T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

GELENEKSEL OLARAK ÜRETİLMİŞ KURUT ÖRNEKLERİNİN BAZI PATOJEN BAKTERİLER AÇISINDAN DEĞERLENDİRİLMESİ

Zhanylbubu MAMATOVA

DANIŞMAN
Prof. Dr. Ali AYDIN

BESİN HİJYENİ VE TEKNOLOJİSİ ANABİLİM DALI

VETERİNERLİK BESİN HİJYENİ VE TEKNOLOJİSİ, DOKTORA PROGRAMI

Haziran, 2023

TEZ KABUL VE ONAYI

Zhanylbubu MAMATOVA tarafından, **Prof. Dr. Ali AYDIN** danışmanlığında hazırlanan " Geleneksel Olarak Üretilmiş Kurut Örneklerinin Bazı Patojen Bakteriler Açısından Değerlendirilmesi " başlıklı bu çalışma, jürimiz tarafından **27/07/2023** tarihinde yapılan sınav sonucunda **oy birliği** ile başarılı bulunarak **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi

		İmza	Sonuç
DANIŞMAN	Prof. Dr. Ali AYDIN İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı		☒ Kabul ☐ Ret
ÜYE	Prof. Dr. Enver Barış BİNGÖL İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı		☒ Kabul ☐ Ret
ÜYE	Prof. Dr. Harun AKSU İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı		☒ Kabul ☐ Ret
ÜYE	Prof. Dr. Ömer ÇETİN İstanbul Rumeli Üniversitesi Beslenme ve Diyetetik Anabilim Dalı		☒ Kabul ☐ Ret
ÜYE	Doç. Dr. Ghassan ISSA Kocaeli Sağlık ve Teknoloji Üniversitesi Avrupa MYO, Tıbbi Laboratuvar Teknikleri Programı		☒ Kabul ☐ Ret

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve bilimsel etik kuralları içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını ve her türlü hukuki sorumluluğu aldığımı kabul ederim.

Zhanylbubu MAMATOVA

(İmza)

Aileme ve sevgili eşim Kenzhemir MOMBEKOV'a ithaf ediyorum.

BÜTÇE DESTEKLERİ

Geleneksel Olarak Üretilmiş Kurut Örneklerinin Bazı Patojen Bakteriler Açısından Değerlendirilmesi

Bu tez çalışması, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 35822

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimi boyunca bana her konuda yardımcı olan, bu çalışmanın yürütülmesinde, sonuçların değerlendirilmesi ve yazım aşamasında akademik bilgi, birikim ve tecrübelrini benimle paylaşan değerli danışman hocam Prof. Dr Ali AYDIN'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca, değerli hocam Prof. Dr. Halil GÜNEŞ'e ve eşi Sema GÜNEŞ'e, değerli hocam Prof. Dr. Ömer ÇETİN'e her türlü yardım ve bana verdikleri sonsuz destekleri için, ayrıca emeği geçen arkadaşlarıma en içten dileklerimle teşekkür ederim.

Laboratuvar çalışmalarının her aşamasında yardımlarını esirgemeyen değerli arkadaşlarım Veteriner hekim Ali Anıl SÜLEYMANOĞLU'na, Veteriner hekim Sezer ÖZKAN'a, Uzman Diyetisyen Hüseyin Feyzi ÖZMEN'e teşekkürlerimi sunarım.

Akademik bilgi ve birikimleri ile nitelikli bir eğitim programı sunan İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı'nın tüm değerli hocalarına gönülden teşekkür ederim.

Tez çalışmamın en başından sonuna kadar yanımda olan, her konuda bana verdiği desteği ve yardımlarını esirgemeyen sevgili eşim Kenzhemir MOMBEKOV'a, eğitim hayatım boyunca her zaman beni destekleyen canım annem Nurgül MAMATOVA'ya ve kardeşlerime sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Temmuz 2023 Zhanylbubu MAMATOVA

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

TEZ KABUL VE ONAYI 1
BEYAN ii
BÜTÇE DESTEKLERİ iv
TEŞEKKÜR v
İÇİNDEKİLER vi
ŞEKİL LİSTESİ 1
TABLO LİSTESİ ii
SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ iii
ÖZET v
ABSTRACT vii
1. GİRİŞ 1
2. KAVRAMSAL ÇERÇEVE 3
2.1. Beslenmenin İnsan Hayatındaki Önemi 3
2.2. Süt ve Süt Ürünlerinin İnsan Beslenmesindeki Önemi 3
2.3. Sütün Kimyasal Bileşimi 4
2.4. Yayık Altı 4
2.4.1.Kurut ve Farklı Lehçelerde Kullanılan İsimleri 5
2.4.2. Kurut Üretimi 5
2.4.3. Kırgızistan'da Geleneksel Yöntem İle Üretilen Kurut Çeşitleri 8
2.4.4. Piyasada Satışa Sunulan Kurut Çeşitleri 8
2.4.4.1. Meyve ile Kurut Yapımı 8
2.4.4.2. Kırmızı Biber ile Kurut Yapımı 8
2.4.4.3. Çöbögö ile Kurut Yapımı 9
2.4.4.4. Tütsüleme Tekniği Uygulanarak Yapılan Kurut 9
2.5. Kurutun Fiziko-Kimyasal Özellikleri 9
2.6. Kurutun Mikrobiyolojik Özellikleri 10

2.7. Koliform Grubu Bakteri……11

2.8. *Escherichia coli*……..……..……11

2.9. *Staphylococcus-Micrococcus*…….……12

2.10. *Staphylococcus aureus*……12

2.11. *Enterococcus* spp…….……15

3. GEREÇ VE YÖNTEM 15

3.1. Gereç…..……...……...……..15

3.2. Örneklerin Alınması……...…15

3.3. Laboratuvarda Kullanılan Ekipmanlar……..16

3.3.1. Analizlerde Kullanılan Besiyerleri, Kitler ve Solüsyonlar…….…17

3.3.2. Biyokimyasal Analizlerde Kullanılan Solüsyonlar ve Hazırlanışı……..…18

3.3.3. Moleküler Analizlerde Kullanılan Solüsyonlar…….……18

3.4. Mikrobiyolojik Yöntem..……...……..…..19

3.4.1. Koliform Grubu bakterileri *E. coli*'nin Kültürel Yöntemler ile İzolasyonu ve İdentifikasyonu……...…19

3.4.2. MUG içeren VRB Agar'da Gelişim……...….20

3.4.3. *Staphylococcus-Micrococcus* ve *S.aureus*'un Kültürel Yöntem İle İzolasyonu ve İdentifikasyonu……..…20

3.5. Baird Parker Agar'da (BPA) Gelişim……...…….….21

3.5.1. Mannitol Salt Agar'da (MSA) Gelişim……...…21

3.5.2. Morfolojik ve Biyokimyasal Tanımlama……22

3.5.3. Suşların Triptik Soy Agar'da (TSA) Saflık Kontrolü ve Saklama…….……....23

3.5.4. Katalaz Testi……,……...……...23

3.5.5. DNaz Testi…….……...……..23

3.5.6. Koagulaz Testi…….……...……...…24

3.5.7. Serolojik Testler…….…….……...….25

3.5.8. Lateks Aglütinasyon Testi……...…25

3.6.1. *Enterococcus* spp. Kültürel Yöntem ile İzolasyıonu ve İdentifikasyonu……..……....25

3.6.1.1.Slanetz & Bartley Agar'da *Enterococcus* spp. Gelişimi...……....…….……..26

3.6.1.2. Gram Boyama……...26

3.6.2. *Enterococcus* spp. İzolatlarının Moleküler Biyolojik Yöntemler ile Doğrulanması……..27

3.6.2.1. Genomik DNA İzolasyonu…….……27

3.6.2.2. PZR Analizi ve Moleküler Karakteriazsyon …..…….…….…...28

3.6.2.3. *Enterocococcus faecium* ve *Enterococcus faecalis* Genlerinin Multiplex PZR ile Araştırılması…….……..….…...29

3.6.2.4. Jel Elektroforezis PZR Sonuçlarının Görüntülenmesi…...……..…29

4. BULGULAR……31

4.1. Mikrobiyolojik Bulgular……...…….31

4.1.1. Kurut Örneklerinde Koliform Grubu Bakterilerin Varlığı…….31

4.1.2. Kurut Örneklerinde *E. coli* Varlığı……...……..31

4.1.3. Kurut Örneklerinde *Staphylococcus-Micrococcus* Varlığı…….……...31

4.1.4. Kurut Örneklerinde *S.aureus* Varlığı……..…….…...32

4.1.5. Kurut Örneklerinde *Enterococcus* spp. Varlığı …….....….32

4.2. Kurut Örneklerinde E. *faecium* ve *E. faecalis*'in Karakterizasyonu …….32

5. TARTIŞMA.....36

6. SONUÇ VE ÖNERİLER 42

KAYNAKLAR.....43

EKLER 53

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI 54

ETİK KURUL İZİN YAZISI 56

KURUM İZNİ YAZILARI.....57

ÖZGEÇMİŞ 58

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 2-1: Geleneksel yöntem ile üretilen kurut…….……..6

Şekil 3-1: Numunelerin temin edildiği bölge haritası……..16

Şekil 3-2: VRBA'da koliform grubu bakteri görünümü…….……..20

Şekil 3-3: BPA'da *Staphylococcus-Micrococcus*'un gelişimi…….…….…….……21

Şekil 3-4: Şüpheli *Staphylococcus aureus*'un MSA'da gelişimi…….…….…….……21

Şekil 3-5: TSA'da koloni saflaştırma …….…….…..……21

Şekil 3-6: Katalaz testi pozitif örnekler…….. ……23

Şekil 3-7: DNaz testi pozitif koloni…… ……24

Şekil 3-8: Koagülaz testi pozitif *Staphylococcus aureus* ATCC 25923……..…....…24

Şekil 3-9: *S.aureus* Staphytect plus lateks aglütinasyon testinde görünümü …..……....…24

Şekil 3-10: Slanetz & Bartley agar'da *Enterococcus* spp. görünümü……..…….26

Şekil 3-11: *Enterococcus* spp.'nin mikroskop görüntüsü……27

Şekil 4-1: dd1E ve dd1F genleri içeren *Enterococcus* suşlarına ait jel görüntüsü……33

TABLO LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 2-1: Bazı süt çeşitlerinin kimyasal bileşimleri……..4

Tablo 2-2: Yayık altı suyunun kimyasal bileşimi……...……..5

Tablo 3-1: Kurut Numunelerinin temin edildiği bölgeler…….....12

Tablo 3-2: *Enterococcus faecium* ve *Enterococcus faecalis*'in doğrulanmasında ve virulens genlerini tespit etmek amacı ile kullanılan primer dizileri……...28

Tablo 4-1: Farklı bölgelerden izole edilen koliform bakterileri…….…...31

Tablo 4-2: Bölgelere göre kurut örneklerinin koliform bakteri analiz bulguları……... 32

Tablo 4-3: Farklı bölgelerden izole edilen *Staphylococcus-Micrococcus* bakterileri……...32

Tablo 4-4 : Kurut örneklerinde *Staphylococcus-Micrococcus* bakterilerinin analiz bulguları……...….33

Tablo 4-5: Farklı bölgelerden izole edilen *Enterococcus* spp. Bakterileri……...33

Tablo 4-6 : Kurut örneklerine ait *Enterococcus* spp. analiz bulguları…….….34

Tablo 4-7: *E. faecalis* bakterilerinin bölgelerden izole edilen virulans gen bölgeleri……..34

Tablo 4-8: *E. faecium* bakterilerinin bölgelerden izole edilen virulans gen bölgeleri……..35

SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

Simgeler	**Açıklama**
℃	: Santigrat derece
a_w	: Su aktivitesi
gr	: Gram
kg	: Kilogram
ml	: Mililitre
µl	: Mikrolitre
µg	: Mikrogram
pH	: Hidrojen iyonu konsantrasyonunun (-) logaritması
rpm	: Dönme hızı birimi, devir/dakika
s	: Saniye

Kısaltmalar	**Açıklama**
NaOH	: Sodyum hidroksit
HCl	: Hidroklorik asit
MFGM	: Milk Fat Globule Memrane
KCl	: Potasyum klorür
Taq	: Thermus aquaticus
M	: Molar
M	: Mikromolar
Kob	: Koloni oluşturan birim
PZR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
dATP	: Deoxyadenosine Triphosphate
dCTP	: Deoxycytidine Triphosphate
dGTP	: Deoxyguanosine Triphosphate
dTTP	: Deoxythymidine Triphosphate
Spp.:	: Subspecies
ATCC	: American Type Culture Collection
dH_2O	: Distile su

Et-OH	: Etanol
TE	: Tris-EDTA
Tris	: Tris (Hydroxymethyl) methylamine
ISO	: International Organization for Standardization
HACCP	: Hazard analysis and critical control points
DNA	: Deoxyribonucleic Acid
MRD	: Maximum Recovery Diluent
VRB	: Violet Red Bile Agar
TSA	: Trypticase soy agar
BPA	: Baird Parker Agar
MSA	: Mannitol salt agar
LAB	: Laktik Asit Bakterileri
AMR	: Antimicrobial Resistance
MFGM	: Milk Fat Globule Membrane

ÖZET

DOKTORA TEZİ

Geleneksel Olarak Üretilmiş Kurut Örneklerinin Bazı Patojen Bakteriler Açısından Değerlendirilmesi

Zhanylbubu MAMATOVA

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı

Besin Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Ali AYDIN

Kurut; Orta Asya, Anadolu ve İpek Yolu güzergahı boyunca göçebe hayatı yaşayan halklar tarafından süzme yoğurt, ayran ve yayık altı suyundan geleneksel olarak üretilen tuzlu ve sert bir süt ürünüdür. Bu çalışmada, kurutun üretildiği Orta Asya ülkelerinden biri olan Kırgızistan'ın 7 farklı (Talas, Chuy, Issyl-Kul, Naryn, Osh, Jalal-Abad ve Batken) bölgesinden temin edilen toplam 360 adet geleneksel üretilmiş ve piyasada açıkta satışa sunulan kurut örneklerinden koliform grubu bakterileri, *Escherichia coli* (*E. coli*), *Stapylococcus-Micrococcus*, *S. aureus*, *Enterococcus* spp. içeren bazı patojenler yönünden incelenmesi amaçlanmıştır. Süt ürünlerinde sıklıkla tespit edilen bu patojenler, yaşamı tehdit edici ciddi enfeksiyonlara sebep öncülük edebilmektedir ve bu etkenlerde görülebilen doğal antibiyotik direnci, patojenitelerini kuvvetlendirmektedir. İncelenen hiçbir kurut örneğinde, *E. coli* ve *S. aureus* bakterileri saptanamamıştır. Bununla birlikte koliform grubu bakteriler Talas ve Chuy bölgelerinde tespit edilemezken; Issyl-Kul, Naryn, Osh, Jalal-Abad ve Batken bölgelerinde sırasıyla % 23, % 3,8, % 1,9, % 1,9 ve % 23 oranlarında saptanmıştır. Örnekler, *Staphylococcus-Micrococcus* açısından analiz edildiğinde ise, Jalal-Abad bölgesinden temin edilen örneklerde bu bakteriler bulunamazken; Talas, Chuy, Issyk-Kul, Naryn, Osh, Batken

bölgelerinden alınan örneklerde sırasıyla % 3,8, % 4,2, % 25, % 7,7, % 19,2, % 34,6 olarak belirlenmiştir. İncelenen kurut örneklerinde *Enterococcaceae* familyasına ait toplam 80 adet bakteri tespit edilmiş olup bu bakterilerin 42'sinin *E. faecium*, 38'inin ise *E. faecalis* olduğu polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) yöntemi ile tanımlanmıştır. Çalışmaya alınan örneklerde *S. aureus* ve *E. coli*'nin tespit edilememesi, kurut hijyeni ve halk sağlığı bakımından olumlu bir sonuç teşkil etmektedir. Ancak, kurut üretim aşamasında hijyen, sanitasyon kurallarına uyulmaması durumunda koliform grubu bakteriler ve *Enterococcus* spp. gibi fırsatçı patojenlerin söz konusu üründe görülebileceği ve halk sağlığı açısından riskli olabileceği değerlendirilmektedir.

Haziran 2023 , 76 sayfa.

Anahtar kelimeler: Kurut, Yoğurt, Ayran, Halk Sağlığı, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*

ABSTRACT

Ph.D. THESIS

Evaluation of Traditionally Produced Kurut Samples in Terms of Some Pathogen Bacteria.

Zhanylbubu MAMATOVA

İstanbul University-Cerrahpaşa

Institute of Graduate Studies

Department of Food Hygiene and Technology

Food Hygiene and Technology Programme

Supervisor : Prof. Dr. Ali AYDIN

Kurut is a salty and hard dairy product traditionally produced from strained yoghurt, ayran and buttermilk by the people living a nomading life along the Central Asia, Anatolia and Silk Road route. In this study, it was aimed to examine a total of 360 traditionally produced kurut samples obtained from 7 different regions (Talas, Chuy, Issyl-Kul, Naryn, Osh, Jalal-Abad ve Batken) of Kyrgyzstan, one of the Central Asian countries where kurut is produced, and offered for sale in the open market in terms of some pathogens including coliform bacteria, *E. coli*, *Stapylococcus-Micrococcus*, *S. aureus*, *Enterococcus* spp. Because, these pathogens, which are frequently detected in dairy products, can lead to serious life-threatening infections and natural antibiotic resistance that can be seen in these agaents contributes to their pathogenicity. *E. coli* and *S. aureus* could not be detected in any of kurut samples. However, while the coliform group bacteria could not be detected in Talas and Chuy regions; in Issyl-Kul, Naryn, Osh, Jalal-Abad and Batken regions, detection rates were 23 %, 38 %, 1,9 %, 1.9 % and 23 % respectively. When the samples were analyzed in terms of *Staphylococcus-Micrococcus*, detection rates were 3.8 %, 4.2 %, 25 %, 7.7 %, 19.2 %, 34.6 % respectively in the samples taken from Talas, Chuy,

Issyk-Kul, Naryn, Osh, Batken regions, but in Jalalabad region, *Staphylococcus-Micrococcus* could not be detected. A total of 80 bacteria beloging to *Enterococcaceae* family were detected in kurut samples examined, and 42 of these were identified as *E. faecium* and 38 of them as *E. faecalis* by polymerase chain reaction (PCR) method. The fact that *S. aureus* and *E. coli* could not be detected in the samples included in the study constitutes a positive result in terms of kurut hygiene and public health. However, it is considered that opportunistic pathogens such as coliform bacteria and *Enterococcus* spp. can be seen in the product in question if hygiene, sanitation rules are not followed during the kurut production phase and it is considered to have a negative impact on public health.

June 2023, 76 pages.

Keywords: Kurut, yoghurt, buttermilk, public health, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kurutma işlemi eski çağlardan beri besin maddelerinin korunması için kullanılan bir muhafaza yöntemdir. Kurutma işlemindeki amaç; gıda maddesindeki su aktivitesi (a_w) değerini düşürmek ve bozulmaya neden olan mikroorganizmaların faaliyetlerini ve aktivitelerini devam ettirmelerine engel olmaktır. Suyun varlığı, gıdalarda birtakım kimyasal reaksiyonların meydana gelebilmesi ve bakteri gelişimi için temel bir koşuldur. Tuz ve şeker gibi suda fiziksel olarak çözünen maddelerin ilave edilmesi, besin maddelerinde mikrobiyal ve enzimatik faaliyetlerin oluşmasını sınırlandırmaktadır (Cemeroğlu ve diğ. 1986; Atasever, 2007) Çeşitli gıdalara eklenen bu maddeler, kalite ve güvenlik bakımından avantaj sağlamaktadır (Viuda-Martos ve diğ. 2008). Suyun gıdalardan uzaklaştırılması için kullanılan en eski metotların birisi de gıda maddelerinin güneşte kurutulması işlemidir. Böylece, a_w değeri önemli miktarda düşmekte ve kuru madde miktarı artmaktadır. Kurutma, ucuz ve uygulaması kolay bir yöntemdir. Söz konusu yöntemle elde edilen gıdaların üretiminde daha az işçilik ve daha az ekipman gerekmektedir. Bununla birlikte depolanmaları ve taşınmaları da kolay ve ucuzdur (Cemeroğlu ve diğ. 1986; Ünlütürk, 2003). Türkler tarafından güneşte kurutularak elde edilen besinler arasında pastırma, çiroz, süt tozu, sucuk ve kurut başta gelmektedir (İnal, 1992).

Kurut; ismini Türkçe'deki kurutmak kelimesinden almaktadır. On üçüncü yüzyılda Avrupa'dan Orta Asya'ya gelen elçiler tarafından kayıtlara ''grut'' olarak geçirilmiştir. Bazı kaynaklara göre kurut sözcüğü ''kış azığı'' veya ''savaş azığı'' anlamı vermektedir. Eski kaynaklara göre, Türklerin orta çağlarda yoğurt ve yayık altı suyundan peynire benzer bir süt ürünü olan kurutu yaptıkları söylenmektedir (Bakır, 2000). Bu süt ürünü Çin Halk Cumhuriyeti'nde, Rusya'da ve Kırgızistan'da ''kurut'', Kazakistan'da ''kurt'', Moğolistan'da ''aaruul'', İran'da ''kashk'', Lübnan'da''kişk'', Irak'ta ''kushuk'' ve Türkiye'de''keş''adı ile tanınmaktadır (Mamatova ve Aydın, 2022; Mamatova ve diğ. 2019). Türk mutfağında kurut, tarihi ve önemli bir yere sahiptir. Kültürel olarak toplumda sosyal kaynaşmayı sağladığı ve yiyecek, örf ve adetlerin önemli bir unsuru olduğu nitelendirilmektedir (Dinçel ve Ünver-Alçay, 2017).

Kurut, Anadolu'da yoğurt ve yayık altı ayrandan yapılmakta ve genellikle sevilerek tüketilmektedir (Adam, 1971; Akyüz, 1999). Uzun süre bozulmadan ve besin değerini

yitirmeden saklanabilen bu süt ürününün protein oranı yüksektir. Yayık altı suyunun iyi değerlendirilmesini sağlaması gibi yönleri kurutu önemli kılmaktadır (Gülümser, 1985). Bazı kaynaklarda geleneksel yöntem ile 1 kg kurut elde etmek için ortalama 16-17 kg yoğurt sarf edilmekte ve iyi saklama koşullarında birkaç sene dayanabildiği vurgulanmaktadır (Demirci ve Şimşek, 1997; Çetinkaya, 2004). Kurutun besin değerinin oldukça yüksek olduğu ve insan sağlığı ve gelişimi için önemli olan hayvansal protein, kalsiyum, potasyum, fosfor gibi zaruri besin elementlerini yüksek miktarlarda içerdiği bilinmektedir (Adam, 1971; Gülümser, 1985; Akyüz, 1999). Kurut, Türkiye'nin birçok yerinde farklı isimler ile bilinmektedir: Bolu'da ''keş'', Silifke'de ''horç'', Afyon ve Antalya'da ''dolaz'' veya ''tort'' (Dinçel ve Ünver-Alçay, 2017) olarak adlandırılmaktadır. İran'da ''kashk'' ismi ile bilinen kurutun, ülkenin kuzeyinde ve kuzeybatı bölgelerinde yaşayan göçebe halk tarafından inek, koyun ve keçi sütünden üretildiği bilinmektedir (Soltani, 2009). Bir araştırmada, Çin Halk Cumhuriyeti'nin Tibet bölgesinde kurut yapımında yak sütü kullanılmıştır (Sun ve diğ. 2010). Geleneksel üretimin yanı sıra, kurutun endüstriyel üretimi için sınırlı sayıda araştırma bulunmaktadır (Gürbüz ve diğ. 2018; Sherova, 2022; Temirbekova, 2018). Kırgızistan'da, Kırgızistan Cumhuriyeti Ulusal Standartları, Süt ve Süt Ürünleri Tebliği'ne (Anonim, 2013) göre kurut, protein düzeyi fermantasyon öncesi % 5,6 oranında arttırılan geleneksel fermente süt ürünü olarak tanımlanmıştır. Türk Gıda Kodeksi Fermente Sütler Tebliği'nde ise yoğurt, laktik asit bakteri fermantasyonu ile oluşan koagüle süt ürünü olarak geçmektedir (Anonim, 2009). Kurut üzerinde yapılan çalışmalara göre fermantasyon işlemi gerçekleşen ürünlerin baskın olarak Laktik asit bakterileri (LAB) içerdiği bildirilmiştir (Gezgin ve Akyol, 2010; Leroy ve De Vuyst 2004). Bu bakteriler, doğada yaygın olarak bulunmaktadır ve endüstriyel şartlarda üretimi yapılan gıda maddelerine ilave edilmektedir. *Lactobacillus, Leuconostoc, Pediococcus, Enterococcus, Streptococcus* ve *Carnobacterium* laktik asit bakterilerinin bazılarıdır (Gezgin ve Akyol, 2010; Leroy ve De Vuyst 2004).).

Bu araştırmada, Kırgızistan'nın 7 farklı bölgesinden temin edilen toplam 360 adet inek sütünden elde edilmiş ve geleneksel yöntemle üretilip pazarlarda açıkta satışa sunulan kurut örneklerinin *Escherichia coli* (*E. coli*) , *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), *Enterococcus* spp., koliform grubu bakteriler gibi bozuluma yapıcı ve patojen mikroorganizmalar yönünden incelenmesi amaçlanmaktadır.

2. KAVRAMSAL ÇERÇEVE

2.1 Beslenmenin İnsan Hayatındaki Önemi

Bir insanın sağlıklı ve uzun bir hayat sürdürebilmesi için, ömrü boyunca yeterli ve dengeli beslenmesi zorunludur. Yeterli ve dengeli beslenme ile insanların verimliliği ve toplum içindeki başarı oranı artmaktadır. Gıdalarda bulunan çeşitli besin maddelerinin (protein, yağ, karbonhidrat, vitamin, mineraller ve su) bir düzen içerisinde tüketilmesi, sağlıklı yaşamın sürdürülmesi açısından gerekli bir husustur (Hiperlink, 2013).

Günlük beslenmede tüketilen gıdalar ile vücudun ve metabolizmanın ihtiyaç duyduğundan fazla enerji alındığında fazla kiloluluk ve obezite meydana gelmektedir. Diğer taraftan, protein, vitamin ve mineral maddeler gibi besin maddelerinin vücuda yetersiz alımı ise "dengesiz beslenme" olarak adlandırılmaktadır (Ergin, 1976). Yetersiz ve dengesiz beslenme ile insanın üretkenliği azalmakta, kalp-damar hastalıkları, yüksek tansiyon, kilo artışı veya eksikliği, büyüme-gelişme geriliği, kas/kemik kaybı vb. hastalıklar ile fiziksel ve ruhsal bozukluklar gibi çeşitli sorunlar ortaya çıkmaktadır (Wetherilt, 2004).

2.2. Süt ve Süt Ürünlerinin İnsan Beslenmesindeki Önemi

Süt; tüm memeli hayvanlar ile insan yavrularının beslenebilmesi için gerekli temel bir besin maddesidir (Üçüncü, 2010). Sütün kimyasal bileşenleri, hayvan türüne göre değişim göstermektedir (Demirci ve Şimşek, 2004). Süt, içerdiği protein ve mineraller sayesinde, yavrunun büyümesine, gelişimine büyük katkı sağlamaktadır (Power ve Schkulkin, 2016).

Süt ve süt ürünleri önemli miktarda protein, kalsiyum, fosfor, A vitamini, B_2 vitamini, B_{12} vitamini, D vitamini, E vitamini ve K vitamini içermektedir (Gaucheron, 2013; Atasever, 2007). Sütte bulunan yağ globülleri, sütü oluşturan önemli ana maddelerinden biri olup lezzet üzerinde büyük önem taşımaktadır. Ayrıca, sütteki yağ oranı; hayvanın yaşı, ırkı, beslenmesi ve laktasyon periyodu gibi nedenlere göre değişim göstermektedir (Üçüncü, 2010; Atasever, 2007).

2.3. Sütün Kimyasal Bileşimi

Sığır sütünün bileşimindeki ortalama kurumadde, protein, yağ, laktoz ve mineral madde oranı sırası ile % 10,5-14,5; % 2,9-5,0; % 2,5-6,0; % 3,6-5,5 ve % 0,6-0,9 olarak bilinmektedir. Sütün yoğunluğu 1,028-1,039 g/ml ve asitliği 6,2-8,9 arasında değişmektedir (Üçüncü, 2010).

Biyolojik değer bakımından yüksek ve kaliteli proteinler, sütün beslenmedeki önemini arttırmaktadır. Ayrıca, sığır sütünün kurumaddesinin ortalama olarak %27'sini oluşturan süt proteinleri vücutta sentezlenemeyen ve dışarıdan alınması gereken önemli olan temel aminoasitleri içermektedir. Süt proteinleri niteliklerine göre serum proteinleri ve kazein olarak sınıflanmaktadır (Üçüncü, 2010).

Tablo 2-1: Bazı Sütlerin Kimyasal Bileşimleri

Besin Maddesi	Protein	Yağ	Laktoz	Kuru Madde	Kaynak
Anne Sütü	1,21	3,46	6,44	12,46	(Yamawaki ve diğ. 2005)
Sığır Sütü	3,29	4,08	4,59	12,78	(Chen ve diğ, 2014)
Keçi Sütü	2,90	3,80	4,08	12,48	(Jandal, 1996)
Koyun Sütü	5,59	6,82	4,48	18,10	(Raynal-Ljutovac ve diğ. 2008)
Manda Sütü	4,40	7,10	-	16,60	(Şekerden ve diğ. 1999)

2.4. Yayık altı (ayran)

Süt ürünleri üretim aşamasında, bazı yan ürünler (peynir altı suyu, ayran) oluşmaktadır (Atasever, 2007; Demir ve diğ. 2009). Bu yan ürünlerden birisi olan yayık altı suyu, tereyağ imalatında kremanın çalkalanması sonucu meydana gelen sulu fazdır. Yayık altı suyu; laktoz, mineraller ve süt proteini gibi suda çözünen değerli bileşenleri içermektedir. Ayrıca, çalkalama işlemi sırasında bozulan ve genelde yayık altı fraksiyonuna ayrılan süt yağı globül zarından oluşan materyalleri (MFGM) içermektedir (Roesch ve diğ. 2004; Sodini ve diğ. 2006). Bu bağlamda yayık altı suyu, sütten daha fazla fosfolipit içermektedir. Yüksek oranda fosfolipit maddesinin bulunması, emülsifiye edici özelliği ile bu süt bileşenini fonksiyonel hale getirmektedir (Sodini ve diğ. 2006).

Süt üretimi sırasında oluşan yan ürünler, genellikle kullanılmamakta ve bu durum hem besin kayıplarına hem de çevre kirliliği gibi ciddi sorunlara neden olabilmektedir. Diğer taraftan, yayık altı suyunun değerlendirilmesi üretimde karlılığı artırırken aynı zamanda

maliyetin düşürülmesine de katkı sunmaktadır. Ayrıca besin maddesi kayıpları ve çevre kirliliği gibi sorunlar da bu sayede önlenmektedir (Güler, 1992). Buna göre, yayık altı suyunun kimyasal bileşimi Tablo 2.2'de verilmiştir.

Tablo 2.2 Yayık altı suyunun kimyasal bileşimi (Kurt, 1987)

Ürün	Su %	Yağ %	Şeker %	Protein %	Kül %
Yayık altı suyu	89,7	1,21	4,98	3,28	0,73

* % 33 yağlı 100 kg kremanın yayıklanmasından ortalama 60 kg yayık altı suyu elde edilmektedir.

Yayık altı suyu çeşitli şekillerde değerlendirilebilmektedir. Öncelikli olarak, yayık altı suyu içilebilmekte ve çorba veya hamur ile muamele edilerek kullanılabilmektedir. Bununla birlikte, bazı gelişmiş ülkelerde kurutularak bebek maması üretiminde de kullanılmaktadır (Akyüz, 1979; Güler, 1992; Kurt, 1987). Çeşitli yöntemler kullanarak hem yan ürünün geri kazanımı gerçekleşmekte hem de yayık altı suyunun ürünlere katılımı ile birlikte ürünlerin kalitesi arttırılabilmektedir (Güler, 1992). Bazı araştırmalara göre ise, yayık altı suyu çökelek, çorba ve kurut yapılarak da değerlendirilebilmektedir (Atasever, 2007).

2.4.1. Kurutun Farklı Lehçelerde Kullanılan İsimleri

Kurut, ayran ve yoğurdun süzülerek kurutulması ile elde edilen, İpek Yolu ve Anadolu coğrafyasında beğenilerek tüketilen bir süt ürünüdür. Ayrıca, uygun şartlarda uzun süre bozulmadan muhafaza edilebilen bir peynir türüdür. Kurut; Türkçe bir kelime olup, kökü kurutmak sözcüğünden gelmektedir. Bulunduğu ülkelere göre farklı isimler almaktadır. Kırgızistan, Çin Halk Cumhuriyeti ve Rusya'da ''kurut'', Kazakistan'da ''kurt'', İran'da ''kashk'', Moğolistan'da ''aaruul'', Lübnan'da ''kishk'', Irak'ta ''kushuk'', Suriye'de ''jub-jub'', Tacikistan'da ''kort'' ve Türkiye'de ''keş'' isimleri ile bilinmektedir (Mamatova ve Aydın, 2022; Kochkorova ve diğ. 2021). Bu popüler süt ürünü en yaygın olarak kurut ismi ile bilinse de , Anadolu'nun bazı bölgelerinde ''geşk'' Siirt'te ve Bingöl'de ''çörten'', ''torak'' veya ''terne'', Mardin'de ise ''çortan'' olarak tanınmaktadır (Atasever, 2007).

2.4.2. Kurut Üretimi

Kurut, Türk mutfağında besin değeri açısından önemli bir yer almaktadır. Güneydoğu Anadolu, Doğu Anadolu, Orta Anadolu ve Karadeniz mutfağı gibi mutfakların kültürel olarak toplumda sosyal kaynaşmayı sağladığı ve yiyecek, içecek, örf ve adetler yönünden kendisine özgü zengin yemek kültürüne sahip olduğu bilinmektedir (Dinçel ve Ünver-Alçay, 2017). Kurut, geleneksel yöntemlerle yaygın olarak üretilirken, endüstriyel kurut üretimine yönelik

çalışmalar da bulunmaktadır (Gürbüz ve diğ. 2018; Sherova, 2022; Temirbekova, 2019). Kurutun geleneksel yöntemle üretim aşamasında, öncelikle çiğ sütün 90 °C'de 5 dakika süre ile pastörize edildiği, bunu takiben 42-44 °C'ye soğutularak ve % 2 oranında maya eklenerek 42-44 °C'de 5-8 saat inkübasyona tabi tutulduğu, daha sonra sırasıyla 24 saat soğutma, 24 saat süzdürme, tuz ilavesi ve şekil verme (bir parçası 10-20 grama denk gelecek şekilde) işlemlerinin yapıldığı ve en son 45 °C'de kurutma işleminin uygulandığı bildirilmiştir (Gürbüz ve diğ. 2018)



Şekil 2-1: Geleneksel yöntem ile üretilen kurut (Mamatova ve Aydin, 2022)

Yapılan bir araştırmada, gıda sanayii atıklarını değerlendirmek suretiyle besin değeri yüksek bir ürün elde edilmesine yönelik, laboratuvar ortamında geleneksel üretiminden biraz daha farklı bir yöntemle kurut üretilmesi amaçlanmıştır. Söz konusu araştırmada, hammadde olarak 1:1 oranında yayık altı suyu ve yağsız süt kullanılarak 85 °C'de 15 dakika ısı işlemi uygulanmıştır. Ardından elde edilen karışım 43±2 °C'ye soğulduktan sonra, ticari yoğurt starter kültürü (*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ve *Streptococcus thermophilus*) ilave edilmiştir. Bu karışım, 43 °C'de pH değeri 4,6-4,7 olana kadar inkübasyona bırakılmıştır. Elde edilen yoğurt örnekleri oda sıcaklığında (21±1 °C) soğutulmuştur. Soğutma işlemi tamamlandıktan sonra yoğurt örnekleri, pıhtı oluşması için önce 85 °C'ye ısıtılıp sonrasında 10 dakika süre ile bekletilmiştir. Ardından meydana gelen pıhtı, oda sıcaklığına getirilerek bez torbalara konulmuş ve 24 saat boyunca suyun uzaklaşması için 10 kg ağırlık altında bastırılmıştır. Sonrasında pıhtı kuru madde miktarı belirlenmiştir ve % 0 (kontrol), % 5, % 10 ve % 15 oranlarda portakal kabuğu ekstraktı (*Citrus sinensis* L.) ilavesi yapılmıştır. Bunu takiben, kuruta % 5 düzeyinde ticari sofra tuzu eklenmiş ve çapı 1,5 cm olacak şekilde yuvarlamak suretiyle fanlı kurutma kabininde kontrollü şartlarda (40 °C'de, 1 m/s hava

hızında) % 85 kuru madde oranı oluşana kadar kurutulmaya bırakılmıştır. En sonunda, elde edilen ürünler daha önce hazırlanmış steril polietilen poşetler içerisine konulup vakum ile ambalajlanarak oda sıcaklığı ortamında tüketim için hazır hale getirilmiştir (Temirbekova, 2019).

Finlandiya'da laboratuvar koşullarında Kazakistan kaynaklı kuruttan izole edilmiş *Lacticaseibacillus rhamnosus* GG'ı (LGG) ve maya olarak *Crytococcus laurentii* ilave ederek kurut üretilmiştir. Kurut üretiminde kullanılaracak mikroorganizmalar öncelikle anaerobik ortamda LGG Man Rogosa Sharpe Agar'da (MRS) 37 °C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Daha sonra, 50 µl *Lacticaseibacillus rhamnosus* GG'ı ve maya *C. laurentii* ilave ederek MRS ve YPD medium içeren tüplerde 37 ℃ 24-48 saat aerobik ortamda inkübe ederek gelişimleri sağlanmıştır. İnkübasyonun ardından, LGG'ı ve maya *C.laurentii* 20 ℃'de 10 dakika 4,000xg'de santrifüj edilerek, fizyolojik tuzlu suda iki kere yıkanmış ve 10 ml % 1,5 yağlı UHT süt içerisinde süspanse edilmiştir. Daha sonra kefir taneleri bezden süzülmüştür. Bu işlemi müteakip % 1'lik LGG ve % 3'lük glikoz kullanılarak 37 ℃ 19 saat boyunca pH'sı ortalama 4,6'ya ulaşıncaya kadar inkübe edilmiştir. Böylelikle, broth ve agar üzerine iki aşamalı fermentasyon gerçekleştirilerek, kurut üretimi için starter kültürler % 1,5 UHT süte ilave edilerek ve 37 ℃ 24 saat inkubasyona bırakılmıştır. Oluşan yarı katı pıhtı sırası ile birinci ve üçüncü gün oda sıcaklığında süzülmüştür. Ardından 4 ℃′ye kadar soğutulan ve 22 gün boyunca saklanan kurut numuneleri daha sonra birinci, beşinci, onuncu, on beşinci ve yirmi ikinci günde probiyotik LGG sayısı ve fiziko-kimyasal özellikleri açısından değerlendirilmiştir (Tuganbay ve diğ. 2022).

Kazakistan'da Sherova ve diğ. (2022) tarafından yapılan diğer bir çalışmada ise, kahverengi yosun (*Laminariales*) ilave edilerek biyokurut üretimi yapılmıştır. Genel olarak ülkenin topraklarında endemik iyot yetersizliği mevcut olduğundan, halk sağlığı açısından iyot yetersizliğine bağlı hastalıkların olabileceği ifade edilmiştir. Bu eksikliğin önlenmesi bakımından yosun ilave edilerek, besin değeri yüksek biyokurutun yapımının mümkün olabileceği bildirilmiştir. Kurutularak öğütülmüş % 0,5 gram yosun (*Laminariales*) kuruta ilave edildikten sonra, fiziko-kimyasal bakımdan kurutta; fosfor düzeyinin 840 mg/kg, kalsiyum düzeyinin 1650 mg/kg, bakır düzeyinin 126,3 µg/kg, magnezyum düzeyinin 123,8 mg/kg, kobalt düzeyinin 60,6 µg/kg, çinko düzeyinin 4,8mg/kg ve iyot düzeyinin 1195 µg/kg olduğu bildirilmiştir. Sonuç olarak, yosun ilavesi ile hem kurutun tadında herhangi bir değişimin olmadığı hem de besin değeri yüksek kurut elde edildiği bildirilmiştir (Sherova ve

diğ. 2022). Rusya'da yapılan diğer bir çalışmada ise, laboratuvar şartlarında üretilen kuruta, ticari olarak satılan *Lactobacillus delbrueskii* spp. ve *Streptococcus thermophilus* starter kültürleri kullanarak ve bazı bitkileri (mercanköşk ve fesleğen) ilave ederek biyokurut ürettiklerini rapor etmişlerdir (Mironova ve Bazarnova, 2017).

2.4.3. Kırgızistan'da Geleneksel Yöntem ile Üretilen Kurut Çeşitleri

Geleneksel yöntem ile yapılan kurut, Kırgızistan'ın hemen hemen tüm bölgelerinde üretilmektedir. Genellikle yaz aylarında sütün bol olduğu zamanlarda çiftçilik ile uğraşan aileler tarafından yapılmaktadır. Kimi kendi tüketimi için kimi satış amaçlı kurut üretmektedir. Halk arasında beğeni ile tüketilen bu süt ürünü, yerli endüstriyel birkaç firma tarafından da üretilmektedir. Satışa sunulan kurutlar büyüklük, renk ve çeşit açısından farklılık göstermektedir. Piyasada meyve, biber, dere otu ve çeşitli baharatlar kullanılarak ve tütsülenerek üretilen kurut çeşitleri bulunmaktadır (Temirbekova, 2019).

2.4.4. Piyasada Satışa Sunulan Kurut Çeşitleri

2.4.4.1. Meyve ile Kurut Yapımı

Bu tip kurut üretimi, genellikle Kırgızistan'ın Batken bölgesinde yapılmaktadır. Batken bölgesi, kayısısı ile meşhur olup, kurut yapımında kayısı kullanılmaktadır. Söz konusu kurut, önceleri sadece bu bölgede tüketilmekte iken daha sonra tüm ülkeye yayılarak günümüzde sevilerek tüketilen bir gıda haline gelmiştir. Buna karşın, meyveli kurutun henüz endüstriyel üretimi bulunmamaktadır. Meyveli kurut yapımında, ilk önce kayısının çekirdeği ayırılıp daha sonra kayısı püresi elde edilmektedir. Daha sonra kayısı püresi süzülerek, elde edilen süzme yoğurta karıştırılmakta ve kaynatılmaktadır. Bu işlemin ardından, kuruta şekil verilerek kurutmak için güneşe bırakılmaktadır (Temirbekova, 2019).

2.4.4.2. Kırmızı Biber ile Kurut Yapımı

Toz kırmızı biberli kurut ise diğer bir kurut çeşidi olarak bilinmektedir. Kurut üretimi esnasında kırmızı toz biber; tuz ve çökeleğin katımı sırasında eklenmektedir. Karışım homojen hale getirildikten sonra küçük parçalara ayırılarak şekil verilip güneşte kurumaya bırakılmaktadır. Kırmızı biber, kuruta değişik tat ve renk kazandırmakla beraber besin maddesini koruma gibi etkilerinin de bulunduğu vurgulanmaktadır (Temirbekova, 2019).

2.4.4.3. Çöbögö ile Kurut Yapımı

‘‘Çöbögö’’; kremanın kaynatılmasıyla oluşan ve yağdan ayrılan kahverengi çökeltidir. Kuruta çöbögö eklenmesi hoş bir tat ve renk vermekle beraber, bu uygulama geçmişten bugüne geleneksel olarak Kırgız halkı arasında yapılmaktadır (Temirbekova, 2019).

2.4.4.4. Tütsüleme Tekniği Uygulanarak Yapılan Kurut

Bu teknikte, geleneksel yöntem ile yapılan kurut önce güneşte kurutulmaktadır. Daha sonra ise ürüne tütsüleme işlemi uygulanmaktadır. İşlem sonrası kurut, tütsülemeye bağlı özel tat, renk, koku ve aromaya sahip olmaktadır (Temirbekova, 2019).

2.5. Kurutun Fiziko-Kimyasal Özellikleri

Yağlı veya yağsız standartize edilmiş inek sütünden elde edilen kurut; en az % 16 oranında protein, % 1-26 oranında yağ ve % 69 oranında kurumadde içermektedir (Anonim, 2013). Bununla birlikte, kurutun kimyasal içeriği üretildiği ülke ve yapım aşamasında kullanılan süt ve süt ürünleri doğrultusunda değişim göstermektedir. Bu bağlamda yapılan bir çalışmada toplamda 42 adet kurut örneği analiz edilerek ortalama değerleri; kuru madde; a_w ; yağ; protein; kül; tuz; SH olmak üzere sırası ile % 80,03; % 19,97; % 11,07; % 52,35; % 4,80; % 9,11 ve 21,2 olarak tespit edilmiştir (Eralp, 1953). Diğer bir çalışmada ise kurutta, kuru madde; su; yağ; tuz; yağsız kuru madde; kül; protein oranları sırası ile % 79,69; % 20,31; % 10,58; % 11,06; % 69,12; % 9,66; % 1,40 olarak bildirilmiştir (Gülümser, 1985). Kishk’in kullanıldığı bir araştırmada ise ortalama yağ; protein; toplam kuru madde; kül ve pH değerleri sırası ile % 2,61; % 14,7-21,4; % 89,23-93,25; % 4,1-9,3 ve 3,58-4,12 arasında olduğu bildirilmektedir (Tamime vd. 1999). Türkiye’de yapılan bir çalışmada ise, toplam 25 adet Kurut örneğinin kimyasal içeriği; rutubet; yağ; kuru madde yağ; tuz; kuru madde tuz; kül; pH değeri ve asidite (% laktik asit cinsinden) olarak sırası ile % 10,96; % 32,90; % 37,14; % 12,85; % 14,41; % 11,79; 4,26 ve % 2,40 rapor edilmiştir (Patır ve Ateş, 2002). Akyüz ve diğ, (1993) toplam 20 adet kurut numunesini incelediği çalışmada ise; kuru madde; protein; yağ; kül; tuz; oranlarını sırası ile % 85,51; % 54,64; % 8,52; % 14,89 ve % 12,18 olarak bulunmuştur. Benzer bir çalışmada, incelenen toplam 43 adet kurut örneğinin kimyasal bileşimi olarak ortalama kuru madde; kül; tuz; yağ; protein değerleri sırası ile % 86,62; % 11,89; % 10,15; % 15,48 ve % 49,67 olarak tespit edilmiştir (Atasever, 2007). Kekik, nane, biberiye ilavesi ile üretilen kurut numunelerinin incelendiği diğer bir araştırmada, ortalama kuru madde sırası ile % 89; % 86; %

84 olarak saptanırken, protein ile yağ miktarı % 45,5 ve % 14 olarak bildirilmiştir (Çiftçi, 2008). Kars'tan temin edilen toplam 50 adet kurut numunelerinin araştırıldığı çalışmada ise; ortalama kuru madde; protein; yağ; kül ve tuz oranları sırası ile % 89,9; % 25,5; % 45,9; % 10,0 ve % 6,7 olarak tespit edilmiştir (Kamber, 2008). Güven ve Karaca'nın (2009) yaptığı diğer bir çalışmada ise, kurut örneklerinde ortalama kuru madde, protein, yağ, tuz oranlarını sırası ile % 86,86; % 8,44; % 53,41 ve % 10,44 olarak saptanmıştır. Soltani ve Güzeler, (2009) İran'dan temin edilen kurut örnekleri üzerine bir araştırma yapılmıştır. Analize alınan 20 adet örnek, kuru madde; protein; yağ; kül; ve tuz oranını ortalama olarak sırası ile % 85,79; % 51,74; % 9,17; % 12,25 ve % 9,77 olarak bulunmuştur. Keçi ve inek sütünden elde edilen yoğurt ve yayık altı suyundan yapılan ayrandan elde edilen çökelekler analize alınmıştır. Yapılan araştırmaya göre ortalama olarak kuru madde; kül; yağ; protein; tuz değerleri sırası ile % 87,26; % 3,91; % 3,30; % 55,56 ve % 3,35 olarak saptanmıştır (Eynallı, 2017). Kırgızistan'da yapılan bir araştırmada ise göre deneysel olarak laboratuvar şartlarında üretilen kurut ve pazardan toplanan kurut örneklerinin kimyasal analizleri yapılmıştır (Gürbüz ve diğ. 2018). Bu araştırmada; deneysel olarak üretilen kurut örneklerinin değerlerini ortalama olarak pH oranı; kül ve tuz miktarları sırası ile 4,29; % 12,02 ve % 8,58 ve pazardan toplanan kurut örneklerinin kimyasal değerlerin ortalama pH oranı; kül ve tuz miktarları sırası ile 4,13; % 12,52 ve % 12,51 olarak tespit edilmiştir.

2.6. Kurutun Mikrobiyolojik Özellikleri

Kurut, *Streptococcus thermophillus* ve *Lactobacillus bulgaricus* saf kültürleri aracılığıyla fermente edilen bir süt ürünü olup (Anonim, 2013), söz konusu laktik asit bakterilerinin yanı sıra diğer bazı mikroorganizmaları ve patojen bakterileri de içerebilmektedir (Patır ve Ateş, 2002). Türkiye'de Van İlinden temin edilen 20 adet kurut örneği mikrobiyolojik açısından araştırılmış olup toplam bakteri sayısı; maya-küf ve lipolitik mikroorganizma sayısı sırası ile $2{,}30x10^3$-$5{,}20x10^4$ kob/g, $1{,}00x10^2$-$10x10^4$ ve 0,00-$8{,}00x10^3$ kob/g olarak tespit edilmiştir (Akyüz ve diğ. 1993). Yine benzer bir çalışmada Elazığ bölgesinden toplamda 25 adet kurut örneği incelenmiştir. Araştırma sonucunda, ortalama toplam mezofilik aerob bakteri; koliform grubu bakteri; *Stahylococcus-Micrococcus*; *Lactobacillus-Leuconostoc-Pediococcus*; *Lactococcus*; maya-küf sayıları sırası ile $3{,}40x10^4$ kob/g; $2{,}79x10^2$; $2{,}40x10^3$ kob/g; $2{,}23x10^4$; $1{,}12x10^4$ olarak belirlenmiştir (Patır ve Ateş, 2002). Diğer araştırmacılar Bingöl ve Erzurum'dan toplamda 45 kurut numuneleri üzerinde yaptığı mikrobiyolojik analizler sonucu ortalama mezofilik aerob bakteri; *Staphylococcus-Micrococcus*; koliform bakterileri;

Lactococcus; *Lactobacillus*; maya-küf sayılarını sırası ile $3,2x10^4$ kob/g; $2,1x10^3$ kob/g; $3,2x10^2$ kob/g; $1,9x10^4$ kob/g; $2,2x10^4$ kob/g ve $1,6x10^5$ kob/g olarak tespit etmişler (Atasever, 2007). Kars'tan toplamda 50 adet kurut örneği incelenmiş olup ortalama mezofilik aerob bakteri; aerobik mezofilik spor; laktik asit bakterileri; *Lactococcus*; maya-küf; *Enterobacteriaceae*; *Clostridia* ve koagulaz pozitif stafilokok sırası ile 4,52 $\log_{10}$ kob/g; 2,78 $\log_{10}$ kob/g; 3,60 $\log_{10}$ kob/g; 3,60 $\log_{10}$ kob/g; 3,94 $\log_{10}$ kob/g; 2,13 $\log_{10}$ kob/g; 1,51 $\log_{10}$ kob/g ve 1,81 $\log_{10}$ kob/g olarak saptamışlar (Kamber, 2008). İran'dan toplanan toplamda 20 adet kurut mikrobiyolojik analizlerin sonucunda, örneklerin tamamında maya-küf varlığını, 3 örnekte koliform bakterileri, 2 örnekte *S. aureus* bakterilerin üremesi görülürken *E. coli* bakterisi hiçbir örnekte saptanamamıştır (Soltani ve Güzeler, 2009). Kırgızistan'dan pazarlardan temin edilen kurut örneklerinden koliform bakteri ve maya-küf sayısını sırası ile <1-3,13 $\log_{10}$ kob/g ve 2,48-5,06 $\log_{10}$ kob/g olarak bulmuşlar (Gürbüz ve diğ. 2018).

2.7. Koliform Grubu Bakteriler

Koliform grubu bakteriler, *Enterobacterales* familyasına ait, gram negatif, fakültatif anaerob ve spor oluşturmayan çubuk şeklindeki bakterilerdir. *E. coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Citrobacter* ve *Klebsiella* bu grubun mensuplarıdır. Koliformlar, suyun fekal kontaminasyonunu ve gıdaların genel hijyen durumunu (pastörize süt ürünleri de dahil olmak üzere) belirlemek adına indikatör mikroorganizma olarak kullanılmaktadır (Pal ve Mahendra, 2015; Chapin ve diğ. 2014; Tortorello, 2003). Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği'ne göre pastörize süt için tolere edilebilir en üst *Enterobacterales* limiti 10^1 kob/mL'dir (Anonim, 2011) Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi Sınıf 'A' Pastörize Süt Yönetmeliği ise (Food and Drug Administration Grade A Pasteurized Milk Ordinance), pastörize sütte bulunan koliformlar için limiti ≤10 kob/mL olarak belirlemiştir (FDA, 2015)

2.8. *Escherichia coli*

E. coli, insanların ve hayvanların bağırsak mikrobiyotasında bulunan ve çoğu zararsız olan bakterilerdir (CDC, 2014). Ancak bu cinse ait bazı serotiplerin patojen olduğu (örn., *E. coli* O157:H7) ve diyareye ve bağırsak dışı hastalıklara yol açtığı bildirilmektedir (CDC, 2014; Ariyanti ve diğ., 2022). Patojen *E. coli* suşları 6 patotipe sınıflandırılmakta olup bu patotipler: Shiga toksin-üreten *E. coli* (STEC), Enterotoksijenik *E. coli* (ETEC), Enteropatojenik *E. coli* (EPEC), Enteroagregatif *E. coli* (EAEC), Enteroinvazif *E. coli* (EIEC) ve Diffuz gregatif *E.*

coli (DAEC)'dir. *E. coli* türleri, vücuda kontamine su ve gıdaların tüketimi ile veya taşıyıcı insan ve hayvanlarla temas yoluyla alınmaktadır (CDC, 2014). Çiğ süt ve çiğ sütten yapılan peynirler gibi bazı süt ürünleri patojen *E. coli* suşları için önemli birer kaynaktır (Oliver ve diğ. 2005).

2.9. *Staphylococcus-Micrococcus*

Staphylococci; 0,5 – 1,0 μm çapında, gram pozitif ve katalaz pozitif koklar olup insanlarda ve hayvanlarda çeşitli enfeksiyonlara neden olabilmektedir. Bu cinsin bakterileri kan plazmasını koagüle edebilme kabiliyetlerine göre koagülaz-pozitif ve koagülaz-negatif olmak üzere iki gruba sınıflandırılmaktadır. *S. aureus* ve *S. intermedius* koagülaz pozitif iken diğer staphylococcus türleri koagülaz negatiftir (Foster, 1996).

Micrococcus; gram pozitif, küre şeklinde, oksidaz-pozitif, aerobik, hareketsiz ve spor oluşturmayan bakterilerdir (Bannerman ve Peacock, 2007; Kocur ve diğ. 2006; Greenblatt ve diğ. 2004). İlk defa 1872 yılında Ferdinand Cohn tarafından tanımlanmıştır (Stackebrandt ve diğ. 1995; Wieser ve diğ. 2002). İnsanların ve diğer hayvanların derisinde, tatlı suda ve deniz suyunda, bitkilerde, fomitlerde, havada ve tozda bulunmaktadırlar (Bannerman ve Peacock, 2007; Kocur ve diğ. 2006). İnsanlarda en sık el, kol, yüz ve ayak derisinde rastlandıkları bildirilmiştir (Kocur ve diğ. 2006). *Micrococci*; inek meme derisi, mandıra ekipmanları, sağım makinesi, hava ve toz gibi kaynaklardan süte bulaşabilmektedir (Bhowmilk ve Marth, 1990)

2.10. *Staphylococcus aureus*

S. aureus ilk olarak 1880 yılında İskoçya'nın Aberdeen şehrinde cerrahi uzmanı Alexander Ogston tarafından yaraları olan hastalarda keşfedilmiştir. Bakteri, yaklaşık 0,8 μm çapında olup morfolojik olarak üzüm salkımına benzemektedir (Guo ve diğ. 2023). *S. aureus* hazırlama ve işleme sırasında besinlere kontamine olabilmekte; geniş sıcaklık (optimum 30 - 37°C olmak üzere, 7° - 48,5°C) ve pH (optimum 7-7,5 olmak üzere 4,2 – 9,3) aralıklarında ve %15'e kadar tuz konsantrasyonunda çoğalabilmektedir (Kadariya ve diğ. 2014). Etkenin sebzelerden, et ve et ürünlerinden, deniz ürünlerinden, süt ve süt ürünlerinden, peynirden ve yumurta ürünlerinden izole edildiği bildirimiştir (Liang ve diğ. 2023).

Staphylococcus aureus ısıya dayanıklı 9 ana serolojik türde enterotoksin üretmektedir: SEA, SEB, SEC, SED, SEE, SEG, SEH, SEI ve SEJ. Söz konusu toksinlerin ısının yanı sıra proteolitik enzimlere ve düşük pH'a dirençli olduğu; dondurma ve kurutma gibi çevresel koşullara dayanıklılık gösterdiği ifade edilmektedir. Stafilokokal enterotoksinlerin besin

zehirlenmesine yol açma mekanizması tam olarak bilinmese de intestinal epitel dokuyu ve vagus sinirini doğrudan etkileyerek kusma merkezinin uyarılmasına neden olduğu ileri sürülmektedir (Kadariya ve diğ. 2014). *S. aureus*'un düşük sıcaklıkta hayatta kalabilmesi sebebiyle kontamine dondurulmuş gıdalar besin zehirlenmesine neden olabilmektedir (Liang ve diğ. 2023).

2.11. *Enterococcus* spp.

Enterococcus'lar gram-pozitif fakültatif anaerobik bakterilerdir. Normal bağırsak mikrobiyotasının bir parçası olmakla beraber 10^5-10^8 kob/g aralığında bulunabilmektedirler (Yost ve diğ. 2011; Dubin ve Palmer, 2017). Günümüzde genus bazında bilinen yaklaşık 40 *Enterococcus* türü bulunmaktadır. Başta D grubu streptokoklar olarak sınıflandırılan *Enterococcus*'lar, çeşitli fenotipik ve biyokimyasal benzerlikleri nedeninden dolayı bu bakterileri birbirinden ayırt etmek oldukça zordur (Yost ve diğ. 2011). *Enterococcus*'lar bağırsak kökenli indikatör bakterileri olarak önerilmekle beraber (Byappanahalli ve diğ. 2012; Boehm ve Sassoubre, 2014), antimikrobiyal direnç trendlerini takip etmede ve çeşitli direnç izleme sistemleri araştırmalarında sıklıkla kullanılmaktadır. (Tyson ve diğ. 2018). Hastane kaynaklı enfeksiyonların % 12'in *Enterococcus*'lar oluşturmaktadır. Klinik vakaların % 90'nın sadece *E. faecalis* ve *E. faecium* türleri neden olmaktadır (Billington ve diğ. 2018). Dünya çapında üçüncü ve dördüncü yeri alan en yaygın insan patojenleri (ECDC, 2011) olan bu bakteriler, Avrupa'da ve Kuzey Amerika'da tüm bakteriyemi vakaların ortalama % 11-13'ü oluşturmaktadır (Ammerlaan ve diğ. 2013; De Kraker ve diğ. 2013). MLST klonal kompleks 17'ye (17 CC17) sahip ve vankomisin'e dirençli *E.faecium* birkaç ülkelerde görüldüğü bildirilmiştir (Werner ve diğ. 2008; Pinholt ve diğ. 2015). Bir araştırmaya göre, idrar yolu enfeksiyonu vakasından izole edilen bakteriler *E.faecalis* ile genetik olarak benzerliği ve kanatlı kümes hayvanlarından geçtiği bildirilmiştir. Kümes hayvanlarının olası rolü, bu türün zoonoz potansiyelini arttırarak ve insanlara yayılmasında önemini söylemişler (Poulsen ve diğ. 2012; Bortolaia ve Guardabassi, 2015; Abad ve diğ. 2016). Kümes hayvanlarında enterokoklar septisemi, endokardit ve diğer hastalıklarla ilişkilendirilmiştir (Gilmore, 2002). Diğer bir araştırmada kanatlı hayvanların etlerinde bulunamadığını, ancak insanlara antimikrobiyal dirençli enterokokların bulaşmasıyla ilgili endişelerini bildirmişler (Simonsen ve diğ. 1998; Marshal ve Levy, 2011). Günümüzde omurgasında osteomiyelitis hastalığı olan piliçlerden AMR (antimikrobiyal dirençli) *E. faecalis* suşlarının izole edildiği rapor etmişler (Braga ve diğ.

2018). Bununla ilişkili başka bir araştırmada, et amacı ile yetiştirilen piliçlerde AMR genlerin dağılımı ve yayılması, spesifik terapötik ve büyüme destekleyici amaçlı kullanılan ilaçların gıda güvenliği ve halk sağlığı açısından tavuk eti üretiminde AMR'nin izlenmesi zorunlu olduğunu bildirmişler (Aarestrup, 2000; Diarra ve diğ. 2007; Nhung ve diğ. 2016).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. GEREÇ

3.2. Örneklerin Alınması

Bu tez çalışmasında toplamda 360 adet kurut örneği Kırgızistan'ın 7 farklı bölgesinden (Talas, Chuy, Issyk-Kul, Naryn, Osh, Jalal-Abad ve Batken) temin edilerek soğuk zincir koşullarında (thermobox kutular içinde, +4°C'de) laboratuvara ulaştırılmıştır (Tablo 3-1). Temin edilen kurut örneklerinde koliform grubu bakteriler, *E. coli*, *Staphylococcus-Micrococcus*, *S. aureus* ve *Enterococcus* spp. varlığı incelenmiştir.

Tablo 3-1: Kurut numunelerinin temin edildiği bölgeler

Bölge Adı	Adet	Tüm Örnekler İçindeki Payı (%)
Talas	52	% 14,4
Chuy	48	% 13,3
Issyk-Kul	52	% 14,4
Naryn	52	% 14,4
Osh	52	% 14,4
Jalal-Abad	52	% 14,4
Batken	52	% 14,4
Toplam	360	% 100



Talas n=52 (Manas, Kara-Buura, Bakay-Ata, Talas); Chuy n=48 (Panfilov, Moskva, Jayyyl, Sokuluk, Alamüdün, Ysyk-Ata, Kemin); Ysyk-Köl n=52 (Tüp, Tong, Ak-Suu, Jeti-Ögüz); Naryn n=52 (Ak-Talaa, Naryn, At-Bashy, Jumgal, Kochkor); Osh n=52 (Aravan, Kara-Kulja, Nookat, Alay, Chon-Alay, Kara-Suu, Özgön); Jalal-Abad n=52 (Suzak, Toktogul, Nooken, Chatkal, Bazar-Korgon, Ala-Buka, Aksy, Toguz-Toro); Batken n=52 (Leilek, Batken, Kadamjay).

Şekil 3-1: Numunelerin temin edildiği bölge haritası

3.3. Laboratuvarda Kullanılan Ekipmanlar

- Otoklav (Hirayama, HV-50L, Japonya)
- Inkübatör (Memmert, Almanya)
- Stomacher (Interscience, France)
- Benmari (Memmert, Almanya)
- Tip 2 Biyogüvenlik Kabini (Nuaire, ABD)

- Mini Santrifüj cihazı (Isolab, D1008, Almanya)
- Derin Dondurucu (Sumsung, Güney Kore)
- Faz kontrast Mikroskop (10x,40x ve 100x objektif, Olympus)
- Magnetik karıştırıcı (VWR, Almanya)
- Derin dondurucu -80℃ (Hettich, Almanya)
- +4°C Dondurucu (Sumsung, Güney Kore)
- Hassas Terazi (Mettler Toledo, İsviçre)
- Laboratuvar Cam malzemeleri
- Mikro pipet steril pipet ucu (10-100-1000 Thermo Fisher Scientific, ABD)
- Elektronik saat (İsolab, Türkiye)
- Vortex karıştırıcı cihazı (Velp Scientifica, İspanya)
- Thermal Cycler (Biorad PTC0200, Meksika)
- Kuru Blok (Grant-Bio, PCH-2, İngiltere)
- Güç kaynağı ve Elektroforez cihazı (Thermo Fisher Scientific, Easycast B1, Almanya)
- Elektroforez Jel Görüntüleme Sistemi (Vilber Lourmat İnfinity, Almanya)

3.3.1. Analizlerde Kullanılan Besiyerleri, Kitler ve Solüsyonlar

- Maximum Recovery Diluent (Oxoid, CM 733)
- Baird Parker Agar (Oxoid, CM 0961)
- Egg Yolk Tellurit Emulsiyon (Oxoid, SR 0054)
- Mannitol Salt Agar (Oxoid, CM 0085)
- Brain Heart İnfusion Broth (Oxoid, CM 0225)

- Tryptone Soy Agar (Oxoid, CM 0131)
- Tryptone Soy Broth (Oxoid, CM0321)
- Coagulase Plazma kiti (Remel, Hollanda)
- Gram Boyama Kiti (GBL, Türkiye)
- DNase Agar (Oxoid, CM03337)

3.3.2.Biyokimyasal Analizlerde Kullanılan Solüsyonlar ve Hazırlanışı

- 1 N HCL: 8,2 ml HCL distile su ile toplamda 100 ml olacak şekilde hazırlanmıştır.
- %3 H_2O_2: 10 ml %30'luk H_2O_2 (Riedel de Haen, 18312) distile su ile toplamda 100 ml olacak şekilde hazırlanmıştır.
- Kristal Viole Solüsyonu: Ticari hazır solüsyon kullanılmıştır (GBL, Türkiye).
- Gram Iodine Solüsyonu: Ticari hazır solüsyon kullanılmıştır (GBL, Türkiye).
- Safranin solüsyonu: Ticari hazır solüsyon kullanılmıştır (GBL, Türkiye).
- Absolut Etanol: Ticari hazır etanol solüsyonu kullanılmıştır (GBL, Türkiye).
- Immersyon Yağı: Ticari hazır immersyon yağı kullanılmıştır (Fluka, 56822).

3.3.3.Moleküler Analizlerde Kullanılan Solüsyonlar

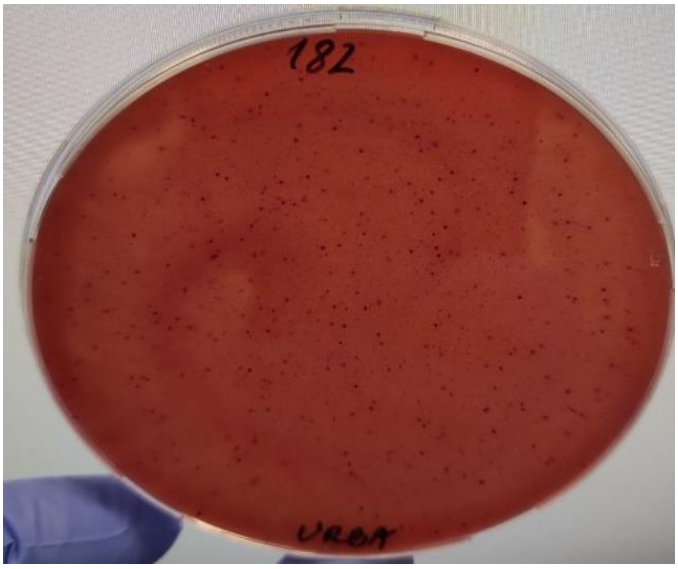
- SDS püre Ph. Eur. (AppliChem, A4259, 1000)
- Glyserol (Sigma Aldrich, G5516, Almanya)
- %3H_2O_2
- Seakem Gold Agarose (Lonza, 125 gr)
- 2-propanol (Sigma Aldrich, 24137)

- Phenol/Chlorophorm/Isoamyl Alkol (Amresco, K169)
- 25 mM $MgCl_2$ (Thermo Fisher Scientific)
- 10X Tag Buffer with KCL (Thermo Fisher Scientific)
- Tag DNA Polymerase 5U/µl, 500 U (Thermo Fisher Scientific, EP0402)
- dNTP Set (Thermo Fisher Scientific, R0182)
- Ethanol Absolute (Sigma Aldrich)
- Lyzozime 50000U/mg (Merck, 05281)
- 10 mM Tris-HCl, ph 8,0
- Safe View Classic (ABM, G108)
- Gene Ruler 100 bp DNA Ladder µg/µl, 50/µg (Thermo Fisher Scientific, SM0241)

3.4. MİKROBİYOLOJİK YÖNTEM

3.4.1.Koliform Grubu Bakterilerin Methylumberryferril Glucuronodase (MUG) içeren Violed Red Bile (VRB) Agar'da İzolasyonu ve İdentifikasyonu

Koliform grubu bakterilerin sayımı için Methylumberryferril Glucuronodase (MUG) içeren Violed Red Bile Agar (VRB) (Oxoid CM0978, İngiltere) kullanılarak ekim sonrası petri plakları soğumaya bırakılmıştır. Inkübatörde 37 ℃'de 24 saat inkübasyondan sonra gelişen koloniler sayılmıştır. İnkübasyon sonunda ortaya çıkan tipik karakeristik koliform bakterileri kolonileri belirlemek için VRB'de gelişen 0,5 mm veya daha büyük çaplı morumsu kırmızı renkte koloniler sayılmıştır.



Şekil 3-2: VRBA'da Koliform grubu bakteri görünümü

3.4.2. *E.coli*'nin Kültürel Yöntemler ile İzolasyonu ve İdentifikasyonu

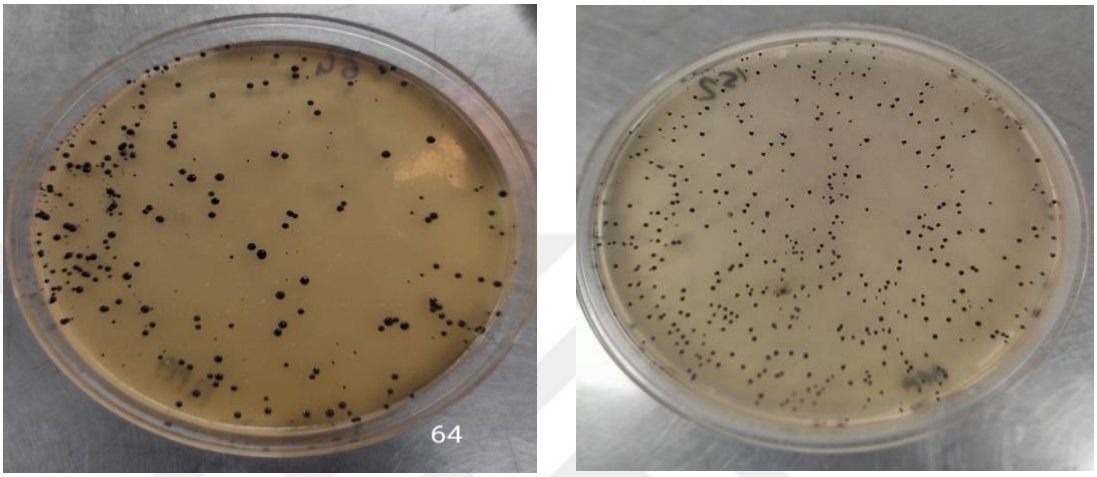
Soğuk zincir koşullarda (thermobox kutular içinde, +4 °C'de) laboratuvara getirilen kurut numunelerinden her birinden 10g tartılıp, üzerine 90 ml (1/9 oranında), Maximum Recovery Dilluent (MRD) (Oxoid CM 0733, Basingstoke, İngilere) eklenmiştir. Homojenizasyon amacı ile steril stomaher poşetler içerisine Bag mixer (Interscience, France) 2 dakika boyunca stomacher aletinde homojenize edilmiştir. Elde edilen homojenizattan 1mL alınarak dilüsyonlar hazırlanarak (ISO 6887-1, 2017) steril pipet ile petriye aktarılmıştır.

3.4.3. *Staphylococcus-Micrococcus* ile *S. aureus*'un Kültürel Yöntem ile İzolasyonu ve İdentifikasyonu

Kurut numunelerinde *Staphylococcus-Micrococcus* ve *S. aureus* tespiti ISO 6888-1 standardına göre yapılmıştır. Soğuk zincir kullanılarak laboratuvara getirilen kurut örneklerinden 10 gr tartılarak üzerine 90ml (1/9 oranında), Maximum Recovery Dilluent (MRD) (Oxoid CM 0733, Basingstoke, İngiltere) eklenmiştir. Homojenizasyon amacı ile steril stomacher poşetler içerisine (Interscience, France) 2 dakika boyunca stomaher cihazında (Bag Mixer) homojenize edilmiştir. Elde edilen homojenizattan 1ml alınarak dilüsyonlar hazırlanarak (ISO 6887-1, 2017) steril pipet ile petriye aktarılmıştır.

3.5. Baird Parker Agar'da (BPA) Gelişim

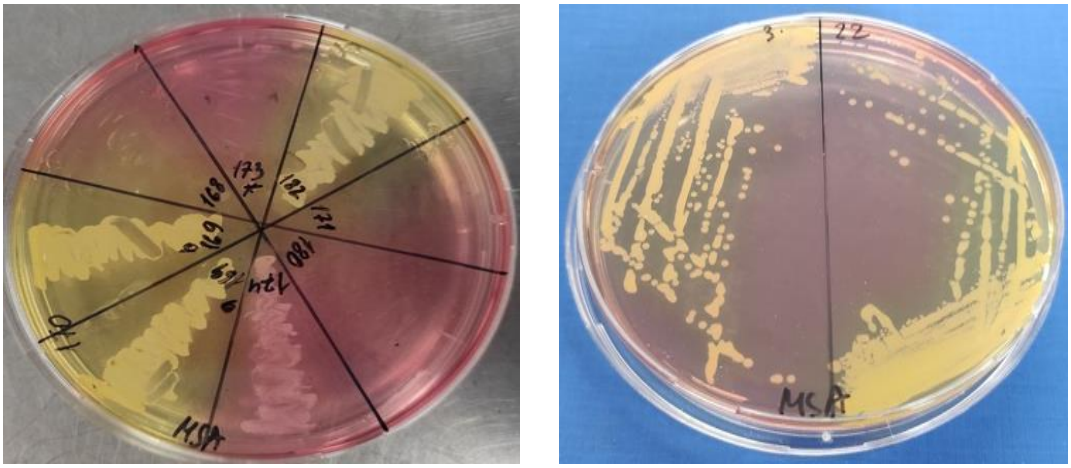
Mikroorganizmaların sayımı için, Baird Parker Agar (Oxoid CM 0275 Basingstoke, İngiltere) kullanılmıştır. Besiyeri önceden hazırlanıp sonra üzerine Egg Yolk Tellurite (Oxoid SR 0054, İngiltere) eklenmiştir. Soğutulduktan sonra steril pipet ucu ile örnekler petrilere aktarılmıştır. Petriler ters çevirilerek 37 °C' de etüvde 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. Petriler 37 °C'de 48 saat etüvde inkübe edildikten sonra gelişen koloniler sayılmıştır.



Şekil 3-3: BPA'da *Staphylococcus-Micrococcus*'un gelişimi

3.5.1.Mannitol Salt Agar'da (MSA) Gelişim

S. aureus tespiti belirlemek amacıyla BPA'da gelişen siyah renkli ve etrafında berrak zonu olan kolonilerden Mannitol Salt Agar'da (Oxoid CM 0085) ekim yapılmıştır. 37 °C'de 48 saat etüvde inkübe edildikten sonra MSA'da gelişen parlak sarı haleli koloniler tahmini koagulaz-pozitif *Staphylococcus*, kırmızı ya da mor haleli koloniler ise koagulaz-negatif olarak değerlendirilmiştir. Besiyerindeki mannitol fermantasyonu sonucunda, pH değişerek fenol kırmızısı ayraç rengi kırmızıdan sarıya dönen koloniler şüpheli *S. aureus* suşları olarak değerlendirilmiştir. *S. aureus* kolonilerinin gelişiminin incelenmesi, şüpheli pozitif ya da yanlış pozitif suşların ilk aşamada eliminasyonuna olanak sağlayan ve bu işlem sonrasında şüpheli *S. aureus* suşlarının diğer biyokimyasal testler ile tanımlanması işlemine geçilmiştir.



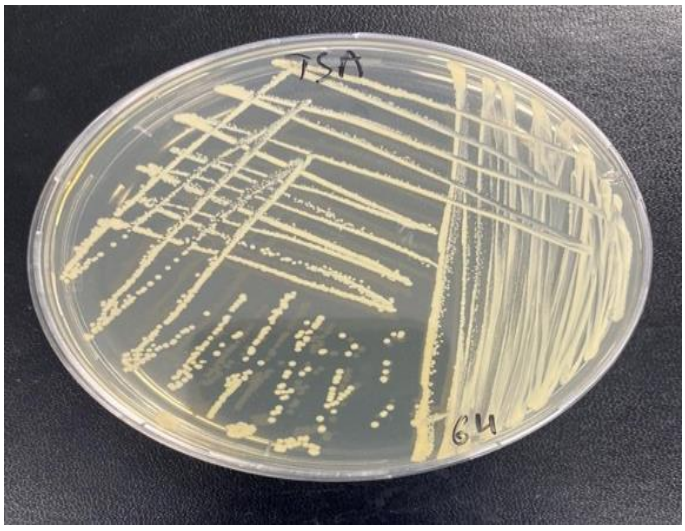
Şekil 3-4: Şüpheli *Staphylococcus aureus*'un MSA'da gelişimi

3.5.2. Morfolojik ve Biyokimyasal Tanımlama

S. aureus koagulaz pozitif bakterilerini tanımlamak amacıyla biyokimyasal testler yapılmıştır.

3.5.3. Suşların Triptik Soy Agar'da (TSA) Saflık Kontrolü ve Muhafaza

İzole edilen şüpheli *S. aureus* suşları, Tryptic Soy Agar'da (Oxoid, CM 0131) ekim yapılıp 37 ℃'de 24 saat inkübe edilmiştir. Ardından inkübasyon sonrası gelişen saf *S. aureus* kolonileri biyokimyasal tanımlama işlemi amacıyla kullanılmıştır.



Şekil 3-5: TSA'da koloni saflaştırma

3.5.4.Katalaz Testi

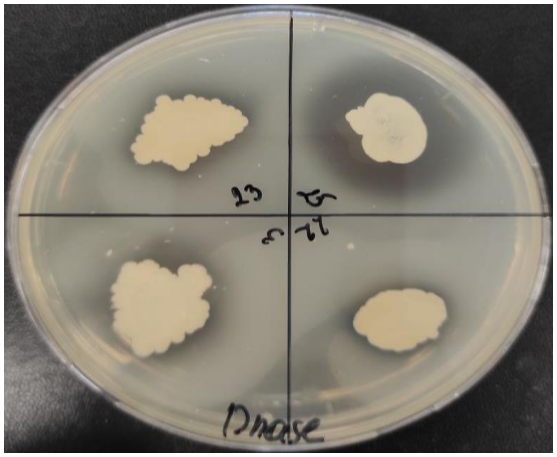
TSA besiyerinde üremiş olan (18-24 saatlik) bakteriler kültüründen alınmış birkaç koloni temiz bir lam üzerinde birkaç damla % 3'lük H_2O_2 ile karıştırılmıştır. Gaz oluşumu (O_2 çıkışı) gözlenen stafilokok izolatları, katalaz pozitif olarak değerlendirilmiştir (Koneman ve diğ. 2006).



Şekil 3-6: Katalaz testi pozitif örnekler

3.5.5.DNaz Testi

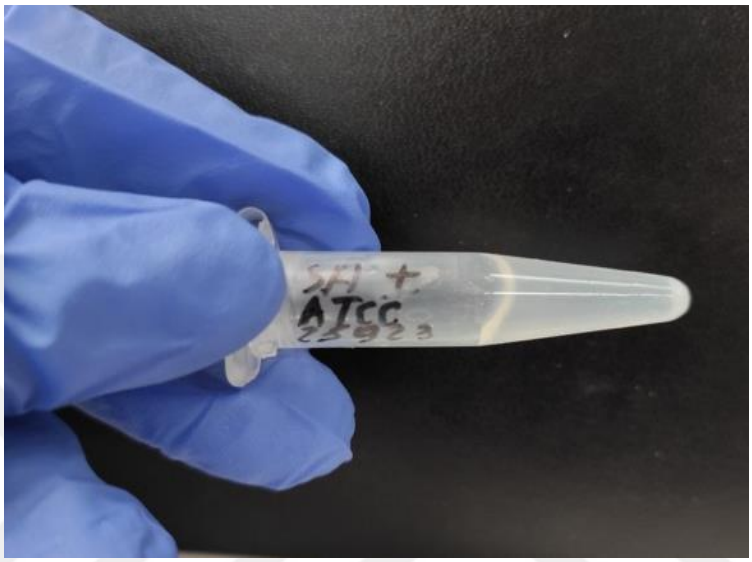
S. aureus suşları, DNaz enzimi üretmekte ve koloni etrafındaki DNA'yı yapısal birimleri olan nükleotidlerine parçalamaktadır. Bu amaçla öncelikle şüpheli koloniler DNaz agara (Oxoid CM 321) öze yardımıyla inoküle edilerek ve 37 ℃'de, 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası petri yüzeyini kaplayacak biçimde, 1N HCl ilave edilerek DNA'nın HCl ile muamelesi sonrası presipitasyon varlığı incelenmiştir. Sonuç olarak DNA'nın mikroorganizmalar tarafından kullanılmayan bölgeleri mat, *S. aureus* tarafından bakteri DNaz enzimi sayesinde DNA'ın parçalandığı bölgelerde şeffaf zonlar gözlenerek bu sonucu veren koloniler (Şekil 3-7) DNaz pozitif olarak değerlendirilmiştir (Oxoid Manual, 2008).



Şekil 3-7: DNaz testi pozitif koloni

3.5.6.Koagulaz Testi

Steril bir eppendorf tüpe 0,5 ml tavşan plazması (Remel, R21051, Almanya) ilave edilmiştir. Üzerine DNAz testi pozitif çıkan koloniler aktarılıp homojenize edilmiştir. Tüpler 37 ℃ de su banyosunda 1-3-6 saat ara ile gözle kontrol edilmiştir. Tüpler çok hafifçe eğilerek koagulasyon durumu belirlenmiştir (Remel Manual, 2022).



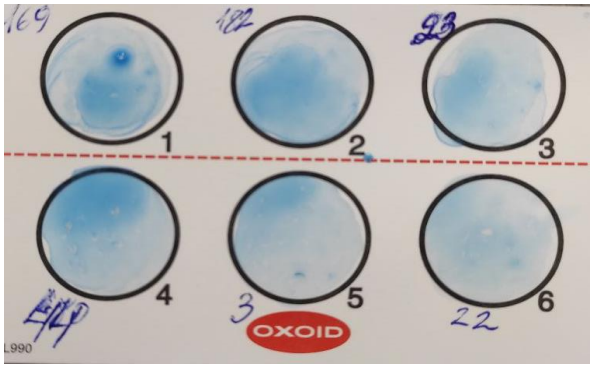
Şekil 3-8: Koagulaz testi pozitif *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

3.5.7.Serolojik Testler

3.5.8.Lateks Aglütinasyon Testi

Lateks aglütinasyon testi *S. aureus*'u serolojik olarak tanımlamak için kullanılan bir yöntemdir (Lancette ve Bennett, 2001). Staphytect plus lateks aglütinasyon testi (Oxoid, DR0850M) ile şüpheli stafilokokların topaklanma faktörü ölçülmektedir. İnsan kaynaklı *S. aureus* suşlarının % 97'sinin hem koagulaz hem de hücre dışı stafikoagulaza sahip olduğu bildirilmiştir. Protein A, *S. aureus*'un insan suşlarının yaklaşık % 95'nin hücre yüzeyinde bulunabilmekle beraber immunglobulin G'nin (IgG) Fc kısmına bağlama yeteneğine sahiptir. Topaklanma faktörü, protein A veya spesifik kapsüler polisakaritler yoksa aglütinasyon olmaz ve sonuç negatif olarak kabul edilir. Bu amaçla, biyokimyasal tanımlamada pozitif sonucu gösteren *S. aureus* şüpheli koloniler test kartlarında işaretlenen bölgelere öze ucu ile konularak bir damla test reagenti ile homojenize edilmiştir. Bu işlemi takiben homojenize sıvı test

kartındaki işaretlenmiş bölümünde 20 saniye içerisinde reaksiyon oluşarak aglütinasyon gelişimi test sonucu pozitif olarak değerlendirilmiştir (Oxoid Manual, 2020).



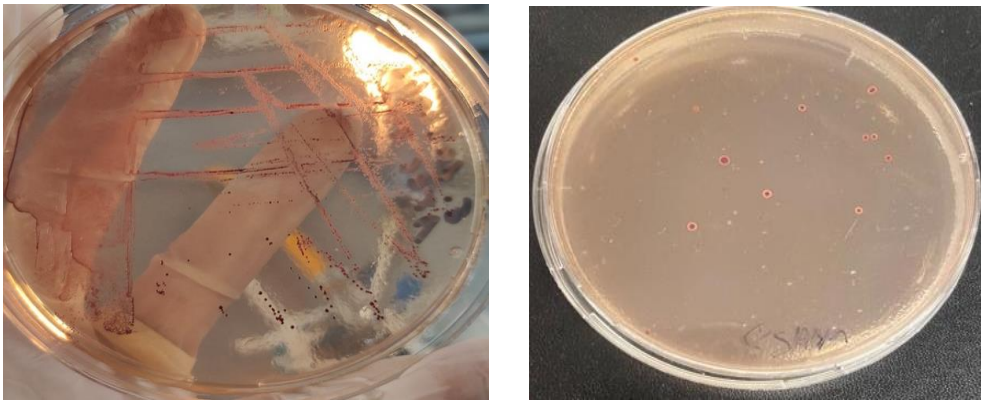
Şekil 3-9: *S.aureus* Staphytect plus lateks aglütinasyon testinde görüntüsü

3.6.1. *Enterococcus* spp. Kültürel Yöntem ile İzolasyonu ve İdentifikasyonu

Soğuk zincir kullanılarak laboratuvara getirilen kurut örneklerinden 10 gr tartılarak üzerine 90 ml (1/9 oranında), Maximum Recovery Dilluent (MRD) (Oxoid CM 0733, Basingstoke, İngilere) ilave edilmiştir. Homojenizasyon amacı ile steril stomacher poşetler içerisine (Interscience, Fransa) 2 dakika boyunca stomacher cıhazda (Bag Mixer, Interscience, Fransa) homojenize edilmiştir. Elde edilen homojenizattan 1 ml alınarak dilüsyonlar hazırlanmıştır.

3.6.1.1.Slanetz & Bartley Agar'da *Enterococcus* spp. Gelişimi

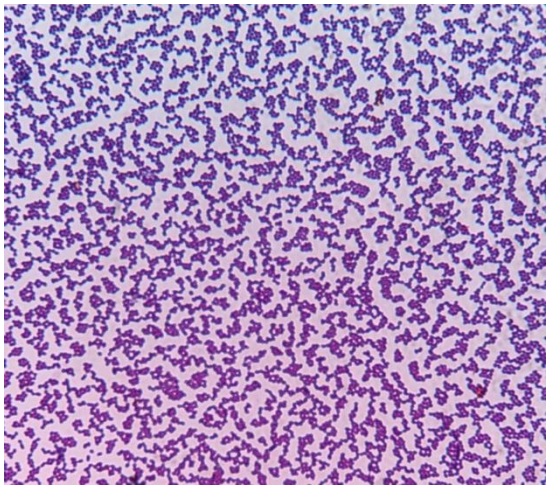
Kurut örneklerinde *Enterococcus* spp. varlığını tespit etmek amacı ile (ISO 7899) Slanetz & Bartley Agar'ı (Oxoid CM 0377) kullanılmıştır. Agar hazırlanıp soğutulduktan sonra örnek steril aseptik koşulda petrilere inokule edilmiştir. Bunu takiben inokule edilen petriler, önce 35 °C'de 4 saat inkübe edilmiştir, sonra 44-45 °C'de 44 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübe edilen koloniler merkezinde kırmızı, pembe veya kestane renkte üreyen koloniler *Enterococcus* spp. şüpheli olarak değerlendirilmiştir. (Klein ve Reuter, 2011).



Şekil 3-10: Slanetz & Bartley agar'da *Enterococcus* spp. görünümü

3.6.1.2.Gram Boyama

Gram boyama yöntemi, hücre yüzey zarlarının ve hücre duvarlarının yapısı ve bileşimi temelinde iki bakteri grubu arasındaki bakteri türlerini ayırt etmek ve sınıflandırmak için kullanılan bir analiz tekniğidir. Bakterinin gram pozitif veya negatif olduğunu ayırt etmek için yapılır. *Enterococcus* spp. düşünülen ve saflaştırılan bakteriler Hucker's modifiye Gram boyama tekniği ile boyanmıştır. Bu amaçla, temiz bir lam üzerine % 0,9 NaCL içerisinde çözündürülen bakteriler önce ateşte (bek alevi) fikse edilmiştir. Fikse edilen bakterilerin üzerine 1 dakika ticari (GBL, Türkiye) kristal viole'de bekletilmiştir. Ardından saf distile su ile yıkanmıştır ve 1 dakika boyunca ticari (GBL, Türkiye) iodine solüsyonunda bekletilmiştir. Bu işlemi takiben üzerine 15 saniyeyi aşmayacak şekilde % 95'lik etanol ile durulanmıştır. En sonunda kontur boyaması için 30 saniye ticari (GBL, Türkiye) safranin içerisinde bekletilmiştir. Mikroskop 100x objektif altında baterilerin morfolojisi ve rengi incelenmiştir (Coico, 2001). Gram pozitif (viyole renkte) düzensiz şeklinde morfolojisi diplokok veya kısa zincirler halinde görünen bakterileri *Enterococcus* spp. olarak belirlenmiştir.



Şekil 3-11: *Enterococcus* spp.'nin mikroskop görüntüsü

3.6.2.*Enterococcus* spp. Izolatlarının Moleküler Biyolojik Yöntemler ile Doğrulanması

3.6.2.1.Genomik DNA Izolasyonu

Saflaştırma yapıldıktan sonra şüpheli *Enterococcus* spp. örneklerin (Liu ve diğ. 2004) genomik DNA izolasyonu gerçekleştirilmştir. Bu amaçla, 18-24 saat 37 ℃'de 5ml Tryptone soy broth (TSB) (Oxoid, CM 129) içerisinde bekletilen bakterilerden 2 ml'lik kültür eppendorf tüplerine alınmış ve santrifüj (VWR) ile 10.000 rmp'de çöktürme işlemi uygulanmıştır. Üstte kalan supernatant pelet bozulmadan uzaklaştırılmıştır. Canlı kısım (bakteri) pelet olarak çöktürülmüştür. Oluşan pelet üzerine 500 µl 4mg/ml lizozim içeren 1xTE eklenmiştir (1xTE: 10mM Tris-HCL/1mM EDTA, pH:8, disodium dihydrate). Elde edilen çözelti 18-24 saat 37℃'de su banyosunda (Memmert, Almanya) inkübasyonda bekletilmiştir. Bakteriler lizozim (Sigma, Almanya) içerisinde parçalandıktan sonra üzerine 20 µl 20 mg/ml proteinaz K/dH_2O ilave edilmiştir. Bu aşamada proteinaz K'ya (Merck, 124568) ek olarak 250 µl % 10 SDS (Applichem, Amerika Birleşik Devletleri) eklenmiştir ve su banyosunda 56 ℃'de 2 saat boyunca inkübe edilmiştir. Lizozim ve proteinaz K ile enzimlerin bakteri duvarının parçalanması ardından ekstraksiyon aşamasına geçilmiştir. Bu işlem için 1:1 hacime eşdeğer ortalama 750-800 µl (25:24:1) Phenol:Chloroform:İsoamyl alkol (Amresco, Amerika Birleşik Devletleri) eklenmiştir ve yavaşça 15-20 kere alt üst edilmiştir. Daha sonsa 14.000 rpm'de 15 dakika satrifüj edilmiştir. Santrifüj edildikten sonra DNA üst kısmında kalır (Aqueous phase) ve steril yeni hazırlanmış 1,5'luk eppendorflara ortalama 450-600 µl alınmıştır. Sonra DNA

çöktürme aşamasına geçilmiştir. Bu amaçla, ilk olarak150 µl 5M NaCl ayırt ettiğimiz eppendorf içerisindeki DNA'ya pipetlenerek eklenmiştir. Elde ettiğimiz solüsyon beyaz bir görünüm almıştır. Daha sonra üzerine 1:1 hacime eşdeğer ortalama 600-700 µl isopropil alkol (2-propanol) (Sigma, Almanya) eklenmiştir ve yavaşça alt üst yapılmıştır. Bu işlemi takiben 14.000 rmp'de 10 dakika satrifüj edilmiştir. Santrifüj işleminden sonra alkolle yıkama aşamasına geçilmiştir. Beyaz pelet'i (DNA) hareket ettirmeden supernatan kısmı hızlıca ters çevrilerek dökülmüştür ve kalan sıvı ise yavaşça peçeteye emdirilmiştir. Pelet (DNA) üzerine daha önceden -20'℃'de bekletilen soğuk % 70'lik Et-OH'den ortalama 700 µl eklenmiştir ve vortex aracılığıyla karıştırılmıştır. Daha sonra etanol uçuncaya kadar 37 ℃'de kuru blok (Biosan) içerisinde kurutulmuştur. Çalışma sırasında her PZR uygulamasında genomik DNA'dan yaklaşık 5 µl kullanılmıştır. Ekstraksiyondan sonra 1-2 µl loading dye ile karıştırılarak % 0,75'lik jel hazırlanarak 120 Volt akımında (Thermo Fisher Scientific, Easycast B1, Almanya) güç kaynağı ile yaklaşık 40 dakika boyunca yürütülmüştür.

3.6.2.2.PZR Analizi ve Moleküler Karakterizasyon

Genomik DNA ekstrakyonunu takiben, *Enterococcus* spp.'nin PZR'de (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) doğrulanması (Kariyama ve diğ. 2000) yöntemine göre yapılmıştır. Multiplex PZR *Enterococcus faecium* (*E. faecium*) ve *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*)'i moleküler olarak belirlemek amacı ile yapılmıştır. PZR'de kullanılan primerler Tablo 3:2'de gösterilmiştir. Pozitif kontrol suşu olarak *E. faecalis* ATCC 29212 ve *E. faecium* ATCC 8459 kullanılmıştır. Negatif kontrol suşu olarak *E. coli* ATCC 25922 kullanılmıştır.

Tablo 3-2: *Enterococcus faecium* ve *Enterococcus faecalis*'in doğrulanmasında ve virulans genlerini tespit etmek amacı ile kullanılan primer dizileri

Virulans gen bölgesi	Primer dizisi (5'-3')	Amlikon büyüklüğü (bp)	Referans
E. faecalis	ddlE1:ATCAAGTACAGTTAGTCTTTATTAG ddlE2:ACGATTCAAAGCTAACTGAATCAGT	941	Kariyama ve diğ. 2000
E. faecium	ddlF1:TTGAGGCAGACCAGATTGACG ddlF2:TATGACAGCGACTCCGATTCC	658	Kariyama ve diğ. 2000

PZR analizleri her bir örnek için genomik DNA 2,5µl, 10X tampon solüsyonu KCl (Thermo Scientific) 2,5µl $MgCL_2$ (25mM) (Thermo Scientific) 1,5µl, forward primer (10µl) 0,5µl**,** reverse primer (10uM) 0,5µl, dNTP Set (dATP, dGTP ve dTTP 2mM) (Thermo Scientific) 2,5 µl , Taq DNA polimeraz (Thermo Scientific) 1 U (0,24µl)olarak hazırlanmıştır. Toplamda 25µl ve steril dH_2O ile tamamlanmıştır.

3.6.2.3.*Enterococcus faecium* ve *Enterococcus faecalis* Genlerinin Multiplex PZR ile Araştırılması

E. faecium ve *E. faecalis* suşlarının genetik olarak doğrulamak için spesifik olan ddlE (941 bp) ve ddlF (658bp) primerleri ile başlangıç denaturasyonu 1 döngü 94 ℃'de 5 dakika; bağlanma 35 döngü 94 ℃'de 30 saniye; 52 ℃'de 30 saniye; uzama 72℃'de 1 dakika; ve 72℃'de 7 dakika sonsuz olacak şekilde Termal Cycler'a (Biorad, PTC0200, Meksika) yerleştirilmiştir (Kariyama ve diğ. 2000; Kasımoğlu Doğru, 2010).

Başlangıç denaturasyon 94 ℃'de – 5 dakika
Denaturasyon 94 ℃'de – 30 saniye
Bağlanma 52 ℃'de – 30 saniye
Uzama 72 ℃'de – 1 dakika
Son uzama 72 ℃'de – 7 dakika

35 Döngü

3.6.2.4.Jel Elektroforezis PZR Sonuçlarının Görüntülenmesi

PZR sonucunda elde edilen ürünler, DNA büyüklük aralıklarına göre değişen yaklaşık 1-1,5'lik agaroz jelin yaklaşık 50-55 °C'ye soğumasını takiben içerisine mutajen olmayan 5 µl SafeView (G468, ABM, Canada) DNA boyası eklenerek, eğim olmayacak şekilde manda gözü ile yüzey kontrolü yapılarak, kenarları bantla veya uygun bir materyalle sabitlenen temiz ve kuru jel tepsisine ve uygun örnek sayısı ve kuyucuk genişliklerine göre tarak yerleştirilmiştir. Jel döküldükten sonra jel yüzeyinde ve kuyucukların önünde baloncuk kalmayacak şekilde jel kontrol edilmiştir, varsa steril pipet ucu ile baloncuklar giderilmiştir. Oda ısısına göre yaklaşık 20-30 dakika jel buzlu cam benzeri görüntüye ulaştıktan sonra tarak yavaş bir şekilde çıkarılarak Thermo Easycast B1 elektroforez tankına yerleştirilmiş ve kuyucukları örtmeye

yetecek kadar 1xTAE (0,04 M Tris-acetate ve 0,001 M EDTA) eklenmiştir. Elde edilen PCR ürününden ortalama10 µl alınarak yaklaşık 1-2 µl loading dye ile karıştırılarak kuyucuklara tek tek yüklenmiştir. Agaroz jel içerisine steril mikropipet ucu kullanılarak (Thermo Fisher Scientific, ABD) ilk kuyucuğuna gen amplikon büyüklüğüne göre 100 bp (Thermo, Almanya) ya da 1 kb (Thermo, Almanya)'lik 4 µl cetvel yüklenmiştir. Yatay jel elektroforez analizini gerçekleştirmek amacı ile Thermo EC 300 XL güç kaynağı kullanılarak 120 volt akımda anottan katota doğru yürütülmüştür. Elektroforez işlemi bittikten sonra ilgili genlerin uygun band aralıklarında olup olmadığını tespit etmek amacı ile Vilber Lourmat Infinity Jel Görüntüleme cihazina yerleştirerek görüntülenmesi sağlanmıştır.

4. BULGULAR

Bu tez çalışmasında toplamda 360 adet kurut örneği Kırgızistan'ın 7 farklı bölgesinden (Talas, Chuy, Issyk-Kul, Naryn, Osh, Jalal-Abad, Batken) temin edilerek soğuk zincir koşullarında (thermobox kutular içinde, +4 °C'de) laboratuvara ulaştırılmıştır. Temin edilen kurut örneklerinde koliform grubu bakteriler, *E. coli*, *S. aureus*, *Staphylococcus-Micrococcus* ve *Enterococcus* spp. varlığı incelenmiştir.

4.1. Mikrobiyolojik Bulgular

4.1.1. Kurut Örneklerinde Koliform Grubu Bakterilerin Varlığı

Koliform bakteri izole edilen örnek sayılarının bölgelere göre dağılımına dair bilgiler Tablo 4-1'de, örneklere ait koliform bakteri analiz bulguları Tablo 4-2'de verilmiştir.

Tablo 4-1: Farklı bölgelerden izole edilen koliform bakterileri

Bölge	Tespit edilen Koliform Grubu Bakteri Sayısı (%)		İncelenen Örnek Sayısı
	Pozitif	Negatif	
Talas	-	52 (%100)	52
Chuy	-	48 (%100)	48
Issyk-Kul	12 (%23)	40 (%77)	52
Naryn	2 (%3,8)	50 (%96,2)	52
Osh	1 (%1,9)	51 (98,1)	52
Jalal-Abad	1 (%1,9)	51 (%98,1)	52
Batken	12 (%23,1)	40 (%77)	52
TOPLAM	28 (%7,8)	332 (%92,2)	360

Tablo 4-2: Bölgelere göre kurut örneklerinin koliform bakteri analiz bulguları

Bölge	Pozitif				Negatif	İncelenen Örnek Sayısı
	< 10 kob/g	10^1-10^2 kob/g	10^2-10^3 kob/g	10^3-10^4 kob/g		
Talas	-	-	-	-	52 (% 100)	52
Chuy	-	-	-	-	48 (% 100)	48
Issyk-Kul	-	3 (% 5,8)	7 (% 13,4)	2 (% 3,8)	40 (% 77)	52
Naryn	-	2 (% 3,8)	-	-	50 (% 96,2)	52
Osh	1 (% 1,9)	-	-	-	51 (% 98,1)	52
Jalal-Abad	-	1 (% 1,9)	-	-	51 (% 98,1)	52
Batken	-	6 (% 11,5)	6 (% 11,5)	-	40 (% 77)	52
TOPLAM	1 (% 0,3)	12 (% 3,3)	13 (% 3,6)	2 (% 0,6)	332 (% 92,2)	360

4.1.2. Kurut Örneklerinde *E. coli* Varlığı

Toplamda 360 kurut örneği *E. coli* varlığı açısından ISO 16649-2 standardına göre analize alınmış olup hiçbir kurut örneğinde *E. coli* tepit edilememiştir.

4.1.3. Kurut Örneklerinde *Staphylococcus-Micrococcus* Varlığı

Tez çalışması kapsamında *Staphylococcus-Micrococcus* izole edilen örneklerin bölgelere göre dağılımı Tablo 4-3'de gösterilmiştir. Kurut örneklerindeki *Staphylococcus-Micrococcus* analiz bulgularına Tablo 4-4'de yer verilmiştir.

Tablo 4-3: Farklı bölgelerden izole edilen *Staphylococcus-Micrococcus* bakterileri

Bölge	Tespit edilen *Staphylococcus-Micrococcus* Sayısı (%)		İncelenen Örnek Sayısı
	Pozitif	Negatif	
Talas	2 (%3,8)	50 (96,2)	52
Chuy	2 (% 4,2)	46 (95,8)	48
Issyk-Kul	13 (% 25)	39 (%75)	52
Naryn	4 (% 7,7)	48 (%92,3)	52
Osh	10 (% 19,2)	42 (%80,8)	52
Jalal-Abad	-	52 (%100)	52
Batken	18 (% 34,6)	34 (%65,4)	52
TOPLAM	49 (% 13,6)	311 (%86,4)	360

Tablo 4-4: Kurut örneklerinde *Staphylococcus-Micrococcus* bakterilerinin analiz bulguları

Bölge	Pozitif				Negatif	Incelenen Örnek Sayısı
	< 10 kob/g	10^1-10^2 kob/g	10^2-10^3 kob/g	10^3-10^4 kob/g		
Talas	-	2 (% 3,8)	-	-	50 (% 96,2)	52
Chuy	-	-	2 (% 4,2)	-	46 (% 95,8)	48
Issyk-Kul	-	3 (% 5,8)	10 (% 19,2)	-	39 (% 75)	52
Naryn	-	2 (% 3,8)	2 (% 3,8)	-	48 (% 92,3)	52
Osh	1 (% 1,9)	4 (% 7,7)	4 (% 7,7)	1 (% 1,9)	42 (% 80,8)	52
Jalal-Abad	-	-	-	-	52 (% 100)	52
Batken	-	6 (% 11,5)	5 (% 9,6)	7 (% 13,5)	34 (% 65,4)	52
TOPLAM	1 (% 0,3)	17 (% 4,7)	23 (% 6,4)	8 (% 2,2)	311 (% 86,4)	360

4.1.4.Kurut Örneklerinde *S. aureus* Varlığı

Toplamda 360 kurut örneklerinde ISO 6888-1 standardı kullanılarak yapılan analizlerde *S. aureus* saptanamamıştır.

4.1.5. Kurut Örneklerinde *Enterococcus* spp.'nin Varlığı

Örneklerin *Enterococcaceae* familyasına ait patojen bakterileri içerme açısından bölgelere göre dağılımı Tablo 4-5'te verilmiştir. Bu bakterilerin analiz bulgularına dair bilgiler Tablo 4-6'da gösterilmiştir. Toplam 360 adet kurut örneğinden 80'inin *Enterococcus* spp. içerdiği belirlenmiştir.

Tablo 4-5: Farklı bölgelerden izole edilen *Enterococcus* spp. bakterileri

Bölge	Tespit edilen *Enterococcus* spp. Sayısı		Incelenen Örnek Sayısı
	Pozitif	Negatif	
Talas	5 (% 9,6)	47 (% 90,4)	52
Chuy	8 (% 16,7)	40 (% 83,3)	48
Issyk-Kul	31 (% 59,6)	21 (% 40,4)	52
Naryn	6 (% 11,5)	46 (% 88,5)	52
Osh	5 (% 9,6)	47 (% 90,4)	52
Jalal-Abad	3 (% 5,8)	49 (% 94,2)	52
Batken	22 (%42,3)	30 (% 57,7)	52
TOPLAM	80 (% 22,2)	280 (% 77,8)	360

Tablo 4-6: Kurut örneklerine ait *Enterococcus* spp. analiz bulguları

Bölge	Pozitif				Negatif	Incelenen Örnek Sayısı
	< 10 kob/g	10^1-10^2 kob/g	10^2-10^3 kob/g	10^3-10^4 kob/g		
Talas	2 (% 3,8)	3 (% 5,8)	-	-	47 (% 90,4)	52
Chuy	-	4 (% 8,3)	4 (% 8,3)	-	40 (% 83,3)	48
Issyk-Kul	-	1 (% 1,9)	17 (% 32,7)	13 (% 25)	21 (% 40,4)	52
Naryn	-	6 (% 11,5)	-	-	46 (% 88,5)	52
Osh	2 (% 3,8)	3 (% 5,8)	-	-	47 (% 90,4)	52
Jalal-Abad	-	3 (% 5,8)	-	-	49 (%94,2)	52
Batken	-	6 (% 11,5)	10 (% 19,2)	6 (% 11,5)	30 (% 57,7)	52
TOPLAM	4 (% 1,1)	26 (% 7,2)	31 (% 8,6)	19 (% 5,3)	280 (% 77,8)	360

4.2. Kurut Örneklerinde *E. faecium* ve *E. faecalis*'in Karakterizasyonu

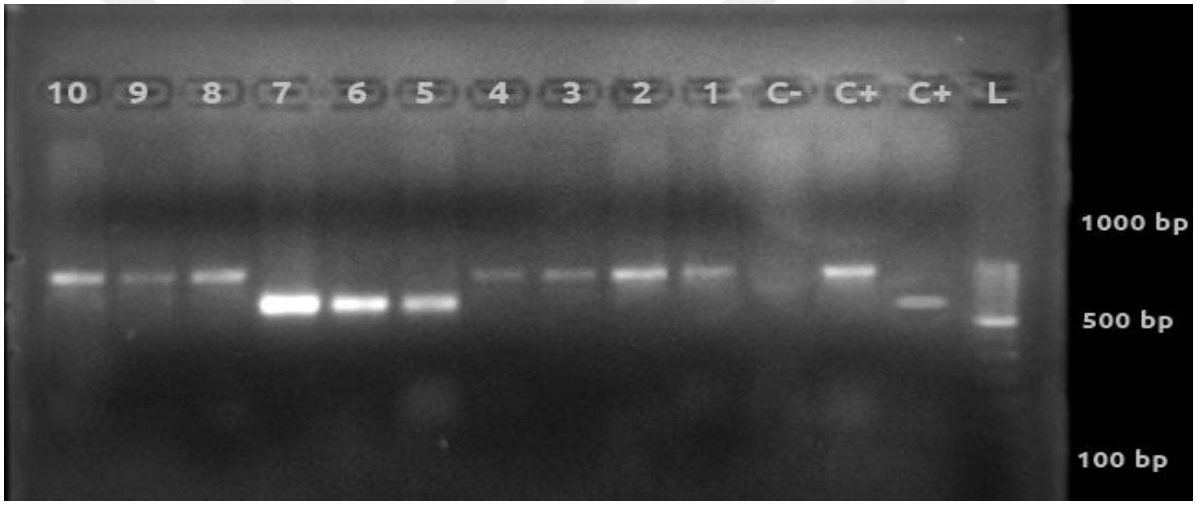
Araştırmada elde edilen toplamda 80 adet *Enterococcaceae* familyasına ait izolatların PZR yöntemi ile doğrulanması için dd1E (*E. faecalis*) ve dd1F (*E. faecium*) virulans gen bölgelerinin varlığı araştırılmıştır. Analizler sonucunda izolatların 80'inde (% 22,2) söz konusu genlerin tespit edildiği, bunlardan 38'inin (% 47,5) dd1E virulans gen bölgesine, 42'sinin (% 52,5) dd1F virulans gen bölgesine sahip olduğu belirlenmiştir (Tablo 4-7 ve Tablo 4-8). Genlere ait pozitif jel görüntüsü Şekil 4-1'de gösterilmiştir.

Tablo 4-7: *E. faecalis* bakterilerinin bölgelerden izole edilen virulans gen bölgeleri

Bölge	Virulans Gen Bölgesi dd1E (*E. faecalis*)		Bölgelere Göre Örnek Sayısı
	Pozitif	Negatif	
Talas	4 (% 7,7)	48 (% 92,3)	52
Chuy	6 (% 12,5)	42 (% 87,5)	48
Issyk-Kul	15 (% 28,8)	37 (% 71,1)	52
Naryn	3 (% 5,8)	49 (% 94,2)	52
Osh	2 (% 3,8)	50 (% 96,1)	52
Jala-Abad	3 (% 5,8)	49 (% 94,2)	52
Batken	5 (% 9,6)	47 (% 90,3)	52
TOPLAM	38 (% 10,6)	322 (% 89,4)	360

Tablo 4-8: *E. faecium* bakterilerinin bölgelerden izole edilen virulans gen bölgeleri

Bölge	Virulans Gen Bölgesi dd1F (*E. faecium*)		Bölgelere Göre Örnek Sayısı
	Pozitif	Negatif	
Talas	1 (% 1,9)	51 (% 98,1)	52
Chuy	2 (% 4,2)	46 (%95,8)	48
Issyk-Kul	16 (% 30,8)	36 (%69,2)	52
Naryn	3 (% 5,8)	49 (%94,2)	52
Osh	3 (% 5,8)	49 (%94,2)	52
Jala-Abad	-	52 (%100)	52
Batken	17 (% 32,7)	35 (%67,3)	52
TOPLAM	42 (% 11,7)	318 (%88,3)	360



Şekil 4-1: dd1E ve dd1F genleri içeren *Enterococcus* suşlarına ait jel görüntüsü

Sağ'dan sola başta: 1, 100bp DNA marker; 2-3 pozitif kontrol (dd1F(*E. faecium* ATCC 8459) ve dd1E (*E. faecalis* ATCC 29212)) suşları; 4, negatif kontrol (*E. coli* ATCC 25922); 1-no:220; 2-no:191; 3-no:274; 4-no:335; 5-no:231; 6-no:299; 7-no:332; 8-no:330; 9-no:216; 10-no:214.

5. TARTIŞMA

Gıdaların uzun süre dayanabilmesi ve besin maddelerinin raf ömrünü uzatmak amacı ile başvurulan çeşitli yöntemler bulunmaktadır. Bu yöntemlerden biri gıdaların güneşte kurutma işlemi uygulanarak a_w değerini düşürmek suretiyle muhafaza edilmesidir. Güneşte kurutma işlemi ile birlikte et ve et ürünleri, bazı süt ürünleri (yayık altı ve yoğurt gibi) ve birçok sebze ve meyve kurutularak kurut elde edilmektedir. Bu tez çalışmasında Kırgızistan'ın yedi farklı bölgesinde pazarlarda açıkta satışa sunulan toplamda 360 adet kurut örneği koliform bakteriler, *E. coli*, *S. aureus*, *Staphylococcus-Micrococcus*, *Enterococcus* spp. gıda patojenleri yönünden analiz edilmiştir.

Yumuşak peynirlerde koliform bakterilerin ve diğer gram-negatif mikroorganizmaların varlığı, sütün pastörizasyon aşamasından sonra kontaminasyonuna işaret etmektedir. Bununla beraber, düşük ısıda pastörize edilen sütlerde koliform bakterilerin gelişebildikleri bildirilmiştir (Martin ve diğ. 2016). Gıda kontaminasyonu indikatörü olarak bilinen koliform bakterilerin tespitinin kurutun yapımında, üretiminde ve muhafaza aşamasında hijyene dikkat edilmediğinin bir göstergesi olduğu bildirilmektedir (Gürbüz ve diğ. 2018).

Göncü ve diğ. (2017) kış ve yaz mevsimlerinde temin ettiği 30'ar adet sokak sütünü koliform grubu bakteriler açısından analiz etmişler, kış mevsimi sütlerinde ortalama 5,68 log kob ml^{-1}, yaz mevsimi sütlerinde ise ortalama 5,40 log kob ml^{-1} koliform grubu bakteri bulunduğunu belirlemişlerdir.

Savaşan ve Göksoy (2018), Aydın ili ve çevresindeki mandıralarda üretilen ve mandıra satış yerlerinde, market ve semt pazarlarında satışa sunulan 100 adet taze peynir numunesinin 77 adedinde koliform grubu bakteri saptamıştır. Bu 77 örneğin 22'sinde ise 44 adet *E. coli* izolatının elde edildiği bildirilmiştir.

Gürbüz ve diğ. (2018), Kırgızistan'ın Bişkek şehrinde pazarlarda açık olarak satışa sunulan 90 adet kurut numunesinde koliform grubu bakteri sayısı ortalama 1,33±1,37 log_{10} kob/g olarak saptanmıştır.

Soltani ve diğ. (2019), İran'ın Tebriz kentindeki geleneksel pazarlardan aldıkları 20 adet kurut örneğinin 3'ünde (% 15) koliform grubu bakteriler tespit ederken; marketlerden aldıkları 20'şer adet geleneksel sıvı kurut örneği ile endüstriyel sıvı kurut örneğinin tamamında < 10 kob/g koliform grubu bakteriye rastlamamışlardır. İran'da yapılan diğer bir çalışmada Maku şehrinden alınan 42 geleneksel kurut, 15 geleneksel sıvı kurut ve 29 endüstriyel sıvı kurutun analizinde *E. coli* ve koliform grubu bakteriler tespit edilememiştir (Mollabashi ve Atasever, 2018).

Aydemir-Atasever ve Atasever (2007), Erzurum ve Bingöl illerinden temin edilen 43 adet kurut örneğinde koliform grubu bakteri sayısı ortalama $3,7x10^2 \pm 1,5x10^3$ kob/g olarak tespit etmişlerdir. Söz konusu çalışmada araştırmacılar tarafından koliform bakterileri sayısı ile asitlik derecesi arasında orta derecede negatif yönde ($P<0,05$) ve pH ile kuvvetli pozitif yönde ($P<0,01$) bağlantılı olduğunu, buna ilave olarak asitliğin artması ve pH'ın düşmesi koliform bakterilerinin gelişmesinin olumsuz etkilediği bildirilmektedir (Aydemir-Atasever ve Atasever, 2007).

Erzurum ve Bayburt çevresinden temin edilen 20 kurut örneğiyle yapılan diğer bir çalışmada ise koliform bakteri sayısı ortalama 54,5x10 kob/g olarak bildirilmiştir (Doğan, 2014).

Patır ve Ateş (2002), Elazığ'daki evlerden ve marketlerden aldıkları 25 adet kurut örneğinde koliform bakteri sayısını ortalama $2,79x10^2 \pm 6,33x10^2$ kob/g olarak tespit etmişlerdir.

Çiftçi (2008), çalışmasında kurut yapımında bazı bitkileri (kekik, nane ve biberiye) kullanarak bu bitkilerdeki uçucu yağların *E. coli* (ATCC 25922) üzerindeki olası antimikrobiyal etkilerini incelemiştir. Bu bağlamda kekikteki uçucu yağın antimikrobiyal etkisinin nane ve biberiyeye göre daha fazla olduğu bildirilmiştir.

Araştırmamız kapsamında kurut örneklerinde yapılan analizlerde koliform grubu bakteri içeren örneklerin en çok Issyk-Kul ve Batken bölgelerine ait olduğu görülmüş ve bu iki bölgeden alınan 12'şer adet örneğin (her iki bölgede de tüm örneklerin % 23'ü) bu bakterileri içerdiği bulunmuştur. Bununla birlikte, Jalal-Abad bölgesinden temin edilen 1 örnekte (% 1,9) ve Naryn bölgesinden alınan 2 örnekte (% 3,8) koliform grubu bakteriler tespit edilmiştir. Talas ve Chuy bölgelerinden alınan örneklerde ise bu grup bakterilere rastlanmamıştır (Tablo 4-1).

Ayrıca yapılan analizler sonucunda hiçbir kurut numunesinde gıda patojeni olan *E.coli* tespit edilememiştir. Bu sonuç, İran'da yapılan ve analizler sonucu *E. coli* tespit edilemediğini rapor eden iki çalışmayla benzerlik göstermektedir (Soltani, 2009; Mollabashi ve Atasever, 2018). Buna karşın Patır ve Ateş (2002) tarafından yapılan Elazığ ilindeki çalışmada örneklerin % 12'sinde *E. coli* tespit edildiği bildirilmiştir.

S. aureus, yüzeysel deri enfeksyonlarına ve invaziv birçok hastalıklarının temel nedeni olabilmektedir. Bu bakteri spor oluşturma yeteneği yoktur, ancak besinlerin hazırlama ve işleme sırasında gıda maddelerinin kontaminasyonuna neden olabilmektedir. *S. aureus,* deri, insan burun içi, giysi gibi kuru ve yüzeysel ortamlarda uzun süre kalarak yaşamını sürdürebilmektedir. Gıda kaynaklı stafilokokal hastalıkların başlıca en yaygın ve halk sağlığı açısından dünya genelinde önemli endişe yaratmaktadır (Kadariya ve diğ. 2014). Enterotoksijenik stafilokoklar ile bulaşan gıdalarda toksin üretebilmektedir ve bu tür besinleri tüketen insanlarda gastroenteritin önde gelen nedenidir. Bu nedenle, bakterilerin ısıl işleme tabi tutularak öldürülse bile, stafilokokların ürettiği enterotoksinler ısıl işlemine dayanaklıdır ve gıda zehirlenmesine yol açabilmektedir (Griffiths, 2014).

Birçok peynir çeşitleri üzerinde *Staphylococcus-Micrococcus*'un varlığı açısından incelenmiştir ve genellikle analize edilmiş peynirlerin yüzeyi peynirin iç kısmına göre daha çok kontaminasyona uğradığını tespit etmişler. *Staphylococcus-Micrococcus* bakterisi patojen bir bakteri değildir, ancak *Micrococcus* suşlarının bazıları fırsatçı patojen olarak çeşitli enfeksiyonlara neden olabileceği ve septik artritlere, tekrarlayan bakteriyemilere ve prostetik kapak endokardit ile ilişkilendirildiği bildirilmiştir. Ayrıca, pulmoner arteriyel hipertansyonu olan hastalarda ve HIV-1 hastalığı olan kişilerde *Micrococcus* spp. bakterileri pnömoniye neden olabileceğini rapor etmişlerdir (Batt, 2014).

Araştırma kapsamında olası patojenler *S. aureus* ve *Staphylococcus-Micrococcus* kurut numunelerinin analiz sonucu ortaya çıkan sonuçlara göre, örneklerin tamamında *S. aureus* bulunamamıştır. Bunun yanında, araştırılan örneklerden *Staphylococcus-Micrococcus* bakterileri tespit edilmiştir. En çok Batken bölgesinde 18 kurut numunesinde (% 34,6), Issyk-Kul bölgesinde 13 örnekte (% 25) ve Osh bölgesinde 10 örnekte (% 19,2) bulunurken, en az Talas ve Chuy bölgelerinde 2'er örnekte (% 3,8), Naryn bölgesinde ise 4 örnekte (% 7,7) tespit edilmiştir (Tablo 4-2). Batken ve Osh bölgeleri coğrafik yerleşimi Kırgızistan'ın güneyinde bulunmaktadır. Bu bölgeler doğal iklim şartları genellikle sıcak olmakla beraber, bazı

patojenlerin üreme, çoğalma ve daha tehlikeli hale gelmesi gibi yorumlar da göz önünde bulundurulmalıdır.

Buna karşın Elazığ'da yapılan bir araştırmada, kurut örneklerinin % 16'sında *S.aureus* tespit edildiği rapor edilirken (Patır ve Ateş, 2002), Aydemir Atasever (2007) tarafından yapılan diğer bir araştırmada ise *Staphylococcus-Micrococcus* mikroorganizma sayısının en az <10, en çok $7{,}2x10^4$ kob/g ve ortalama $2{,}1x10^3 \pm 1{,}1x10^4$ kob/g olarak saptandığı bildirilmiştir. Benzer olarak, Patır ve Ateş (2002) *Staphylococcus-Micrococcus* sayısını $2{,}40 \times 10^3$ kob/g olarak tespit ettiklerini rapor etmiştir. Yapılan bu araştırmada bulunan değerler açısından kurut örneklerin mikrobiyel yükü değişik bölgelerden toplanması, üretimi ve depolama aşamasında hijyen şartlarının yeterince sağlanamamasından kaynaklandığını vurgulamaktadırlar (Aydemir-Atasever, 2007).

Tez çalışması kapsamında analize alınan toplamda 360 kurut numunesi *Enterococcaceae* familyasına ait *Enterococcus* spp. patojenler açısından analize edilmiş olup bölgelere göre dağılımı Tab.4-3'te gösterilmiştir. Toplam 360 kurut numunelerinde 80'inde *Enterococcus* spp. bulunmuştur. Ayrıca, toplamda bulunan 80 kurut örneğinin 38 örneği (% 47,5) *E. faecalis* ve 42 örneği (% 52,5) ise *E. faecium* olduğu tespit edilmiştir ve PZR yöntemi ile doğrulanmıştır. En çok *E. faecalis* Issyk-Kul bölgesindeki numunelerinden 15 örnekte rastlanmıştır. En az Osh bölgesinde 2 örnekte, Jalal-Abad ve Naryn bölgelerinde 3'er örnekte bulunurken, Talas, Chuy ve Batken bölgelerinde sırası ile 4, 6, 5 örnekte tespit edilmiştir. Araştırmada bulunan *E. faecium* bakterisi bölgelere göre en çok Batken bölgesinde 17 örnekte ve Issyk-Kul bölgesinde 16 örnekte tespit edilirmiştir. En az *E. faecium* bakterisi Talas bölgesinde 1 örnekte, Chuy bölgesinde 2 örnekte, Naryn ve Osh bölgelerinde 3'er adet örnekte bulunurken Jalal-Abad bölgesinde hiçbir örnekte tespit edilememiştir.

Laktik asit bakterileri (LAB) gibi mikroorganizmalar ve mayalar, kurut üretiminde önemli rol oynamaktadır. *Lactobacillus delbrueskii* spp. *bulgaricus* ve *Streptococcus thermophilus* LAB bakterileri kurutta baskın olarak bulunabilmektedir (Zhang ve diğ. 2008; Sun ve diğ. 2010).

Kurut örneklerin küf ve maya sayısı da önem taşımaktadır. Yapılan bir araştırmada, kurutta maya-küf ortalama sayısı $5{,}0x10^3$ kob/g olarak tespit edilmiştir (Gülümser, 1985).

Bunun yanında, diğer bir araştırmada ise maya-küf sayısını $1,1x10^4$ kob/g olarak saptanmıştır (Patır ve Ateş, 2002). Lübnan'da yapılan benzer bir çalışmada ise maya-küf ortalama sayıları $9x10^1$-$1,4x10^4$ kob/g olarak rapor edilmiştir (Tamime ve O'Connor, 1995). Erzurum ve Bingöl bölgesinden temin edilen kurut numunelerinin analiz edildiği bir çalışmada ise; maya-küf'ün ortalama sayıları $1,2x10^4 \pm 3,6x10^4$ olarak bildirilmiştir (Aydemir-Atasever, 2007). Kurut örnekleri üzerine yapılmış çalışmalara göre, maya-küf oranları Patır ve Ateş, (2002) ve Tamime ve diğ. (1999) bulguları ile benzerlik gösterirken Gülümser, (1985) bulgularından fazla saptanmıştır. Bu bulgular doğrultusunda, kurutların hammadde, üretimi ve muhafaza şartlarının farklı olma ihtimalinden kaynaklanmış olabilmektedir.

Kurut üzerinde yapılan araştırmalara doğrultusunda, *Lactobacillus* cinsi mikroorganizmaların sayısını ortalama olarak $2,2x10^4 \pm 5,9x10^4$ kob/g olarak tespit edilmiştir (Aydemir-Atasever, 2007). İlave olarak, aynı araştırmacıların rapor sonuçlarında, *Lactobacillus* sayısını, kül, tuz ve asitlilik derecesi arasında negatif yönde kuvvetli bir bağlantının ($P<0,01$) varlığını ve bu bileşenlerin mikrobiyal aktivitelerini kısıtlamasından kaynaklandığı ortaya konulmuştur. Aydemir-Atasever, (2007) tespit ettiği *Lactobacillus* cinsi bakterilerin Patır ve Ateş'in, (2002) paralel olduğunu ve Tamime ve O'Connor'un, (1995) sonuçları ile çelişkili olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca, *Lactobacillus* cinsi mikroorganizmalar ile nem oranı arasında pozitif yönde ($P<0,05$) ilişkili, kurut örneklerinin a_w değerinin mikroorganizma aktivitesinin artmasından dolayı ortaya çıkabileceği ve *Lactobacillus* cinsi mikroorganizmaların sayısını Patır ve Ateş'in, (2002) tespit ettiği bulguları ile benzerlik olduğunu rapor etmişler (Aydemir-Atasever, 2007).

Çin Halk Cumhuriyeti'nde kurut üzerinde yapılan bir çalışmada, ortalama laktik asit bakteri sayısı $7,66 \pm 0,71$ $\log_{10}$ kob/ml (Chen ve diğ. 2009) olarak saprtanmış ve laktik asit bakterilerinden *Lactobacillus delbrueskii* spp. *bulgaricus, Steptococcus thermophillus* ve mayaların kurut üretiminde önemli rol oynadığını rapor etmişlerdir (Zhang ve diğ. 2008; Sun ve diğ. 2010).

Diğer bir araştırmada (Liu ve diğ. 2012) kurutta *Lactobacillus helveticus, Lactococcus lactis* spp. *Lactobacillus delbrueskii* spp. *bulgaricus, Steptococcus thermophillus, Acetobacter* ve *Pseudomonas* bakterilerin bulunduğunu saptamışlardır.

Benzer bir araştırmada, Elazığ bölgesinden temin edilen kurut numunelerinden *Lactobacillus-Leuconostoc-Pediococcus*'u $2,23x10^4$ kob/g ve *Lactococcus*'u $1,13x10^4$ kob/g

olarak ortaya konmuştur (Patır ve Ateş, 2002). Diğer bir çalışmada ise (Mollabashi ve Atasever, 2018), İran'dan temin edilen kurut numunelerinden *Lactococcus*'u 1,52±0,37 $\log_{10}$ kob/g, *Lactobacillus*'u 2,43±0,59 $\log_{10}$ kob/g, ve *Enterobacteriaceae*'yi 1,73±0,57 $\log_{10}$ kob/g aralığında tespit etmişlerdir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Araştırmamızda kullanılan kurut örnekleri piyasadan açıkta satılmış numunelerden toplanmış olup koliform bakterileri, *Staphylococcus-Micrococcus* ve *E. faecium* ve *E. faecalis* gibi mikroorganizmalar tespit edilmiş olup, Kırgızistan Cumhuriyeti Ulusal Geleneksel Konsantre Fermente Süt Ürünleri Hakkındaki Teknik Yönetmeliğe uygunluk göstermemiştir ve halk sağlığı açısından potansiyel tehdit oluşturduğu değerlendirilmektedir.

Birçok araştırmaya ait elde edilen sonuçlar doğrultusunda, kurut üretimi, muhafaza yöntemi, kullanılan hammadde olan yoğurt ve eklenen bitki ve meyve ekstreleri ekleme, mevcut şartları, ortam sıcaklığı gibi nedenlere bağlı farklılık göstermektedir. Hijyen ve sanitasyon yetersizliğine bağlı geleneksel yöntemle üretilen kurut halk sağlığı açısından tehdit söz konusudur.

Diğer araştırmacıların sonuçlarına göre; kurut üretimi ve yapım yöntemlerinin ortak standardizasyonu olmadığından dolayı, kurutun mikrobiyolojik kalite parametreleri, duyusal ve fiziksel, satış şartları, denetim ve hijyen kurallarının geliştirilmesi gibi, ayrıca, kurut üretimini yapan çiftçi ve üreticilerin bilgilendirilmesi faaliyet olacaktır.

Bu çalışmada, ilk defa bu çalışma ile kurut örneklerinde *Enterococcus* spp. araştırılarak ortaya konmuştur. Diğer taraftan, *S. aureus* ve *E. coli* gibi bakterilerin kurut numunelerinde tespit edilememesi, kurutların söz konusu mikroorganizmalar bakımından riskli olmayabileceği ve halk sağlığı açısından güvenli bir gıda maddesi olabilecekleri değerlendirilmektedir.

Sonuç olarak; araştırmamız kapsamında temin edilen ve açıkta satışa sunulan kurutların, bulunduğu ortamdaki hijyen koşulları, iklim şartları ve satıcıların hijyen ve sanitasyona yeterince özen göstermediklerinde potansiyel patojen mikroorganizmalardan koliform bakterilerin, *Staphylococcus-Micrococcus* ve *Enterococcus* spp.vb.'nin tespit edilebileceği değerlendirilmektedir.

KAYNAKLAR

Aarestrup, F.M. Agerso, Y. Gerner-Smidt, P. Madsen, M. ve Jensen, L.B. (2000a). Comparison of antimicrobial resistance phenotypes and resistance genes in Enterococcus faeclis and Enterococcus faecium from humans in the community, broilers, and pigs in Denmark. Diagnostic Microbiology and İnfectious Disease 37, 127-137.

Abad, C., Huart, M., Garcia, V. Dubourg, G. ve Raoult, D. (2016). *Enterococcus faecalis* urinary-tract infections: do they have a zoonotic origin? Journal of İnfection 73, 305-313.

Adam R.C. Süt Tozu. İzmir: Ege Üniversitesi, Ziraat Fakültesi. Yayın No: 84, Ege Üniversitesi Matbaası, (1971).

Adams M. R., Moss, M. O. Food Microbiology. The Royal Society of Chemistry 2005*;* 3: 119-125, 224-22.

Akyüz, N., Coşkun, H., Bakırcı, İ., Çon, A.H. (1993). A study on the Kurut produced in Van and its province. The Journal of Food. 18(4): 253-257.

Akyüz, N. Kurut. Dünyada Van. Van Valiligi Kültür ve Sanat Dergisi 1999; 7 (20): 12-15.

Akyüz, N. Süt endüstrisinde yan ürünlerin değerlendirilmesi ve önemi. Atatürk Üniversitesi. Ziraat Fakültesi Ziraat Derg. 1979; 10 (1-2): 207-216.

Anonim (2009). Türk Gıda Kodeksi Fermente Süt Ürünleri Tebliği, Tebliğ No: 2009/25.

Anonim (2011). Türk Gıda Kodeksi Mikrobiyolojik Kriterler Yönetmeliği, 29.11.2011 Tarih ve 28157 (3. Mükerrer) Sayı.

Anonim (2013). Kırgızistan Cumhuriyeti Süt ve Süt Ürünlerinin İşlenmesi Hakkında Teknik Yönetmelik. 84 Sayılı 18 Şubat 2013 Tarihli Kararname.

Ariyanti, T., Rachmawati, F., Noor, S.M. ve Suhaemi. Contamination of *Escherichia coli* O157:H7 in Milk and Its Dairy Products in Depok, Cianjur, Sukabumi and Bandung. 2nd International Conference on Environmental Ecology of Food Security IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science 1107(2022) 012047. doi:10.1088/1755-1315/1107/1/01/2047.

Aydemir-Atasever, M. (2007). Besin Hijyeni ve Teknolojisi Ders Notu. Erzurum.

Aydemir-Atasever, M. (2007). Erzurum ve Bingöl Yöresinden Toplanan Kurut Örneklerinin Mikrobiyolojik ve Kimyasal Nitelikleri. Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Erzurum, 44-45.

Bakır A. Ortaçag İslam Dünyasında Itriyat. Gıda. İulaç Üretimi ve Tagsisi. Ankara: Bizim Büro Basımevi, (2000).

Batt, C.A. (2014). *Escherichia coli*. In Encyclopedia of Food Microbiology, second ed.; Batt, C.A., Tortorello, M. L., Eds. Academic Press: Oxford, UK, pp. 688−694.

Bannerman, T. L., ve Peacock, S. J. (2007). Staphylococcus, Micrococcus, and Other Catalase-Positive Cocci. In P. R. Murray, E. J. Baron, J. H. Jorgensen, M. L. Landry ve M. A. Pfaller (Eds.), *Manual of Clinical Microbiology* (9th ed., pp. 390-404). Washington, USA: ASM Press.

Billington, EO., Phang, S.H., Gregson, D.B. Pitout, J.D. Ross, T., Church, D.L. et al. (2014). İncidence, risk factors and outcomes for Enterococcus spp. blood stream infections: a population-based study. İnternational Journal of İnfectious Disease 26, 76-82.

Bortolaia, V. ve Guardabassi, L. (2015). Zoonotic transmission of antimikrobial resistant enterococci: a threat to public health or an overemphasised risk in *Zoonoses- İnfections Affecting Humans and Animals: Focus on Public Health Aspects, ed A. Sing* (Dordrecht: Spinger Netherlands), 407-431.

Braga, J.F.V., Leal, C.a.G., Silva, CC., Fernandes, A.A., Martins, N. et al. (2018). Genetic diversity and antimicrobial resistance profile of *Enterococcus faecalis* isolated from broilers with vertebral osteomyelitis in Southeast Brazil. Avian Pathology. 47, 14-22.

Bhowmilk, T., and E. H. Marth. (1990). Role of Micrococcus and Pediococcus species in cheese ripening: a review. Journal of Dairy Science. 73:859–866

Byappanahalli, M.N., Nevers, M.B., Korajkic, A., Staey, Z.R. and Harwood, V.J. (2012). Enterococci in the environment. *Microbiol. Mol. Rev*. 76,685-706.

CDC. (2014). Center for Desease Control and Prevention, *E. coli* (*Esherichia coli*) December 1, 2014. https://www.cdc.gov/ecoli/general/index.html Internet kaynağı: Erişim tarihi 01.06.2023.

Cemeroglu, B., Acar, J. Meyve ve Sebze işleme Teknolojisi. Ankara: Gıda Teknolojisi Derneği. Yayın No: 6, 1986: 364–430.

Chen, Y., Sun, T., Wang, J., Airden, C., Bai, M., Zhang, H. (2009). Comparison of nutrition and microbiological compositions between two types of fermented milk from Tibet in China. International Journal of Food Science and Nutrition. 60 (S7): 243-50.

Coico R. (2001). Gram staining. *Current protocols in immunology*, *Appendix 3*, A.3O.1–A.3O.2. https://doi.org/10.1002/0471142735.ima03os23.

Çetinkaya, A., Elmalı, M., Karadağolu, G. ve Yaman, H. (2004). Kars kremalı kurut. Geleneksel Gıdalar Sempozyumu, 23-24 Eylül 2004, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Van.

Çiftçi, T. (2008). Kurutun kalite özelikleri üzerine bazı bitkisel kaynaklı uçucu yağların etkilerinin belirlenmesi. Ege Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Süt Teknolojisi Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, İzmir.

Demir, M.K., Elgün, A. ve Argun, M.Ş. (2009). Sütçülük yan ürünlerinden peynir altı, yayık altı ve süzme yogurt suları katkılarının bazı ekmek özelliklerine etkileri üzerine bir araştırma. Gıda 34 (2): 99-106.

Demirci, M. ve Şimşek, O. (2004). Süt işletme teknolojisi. İkinci baskı. Hasad Yayıncılık, 13, İstanbul.

Dinçel, E., Ünver-Alçay, A. (2017). Kurut ve Türk mutfağında kullanımı. Aydın Gastronomy. 1 (2): 31-39.

Diarra, M.S., Silversides, F.G., Diarrassouba, F., Pritchard, J., Masson, L., Brousseau, R. et al. (2007). İmpact of feed supplementation with antimicrobial agents on growth performance of broiler chickens, *Clostridium perfringens* and enterococcus counts, and antibiotic resistance phenotypes and distribution of antimikrobial resistance determinants in *Escherichia coli* isolates. Applied Environmental Microbiology. 73, 6566-6576.

Dubin, K. ve Pamer, E.G. (2017). *Enterococci* and their interactions with the intestinal microbiome. Microbiology Spectrum. 5: BAD-0014-2016.

Doğan, F. (2014). Erzurum ve Bayburt Yörensinde Üretilen Kurutların Bazı Fiziksel, Kimyasal ve Mikrobiyolojik Özellikleri. Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimler Enstitüsü, Erzurum.

Ergin, G. (1976). Süt, beslenme ve sağlık, Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi 1976; 7 (1).

Eralp, M. (1953). Kurut Yapılışı ve Terkibi. Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Yıllığı, Faskül: 3-4: 201-208, Ankara.

ECDC (2011). *European Centre for Disease Prevention and Control Publishes Annual Epidemiological Report* 2011. Eurosurveillance 16, 20012.

Eynallı, V. (2017). İnek ve keçi yoğurtların yayık altı ayranlarından elde edilen taze ve kurutulmuş çökeleklerin bazı özelliklerinin belirlenmesi. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Kahramanmaraş.

Flint, S. (2002). *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium*. In Roginski, H (Ed). Encyclopedia of Dairy Sciences (pp. 904-907). Elsevier.

Foster, T. (1996). Staphylococcus. In Baron S (ed.). Medical Microbiology. Galveston, TX: University of Texas Medical Branch at Galveston, 1996.

Gaucheron, F. (2013), Milk and Dairy Products: A Unique Micronutrient Combination, *National Library of Medicine* 2011; 5(1): 400S-9S.

Gezgin, Y., Akyol, İ. (2010). Geleneksel yoğurtlardan izole edilen *Streptococcus thermophilus* ve *Lactobacillus bulgaricus*'ların tanımlanması. Kahramanmaraş Sütçü Üniversitesi Doğa Bilimleri Dergisi. 13 (2): 23–29.

Guo, Y., Song, G., Sun, M., Wang, J., Wang, Y. (2020) . Prevalence and Therapies of Antibiotic-Resistance in Staphylococcus aureus. Front. Cell. Infect. Microbiol. 2020, 10, 107. [CrossRef] [PubMed]

Gülümser, S. Kurutun yapılısı ve bilesimi üzerine bir arastırma. Atatürk Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü Tarım ürünleri Teknolojisi Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi Erzurum, (1985).

Güler, Z. Yayık altı tozunun yogurt üretiminde kullanım olanaklarının araştırılması. Ankara Üniv. Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi Ankara, (1992).

Gürbüz, Ü., İstanbullugil, F.R., Biçer, Y. (2018). Kurut üretim teknolojisi ve kalite niteliklerinin belirlenmesi. Manas Journal of Agriculture and Veterinary Life Science. 8 (1): 59-67.

Güven, M., Karaca, O.B. (2009). Van ve Şırnak İllerinden Temin Edilen Kurutulmuş Yoğurtların (Kurut) Bileşim Özellikleri. GIDA 34 (6): 367-372.

Gökkaya Kılıç, Z., Arslanyılmaz, M., Attila, S., Bağcı Bosi, T. Sağlıklı Beslenme. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Halk Sağlığı Ana Bilim Dalı. Toplum Eğitim Sunumları (2015). (Internette) Erişim 01.07.2023 http://www.halksagligi.hacettepe.edu.tr/diger/topluma_yonelik.php.

Göncü, B., Çelikel, A., Akın, M.B., Akın, M.S. (2017). Şanlıurfa'da satışa sunulan sokak sütlerinin bazı kimyasal ve mikrobiyolojik özelliklerinin belirlenmesi üzerine bir araştırma. Harran Üniversitesi Mühendislik Dergisi 2 (2), 15-23

Greenblatt,C.L., Baum, J., Klein, B.Y., Nachshon, S., Koltunov, V. and Cano, R.J. *Micrococcus luteus*-Survival in Amber.
https://digitalcommons.calpoly.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=1363&context=bio_fac

Griffiths, M.W. editor, Following Pathogen Development and Gene Expression in a Food Ecosystem: the Case of a *Staphylococcus aureus* Isolate in Cheese. *American Society for Microbiology* (2014). 80 (16): 5106–5115.

Hiperlink, (2013), Sağlıklı beslenme, İstanbul Ticaret Odası, 2.

İnal, T. Besin Hijyeni - Hayvansal Gıdaların Saglık Kontrolü. İstanbul:2. Baskı. Final Ofset A.S. (1992).

International standardization Organization (ISO) Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs — Horizontal method for the enumeration of beta-glucuronidase-positive *Escherichia coli*. ISO 16649-2.2001

ISO 6887-1 Microbiology of the food chain- Preparation if test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination Part 1: General rules for the preparation of the initial suspension a decimal dilution. (2017).

International standardization Organization (ISO). Microbiology of the Food Chain — Horizontal Method for the Enumeration of Coagulase-positive Staphylococci (Staphylococcus aureus and other species) — Part 1: Method using Baird-Parker agar medium. ISO 6881-1 (2018)

International standardization Organization (ISO). Microbiology of the Food and Animal Staffs-Horizontal Method for the Enumeration of Coliforms- Colony Count Techique.

Jandal, J.M. Comparative aspects of goat and sheep milk. Small Ruminant Res (1996). 22: 177-185.

Kariyama, R., Mitsuhata, R., Chow, J.W. Et al (2000). Simple and reliable multiplex PCR assay for surveillance isolates of vancomycin-resistant *Enterococci.* Journal of Clinic Microbiology. 38, 3092-3095.

Kadariya, A., Smith, T.C., Thapaliya, D. *Staphylococcus aureus* and Staphylococcal Food-Borne Disease: An Ongoing Challenge in Public Health, *BioMed Research International* (2014). 1: 827965.

Kamber, U. (2008). The manufacture and some quality characteristics of kurut, a dried dairy product. İnternational Journal of Dairy Technology, No 2, Volume 61.

Karapınar, M., Gönül, Ş.A. Gıda kaynaklı hastalıklar'ın Ünlütürk, A. ve Turantaş, F. eds. Gıda Mikrobiyolojisi. Izmir: Meta Bsım Matbaacılık. (2003): 133-164.

Kasimoğlu Doğru, A., Gencay, Y.E., Ayaz, N.D. (2010). Prevalence and antibiotic resistance profiles of Enterococcus species in chicken at slaughter level; absence of vanA and vanB genes in *E.faecalis* and *E.faecium*. Restricted acts of Veterinary Science. 89:153-158.

Kurt, A. Süt İşleme Teknolojisine Giriş. Erzurum:Atatürk Üniviversitesi Yayınları Yayın No: 645, (1987): 27-197.

Klein, G. and Reuter, G. Culture Media for enterococci. In: Handbook of culture Media for Food and Water Microbiology. Corry, J.E.L., Curtis, G.D.W., Baird, R.M. (Eds). Edition 3, Royal Society of Chemistry, New York, (2011). 155-173.

Koneman, EW., Allen, S.D., Janda, W.M. (2006). Medical Bacteriology: Taxonomy, Morphology, Physiology and Virulence. Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology 6th ed. Philadelphia, Lippincott, 167-210.

Kochkorova, F.A., Kitarova, G.S. (2021). Nutrional value of the national dairy product kurut and its place in the nutrition of adolescents of the Kyrgyz Republic. Voprosy Pitaniia. 90 (5): 87–95.

Kocur, M., Kloos, W. E., and Schleifer, K. H. (2006). The Genus Micrococcus. In M. Dworkin, S., Falkow, E., Rosenberg, K. H., Schleifer and Stackebrandt, E. (Eds.), *The Prokaryotes* (3rd ed., pp. 961-971). New York: Springer.

Lancette, G.A. ve Bennett, RW. Staphylococcus aureus and spahylococcal enterotoxins. İn: Downes F.P., İto, K. (Eds). 4th Edition, Microbiological Examination of Foods. American Public Health Association, Washington DC, 2001; pp. 387-404.

Leroy, F. De Vuyst L. (2004). Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. Trends in Food Science and Technology. 15 (2): 67–78.

Liang ,T., Liang, Z., Wu, S., Ding, Y., Wu, Q., Gu, B. (2023). Global prevalence of Staphylococcus aureus in food products and its relationship with the occurrence and development of diabetes mellitus. Medicine Advances. 1: 53-78. [DOI: 10.1002/med4.6]

Liu, D. Aisworth, AJ. Austin, F.W. Lwrence, M.L. Use of PCR primers derived from a putative trascriptional regulator gene for species-spesific determination of *Listeria mocytogenes*, (2004). İnternational Journal of Food Microbiology, 91: 297-303.

Liu, W.J. Sun, Z.H., Zhang, Y.B., Zhang, C.L., Menghebilige, M.Y., Sun, T.S., Bao, Q.H. Chen, W., Zhang, H.P. (2012). A survey of the bacterial composition of Kurut from Tibet using a culture-independet approach. Journal of Dairy Science 95 (3): 1064-72.

Mamatova, Z. Aydin, A. (2022). İpek Yolu Coğrafyasının Ortak Kültürel Değeri ‘‘Kurut’’. Manas Journal of Agriculture and Veterinary Life Sciences. 12 (2) 158-165.

Mamatova, Z. Çetin, A.S. Özmen, HF. Cetin, O. (2019). Cultural Value: Kurut. 21’st International Veterinary Medicine Students Scientific Research Congress, April 17-19, 2019, pp. 307, Istanbul, Turkey

Marshal, BM. And Levy, SB. 2011. Food animals and antimikrobials: impacts on human health. Clinical Microbiology Reviews. 24, 718-733.

Mironova, G.M., Bazarnova, Y.G. (2017). Baharat ve aromatik katkı maddelerin katılması ile fermente süt ürünü Kurut'un geliştirilmesi. Bilim haftası uluslararası konferansı. Bildiri kitabı. 13-–19 Kasım 2017. 125–127. Sankt-Peterburg, Rusya. (Orijinali Rus dilinde.) Г.М. Мирова, Ю.Г. Базарнова 2017. “Разработка аутентичного кисломолочного продукта “Курт” с пряно-ароматическими добавками. ” Международная конфереция Неделя науки СПбПУ 13–19 ноября 2017–С. 125–127. Санкт-Петербург, Россия.

Mollabashi, N.M., Aydemir Atasever, M. (2018). İran’da Satışa Sunulan Kurutların (Kishk) Kimyasal ve Mikrobiyolojik Özellikleri. Atatürk Üniversitesi Vetetriner Bilimleri Dergisi. 13 (1): 70–76.

Nhung, N.T., Cuong, N.V., Thwaites, G. and Carrique-Mas, J. (2016). Antimicrobial usage and antimicrobial resistance in animal production in Southeast Asia: a review. *Antibiotics* 5:e37.

Pal, M. and Mahendra, R. (2015). Sanitation in Food Establishments. 1st Ed. LAMBERT Academic Publishin, Saarbruchen, Germany.

Patır, B., Ateş, G. Kurutun mikrobiyolojik ve kimyasal bazı nitelikleri üzerine araştırmalar. Turkish Journal of Veterinary and Animal Science (2002). 26: 785-792.

Pinhold, M., Larner-Svensson, H., Littauer, P., Moser, C.E., Pedersen, M., Lemming, L.E. et al. (2015). Multiple hospital outbreaks of vanA *Enterococcus faecium* in Denmark, 2012-13, investigated by WGS, MLST and PFGE. Journal of Antimicrobial Chemotherapy 70, 2474-2482.

Power Michael L., Schulkin J. *Milk:* The Biology of Lactation, Johns Hopkins University Press, Baltimore (2016).

Poulsen, LL., Bisgaard, M., Son, N.T., Trung, N.V., An, H.M. And Dalsgaard, A. (2012). *Enterococcus faecalis* clones in poultry and in humans with urinary tract infections, Vietnam Emerging İnfectious Disease. 18, 1096-1100.

Şekerden, Ö., Erdem, H., Kankurdan, B., Özlü, B. Anadolu mandalarında süt kompozisyonunu etkileyen faktörler ve süt kompozisyonunun laktasyon dönemlerine göre değişimi. Turkish Journal of Veterinary Animal Science (1999) 23:5.

Sherova, G.S., Saparbekova, A.A., Tolebayeva, E.A. Mukhtar Auezov Doğu Kazakistan Üniversitesi, Şımkent. (2022). Orijinali Rusça. Шерова Г.С.,* Сапарбекова АА, Толебаев ЕА, магистр, ЮКУ им. М.Ауэзова. Шымкент, Казахстан к.биолог.н., доцент, ЮКУ им. М.Ауэзова. Шымкент, Казахстан докторант, ЮКУ им. М.Ауэзова. Шымкент, Казахстан Возраждение национальных кисломолочных продуктов: Курт с добавлением ламинарии. (Erişim tarihi 28 Nisan 2022). https://auezov.edu.kz. (2022).

Sodini, İ., Morin, P., Olabi, A. and Jime nez-Flores R. (2006). Compositional and functional properties of buttermilk: A Comparison Between Sweet, Sour, and Whey Buttermilk. Journal of Dairy Science 89:525-536.

Soltani, M. (2009). İran'da üretilen Kurut ve bazı Kurut ürünlerinin kalite özellikleri. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana. 20–21.

Sun, Z., Wenjun, L., Wa, G., Mei, Y., Zhang, J., Wu, L., Wang, J., Menghe, B., Sun, T., Zhang, H. (2010). Identification and characterization of the dominant lactic acid bacteria from Kurut: the naturally fermented yak milk in qinghai, China. The Journal of General and Applied Microbiology. 56 (1): 1–10.

Simonsen, G.S., Haaheim, H., Dahl, K.H., Kruse, H., Lovseth, A., Olsvik, O. et al. (1998). Transmission of vanA-type vancomycin-resistant enterococci and vanaA resistance elements between chicken and humans at avoparcin-exposed farms. Microbial Drug Resistance. 4, 313-318.

Slanetz, L.W. And Barley, C.H. (1957): Two improved media for isolating and enumerating enterococci in certain frozen foods. Journal of Applied Bacteriology. 31: 151-156.

Tamime, A.Y., Margaret, N.I., Barclay, M.N., Amarowicz, R., Mc Nulty. Kishk-a dried fermented milk / cereal mixture. 1 Composition of gross components, carbonhydrates, organic acids and fatty acids. Le Lait Dairy Science and Technology 1999; 79:317-330.

Tamime, AY. And O'Connor, TP. Kishk-a dried fermented milk/cereal mixture. İnternational Dairy Journal 1995; 5(2): 109-128.

Temirbekova, A. (2019). Farklı oranlarda portakal kabuğu ekstarktı kullanılarak fonksiyonel kurut üretimi. On Dokuz Mayıs Üniversitesi, Gıda Mühendisliği Ana Bilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi. 14–36.

Tuganbay, A., Yosefvand, A. and Joakim Saris, PE. Production of kurut (kurt) using probiotic *Lacticaseibacillus rhamnosus* GG starin in combination with a yeast isolated from Kazakhstan kurut. Front. Food. Sci. Technol., 30 November 2022. Sec. Food Biotechnology. Depatment of Microbiology, Faculty of Agriculture and Forestry, University of Helsinki, Helsinki, Finland.Volume 2-2022.https://doi.org/10.3389/frfst.2022.1045579

Tyson, G.H., Sabo, J.L., Rice-Trujillo, C., Hernandez, J. and Mcdermott, P.F. (2018). Whole-genome sequencing based characterization of antimicrobial resistance in Enterococcus. Pathogens and Disease. 76:fty018.

Viuda-Martos, M., Ruiz-Navajas, Y., Ferna'ndez-Lo'pez, J., Ve Pe'rez-A İvarez, J. (2008). Antifungal activity of lemon (Citrus lemon L.), mandarin (Citrus reticulata L.), grapefruit (Citrus paradisi L.) and orange (Citrus sinensis L.) essential oils. Food Control 19, 1130-1138.

Üçüncü, M. (2010). Süt ve mamulleri teknolojisi (6. Baskı). Meta Basım matbaacılık Hizmetleri. 590. İzmir.

Ünlütürk, A. Gıda muhafaza ilkeleri'in Ünlütürk, A. ve Turantas, F. eds. Gıda Mikrobiyolojisi. İzmir: Meta Basım Matbaacılık, 2003:165–227.

Raynal-Ljutovac, K., Lagriffoul, G., Paccard, P., Gulliet, İ., Chlliard, Y. Composition of goat and sheep milk products: An update. Small Ruminant Res, 2008, 79:57-72.

Remel Manual (2020). Coagulase plasma test. USA, Remel Company, 4 page.

Roech, R.R., Rincon, A. ve Correding, M. (2004). Emulsifying Properties of Fractions Prepared form Commercial Buttermilk by Microfiltration. Journal of Dairy Science 87:4080-4087.

Stackebrandt, E., Koch, C., Gvozdiak, O. and Schumann, P. (1995). Taxonomic dissection of the genus Micrococcus: Kocuria gen. nov., Nesterenkonia gen. nov., Kytococcus gen. nov., Dermacoccus gen. nov., and Micrococcus Cohn 1872 gen. emend. International Journal of Systematic Bacteriology 45, 682– 692.

Wetherilt Huriye. *Sağlıklı beslenme, sağlıklı yaşam*, İstanbul Ticaret Odası, 2004-07.

Werner, G. Coque, TM. Hammerum, AM. Hope, R. Hryniewicz, W. Johnson, A. et al. 2008. Emergence and spread of vancomycin resistance among enterococci in Europe. Euro Surveill. 13:19046. Available online at: http://www.eurosurveillance.org

Wieser, M., Denner, E. B. M., Ka¨mpfer, P., Schumann, P., Tindall, B., Steiner, U., Vybiral, D., Lubitz, W., Maszenan, A. M. and other authors (2002). Emended descriptions of the genus Micrococcus, Micrococcus luteus (Cohn 1872) and Micrococcus lylae (Kloos et al. 1974). International Journal of Systematic Evolutionary Microbiology 52, 629–637.

Yamawaki, N., Yamada, M., Kan-n, T., Kojima, T., Kaneko, T., Yonekubo, A. Macronutrient, mineral and trace element composition of breast milk from Japanese women. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology (2005). 19:171-181.

Yost, C.K., Diarra, M.S. and Topp, E. (2011). Animals and humans as sources of fecal indicator bacteria, in The Fecal Bacteria, ads M. Sadowsky and R. Whithman (Washington, DC: American Society for Microbiology Press), 67-91.

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

Geleneksel Olarak Üretilmiş Kurut Örneklerinin Bazı Patojen Bakteriler Açısından Değerlendirilmesi

ORİJİNALLİK RAPORU

%15	%15	%0	%
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	acikbilim.yok.gov.tr İnternet Kaynağı	%6
2	dergipark.org.tr İnternet Kaynağı	%3
3	nek.istanbul.edu.tr:4444 İnternet Kaynağı	%3
4	cdn.iuc.edu.tr İnternet Kaynağı	%2
5	rumeli.edu.tr İnternet Kaynağı	%1
6	toad.halileksi.net İnternet Kaynağı	%1

Alıntıları çıkart	üzerinde	Eşleşmeleri çıkar	< %1
Bibliyografyayı Çıkart	üzerinde		

ETİK KURUL İZİN YAZISI

Uyarı: Canlı denekler üzerinde yapılan tüm araştırmalar için Etik Kurul Belgesi alınması zorunludur.

☐ **Etik Kurul izni gerekmektedir.**

☒ **Etik Kurul izni gerekmemektedir.**

Zhanylbubu MAMATOVA
(İmza)

KURUM İZNİ YAZILARI

Uyarı: Canlı ve cansız deneklerle yapılan tüm çalışmalar için kurum izin belgelerinin eklenmesi zorunludur. Gizlilik ve mahremiyet içeren durumlarda kurum adı kapatılmalıdır.

☐ **Kurum izni gerekmektedir.**

☒ **Kurum izni gerekmemektedir.**

Zhanylbubu MAMATOVA
(İmza)