



## Probiyotik gıdalardan izole edilen laktik asit bakterilerinin antibiyotik dirençliliklerinin belirlenmesi

### Determination of antibiotic resistance of lactic acid bacteria isolates of probiotic foods

Emel ÜNAL TURHAN<sup>1\*</sup>, Zerrin ENGİNKAYA<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Gıda Teknolojileri Bölümü, Kadiri Uygulamalı Bilimler Yüksekokulu, Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi, Osmaniye, Türkiye.  
emelunalturhan@gmail.com

<sup>2</sup>Gıda Mühendisliği Bölümü, Ziraat Fakültesi, Çukurova Üniversitesi, Adana, Türkiye.  
zerriner@cu.edu.tr

Geliş Tarihi/Received: 29.01.2016, Kabul Tarihi/Accepted: 27.04.2016  
\* Yazışılan yazar/Corresponding author

doi: 10.5505/pajes.2016.87369  
Araştırma Makalesi/Research Article

#### Öz

Bu çalışmada, bazı ticari probiyotik gıdalardan izole edilen laktik asit bakterilerinin antibiyotik dirençlerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışmamızda ticari probiyotik gıda örneklerinden *Lactobacillus* spp., *Lactobacillus acidophilus* ve *Bifidobacterium* spp. türleri izole edilmiş ve Kirby-Bauer Disk Difüzyon yöntemi ile antibiyotik dirençlilikleri analiz edilmiştir. *Lactobacillus* spp. izolatlarında vankomisin (%20), tetrasiklin (%20), ampisilin (%20), gentamisin (%20) ve siprofloksasine (%80) karşı direnç saptanırken, izolatların eritromisin (%100), kloramfenikol (%100) ve nitrofurantoin'e (%100) ise duyarlı oldukları bulunmuştur. *Lactobacillus acidophilus* izolatlarının ise gentamisin (%25) ve siprofloksasine (%75) karşı dirençli oldukları saptanırken, tüm *L. acidophilus* izolatlarının vankomisin, eritromisin, tetrasiklin, ampisilin, kloramfenikol, ripamfislin ve nitrofurantoin'e duyarlı oldukları bulunmuştur. *Bifidobacterium* spp. izolatının vankomisin, tetrasiklin, ampisilin ve siprofloksasin'e karşı dirençli olduğu, buna karşın eritromisin, gentamisin, kloramfenikol ve nitrofurantoin'e duyarlı olduğu bulunmuştur.

**Anahtar kelimeler:** Probiyotik, Antibiyotik direnci, Probiyotik gıda

#### Abstract

The current study aimed at the determination of resistances of lactic acid bacteria against antibiotics, which isolated from some commercial probiotic foods. *Lactobacillus* spp., *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium* spp. were isolated and their antibiotic resistances were analysed by Kirby-Bauer Disc Diffusion method. While *Lactobacillus* spp. isolates were determined resistant to vancomycin (20%), tetracycline (20%), ampicillin (20%), gentamicin (20%) and ciprofloxacin (80%), these isolates were found susceptible to chloramphenicol (100%), erythromycin (100%) and nitrofurantoin (100%). As regards to *L. acidophilus*, while resistance to gentamicin (25%) and ciprofloxacin (75%) was determined, all isolates of *L. acidophilus* were found susceptible to vancomycin, chloramphenicol, rifampicin, tetracycline, erythromycin, nitrofurantoin and ampicillin. *Bifidobacterium* spp. isolate were found resistant to vancomycin, tetracycline, ampicillin and ciprofloxacin, whereas isolates were sensitive to chloramphenicol, erythromycin, nitrofurantoin and gentamicin.

**Keywords:** Probiotic, Antibiotic resistance, Probiotic food

## 1 Giriş

Antibiyotikler insanlardaki bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde etkin biçimde kullanılmaktadırlar. Ancak antibiyotiklerin aşırı ve gereksiz kullanımı dirençli genlerin gelişimine neden olmuş ve son yıllarda önemli bir sağlık problemi haline gelmiştir [1]. Antibiyotik direncine neden olan önemli faktörlerden bir diğeri ise plazmitlerin gıda ve insan kaynaklı mikrobiyal flora ile patojenler arasında transfer edilebilmesidir. Bu da gıdalarda antibiyotik dirençli mikroorganizmaların artan bir risk olduğunu ve antibiyotik direncinin insanlarda artmasındaki temel kaynaklardan biri olduğunu ortaya çıkarmıştır [2].

Gıda endüstrisinde kullanılacak bakteri kültürlerinin en önemli seçim kriterlerinden biri onların güvenlikleridir. Gıda ürünlerinde yoğun olarak kullanılan bakteriler denildiğinde gerek starter olarak gerekse probiyotik kültür olarak laktik asit bakterileri akla gelmekte ve FDA (Food and Drug Administration) tarafından GRAS (Generally Recognized as Safe, genellikle güvenli olarak tanımlanan) olarak kabul görmektedir. Ancak laktik asit bakterileri arasında antibiyotiklere dirençli türlerin belirlenmesi, gıda üretiminde dirençli genlerin patojenlere transfer edilebilmesi riskini açığa çıkarmıştır [3],[4]. EFSA (European Food Safety Authority)'ya

göre probiyotik olarak kullanılan kültürlerin birçoğu güvenilirdir ve nadiren yan etkileri bulunmaktadır. Ancak yine de probiyotik nitelikli gıdalardaki saf kültürlerde antibiyotik direnç genlerinin varlığının izlenmesi gerektiği bildirilmiştir. Nitekim gıda zincirindeki probiyotikler ile ilgili Avrupa Birliğinde bu ürünlerdeki transfer edilebilen direnç genlerinin elemine edilebilmesine dair aktif bir politika bulunmaktadır [5]. Günümüzde bu konu Gıda Tarım Örgütü (FAO) tarafından hazırlanmış olan kodeks rehberinde "gıda kaynaklı antibiyotik direncinin risk analizi" başlığı altında ele alınmıştır. Bu rehberde gıda kaynaklı antibiyotik direncinin ortaya çıkışı, tehlike boyutu, tanımlanması, değerlendirilmesi ve izlenmesi konuları açıklanmıştır [6].

Araştırmalar, starter kültürlerin gıda ürünlerinde antibiyotik direnç genlerinin yayılmasında olası bir potansiyel kaynağı oluşturabileceğini ortaya koymuştur [7]. Özellikle son zamanlarda sıklıkla tüketilen gıda ürünlerinden biri olan probiyotik gıdalarda kullanılan saf kültürlerin antibiyotik direnç durumlarının saptanması gıda güvenliği açısından bir zorunluluk olarak görülmektedir. Bu bakımdan kazanılmış veya transfer edilebilir ilaç direnç genlerine sahip olan saf kültürlerin GRAS olarak değerlendirilmemesi ve gıdalarda kullanılmaması gerektiği bildirilmiştir [8],[9].

Probiyotikler yüz yılı aşkın bir süreden beri gıdalarda özellikle de süt ürünlerinde güvenli bir şekilde kullanılmaktadırlar. Ancak günümüzde probiyotiklerin güvenli olup olmadıkları ile ilgili detaylı ve iyi kurgulanmış bir çalışmaya rastlanmamıştır. Çalışmaların çoğunluğunda güvenlik ile ilgili kısımlar yeterince değerlendirilmemiştir. Özellikle de saf kültür kullanımında antibiyotik direnç genlerinin transferi üzerinde durulması gerektiği bildirilmiştir [4].

Bu çalışma da, bazı ticari probiyotik gıda örneklerinden izole edilen laktik asit bakterilerinin hastane enfeksiyonlarında tedavi amaçlı kullanılan vankomisin, rifampisin, tetrasiklin, kloramfenikol, eritromisin, ampicilin, nitrofurantoin, gentamisin ve siprofloksasin antibiyotiklerine karşı dirençlerinin belirlenmesini amaçlamıştır.

## 2 Materyal ve metod

### 2.1 Materyal

Bu çalışmada, probiyotik özellikte olan ve ticari olarak satışa sunulan 2 adet homojenize sade yoğurt (A ve B marka), 1 adet kefir (C marka), 1 adet tahıl gevreği (D marka) ve 1 adet homojenize katkısız sade bebek yoğurdu (E marka) örnekleri kullanılmıştır.

Probiyotiklerin izolasyonu için kullanılan besiyerleri MRS agar (De Man, Rogosa and Sharpe Agar), MSR-NNPL (De Man, Rogosa and Sharpe Agar-Neomycin sulfate, nalidixic acid, lithium chloride and paromomycin sulphate) agar, Mueller Hinton Agar ve MSR-D-Sorbitol (De Man, Rogosa and Sharpe-Dextrose-Sorbitol) agar'dır (Merck, Darmstadt/Germany). Araştırmada probiyotik gıda örneklerinden izole edilen bakterilerin antibiyotik direnç testi için vancomycin (VA30-Merck), chloramphenicol (C30-Merck), rifampicin (RD5-Merck), tetracycline (TE30, Merck), erythromycin (E15, Merck), nitrofurantoin (F300Merck), ampicillin (AMP10-Merck), gentamicin (CN10-Merck) ve ciprofloksacin (CIP5-Merck) kullanılmıştır.

### 2.2 Metod

#### 2.2.1 Gıda örneklerinin izolasyon için hazırlanması

Probiyotik gıdaların hepsinden aseptik koşullarda 10 gram örnek alınarak 90 ml steril kavanozlardaki seyreltme sıvısına (pepton-fizyolojik tuzlu su) aktarılmış ve karıştırılarak homojenize edilmiştir. Tahıl gevreğinin homojenizasyonu için ise homojenizatör (IKA-T18-Ultra Turrax Homojenizatör) kullanılmıştır. 10<sup>-7</sup>e kadar seyreltme işlemi uygulanmıştır [10].

#### 2.2.2 *Lactobacillus* spp. izolasyonu ve sayımı

Seyreltilen örnekler MRS agar besiyerine yüzeye yayma ekim yöntemiyle ekilmiş ve 24-48 saat 37 °C'de anaerobik (Anaerobik kavanoz-Merck marka Anaerocult A kullanımı ile) inkübasyona tabi tutulmuştur. İnkübasyon sonrası izolatlara Gram boyama ve katalaz testi yapılmıştır. Gram (+) ve Katalaz (-) olan izolatlar belirlenerek sayımları yapılmıştır [10].

MRS agar besiyerinde gelişen kolonilere uygulanan biyokimyasal testler sonucunda tüm örneklerde (A, B, C, D ve E) *Lactobacillus* spp. varlığı bulunmuştur. Antibiyotik direnç testinde kullanılmak üzere 5 adet *Lactobacillus* spp. izolatı elde edilmiştir.

#### 2.2.3 *Lactobacillus acidophilus* izolasyonu ve sayımı

İleri seyreltmeleri yapılan örnekler selektif MRS-D Sorbitol agar besiyerine yüzeye yayma ekim yöntemiyle ekilmiştir. MRS-D Sorbitol agar besiyeri 24-48 saat 37 °C'de anaerobik

(anaerobik kavanoz-Merck marka Anaerocult A kullanımı ile) inkübasyona tabi tutulmuştur. İnkübasyon sonrası izolatlara Gram boyama ve katalaz testi yapılmıştır. Gram (+) ve Katalaz (-) olan izolatlar belirlenerek sayımları yapılmıştır [11],[12].

Selektif besiyerinde gelişen kolonilere uygulanan biyokimyasal testler sonucunda A, B, C ve D örneklerinde *L. acidophilus* varlığı saptanmıştır. Antibiyotik direnç testinde kullanılmak üzere 4 adet *L. acidophilus* izolatı elde edilmiştir.

#### 2.2.4 *Bifidobacterium* spp. izolasyonu ve sayımı

İleri seyreltmeleri yapılan örnekler selektif MRS-NNLP agar besiyerine yüzeye yayma ekim yöntemiyle ekilmiştir. MRS-NNLP besiyeri ise 24-48 saat 37 °C'de anaerobik (anaerobik kavanoz-Merck marka Anaerocult A kullanımı ile) inkübasyona tabi tutulmuştur. İnkübasyon sonrası izolatlara Gram boyama ve katalaz testi yapılmıştır. Katalaz (-) ve gram (+) olan izolatlar belirlenmiş ve sayımları yapılmıştır [10],[12].

Selektif besiyerinde gelişen kolonilere uygulanan biyokimyasal testler sonucunda sadece E örneğinde *Bifidobacterium* spp. varlığı saptanmıştır. Antibiyotik direnç testinde kullanılmak üzere 1 adet *Bifidobacterium* spp. izolatı elde edilmiştir.

#### 2.2.5 Laktik asit bakterilerinin antibiyotik dirençliliklerinin belirlenmesi

Bu araştırmada, ticari probiyotik ürünlerden izole edilen laktik asit bakterilerinin antibiyotiklere karşı direncinin belirlenmesi amacıyla, Kirby-Bauer disk difüzyon tekniği kullanılmıştır [13].

İzolatlar Mueller Hinton Agar besiyerine sürme ekim yöntemiyle ekilmiş ve hemen ardından bekleme olmaksızın izolatların olduğu petrilerin yüzeyine dispenser aracılığı ile antibiyotik (vancomycin, chloramphenicol, rifampicin, tetracycline, erythromycin, nitrofurantoin, ampicillin, gentamicin veya ciprofloksacin) içeren kâğıt diskler yerleştirilerek 37 °C'de 24 saatlik anaerobik inkübasyona bırakılmış ve inhibisyon zon çapları ölçülmüştür. Sonuçlar Gür [14]'ün çalışmasında NCCLS (the National Commitee for Clinical Laboratory Standards) doküman M2-A9 kriterlerinde verilen ölçüm aralıklarına göre değerlendirilmiştir (Tablo 1).

Tablo 1: Laktik asit bakterileri için inhibisyon zon çapı değerlendirme kriterleri.

| Antibiyotik    | Miktar | Zon Çapı (mm) |       |     |
|----------------|--------|---------------|-------|-----|
|                |        | R             | I     | S   |
| Eritromisin    | 15 µg  | ≤13           | 14-22 | ≥23 |
| Tetrasiklin    | 30 µg  | ≤14           | 15-18 | ≥19 |
| Vankomisin     | 30 µg  | ≤14           | 15-16 | ≥17 |
| Siprofloksasin | 5 µg   | ≤15           | 16-20 | ≥21 |
| Kloramfenikol  | 30 µg  | ≤12           | 13-17 | ≥18 |
| Gentamisin     | 120 µg | 6             | 7-9   | ≥10 |
| Nitrofurantoin | 300 µg | ≤14           | 15-16 | ≥17 |
| Rifampisin     | 5 µg   | ≤16           | 17-19 | ≥20 |
| Ampisilin      | 10 µg  | ≤16           | -     | ≥17 |

\*R: Dirençli, I: Orta duyarlı, S: Duyarlı.

## 3 Bulgular ve Tartışma

### 3.1 Laktik asit bakterilerinin izolasyonu

Probiyotik mikroorganizmalar denildiğinde, daha çok laktik asit bakterileri akla gelmektedir [15]. Önceki çalışmalarda probiyotik ürünlerde kullanılan laktik asit bakterilerinin; *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus* ve *Pediococcus* türleri olduğu bildirilmiştir [16]. Çalışmamızda probiyotik gıda

örneklerinden *Lactobacillus* spp., *Lactobacillus acidophilus* ve *Bifidobacterium* spp. türü laktik asit bakterileri izole edilmiştir (Tablo 2). A, B, C ve D örneklerinde probiyotik kültür olarak *L. acidophilus* saptanırken, E örneğinde *Bifidobacterium* spp. bulunmuştur.

Tablo 2: Probiyotik ürünlerden izole edilen laktik asit bakterileri.

| Laktik asit bakterisi            | Ürün                             |
|----------------------------------|----------------------------------|
| <i>Lactobacillus</i> spp.        | A marka probiyotik yoğurt        |
| <i>Lactobacillus acidophilus</i> | A marka probiyotik yoğurt        |
| <i>Lactobacillus</i> spp.        | B marka probiyotik yoğurt        |
| <i>Lactobacillus acidophilus</i> | B marka probiyotik yoğurt        |
| <i>Lactobacillus</i> spp.        | C marka Kefir                    |
| <i>Lactobacillus acidophilus</i> | C marka Kefir                    |
| <i>Lactobacillus</i> spp.        | D marka Probiyotik tahıl gevreği |
| <i>Lactobacillus acidophilus</i> | D marka Probiyotik tahıl gevreği |
| <i>Lactobacillus</i> spp.        | E marka Bebek yoğurdu            |
| <i>Bifidobacterium</i> spp       | E marka Bebek yoğurdu            |

Daha önceki çalışmalarda probiyotik fermente süt ürünlerinde en çok kullanılan laktik asit bakterisi türlerinin *Lactobacillus acidophilus* ve *Bifidobacterium bifidum* olduğu belirtilmiş ve bu durum çalışmamızdaki sonuçları desteklemiştir [17].

Ülkemizde tüketime sunulan probiyotik nitelikli gıda ürünleri; sade yoğurt, müsli yoğurt, kuru erik-tahıl yoğurdu, kuru kayısı-keten tohumu yoğurdu, sade içecek, çilekli içecek, çocuk yoğurdu, elmalı çocuk yoğurdu, kuru erik yoğurdu, kuru kayısı yoğurdu, kuru incir yoğurdu, çilek-keten tohumu yoğurdu, çilek-keten tohumu içeceği, kayısı-şeftali içeceği, kuru erik- keten tohumu yoğurdu, orman meyveli yoğurt, denge yeşil çay-limon yoğurt ve kefirdir. Bu ürünlerin ambalaj bilgileri incelendiğinde *L. acidophilus*, *B. bifidus*, *Bifidobacterium longum*, *Lactobacillus rhamnosus*, *L. acidophilus*, *Bifidobacterium* spp. ve *Lactobacillus* spp. türü probiyotik kültürlerin bulunduğu görülmüştür. Çalışmamızda izole ettiğimiz probiyotik türler ticari ürünlerin etiketinde bildirilen türler ile uyum sağlamaktadır.

### 3.2 Ticari probiyotik gıdalarda bulunan laktik asit bakterilerinin sayım sonuçları

5 adet ticari probiyotik üründe *Lactobacillus* spp., *Bifidobacterium* spp. ve *L. acidophilus* sayımları yapılmış ve sayım sonuçları Tablo 3'te gösterilmiştir. Marketten temin ettiğimiz 5 adet ticari ürünün içindekiler kısmında probiyotik bakteri olarak *Lactobacillus* spp., *Bifidobacterium* spp. veya *L. acidophilus* bulunduğu belirtildiği için örneklerimizde bu mikroorganizmaların her birinin sayımı yapılmıştır.

Tablo 3: Ticari gıdalardaki probiyotik sayısı.

|   | <i>Lactobacillus</i> spp. (kob/g) | <i>Bifidobacterium</i> spp. (kob/g) | <i>L. acidophilus</i> (kob/g) |
|---|-----------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------|
| A | 1.2x10 <sup>8</sup>               | -                                   | 1.0x10 <sup>8</sup>           |
| B | 3.3x10 <sup>6</sup>               | -                                   | 1.3x10 <sup>8</sup>           |
| C | 1.1x10 <sup>8</sup>               | -                                   | 7.0x10 <sup>7</sup>           |
| D | 5.0x10 <sup>6</sup>               | -                                   | 1.0x10 <sup>7</sup>           |
| E | 5.9x10 <sup>7</sup>               | 1.1x10 <sup>6</sup>                 | -                             |

Probiyotikler, yeterli düzeyde alındıklarında insan sağlığı üzerinde faydaları olan mikroorganizmalardır [18],[19]. Probiyotik kültürlerin faydalarının görülebilmesi için probiyotik gıdalarda 10<sup>6</sup>-10<sup>7</sup> kob/mL veya kob/g düzeyinde bulunmaları ve gıdanın raf ömrü süresince canlı kalmaları gerekmektedir [20]. Örneklerimizdeki probiyotik canlı hücre sayıları 1.1x10<sup>6</sup>-1,3x10<sup>8</sup> kob/g arasında olup önerilen sınırlar

içerisinde bulunmuştur. Probiyotik hücre yoğunluğu açısından ticari örneklerimizin probiyotik nitelikte olduğu görülmüştür.

### 3.3 Probiyotik kültürlerin antibiyotik dirençlilikleri

Ticari probiyotik ürünlerin genel olarak güvenli oldukları düşünülmektedir. Ancak ticari ürünlerin olumsuz etkilerinin de olabileceği göz ardı edilmemeli ve tüketiciyi korumak için güvenlik önlemleri alınmalıdır. Probiyotik ürünlerin güvenliği denildiğinde ise antibiyotik direnci akla gelmektedir. Probiyotik organizmalarda direnç genlerinin bulunması durumunda bu direnç genlerini patojenlere aktaracakları ihtimali olduğu bildirilmiştir. Bu yüzden ticari olarak kullanılan probiyotiklerin böylesi genleri diğer organizmalara transfer edebilme yetenekleri üzerinde durulması gerekmektedir. Sonuç olarak probiyotik ticari ürünlerde kullanılan mikroorganizmaların güvenliğini araştırmak elzemdir [6].

Ticari probiyotik gıdalardan izole edilen kültürlerin antibiyotik dirençlilik durumları Tablo 4'te gösterilmiştir. Tablo 4'te de görüldüğü üzere izolatların hepsinin direnç durumları karşılaştırıldığında ağırlıklı olarak siprofloksasine karşı direnç gösterdikleri ve bunu vankomisin, tetrasiklin, ampisilin ve gentamisin izlediği bulunmuştur. Literatürlerde ise *Lactobacillus* spp.'nin yüksek vankomisin direnci gösterdiği ve bundan başka çoğunlukla siprofloksasin, eritromisin ve tetrasiklin direncine sahip olduğu bildirilmiştir [5],[6],[21],[22].

Hummel ve diğ. [23], probiyotik kültürlerdeki antibiyotik direncini inceledikleri çalışmada izolatların büyük bir çoğunluğunun (%70 oranında) gentamisin, streptomisin ve siprofloksasine karşı dirençli olduğunu tespit etmişlerdir. Özellikle de izolatlarda siprofloksasin direncinin baskın olduğunu bildirmeleri ile çalışmamızdaki sonuçları desteklemiştir.

İzole edilen 5 adet *Lactobacillus* spp.'de vankomisin (%20), tetrasiklin (%20), ampisilin (%20), gentamisin (%20) ve siprofloksasine (%80) karşı direnç saptanırken, tüm *Lactobacillus* izolatlarının eritromisin (%100), kloramfenikol (%100) ve nitrofurantoine (%100) ise duyarlı oldukları bulunmuştur. Jose ve diğ. [9] probiyotik Laktobasillerin antibiyotik dirençlerini inceledikleri çalışmada yüksek düzeyde vankomisin ve siprofloksasin direncinin olduğunu saptamışlar ve bunu kanamisin, streptomisin, gentomisin, tetrasiklin, eritromisin ve kloramfenikolün izlediğini bulmuşlardır. Ayrıca ampisilin ve penisiline ise duyarlı olduklarını bulmuşlar ve çalışmamızdaki sonuçlarla benzerlik göstermiştir.

İzole edilen 4 adet *Lactobacillus acidophilus* izolatının gentamisin (%25) ve siprofloksasine (%75 ) karşı dirençli oldukları saptanırken, tüm *L. acidophilus* izolatlarının vankomisin, eritromisin, tetrasiklin, ampisilin, kloramfenikol, ripamfisin ve nitrofurantoine ise duyarlı oldukları bulunmuştur. Sharma ve diğ. [2] 19 adet ticari probiyotik ürünlerden elde ettikleri 7 adet *L. acidophilus* izolatlarının yüksek düzeyde nalidiksik asit, siprofloksasin ve levofloksasin direnci gösterdiğini bulmuştur. Nitekim çalışmamızda *L. acidophilus* izolatlarında da yüksek düzeyde siprofloksasin direnci saptanmış ve literatürdeki sonuçları desteklemiştir.

Çalışmamızda elde edilen 1 adet *Bifidobacterium* spp. izolatının vankomisin, tetrasiklin, ampisilin ve siprofloksasine karşı dirençli olduğu, buna karşın eritromisin, gentamisin, kloramfenikol ve nitrofurantoine duyarlı olduğu bulunmuştur.

Tablo 4: Probiyotik kültürlerin antibiyotik dirençleri.

| İzolat | VA30 | E15 | TE30 | AMP10 | C30 | CN10 | RD5 | CIP5 | F300 |
|--------|------|-----|------|-------|-----|------|-----|------|------|
| 1-LB   | S    | S   | S    | S     | S   | I    | S   | R    | S    |
| 3-LB   | S    | S   | S    | S     | S   | S    | S   | S    | S    |
| 5-LB   | S    | S   | S    | S     | S   | R    | S   | R    | S    |
| 7-LB   | S    | S   | S    | S     | S   | I    | S   | R    | S    |
| 9-LB   | R    | S   | R    | R     | S   | I    | S   | R    | S    |
| 2-LA   | S    | S   | S    | S     | S   | S    | S   | R    | S    |
| 4-LA   | S    | S   | S    | S     | S   | S    | S   | S    | S    |
| 6-LA   | S    | S   | S    | S     | S   | R    | S   | R    | S    |
| 8-LA   | S    | S   | S    | S     | S   | S    | S   | R    | S    |
| 10-BB  | R    | S   | R    | R     | S   | I    | S   | R    | S    |

LB: *Lactobacillus* spp., LA: *L. acidophilus*, BB: *Bifidobacterium* spp., S: Sensitive (duyarlı), R: Resistant (dirençli), I: Intermediate sensitive (orta duyarlı), VA30: Vankomisin, C30: Kloramfenikol, RD5: Rifampisin, TE30: Tetrasiklin E15: Eritromisin, F3000: Nitrofurantoin, AMP10: Ampisilin, CN10: Gentamisin, CIP5: Siprofloksasin.

Literatürde ise *Bifidobacterium* türlerinin ampicilin ve eritromisine duyarlı buna karşın gentamisin, streptomisin, kanamisin ve neomisine dirençli oldukları bildirilmiştir [6], [24]. Bu durum çalışmamızda eritromisine duyarlılık olması yönüyle benzerlik göstermekte ancak örneklerimizin ampiciline dirençli ve gentamisine duyarlı olmaları bakımından benzememektedir.

Avrupa ülkelerinde tüketime sunulan 55 adet ticari probiyotik üründe bulunan 187 izolattaki antibiyotik direnci incelendiğinde; kanamisin (%79), vankomisin (%65), tetrasiklin (%26), penisilin (%23), eritromisin (%16) ve kloramfenikole (%11) karşı dirençli oldukları bildirilmiştir [25]. Bu durum ülkemiz marketlerindeki probiyotik ürünlerin antibiyotik direnç durumlarının incelenmesinin önemli olduğunu düşündürmektedir.

Nitekim uzun zamandır probiyotik ürünlerin gelişimi ve pazarlanması ile ilgili görmezden gelinen antibiyotik direnci durumu gıda güvenliği açısından dikkate alınmaya başlanmıştır. Avrupa'da hayvan beslenmesi üzerine bilimsel bir komite (SCAN: Scientific Committee on Animal Nutrition) hayvanlarda kullanılan probiyotikler için antibiyotiklere dirençli mikroorganizmaların güvenliğinin değerlendirilmesine dair 2001'de birtakım kriterler ileri sürmüş ve 2002'de bunu revize etmiştir. Yakın zamanda ise EFSA bu komitenin görevlerini üzerine almış ve yeni öneriler yayınlamıştır [8].

#### 4 Sonuç ve öneriler

Son yıllarda dünyada hızlı bir şekilde yeni ilaçlar geliştirilmekte ve bu ilaçlara direnç kazanan mikroorganizmalar ortaya çıkmaktadır. Gıda üretimi, bakteri direncinin ortaya çıkışındaki ve dirençli genlerin transferindeki önemli kaynaklardan birini oluşturmaktadır. Gerek kendi çalışmamızda elde ettiğimiz, gerekse daha önceki çalışmalardan elde edilen sonuçlar bu durumu desteklemiştir. Özellikle hayvan ve insanın bağırsak sisteminde bulunan bakterilerin, gıdalardaki laktik asit bakterilerinin ve probiyotik bakterilerin direnç genlerini taşımaları, bu direncin patojen mikroorganizmalara aktarılması potansiyelini doğurmakta ve direnç genlerinin yayılması bakımından büyük bir tehlike oluşturmaktadırlar. Nitekim direnç genleri, fırsatçı bakterilere ve insan

patojenlerine transfer edilebilir ve bu durum hastalıkların tedavisini engelleyebilir. Çalışmamızın bir sonucu olarak antibiyotik direnci üzerinde özellikle transfer edilebilir direnç genleri üzerinde durulması gerekliliği ortaya çıkmıştır. Bu bakımdan probiyotik gıda örneklerinde fenotipik ve genotipik olarak ayrıntılı bir şekilde direnç genlerinin araştırılması gerekmektedir. Ayrıca çalışmamızda 5 adet ticari ürünle sınırlandırılan analizler, marketlerde tüketime sunulan bütün probiyotik ürünlerin antibiyotik direnç profillerini çıkaracak şekilde daha detaylı projelerle sonuçlandırılmalıdır.

#### 5 Kaynaklar

- [1] Kastner S, Perreten V, Bleuler H, Hugenschmidt G, Lacroix C, Meile L. "Antibiotic susceptibility patterns and resistance genes of starter cultures and probiotic bacteria used in food". *Systematic and Applied Microbiology*, 29, 145-155, 2006.
- [2] Sharma P, Tomar SK, Sangwan V, Goswami P, Singh R. "Antibiotic resistance of *Lactobacillus* sp. isolated from commercial probiotic preparations". *Journal of Food Safety*, 36(1), 38-51, 2016.
- [3] Fraqueza MJ. "Antibiotic resistance of lactic acid bacteria isolated from dry-fermented sausages". *International Journal of Food Microbiology*, 212, 76-88, 2015.
- [4] Doron S, Snyderman DR. "Risk and safety of probiotics". *Clinical Infectious Diseases*, 60(2), 129-134, 2015.
- [5] Gueimonde M, Sánchez B, De los Reyes-Gavilán CG, Margolles A. "Antibiotic resistance in probiotic bacteria". *Frontiers in Microbiology*, 4(202), 1-6, 2013.
- [6] Sharma P, Tomar SK, Goswami P, Sangwan V, Singh R. "Antibiotic resistance among commercially available probiotics". *Food Research International*, 57, 176-195, 2014.
- [7] D'Aimmo MR, Modesto M, Biavati B. "Antibiotic resistance of lactic acid bacteria and bifidobacterium spp. isolated from dairy and pharmaceutical products". *International Journal of Food Microbiology*, 115(1), 35-42, 2007.
- [8] Courvalin P. "Antibiotic resistance: the pros and cons of probiotics". *Digestive and Liver Disease*, 38(2), 261-265, 2006.



- [9] Jose NM, Bunt CR, Hussain MA. "Implications of antibiotic resistance in probiotics". *Food Reviews International*, 31(1), 52-62, 2015.
- [10] Halkman K. *Merck Gıda Mikrobiyolojisi Uygulamaları*. Ankara, Türkiye, Başak Matbaacılık Limited Şti., 2005.
- [11] Rosaria M, Modesto M, Biavati B. "Antibiotic resistance of lactic acid bacteria and bifidobacterium spp. isolated from dairy and pharmaceutical products". *International Journal of Food Microbiology*, 115(1), 35-42, 2007.
- [12] Temiz A. *Genel Mikrobiyoloji Uygulama Teknikleri*. Ankara, Türkiye, Hatiboğlu Yayınevi, 2000.
- [13] Gülay Z. "Antibiyotik duyarlılık testlerinin yorumu". *Toraks Dergisi*, 3(1), 75-88, 2002.
- [14] Gür D. *Antimikrobik Duyarlılık Testi İçin Uygulama Standartları*. Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara, Türkiye, 2007.
- [15] De Vuyst L, Falony G, Leroy F. "Probiotics in fermented sausages". *Meat Science*, 80(1), 75-78, 2008.
- [16] Çakır P. Gıda ve İnsan Kaynaklı *Staphylococcus aureus* Strainlerinin Karakterizasyonu. Anadolu Üniversitesi, Yüksek Lisans Tezi, Eskişehir, Türkiye, 2007.
- [17] Alp G, Aşım B. "İnsan bağırsak sisteminde probiyotik olarak bifidobakterilerin önemi". *Anadolu Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 10(2), 343-354, 2009.
- [18] Makinen K, Berger B, Bel-Rhliid R, Ananta E. "Science and technology for the mastership of probiotic applications in food products". *Journal of Biotechnology*, 162(4), 356-365, 2012.
- [19] Sanchez B, Ruiz L, Gueimonde M, Ruas-Madiedo P, Margolles A. "Toward improving technological and functional properties of probiotics in foods". *Trends in Food Science & Technology*, 26(1), 56-63, 2012.
- [20] Vasiljevic T, Shah NP. "Probiotics-From metchnikoff to bioactives". *International Dairy Journal*, 18(7), 714-728, 2008.
- [21] Temmerman R, Pot B, Huys G, Swings J. "Identification and antibiotic susceptibility of bacterial isolates from probiotic products". *International Journal of Food Microbiology*, 81(1), 1-10, 2003.
- [22] Wong A, Ngu DYS, Dan LA, Ooi A, Lim RLH. "Detection of antibiotic resistance in probiotics of dietary supplements". *Nutrition Journal*, 14(95), 1-6, 2015.
- [23] Hummel AS, Hertel C, Holzapfel WH, Franz CMAP. "Antibiotic resistances of starter and probiotic strains of lactic acid bacteria". *Applied and Environmental Microbiology*, 73(3), 730-739, 2007.
- [24] Zhou JS, Pillidge CJ, Gopal PK, Gill HS. "Antibiotic susceptibility profiles of new probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains". *International Journal of Food Microbiology*, 98(2), 211-217, 2005.
- [25] Ashraf R, Shah NP. "Antibiotic resistance of probiotic organisms and safety of probiotic dairy products". *International Food Research Journal*, 18(3), 837-853, 2011.