Glikoz'da 24 saat ve 48 saat sonundaki tutunma sonuçları

No	İzolat no.	İzole edilen bakteri	24 saat TSB+%1 Glikoz	48 saat TSB+%1 Glikoz
1	S33B-1	<i>B. licheniformis</i>	++	+
2	S36B-1	<i>B. cereus</i>	++	++
3	S27B-1	<i>B. subtilis</i>	+++	++
4	S39B-1	<i>B. cereus</i>	+	++
5	S32B-1	<i>B. circulans</i>	++	++
6	S28B-2	<i>B. subtilis</i>	++	+++
7	S38B-1	<i>B. subtilis</i>	+++	++
8	S39B-2	<i>B. subtilis</i>	+	+
9	S28B-3	<i>B. licheniformis</i>	+	+
10	S32B-2	<i>B. cereus</i>	+++	++
11	S31B-1	<i>B. licheniformis</i>	-	-
12	S29B-1	<i>B. subtilis</i>	++	++
13	S26B-1	<i>B. subtilis</i>	++	+
14	S3B-6	<i>B. licheniformis</i>	+++	+++
15	S1B-2	<i>B. cereus</i>	++	+++
16	S13B-5	<i>B. subtilis</i>	+	+++
17	S24B-4	<i>B. subtilis</i>	++	+++
18	S12B-2	<i>B. subtilis</i>	+	+
19	S19B-3	<i>B. subtilis</i>	++	++
20	S12B-3	<i>B. subtilis</i>	+++	++
21	S15B-7	<i>B. megaterium</i>	-	+
22	S2B-5	<i>B. megaterium</i>	+	++
23	S19B-4	<i>B. subtilis</i>	+++	+
24	S14B-6	<i>B. megaterium</i>	+	+
25	S4B-9	<i>B. megaterium</i>	+	++
26	S13B-4	<i>B. subtilis</i>	+	+++
27	S10B-2	<i>B. subtilis</i>	+++	+++
28	S17B-2	<i>B. megaterium</i>	+	+
29	S1B-1	<i>B. cereus</i>	+	+
30	S24B-2	<i>B. subtilis</i>	+	+++

(+++): kuvvetli, (++) : orta, (+): zayıf biyofilm, (-): negatif sonuç

Çiğ süt örneklerinden izole edilen *Bacillus* izolatlarının TSB+%1 glikozlu besiyerinde 24 saat inkübasyonda biyofilm oluşturma sonuçlarına göre 30 izolatın 7'si (%23,3) kuvvetli, 9'u (%30) orta, 12'si (%40) zayıf biyofilm oluştururken 2'si (%6,7) biyofilm oluşturmamıştır (Çizelge 4.12). İzolatların TSB+%1 glikozlu besiyerinde 48 saat inkübasyonda biyofilm oluşturma sonuçlarına göre ise 30 izolatın 8'i (%26,7) kuvvetli, 11'i (%36,7) orta, 10'u (%33,3) zayıf biyofilm oluştururken 1'i (%3,3) biyofilm oluşturmamıştır (Çizelge 4.12).

Çizelge 4.13. Peynir örneklerinden izole edilen *Bacillus* izolatlarının TSB+%1 Glikoz'da 24 saat ve 48 saat sonundaki tutunma sonuçları

No	İzolat no.	İzole edilen bakteri	24 saat TSB+%1 Glikoz	48 saat TSB+%1 Glikoz
1	P33B-1	<i>B. subtilis</i>	+++	+
2	P29B-1	<i>B. subtilis</i>	+	++
3	P35B-1	<i>B. megaterium</i>	++	-
4	P30B-2	<i>B. subtilis</i>	+++	+++
5	P29B-2	<i>B. circulans</i>	+	++
6	P37B-1	<i>B. subtilis</i>	-	-
7	P32B-1	<i>B. subtilis</i>	+++	+++
8	P35B-2	<i>B. cereus</i>	-	-
9	P34B-1	<i>B. cereus</i>	+++	++
10	P37B-2	<i>B. megaterium</i>	++	++
11	P7B-6	<i>B. subtilis</i>	+	+
12	P16B-12	<i>B. cereus</i>	++	+++
13	P16B-9	<i>B. subtilis</i>	++	-
14	P13B-3	<i>B. cereus</i>	++	++
15	P22B-5	<i>B. subtilis</i>	+	+
16	P22B-4	<i>B. subtilis</i>	-	-
17	P21B-3	<i>B. subtilis</i>	+	++
18	P14B-6	<i>B. subtilis</i>	+++	+++
19	P14B-7	<i>B. subtilis</i>	+++	+++
20	P12B-2	<i>B. subtilis</i>	+	++
21	P16B-10	<i>B. subtilis</i>	-	+
22	P18B-2	<i>B. subtilis</i>	+	++
23	P6B-4	<i>B. subtilis</i>	+	++
24	P14B-8	<i>B. megaterium</i>	+++	++
25	P20B-5	<i>B. cereus</i>	+++	++
26	P2B-2	<i>B. cereus</i>	+	+
27	P4B-1	<i>B. subtilis</i>	+++	+++
28	P1B-1	<i>B. subtilis</i>	++	+
29	P2B-3	<i>B. megaterium</i>	+	++
30	P16B-11	<i>B. subtilis</i>	-	+
31	P17B-14	<i>B. licheniformis</i>	+++	+++

(+++): kuvvetli, (++) : orta, (+): zayıf biyofilm, (-): negatif sonuç

Peynir örneklerinden izole edilen *Bacillus* izolatlarının TSB+%1 glikozlu besiyerinde 24 saat inkübasyonda biyofilm oluşturma sonuçlarına göre 31 izolatın 10'u (%32,3) kuvvetli, 6'sı (%19,3) orta, 10'u (%32,3) zayıf biyofilm oluşturmamıştır (Çizelge 4.13). Peynir örneklerinden izole edilen *Bacillus* izolatlarının TSB+%1 glikozlu besiyerinde 48 saat inkübasyonda biyofilm oluşturma sonuçlarına göre 31 izolatın 7'si (%22,6) kuvvetli, 12'si (%38,7) orta, 7'si (%22,6) zayıf biyofilm oluşturmamıştır (Çizelge 4.13).

Çizelge 4.14. Dondurma örneklerinden izole edilen *Bacillus* izolatlarının TSB+%1 Glikoz'da 24 saat ve 48 saat sonundaki tutunma sonuçları

No	İzolat no.	İzole edilen bakteri	24 saat TSB+%1 Glikoz	48 saat TSB+%1 Glikoz
1	D16B-1	<i>B. brevis</i>	+++	+++
2	D15B-2	<i>B. cereus</i>	-	+
3	D14B-1	<i>B. cereus</i>	+	+
4	D9B-6	<i>B. subtilis</i>	+++	+++
5	D10B-8	<i>B. licheniformis</i>	++	++
6	D10B-7	<i>B. subtilis</i>	+	++

(+++): kuvvetli, (++) : orta, (+): zayıf biyofilm, (-) negatif sonuç

Dondurma örneklerinden izole edilen *Bacillus* izolatlarının TSB+%1 glikozlu besiyerinde 24 saat inkübasyonda biyofilm oluşturma sonuçlarına göre 6 izolatın 2'si (%33,3) kuvvetli, 1'i (%16,7) orta, 2'si (%33,3) zayıf biyofilm oluşturmamıştır (Çizelge 4.14).

Dondurma örneklerinden izole edilen *Bacillus* izolatlarının TSB+%1 glikozlu besiyerinde 48 saat inkübasyonda biyofilm oluşturma sonuçlarına göre 6 izolatın 2'si (%33,3) kuvvetli, 2'si (%33,3) orta, 2'si (%33,3) zayıf biyofilm oluşturmamıştır (Çizelge 4.14).

Çizelge 4.15. Gıda örneklerinden izole edilen *Bacillus* izolatlarının TSB+%1 glikozlu besiyerinde 24 ve 48 saat inkübasyon sonucunda biyofilm oluşumları

Gıda örneği	24 saat TSB+%1 glikoz n (%)				48 saat TSB+%1 glikoz n (%)			
	+++	++	+	-	+++	++	+	-
Çiğ süt (n=30)	7 (23,3)	9 (30)	12 (40)	2 (6,7)	8 (26,7)	11 (36,7)	10 (33,3)	1 (3,3)
Peynir (n=31)	10 (32,3)	6 (19,3)	10 (32,3)	5 (16,1)	7 (22,6)	12 (38,7)	7 (22,6)	5 (16,1)
Dondurma (n=6)	2 (33,3)	1 (16,7)	2 (33,3)	1 (16,7)	2 (33,3)	2 (33,3)	2 (33,3)	-
Toplam (n=67)	19 (28,4)	16 (23,9)	24 (35,8)	8 (11,9)	17(25,4)	25(37,3)	19 (28,4)	6 (9)

n=İzolat sayısı, (+++): Kuvvetli biyofim, (++) : Orta biyofilm, (+): Zayıf biyofilm, (-): Biyofilm negatif

Gıdalardan izole edilen 67 *Bacillus* izolatının TSB+%1 glikozlu besiyerinde 24 saat sonundaki inkübasyonda 19'u (%28,4) kuvvetli, 16'sı (%23,9) orta, 24'ü (%35,8) zayıf biyofilm oluştururken 8'i (%11,9) biyofilm oluşturmamıştır (Çizelge 4.15).

Gıdalardan izole edilen 67 *Bacillus* izolatının TSB+%1 glikozlu besiyerinde 48 saat sonundaki inkübasyonunda 17'si (%25,4) kuvvetli, 25'i (%37,3) orta, 19'u (%28,4) zayıf biyofilm oluştururken 6'sı (%9) biyofilm oluşturmamıştır (Çizelge 4.15).

Çiğ süt örneklerinden izole edilen 30 *Bacillus* izolatının TSB+%1 glikozlu besiyerinde 24 saat sonundaki inkübasyonunda 7'si (%23,3) kuvvetli, 9'u (%30) orta, 12'si (%40) zayıf biyofilm oluştururken 2'si (%6,7) biyofilm oluşturmamıştır (Çizelge 4.15).

Çiğ süt örneklerinden izole edilen 30 *Bacillus* izolatının TSB+%1 glikozlu besiyerinde 48 saat inkübasyon sonunda 8'i (%26,7) kuvvetli, 11'i (%36,7) orta, 10'u (%33,3) zayıf biyofilm oluştururken 1'i (%3,3) biyofilm oluşturmamıştır (Çizelge 4.15).

Peynir örneklerinden izole edilen 31 *Bacillus* izolatının TSB+%1 glikozlu besiyerinde 24 saat inkübasyon sonunda 10'u (%32,3) kuvvetli, 6'sı (%19,3) orta, 10'u (%32,3) zayıf biyofilm oluştururken 5'i (%16,1) biyofilm oluşturmamıştır (Çizelge 4.15).

Peynir örneklerinden izole edilen 31 *Bacillus* izolatının TSB+%1 glikozlu besiyerinde 48 saat inkübasyon sonunda 7'si (%22,6) kuvvetli, 12'si (%38,7) orta, 7'si (%22,6) zayıf biyofilm oluştururken 5'i (%16,1) biyofilm oluşturmamıştır (Çizelge 4.15).

Dondurma örneklerinden izole edilen 6 *Bacillus* izolatının TSB+%1 glikozlu besiyerinde 24 saat inkübasyon sonunda 2'si (%33,3) kuvvetli, 1'i (%16,7) orta, 2'si (%33,3) zayıf biyofilm oluştururken 1'i (%16,7) biyofilm oluşturmamıştır (Çizelge 4.15).

Dondurma örneklerinden izole edilen 6 *Bacillus* izolatının TSB+%1 glikozlu besiyerinde 48 saat inkübasyon sonunda 2'si (%33,3) kuvvetli, 2'si (%33,3) orta, 2'si (%33,3) zayıf biyofilm oluşturmuştur (Çizelge 4.15).

Çizelge 4.16. Gıda örneklerinden izole edilen *Bacillus* türlerinin 37 °C’de TSB+%1 glikozlu besiyerinde 24 saat sonundaki tutunma yüzdeleri

İzolat adı/sayısı	24 saat TSB+%1 Glikoz n (%)			
	+++	++	+	-
<i>B. subtilis</i> (n=36)	12 (33,4)	7 (19,4)	13 (36,1)	4 (11,1)
<i>B. cereus</i> (n=12)	3 (25)	3 (25)	4 (33,3)	2 (16,7)
<i>B. megaterium</i> (n=10)	1 (10)	3 (30)	5 (50)	1 (10)
<i>B. licheniformis</i> (n=6)	2 (33,3)	2 (33,3)	1 (16,7)	1 (16,7)
<i>B. circulans</i> (n=2)	-	1 (50)	1 (50)	-
<i>B. brevis</i> (n=1)	1 (100)	-	-	-
Toplam (n=67)	19 (28,4)	16 (23,9)	24 (35,8)	8 (12)

n=İzolat sayısı, (+++): Kuvvetli biyofilm, (++): orta biyofilm, (+): zayıf biyofilm, (-): Biyofilm negatif

Gıdalardan izole edilen 36 adet *B. subtilis* izolatının 12’si (%33,4) kuvvetli, 7’si (%19,4) orta ve 13’ü (%36,1) zayıf biyofilm pozitif olarak bulunmuştur. İzolatların 4’ü (%11,1) negatif biyofilm olarak bulunmuştur (Çizelge 4.16).

Gıdalardan izole edilen 12 adet *B. cereus* izolatının 3’ü (%25) kuvvetli, 3’ü (%25) orta ve 4’ü (%33,3) zayıf biyofilm pozitif olarak bulunmuştur. İzolatların 2’si (%16,7) ise biyofilm negatif olarak bulunmuştur (Çizelge 4.16).

Gıdalardan izole edilen 10 adet *B. megaterium* izolatının 1’i (%10) kuvvetli, 3’ü (%30) orta ve 5’i (%50) zayıf biyofilm pozitif olarak bulunmuştur. İzolatların 1’i (%10) biyofilm negatif olarak bulunmuştur (Çizelge 4.16).

Gıdalardan izole edilen 6 adet *B. licheniformis* izolatının 2’si (%33,3) kuvvetli, 2’si (%33,3) orta ve 1’i (%16,7) zayıf biyofilm pozitif olarak bulunmuştur. İzolatların 1’i (%16,7) biyofilm negatif olarak bulunmuştur (Çizelge 4.16).

Gıdalardan izole edilen 2 adet *B. circulans* izolatının 1’i (%50) orta ve 1’i (%50) zayıf biyofilm pozitif olarak bulunmuştur (Çizelge 4.16).

Gıdalardan izole edilen 1 adet (%100) *B. brevis* izolatı kuvvetli biyofilm pozitif olarak bulunmuştur (Çizelge 4.16).

Çizelge 4.17. Gıda örneklerinden izole edilen *Bacillus* türlerinin 37 °C’de TSB+%1 glikozlu besiyerinde 48 saat sonundaki tutunma yüzdeleri

İzolat adı/sayısı	48 saat TSB+%1 Glikoz n (%)			
	+++	++	+	-
<i>B. subtilis</i> (n=36)	12 (33,3)	11 (30,6)	10 (27,8)	3 (8,3)
<i>B. cereus</i> (n=12)	1 (8,3)	6 (50)	4 (33,4)	1 (8,3)
<i>B. megaterium</i> (n=10)	1 (10)	5 (50)	3 (30)	1 (10)
<i>B. licheniformis</i> (n=6)	2 (33,3)	1 (16,7)	2 (33,3)	1 (16,7)
<i>B. circulans</i> (n=2)	-	2 (100)	-	-
<i>B. brevis</i> (n=1)	1 (100)	-	-	-
Toplam (n=67)	17 (25,4)	25 (37,3)	19 (28,3)	6 (9)

n=İzolat sayısı, (+++): Kuvvetli biyofilm, (++): Orta biyofilm, (+): Zayıf biyofilm, (-): Biyofilm negatif

Gıdalardan izole edilen 36 adet *B. subtilis* izolatının 12’si (%33,3) kuvvetli, 11’i (%30,6) orta ve 10’u (%27,8) zayıf biyofilm pozitif olarak bulunmuştur. İzolatlardan 3 tanesi (%8,3) biyofilm negatif olarak bulunmuştur (Çizelge 4.17).

Gıdalardan izole edilen 12 adet *B. cereus* izolatının 1’i (%8,3) kuvvetli, 6’sı (%50) orta ve 4’ü (%33,4) zayıf biyofilm pozitif olarak bulunmuştur. İzolatlardan 1’i (%8,3) negatif biyofilm olarak bulunmuştur (Çizelge 4.17).

Gıdalardan elde edilen 10 adet *B. megaterium* izolatının 1’i (%10) kuvvetli, 5’i (%50) orta ve 3’ü (%30) zayıf biyofilm pozitif olarak bulunmuştur. İzolatlardan 1’i (%10) negatif biyofilm olarak bulunmuştur (Çizelge 4.17).

Gıdalardan izole edilen 6 adet *B. licheniformis* izolatının 2’si (%33,3) kuvvetli, 1’i (%16,7) orta ve 2’si (%33,3) zayıf biyofilm pozitif olarak bulunmuştur. İzolatlardan 1’i (%16,7) biyofilm negatif olarak bulunmuştur (Çizelge 4.17).

Gıdalardan izole edilen 2 adet (%100) *B. circulans* izolatu orta biyofilm pozitif olarak bulunmuştur (Çizelge 4.17).

Gıdalardan izole edilen 1 adet (%100) *B. brevis* izolatu kuvvetli biyofilm pozitif olarak bulunmuştur (Çizelge 4.17).

4.2.2. *E. coli* izolatlarının biyofilm ölçüm sonuçları

Çizelge 4.18. Çiğ süt örneklerinden izole edilen *E. coli* izolatlarının TSB ve TSB+%1 glikozlu besiyerinde 24 saat sonundaki tutunma sonuçları

No	İzolat no.	24 saat TSB	24 saat TSB+%1 glikoz
1	S25E-1	++	++
2	S23E-1	+++	+++
3	S11E-2	-	-
4	S32E-1	+	+
5	S19E-1	+	++
6	S26E-1	++	-
7	S31E-1	++	+
8	S13E-1	+	++
9	S20E-2	+++	+++
10	S32E-2	++	++
11	S3E-1	+++	++
12	S30E-2	-	-
13	S7E-1	++	+
14	S39E-1	+	++
15	S37E-1	+	++
16	S14E-1	+++	++
17	S12E-1	++	++

(+++): Kuvvetli biyofilm, (++): Orta biyofilm, (+): Zayıf biyofilm, (-): Biyofilm negatif

Çiğ süt örneklerinden izole edilen *E. coli* izolatlarının TSB’de 24 saat inkübasyonda biyofilm oluşturma sonuçlarına göre 17 izolatın 4’ü kuvvetli, 6’sı orta, 5’i zayıf biyofilm oluştururken 2’si biyofilm oluşturmamıştır (Çizelge 4.18). Çiğ süt örneklerinden izole edilen *E. coli* izolatlarının TSB+%1 glikozda 24 saat inkübasyonda biyofilm oluşturma sonuçlarına göre 17 izolatın 2’si (%11,7) kuvvetli, 9’u (%52,9) orta, 3’ü (%17,7) zayıf biyofilm oluştururken 3’ü (%17,7) biyofilm oluşturmamıştır (Çizelge 4.18).

Çizelge 4.18.’de gösterilen çiğ süt örneklerinden izole edilen *E. coli* türlerinin tutunma sonuçları aşağıda verilen formüle göre değerlendirilmiştir.

$OD \leq Odc$ Negatif

$Odc < OD \leq 2 \times Odc$ Zayıf

$2 \times Odc \leq OD < 4 \times Odc$

$4 \times Odc < OD$ Kuvvetli

Mikroplate yönteminde 24 saat inkübasyon sonucunda TSB+1 glikoz ve TSB'deki negatif kontrollerin ortalaması ve negatif kontrollerin standart sapması hesaplanarak Odc belirlenmiştir.

$$\text{Odc} = \text{Negatif kontrollerin OD ortalaması} + 3x \text{ negatif kontrollerin standart sapması}$$

Çizelge 4.19. Peynir örneklerinden izole edilen *E.coli* izolatlarının TSB ve TSB+%1 Glikozda 24 saat sonundaki tutunma sonuçları

No	İzolat no.	24 saat TSB	24 saat TSB+%1 Glikoz
1	P28E-2	+++	++
2	P17E-1	++	+
3	P5E-1	++	++

(+++): Kuvvetli biyofilm, (++): orta biyofilm, (+): zayıf biyofilm, (-): biyofilm negatif

Peynir örneklerinden izole edilen *E. coli* izolatlarının TSB'de 24 saat inkübasyonunda biyofilm oluşturma sonuçlarına göre 3 izolatın 1'i (%33,3) kuvvetli, 2'si (%66,7) orta biyofilm oluşturmıştır (Çizelge 4.19).

Peynir örneklerinden izole edilen *E. coli* izolatlarının TSB+%1 glikozda 24 saat inkübasyonunda biyofilm oluşturma sonuçlarına göre 3 izolatın 2'si (66,7) orta, 1'i (%33,3) zayıf biyofilm göstermiştir (Çizelge 4.19).

Çizelge 4.19.'da gösterilen peynir örneklerinden izole edilen *E. coli* türlerinin tutunma sonuçları aşağıda verilen formüle göre değerlendirilmiştir.

$\text{OD} \leq \text{Odc}$ Negatif, $\text{Odc} < \text{OD} \leq 2x\text{Odc}$ Zayıf

$2x\text{Odc} \leq \text{OD} < 4x\text{Odc}$, $4x\text{Odc} < \text{OD}$ Kuvvetli

Mikroplate yönteminde 24 saat inkübasyon sonucunda TSB+1 Glikoz ve TSB'deki negatif kontrollerin ortalaması ve negatif kontrollerin standart sapması hesaplanarak Odc belirlenmiştir.

$$\text{Odc} = \text{Negatif kontrollerin OD ortalaması} + 3x \text{ negatif kontrollerin standart sapması}$$

Çizelge 4.20. Gıda örneklerinden izole edilen *E. coli* izolatlarının 37 °C’de TSB’de 24 saat sonundaki tutunma yüzdeleri

TSB				
İzolat adı/İzolat sayısı	24 saat			
	n (%)			
<i>E. coli</i> (n=20)	(+++)	(++)	(+)	(-)
	5 (25)	8(40)	5(25)	(10)

(+++): kuvvetli biyofilm, (++): orta biyofilm, (+): zayıf biyofilm, (-): biyofilm negatif

Gıdalardan izole edilen *E. coli* izolatlarının TSB’de 24 saat sonundaki tutunmalarına bakıldığında; toplam 20 izolatın 5’i (%25) kuvvetli, 8’i (%40) orta, 5’i (%20) zayıf derecede biyofilm pozitif olarak bulunmuştur. İzolatlardan 2 tanesi (%10) biyofilm negatif olarak bulunmuştur (Çizelge 4.20).

Çizelge 4.21. Gıda örneklerinden izole edilen *E. coli* izolatlarının 37 °C’de TSB+%1 Glikoz’da 24 saat sonundaki tutunma yüzdeleri

TSB+%1 glikoz				
İzolat adı/İzolat sayısı	24 saat			
	n (%)			
<i>E. coli</i> (n=20)	+++	++	+	-
	2 (10)	11 (55)	4 (20)	3 (15)

(+++): kuvvetli biyofilm, (++): orta biyofilm, (+): zayıf biyofilm, (-) biyofilm negatif

Gıdalardan elde edilen *E. coli* izolatlarının TSB+%1 Glikoz’da 24 saat sonundaki tutunmalarına bakıldığında; toplam 20 izolatın 2’si (%10) kuvvetli, 11’i (%55) orta ve 4’ü (%20) zayıf derecede biyofilm pozitif bulunmuştur. İzolatlardan 3 tanesi (%15) ise biyofilm negatif bulunmuştur (Çizelge 4.21).

4.3. *Bacillus* Türlerinde Enzim Aktivitesi Sonuçları

Çalışmamızda çiğ süt, peynir ve dondurma örneklerinden elde ettiğimiz *Bacillus* izolatlarının proteaz, lipaz, lesitinaz, jelatinaz enzim aktiviteleri incelenmiştir.

Çizelge 4.22. Çiğ süt örneklerinden elde edilen *Bacillus* izolatlarının enzim aktivitesi sonuçları

No	İzolat no.	Lipaz aktivitesi	Jelatinaz aktivitesi	Proteaz aktivitesi	Lesitinaz aktivitesi
1	S33B-1	+	+	-	-
2	S36B-1	+	-	-	-
3	S27B-1	+	+	-	-
4	S39B-1	-	+	-	-
5	S32B-1	+	+	+	+
6	S28B-2	-	+	-	-
7	S38B-1	+	+	+	-
8	S39B-2	-	-	-	-
9	S28B-3	-	-	-	-
10	S32B-2	+	+	-	+
11	S31B-1	-	-	-	-
12	S29B-1	+	-	-	-
13	S26B-1	-	-	-	-
14	S3B-6	+	+	+	+
15	S1B-2	+	+	-	+
16	S13B-5	+	+	+	+
17	S24B-4	+	+	+	+
18	S12B-2	+	+	+	-
19	S19B-3	+	+	+	-
20	S12B-3	+	+	+	+
21	S15B-7	+	+	+	+
22	S2B-5	+	+	+	-
23	S19B-4	+	+	+	-
24	S14B-6	+	+	+	-
25	S4B-9	+	+	+	-
26	S13B-4	+	+	+	+
27	S10B-2	+	+	+	+
28	S17B-2	+	+	+	-
29	S1B-1	+	+	-	+
30	S24B-2	+	+	+	+

(+): pozitif sonuç, (-): negatif sonuç

Çiğ süt örneklerinden izole edilen *Bacillus* izolatlarının bazı enzim aktivitesi sonuçlarına göre 30 *Bacillus* izolatının 24'ü (%80) lipaz pozitif, 6'sı (%20) lipaz negatif, 24'ü (%80) jelatinaz pozitif, 6'sı (%20) jelatinaz negatif, 17'si (%56,7) proteaz pozitif, 13'ü (%43,3) proteaz negatif, 12'si (%40) lesitinaz pozitif, 18'i (%60) lesitinaz negatif sonuç vermiştir (Çizelge 4.22).

Çizelge 4.23. Peynir örneklerinden izole edilen *Bacillus* izolatlarının enzim aktivitesi sonuçları

No	İzolat no.	Lipaz aktivitesi	Jelatinaz aktivitesi	Proteaz aktivitesi	Lesitinaz aktivitesi
1	P33B-1	+	-	+	-
2	P29B-1	-	-	-	-
3	P35B-1	+	-	-	-
4	P30B-2	+	-	-	+
5	P29B-2	-	-	-	+
6	P37B-1	-	+	-	-
7	P32B-1	+	-	-	-
8	P35B-2	-	+	-	-
9	P34B-1	-	-	-	-
10	P37B-2	-	-	+	-
11	P7B-6	+	+	+	+
12	P16B-12	+	+	+	-
13	P16B-9	+	+	+	+
14	P13B-3	+	+	+	+
15	P22B-5	+	+	+	-
16	P22B-4	+	+	+	-
17	P21B-3	+	+	+	+
18	P14B-6	+	+	+	+
19	P14B-7	+	+	+	-
20	P12B-2	+	+	+	-
21	P16B-10	+	+	-	+
22	P18B-2	+	+	+	+
23	P6B-4	+	+	+	+
24	P14B-8	+	+	+	+
25	P20B-5	+	+	+	-
26	P2B-2	+	+	+	-
27	P4B-1	+	+	-	-
28	P1B-1	+	+	+	-
29	P2B-3	+	+	+	+
30	P16B-11	+	+	+	+
31	P17B-14	+	+	-	+

(+): pozitif sonuç, (-): negatif sonuç

Peynir örneklerinden izole edilen *Bacillus* izolatlarının bazı enzim aktivitesi sonuçlarına göre 31 *Bacillus* izolatının 25'i (%80,7) lipaz pozitif, 6'sı (%19,3) lipaz negatif, 23'ü (%74,2) jelatinaz pozitif, 8'i (%25,8) jelatinaz negatif, 20'si (%64,5) proteaz pozitif, 11'i (%35,5) proteaz negatif, 14'ü (%45,2) lesitinaz pozitif, 17'si (%54,8) lesitinaz negatif sonuç vermiştir (Çizelge 4.23).

Çizelge 4.24. Dondurma örneklerinden izole edilen *Bacillus* izolatlarının enzim aktivitesi sonuçları

No	İzolat no.	Lipaz aktivitesi	Jelatinaz aktivitesi	Proteaz aktivitesi	Lesitinaz aktivitesi
1	D16B-1	+	-	-	-
2	D15B-2	-	+	+	-
3	D14B-1	-	-	-	-
4	D9B-6	+	+	+	+
5	D10B-8	+	+	+	+
6	D10B-7	+	+	+	-

(+): pozitif sonuç, (-): negatif sonuç

Dondurma örneklerinden izole edilen *Bacillus* izolatlarının bazı enzim aktivitesi sonuçlarına göre 6 *Bacillus* izolatının 4'ü (%66,7) lipaz pozitif, 2'si (%33,3) lipaz negatif, 4'ü (%66,7) jelatinaz pozitif, 2'si (33,3) jelatinaz negatif, 4'ü (%66,7) proteaz pozitif, 2'si (%33,3) proteaz negatif, 2'si (33,3) lesitinaz pozitif, 4'ü (%66,7) lesitinaz negatif sonuç vermiştir (Çizelge 4.24)

Çizelge 4.25. Gıdalardan izole edilen *Bacillus* izolatlarının enzim aktiviteleri dağılımları

Gıda örneği	Lipaz		Jelatinaz		Proteaz		Lesitinaz	
	+	-	+	-	+	-	+	-
Çiğ süt (n=30)	24 (80)	6 (20)	24 (80)	(20)	17 (56,7)	13 (43,3)	12 (40)	18 (60)
Peynir (n=31)	25 (80,6)	6 (19,4)	23 (74,2)	8 (25,8)	20 (64,5)	11(35,5)	14 (45,2)	17 (54,8)
Dondurma (n=6)	4 (66,7)	2 (33,3)	(66,7)	2 (33,3)	4 (66,7)	2 (33,3)	2 (33,3)	4 (66,7)
Toplam (n=67)	53 (79,1)	14 (20,9)	51 (76,1)	16 (23,9)	41 (61,2)	26 (38,8)	28 (41,8)	39 (58,2)

n=İzolat sayısı, (+): pozitif sonuç, (-): negatif sonuç

Gıdalardan izole edilen *Bacillus* izolatlarının enzim aktivitesi sonuçlarına göre 67 *Bacillus* izolatının 53'ü (%79,1) lipaz pozitif, 14'ü (%20,9) lipaz negatif; 51'i (%76,1) jelatinaz pozitif, 16'sı (%23,9) jelatinaz negatif, 41'i (%61,2) proteaz pozitif, 26'sı (%38,8) proteaz negatif; 28'i (%41,8) lesitinaz pozitif, 39'u (%58,2) lesitinaz negatif bulunmuştur (Çizelge 4.25).

Çiğ süt örneklerinden izole edilen 30 *Bacillus* izolatının 24'ü (%80) lipaz pozitif, 6'sı (%20) lipaz negatif; 24'ü (%80) jelatinaz pozitif, 6'sı (%20) jelatinaz negatif; 17'si (%56,7) proteaz pozitif, 13'ü (%43,3) proteaz negatif; 12'si (%40) lesitinaz pozitif, 18'i (%60) lesitinaz negatif bulunmuştur (Çizelge 4.25).

Peynir örneklerinden izole edilen 31 *Bacillus* izolatının 25'i (%80,6) lipaz pozitif, 6'sı (%19,4) lipaz negatif; 23'ü (%74,2) jelatinaz pozitif, 8'i (%25,8) jelatinaz negatif; 20'si

(%64,5) proteaz pozitif, 11'i (%35,5) proteaz negatif; 14'ü (%45,2) lesitinaz pozitif, 17'si (%54,8) lesitinaz negatif bulunmuştur (Çizelge 4.25).

Dondurma örneklerinden izole edilen 6 *Bacillus* izolatının 4'ü (%66,7) lipaz pozitif, 2'si (%33,3) lipaz negatif; 4'ü (%66,7) jelatinaz pozitif, 2'si (%33,3) jelatinaz negatif; 4'ü (%66,7) proteaz pozitif, 2'si (%33,3) proteaz negatif; 2'si (%33,3) lesitinaz pozitif, 4'ü (%66,7) lesitinaz negatif bulunmuştur (Çizelge 4.25).

Çizelge 4.26. Gıda örneklerinden izole edilen *Bacillus* türlerinin enzim aktivitesi sonuçları

İzolat adı/Sayısı	Lipaz		Jelatinaz		Proteaz		Lesitinaz	
	+	-	+	-	+	-	+	-
<i>B. subtilis</i> (n=36)	31 (86,1)	5 (13,9)	29 (80,6)	7 (19,4)	24 (66,7)	12 (33,3)	16 (44,4)	20 (55,6)
<i>B. cereus</i> (n=12)	7 (58,3)	5 (41,7)	9 (75)	3 (25)	6 (50)	6 (50)	3 (25)	9 (75)
<i>B. megaterium</i> (n=10)	9 (90)	1 (10)	8 (80)	2 (20)	8 (80)	2 (20)	4 (40)	6 (60)
<i>B. licheniformis</i> (n=6)	4 (66,7)	2 (33,3)	4 (66,7)	2 (33,3)	2 (33,3)	4 (66,7)	3 (50)	3 (50)
<i>B. circulans</i> (n=2)	1 (50)	1 (50)	1 (50)	1 (50)	1 (50)	1 (50)	2 (100)	-
<i>B. brevis</i> (n=1)	1 (100)	-	-	1 (100)	-	1 (100)	-	1 (100)
Toplam (n=67)	53 (79,1)	14 (20,9)	51 (76,1)	16 (23,9)	41 (61,2)	26 (38,8)	28 (41,8)	39 (58,2)

n=İzolat sayısı, (+): Pozitif sonuç, (-): Negatif sonuç

Gıdalardan elde edilen 67 adet *Bacillus* izolatının, 53'ü (%79,1) lipaz pozitif, 51'i (%76,1) jelatinaz pozitif, 41'si (%61,2) proteaz pozitif, 28'i (%41,8) lesitinaz pozitif olarak bulunmuştur (Çizelge 4.26).

Gıdalardan elde edilen 36 adet *B. subtilis* izolatlarının enzim aktivitelerine bakılınca; 31'i (%86,1) lipaz pozitif, 29'u (%80,6) jelatinaz, 24'ü (%66,7) proteaz, 16'sı (%44,4) lesitinaz pozitif olarak bulunmuştur (Çizelge 4.26).

Gıdalardan elde edilen 12 adet *B. cereus* izolatının enzim aktiviteleri; 7'si (58,3) lipaz pozitif, 9'u (%75) jelatinaz, 6'sı (%50) proteaz, 3'ü (%25) lesitinaz pozitif olarak bulunmuştur (Çizelge 4.26).

Gıdalardan elde edilen 10 adet *B. megaterium* izolatının enzim aktiviteleri; 9'u (%90) lipaz pozitif, 8'i (%80) jelatinaz pozitif, 8'i (%80) proteaz pozitif, 4'ü (%40) lesitinaz pozitif olarak bulunmuştur (Çizelge 4.26).

Gıdalardan elde edilen 6 adet *B. licheniformis* izolatının enzim aktiviteleri; 4'ü (%66,7) lipaz pozitif, 4'ü (%66,7) jelatinaz pozitif, 2'si (%33,3) proteaz pozitif, 3'ü (%50) lesitinaz pozitif olarak bulunmuştur (Çizelge 4.26).

Gıdalardan elde edilen 2 adet *B. circulans* izolatının enzim aktiviteleri; 1'i (%50) lipaz pozitif, 1'i (%50) jelatinaz pozitif, 1'i (%50) proteaz pozitif, 2'si (%100) lesitinaz pozitif bulunmuştur (Çizelge 4.26).

Gıdalardan elde edilen 1 adet *B. brevis* izolatı lipaz pozitif olarak bulunmuştur. Jelatinaz, proteaz ve lesitinaz aktivitesi negatif olarak bulunmuştur (Çizelge 4.26).

4.4. *Bacillus* Türlerinde DNaz Aktivitesi Sonuçları

Çizelge 4.27. Çiğ süt örneklerinden izole edilen *Bacillus* izolatlarının DNaz aktivitesi sonuçları

No	İzolat no.	DNaz aktivitesi
1	S33B-1	-
2	S36B-1	-
3	S27B-1	+
4	S39B-1	-
5	S32B-1	+
6	S28B-2	-
7	S38B-1	+
8	S39B-2	-
9	S28B-3	-
10	S32B-2	-
11	S31B-1	+
12	S29B-1	-
13	S26B-1	-
14	S3B-6	+
15	S1B-2	+
16	S13B-5	-
17	S24B-4	+
18	S12B-2	+
19	S19B-3	+
20	S12B-3	+
21	S15B-7	+
22	S2B-5	+
23	S19B-4	+
24	S14B-6	+
25	S4B-9	+
26	S13B-4	+
27	S10B-2	+
28	S17B-2	+
29	S1B-1	+
30	S24B-2	+

(+): pozitif sonuç, (-): negatif sonuç

Çiğ süt örneklerinden izole edilen 30 *Bacillus* izolatının 20'si (%66,7) DNaz pozitif, 10'u (%33,3) DNaz negatif olarak bulunmuştur (Çizelge 4.27).

Çizelge 4.28. Peynir örneklerinden elde edilen *Bacillus* izolatlarının DNaz aktivitesi sonuçları

No	İzolat no.	DNaz aktivitesi
1	P33B-1	-
2	P29B-1	-
3	P35B-1	+
4	P30B-2	-
5	P29B-2	-
6	P37B-1	-
7	P32B-1	-
8	P35B-2	+
9	P34B-1	-
10	P37B-2	+
11	P7B-6	+
12	P16B-12	+
13	P16B-9	+
14	P13B-3	+
15	P22B-5	+
16	P22B-4	+
17	P21B-3	-
18	P14B-6	-
19	P14B-7	+
20	P12B-2	+
21	P16B-10	+
22	P18B-2	+
23	P6B-4	+
24	P14B-8	+
25	P20B-5	+
26	P2B-2	+
27	P4B-1	+
28	P1B-1	+
29	P2B-3	+
30	P16B-11	+
31	P17B-14	+

(+): pozitif sonuç, (-): negatif sonuç

Peynir örneklerinden elde edilen 31 *Bacillus* izolatının 22'si (%71) DNaz pozitif, 9'u (%29) DNaz negatif olarak saptanmıştır (Çizelge 4.28).

Çizelge 4.29. Dondurma örneklerinden izole edilen *Bacillus* izolatlarının DNaz aktivitesi sonuçları

No	İzolat no.	DNaz aktivitesi
1	D16B-1	-
2	D15B-2	-
3	D14B-1	-
4	D9B-6	+
5	D10B-8	+
6	D10B-7	+

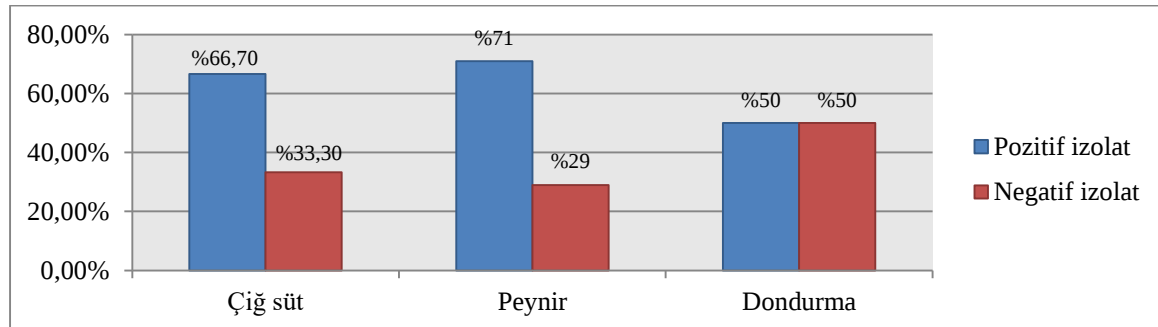
(+): pozitif sonuç, (-): negatif sonuç

Dondurma örneklerinden izole edilen 6 *Bacillus* izolatının 3'ü (%50) DNaz pozitif, 3'ü (%50) DNaz negatif olarak bulunmuştur (Çizelge 4.29).

Çizelge 4.30. Gıdalardan izole edilen *Bacillus* izolatlarının gıda örneklerine göre DNaz aktivitesi dağılımları

Gıda Örneği	Örnek Sayısı	İzolat Sayısı	DNaz Aktivitesi	
			+ (%)	- (%)
Çiğ süt	40	30	20 (66,7)	10 (33,3)
Peynir	40	31	22 (71)	9 (29)
Dondurma	20	6	3 (50)	3 (50)
Toplam	100	67	45 (67,2)	22 (32,8)

(+): pozitif sonuç, (-): negatif sonuç



Şekil 4.2. Gıdalardan izole edilen *Bacillus* izolatlarının DNaz aktivitesi yüzde dağılımları

Gıdalardan izole edilen *Bacillus* izolatlarının 45'i (%67,2) DNaz pozitif, 22'si (%32,8) DNaz negatif olarak bulunmuştur (Çizelge 4.30, Şekil 4.2).

Çiğ süt örneklerinden izole edilen 30 *Bacillus* izolatının 20'si (%66,7) DNaz pozitif, 10'u (%33,3) DNaz negatif olarak bulunmuştur (Çizelge 4.30, Şekil 4.2).

Peynir örneklerinden izole edilen 31 *Bacillus* izolatının 22'si (%71) DNaz pozitif, 9'u (%29) DNaz negatif sonuç vermiştir (Çizelge 4.30, Şekil 4.2).

Dondurma örneklerinden izole edilen 6 *Bacillus* izolatının 3'ü (%50) DNaz pozitif, 3'ü (%50) DNaz negatif olarak bulunmuştur (Çizelge 4.30, Şekil 4.2).

Çizelge 4.31. Gıda örneklerinden izole edilen *Bacillus* türlerinin DNaz aktivitesi sonuçları

İzolat adı/sayısı	n (%)	
	DNaz aktivitesi	
	+	-
<i>B. subtilis</i> (n=36)	25 (69,4)	11 (30,6)
<i>B. cereus</i> (n=12)	5 (41,7)	7 (58,3)
<i>B. megaterium</i> (n=10)	10 (100)	-
<i>B. licheniformis</i> (n=6)	4 (66,7)	2 (33,3)
<i>B. circulans</i> (n=2)	1 (50)	1 (50)
<i>B. brevis</i> (n=1)	-	1 (100)
Toplam (n=67)	45 (67,3)	22 (32,8)

(+): pozitif sonuç, (-): negatif sonuç

Gıdalardan elde edilen 36 adet *B. subtilis* izolatının 25'i (%69,4) DNaz pozitif, 11'i (%30,6) DNaz negatif bulunmuştur (Çizelge 4.31).

Gıdalardan izole edilen 12 adet *B. cereus* izolatının 5'i (%41,7) DNaz pozitif, 7'si (%58,3) DNaz negatif bulunmuştur (Çizelge 4.31).

Gıdalardan izole edilen 10 adet *B. megaterium* izolatının 10'u (%100) DNaz pozitif bulunmuştur (Çizelge 4.31).

Gıdalardan izole edilen 6 *B. licheniformis* izolatının 4'ü (%66,7) DNaz pozitif, 2'si (%33,3) DNaz negatif bulunmuştur (Çizelge 4.31).

Gıdalardan izole edilen 2 adet *B. circulans* izolatının 1'i (%50) DNaz pozitif, 1'i (%50) DNaz negatif bulunmuştur (Çizelge 4.31).

Gıdalardan izole edilen 1 (%100) *B. brevis* izolatı DNaz negatif bulunmuştur (Çizelge 4.31).

4.5. Hemolitik Aktivite Testi Sonuçları

4.5.1. *Bacillus* türlerinde hemolitik aktivite testi sonuçları

Çizelge 4.32. Gıda örneklerinden izole edilen *Bacillus* izolatlarının hemolitik aktivite yüzdeleri

Gıda örneği	Örnek sayısı	İzolat sayısı	Hemolitik aktivite oluşum yüzdesi	
			n (%)	
			+	-
Çiğ süt	40	30	24 (80)	6 (20)
Peynir	40	31	26 (83,9)	5 (16,1)
Dondurma	20	6	3 (50)	3 (50)
Toplam	100	67	53 (79,1)	14 (20,9)

n=izolat sayısı, (+): pozitif sonuç, (-): negatif sonuç

Gıda örneklerinden izole edilen *Bacillus* izolatlarının hemoliz oluşturma sonuçlarına göre 67 izolatın 53'ü (%79,1) hemoliz pozitif, 14'ü (%20,9) hemoliz negatif sonuç vermiştir (Çizelge 4.32).

Çizelge 4.33. Çiğ süt örneklerinden elde edilen *Bacillus* izolatlarının hemolitik aktivite sonuçları

No	İzolat no.	Hemolitik aktivite sonuçları
1	S33B-1	+
2	S36B-1	+
3	S27B-1	+
4	S39B-1	+
5	S32B-1	+
6	S28B-2	+
7	S38B-1	+
8	S39B-2	-
9	S28B-3	-
10	S32B-2	-
11	S31B-1	-
12	S29B-1	+
13	S26B-1	-
14	S3B-6	+
15	S1B-2	+
16	S13B-5	+
17	S24B-4	+
18	S12B-2	+
19	S19B-3	+
20	S12B-3	+
21	S15B-7	+
22	S2B-5	+
23	S19B-4	-
24	S14B-6	+
25	S4B-9	+
26	S13B-4	+
27	S10B-2	+
28	S17B-2	+
29	S1B-1	+
30	S24B-2	+

(+): pozitif sonuç, (-): negatif sonuç

Çiğ süt örneklerinden izole edilen 30 *Bacillus* izolatlarının 24'ü (%80) hemoliz pozitif, 6'sı (%20) hemoliz negatif olarak bulunmuştur (Çizelge 4.33).

Çizelge 4.34. Peynir örneklerinden izole edilen *Bacillus* izolatlarının hemolitik aktivitesi sonuçları

No	İzolat no.	Hemolitik aktivite sonuçları
1	P33B-1	+
2	P29B-1	+
3	P35B-1	+
4	P30B-2	+
5	P29B-2	+
6	P37B-1	-
7	P32B-1	+
8	P35B-2	+
9	P34B-1	-
10	P37B-2	-
11	P7B-6	+
12	P16B-12	+
13	P16B-9	+
14	P13B-3	+
15	P22B-5	+
16	P22B-4	+
17	P21B-3	+
18	P14B-6	+
19	P14B-7	-
20	P12B-2	-
21	P16B-10	+
22	P18B-2	+
23	P6B-4	+
24	P14B-8	+
25	P20B-5	+
26	P2B-2	+
27	P4B-1	+
28	P1B-1	+
29	P2B-3	+
30	P16B-11	+
31	P17B-14	+

(+): pozitif sonuç, (-): negatif sonuç

Peynir örneklerinden izole edilen *Bacillus* türlerinin hemoliz aktivitesi sonuçlarına göre 31 izolatın 26'sı (%83,9) hemoliz pozitif, 5'i (%16,1) hemoliz negatif sonuç vermiştir (Çizelge 4.34).

Çizelge 4.35. Dondurma örneklerinden izole edilen *Bacillus* izolatlarının hemolitik aktivitesi sonuçları

No	İzolat no.	Hemolitik aktivite sonuçları
1	D16B-1	-
2	D15B-2	+
3	D14B-1	-
4	D9B-6	+
5	D10B-8	-
6	D10B-7	+

(+): pozitif sonuç, (-): negatif sonuç

Dondurma örneklerinden izole edilen *Bacillus* türlerinin hemoliz yapma aktivitesine göre 6 izolatın 3'ü (%50) hemoliz pozitif, 3'ü (%50) hemoliz negatif sonuç vermiştir (Çizelge 4.35).

Çizelge 4.36. Gıda örneklerinden izole edilen *Bacillus* türlerinin hemolitik aktivite sonuçları

İzolat adı/İzolat sayısı	n (%)	
	Hemolitik aktivite oluşum yüzdesi	
	+	-
<i>B. subtilis</i> (n=36)	30 (83,3)	6 (16,7)
<i>B. cereus</i> (n=12)	8 (66,7)	4 (33,3)
<i>B. megaterium</i> (n=10)	10 (100)	-
<i>B. licheniformis</i> (n=6)	4 (66,7)	2 (33,3)
<i>B. circulans</i> (n=2)	1 (50)	1 (50)
<i>B. brevis</i> (n=1)	-	1 (100)
Toplam (n=67)	53 (79,1)	14 (20,9)

n= izolat sayısı, (+): pozitif sonuç, (-): negatif sonuç

Gıda örneklerinden izole edilen 67 *Bacillus* izolatının 53'ü (%79,1) pozitif, 14'ü (%20,9) negatif hemoliz oluşumu göstermiştir. *B. subtilis* izolatlarında hemoliz oluşumu; 30'u (%83,3) pozitif, 6'sı (%16,7) negatif sonuç vermiştir. *B. cereus* izolatlarında hemoliz oluşumu; 8'i (%66,7) pozitif, 4'ü (%33,3) negatif sonuç vermiştir. *B. megaterium* izolatlarının 10'u (%100) hemoliz pozitif sonuç vermiştir. *B. licheniformis* izolatlarında hemoliz oluşumu; 4'ü (%66,7) pozitif, 2'si (%33,3) negatif sonuç vermiştir. *B. circulans* izolatlarının 1'i (%50) hemoliz pozitif, 1'i (%50) hemoliz negatif sonuç vermiştir. *B. brevis* izolatı negatif hemoliz oluşumu vermiştir (Çizelge 4.36).

4.5.2. *E. coli* izolatlarının hemolitik aktivite sonuçları

Çizelge 4.37. Çiğ süt örneklerinden elde edilen *E. coli* izolatlarının hemolitik aktivite sonuçları

No	İzolat no.	Hemolitik aktivite sonuçları
1	S25E-1	+
2	S23E-1	+
3	S11E-2	-
4	S32E-1	-
5	S19E-1	+
6	S26E-1	+
7	S31E-1	+
8	S13E-1	-
9	S20E-2	+
10	S32E-2	+
11	S3E-1	+
12	S30E-2	+
13	S7E-1	-
14	S39E-1	+
15	S37E-1	-
16	S14E-1	+
17	S12E-1	-

(+): pozitif sonuç, (-): negatif sonuç

Süt örneklerinden izole edilen *E. coli* izolatlarının hemoliz oluşturma sonuçlarına göre; 17 izolatın 11'i (%64,7) hemoliz pozitif, 6'sı (%35,3) hemoliz negatif sonuç vermiştir (Çizelge 4.37).

Çizelge 4.38. Peynir örneklerinden izole edilen *E. coli* izolatlarının hemolitik aktivite sonuçları

No	İzolat no.	Hemolitik aktivite sonuçları
1	P28E-2	+
2	P17E-1	+
3	P5E-1	+

(+): pozitif sonuç, (-): negatif sonuç

Peynir örneklerinden izole edilen 3 *E. coli* izolatının hemoliz oluşturma sonuçlarına göre 3'ü de (%100) hemoliz pozitif sonuç vermiştir (Çizelge 4.38).

Çizelge 4.39. Gıda örneklerinden izole edilen *E. coli* izolatlarında hemolitik aktivite yüzdeleri

İzolat adı/İzolat sayısı	Hemolitik aktivite oluşum yüzdesi	
	+ (%)	- (%)
<i>E. coli</i> (n=20)	14 (70)	6 (30)

n= izolat sayısı, (+): pozitif sonuç, (-): negatif sonuç

Gıdalardan izole edilen 20 adet *E. coli* izolatının 14'ü (%70) hemoliz pozitif, 6'sı (%30) hemoliz negatif sonuç vermiştir (Çizelge 4.39).

4.6. Siderofor Testi Sonuçları

4.6.1. *Bacillus* izolatlarının siderofor testi sonuçları

Çizelge 4.40. Çiğ süt örneklerinden izole edilen *Bacillus* izolatlarının siderofor aktivitesi sonuçları

No	İzolat no.	Siderofor aktivitesi sonuçları
1	S33B-1	+
2	S36B-1	-
3	S27B-1	-
4	S39B-1	-
5	S32B-1	-
6	S28B-2	+
7	S38B-1	+
8	S39B-2	+
9	S28B-3	-
10	S32B-2	-
11	S31B-1	-
12	S29B-1	-
13	S26B-1	-
14	S3B-6	-
15	S1B-2	+
16	S13B-5	+
17	S24B-4	+
18	S12B-2	+
19	S19B-3	+
20	S12B-3	+
21	S15B-7	+
22	S2B-5	+
23	S19B-4	+
24	S14B-6	-
25	S4B-9	+
26	S13B-4	+
27	S10B-2	+
28	S17B-2	+
29	S1B-1	+
30	S24B-2	+

(+): pozitif sonuç, (-): negatif sonuç

Çiğ süt örneklerinden izole edilen 30 *Bacillus* izolatının 19'u (%63,3) siderofor pozitif, 11'i (%36,7) siderofor negatif olarak bulunmuştur (Çizelge 4.40).

Çizelge 4.41. Peynir örneklerinden izole edilen *Bacillus* izolatlarının siderofor aktivitesi sonuçları

No	İzolat no.	Siderofor aktivitesi sonuçları
1	P33B-1	-
2	P29B-1	+
3	P35B-1	-
4	P30B-2	+
5	P29B-2	+
6	P37B-1	-
7	P32B-1	+
8	P35B-2	-
9	P34B-1	-
10	P37B-2	-
11	P7B-6	+
12	P16B-12	+
13	P16B-9	+
14	P13B-3	+
15	P22B-5	+
16	P22B-4	+
17	P21B-3	+
18	P14B-6	+
19	P14B-7	+
20	P12B-2	-
21	P16B-10	-
22	P18B-2	+
23	P6B-4	+
24	P14B-8	-
25	P20B-5	+
26	P2B-2	+
27	P4B-1	-
28	P1B-1	-
29	P2B-3	+
30	P16B-11	+
31	P17B-14	+

(+): pozitif sonuç, (-): negatif sonuç

Peynir örneklerinden izole edilen 31 *Bacillus* izolatının 20'si (%64,5) siderofor pozitif, 11'i (%35,5) siderofor negatif olarak bulunmuştur (Çizelge 4.41).

Çizelge 4.42. Dondurma örneklerinden izole edilen *Bacillus* izolatlarının siderofor aktivitesi sonuçları

No	İzolat no.	Siderofor aktivitesi sonuçları
1	D16B-1	-
2	D15B-2	-
3	D14B-1	-
4	D9B-6	+
5	D10B-8	+
6	D10B-7	+

(+): pozitif sonuç, (-): negatif sonuç

Dondurma örneklerinden izole edilen 6 *Bacillus* izolatının 3'ü (%50) siderofor pozitif, 3'ü (%50) siderofor negatif olarak bulunmuştur (Çizelge 4.42).

Çizelge 4.43. Gıda örneklerinden izole edilen *Bacillus* izolatlarının siderofor aktivitesi sonuçları

Gıda örneği	Örnek sayısı	İzolat sayısı	Siderofor oluşum yüzdesi	
			n (%)	
			+	-
Çiğ süt	40	30	19 (63,3)	11 (36,7)
Peynir	40	31	20 (64,5)	11 (35,5)
Dondurma	20	6	3 (50)	3 (50)
Toplam	100	67	42 (62,7)	25 (37,3)

n=İzolat sayısı, (+): pozitif sonuç, (-): negatif sonuç

Gıda örneklerinden izole edilen 67 *Bacillus* izolatının 42'si (%62,7) siderofor pozitif, 25'i (%37,3) siderofor negatif olarak bulunmuştur (Çizelge 4.43).

Çizelge 4.44. Gıda örneklerinden izole edilen *Bacillus* türlerinin siderofor aktivitesi sonuçları

İzolat adı/İzolat sayısı	Siderofor aktivitesi sonuçları	
	n (%)	
	+	-
<i>B. subtilis</i> (n=36)	25 (69,4)	11 (30,6)
<i>B. cereus</i> (n=12)	4 (33,3)	8 (66,7)
<i>B. megaterium</i> (n=10)	9 (90)	1 (10)
<i>B. licheniformis</i> (n=6)	3 (50)	3 (50)
<i>B. circulans</i> (n=2)	1 (50)	1 (50)
<i>B. brevis</i> (n=1)	-	1 (100)
Toplam (n=67)	42 (62,7)	25 (37,3)

n= İzolat sayısı, (+): pozitif sonuç, (-): negatif sonuç

Gıda örneklerinden izole edilen 36 *B. subtilis* izolatının 25'i (%69,4) siderofor pozitif, 11'i (%30,6) siderofor negatif olarak bulunmuştur. 12 *B. cereus* izolatının 4'ü (%33,3) siderofor pozitif, 8'i (%66,7) siderofor negatif bulunmuştur. 10 *B. megaterium* izolatının 9'u (%90) siderofor pozitif, 1'i (%10) siderofor negatif olarak bulunmuştur. 6 *B. licheniformis* izolatının 3'ü (%50) siderofor pozitif, 3'ü (%50) siderofor negatif olarak bulunmuştur. 2 *B. circulans* izolatının 1'i (%50) siderofor pozitif, 1'i (%50) siderofor negatif olarak bulunmuştur. *B. brevis* izolatı siderofor negatif olarak saptanmıştır (Çizelge 4.44).

4.6.2. *E. coli* izolatlarının siderofor testi sonuçları

Çizelge 4.45. Gıda örneklerinden izole edilen *E. coli* izolatlarında siderofor oluşumu yüzdeleri

İzolat adı/sayısı	Siderofor aktivitesi sonuçları	
	+	-
<i>E. coli</i> (n=20)	18 (90)	2 (10)

n=İzolat sayısı (+): pozitif sonuç, (-): negatif sonuç

Gıdalardan izole edilen 20 *E. coli* izolatının 18'i (%90) siderofor pozitif, 2'si (%10) siderofor negatif olarak bulunmuştur (Çizelge 4.45).

Çizelge 4.46. Çiğ süt örneklerinden izole edilen *E. coli* izolatlarının siderofor aktivitesi sonuçları

No	İzolat no.	Siderofor aktivitesi sonuçları
1	S25E-1	+
2	S23E-1	+
3	S11E-2	+
4	S32E-1	+
5	S19E-1	+
6	S26E-1	+
7	S31E-1	+
8	S13E-1	+
9	S20E-2	+
10	S32E-2	+
11	S3E-1	+
12	S30E-2	+
13	S7E-1	+
14	S39E-1	+
15	S37E-1	+
16	S14E-1	+
17	S12E-1	+

(+): pozitif sonuç, (-): negatif sonuç

Çiğ süt örneklerinden izole edilen 17 *E. coli* izolatının 17'si de (%100) siderofor pozitif olarak bulunmuştur (Çizelge 4.46).

Çizelge 4.47. Peynir örneklerinden izole edilen *E. coli* izolatlarının siderofor aktivitesi sonuçları

No	İzolat no.	Siderofor aktivitesi sonuçları
1	P28E-2	+
2	P17E-1	-
3	P5E-1	-

(+): pozitif sonuç, (-): negatif sonuç

Peynir örneklerinden izole edilen 3 *E. coli* izolatının 1'i (%33,3) siderofor pozitif, 2'si (%66,7) siderofor negatif olarak bulunmuştur (Çizelge 4.47).

4.7. Amino Asit Dekarboksilaz Testi Sonuçları

4.7.1. *Bacillus* izolatlarının amino asit dekarboksilaz aktivitesi sonuçları

İzole edilen *Bacillus* cinsine ait 67 izolatının lizin, ornitin, arjinin, tirozin ve histidin amino asitlerini içeren modifiye besiyerlerinde dekarboksilaz enzim aktiviteleri test edilmiştir.

Aminoasit dekarboksilaz testine göre; inkübasyon sonunda kontrol tüpünde besiyerinin rengi sarı iken aminoasit içeren besiyerlerinde mor renk oluşumu pozitif, sarı renk oluşumu ise negatif olarak değerlendirilmiştir.

Çizelge 4.48. Çiğ süt örneklerinden izole *Bacillus* cinsine ait izolatların aminoasit dekarboksilaz testi sonuçları

No	İzolat no.	Lizin	Ornitin	Arjinin	Tirozin	Histidin
1	S33B-1	+	+	+	+	+
2	S36B-1	+	+	+	+	+
3	S27B-1	+	+	+	+	+
4	S39B-1	+	+	+	+	+
5	S32B-1	+	+	+	+	+
6	S28B-2	-	-	+	+	+
7	S38B-1	+	+	+	+	+
8	S39B-2	+	+	+	+	+
9	S28B-3	+	+	+	+	+
10	S32B-2	+	+	+	-	+
11	S31B-1	+	+	+	+	+
12	S29B-1	+	+	+	+	+
13	S26B-1	+	+	+	+	+
14	S3B-6	+	+	+	+	+
15	S1B-2	+	+	+	+	+
16	S13B-5	+	+	+	+	+
17	S24B-4	+	+	+	+	+
18	S12B-2	+	+	+	+	+
19	S19B-3	-	-	+	+	+
20	S12B-3	-	-	+	+	+
21	S15B-7	+	+	+	+	+
22	S2B-5	+	+	+	+	+
23	S19B-4	+	+	+	+	+
24	S14B-6	+	+	+	+	+
25	S4B-9	+	+	+	+	+
26	S13B-4	+	+	+	+	+
27	S10B-2	+	+	+	+	+
28	S17B-2	+	+	+	+	+
29	S1B-1	+	+	+	+	+
30	S24B-2	+	+	+	+	+

(+): pozitif sonuç, (-): negatif sonuç

Çiğ süt örneklerinden izole edilen *Bacillus* cinsine ait izolatların amino asit dekarboksilaz testi sonuçlarına göre 30 izolatın 27'si (%90) lizin pozitif, 3'ü (%10) lizin negatif, 27'si (%90) ornitin pozitif, 3'ü (%10) ornitin negatif, 30'u (%100) arjinin pozitif, 29'u (%96,7) tirozin pozitif, 1'i (%3,3) tirozin negatif, 30'u (%100) histidin pozitif bulunmuştur (Çizelge 4.48).

Çizelge 4.49. Peynir örneklerinden izole edilen *Bacillus* cinsine ait izolatlarının amino asit dekarboksilaz testi sonuçları

No	İzolat no.	Lizin	Ornitin	Arjinin	Tirozin	Histidin
1	P33B-1	+	+	+	+	+
2	P29B-1	+	+	+	+	+
3	P35B-1	+	+	+	+	+
4	P30B-2	+	+	+	+	+
5	P29B-2	+	+	+	+	+
6	P37B-1	+	+	+	+	+
7	P32B-1	+	+	+	+	+
8	P35B-2	+	+	+	+	+
9	P34B-1	+	+	+	+	+
10	P37B-2	+	+	+	+	+
11	P7B-6	+	+	+	+	+
12	P16B-12	+	+	+	+	+
13	P16B-9	+	+	+	+	+
14	P13B-3	+	+	+	+	+
15	P22B-5	+	+	+	+	+
16	P22B-4	+	+	+	+	+
17	P21B-3	+	+	+	+	+
18	P14B-6	+	+	+	+	+
19	P14B-7	+	+	+	+	+
20	P12B-2	+	+	+	+	+
21	P16B-10	+	+	+	+	+
22	P18B-2	+	+	+	+	+
23	P6B-4	+	+	+	+	+
24	P14B-8	+	+	+	+	+
25	P20B-5	+	+	+	+	+
26	P2B-2	+	+	+	+	+
27	P4B-1	+	+	+	+	+
28	P1B-1	+	+	+	+	+
29	P2B-3	+	+	+	+	+
30	P16B-11	+	+	+	+	+
31	P17B-14	+	+	+	+	+

(+): pozitif sonuç, (-): negatif sonuç

Peynir örneklerinden izole edilen *Bacillus* izolatlarının amino asit dekarboksilaz aktivitesi sonuçlarına göre 31 izolatın 31'i (%100) lizin pozitif, 31'i (%100) ornitin pozitif, 31'i (%100) arjinin pozitif, 31'i (%100) tirozin pozitif, 31'i (%100) histidin pozitif olarak bulunmuştur (Çizelge 4.49).

Çizelge 4.50. Dondurma örneklerinden izole edilen *Bacillus* cinsine ait izolatların amino asit dekarboksilaz testi sonuçları

No	İzolat no.	Lizin	Ornitin	Arjinin	Tirozin	Histidin
1	D16B-1	+	+	+	+	+
2	D15B-2	+	+	+	+	+
3	D14B-1	-	-	+	+	+
4	D9B-6	-	-	+	+	+
5	D10B-8	+	+	+	+	+
6	D10B-7	+	+	+	+	+

(+): pozitif sonuç, (-): negatif sonuç

Dondurma örneklerinden izole edilen *Bacillus* cinsine ait izolatların amino asit dekarboksilaz aktivitesi sonuçlarına göre 6 izolatın 4'ü (%66,7) lizin pozitif, 2'si (%33,3) lizin negatif, 4'ü (%66,7) ornitin pozitif, 2'si (%33,7) ornitin negatif, 6'sı (%100) arjinin pozitif, 6'sı (%100) tirozin pozitif, 6'sı (%100) histidin pozitif bulunmuştur (Çizelge 4.50).

Çizelge 4.51. Gıdalardan izole edilen *Bacillus* türlerinin aminoasit dekarboksilaz aktivite sonuçları

İzolat adı/sayısı	Lizin		Ornitin		Arjinin		Tirozin		Histidin	
	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-
<i>B. subtilis</i> (n=36)	32 (88,9)	4 (11,1)	32 (88,9)	4 (11,1)	36 (100)	-	36 (100)	-	36 (100)	-
<i>B. cereus</i> (n=12)	11 (91,7)	1 (8,3)	11 (91,7)	1 (8,3)	12 (100)	-	11 (91,7)	1 (8,3)	12 (100)	-
<i>B. megaterium</i> (n=10)	10 (100)	-	10 (100)	-	10 (100)	-	10 (100)	-	10 (100)	-
<i>B. licheniformis</i> (n=6)	6 (100)	-	6 (100)	-	6 (100)	-	6 (100)	-	6 (100)	-
<i>B. circulans</i> (n=2)	2 (100)	-	2 (100)	-	2 (100)	-	2 (100)	-	2 (100)	-
<i>B. brevis</i> (n=1)	1 (100)	-	1 (100)	-	1 (100)	-	1 (100)	-	1 (100)	-
Toplam (n=67)	62 (92,5)	5 (7,5)	62 (92,5)	5 (7,5)	67 (100)	-	66 (98,5)	-	67 (100)	-

n=İzolat sayısı, (+): pozitif sonuç, (-): negatif sonuç

Gıdalardan izole edilen 67 adet *Bacillus* izolatının tür bazında aminoasit dekarboksilaz aktivitesi sonuçlarına göre 36 *B. subtilis* izolatının 32'si (%88,9) lizin poziti, 4'ü (%11,1) lizin negatif; 32'si (%88,9) ornitin pozitif, 4'ü (%11,1) ornitin negatif; 36'sı (%100) arjinin pozitif; 36'sı (%100) tirozin pozitif; 36'sı (%100) histidin pozitif bulunmuştur (Çizelge 4.51).

Gıdalardan izole edilen 12 *B. cereus* izolatının 11'i (%91,7) lizin pozitif, 1'i (%8,3) lizin negatif; 11'i (%91,7) ornitin pozitif, 1'i (%8,3) ornitin negatif; 12'si (%100) arjinin pozitif; 11'i (%91,7) tirozin pozitif, 1'i (%8,3) tirozin negatif; 12'si (%100) histidin pozitif bulunmuştur (Çizelge 4.51).

Gıdalardan izole edilen 10 *B. megaterium* izolatının 10'u (%100) lizin pozitif, 10'u (%100) ornitin pozitif, 10'u (%100) arjinin pozitif, 10'u (%100) tirozin pozitif, 10'u (%100) histidin pozitif bulunmuştur (Çizelge 4.51).

Gıdalardan izole edilen 6 *B. licheniformis* izolatının 6'sı (%100) lizin pozitif, 6'sı (%100) ornitin pozitif, 6'sı (%100) arjinin pozitif, 6'sı (%100) tirozin pozitif, 6'sı (%100) histidin pozitif bulunmuştur (Çizelge 4.51).

Gıdalardan izole edilen 2 *B. circulans* izolatının 2'si (%100 lizin pozitif, 2'si (%100 ornitin pozitif, 2'si (%100) arjinin pozitif, 2'si (%100) tirozin pozitif, 2'si (%100) histidin pozitif olarak bulunmuştur (Çizelge 4.51).

Gıdalardan izole edilen 1 *B. brevis* izolatının hepsi (%100) lizin, ornitin, arjinin, tirozin ve histidin testlerinde pozitif sonuç vermiştir (Çizelge 4.51).

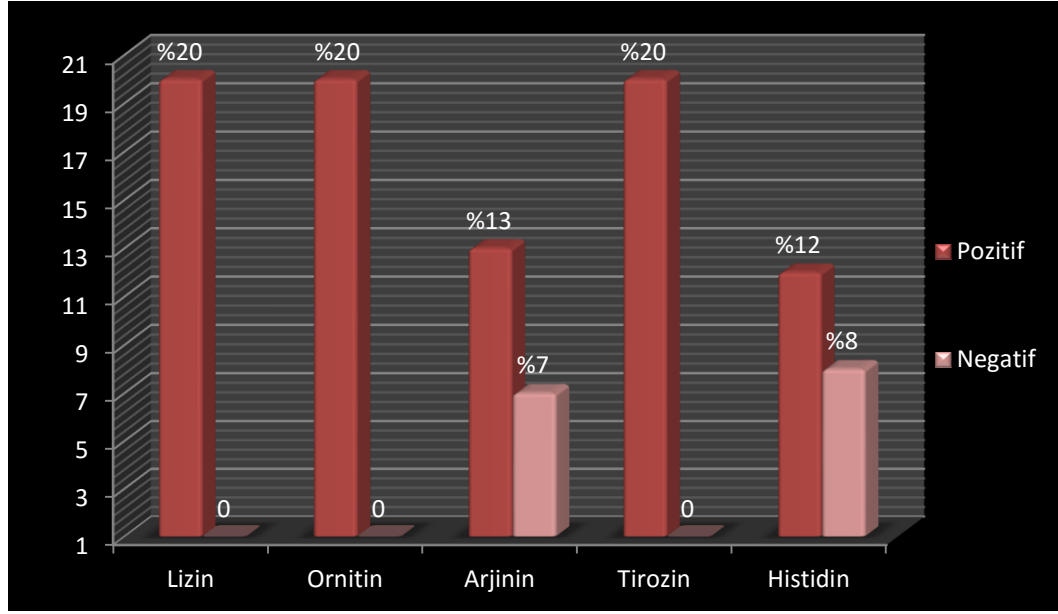
4.7.2. *E. coli*'nin amino asit dekarboksilaz testi sonuçları

İzole edilen 20 *E. coli* izolatının lizin, ornitin, arjinin, tirozin ve histidin aminoasitlerini içeren modifiye besiyerinde dekarboksilaz enzim aktiviteleri test edilmiştir.

Çizelge 4.52. Gıdalardan izole edilen *E. coli* izolatlarının aminoasit dekarboksilaz aktivite sonuçları

Amino asitler	+	(%)	-	(%)
Lizin	20	(100)	-	
Ornitin	20	(100)	-	
Arjinin	13	(65)	7	(35)
Tirozin	20	(100)	-	
Histidin	12	(60)	8	(40)

(+): pozitif sonuç, (-): negatif sonuç



Şekil 4.3. *E. coli* izolatlarının aminoasit dekarboksilaz aktivitesi dağılımı

Gıdalardan izole edilen 20 *E. coli* izolatının lizin dekarboksilaz aktivitesi; 20'si (%100) pozitif, ornitin dekarboksilaz aktivitesi; 20'si (%100) pozitif, arjinin dekarboksilaz aktivitesi; 13'ü (%65) pozitif, 7'si (%35) negatif, tirozin dekarboksilaz aktivitesi; 20'si (%100) pozitif, histidin dekarboksilaz aktivitesi; 12'si (%60) pozitif, 8'i (%40) negatif olarak tanımlanmıştır (Çizelge 4.52, Şekil 4.3).

Çizelge 4.53. Çiğ süt örneklerinden izole edilen *E. coli* izolatlarının amino asit dekarboksilaz testi sonuçları

No	İzolat no.	Lizin	Ornitin	Arjinin	Tirozin	Histidin
1	S25E-1	+	+	+	+	+
2	S23E-1	+	+	+	+	-
3	S11E-2	+	+	+	+	-
4	S32E-1	+	+	-	+	+
5	S19E-1	+	+	-	+	+
6	S26E-1	+	+	-	+	+
7	S31E-1	+	+	+	+	+
8	S13E-1	+	+	+	+	-
9	S20E-2	+	+	+	+	-
10	S32E-2	+	+	+	+	+
11	S3E-1	+	+	+	+	-
12	S30E-2	+	+	-	+	+
13	S7E-1	+	+	-	+	+
14	S39E-1	+	+	+	+	+
15	S37E-1	+	+	-	+	+
16	S14E-1	+	+	+	+	+
17	S12E-1	+	+	-	+	+

(+): pozitif sonuç, (-): negatif sonuç

Çiğ süt örneklerinden izole edilen *E. coli* izolatlarının amino asit dekarboksilaz testi sonuçlarına göre 17 izolatın 17'si (%100) lizin pozitif, 17'si (%100) ornitin pozitif, 10'u (%58,8) arjinin pozitif; 7'si (%41,2) arjinin negatif, 17'si (%100) tirozin pozitif, 11'i (%64,7) histidin pozitif, 6'sı (%37,5) histidin negatif sonuç vermiştir (Çizelge 4.53).

Çizelge 4.54. Peynir örneklerinden izole edilen *E. coli* izolatlarının aminoasit dekarboksilaz testi sonuçları

No	Izolat no.	Lizin	Ornitin	Arjinin	Tirozin	Histidin
1	P28E-2	+	+	+	+	-
2	P17E-1	+	+	+	+	-
3	P5E-1	+	+	+	+	+

(+): pozitif sonuç, (-): negatif sonuç

Peynir örneklerinden izole edilen *E. coli* izolatlarının aminoasit dekarboksilaz testi sonuçlarına göre 3 izolatın 3'ü (%100) lizin pozitif, 3'ü (%100) ornitin pozitif, 3'ü (%100) arjinin pozitif, 3'ü (%100) tirozin pozitif, 1'i (%33,3) histidin pozitif; 2'si (%66,7) histidin negatif sonuç vermiştir (Çizelge 4.54).

4.8. Antibiyotik Duyarlılık Testi Sonuçları

4.8.1. *Bacillus* türlerinde antibiyotik duyarlılık testi sonuçları

Çizelge 4.55. Gıdalardan elde edilen *Bacillus* izolatlarının antibiyotik dirençlilikleri

ANTİBİYOTİKLER	Toplam <i>Bacillus</i> spp. n (%)					
	S		I		R	
	n	%	n	%	n	%
P	12	17,9	10	14,9	45	67,2
AMP	5	7,5	14	20,9	48	71,6
E	19	28,4	13	19,4	35	52,2
AK	52	77,6	10	14,9	5	7,5
C	53	79,1	9	13,4	5	7,5
VA	44	65,7	15	22,4	8	11,9
TE	43	64,2	13	19,4	11	16,4
B	5	7,5	15	22,4	47	70,1
NV	7	10,4	7	10,4	53	79,2

P; penisilin, AMP; ampisilin, E; eritromisin, AK; amikasin, C; kloramfenikol, VA; vankomisin, TE; tetrasiklin, B; basitrasin, NV; novobiyosin, S: hassas, R: dirençli, I: orta düzey dirençli, n= izolat sayısı

Gıdalardan elde edilen 67 *Bacillus* izolatının 45'i (%67,2) penisilin, 48'i (%71,6) ampisilin, 35'i (%52,2) eritromisin, 5'i (%7,5) amikasin, 5'i (%7,5) kloramfenikol, 8'i (%11,9) vankomisin, 11'i (%16,4) tetrasiklin, 47'si (%70,1) basitrasin, 53'ü (%79,2) novobiosin antibiyotiğine karşı dirençli bulunmuştur (Çizelge 4.55).

n=İzolat sayısı, R: Dirençli, S: Hassas, I: Orta dirençli

n=İzolat sayısı, R: Dirençli, S: Hassas, I: Orta dirençli

Çiğ süt örneklerinden izole edilen 30 *Bacillus* izolatının 19'u (%63,3) penisilin, 22'si (%73,3) ampisilin, 17'si (%56,7) eritromisin, 3'ü (%10) amikasin, 3'ü (%10) kloramfenikol, 5'i (%16,7) vankomisin, 6'sı (%20) tetrasiklin, 21'i (%70) basitrasin, 26'sı (%86,6) novobiosin antibiyotiğine karşı dirençli bulunmuştur (Çizelge 4.56).

Çiğ süt örneklerinden izole edilen 15 *B. subtilis* izolatının 11'i (%73,3) penisilin, 12'si (%80) ampisilin, 14'ü (%93,3) eritromisin, 1'i (%6,7) kloramfenikol, 3'ü (%20) vankomisin, 2'si (%13,3) tetrasiklin, 13'ü (%86,6) basitrasin, 13'ü (%86,6) novobiosin antibiyotiğine dirençli bulunurken hiçbir amikasin antibiyotiğine direnç göstermemiştir (Çizelge 4.56).

Çiğ süt örneklerinden izole edilen 4 *B. cereus* izolatının 4'ü (%100) penisilin, 4'ü (%100) ampisilin, 2'si (%50) eritromisin, 3'ü (%75) amikasin, 2'si (%50) vankomisin, 1'i (%25) tetrasiklin, 4'ü (%100) basitrasin, 4'ü (%100) novobiosin antibiyotiğine karşı dirençli bulunmuştur. İzolatların hiçbir kloramfenikol antibiyotiğine direnç göstermemiştir (Çizelge 4.56).

Çiğ süt örneklerinden izole edilen 6 *B. megaterium* izolatının 1'i (%16,7) penisilin, 1'i (%16,7) ampisilin, 1'i (%16,7) eritromisin, 2'si (%33,3) kloramfenikol, 3'ü (%50) tetrasiklin, 1'i (%16,7) basitrasin, 6'sı (%100) novobiosin antibiyotiğine karşı dirençli bulunurken izolatların hiçbir amikasin ve vankomisin antibiyotiğine direnç göstermemiştir (Çizelge 4.56).

Çiğ süt örneklerinden izole edilen 4 *B. licheniformis* izolatının 3'ü (%75) penisilin, 4'ü (%100) ampisilin, 3'ü (%75) basitrasin, 3'ü (%75) novobiosin antibiyotiğine karşı dirençli bulunurken izolatların hiçbir eritromisin, amikasin, kloramfenikol, vankomisin ve tetrasiklin antibiyotiğine direnç göstermemiştir (Çizelge 4.56).

Çiğ süt örneklerinden izole edilen 1 (%100) *B. circulans* izolatı sadece ampisilin antibiyotiğine dirençli bulunmuştur (Çizelge 4.56).

Çizelge 4.54. Peynir örneklerinden izole edilen *Bacillus* türlerinin antibiyotik duyarlılık testi sonuçları

<i>Bacillus</i> türleri	Anibiyotikler n (%)											
	Penisilin (P)			Ampisilin (AMP)			Ertapenem (E)			Amikasin (AK)		
	R	I	S	R	I	S	R	I	S	R	I	S
<i>B. subtilis</i> (n=19)	13 (68,4)	3 (15,8)	3 (15,8)	11(57,9)	7 (36,8)	1 (5,3)	8 (42,1)	7 (36,8)	4 (21,1)	1 (5,3)	4(21)	14 (73,7)
<i>B. cereus</i> (n=6)	5 (83,3)	-	1 (16,7)	4 (66,6)	1 (16,7)	1 (16,7)	4 (66,6)	1 (16,7)	1 (16,7)	1 (16,7)	-	5 (83,3)
<i>B. megaterium</i> (n=4)	3 (75)	-	1(25)	3 (75)	-	1 (25)	2(50)	-	2 (50)	-	-	4 (100)
<i>B. licheniformis</i> (n=1)	1 (100)	-	-	1 (100)	-	-	-	-	1 (100)	-	-	1 (100)
<i>B. circulans</i> (n=1)	1(100)	-	-	1 (100)	-	-	1 (100)	-	-	-	-	1 (100)
Toplam (n=31)	23 (74,2)	3(9,7)	5 (16,1)	20 (64,5)	8 (25,8)	3 (9,7)	15 (48,4)	8(25,8)	8(25,8)	2 (6,5)	4 (12,9)	25 (80,6)

n=İzolot sayısı, R: Dirençli, S: Hassas, I: Orta dirençli

<i>Bacillus</i> türleri	Anibiyotikler n (%)														
	Kloramfenikol (C)			Vankomisin (VA)			Tetrasiklin (TE)			Basitrasin (B)			Novobiyosin (NV)		
	R	I	S	R	I	S	R	I	S	R	I	S	R	I	S
<i>B. subtilis</i> (n=19)	-	6 (31,6)	13 (68,4)	-	5 (26,3)	14 (73,7)	1 (5,3)	7 (36,8)	11 (57,9)	15 (78,9)	4(21,1)	-	14 (73,3)	4 (21)	1 (5,3)
<i>B. cereus</i> (n=6)	1 (16,7)	-	5 (83,3)	1 (16,7)	2 (33,3)	3 (50)	1 (16,7)	1 (16,7)	4 (66,6)	5 (83,3)	-	1(16,7)	4(66,6)	1 (16,7)	1 (16,7)
<i>B. megaterium</i> (n=4)	-	1 (25)	3 (75)	1 (25)	2(50)	1(25)	1 (25)	2 (50)	1(25)	1 (25)	2(50)	1 (25)	3 (75)	-	1 (25)
<i>B. licheniformis</i> (n=1)	-	-	1 (100)	-	-	1(100)	-	-	1 (100)	1 (100)	-	-	1 (100)	-	-
<i>B. circulans</i> (n=1)	-	-	1 (100)	1 (100)	-	-	1 (100)	-	-	1 (100)	-	-	1 (100)	-	-
Toplam (n=31)	1 (3,2)	7 (22,6)	23(74,2)	3 (9,7)	9 (29)	19 (61,3)	4 (12,9)	10 (32,2)	17 (54,8)	23 (74,2)	6 (19,4)	2 (6,4)	23 (74,2)	5 (16,1)	3 (9,7)

n=İzolot sayısı, R:Dirençli, S: Hassas, I: Orta dirençli

Peynir örneklerinden izole edilen 31 *Bacillus* izolatının 23'ü (%74,2) penisilin, 20'si (%64,5) ampisilin, 15'i (%48,8) eritromisin, 2'si (%6,5) amikasin, 1'i (%3,2) kloramfenikol, 3'ü (%9,7) vankomisin, 4'ü (%12,9) tetrasiklin, 23'ü (%74,2) basitrasin, 23'ü (%74,2) novobiosin antibiyotiğine karşı dirençli bulunmuştur (Çizelge 4.57).

Peynir örneklerinden izole edilen 19 *B. subtilis* izolatının 13'ü (%68,4) penisilin, 11'i (57,9) ampisilin, 8'i (%42,1) eritromisin, 1'i (%5,3) amikasin, 1'i (%5,3) tetrasiklin, 15'i (%78,9) basitrasin, 14'ü (%73,7) novobiosin antibiyotiğine karşı dirençli bulunurken izolatların hiçbirisi kloramfenikol ve vankomisin antibiyotiğine karşı direnç göstermemiştir (Çizelge 4.57).

Peynir örneklerinden elde edilen 6 *B. cereus* izolatının 5'i (%83,3) penisilin, 4'ü (%66,6) ampisilin, 4'ü (%66,6) eritromisin, 1'i (%16,7) amikasin, 1'i (%16,7) kloramfenikol, 1'i (%16,7) vankomisin, 1'i (%16,7) tetrasiklin, 5'i (%83,3) basitrasin, 4'ü (%66,6) novobiosin antibiyotiğine karşı dirençli bulunmuştur (Çizelge 4.57).

Peynir örneklerinden izole edilen 4 *B. megaterium* izolatının 3'ü (%75) penisilin, 3'ü (%75) ampisilin, 2'si (%50) eritromisin, 1'i (%25) vankomisin, 1'i (%25) tetrasiklin, 1'i (%25) basitrasin, 3'ü (%75) novobiosin antibiyotiğine karşı dirençli bulunurken izolatların hiçbirisi amikasin ve kloramfenikol antibiyotiğine direnç göstermemiştir (Çizelge 4.57).

Peynir örneklerinden izole edilen 1 *B. licheniformis* izolatının 1'i (%100) penisilin, 1'i (%100) ampisilin, 1'i (%100) basitrasin, 1'i (%100) novobiosin antibiyotiğine karşı dirençli bulunurken izolatların hiçbirisi eritromisin, amikasin, kloramfenikol, vankomisin ve tetrasiklin antibiyotiğine karşı direnç göstermemiştir (Çizelge 4.57).

Peynir örneklerinden izole edilen 1 *B. circulans* izolatının 1'i (%100) penisilin, 1'i (%100) ampisilin, 1'i (%100) eritromisin, 1'i (%100) vankomisin, 1'i (%100) tetrasiklin, 1'i (%100) basitrasin, 1'i (%100) novobiosin antibiyotiğine karşı dirençli bulunurken amikasin ve kloramfenikol antibiyotiğine karşı direnç göstermemiştir (Çizelge 4.57).

Çizelge 4.55. Dondurma örneklerinden izole edilen *Bacillus* türlerinin antibiyotik duyarlılık testi sonuçları

Bacillus türleri	Anibiyotikler n (%)														
	Penisilin (P)			Mpisilin (AMP)			Ertapenem (E)			Amikasin (AK)					
	R	I	S	R	I	S	R	I	S	R	I	S			
B. subtilis (n=2)	1 (50)	1 (50)	-	2 (100)	-	-	2 (100)	-	-	-	-	1 (50)	1 (50)		
B. cereus (n=2)	-	1 (50)	1 (50)	2 (100)	-	-	-	1 (50)	1 (50)	-	-	-	2 (100)		
B. licheniformis (n=1)	1 (100)	-	-	1 (100)	-	-	-	1 (100)	-	-	-	-	1 (100)		
B. brevis (n=1)	1 (100)	-	-	1 (100)	-	-	1 (100)	-	-	-	-	1 (100)	-		
Toplam (n=6)	3 (50)	2 (33,3)	1 (16,7)	6 (100)	-	-	3 (50)	2 (33,3)	1 (16,7)	-	-	2 (33,3)	4 (66,7)		
n=İzolat sayısı, R: Dirençli, S: Hassas, I: Orta drençli															
Bacillus türleri	Anibiyotikler n (%)														
	Kloramfenikol (C)			Vankomisin (VA)			Tetrasiklin (TE)			Basitrasin (B)			Novobiyosin (NV)		
	R	I	S	R	I	S	R	I	S	R	I	S	R	I	S
B. subtilis (n=2)	-	-	2 (100)	-	-	2 (100)	-	-	2 (100)	1 (50)	1 (50)	-	2 (100)	-	-
B. cereus (n=2)	-	-	2 (100)	-	-	2 (100)	-	-	2 (100)	1 (50)	-	1 (50)	-	-	2 (100)
B. licheniformis (n=1)	-	-	1 (100)	-	-	1 (100)	-	-	1 (100)	1 (100)	-	-	1 (100)	-	-
B. brevis (n=1)	1 (100)	-	-	-	-	1 (100)	1 (100)	-	-	-	1 (100)	-	1 (100)	-	-
Toplam (n=6)	1 (16,7)	-	5 (83,3)	-	-	6 (100)	1 (16,7)	-	5 (83,3)	3 (50)	2 (33,3)	1 (16,7)	4 (66,7)	-	2 (33,3)
n=İzolot sayısı, R: Dirençli, S: Hassas, I: Orta drençli															

Dondurma örneklerinden izole edilen 6 *Bacillus* izolatının 3'ü (%50) penisilin, 6'sı (%100) ampisilin, 3'ü (%50) eritromisin, 1'i (%16,7) kloramfenikol, 1'i (%16,7) tetrasiklin, 3'ü (%50) basitrasin, 4'ü (%66,7) novobiyosin antibiyotiğine dirençli bulunmuştur. İzolatların hiçbirisi amikasin ve vankomisin antibiyotiklerine karşı dirençli bulunmamıştır (Çizelge 4.58).

Dondurma örneklerinden izole edilen 2 *B. subtilis* izolatının 1'i (%50) penisilin, 2'si (%100) ampisilin, 2'si (%100) eritromisin, 1'i (%50) basitrasin, 2'si (%100) novobiosin antibiyotiğine karşı dirençli bulunurken izolatların hiçbirisi amikasin, kloramfenikol, vankomisin ve tetrasiklin antibiyotiğine direnç göstermemiştir (Çizelge 4.58).

Dondurma örneklerinden izole edilen 2 *B. cereus* izolatının 2'si (%100) ampisilin, 1'i (%50) basitrasin antibiyotiğine karşı dirençli bulunmuştur. İzolatların hiçbirisi penisilin, eritromisin, amikasin, kloramfenikol, vankomisin, tetrasiklin ve novobiosin antibiyotiğine karşı direnç göstermemiştir (Çizelge 4.58).

Dondurma örneklerinden izole edilen 1 *B. licheniformis* izolatının 1'i (%100) penisilin, 1'i (%100) ampisilin, 1'i (%100) basitrasin, 1'i (%100) novobiosin antibiyotiğine karşı dirençli bulunurken eritromisin, amikasin, kloramfenikol, vankomisin ve tetrasiklin antibiyotiğine karşı direnç göstermemiştir (Çizelge 4.58).

Dondurma örneklerinden izole edilen 1 *B. brevis* izolatının 1'i (%100) penisilin, 1'i (%100) ampisilin, 1'i (%100) eritromisin, 1'i (%100) kloramfenikol, 1'i (%100) tetrasiklin, 1'i (%100) novobiosin antibiyotiğine dirençli bulunurken amikasin, vankomisin ve basitrasin antibiyotiğine karşı direnç göstermemiştir (Çizelge 4.58).

4.8.2. *E. coli* izolatlarında antibiyotik duyarlılık tesiti sonuçları

Çizelge 4.56. Gıda örneklerinden izole edilen *E. coli* izolatlarının antibiyotik dirençlilikleri

Antibiyotik	<i>E. coli</i> (n=20)
Amoksisilin-klavulanik asit (AMC)	6 (%30)
Sefotaksim (CTX)	5 (%25)
Seftriakson (CRO)	3 (%15)
Aztreonam (ATM)	8 (%40)
Seftazidim (CAZ)	9 (%45)
İmipenem (IPM)	-
Siprofloksasin (CIP)	6 (%30)
Kloramfenikol (C)	10 (%50)
Tetrasiklin (TE)	8 (%40)
Ertapenem (ETP)	3 (%15)
Amikasin (AK)	6 (%30)
Ampisilin (AMP)	20 (%100)
Gentamisin (CN)	11 (%55)

n=İzolot sayısı

Gıda örneklerinden izole edilen toplam 20 *E. coli* izolatının 6'sı (%30) amoksisilin-klavulanik asit, 5'i (%25) sefotaksim, 3'ü (%15) seftriakson, 8'i (%40) aztreonam, 9'u (%45) seftazidim, 6'sı (%30) siprofloksasin, 10'u (%50) kloramfenikol, 8'i (%40) tetrasiklin, 3'ü (%15) ertapenem, 6'sı (%30) amikasin, 20'si (%100) ampisilin, 11'i (%55) gentamisine karşı dirençli bulunmuştur. *E. coli* izolatlarında imipeneme karşı direnç tespit edilmemiştir (Çizelge 4.59).

Çizelge 4.57. Çiğ süt örneklerinden izole edilen *E. coli* izolatlarının antibiyotik dirençlilikleri

Antibiyotik	<i>E. coli</i> (n=17)			
	R		S	
	n	%	n	%
Amoksisilin-klavulanik asit (AMC)	4	23,5	13	76,5
Sefotaksim (CTX)	2	11,8	15	88,2
Seftriakson (CRO)	3	17,6	14	82,4
Aztreonam (ATM)	8	47,1	9	52,9
Seftazidim (CAZ)	9	52,9	8	47,1
İmipenem (IPM)	0	0	17	100
Siprofloksasin (CIP)	4	23,5	13	76,5
Kloramfenikol (C)	9	52,9	8	47,1
Tetrasiklin (TE)	7	41,2	10	58,8
Ertapenem (ETP)	1	5,8	16	94,2
Amikasin (AK)	4	23,5	13	76,5
Ampisilin (AMP)	17	100	0	0
Gentamisin (CN)	9	52,9	8	47,1

n=izolat sayısı, S: hassas, R: dirençli

Çiğ süt örneklerinden izole edilen 17 *E. coli* izolatının 4'ü (%23,5) amoksisilin-klavulanik asit, 2'si (%11,8) sefotaksim, 3'ü (%17,6) seftriakson, 8'i (%47,1) aztreonam, 9'u (%52,9)

seftazidim, 4'ü (%23,5) siprofloksasin, 9'u (%52,9) kloramfenikol, 7'si (%41,2) tetrasiklin, 1'i (%5,8) ertapenem, 4'ü (23,5) amikasin, 17'si (%100) ampisilin ve 9'u (%52,9) gentamisin antibiyotiğine karşı dirençli bulunmuştur. İmipeneme karşı dirençli *E. coli* izolatı tespit edilememiştir (Çizelge 4.60).

Çizelge 4.58. Peynir örneklerinden izole edilen *E. coli* izolatlarının antibiyotik dirençlilikleri

Antibiyotik	<i>E. coli</i> (n=13)			
	R		S	
	n	%	n	%
Amoksisilin- klavulanik asit (AMC)	2	66,7	1	33,3
Sefotaksim (CTX)	3	100	0	0
Seftriakson (CRO)	0	0	3	100
Aztreonam (ATM)	0	0	3	100
Seftazidim (CAZ)	0	0	3	100
İmipenem (IPM)	0	0	3	100
Siprofloksasin (CIP)	2	66,7	1	33,3
Kloramfenikol (C)	1	33,3	2	66,7
Tetrasiklin (TE)	1	33,3	2	66,7
Ertapenem (ETP)	2	66,7	1	33,3
Amikasin (AK)	2	66,7	1	33,3
Ampisilin (AMP)	3	100	0	0
Gentamisin (CN)	2	66,7	1	33,3

n=İzolat sayısı, S: hassas, R: dirençli

Peynir örneklerinden izole edilen 3 *E. coli* izolatının 2'si (%66,7) amoksisilin-klavulanik asit, 3'ü (%100) sefotaksim, 2'si (%66,7) siprofloksasin, 1'i (%33,3) kloramfenikol, 1'i (%33,3) tetrasiklin, 2'si (%66,7) ertapenem, 2'si (%66,7) amikasin, 3'ü (%100) ampisilin, 2'si (%66,7) gentamisin antibiyotiğine karşı dirençli bulunmuştur. Seftriakson, aztreonam, seftazidim, imipenem antibiyotiklerine dirençli *E. coli* izolatı tespit edilmemiştir (Çizelge 4.61).

4.9. *E. coli* İzolatlarının Geniş Spektrumlu Beta Laktamaz (GSBL) Aktivitesi Testi Sonuçları

Çizelge 4.59. Gıda örneklerinden izole edilen GSBL (+) ve GSBL (-) *E. coli* izolatlarının dağılımı

Gıda	Örnek Sayısı	İzolat Sayısı	GSBL (+)		GSBL (-)	
			n	%	n	%
Süt	40	17	14	82,4	3	17,6
Peynir	40	3	2	66,7	1	33,3
Dondurma	20	0	0	0	0	0
Toplam	100	20	16	80	4	20

n= izolat sayısı

Gıda örneklerinden izole edilen *E. coli* izolatlarının geniş spektrumlu beta laktamaz (GSBL) aktivitelerine bakılmıştır. Gıdalardan izole edilen 20 *E. coli* izolatının 16'sı (%80) GSBL (+), 4'ü (%20) GSBL (-)'dir (Çizelge 4.62).

Çiğ süt örneklerinden izole edilen 17 *E. coli* izolatının 14'ü (%82,4) GSBL (+), 3'ü (%17,6) GSBL (-); peynir örneklerinden izole edilen 3 *E. coli* izolatının 2'si (%66,7) GSBL (+), 1'i (%33,3) GSBL (-) olarak bulunmuştur (Çizelge 4.62).

5. TARTIŞMA

Sütün kalitesi, bileşimi ve hijyenik özellikleri ile değerlendirilir. Çiğ süt birçok mikroorganizmanın üremesi ve çoğalması için uygun bir ortamdır. Sütlerin üretildiği çiftliklerde, tesislerde alet ve ekipmanlarda bulunabilen mikroorganizmalar çiğ süte bulaşabilirler.

Bacillus cinsi bakteriler, doğada çok yaygın olarak bulunan Gram (+), çubuk şeklinde ve endospor oluşturan bakterilerdir. *Bacillus*'lar ısıya dirençli endosporları sayesinde pastörizasyona, radyasyona, kuruluğa ve dezenfektanlara karşı direnç gösterirken, soğuğa toleransları sayesinde buzdolabı sıcaklığında üreyebilirler. Doğada çok yaygın olan bu bakteriler sütlere topraktan, sudan, havadan, yemlerden, sütü sağılan hayvanların dışkılarından ve süt sağım kaplarından bulaşabilirler.

Araştırmamızda toplam 100 adet süt, peynir ve dondurma örneklerinden 67 *Bacillus* izolatu elde edilmiştir. 67 *Bacillus* izolatının 36'sı (%53,7) *B. subtilis*, 12'si (%17,9) *B. cereus*, 10'u (%14,9) *B. megaterium*, 6'sı (%9) *B. licheniformis*, 2'si (%3) *B. circulans*, 1'i (%1,5) *B. brevis* olarak tanımlanmıştır.

Rangasamy ve arkadaşları (1993), yaptıkları bir çalışmada 24 çiğ süt örneğinden 9 *B.cereus* izole etmişlerdir. Bizim çalışmamızda ise 67 çiğ süt örneğinden 12 *B.cereus* türü izole edilmiştir [126].

Araştırmamızda en fazla *B. subtilis* türü izole edilmiştir. Ancak Maraş (1997), 11 çiğ süt örneği ile yaptığı çalışmada 1 *B. subtilis* izole etmiştir [127].

Warke ve arkadaşları (2000), toplam 30 adet açık ve paketlenmiş dondurmanın mikrobiyolojik kalitesini inceledikleri araştırmalarında, *B. cereus*, *L. monocytogenes* ve *Y. enterocolitica* gibi patojen mikroorganizmaların bulunma oranının açık olarak pazarlananlarda belirgin bir şekilde daha yüksek olduğunu saptamışlardır [128].

Önganer ve arkadaşları (2009), Diyarbakır'da ambalajsız olarak satışa sunulan çökelek peynirlerin mikrobiyolojik yönden kalitesini belirlemek amacıyla 30 adet çökelek peynir

incelemişlerdir. Örneklerin %80'inden *Bacillus* spp. ve %23,3'ünden *E.coli* izole etmişlerdir [129].

Özçelik ve arkadaşları (2009), Ankara ilinde satışa sunulan çeşitli pastanelerden toplanan 34 adet dondurma örneğinden toplam 34 *B. cereus* izole etmişlerdir [130].

Çıtak ve arkadaşları (2010), yaptıkları bir çalışmada 100 adet beyaz peynir ve dondurma örneği çalışmışlardır. 50 adet beyaz peynir örneğinin %20'sinden ve 50 adet dondurma örneğinin %48'inden *B. cereus* izole etmişlerdir. Bu çalışma sonuçları bizim çalışmamızla uygunluk göstermektedir [131].

Gündüz (2012), 50 çiğ süt örneğinden 109 *Bacillus* izole etmiştir. Bu 109 *Bacillus*'un 22'si (%20,2) *B.subtilis*, 20'si (%18,4) *B.brevis*, 14'ü (%12,8) *B.macerans*, 11'i (%10,1) *B.licheniformis*, 6'sı (%5,5) *B.coagulans*, 5'i (%4,6) *B.polymyxa*, 4'ü (%3,7) *B.stearothermophilus*, 2'si (%1,8) *B.cereus*, 1'i, (%0,9) *B.pumilus*, 1'i (%0,9) *B.megaterium*, 1'i (%0,9) *B.lentus*'dur. Ayrıca manuel olarak adlandıramadıkları 22 (%20,2) *Bacillus* spp. tespit edilmiştir. *B. subtilis*'in daha fazla sıklıkla izole edilmesi bizim çalışmamızı da desteklemektedir [11].

Gündoğan ve arkadaşları (2014), 150 adet beyaz peynir, dondurma ve çiğ sütle yaptıkları bir çalışmada, çiğ süt örneklerinin %90'ında *B. cereus*, %74'ünde *E. coli* izole etmişlerdir. Dondurma örneklerinin %56'sından *E. coli*, %20'sinden *B. cereus* tespit etmişlerdir. Beyaz peynir örneklerinin ise %70'inden *B. cereus*, %60'ından *E. coli* izole etmişlerdir [132].

Araştırmacılar ile bizim çalışma sonuçlarımız arasındaki farklılığın nedeninin çiğ süt, peynir ve dondurma örneklerinin alındığı kaynakların farklılığından, peynir ve dondurma üretim tekniklerinin farklı oluşundan, bu süt ürünlerinin yapımında kullanılan sütlerin çiğ veya pastörize olup olmamasından ve saklanma koşullarının farklılığından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Araştırmamızda çiğ sütlerden *Bacillus* türlerinin izolasyonu sütün sağımında ve daha sonraki aşamalarda uygun olmayan hijyenik koşulları göstermektedir. *Bacillus* sporları süt tesislerinde kullanılan her türlü alet ve ekipman yüzeyine kolaylıkla tutunabilmektedir. Spor oluşturma özelliği *Bacillus* türlerinin pastörize süt ve süt ürünlerinde üremesini sağlar.

Araştırmamızda çiğ süt, peynir ve dondurmada *B. cereus*'un izole edilmiş olması ayrıca önem taşımaktadır. Çünkü bu bakteri ile kontamine gıdaların tüketimi sonucu gıda zehirlenmesi vakaları bildirilmiştir [133]. Ayrıca peynir ve dondurma tüketime hazır gıdalar olduğu için sonrasında herhangi bir işlem yapılmaz. Her ne kadar *B. cereus*'un toksin oluşturabilmesi için bir gıdada 1×10^4 adet/g-ml olması gerektiği belirtilse de uygun olmayan saklama koşullarında *B. cereus*'un hızla üreyerek belirtilen sınırları aşabileceği göz ardı edilmemelidir. Bu nedenle gıda türüne göre gıdaların oda sıcaklığında veya buzdolabı sıcaklığında saklanacağını bilmesi önem taşımaktadır.

E. coli'nin gıdalarda bulunması sadece fekal kontaminasyonunun göstergesi değil aynı zamanda o gıdanın üretildiği ve işlendiği işletmelerdeki kötü hijyen koşullarının göstergesidir. Araştırmamızda süt, peynir ve dondurma örneklerinden 20 *E. coli* izolatu elde edilmiştir.

Kalkan ve arkadaşları (1991), marketlerde satılan 50 adet beyaz peynir numunesinin % 64'ünde 1.3×10^5 kob/g koliform bakteri ve % 22'sinde 2.5×10^3 kob/g *E. coli* bulunduğunu belirlemiştir [134].

Ergün ve arkadaşları (1992), dondurmaların açık olarak satıldığı yerlerde kepçelerin içine konulduğu su örneklerini analiz etmişler, yüksek sayıda toplam mikroorganizma ve koliform içerdiğini ve %30'unda *E. coli* bulunduğunu saptamışlardır [135].

Vatan (1996), Bursa ilinde satılan kaşar peynirlerindeki koliform bakteri sayısını 272 adet/g düzeyinde saptamıştır [136].

Gönül (1997), 20 adet beyaz peynir ve teneke tulum örneğinin 14'ünde koliform, fekal koliform ve *E. coli* sayılarının 2.4×10^3 kob/gr'ın üzerinde saptamıştır [137].

Wilson ve arkadaşları (1997) ise dondurmaların tüketim noktalarındaki kontaminasyon durumunu incelemişlerdir. Yeni üretilmiş ve henüz kullanılmamış blok dondurmalarda toplam bakteri sayısının 103-104 kob/ml arasında değiştiğini; külahlanarak tüketime verilme sırasında bu sayının artarak 106 kob/ml'ye kadar ulaştığını bildirmişlerdir. Aynı şekilde, açılmamış dondurmalarındaki *E. coli* izolasyon oranının (%10) kullanım sırasında %18'e kadar yükseldiğini saptamışlardır. Araştırmacılar, bu kontaminasyonun dondurmanın

külâhlanmasında kullanılan ve su içinde bekletilen kepçelerden ileri geldiği sonucuna varmışlardır [138].

Dülger ve arkadaşları (1999), Bursa'da satışa sunulan 20 adet beyaz peynir örneğinden izole edilen ve teşhisi yapılan 264 izolattan 72'sinin (% 27.28) *E. coli* Tip I, 34'ünün (% 12.88) *E. coli* Tip II olduğunu teşhis etmişlerdir [26].

Dığrak ve arkadaşları (2000), Kahramanmaraş'ta tüketime sunulan 86 dondurma örneğinden 19 adet *E. coli* izole etmişlerdir [139].

Çıtak ve arkadaşları (2000), Ankara'da değişik marketlerden toplanan 54 adet kutu ve pastörize süt örneklerini mikrobiyolojik kalite yönünden incelemişlerdir. Elde edilen toplam canlı bakterinin %37'sinde, koliform bakterilerin %24'ünde, *E.coli* 'lerin %7,4'ünde, psikrotrofik mikroorganizmaların %31,4'ünde tespit edilen koloni sayımı 102-103 adet/ml bulunmuştur. Sonuçlar üretim sırasındaki hijyen koşullarının kötü olduğunu göstermektedir. Bu durum halk sağlığını tehdit etmektedir [140].

Yücel ve arkadaşları (2000), Ankara'da tüketime sunulan dondurmaların mikrobiyolojik yönden kalitesini incelemişlerdir. 30 adet dondurma örneğinde *E. coli* 2.0×10^1 - 3.0×10^3 adet/ml olarak bulunmuştur. Bu sonuç tüketime sunulan dondurmaların tam olarak önerilen mikrobiyolojik standartlara uymadığını göstermiştir [141].

Doğan ve arkadaşları (2001), çalıştıkları toplam 1067 gıda örneğinde (süt, yoğurt, peynir, tereyağ, dondurma, şarküteri) fekal koliform bakteri varlığını tespit etmişlerdir [142].

Altun ve arkadaşları (2002), Ankara'da satışa sunulan sütlerin mikrobiyolojik araştırmasına yönelik yaptıkları çalışmada, toplanan 150 adet sokak sütü örneğinin %76'sında *E. coli* izole etmişlerdir [23].

Saltan ve arkadaşları (2003), 13 adet tuzsuz peynirde 9.4×10^6 kob/g ve bir gece salamurada bekletilmiş 14 peynirde ise 1.7×10^7 kob/g koliform bakteri sayısı tespit etmişlerdir [143].

Tekinşen (2004), Hakkari ve çevresinde satışa sunulan otlu peynirlerin mikrobiyolojik ve kimyasal kalitesini belirlemek amacıyla yaptığı bir çalışmada 40 adet peynirle yaptığı çalışmada örneklerin %27,5'inde *E. coli* varlığı tespit etmiş, bu durum Türk Gıda Kodeksi'nin belirttiği değerin üzerinde olduğunu göstermiştir [144].

Keskin ve arkadaşları (2006), İstanbul Üsküdar Belediyesi'ne bağlı 20 semt pazarındaki 50 beyaz peynir satıcısından alınan örneklerin %86'sında *E. coli* izole edilmiştir. Bu durum koliform bakterilerin varlığı hususunda kurallara uyulmadığının ciddi bir göstergesidir [145].

Akkaya ve arkadaşları (2007), Afyonkarahisar'da il merkezinde bulunan çeşitli bakkal ve marketlerden alınan 100 adet çiğ süt örneğinin 3'ünde ve semt pazarlarından 100 adet peynir örneğinin 1'inde *E. coli* O157:H7 tespit etmişlerdir. Çiğ süt ile beyaz peynirlerin *E. coli* O157:H7 ile bulaşmada kaynak olabileceği ve halk sağlığı açısından potansiyel bir tehdit oluşturabileceği kanaatine varılmıştır [146].

Keskin ve arkadaşları (2007), 55 farklı yerden 50 sade dondurma örneği toplamıştır. Toplanan örneklerden 4 adet *E. coli* izole edilmiştir. Mikrobiyolojik analizlerin yapıldığı dondurma numunelerinin genel değerlendirilmesine göre, 31 merkeze ait olan % 56,3'ünün Türk Gıda Kodeksi Dondurma Mikrobiyolojik Tebliği'ne uygun olmadığı tespit edilmiştir [29].

Dinç ve arkadaşları (2012), Ankara, Balıkesir ve Çorum'daki süt işletmelerinde satışa sunulan süt örneklerinden 92 adet *E. coli* izole etmişlerdir [147].

Melkamsew ve arkadaşları (2012), Etiyopya'da peynir örnekleri üzerine yaptıkları bir çalışmada, 225 peynir örneğinin 24'ünde (%10.7) *E. coli* tespit etmişlerdir [148].

Çalışmamızda çiğ süt ve peynirlerden *E. coli* izole edilmesinin nedeni olarak süt işletmesinde çalışan işçilerin temiz olmayan elleri veya sağımdan sonra sütün uygun olmayan koşullarda saklanmasıyla kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Ayrıca *E. coli*'nin pastörizasyon sıcaklığına dayanıksız olması, çalıştığımız peynir örneklerinin yapımında çiğ sütlerin kullanılmış olabileceğini veya sütün yetersiz pastörizasyon işlemini gündeme getirmektedir. Çalışma sonuçlarımıza göre çiğ süt ve peynirlerden az sayıda *E.*

coli izole edilmiş olması bu gıdaların güvenli olduğu anlamına gelmez. Çünkü *E. coli*'lerin gıdalarda bulunabilen bazı suşlarının (örneğin *E. coli* O157:H7) patojenik olduğu bilinmektedir. Ayrıca bir gıdada *E. coli*'nin bulunması o gıdada başka enterik patojenlerin bulunabileceğini de gösterebilir.

Bakteriyel biyofilmler, gıdaların bozulmasına, raf ömrünün azalmasına neden olan mikroorganizmalar ve patojen mikroorganizmaların gıdalara kontaminasyonu için kaynak oluşturabilir. Birçok bakteri gıda işletmelerinin yüzeylerinde slime tabaka oluşturarak yapışabilmekte, daha sonra bu yüzeylerde biyofilm oluşturabilmekte ve gıdaları kontamine edebilmektedir. Bakteriyel biyofilmler süt işletmelerindeki plastik veya paslanmaz çelik yapısındaki, dağıtım borularını, soğutma borularını ve membranları tıkararak ekonomik kayıplara da neden olmaktadır. Bu bakteriler arasında *Bacillus* türleri ve *E. coli* de bulunmaktadır. Araştırma sonuçlarımız süt ve süt ürünlerinden izole edilen birçok *Bacillus* ve *E. coli* izolatının slime ve biyofilm oluşturma yeteneklerinin olduğunu göstermiştir. Bazı araştırmacılar *Bacillus*'ların pastörizasyon sıcaklığına ve CIP (Cleaning in Place) uygulamalarına dayanıklı olmasını ısıya dirençli endosporların yanı sıra bu bakterilerin oluşturdıkları biyofilmlerden de kaynaklanabileceğini ileri sürmüşlerdir [149].

Araştırmamızda 67 adet *Bacillus* izolatının ise 63'ü (%94,1) slime pozitif, 4'ü (%5,9) slime negatif olarak tespit edilmiştir. *Bacillus* türlerinin slime faktör oluşturma sonuçlarına göre; *B. subtilis* izolatlarında; 35'i (%97,2) pozitif, 1'i (%2,8) negatif sonuç vermiştir, *B. cereus* izolatlarında 11'i (%91,7) pozitif, 1'i (%9, 1) negatif sonuç vermiştir, *B. megaterium* izolatlarında 9'u (%90) pozitif, 1'i (%10) negatif sonuç vermiştir, *B. licheniformis* izolatlarında; bütün izolatlar pozitif sonuç vermiştir, *B. circulans* izolatlarında; 1'i (%50) pozitif, 1'i (%50) negatif sonuç vermiştir, *Bacillus brevis* izolatı da pozitif sonuç vermiştir.

67 *Bacillus* izolatının TSB+%1 glikozda 24 saat inkübasyon sonunda 19'u (%28,4) kuvvetli, 16'sı (%23,9) orta, 24'ü (%35,8) zayıf biyofilm oluştururken 8'i (%11,9) biyofilm oluşturmamıştır.

67 *Bacillus* izolatının TSB+%1 glikozda 48 saat inkübasyonu sonunda oluşan biyofilm sonuçlarına bakıldığında, 17'si (%25,4) kuvvetli, 25'i (%37,3) orta, 19'u (%28,3) zayıf biyofilm göstermiştir. İzolatlardan 6'sı (%8,9) biyofilm negatif olarak tespit edilmiştir.

Gündüz (2012), yaptığı çalışmasında izole ettiği toplam 109 *Bacillus*'un biyofilm varlığı araştırmasında 24 saat sonra yapılan değerlendirmesinde toplam 105 *Bacillus* 'un biyofilm varlığını tespit etmiştir. Biyofilm varlığı pozitif olan 105 *Bacillus*'un 61'i (%58,1) zayıf pozitif iken 18'i (%17,1) kuvvetli pozitif, 26'sı (%24,8) ise çok kuvvetli pozitifdir. Aynı çalışmanın 48 saat sonra yapılan değerlendirmesinde de toplam 105 *Bacillus*'un biyofilm varlığı tespit edilmiştir. Bunların 72'si (%68,6) zayıf pozitif iken 18'i (%17,1) kuvvetli pozitif, 15'i (%14,3) ise çok kuvvetli pozitif olarak bulmuştur. Türlerle göre biyofilm varlığı oranına bakıldığında; 24 saatlik değerlendirme sonucunda 22 *Bacillus subtilis*'in 19'u, 20 *B. brevis*'in 20'si, 11 *B. licheniformis*'in 10'u, 2 *B. cereus*'un 2'si, 1 *B. megaterium*'un 1'i biyofilm pozitif olarak tespit edilmiştir [11].

Aynı çalışmanın 48 saat sonra yapılan değerlendirmesinde *B. subtilis*'in 22'si, 20 *B. brevis*'in 20'si, 11 *B. licheniformis*'in 11'i, 2 *B. cereus*'un 2'si, 1 *B. megaterium* 'un 1'i, biyofilm pozitif olarak tespit edilmiştir.

Araştırmamızda elde edilen *E. coli* izolatlarının tümü slime pozitif sonuç vermiştir.

İzolatların TSB+%1 glikozda biyofilm oluşumlarına bakıldığında, 20 izolatın 2'si (%10) kuvvetli, 11'i (%55) orta, 4'ü (%20) zayıf derecede biyofilm oluşturmuştur. İzolatlardan 3 tanesi (%15) biyofilm negatif sonuç vermiştir. TSB'de 24 saat inkübasyonu sonundaki tutunmalarına bakıldığında, 20 izolatın 5'i (%25) kuvvetli, 8'i (%40) orta, 5'i (%20) zayıf biyofilm oluşumu gösterirken izolatların 2 tanesi (%20) biyofilm negatif bulunmuştur.

Maya ve arkadaşları (2011), klinik örneklerden izole ettikleri *E. coli* izolatları ile yaptıkları bir çalışmada *E. coli* suşlarında %76,6 oranında slime oluşumu saptamışlardır [171]. Bizim çalışmamızda bu oran daha yüksek çıkmıştır [150].

Meshram ve arkadaşları (2012), farklı yöntemler kullanarak izole ettikleri *E. coli*'ler üzerinde biyofilm oluşumunu incelemiştir. İdrar yolu enfeksiyonu örneklerinden izole ettikleri 14 adet patojenik *E. coli* izolatının tamamında kongo kırmızılı agar yöntemi ile yaptıkları çalışmada biyofilm oluşumu gözlenirken, mikropate yöntemi uygulanarak yaptıkları çalışmada ise 14 izolatın 11'inde biyofilm oluşumu gözlenmiştir. Kanalizasyon suyu örneklerinden izole ettikleri 6 adet patojenik *E. coli* izolatının tamamı kongo kırmızılı agar yönteminde biyofilm oluşumu gösterirken, mikropate yönteminde ise 6 izolatın

5'inde biyofilm oluşumuna rastlanmıştır. Yine dışkı örneklerinden izole ettikleri 10 adet *E. coli* izolatının 7'si kongo kırmızılı agar kullanılarak yapılan çalışmada biyofilm oluştururken, mikropate yönteminde ise 5'inde biyofilm oluşumu gözlenmiştir [151].

Samie ve arkadaşları (2012), yaptıkları bir çalışmada test edilen toplam 139 adet *E. coli* izolatının 58'ini (%42) biyofilm pozitif olarak bulurken, 22 tanesi (%16) kuvvetli biyofilm oluşturmuştur. Bizim çalışmamızda bu oranlar daha düşük bulunmuştur [152].

Yavaş (2015), çeşitli gıda örnekleriyle yaptığı bir çalışmada izole ettiği 54 *E. coli* izolatının 13'ü (%24) slime pozitif, 41'i (%76) slime negatif sonuç vermiştir. Bu oranlar bizim çalışmamıza göre daha düşüktür [111].

Termodurik ve psikrotropik özelliklerin aynı mikroorganizmada bulunması, gıdaların bozulmasında potansiyel bir tehlike yaratabilir. Bazı psikrotroplar, ısıya dirençli proteaz, lipaz, jelatinaz ve lesitinaz enzimi üretirler ve bu enzimler süte uygulanan ısıl işlemlerle vejetatif mikroorganizmaların elimine edilmesinden sonra dahi aktif kalabilir. Adı geçen enzimler buzdolabı sıcaklığında saklanan süt ve süt ürünlerinde aktivitelerini sürdürebilirler. *Bacillus*'lar bu özelliklere sahip olmaları nedeniyle gıdalarda bozulmalara yol açan en önemli bakteri cinslerinden biridir. Süt ve süt ürünlerinde bulunan proteazlar kazeini hidroliz ederek peptid ve aminoasitlere, lipaz ve lesitinazlar da sütte bulunan süt yağını serbest yağ asitlerine dönüştürürler Bu aktiviteler gıdada acılaşma, ekşime ve pıhtılaşma gibi gıdanın lezzet ve yapısını bozan değişikliklere neden olur.

Araştırmamızda gıdalardan izole ettiğimiz 67 *Bacillus* izolatının 53'ü (%79,1) lipaz pozitif, 14'ü (%20,9) lipaz negatif; 51'i (%76,1) jelatinaz pozitif, 16'sı (%23,9) jelatinaz negatif 41'i (%61,2) proteaz pozitif, 26'sı (%38,8) proteaz negatif; 28'i (%41,8) lesitinaz pozitif, 39'u (%58,2) lesitinaz negatif bulunmuştur.

Özdoğan (2007), Ankara ilinde çeşitli kasap ve marketlerde tüketime sunulan 15'er adet kuşbaşı, kıyma ve tavuk olmak üzere toplam 45 adet et örneğinden izole ettiği *Bacillus* türlerinin proteaz ve lipaz enzim aktivitesini araştırmıştır. İncelenen et çeşitlerine göre proteaz enzim aktivitesine bakıldığında; kuşbaşından elde edilen 66 izolatın 28'inde (%42,4), kıymadan elde edilen 176 izolatın 112'sinde (%63,6), tavuktan izole edilen 37 izolatın ise 28'inde (%75,6) proteaz enzim aktivitesi pozitif bulunmuştur [70].

Montanhini ve arkadaşları (2013), Brezilya’da yaptıkları bir çalışmada 86 adet *B. cereus* izolatının proteolitik ve lipolitik enzim aktivitelerini incelemişlerdir. Çalışmada; lipolitik enzim aktivitesi 30 °C 48 saatte 1 adet (%1,2) *B. cereus* 10 °C ve 7 günde 14 adet (%16,3) *B. cereus* lipolitik aktivite gösterirken 7 °C ve 10 günde hiçbir *B. cereus* izolatı lipaz aktivitesi göstermemiştir. Proteolitik aktiviteye bakılırsa; 30 °C 48 saatte tüm *B. cereus* izolatları proteolitik aktivite göstermiştir. 10 °C ve 7 günde 62 (%72,1) adet *B. cereus*, 7 °C ve 10 günde ise 4 (%4,60) adet *B. cereus* proteolitik aktivite göstermiştir [153].

İnsanlardan ve hayvanlardan izole edilen bazı patojenik bakteriler in vitro ve in vivo üretildiklerinde bulundukları ortama, enzim karakterlerinde ekstrasellüler maddeler yani metabolitler salgırlar. Konakçı üzerine önemli etkileri olan bu maddelerin patojenite ile çok yakın ilgileri olduğu uzun zamandan beri bilinmektedir. Deoksiribonukleaz (DNaz) da bu enzimlerden biridir. Nükleik asitleri oligonükleotitlere hidrolize eden bu enzimin, bakteri üremesinde, biyofilm olgunlaşmasında ve bakterilerin bağışıklık sisteminden kaçabilmelerinde rol oynayabildiğine dair çalışmalar mevcuttur [154].

Yapılan literatür araştırmasında çeşitli gıdalardan izole edilen *Aeromonas* spp., *Serratia* spp., *Shewanella* spp., *Rahnella* spp., *Staphylococcus aureus*’ların DNaz aktiviteleri ile ilgili çalışmalar olmasına rağmen [155, 156, 157] çiğ süt, peynir ve dondurmalarından izole edilen *Bacillus* ve *E. coli* izolatlarının DNaz aktivitesine dair bilgi bulunmamaktadır. Çalışma sonuçlarımız bu bakımdan önem taşımaktadır.

Araştırmamızda 67 *Bacillus* izolatının 45’i (%67,2) DNaz pozitif, 22’si (%32,8) DNaz negatif olarak bulunmuştur.

Hemolizinler eritrositi parçalama yeteneklerine göre sınıflandırılan sitotoksik proteinlerdir. Bakteriler konak demirini elde edebilmek için alternatif bir yol olarak konak eritrositlerini parçalayarak salınan hemoglobinden hem demirini elde etmek için hemolizin ve proteazlar üretirler. Birçok Gram pozitif ve negatif bakteri tarafından üretilen hemolizinler önemli virülens faktörler arasında yer almaktadır. Hemolizinlerin çeşitli rahatsızlıklara sebep olduğu daha önce yapılan çalışmalarla belirlenmiştir.

Çalışmamızda izole edilen 67 *Bacillus* izolatının 53’ü (%79,1) pozitif, 14’ü (%20,9) negatif hemoliz oluşumu göstermiştir.

Fernandes ve arkadaşlarının (2014), 126 adet ricotta peynirinden izole ettikleri *B. cereus* türleri ile yaptıkları çalışmada izolatların %83,3'ü hemoliz pozitif olarak bulunmuştur [158].

Sümengen ve arkadaşları (2016), toprak örneklerinden izole ettikleri 8 *B. subtilis* suşunda hemoliz aktivitesi gözlemlenmiştir [159].

Çalışmamızda *E. coli* izolatlarının izolatının 14'ü (%70) hemoliz pozitif, 6'sı (%30) hemoliz negatif olarak saptanmıştır.

İnan ve arkadaşları (2004), idrar yolu enfeksiyonu olan poliklinik hastalarından izole edilen 100 suş *E. coli*, yatan hasta grubundan izole edilen 179 suş *E. coli* izolatları ile yaptıkları bir çalışmada yatan hasta grubunda 36 (%46) suş hemoliz oluşturunca, poliklinik hasta grubunda 41 suşta hemolizin saptanmıştır [160].

Demir bakterilerin büyümesi, çoğalması ve konakta kalıcı enfeksiyon oluşumunda temel rol alır. Patojen bakteriler konaktaki proteinlere bağlı demiri kullanabilmek için çeşitli mekanizmalar geliştirmiştir. Bunların içinde en bilineni sideroforlardır. Sideroforlar demir bağlama yeteneği olan düşük molekül ağırlıklı bileşiklerdir. Bakterilerde siderofor üretimi hakkında yapılan çalışmaların çoğu Gram (-) bakterilerle yapılan çalışmalardan elde edilmiş olmasına rağmen Gram (+) bakterilerin siderofor üretimi ile ilgili çalışmalar oldukça azdır.

Araştırmamızda *Bacillus* izolatlarının 42'si (%62,7) siderofor pozitif, 25'i (%37,3) negatif siderofor aktivitesi vermiştir.

Güney (2014), yaptığı bir çalışmada *B. cereus* DSM 4312 suşunda siderofor üretimini tespit etmiştir [161].

Çalışmamızdaki *E. coli* izolatlarının 18'i (%90) siderofor pozitif, 2'si (%10) siderofor negatif sonuç vermiştir.

Vagrati (2009), Hindistan'da yaptığı bir çalışmada klinik örneklerden izole ettiği 160 *E.coli* izolatının 156'sında (%97,5) siderofor oluşumu tespit etmiştir. Bizim çalışmamızda bu oran daha düşük bulunmuştur [162].

Mortazavi (2017), toplam 112 ürogenital akıntı ve idrar örneğiyle yaptığı çalışmada izole ettiği 36 *E. coli* izolatında siderofor varlığı tespit etmiştir [163].

Gıdalara kontamine olabilen birçok bakterinin aminoasit dekarboksilaz etkinliği, gıdalarda yüksek seviyede biyojenik amin üretimine neden olur. Histidin, tirozin, lizin, ornitin ve arjinin dekarboksilasyonu, sırasıyla başlıca gıda aminleri olan histamin, tiramin, kadaverin, putresin ve agmetine dönüşür. Gıdalarda biyojenik amin oluşumu insan sağlığı açısından önemli olmasının yanı sıra gıdalarda bozulma ile de ilişkilidir. Aminoasit dekarboksilazlar, gıda kaynaklı birçok mikroorganizmada bulunur. Bu mikroorganizmalar: *Citrobacter*, *Klebsiella*, *Escherichia*, *Proteus*, *Salmonella*, *Shigella* ve *Micrococcaceae* gibi *Enterobacteriaceae* familyasının cinsleri ayrıca *Staphylococcus*, *Micrococcus*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Photobacterium*, *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Carnobacterium*, *Pediococcus*, *Lactococcus* ve *Leuconostoc* cinslerine ait türlerdir [15,111]. Bu mikroorganizmalar arasında süt ve süt ürünlerinden izole edilen *Bacillus* türleri ve *E.coli*'lerin aminoasit dekarboksilaz aktivitesine ait az sayıda çalışma bulunmaktadır.

Araştırmamızda *Bacillus* cinsine ait 67 adet izolatın lizin dekarboksilaz aktivitesi; 62'si (%92,5) pozitif, 5'i (%7,5) negatif, ornitin aktivitesi; 62'si (%92,5) pozitif, 5'i (%7,5) negatif, arjinin aktivitesi; 67'si (%100) pozitif, tirozin aktivitesi; 66'sı (%98,5) pozitif, 1'i (%1,5) negatif, histidin aktivitesi; 67'si pozitif olarak tanımlanmıştır.

Araştırmamızda elde ettiğimiz *E. coli* izolatlarının izolatının 20'si (%100) lizin pozitif, 20'si (%100) ornitin pozitif, 20'si (%100) tirozin pozitif, 13'ü (%65) arjinin pozitif, 12'si (%60) histidin pozitif olarak bulunmuştur.

Santos (1997), İspanyol fermente et ürünlerinden izole ettiği mikroorganizmaların amino asit dekarboksilaz aktivitesi üzerine bir çalışma yapmıştır. Bu çalışmada, *Enterobacteriaceae* üyeleri üzerinde çalışılmıştır. Çalışma sonunda *E. coli* izolatları, yüksek oranda histidin dekarboksilaz pozitif, lizin dekarboksilaz pozitif bulunurken, yüksek oranda ornitin dekarboksilaz pozitif çıkmıştır. Bu çalışmanın ulaşılan sonuca göre *Enterobacteriaceae* üyesi izolatların, diğer gruplara göre daha yüksek amino asit dekarboksilaz aktivitesine sahip olduğu görülmüştür [164].

Shelef ve arkadaşları (1998), *Salmonella* spp. ve *Enterobacteriaceae*'ler ile yaptıkları bir çalışmada; izole ettikleri *E. coli*'lerde, arjinin dekarboksilaz miktarı düşük iken ornitin dekarboksilaz miktarının yüksek olduğu görülmüştür [165].

Yavaş (2015), yaptığı çalışmasında gıda örneklerinden izole ettiği 54 adet *E. coli* izolatında, histidin dekarboksilaz aktivitesi; 7'si (%12,9) pozitif, 47'si (%87,1) negatif, lizin dekarboksilaz aktivitesi; 50'si (%92,5) pozitif, 4'ü (%7,5) negatif, ornitin dekarboksilaz aktivitesi; 9'u (%16,6) pozitif, 45'i (%83,4) negatif ve arjinin dekarboksilaz aktivitesi; 17'si (%31,4) pozitif, 37'si (%68,5) negatif olarak bulmuştur [111].

Mikroorganizmalarda antibiyotiklere direncin ortaya çıkmasında ve giderek artmasındaki en önemli neden bilinçsiz antibiyotik kullanımıdır. Bu nedenle hastanelerde ve özellikle hastane enfeksiyonlarının sık görüldüğü yoğun bakım ünitelerinde kullanılacak antibiyotiklerin seçiminde ilgili hastanede sık izole edilen bakterilerin antibiyotik duyarlılıklarının bilinmesi önemlidir.

Araştırmamızda izole ettiğimiz 67 *Bacillus* izolatının 45'i (%67,2) penisilin, 48'i (%71,6) ampisilin, 35'i (%52,2) eritromisin, 5'i (%7,5) amikasin, 5'i (%7,5) kloramfenikol, 8'i (%11,9) vankomisin, 11'i (%16,4) tetrasiklin, 47'si (%70,1) basitrasin, 53'ü (79,2) novobiosin antibiyotiğine karşı dirençli bulunmuştur.

Sevim ve arkadaşları (2006), Rize ili ve ilçelerinde çeşitli su örneklerinden izole ettikleri 41 adet *Bacillus* türünün antibiyotik dirençliliklerini araştırmışlardır. Suşlarda amikasin ve vankomisin direnci gözlenmezken basitrasine %100, ampisiline %76, penisiline %71 oranında direnç tespit edilmiştir. Ampisiline en fazla (%100) direnç gösteren türler *B. cereus* olmuştur. Tetrasikline direnç yalnızca bir *B. cereus* (%2,4) suşunda rastlanmıştır. Bizim çalışmamızda amikasin ve vankomisine *Bacillus* türleri direnç göstermiş iken basitrasin, ampisilin ve penisiline direnç daha düşük bulunmuştur [166].

Yıbar ve arkadaşları (2017), Bursa ilinde farklı satış yerlerinden toplam 259 adet tam yağlı süt (çiğ, pastörize ve UHT) ve peynir örneği analiz edilmiştir. *B.cereus* izolasyonu FDA tarafından önerilen metoda göre çalışmıştır. Analize alınan çiğ ve pastörize süt örneklerinde 1×10^1 ile 1.1×10^3 kob/mL ve peynirde 4×10^1 ile 3.8×10^5 kob/g arasında değişen sayılarda olmak üzere, toplamda 259 örneğin 26 adetinin (%10.04) koloni

morfolojileri ve mikroskopik görünüşlerine de dayalı olarak *B. cereus* ile kontamine olduğu tespit edilmiştir. Örneklerden elde edilen 13 adet *B. cereus* izolatı API sistemi ile identifiye edilmiştir [167].

Bununla birlikte, MALDI-TOF-MS kullanılarak yapılan analizde, 19 adet izolat *B. cereus* olarak identifiye edilmiştir. Bu 19 izolatın 13'ünün (%68,4) sadece NHE toksini bakımından, altı izolatın da (%31,6) NHE ve HBL toksinleri bakımından pozitif olduğu gözlenmiştir. Tüm izolatlar oleandomisin, eritromisin ve streptomisine duyarlı olmalarına rağmen penisilin G'ye dirençli bulunmuştur. Bu çalışmada, çoklu antibiyotik direnci gösteren yedi farklı model bulunmuştur. Çalışmada, *B. cereus* izolatlarının 16'sı (%84,2) çoklu antibiyotik direnci göstermiştir [140].

Yılmaz (2014), Ege Denizi'nden alınan sediment örneklerinde çeşitli *Bacillus* türlerinin antibiyotik dirençliliklerini incelemiştir. Bakteriler en fazla direnci amikasin antibiyotiğine göstermiştir [168].

Araştırmamızdaki *E. coli* izolatlarının 6'sı (%30) amoksisilin-klavulanik asit, 5'i (%25) sefotaksim, 3'ü (%15) seftriakson, 8'i (%40) aztreonam, 9'u (%45) seftazidim, 6'sı (%30) siprofloksasin, 10'u (%50) kloramfenikol, 8'i (%40) tetrasiklin, 3'ü (%15) ertapenem, 6'sı (%30) amikasin, 20'si (%100) ampisilin, 11'i (%55) gentamisin'e karşı dirençli bulunmuştur. *E. coli* izolatlarında imipeneme karşı direnç tespit edilmemiştir.

Özgümüş ve arkadaşları (2007), Türkiye'de kıyı bölgelerdeki çeşme ve kaynak sulardan izole ettikleri 107 adet *E. coli* izolatından %17,9'unun amikesine, %19,6'sının trimetoprim- sülfametaksazole, %13,6'sının gentamisine, %12,8'inin tetrasikline, %2,5'inin kloramfenikole karşı dirençli olduğunu bulmuşlardır. Bizim çalışmamızda amikasin, gentamisin, tetrasiklin ve kloramfenikole karşı direnç daha yüksek bulunmuştur [169].

Tao ve arkadaşları (2010), Güney Çin'deki Pearl nehrinden izole ettikleri *Enterobacteriaceae*'lerde antibiyotik dirençliliği üzerine yaptıkları çalışmada, izole edilen bakterilerin %55'i ampisiline karşı dirençli bulunmuştur. Bizim çalışmamızda ise bu oran %100 bulunmuştur [170].

Yavaş (2015), çeşitli gıda örnekleriyle yaptığı bir çalışmada 54 *E. coli* izolatının 30'u (%55,5) amoksisilin-klavulanik asit, 2'si (%3,7) sefotaksim, 5'i (%9,2) seftriakson, 5'i (%9,2) aztreonam, 10'u (%18,5) seftazidim, 13'ü (%24) siprofloksasin, 11'i (%20,3) kloramfenikol, 18'i (%33,3) piperasilin-tazobaktam, 22'si (%40,7) tetrasiklin, 2'si (%3,7) ertapenem, 17'si (%31,4) amikasin, 22'si (%40,7) ampisilin-sulbaktam ve 12'si (%22,2) gentamisin'e karşı dirençli bulmuştur. *E. coli* izolatlarında imipenem'e karşı direnç tespit edilmemiştir. İmipeneme karşı direnç tespit edilmemesi bizim çalışmamızı desteklemektedir [111].

Geniş spektrumlu beta laktamaz (ESBL) enzimleri beta laktam antibiyotiklere karşı direnci sağlar. Antibiyotiğin beta laktam halkasının amid bağıını inaktive eder. Gram negatif bakterilerin büyük çoğunluğunda özellikle *Enterobacteriaceae* familyasında geniş spektrumlu beta laktamazlar (GSBL) bulunmaktadır [170,171]. Bu enzimler mikroorganizmalarda çoklu antibiyotik direncine neden olur. GSBL'ler geniş spektrumlu penisilinler, monobaktamlar ve dar spektrumlu sefalosporinleri hidroliz edebilmektedir. Son yıllarda bu enzimler üçüncü kuşak sefalosporinlere ve aztreonama da dirençli olarak saptanmaktadır. GSBL'ler klavulanik aside duyarlıdır ve bu şekilde rutin antibiyogramda tanımlanabilirler.

Araştırmamızda izole edilen 20 *E. coli* izolatının 16'sı (%80) GSBL (+), 4'ü (%20) GSBL (-) olarak bulunmuştur.

Bhavnani ve arkadaşları (2006), klinik örneklerle yaptıkları çalışmalarda 175 adet *E. coli* izolatında %77 oranın GSBL (+) bulmuşlardır. Bizim çalışmamızda GSBL (+) *E. coli* izolatlarının oranı %40 olarak bulunmuştur [170].

Costa ve arkadaşları (2010), tavuklarla yaptıkları bir çalışmada, izole ettikleri 29 adet *E. coli* örneğinden 27'sini (%93,1) GSBL (+) bulmuşlardır. Bizim çalışmamızda bu oran %75 olarak bulunmuştur [171].

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Araştırmamızda elde ettiğimiz bulgulara göre insanların en önemli besin kaynağını oluşturan süt ve süt ürünleri florasında *E. coli* ve *Bacillus* türlerine rastlanmıştır. Süt ve süt ürünlerinde bu tür bakterilerin bulunması sütün elde edilmesinden diğer süt ürünlerine dönüştürülme sürecinde sterilizasyon kalitesi hakkında değerlendirme yapabilmekte ve süt, dondurma ve peynir gibi önemli gıda kaynaklarının bakteriyel florasının sağım, depolama, taşıma, pastörize işlemi sırasında ya da paketlenme sırasında kullanılan aletlerin ve kişilerin hijyen kurallarına uyup uymadığını yansıtmaktadır. Özellikle *Bacillus cinsi* bakterilerin sporları çok hidrofilitirler ve kolayca çelik, cam ve lastik yüzeylere yapışır ve yüzeylerdeki kısa temizleme programları bütün sporları elemine etmeyebilir.

Yüzeylere tutunan sporların, eriyik içindeki sporlara kıyasla dezenfektan ile elemine edilmesi daha zordur. Sporlar sütte ısıl aktivasyonda hızlıca çimlenir ve uygun koşullar bulup çoğaldıklarında, oluşturdıkları biyofilm formunda elemine edilmeleri son derece zordur. Genel olarak, çiğ sütteki patojenler sütün ısıl işlemi sonrasında önemli bir tehlike yaratmazlar. Buna karşın enzimler, çiğ sütte psikrotrofik flora ile birlikte önemli bir bozulmaya yol açabilirler. Gıda üzerinde gelişen bazı mikroorganizmalar proteinleri, lipitleri hidrolize ederek besinin tadında ve kokusunda olumsuz bir etkiye sebep olabilirler. *E. coli*'nin ise sütte ve süt ürünlerinde bulunması fekal kaynaklı bir kontaminasyonun göstergesidir.

Son yıllarda yapılan çalışmalar ve elde ettiğimiz bulgulara göre beslenmede önemli bir yere sahip olan süt florasındaki bakterilerin antibiyotik direncinin yüksek oranda çıkması aşırı ve yanlış antibiyotik kullanımının sonucu olarak gösterilebilir. Antibiyotiklere direnç gösteren bakteriler süt ve süt ürünlerinin tüketilmesiyle insanlara geçebilmektedir. Bu durum önemli bakteriyel enfeksiyonların tedavisini zorlaştırmaktadır.

Araştırmamızda *E. coli* ve *Bacillus* türlerinde patojeniteyi belirleyen çeşitli kriterlerin belirlenmesi, bu bakteriler ile oluşabilecek enfeksiyonların şiddeti, mücadelesi ve konak-patojen ilişkisi hakkında bilgi verilmektedir.

Süt sağımı sırasında hijyenik bakım, devamlı olarak 4 °C veya daha düşük sıcaklıklarda soğutma, çiğ sütün depolanma süresinin en aza indirgenmesi, devam eden etkili HACCP

sistemleri gibi tüm başlıca ilgili işlemler, süt endüstrisinde kalite güvencesidir. Bu genel teknolojiler mikroflorayı büyük veya küçük oranlarda elemine etmektedir. Termizasyon, pastörizasyon, UHT, mikrofiltrasyon ve baktofügasyon, uygulanan bu teknolojik işlemlerdendir.

Toplanan süt, peynir ve dondurma örneklerinde *E. coli* ve *Bacillus* üyelerinin baskın olarak bulunması çalışılan örneklerin kirli şekilde sağıldığı, üretildiği ya da yeteri kadar hijyen kurallarına uyulmadığını düşündürmüştü ve halk sağlığı açısından riskli olduğu kanısını ortaya çıkarmıştır.

KAYNAKLAR

1. Kalkan, S. (2006). *Çiğ sütte Bacillus cereus sayılması için yöntem modifikasyonları üzerine çalışmaları*. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 1-2.
2. Karasu-Yalçın, S., Şenses-Ergül, Ş. ve Özbaş, Y. (2011). Peynir mikroflorasındaki mayaların önemi. *GIDA Dergisi*, 36(1), 55-62.
3. Yerlikaya, O. (2018). Ege ve Marmara Bölgesi'nde üretilen ve tüketime sunulan beyaz peynirlerin bazı mikrobiyolojik özelliklerinin incelenmesi üzerine bir araştırma. *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 55(4), 499-505.
4. Çelik, Ş. ve Uysal, Ş. (2009). Beyaz peynirin bileşim, kalite, mikroflora ve olgunlaşması. *Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 40(1), 141-151.
5. Akan, E., Yerlikaya, O. ve Kınık, Ö. (2014).Psikrotrof bakterilerin çiğ süt ve süt ürünleri kalitesine etkisi. *Akademik Gıda*, 12(4), 68-78.
6. Elmalı, G. ve Uylaşer, V. (2011). Geleneksel gıdalardan çeçil peynirinin üretimi ve özellikleri. *Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 26(1), 83-92.
7. Chug, K. (1996). *Salmonella* outbreak from ice-cream. *Indian Pediatrics*, 33(4), 976-977.
8. Akarca, G. ve Kuyucuoglu, Y. (2008). Afyonkarahisar piyasasında satılan dondurmaların mikrobiyolojik kalitesi üzerinde çalışmalar. *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 8(1), 100-101.
9. Clutterbuck, A. L., Woods, E. J., Knottenbelt, D. C., Clegg, P. D., Cochrane, C. A. and Pervical, S. L. (2007). Biofilms and their relevance to veterinary medicine. *Journal of Veterinary Microbiology*, 121,1-17.
10. Costerton, J. W., Stewart, P. S. and Greenberg, E. P. (1999). Bacterial biofilms: A common cause of persistent infections. *Journal of Science*, 284, 1318-1322.
11. Teke-Gündüz, S. (2012). *Çiğ süttten izole edilen bacillus'ların adlandırılması ve biyofilm varlığının araştırılması*. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 23-46.
12. Kuba, M. (2012). *İçme suyu pompalarında Escherichia coli'nin oluşturduğu biyofilm yapısının incelenmesi ve oluşmasının önlenmesi*. Yüksek Lisans Tezi, Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İzmir, 60.
13. Bigeç, L. (2015). *Balıklardan izole edilen Enterococcus türlerinin bazı virulans, teknolojik özellikleri ve antibiyotik dirençliliklerinin araştırılması*. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 27.
14. Erdem, B. (2013). Mikrobiyal sideroforlar ve biyoteknolojideki uygulama alanları. *Karadeniz Fen Bilimleri Dergisi*, 3(8), 77-83.

15. Karahan, G. A. (2003). Gıdalarda biyogen aminler. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*, 1(5), 21-32.
16. Yalanca, İ. (2009). *Geleneksel et ürünlerinden izole edilen laktik asit bakterilerinin antibiyotik direncinin belirlenmesi*. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana, 9-12.
17. Uraz, G., Arslan, S. ve Gündoğan, N. (1996). Çiğ süt, pastörize süt ve beyaz peynir örneklerinden izole edilen ve iometrik test yöntemiyle beta-laktamaz varlığını saptanan *Bacillus* türleri. *GIDA*, 21(4), 275-280.
18. Dinç, G., Ata, Z. ve Temelli, S. (2012). Sığır mastitislerinden izole edilen *Escherichia coli* suşlarında genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz aktivitesi ve antibiyotik dirençlilik profilinin incelenmesi. *Ankara Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, 59, 85-88.
19. Kalkan, S. ve Halkman, K. (2006). *Bacillus cereus* ve içme sütünde oluşturduğu sorunlar. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*, 4(1), 1-11.
20. Garbutt, J. (1997). Factor affecting the growth of microorganisms. *Uknjizi Essentionals of Food Microbiology*, 54-86.
21. Çakır, İ. (2000). *Gıda Mikrobiyolojisi ve uygulamaları: Koliform grup bakteriler ve E. coli*. Ankara: Sim Matbaacılık, 2. Baskı, 335-344.
22. Yapık, Ö. (2014). *Adıyaman ilinde süt üretim çiftliklerinde üretilen çiğ sütler ile sokak sütlerinin bazı kimyasal ve mikrobiyolojik özelliklerinin belirlenmesi üzerine karşılaştırmalı bir araştırma*. Yüksek Lisans Tezi, Harran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Şanlıurfa, 2.
23. Altun, B., Besler, T. ve Ünal, S. (2002). Ankara’da satılan sütlerin değerlendirilmesi. *Sürekli Tıp Eğitimi Dergisi*, 11(2), 51-55.
24. Hantsis-Zacharov, E. and Halpern, M. (2007). Culturable psychrotrophic bacterial communities in raw milk and their proteolytic and lipolytic traits. *Applied and Environmental Microbiology*, 73, 7162-7168.
25. Mitchell, S. L. and Marshall, R. T. (1989). Properties of Heat-stable proteinases of *Pseudomonas fluorescens*: characterization and hydrolysis of milk proteins. *Journal of Dairy Science*, 72, 864-874.
26. Dülger, B. ve Gücin, F. (1999). Bursa’da satışa sunulan taze beyaz peynirlerden izole edilen koliform grubu bakterilerin tanımlanması. *Çevre Koruma Dergisi*, 8(32), 17-20.
27. Cousin, M. A. and Marth, E. H. (1979). Changes in milk proteins caused by psychrotrophic bacteria. *Journal of Milchwissenschaft*, 32, 341-377.
28. Wang, L. and Jayarao, B. M. (2001). Phenotypic and genotypic characterization of *Pseudomonas fluorescens* isolated from bulk tank milk. *Journal of Dairy Science*, 84, 1421-1429.

29. Keskin, Y., Başkaya, R., Özyaral, O. ve Kıyan, P. (2007). Sade dondurmaların mikrobiyolojik incelenmesi. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 37(1), 51-58.
30. Çelik, C., Patır, B., Saltan, S. ve Güven, A. (1995). Elazığ'da tüketime sunulan dondurmaların hijyenik kalitesi ve genel koloni sayısı ile metilen mavisi indirgeme süresi arasındaki korelasyon üzerinde araştırmalar. *Selçuk Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, 11, 67-72.
31. Erol, İ., Küplülü, Ö., Sırken, B. ve Çelik, H. (1998). Ankarada'ki çeşitli pastanelere ait dondurmaların mikrobiyolojik kalitelerinin belirlenmesi. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 22, 345-352.
32. Rocourt, J., BenEmbarrer, P., Toyofuku, H. and Schlundt, J. (2003). Quantitative risk assessment of *Listeria monocytogenes* in ready to-eat foods: the FAO/WHO approach. *FEMS Immunol Med Microbiol*, 35, 263-267.
33. Garin, B., Aidara, A., Spiegel, A., Arrive, P., Bastarud, A., Cartel, J. L., Aissa, R. B., Duval, P., Gay, M., Gherardi, C., Gounali, M., Karou, T. G., Kruey, S. L., Soares, J. L., Mouffok, F., Ravaonindrina, N., Rasolofonirina, N., Pham, M. T., Wouafo, M., Catteau, M., Mathiot, C., Mauciere, P. and Rocourt, J. (2002). Multicenter study of street foods in 13 towns on four continents by the food and environmental hygiene study group of the international network of pasteur and associated institutes. *Journal of Food Protection*, 65, 146-152.
34. Güven, G. (2015). *Escherichia coli* suşlarında antibiyotik dirençliliği ve biyofilm oluşumunun araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Fenbilimleri Enstitüsü, Ankara, 3-4.
35. Murray, P. R., Rosenthal, K. S. and Pfaller, M. A. (2005). Medical Microbiology: Enterobacteriaceae, 5th Edition, Elsevier Mosby, Philadelphia, 323-338.
36. Tünger, A. (2005). *Asya mikrobiyoloji: Bakteriyoloji, viroloji, mikoloji, parazitoloji, immünoloji*. İzmir: Asya Tıp Kitabevi, 649.
37. İnternet: URL: <http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fsususejat.com%2Fmengenal-e-coli-adakah-e-coli-itu-jahat%2F&date=2019-03-12>, Son Erişim Tarihi: 29.01.2019.
38. Tutak-Aydın, G. (2010). *Gastroenterit etkeni olabilen patojen Escherichia coli'lerin araştırılması*. Uzmanlık Tezi, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Edirne, 7-10.
39. Biçer, M. (2012). *Mastitisli sığırlardan izole edilen shiga toksini üreten escherichia coli suşlarının virulans faktörlerinin saptanması*. Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Aydın, 3.
40. Donnenberg, M. S. (2005). Enterobacteriaceae. In: Mandel GL, Bennet JE, Dolin R (Eds.). *Principles and practice of Infectious Diseases*. 6th ed. Philadelphia: Elseiver-Chirchill Livingstone, 2567-86.
41. Clarke, S. C. (2001). Diarrhoeagenic *Escherichia coli*-an emerging problem?. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 41(3), 93-98.

42. Puente, J. L. and Finlay, B. B. (2001). Pathogenic *Escherichia coli*. In: Groisman EA (Ed.). *Principles of Bacterial Pathogenesis*, (1). California: Academic Press, 388-428.
43. Tolun, V., Anđ-Küçüker, M., Diren, Ş. ve Anđ, Ö. (2001). Diyareli hastalardan alınan dışkı örneklerinde Verotoksijenik *Escherichia coli* (VTEC)' lerin PCR yöntemi ile saptanması. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 31(3-4), 174-177.
44. Arslan, D. (2008). İshal oluşturan *Escherichia coli* infeksiyonları: Epidemiyoloji, klinik, tedavi. *ANKEM Dergisi*, 22(2), 192-196.
45. Omerovic, M., Müştak, H. K. ve Kaya-Başak, İ. (2017). *Escherichia coli* parotiplerinin virülens faktörleri. *Etlik Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi*, 28(1), 1-6.
46. Karlı, Ş. (2009). *Toplum ve hastane kaynaklı infeksiyonlardan izole edilen GSBL pozitif Escherichia coli suşlarında tigesiklin duyarlılığının in-vitro araştırılması*. Uzmanlık Tezi, Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, İstanbul, 17-19.
47. Emody, L., Kerenyi, M. and Nagi, G. (2003). Virulence factors of uropathogenic *Escherichia coli*. *International Journal of Antimicrobial Agents-Elsevier*, 22, 29-33.
48. Töreci, K., Topçu, W. A., Söyletir, G. ve Doğanay, M. (2008). *Escherichia türleri infeksiyon hastalıkları ve mikrobiyolojisi*. 2. Baskı. Ankara: Nobel Tıp Kitapevleri, 1564-1574.
49. Rhomberg, P. R. and Jones, R. N. (2002). In vitro activity of 11 antimicrobial agents, including gatifloxacin and GAR936, tested against clinical isolates of *Mycobacterium marinum*. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 42, 145–147.
50. Skerker, J. M. and Berg, H. C. (2001). Direct observation of extension and retraction of type IVpili. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98(12), 6901-6904.
51. Gököz, M. (2016). *Proteazın fazla üretimi için UV mutasyon yoluyla Bacillus subtilis strain 168 E6-5'de suş geliştirme çalışmaları ve üreme ortamının optimizasyonu*. Yüksek Lisans Tezi, Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bursa, 16.
52. Garrity, G. M. (2004). *Taxonomic outline of the prokaryotes. Bergey's manual of systematic bacteriology*. Second Edition, Release 5.0. New York: Springer-Verlag, 529-531.
53. Zeren, B. (2015). *Topraktan izole edilen bacillus megaterium EBD 9-1 suşundan fitaz geninin E.coli'de klonlama çalışmaları*. Yüksek Lisans Tezi, Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bursa, 33.
54. Kalaylı, E. ve Beyatlı, Y. (2003). *Bacillus cinsi bakterilerin antimikrobiyal aktiviteleri, PHB üretimleri ve plazmid DNA'ları*. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*, 1(12), 24-35.

55. İnternet: URL:
<http://www.webcitation.org/query?url=https%3A%2F%2Fwww.infectioncontroldata.com%2Ffood-safety%2Fnumber-food-poisoning-cases-caused-bacillus-cereus-rise&date=2019-03-12>, Son Erişim Tarihi: 29.01.2019.
56. Allen, S., Janda, W., Koneman, E., Procop, G., Schreckenberger, P. and Woods, G. (2006). *Koneman's Color Atlas and Textbook of diagnostic microbiology*. ABD: Lippincott Williams & Wilkins, 775-779.
57. Metin, M. (1998). *Süt teknolojisi sütün bileşimi ve işlenmesi*. İzmir: Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Yayınları, 632-654.
58. Chen, L., Daniel, R. M. and Coolbear, T. (2003). Detection and impact of protease and lipase activities in milk and milk powder (review). *International Dairy Journal*, 13, 255-275.
59. McGuiggan, J. M., Gilmour, A. and Lawrence, M. L. (1994). Factors influencing the recovery of psychrotrophic, mesophilic and thermophilic *Bacillus* spp. from bulk raw milk. *Journal of the Society of Dairy Technology*, 47,111- 116.
60. Barbe, V., Cruveiller, S., Kunst, F., Lenoble, P., Meurice, G., Sekowska, A., Vallenet, D., Wang, T., Moszer, I., Medigue, C. and Danchin, A. (2009). Form a consortium sequence: the *Bacillus subtilis* 168 reference genome a decade later. *Microbiology*, 155, 1758-1775.
61. İnternet: How to *Bacillus subtilis* a collaboration (2016). *International Genetically Engineered Machine Competition*, 1-2. URL:
http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fwww.webcitation.org%2Fquery%3Furl%3Dhttp%253A%252F%252Figem.org%252FMain_Page%26date%3D2018-10-30&date=2019-03-12, Son Erişim Tarihi: 17.03.2014.
62. Kaya, T. F. (2012). *Ekşi hamurdan izole edilen ve biyofilm üreten bazı laktik asit bakterilerinin Bacillus subtilis üzerine etkisi*. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana, 18.
63. Fritze, D. (2004). Taxonomy of the genus *Bacillus* and related genera: The aerobic endospore-forming bacteria. *The American Phytopathological Society*, 94(11), 1245-1247.
64. O'Mahony, T., Rekhif, N., Cavadini, C. and Fitzgerald, G. F. (2001). The application of a fermented food ingredient containing 'variacin', a novel antimicrobial produced by *Kocuria varians*, to control the growth of *Bacillus cereus* in chilled dairy products. *Journal of Applied Microbiology*, (90), 106-114.
65. International Dairy Federation. (2016). *Bacillus cereus in milk and dairy products*. Belgium: International Dairy Federation, 2.
66. Mohamed, A. S., Alnakip, M. E. A. and Aal, S. F. A. (2016). Occurence of *Bacillus cereus* in raw milk and some dairy products in Egypt. *The Japanese journal of Veterinary Research*, 64(2), 95-102.

67. Yüce, Ç. (2014). *Bacillus megaterium*'dan elde edilen PHB (Poli-B-Hidroksibütirat) ile sulu çözeltideki tekstil boyarmadde ve Cr^{+6} iyonu gideriminin incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Dumlupınar Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kütahya, 11-12.
68. Tunail, N. (2009). Mikrobiyoloji. *Danone Enstitüsü Derneği*, Ankara, 214-215.
69. Dragutinovic, V., Vrvic, M. M., Swiecicka, I., Cvetkovic, O., Beric, T. and Stankovic, S. (2012). Characterisation of new *Bacillus circulans* strain isolated from oil shale. *Food Technology Biotechnology*, 50(1), 123-127.
70. Özdoğan, H. (2007). *Çeşitli et örneklerinden izole edilen Bacillus türlerinin tanımlanması, proteolitik ve lipolitik enzim aktivitelerinin araştırılması*. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 3-7.
71. Ünlütürk, A. ve Turantaş, F. (1999). *Gıda mikrobiyolojisi*. 1.Baskı. İzmir: Megi-Tan Basımevi, 22-25.
72. Akan, E. ve Kımık, Ö. (2014). Biyofilm oluşum mekanizması ve biyofilmlerin gıda güvenliğine etkisi. *Gıda ve Yem Bilimi-Teknolojisi Dergisi*, 14, 42-51.
73. Kocazeybek, B., Çakan, H., Ayyıldız, A., Küçükateş, E., Gülsoy, Ö. ve Ordu, A. (2001). Cerrahi yoğun bakım ünitesinden izole edilen koagülaz negatif stafilokoklarda slime faktörü oluşturma ve bunların kemoterapötiklere dirençle ilişkisinin araştırılması. *Ankem Dergisi*, 15(4), 683-689.
74. Kalkancı, A., Çırak Yalınay, M., Mansuroğlu, H. ve Kuştimur, S. (1999). *Candida* türlerinde slime faktör belirlenmesi. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 29, 183-185.
75. Orhon, H., Özbakkaloğlu, B., Sürücüoğlu, S., Tünger, Ö. ve Arısoy, A.S. (1998). Enfeksiyon etkeni olan *Candida albicans* suşlarında slime üretimi ve antifungal ajanlara duyarlılıkları. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 28,103-106.
76. Karaca, N., Koç, A. N. ve Karagöz, S. (2001). Kan ve vajen örneklerinden izole edilen *Candida* türlerinin slime aktiviteleri. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 31, 224-226.
77. Aslan, U. (2003). *Klinik örneklerden izole edilen Candida albicans türü maya mantarlarında virulans faktörlerinin (proteinaz, slime ve fosfolipaz) in-vitro araştırılması*. Uzmanlık Tezi, Selçuk Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi, Konya, 19.
78. Aybay, C. ve Çağlar, K. (1997). *Staphylococcus epidermidis* kaynaklı slaym maddesinin makrofajlardan nitrik oksit salgılanmasına etkisi. *İnfeksiyon Dergisi*, 11, 353-356.
79. Yıldırım, N., Sezen, İ. Y., Ardıç, N. ve İleri, Ç. (2008). Farklı klinik örneklerden izole edilen koagülaz-negatif Stafilokokların slime faktör üretimlerinin ve bazı antibiyotiklere duyarlılıklarının araştırılması. *İnfeksiyon Dergisi*, 22(4), 209-214.

80. Borucki, M. K., Peppin, J. D. and White, D. (2003). Variation in biofilm formation among strains of *Listeria monocytogenes*. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(12), 7336-7342.
81. Donlan, R. M. (2002). Biofilms: microbial life on surfaces. *Emerging Infectious Diseases*, 8(9), 881-890.
82. Knetsch, M. L. W. and Koole, L. H. (2011). New strategies in the development of antimicrobial coatings: the example of increasing usage of silver and silver nanoparticles. *Polymers*, 3(1), 340-366.
83. Ferreira, C., Pereira, A. M. and Melo, L. F. (2010). Advances in industrial biofilm control with micronanotechnology. *Applied Microbiology*, 845-854.
84. Abdallah, F. B., Chaieb, K., Zmantar, T., Kallel, H. and Bakhrouf, A. (2009). Adherence assays and slime production of *Vibrio alginolyticus* and *Vibrio parahaemolyticus*. *Brazilian Journal of Microbiology*, 394-398.
85. Nilsson, R. E., Ross, T. and Bowman, J. P. (2011). Variability in biofilm production by *Listeria monocytogenes* correlated to strain origin and growth conditions. *International Journal of Food Microbiology*, 150(1), 14-24.
86. Gerstel, U. and Römling, U. (2001). Oxygen tension and nutrient starvation are major signals that regulate *agfD* promoter activity and expression of the multicellular morphotype in *Salmonella typhimurium*. *Environmental Microbiology*, 3(10), 638-648.
87. O'Toole, G. A. and Kolter, R. (1998). Flagellar and twitching motility are necessary for *Pseudomonas aeruginosa* biofilm development. *Molecular Microbiology*, 30(2), 295-304.
88. Stoodley, P., Sauer, K., Davies, D. G. and Costerton, J. W. (2002). Biofilms as complex differentiated communities. *Annual Review of Microbiology*, 56, 187-209.
89. Sinde, E. and Carballo, J. (2000). Attachment of *Salmonella* spp. and *Listeria monocytogenes* to stainless steel, rubber and polytetrafluorethylene: The influence of free energy and the effect of commercial sanitizers. *Food Microbiology*, 17, 439-447.
90. Augustin, M., Ali-Vehmas, T. and Atroshi, F. (2004). Assessment of enzymatic cleaning agents and disinfectants against bacterial biofilms. *Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences: A Publication of the Canadian Society for Pharmaceutical Sciences, Société Canadienne des Sciences Pharmaceutiques*, 7(1), 55-64.
91. Maukonen, J., Mättö, J., Wirtanen, G., Raaska, L., Mattila-Sandholm, T. and Saarela, M. (2003). Methodologies for the characterization of microbes in industrial environments: A review. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 30(6), 327-356.
92. Gerke, C., Kraft, A., Süssmuth, R., Schweitzer, O. and Götz, F. (1998). Characterization of the N-acetylglucosaminyltransferase activity involved in the biosynthesis of the *Staphylococcus epidermidis* polysaccharide intercellular adhesin. *The Journal of Biological Chemistry*, 273(29), 18586-18593.

93. Chmielewski, R. A. N. and Frank, J. F. (2003). Biofilm formation and control in food processing facilities. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2(1), 22-32.
94. Poulsen, L. V. (1999). Microbial biofilm in food processing. *Lebensmittel-Wissenschaft and Technology*, 32(6), 321-326.
95. Klausen, M., Heydorn, A., Ragas, P., Lambertsen, L., Aaes-Jørgensen, A., Molin, S. and Tolker-Nielsen, T. (2003). Biofilm formation by *Pseudomonas aeruginosa* wild type, flagella and type IV pili mutants. *Molecular Microbiology*, 48(6), 1511-1524.
96. Kumar C. G. and Anand S. K. (1998). Significance of microbial biofilms in food industry: A review. *International Journal Food Microbiology*, 42, 9–27.
97. Sauer, K., Camper, A. K., Ehrlich, G. D., Costerton, J. W. and Davies, D. G. (2002). *Pseudomonas aeruginosa* displays multiple phenotypes during development as a biofilm. *Bacteriology*, 184(4), 1140-1154.
98. Kaplan, J. B., Ragunath, C., Velliyagounder, K., Fine, D. H. and Ramasubbu, N. (2004). Enzymatic detachment of *Staphylococcus epidermidis* biofilms. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 48(7), 2633-2636.
99. Costerton, J. W., Lewandowski, Z., Caldwell, D. E., Korber, D. R. and Lappin-Scott, H. M. (1995). Microbial biofilms. *Annual Review of Microbiology*, 49, 711-745.
100. Temel, A. ve Eraç, B. (2018). Bakteriyel biyofilmler: saptama yöntemleri ve antibiyotik direncindeki rolü. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 48(1), 1-13.
101. Erdem, B., Aysev, D., Gerçeker, D. ve Erler, F. (1995). Çeşitli klinik örneklerden izole edilen Stafilokok suşlarında kristal viyole reaksiyonu. *Mikrobiyoloji Bülteni*, 29, 233-240.
102. Belanger, M., Begin, C. and Jacques, M. (1995). Lipopolysaccharides of *Actinobacillus pleuropneumoniae* bind pig hemoglobin. *Infection and Immunity*, 63, 656-662.
103. Bover-Cid, S., Hugas, M., Izquierdo-Pulido, M. and Vidal-Carou, M.C. (2000). Amino acid-decarboxylase activity of bacteria isolated from fermented pork sausages, *International Journal of Food Microbiology*, 66(2001), 185-189.
104. Sağlam, D. ve Şeker, E. (2016). Gıda kaynaklı bakteriyel patojenler. *Kocatepe Veteriner Dergisi*, 9(2), 105-113.
105. Tomaras, A. P., Dorsey, C. W., McQueary, C. N. and Actis, L. A. (2008). *Molecular basis of Acinetobacter virulence and pathogenicity*. U. Gerischer (Ed.). *Acinetobacter Molecular Biology*. Norfolk: Caistr Academic Press, 265-97.
106. Wandersman, C. and Delepelaire, P. (2004). Bacterial iron sources: from siderophores to hemophores. *Annual Reviews of Microbiology*, 58, 611-47.

107. Pondschn, R. and Ullman, U. (1998). Klebsiella spp. as nosocomial pathogens: epidemiology, taxonomy, typing methods and pathogenicity factors. *Clinical Microbiology Review*, 589-603.
108. Nassif, X. and Sansonetti, P. J. (1986). Correlation of the virulence *Klebsiella pneumoniae* K1 and K2 with the presence of a plasmid encoding aerobaktin. *Journal of Infection and Immunity*, 54, 603-608.
109. Yalçın, E. (2010). *Etlerden izole edilen Klebsiella türlerinde siderofor oluşumu, serum direnci, hemolitik aktivite ve geniş spektrumlu beta laktamaz üretiminin belirlenmesi*. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 13.
110. Bayraktar, B., Yıldız, D., Bulut, E., Öcalmaz, Ş. ve Seber, E. (2004). *Staphylococcus aureus*'un identifikasyonunda kullanılan üç metodun değerlendirilmesi. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 34, 211-214.
111. Yavaş, S. (2015). *Gıdalardan izole edilen Enterobacteriaceae türlerinin amino asit dekarboksilaz aktivitesi biyofilm oluşumu ve antibiyotik dirençliliklerinin belirlenmesi*. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 37-47.
112. Anlı, R. E. ve Bayram, M. (2009). Biogenic amines in wines. *Food Reviews International*, 25, 86-102.
113. Arena, M. E. and Manca De Nadra, M. C. (2001). Biogenic amine production by *Lactobacillus*. *Journal of Applied Microbiology*, 90, 158-162.
114. Alper, N. ve Temiz, A. (2001). Gıdalardaki biyojen aminler ve önemi. *Türk Hijyen ve Deneyisel Biyoloji Dergisi*, 58, 71-80.
115. Çolak, H. ve Aksu, H. (2002). Gıdalarda biyojen aminlerin varlığı ve oluşumunu etkileyen faktörler. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, 13, 35-40.
116. Min-Ki K., Jae-Hyung M. and Han-Joon H. (2009). Biogenic amine formation and bacterial contribution in fish, squid and shellfish. *Food Chemistry*, 116(2009), 87–95.
117. Bunkova, L., Bunka, F., Klčovska, P., Mrkvicka, V, Dolezalova, M. and Kracmar, S. (2009). Formation of biogenic amines by Gram-negative bacteria isolated from poultry skin. *Food Chemistry*, 121(2010), 203–206.
118. Sevim-Çelik, E., Karaoğlu-Alpay, Ş., Sevim, A. ve Özgümüş, O. B. (1993). İçme sularından izole edilen *Bacillus* suşlarının identifikasyonu ve antibiyotiklere direnç profilleri. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 36(4), 219-223.
119. Uğur, A. R., Türk Dağı, H., Tuncer, İ., Fındık, D. ve Arslan, U. (2013). İdrar kültürlerinden izole edilen *Escherichia coli* suşlarının antibiyotik duyarlılığı ve genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz oranı. *Ankem Dergisi*, 27(1), 13-18.

120. Blanc, V., Mesa, R., Saco, M., Lavilla, S., Prats, G., Miro, E., Navarro, F., Cortes, P. and Llasera, M. (2006). ESBL and plasmidic C β -lactamase-producing *E. coli* strains isolated from poultry, pig and rabbit farms. *Journal of Veterinary Microbiology*, 118, 299-304.
121. Brinas, L., Moreno, M. A., Teshager, T., Saenz, Y., Porrero, M. C., Dominguez, L. and Torres, C. (2005). Monitoring and characterization of extended-spectrum β -lactamase in *Escherichia coli* strains from healthy and sick animals in Spain 2003. *Antimicrobial Agents Chemother*, 49, 1262-1264.
122. Hammerun, A. M. and Heuer, O. E. (2009). Human health hazards from antimicrobial resistant *Escherichia coli* of animal origin. *Clinical Infectious Diseases*, 48, 916-921.
123. Locatelli, C., Caronte, I., Scaccabarozzi, L., Migliavacca, R., Pagani, L. and Moroni, P. (2009). Extended-spectrum β -lactamase production in *E. coli* strains isolated from clinical bovine mastitis. *Veterinary Research Communications*, 33, 141-144.
124. CLSI, (2009). Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests, *Clinical and Laboratory Standards Institute*.
125. Rangasamy, P. N., Iyer, M. and Roginski, H. (1993). Isolation and characterization of *Bacillus cereus* in milk and dairy products manufactured in Victoria. *The Australian Journal of Dairy Technology*, 48, 93-95.
126. Maraş, Y. (1997). Çiğ süttten izole edilen *Bacillus türleri* üzerine değişik tuz konsantrasyonlarında *Lactobacillus casei* ve *Lactobacillus helveticus*'ların inhibitör etkileri ve *Bacillus*'ların beta laktamaz enzim aktivitelerinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 9.
127. Warke, R., Kamat, A., Kamat, M. and Thomas, P. (2000). Incidence of pathogenic psychrotrophs in ice creams sold in some retail outlets in Mumbai, India. *Food Control*, 11(2), 77-83.
128. Önganer, A. N. ve Kırbağ, S. (2009). Diyarbakır'da taze olarak tüketilen çökelek peynirlerinin mikrobiyolojik kalitesi. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 25(1-2), 24-33.
129. Özçelik, B. ve Çıtak, S. (2009). Evaluation of antibiotic resistance of *Bacillus cereus* isolates in ice-cream samples sold in Ankara. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*, 6(3), 231-238.
130. Çıtak, S., Gündoğan, N. ve Alas, Z.T. (2010). Incidence and antimicrobial resistance of *Bacillus cereus* isolated from Turkish White cheese and ice-cream samples. *CAB Direct*, 65(1), 52-55.
131. Gündoğan, N. ve Avcı, E. (2014). Occurrence and antibiotic resistance of *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus* in raw milk and dairy products in Turkey. *International Journal of Dairy Technology*, 67(4), 562-569.

132. Ağaoğlu, S., Ekici, K., Alemdar, S. ve Dede, S. (1999). Van ve yöresi kaynak sularının mikrobiyolojik, fiziksel ve kimyasal kaliteleri üzerine araştırmalar. *Van Tıp Dergisi*, 6(2), 30-33.
133. Kalkan A., Aktan H. T., Kamber U., Ülgen M. T. ve Mutluer B. (1991). Beyaz peynirlerde koliform bakteriler, (*E. coli* ve *K. pneumoniae*)'in bulunuşu üzerinde araştırma. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 38, 108-113.
134. Ergün, Ö. ve Civan, E. (1992). İstanbul'da tüketime sunulan ambalajlı, ambalajsız, yerli ve ithal dondurmaların genel mikrobiyolojik kaliteleri. *Veterinarium*, 3(1), 29-31.
135. Vatan, T. (1996). *Bursa il merkezinde satışa sunulan kaşar peynirlerinin kimyasal ve mikrobiyolojik özellikleri üzerine araştırmalar*. Yüksek Lisans Tezi, Uludağ Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Bursa, 22.
136. Gönül Ş. A. (1997). Çiğ süt ve peynir örneklerinin enterohemorajik *E. coli*'ye (O157:H7) rastlanma sıklığı. *Kükem Dergisi*, 20, 69-73.
137. Wilson, I. G., Heaney, J. C. and Weatherup, S. T. (1997). The effect of icecream-scoop water on the hygiene of ice cream. *Epidemiol Infect*, 119(1), 35-40.
138. Dığrak, M., Tanış, H., Bağcı, E. ve Kırbağ, S. (2000). Kahramanmaraş'ta tüketime sunulan dondurmnlarda *Listeria*, *Salmonella*, *E. coli* ve *K. pneumoniae*'nin araştırılması. *GIDA*, 25(5), 349-353.
139. Çıtak, S., Yücel, N. ve Gündoğan, N. (2000). Research on the microbiological quality of the pasteurized milk presenting to the consumption on Ankara. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 57(3), 171-176.
140. Yücel, N. ve Çıtak, S. (2000). Dondurma örneklerinde bazı mikroorganizmaların varlığı üzerine bir araştırma. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 57(3), 165-170.
141. Doğan, H. B., Çakır, İ., Keven, F., Coşansu, S., Kırıl, N., Dağır İnan, T., Gürsu, G. ve Halkman, A. K. (2001). Çeşitli gıdalarda koliform, fekal koliform ve *E.coli* varlığı. *GIDA*, 26(2), 83-90.
142. Evrensel-Saltan, S., Temelli, S. ve Anar, Ş. (2003). Mandıra düzeyindeki işletmelerde beyaz peynir üretiminde kritik kontrol noktalarının belirlenmesi. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, *Tübitak*, 27, 29-35.
143. Tekinşen, O. C., Patır, B. ve Alkan, M. (1993). Şavak peynirinde koliform grubu mikroorganizmalar üzerine araştırmalar. *Selçuk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 9(2), 8-12.
144. Keskin, Y., Özyaral, O., Başkaya, R. ve Acar-Susur, M. (2006). Semt pazarlarında satılan beyaz peynirlerin mikrobiyolojik kalitelerinin araştırılması. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 36(1), 9-19.

145. Akkaya, L., Alişarlı, M., Kara, R. ve Telli, R. (2007). Afyonkarahisar’da tüketime sunulan çiğ süt ve peynirlerde *E. coli* O157:H7 varlığının belirlenmesi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 18(1), 1-5.
146. Dinç, G., Ata, Z. ve Temelli, S. (2012). Sığır mastitislerinden izole edilen *Escherichia coli* suşlarında geniş spektrumlu beta-laktamaz aktivitesi ve antibiyotik dirençlilik profillerinin incelenmesi. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 59, 85-88.
147. Melkamsew, T. A., Pal, M. and Beda, A. H. (2012). Bacteriological study on coliform organisms from Ethiopian traditional cheese west showa zone, Ethiopia. *International Journal of Microbiological Research*, 3(3), 188-191.
148. Mattila-Sandholm, T. and Wirtanen, G. (1992). Biofilm formation in the industry: A Review. *Food Reviews International*, 8(4), 573-603.
149. Maya, A. S., Prabhakar, K., Hanna, L. E. ve Sarayu, Y. L. (2011). Phenotypic and genotypic characterization of extended spectrum β - Lactamase producing *Escherichia coli* clinical isolates from semiurban area. *Journal of Pharmacy Research*, 4, 4-10.
150. Meshram, L., Patidar, K.R., Khare, M., Bagde, S., Sahare, N. K. and Singh, V. (2012). Comparative analysis between biofilm formation of commensal and pathogenic *Escherichia coli* isolates. *Asiatic Journal of Biotechnology Resources*, 03(10), 1441-1446.
151. Samie, A. and Nkgau, T. F. (2012). Biofilm production and antibiotic susceptibility profile of *Escherichia coli* isolates from HIV and AIDS patients in the Limpopo Province. *African Journal of Biotechnology*, 11(34), 8560-8570.
152. Montanhini, M. T .M., Montanhini, R. N., Pinto, J. P. N. and Bersot, L. S. (2013). Effect of temperature on the lipolytic and proteolytic activity of *Bacillus cereus* isolated from dairy products. *International Food Research Journal*, 20(3), 1417-1420.
153. Gündoğan, N. ve Ataol, Ö. (2012). Et örneklerinden izole edilen *Staphylococcus aureus* ve koagülaz negatif stafilokokların biyofilm üretimi ve DNaz aktivitesinin belirlenmesi. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 69(3), 135-142.
154. Devriese, L. A. and Oeding, P. (1975). Coagulase and heat-resistant nuclease producing *Staphylococcus epidermidis* strains from animals. *Journal of Applied Bacteriology*, 39, 197-207.
155. Genç, G. (2012). *Çanakkale’de (Türkiye) tüketilen bazı ezine peynirlerindeki hareketli Aeromonas türlerinin izolasyonu ve identifikasyonu*. Yüksek Lisans Tezi, Çanakkale 18 Mart Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Çanakkale, 18.
156. Küçüksarı, R. (2013). *Determination of presence and some pathogenic characteristic of motile Aeromonas species in fish and ground beef marketed in Bolu*. Yüksek Lisans Tezi, Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bolu, 8.

157. Fernandes-Silva Da, M., Fujimoto, G., Schneid, I. and Kabuki, D. Y. (2014). Enterotoxigenic profile, antimicrobial susceptibility and biofilm formation *Bacillus cereus* isolated from ricotta processing. *Journal of International Dairy*, 38, 16-23.
158. Sümengen, M., Dinçer, S. ve Ünal, Ü. M. (2016). *Bacillus subtilis* kullanılarak atık ekmeklerden alkali proteaz ve biyosüpfektan üretimi. *Çukurova Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 34(6), 70-79.
159. İnan, N. ve Gürler, N. (2004). İdrar yolu infeksiyonu olan çocuklardan izole edilen *Escherichia coli* suşlarında antibiyotik direnci ve çeşitli virulans faktörlerinin araştırılması. *Ankem Dergisi*, 18(2), 89-96.
160. Güney, E. (2014). *Bacillus türlerinde siderofor üretimi ve Bacillus cereus DSM 4312'de siderofor üretiminin optimizasyonu*. Yüksek Lisans Tezi, Gebze Yüksek Teknolojisi Enstitüsü, Mühendislik ve Fen bilimleri Enstitüsü, Gebze, 7-8.
161. Vagralli, M. A. (2009). Siderophore production by uropathogenic *Escherichia coli*, *Department of Microbiology. Jawaharlal Nehru Medical College*, 52(1), 126-127.
162. Mortazavi, S. (2017). *Vajen ve idrar kültürlerinden izole edilen maya ve bakterilerin lipaz, siderofor ve biyofilm özellikleri*. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 91.
163. Santos, M. H. S. (1997). Amino acid decarboxylase capability of microorganisms isolated in Spain fermented meat products. *International Journal of Microbiology*, 39(1998), 227-230.
164. Shelef, L. A., Surtani, A., Kanagapandian, K. and Wei, T. (1998). Automated detection of amino acid-decarboxylation in *Salmonellae* and other *Enterobacteriaceae*. *Food Microbiology*, 15, 199-205.
165. Sevim-Çelik, E., Karaoğlu-Alpay, Ş., Sevim, A. ve Özgümüş, O. B. (2006). İçme sularından izole edilen *Bacillus* suşlarının identifikasyonu ve antibiyotiklere direnç profilleri. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 36(4), 219-223.
166. Yıbar, A., Çetinkaya, F., Soyutemiz, E. ve Yaman, G. (2017). Prevalence, enterotoxin production and antibiotic resistance of *Bacillus cereus* isolated from milk and cheese. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 23(4), 635-642.
167. Yılmaz, E. İ. (2014). *Ege Denizi'nden alınan sediment örneklerindeki bakterilerin antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi*. Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir, 3-5.
168. Özgümüş, O. B., Çelik-Sevim, E., Karaoğlu-Alpay, Ş., Sandallı, C. ve Sevim, A. (2007). Molecular characterization of antibiotic resistant *Escherichia coli* strains isolated from tap spring waters in a coastal in Turkey. *The Journal of Microbiology*, 45, 379-387.
169. Tao, R., Ying, G. G., Su, H. C., Zhou, H. W. and Sidhu, J. P. S. (2009). Detection of antibiotic resistance and tetracycline resistance genes in *Enterobacteriaceae* isolated from te Pearl rivers in South China. *Environmental Pollution*, 158(2010), 2101-2109.

170. Bhavnani, S. and Ambrose, P. (2006). Outcomes evaluation of patients with ESBL and nonESBL- producing *Escherichia coli* and *Klebsiella* species as defined by CLSI reference methods: Report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 54, 231-236.
171. Costa, L., Radhouani, H., Gomes, C., Igrejas, G. and Poeta, P. (2008). High prevalence of extended-spectrum β -lactamases *Escherichia coli* and vancomisin resistant enterococci isolates from chicken products. A problem of republic health. *Journal of Food Safety*, 30, 141-153.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : KERA, Müge
 Uyuğu : T.C.
 Doğum tarihi ve yeri : 24.02.1992, Ankara
 Medeni hali : Evli
 Telefon : 0 (553) 538 38 33
 e-mail : mge.turk92@gmail.com



Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Yüksek lisans	Gazi Üniversitesi / Biyoloji Ana Bilim Dalı	Devam ediyor
Lisans	Gazi Üniversitesi / Biyoloji Ana Bilim Dalı	2014
Lise	Selehattin Akbilek Lisesi	2010

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2015-Devam ediyor	Final Eğitim Kurumları	Biyoloji Öğretmeni

Yabancı Dil

İngilizce

Yayınlar

1. Türk, M. ve Gündoğan, N. (2016). *Süt ve süt ürünlerinden izole edilen Bacillus türlerinin bazı ekstrasellüler enzim aktivitelerinin araştırılması*. I. Uluslararası Turizm ve Mikrobiyal Gıda Güvenliği Kongresi, Antalya.

Hobiler

Kitap okumak, dikiş dikmek, ahşap boyama



GAZİ GELECEKTİR..