

Bazı Ticari ve Ev Yapımı Yoğurtlardan İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Antibiyotik Duyarlılıkları

Handan ÇELİK^a, Yusuf DURAK^b, Ahmet UYSAL^c

^a Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kampüs, Konya, Türkiye

^b Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü, Kampüs, Konya, Türkiye

^c Selçuk Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Bölümü, Kampüs, Konya, Türkiye

e-mail: ydurak@selcuk.edu.tr

Öz: Bu çalışmada, ticari ve ev yapımı yoğurt örneklerinden izole edilen laktik asit bakterilerinin çeşitli antibiyotiklere karşı duyarlılıklarının araştırılması amaçlandı. İlk olarak suşların izolasyonu ve identifikasyonu yapıldı. Yoğurt kültürü bakterilerinden *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*'un izolasyonunda M17 agar (Merck) kullanıldı. İnoküle edilen plaklar 37°C'de 48-72 saat inkübe edildi. *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*'un izolasyonunda ise de Man Rogosa Sharp Agar (MRS agar, Merck) kullanıldı. Plaklar 37°C'de 48-72 saat inkübe edildi. İzole edilen kolonilerin mikroskopik ve makroskopik incelemeleri yapıldı. Elde edilen 19 laktobasil ve 19 streptokok suşunun antibiyotik duyarlılık ve dirençliliklerinin belirlenmesi için Clinical and Laboratory Standards Institute tarafından önerilen disk difüzyon metodu uygulandı. Bu amaçla ticari olarak temin edilen 10 farklı antibiyotik diski kullanıldı. İnkübasyon süresi sonunda inhibisyon zon çapları ölçüldü. Streptokok suşlarının en fazla trimetoprim-sülfometaksazol (%84.21), sefotaksim (%31.57) ve gentamisin'e (%26.35) karşı dirençli olduğu belirlendi. Bu suşların tamamının kloramfenikol, vankomisin, ampisilin, eritromisin ve ofloksasin'e duyarlı oldukları gözlemlendi (%100). Laktobasil suşları trimetoprim-sülfometaksazol ve ofloksasin'e karşı %100, gentamisine karşı ise %52.6 oranında dirençli görüldü. Laktobasil suşlarının yedi antibiyotiğe karşı (kloramfenikol, vankomisin, rifampin, sefotaksim, ampisilin, tetrasiklin ve eritromisin) %100 oranında duyarlı oldukları belirlendi. Her iki suş grubu kıyaslandığında, vankomisin, eritromisin ve ampisilin'in bu suşlara karşı en etkili antimikrobik ajanlar oldukları gözlemlendi. Laktobasil suşlarının, gentamisin'e karşı direnç oranı, Streptokok suşlarına göre daha yüksek görüldü.

Anahtar kelimeler: Yoğurt, *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, laktik asit bakterileri, antibiyotik duyarlılık.

Antibiotic Susceptibilities of Lactic Acid Bacteria Isolated from Some Commercial and Homemade Yoghurts

Abstract: In this study, investigation of antibiotic susceptibilities of lactic acid bacteria isolated from commercial and homemade yoghurt samples against antibiotics was aimed. Firstly, isolation and identification of the strains were done. M17 agar (Merck) was used to isolation of *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* yoghurt culture bacteria. Inoculated plates were incubated at 37°C for 48-72 hours (h). Also de Man Rogosa Sharp Agar (MRS agar, Merck) was used for isolation of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. Plates were incubated at 37°C for 48-72 h. Microscopic and macroscopic investigations of colonies which were isolated were done. For the determination of antibiotic susceptibility and resistance of 19 lactobacilli and 19 streptococci strains, the disc diffusion method recommended by Clinical and Laboratory Standards Institute was performed. For this purpose commercially purchased 10 different antibiotic discs were used. After incubation periods inhibition zone diameters were measured. It was determined that streptococci strains were the most resistant against trimethoprim-sulphometaxazole (84.21%), cefotaxime (31.57%) and gentamicin (26.35%). It was observed that all of the streptococci strains were susceptible to chloramphenicol, vancomycin, ampicilline, erythromycin and ofloxacin. It was seen that lactobacilli strains were resistant against trimethoprim-

sulphometaxazole and ofloxacin with a rate of 100% and were resistant against gentamicin at a rate of 52.6%. However it was determined that lactobacilli strains were susceptible against seven antibiotics (chloramphenicol, vancomycin, rifampine, cefotaxime, ampicilline, tetracycline and erythromycine) with a rate of 100%. When two groups of bacteria were compared, it can be concluded that vancomycin, erythromycine, and ampicilline were the most effective antimicrobial agents against these strains. It was seen that gentamicin resistance rate of lactobacilli strains were higher than Streptococci strains.

Keywords: Yoghurt, *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, lactic acid bacteria, antibiotic susceptibility.

1. Giriş

Süt ve süt ürünlerinin kullanımı, kronolojik olarak oldukça eskiye dayanmaktadır (Durak ve ark., 2015). Yoğurt; fermente süt ürünleri arasında uzun yıllardan beri bilinen ve yaygın olarak tüketilen bir süt ürünüdür. Türk Standartlar Enstitüsü'nün 1330 sayılı standardında yoğurt; “çiğ süt veya pastörize süt standartlarına uygun, tercihen homojenize edilmiş sütlerin *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* ve *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*'un etkisiyle laktik asit fermentasyonu sonucu elde edilen ve yoğurt kültürlerini canlı olarak içeren fermente bir süt ürünüdür” şeklinde tanımlanmıştır (Tekinşen ve ark., 2002; Durak ve ark., 2008). Yoğurt yapımında starter kültür olarak kullanılan laktik asit bakterileri, sütte bulunan laktozu homofermentatif yolla hidrolize ederek temel olarak laktik asit (% 90) oluşturmaları ile karakterize edilirler (Kahraman, 2006). Yoğurt bakterilerinin probiyotik özellikte oldukları ve pH'ı düşürerek aside duyarlı bakterilerin üremelerini inhibe ettikleri bilinmektedir. Bu özellikleri yoğurda

antimikrobiyal önem kazandırmaktadır. Laktik asit bakterilerinin ürettiği antimikrobiyal maddeler patojen ve saprofit çeşitli bakterilerin gelişmesini inhibe ederler. Bu maddeler başta laktik asit olmak üzere; asetik asit, formik asit, fenil laktik asit, kaproik asit, organik asitler, etanol, hidrojen peroksit, diasetil, bakteriyosinler ve bakterisidal proteinlerdir (Akpınar ve ark., 2011). Bu maddeler, zararlı bakterilerin üremesini ve gelişmesini önleyerek, yoğurdun sağlığa yararlı bir ürün olarak önemini daha da arttırmaktadır.

Özellikle, yoğurt bakterileri düşük pH şartlarında ürettikleri ve isimleri yukarıda verilen maddelerin aktivitesi yardımı ile patojen mikroorganizmaların neden olduğu bazı hastalıkların tedavisinde ve bu hastalıklardan korunmada oldukça etkilidirler. Ayrıca, *Clostridium difficile* ve *Helicobacter pylori* gibi patojen mikroorganizmaların neden olduğu gastrointestinal sistem enfeksiyonlarının tedavisinde ve bu patojenlerin kolonizasyonlarının engellenmesinde de önemli rol oynamaktadırlar (Petti ve ark., 2008).

Gıdaların üretiminde kullanılan starter kültür bakterilerinin, muhtemel antibiyotik direnç genleri taşıdığı düşünülmüştür (Teuber ve ark., 1999; Danielsen ve Wind, 2003). Son yıllarda, antibiyotik direncin kaynağı ve yayılması ile ilgili çalışmalar, genellikle klinik bakteri türleri üzerinde yoğunlaşmıştır. Son zamanlarda, gıda bakterilerinin antibiyotik direnç genlerinin kaynağı olarak rol oynayabileceği ile ilgili bazı görüşler ileri sürülmüştür. (Klein ve ark., 1998; Franz ve ark., 2005). Fermente gıda ürünlerinin hazırlanmasında kullanılan çeşitli starter kültürler yolu ile insan vücuduna çok sayıda bu direnç genlerinin taşınması mümkün görülmektedir. Genel olarak zararsız kabul edilen probiyotik veya faydalı gıda bakterilerinin bulaşıcı tipte antibiyotik direnç genlerini taşımaları ve bunları sindirim sistemindeki saprofit ve/veya patojen bakterilere aktarabilmeleri durumunda; önemli sağlık problemlerinin artışına neden olabileceği düşünülmektedir. Bu nedenle, bakteri kültür suşların değerlendirilmesinde, aktarılabilen (bulaşıcı) antibiyotik direnç genlerinin varlığını ortaya koyan metotların geliştirilmesinin önemli bir sağlık koruma kriteri olarak göz önüne alınması gerektiği belirtilmektedir (Hummel ve ark., 2007).

Bazı laktik asit bakterileri vankomisin gibi glikopeptidan antibiyotiklere dirençlidir. Kloramfenikol, eritromisin, streptomisin, tetrasiklin ve vankomisin gibi

antibiyotiklere karşı direnç kazandıran genler, transpozonlar veya plazmitler gibi aktarılabilen elementler üzerinde yerleşir ve bu durum laktokoklarda (Perreten ve ark., 1997) ve laktobasillerde (Gfeller ve ark., 2003) karakterize edilmiştir. Çeşitli antibiyotiklere karşı direnç şekli, kromozomal veya ekstra kromozomal kaynaklı olabilmektedir. Laktobasiller, pediokoklar ve leukonostok türlerinin, doğal olarak yüksek düzeyde vankomisin direncine sahip oldukları bildirilmiştir. Bazı laktobasillerde yüksek sıklıkta meydana gelen kendiliğinden mutasyonlarla kanamisin ve streptomisine karşı direnç gelişmiştir (Curragh ve Collins, 1992).

Günümüzde klinik kaynaklı bakterilerde antibiyotik direnci ve mekanizmaları ile ilgili çok sayıda çalışma olmasına rağmen, gıdalardan izole edilen laktik asit bakterilerinin antibiyotik direnç/duyarlılıkları ile ilgili çalışma sayısı çok azdır (Çataloluk ve Gogebakan, 2004; Flórez ve ark., 2005). Bu çalışma; bazı ev yapımı ve ticari yoğurt örneklerinden izole ve identifiye edilen laktik asit bakterilerinin, çeşitli antibiyotiklere karşı duyarlılık ve dirençlilik durumlarını belirlemek amacı ile yapılmıştır.

2. Materyal ve Metot

2.1. Yoğurt örneklerinin toplanması ve bakterilerin izolasyonu

Çalışmada kullanılmak üzere, Konya il merkezindeki hipermarketlerden 17 farklı markadan yoğurt örnekleri satın alındı. Ev yoğurtlarından ise iki örnek alınarak, toplam 19 yoğurt örneği elde edildi. Örnekler laboratuvara getirilerek, kullanılmaya kadar buzdolabında + 4°C'de saklandı. Laktik asit bakterilerinin izolasyonu için, de Man Rogosa Sharp (MRS) Agar (Merck) ve M17 Agar (Merck) besiyerleri kullanıldı (Durak ve ark., 2015). Bakterilerin gram boyanma özellikleri; Microscopy Gram Color (Orkim) gram boyama seti ile belirlendi. Mikroorganizmaların antibiyotiklere duyarlılık ve dirençliliklerinin belirlenmesi için Clinical and Laboratory Standarts Institute (CLSI, 2011) tarafından önerilen disk difüzyon metodu uygulandı. Bu amaçla Chloramphenicol, Vancomycin, Gentamicin, Rifampin, Trimethoprim-sulphamethoxazole, Cefotaxime, Ampicillin, Ofloxacin, Tetracycline, Erythromycin' antibiyotik diskleri ticari olarak Bioanalyse firmasından temin edildi.

Toplanan yoğurt örneklerinden laktik asit bakterilerinin izolasyonu ve identifikasyonu için öncelikle kullanılacak olan besiyerleri hazırlandı. *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*'un izolasyonu için M17 besiyeri kullanıldı. M17 Agar hazırlamak için 55 g toz

halindeki besiyeri 950 ml distile su içerisinde süspanse edildi. Otoklav'da 121°C'de 15 dakika steril edildi. 50°C'ye soğutulduktan sonra 50 ml steril laktoz solüsyonu (% 10 w/v) ilave edildi. Hazırlanan besiyeri seri bir şekilde 9 cm çapındaki petri plaklarına 25'er ml olarak dağıtıldı. Daha sonra her yoğurt örneğinden 1 g tartılarak içinde 9 ml steril serum fizyolojik (% 0.9) bulunan tüpler içinde iyice homojenize hale getirildi. Homojenize edilen örneklerden 0.1 ml alınarak katılaştırıcı M17 Agar besiyeri plaklarının yüzeyine homojen bir şekilde dağıtılarak yayma ekimi yapıldı. Ekim yapılan plaklar 37°C'de 48-72 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonunda plaklarda gelişen kolonilerden gram boyama ve katalaz testi yapıldı. Gram (+) ve katalaz (-) olanlar *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* olarak doğrulandı. *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* olduğu doğrulanan koloniler öze ile içinde M17 Broth bulunan besiyerine alındı. Tüpler inkübatöre konularak 48-72 saat inkübe edildi (Terzaghi ve Sandine, 1975). Böylece saf kültür elde edildi. Bu saf kültürler daha sonra kullanılmak üzere -80°C'de saklandı.

Yoğurt kültürü bakterilerinden *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*'un izolasyonu için ise, MRS Agar kullanıldı. 52.2 g toz halindeki besiyeri 1000 ml distile su içerisinde süspanse edildi. Otoklav'da 121°C'de 15 dakika steril edildi.

Besiyeri 45-50°C sıcaklıkta iken 9 cm çapındaki steril petri kutularına 25'er ml olarak dağıtıldı. Daha sonra her yoğurt örneğinden 1 g tartılarak içinde 9 ml steril serum fizyolojik (% 0.9) bulunan tüpler içinde iyice homojenize hale getirildi. Homojenize edilen örneklerden 0.1 ml alınarak katılaştıran M17 Agar besiyeri plaklarının yüzeyine homojen bir şekilde dağıtılarak yayma ekimi yapıldı. Ekim yapılan plaklar anaerobik kavanoz (Anaerocult® A, Merck) içine yerleştirilerek etüve alındı ve 42°C'de 48-72 saat inkübe edildi. İnkübasyon süresi sonunda plaklar incelendi. Üreme gösteren kolonilerden gram boyama yapılarak *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*'un ön tanısı gerçekleştirildi. *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* olduğu doğrulanan koloniler öze ile içinde MRS Broth bulunan besiyerine alındı. Tüpler etüve konularak 42°C'de 48-72 saat inkübe edildi (Terzaghi ve Sandine, 1975). Elde edilen saf kültürler daha sonra kullanılmak üzere -80°C'de saklandı.

2.2. Suşların antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi

Kirby Bauer Disk Difüzyon yöntemine göre, daha önce stok kültür olarak

hazırlanmış olan *S. thermophilus* ve *L. bulgaricus* kültürleri M17 Broth ve MRS Broth besiyerlerinde yeniden canlandırılarak üreme yoğunlukları, antibiyogram testinde daha iyi sonuç vermesi amacıyla 2 nolu McFarland tüp yoğunluğuna ayarlandı (Hummel ve ark., 2007). Daha sonra MRS Agar ve M17 Agar besiyerleri hazırlandı. Sıvı kültürlerdeki *S. thermophilus* ve *L. bulgaricus* suşlarından 0.1 ml alınarak ilgili besiyerleri plaklarının yüzeyine aşılanarak homojen bir şekilde yayılması sağlandı. Sonra oda sıcaklığında 10-15 dakika kurumaları için bekletildi. Yayma ekimi yapılan petri kutuları kuruduktan sonra ticari antibiyotik kağıt diskleri uygun aralıklarla petri kaplarının yüzeyine steril bir pens yardımıyla yerleştirildi. Bu besiyerleri *S. thermophilus* için 37°C'de 48-72 saat, *L. bulgaricus* için anaerobik kavanozda Anaerocult® A (Merck) anaerobik kit varlığında 42°C'de 48-72 saat inkübe edilerek oluşan inhibisyon zonları ölçüldü. Sonuçlar Clinical and Laboratory Standarts Institute CLSI (2011) ve Han ve ark. (2015) yöntemine göre değerlendirildi (Tablo 1, Tablo 2).

Tablo 1. *Streptococcus* suşları için kullanılan antibiyotikler, konsantrasyonları ve etki değerlendirmeleri (CLSI, 2011)

Antibiyotikler	Disk içeriği (µg)	Zon çapı sınır değerleri (mm)		
		Dirençli (R)	Orta Duyarlı (I)	Duyarlı (S)
Chloramphenicol (C)	30	≤17	18-20	≥21
Vancomycin (VA)	30	-	-	≥17
Gentamicin (GM)	10	≤12	13-14	≥15
Rifampin (RA)	5	≤16	17-19	≥20
Trimethoprim-sulphamethoxazole (SXT)	25	≤14	15-17	≥18
Cefotaxime (CTX)	30	≤25	26-27	≥28
Ampicillin (AM)	10	-	-	≥24
Ofloxacin (OFX)	5	≤12	13-15	≥16
Tetracycline (TE)	30	≤18	19-22	≥23
Erythromycin (E)	10	≤15	16-20	≥21

Tablo 2. *Lactobacillus* suşları için kullanılan antibiyotikler, konsantrasyonları ve etki değerlendirmeleri (Han ve ark., 2015)

Antibiyotikler	Disk içeriği (µg)	Zon çapı sınır değerleri (mm)		
		Dirençli (R)	OrtaDuyarlı (I)	Duyarlı (S)
Chloramphenicol (C)	30	≤12	13-17	≥18
Vancomycin (VA)	30	≤9	10-11	≥12
Gentamicin (GM)	10	≤12	13-14	≥15
Rifampin (RA)	5	≤16	17-19	≥20
Trimethoprim-sulphamethoxazole (SXT)	25	≤14	15-17	≥18
Cefotaxime (CTX)	30	≤22	23-25	≥26
Ampicillin (AM)	10	≤21	22-28	≥29
Ofloxacin (OFX)	5	≤12	13-15	≥16
Tetracycline (TE)	30	≤11	12-14	≥15
Erythromycin (E)	10	≤15	16-20	≥21

3. Araştırma Sonuçları ve Tartışma

Temin edilen ticari ve ev yoğurdu örneklerinden 19 adet *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ve 19 adet *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* suşu olmak üzere toplam 38 suş saf olarak izole edildi ve doğrulandı.

Suşların antibiyotik duyarlılık ve dirençlilikleri, inkübasyon süresi sonunda zon çaplarının ölçülmesi ile belirlendi. Elde edilen zon çapları ve değerlendirme sonuçları Tablo 3 ve Tablo 4'de gösterilmiştir.

Tablo 3. *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* suşlarına ait belirlenen inhibisyon zon çapları

Suşlar	C*	VA	GM	RA	SXT	CTX	AM	OFX	TE	E
SST1	30† S	20 S	15 S	26 S	12 R	33 S	32 S	15 I	31 S	31 S
SST2	27 S	18 S	16 S	26 S	11 R	31 S	31 S	15 I	28 S	28 S
SST3	28 S	21 S	14 I	37 S	12 R	33 S	30 S	17 S	31 S	29 S
SST4	26 S	20 S	13 I	27 S	15 I	33 S	32 S	15 I	29 S	30 S
SST5	25 S	20 S	16 S	25 S	11 R	34 S	32 S	17 S	30 S	29 S
SST6	20 I	22 S	11 R	25 S	6 R	6 R	30 S	18 S	26 S	30 S
SST7	30 S	22 S	13 I	26 S	13 R	35 S	32 S	18 S	31 S	34 S
SST8	26 S	18 S	14 I	25 S	12 R	31 S	30 S	15 I	28 S	28 S
SST9	23 S	18 S	15 S	23 S	10 R	30 S	29 S	15 I	28 S	25 S
SST10	32 S	26 S	14 I	29 S	15 I	33 S	30 S	20 S	27 S	32 S
SST11	24 S	22 S	11 R	25 S	6 R	6 R	30 S	19 S	17 R	31 S
SST12	29 S	23 S	13 I	25 S	6 R	6 R	32 S	20 S	31 S	35 S
SST13	22 S	23 S	11 R	23 S	6 R	6 R	30 S	19 S	24 S	25 S
SST14	28 S	20 S	13 I	27 S	13 R	32 S	33 S	17 S	29 S	31 S
SST15	26 S	19 S	16 S	25 S	11 R	32 S	30 S	15 I	28 S	28 S
SST16	24 S	22 S	11 R	26 S	14 R	6 R	31 S	20 S	25 S	30 S
SST17	28 S	21 S	21 S	28 S	15 I	34 S	36 S	18 S	32 S	30 S
SST18	30 S	22 S	13 I	25 S	11 R	32 S	31 S	18 S	28 S	30 S
SST19	20 I	22 S	11 R	15 R	6 R	6 R	31 S	19 S	25 S	26 S

* Antibiyotik kısaltmaları için Tablo 1'e bakınız.

† Ölçülen inhibisyon zon çapları R: Dirençli I: Orta duyarlı S: Duyarlı

Tablo 4. *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* suşlarına ait belirlenen inhibisyon zon çapları

Suşlar	C*	VA	GM	RA	SXT	CTX	AM	OFX	TE	E
LDB1	30† S	26 S	9 R	28 S	6 R	31 S	36 S	6 R	32 S	32 S
LDB2	35 S	36 S	14 I	30 S	6 R	38 S	40 S	6 R	36 S	37 S
LDB3	30 S	28 S	8 R	30 S	6 R	35 S	35 S	6 R	30 S	34 S
LDB4	30 S	28 S	18 S	30 S	6 R	32 S	36 S	6 R	29 S	37 S
LDB5	30 S	33 S	13 I	33 S	6 R	34 S	36 S	6 R	30 S	34 S
LDB6	30 S	26 S	9 R	30 S	6 R	35 S	35 S	6 R	29 S	35 S
LDB7	30 S	26 S	18 S	29 S	6 R	31 S	35 S	6 R	30 S	37 S
LDB8	28 S	25 S	15 S	25 S	6 R	30 S	36 S	6 R	28 S	32 S
LDB9	26 S	28 S	18 S	30 S	6 R	34 S	38 S	6 R	30 S	35 S
LDB10	32 S	28 S	19 S	30 S	6 R	34 S	35 S	6 R	30 S	36 S
LDB11	28 S	25 S	9 R	28 S	6 R	32 S	33 S	6 R	28 S	30 S
LDB12	30 S	25 S	9 R	28 S	6 R	33 S	37 S	6 R	30 S	30 S
LDB13	35 S	34 S	12 R	34 S	6 R	32 S	35 S	6 R	32 S	34 S
LDB14	33 S	28 S	10 R	31 S	6 R	36 S	35 S	6 R	32 S	32 S
LDB15	30 S	29 S	9 R	30 S	6 R	35 S	33 S	6 R	30 S	34 S
LDB16	32 S	25 S	12 R	28 S	6 R	34 S	35 S	6 R	28 S	32 S
LDB17	35 S	30 S	9 R	32 S	6 R	32 S	35 S	6 R	30 S	34 S
LDB18	37 S	30 S	13 I	33 S	6 R	37 S	40 S	6 R	35 S	30 S
LDB19	26 S	28 S	13 I	30 S	6 R	34 S	35 S	6 R	30 S	34 S

* Antibiyotik kısaltmaları için Tablo 1'e bakınız.

† Ölçülen inhibisyon zon çapları R: Dirençli I: Orta duyarlı S: Duyarlı

Çalışmadan elde edilen sonuçlara göre; izole edilen 19 *Streptococcus* suşundan 16'sının (% 84.21) SXT antibiyotiğine dirençli olduğu, 3 (% 15.79) suşun ise bu antibiyotiğe orta duyarlı olduğu belirlenmiştir (Tablo 5). *Streptococcus* suşlarında SXT'ye karşı herhangi bir duyarlılık belirlenmemiştir. Dirençlilik

yönünden ikinci sırayı altı (% 31.57) suş ile CTX antibiyotiği almıştır. CTX'e karşı 13 (% 68.43) suşun duyarlı olduğu tespit edilmiştir. Suşlardan beşi (% 26.35) GM'ye karşı dirençli bulunurken, sekiz (% 42.10) suş bu antibiyotiğe orta duyarlı, geri kalan altı (% 31.55) suş ise duyarlı olarak belirlenmiştir. Sadece birer suşun TE ve RA antibiyotiklerine karşı dirençli; 18'er suşun ise bu iki antibiyotiğe karşı % 94.74 oranında duyarlı olduğu belirlenmiştir. İzole

edilen *Streptococcus* suşlarının VA, AM ve E antibiyotiklerine karşı % 100 oranında duyarlı oldukları gözlenmiştir. C'ye karşı iki suş orta duyarlı ve 17 (% 89.48) suş ise duyarlı olarak değerlendirilmiştir. Benzer şekilde OFX'e karşı ise herhangi bir direnç belirlenmemesine rağmen altı suşun (% 31.57) orta duyarlı, 13 (% 68.43)'ünün ise duyarlı olduğu görülmüştür (Tablo 5).

Tablo 5. Yoğurtlardan izole edilen laktik asit bakterilerinin kullanılan antibiyotiklere karşı belirlenen dirençli, orta duyarlı ve duyarlı suş sayıları ve yüzde oranları

Suşlar	Lactobacillus						Streptococcus					
	R		I		S		R		I		S	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
C	0	0	0	0	19	100	0	0	2	10.52	17	89.48
VA	0	0	0	0	19	100	0	0	0	0	19	100
GM	10	52.6	4	21.05	5	26.35	5	26.35	8	42.10	6	31.55
RA	0	0	0	0	19	100	1	5.26	0	0	18	94.74
SXT	19	100	0	0	0	0	16	84.21	3	15.79	0	0
CTX	0	0	0	0	19	100	6	31.57	0	0	13	68.43
AM	0	0	0	0	19	100	0	0	0	0	19	100
OFX	19	100	0	0	0	0	0	0	6	31.57	13	68.43
TE	0	0	0	0	19	100	1	5.26	0	0	18	94.74
E	0	0	0	0	19	100	0	0	0	0	19	100

n: Suş sayısı

Lactobacillus suşları değerlendirildiğinde; suşların tamamının (%100) SXT ve OFX antibiyotiklerine karşı dirençli olduğu belirlenmiştir (Tablo 5). Buna karşılık suşların kullanılan antibiyotiklerin yedisine karşı (C, VA, RA, CTX, AM, TE ve E) % 100 duyarlı oldukları tespit edilmiştir. GM'ye karşı 10 (% 52.6) suş dirençli bulunurken, dört suş (%21.05) orta duyarlı, beş suş (% 26.35) ise duyarlı olarak görülmüştür (Tablo 5). Her iki suş

grubu karşılaştırıldığında, VA, E ve AM antibiyotiklerinin en etkili antimikrobik ajan olduğu belirlenmiştir. GM antibiyotiğine karşı ise, *Lactobacillus* suşlarının, *Streptococcus* suşlarından daha dirençli olduğu görülmüştür (Tablo 5).

Antibiyotik direnci, gerek toplum gerekse hastane kökenli enfeksiyonların tedavisinde halen sorun oluşturan ve giderek büyüyen bir sorun olarak karşımıza çıkmaktadır (Durak ve Arıkan, 1987, Gülay,

2003, Demirtürk ve Demirdal, 2004). Çoğu çalışmalar sadece patojen bakterilerin değil ayrıca kommensal bakterilerin de antibiyotik direncinin yayılmasında risk taşıdığını göstermektedir. Laktik asit bakterileri gibi kommensal bakteriler, sıklıkla birden fazla antibiyotiğe doğal olarak (intrinsik direnç) direnç gösterebilir (Ammor ve ark., 2007) ve patojenler için direnç genlerinin rezervuarı olarak rol oynayabilirler (Lukášová ve Šustáčková, 2003). Yapılan bir çalışmada Aslım ve Beyatlı (2004), yoğurtlardan izole edilen *S. thermophilus* türlerinde plazmid taşıyıcılığı ve bu türlerin antibiyotik dirençlerini incelemiştir. *S. thermophilus* suşlarının büyük bir çoğunluğunun gentamisine (% 79) ve penisiline G (% 64) dirençli, kloramfenikole (% 94) ve tetrasikline (% 88) ise duyarlı olduklarını bulmuşlardır. Çalışmamızda izole edilen Streptococcus suşları sırasıyla en fazla trimetoprim-sülfometaksazol'e (%84.21) ve sefotaksime (% 31.57) karşı direnç göstermiştir. Araştırmacıların bulgularının aksine gentamisine karşı % 26.35 oranında daha düşük direnç belirlenirken, kloramfenikole karşı benzer şekilde % 89.48 oranında duyarlılık gözlenmiş ve bu açıdan araştırmacıların sonuçlarını desteklemiştir. Mathur ve Singh (2005), yoğurt kültürü bileşeni olarak *L. bulgaricus*'un 31 suşunun sulfonamid, sulfametozaksol, kolimksin, trihorpim, polimiksin B, neomisin nalidiksik asid ve mikosatin'e karşı dirençli olduklarını

belirlemişlerdir. Streptomisin, oksasilin, oleandomisin, novobiosin, furadantin ve kloksasiline karşı duyarlılıklarını önemli olarak değerlendirmişlerdir. Kanamisin ve streptomisin duyarlılıklarını değişken, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus salivarius*, *Lactobacillus leismannii*, *Lactobacillus acidophilus* gibi çoğu suşun ise vankomisine karşı dirençli olduklarını belirtmişlerdir. Çalışmamızda kullanılan laktobasillerin trimetoprim-sülfometaksazole % 100 dirençli; vankomisine karşı ise % 100 duyarlı oldukları görülmüştür. Gad ve ark. (2014) süt ve farmasötik ürünlerden izole ettikleri laktik asit bakterilerinden laktobasillerin, vankomisine dirençli olduklarını, laktokok ve streptokokların ise oldukça duyarlı olduklarını, suşların çoğunun tetrasikline karşı duyarlı olduklarını rapor etmişlerdir. Çalışmamızda da hem laktobasiller hem de streptokoklar tetrasikline oldukça duyarlı görülmüş ve araştırmacıların bulguları ile sonuçlarımız uyum göstermiş fakat laktobasillerin tümü çalışmamızda vankomisine duyarlı bulunmuş olup herhangi bir direnç bildirilmemiştir. Tatlı (2009), 20 yoğurt örneğinden izole edilmiş 23 laktik asit bakterisinin, % 52'sinin vankomisine, % 22'sinin siprofloksasine, % 22'sinin gentamisine, % 4'ünün eritromisine ve tetrasikline dirençli olarak belirlemiştir. Ticari ve ev yapımı yoğurtlardan izole ettiğimiz *Lactobacillus delbrueckii* subsp.

bulgaricus suşlarının vankomisin ve eritromisine % 100 oranında duyarlı, gentamisine ise % 52.6 oranında dirençli oldukları saptanmıştır (Han ve ark., 2015), çalışmalarında kullandıkları 29 laktobasilin büyük bir çoğunluğunun tetrasiklin ve kloramfenikole karşı duyarlı olduğunu bildirmişlerdir. Benzer şekilde çalışmamızda da tetrasiklin ve kloramfenikol'ün her iki grup laktik asit bakteri suşlarına en etkili antibiyotiklerden olduğu söylenebilir ve araştırmacıların sonuçları ile uyumlu bulunmuştur.

Probiyotik bakterilerin gıdalarda kullanımında en büyük risk faktörü, bunların antibiyotik direnç genlerini aktarma potansiyelleri görülmektedir. Ancak bu konuda laktik asit bakterilerinin antibiyotiklere karşı sahip oldukları doğal direnç genleri konusunda çok detaylı çalışma bulunmamaktadır. Laktik asit bakterilerinin antibiyotiklere direnç profilleri konusunda daha fazla çalışma yapılmasına ihtiyaç vardır. Günümüze kadar yapılan çalışmalarda disk difüzyon, broth

mikrodilüsyon, agar difüzyon gibi farklı metotlar kullanılması nedeniyle sonuçların karşılaştırılmasında zorluklar yaşanmaktadır. Bu çalışmaların daha objektif değerlendirilebilmesi için standart bir metodun kullanılması gerekmektedir. Çalışmamızda, en sık kullanılan disk difüzyon yöntemi tercih edilmiş ve bakterilerin 10 farklı antibiyotiğe karşı dirençleri incelenmiştir.

Gıda bakterilerinin antibiyotik genlerin rezervuarı olarak rol oynayabileceği ile ilgili tartışmaların varlığı, biyoteknolojide starter kültür olarak kullanılan pek çok aktif bakterinin kontrolsüz olarak insan vücuduna girişinde önemli bir araç olabileceğini düşündürmüştür. Dolayısı ile gıdalarda kullanılan mikroorganizmaların antibiyotik direnç seviyelerinin değerlendirilmesi ve direnç faktörlerinin ortaya konmasına yönelik çalışmalarla, konuyla ilgili güvenlik açıklarının kapanacağı kanaatini taşımaktayız.

Teşekkür

Bu çalışma Selçuk Üniversitesi 15201046 no'lu BAP projeleri ile desteklenmiştir.

Kaynaklar

- Akpınar A, Yerlikaya O, Kiliç S (2011). Antimicrobial activity and antibiotic resistance of *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* strains isolated from Turkish homemade yoghurts, *African Journal of Microbiology Research* 5, 675–682.
- Ammor MS, Florez AB, Mayo B (2007). Antibiotic resistance in non-enterococcal lactic acid bacteria and bifidobacteria, *Food Microbiology* 24, 559–570.
- Aslım B, Beyatlı Y (2004). Antibiotic resistance and plasmid DNA contents of *Streptococcus thermophilus* strains isolated from Turkish yogurts, *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences* 28, 257–263.
- CLSI (2011). Clinical and laboratory standards institute performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-first informational supplement, *CLSI document M100-S21*, Pennsylvania 19087 USA.
- Curragh HJ, Collins M (1992). High levels of spontaneous drug resistance in *Lactobacillus*, *Journal of applied bacteriology* 73, 31–36.
- Çataloluk O, Gogebakan B (2004). Presence of drug resistance in intestinal lactobacilli of dairy and human origin in Turkey, *FEMS microbiology letters* 236, 7–12.
- Danielsen M, Wind A (2003). Susceptibility of *Lactobacillus* spp. to antimicrobial agents, *International journal of food microbiology* 82, 1–11.
- Demirtürk N, Demirdal T (2004). Antibiyotiklerde direnç sorunu, *Kocatepe Tıp Dergisi* 5, 17–21.
- Durak Y, Arıkan E (1987). Çeşitli materyallerden soyutulan *Escherichia coli* suşlarında bulaşıcı tipte antibiyotik direnç genlerinin (Resistance Transfer Factor: RTF) saptanması ve bunun insan sağlığındaki önemi, *Doğa Türk Tıp ve Eczacılık Dergisi* 11, 30–38.
- Durak Y, Keleş F, Uysal A, Aladağ MO (2008). Konya yöresi taze ev yapımı yoğurtların mikrobiyolojik özelliklerinin araştırılması, *Selçuk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi* 22, 113–117.
- Durak Y, Uysal A, Aladağ MO, Akın D (2015). Ticari yoğurt örneklerinden canlı laktik asit bakterilerinin izolasyonu ve sayımı, *Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Fen Dergisi* 41, 83–88.
- Flórez AB, Delgado S, Mayo B (2005). Antimicrobial susceptibility of lactic acid bacteria isolated from a cheese environment, *Canadian journal of microbiology* 51, 51–58.
- Franz CM, Hummel A, Holzapfel WH (2005). Problems related to the safety assessment of lactic acid bacteria starter cultures and probiotics, *Mitteilungen aus Lebensmitteluntersuchung und Hygiene* 96, 39–65.
- Gad GFM, Abdel-Hamid AM, Farag ZSH (2014). Antibiotic resistance in lactic acid bacteria isolated from some pharmaceutical and dairy products, *Brazilian Journal of Microbiology* 45, 25–33.
- Gfeller KY, Roth M, Meile L, Teuber M (2003). Sequence and genetic organization of the 19.3-kb erythromycin-and dalfopristin-resistance plasmid pLME300 from *Lactobacillus fermentum* ROT1, *Plasmid* 50, 190–201.
- Gülây Z (2003). Antibiyotik duyarlılık testlerinin yorumu, *Toraks Dergisi* 1, 75–85.
- Han JH, Chen DH, Li SS, Li XF, Zhou WW, Zhang BL, Jia YM (2015). Antibiotic susceptibility of potentially probiotic *Lactobacillus* strains, *Italian Journal of Food Science* 27, 282–289.
- Hummel AS, Hertel C, Holzapfel WH, Franz CM (2007). Antibiotic resistances of starter and probiotic strains of lactic acid bacteria, *Applied and Environmental Microbiology* 73, 730–739.

- Kahraman E (2006). *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* ve *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* suşlarında lizogeninin araştırılması, *Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara*.
- Klein G, Pack A, Reuter G (1998). Antibiotic resistance patterns of enterococci and occurrence of vancomycin-resistant enterococci in raw minced beef and pork in Germany, *Applied and Environmental Microbiology* 64, 1825–1830.
- Lukášová J, Šustáčková A (2003). Enterococci and antibiotic resistance, *Acta Veterinaria Brno* 72, 315–323.
- Mathur S, Singh R (2005). Antibiotic resistance in food lactic acid bacteria - a review, *International Journal of Food Microbiology* 105, 281–295.
- Perreten V, Schwarz F, Cresta L, Boeglin M, Dasen G, Teuber M (1997). Antibiotic resistance spread in food, *Nature* 389, 801–802.
- Petti S, Tarsitani G, Simonetti D'Arca A (2008). Antibacterial activity of yoghurt against viridans streptococci in vitro, *Archives of Oral Biology* 53, 985–990.
- Tatlı D (2009). Geleneksel süt ürünlerinden izole edilen laktik asit bakterilerinin antibiyotik dirençlerinin belirlenmesi, *Yüksek Lisans tezi, Çukurova Üniversitesi, Adana*.
- Tekinşen OC, Atasever M, Keleş A, Tekinşen KK (2002). Süt, yoğurt, tereyağı, peynir üretim-kontrol, *Selçuk Üniversitesi Basımevi, Konya*.
- Terzaghi BE, Sandine W (1975). Improved medium for lactic streptococci and their bacteriophages, *Applied microbiology* 29, 807–813.
- Teuber M, Meile L, Schwarz F (1999). Acquired antibiotic resistance in lactic acid bacteria from food. *Antonie Van Leeuwenhoek* 76, 115–137.