

T.C
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
Fen Bilimleri Enstitüsü

**BAZI PROBİYOTİK BAKTERİLERİN GIDA KAYNAKLI PATOJENLERE KARŞI
ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTELERİ ÜZERİNE BİR İN-VİTRO ÇALIŞMA**

Sonnur YEŞİLLİK
YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOLOJİ

DİYARBAKIR
AĞUSTOS-2008

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamda danışmanlığımı yürüten sayın hocam Dicle Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Öğretim Üyesi Prof. Dr. Abdunnasır Yıldız' a çok değerli destek ve ilgilerinden dolayı sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmada kullanılan patojenlerin elde edilmesinde yardımlarını esirgemeyen Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Öğretim üyesi Prof. Dr. Kadri Gül' e teşekkür ederim.

Deneyisel çalışmalarda ve istatistik oluşturulmasında deneyimleriyle yardımcı olan arkadaşım Dicle Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü araştırma görevlisi Numan Yıldırım'a teşekkür ederim.

Yüksek lisans eğitimim ve tez çalışması süresince hayat yükümü hafifleten ve tıbbi bilgiler açısından danışmanlık yapan eşim İç.Hst.Uzm.Dr. Sait Yeşillik'e teşekkürlerimi sunarım.

Sahip olduklarımın gizli mimarları anneme ve babama şükranlarımı sunarım.

Ve onunla paylaşacağım zamandan çaldığım için sevgili kızımdan özür dilerim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
AMAÇ	iii
ÖZET	v
SUMMARY	vii
1.GİRİŞ	1
2.ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	23
3.MATERYAL METOT	30
3.1. MATERYAL	30
3.1.1. Çalışmada Kullanılan Gıda Kaynaklı Patojenler	30
3.1.2. Çalışmada Kullanılan Probiyotik Kaynağı Fermente Süt Ürünü Çeşitleri	30
3.1.3. Çalışmada Kullanılan Antibiyotik ve Laktik Asit Diskleri	30
3.1.4. Çalışmada Kullanılan Kültür Ortamları	31
3.2.METOT	32
3.2.1.Besiyeri Ortamlarının Hazırlanması	32
3.2.2.Fermente Süt Ürünü Çeşitlerinin Toplanması, Ev Yapımı Yoğurdun Hazırlanması ve Yoğurt Sularının Eldesi	32
3.2.3.Patojenleri İçeren Süspansiyonların Hazırlanması	33
3.2.4.Disklerin Hazırlanması	33
3.2.5.Patojenlerin İnokülasyonu ve Disk Difüzyon Metodu ile Ölçümlerin Yapılması	34
4.BULGULAR	35
5.TARTIŞMA VE SONUÇLAR	37
6.KAYNAKLAR	41
7. TABLOLAR VE RESİMLER LİSTESİ	53
8.ÖZGEÇMİŞ	60

AMAÇ

İnsanlar tarafından besin olarak yüzyıllardır kullanılmasına karşın, son yıllarda probiyotik kavramı ve probiyotiklerin insan ve hayvan sağlığına etkileri konusunda yapılan çalışmalar artmıştır. Probiyotikler genel olarak *Lactobacillus* türleri olarak bilinmekle beraber, *Bifidobacteria*, *Enterococcus*, *Streptococcus* ve bir maya olan *Saccharomyces* en sık kullanılanlar olarak sayılabilir. Probiyotik bakterilerin alınabileceği en önemli besinsel kaynak fermente süt ürünleridir. Kefir, yoğurt gibi geleneksel ürünlerin yanı sıra, günümüzde ekstra probiyotik katkılı süt ürünleri de kullanılmaktadır. Çeşitli kombinasyonlarda bakteri veya maya taşıyan kapsüller ve saşeler piyasada bulunmaktadır. Probiyotiklerin alınmasında içerdikleri koloni sayısı ve canlılık oranı etkinin görülmesi açısından önemlidir. Aynı zamanda probiyotiğin kolona ulaşana kadar bozulmaması, mide asidinden ve birlikte alınan gıdalardan etkilenmemesi gerekmektedir.

İnsanlar doğumdan itibaren oluşturdukları ve immun sistemin çalışmasını destekleyen bir mikrofloraya sahiptirler. Bu mikroflora stres, diyet değişikliği ve patojen mikroorganizmalara karşı kullanılan antibiyotiklerin yararlı mikroorganizmalara da zarar vermesi sonucunda bozulabilir. Bozulan mikrofloranın özellikle Gastrointestinal sistem (GİS) mikroflorasının tekrar yerine konmasında probiyotikler kullanılır. Probiyotik bakteriler patojenler ile yarışmaya girip onların GİS mukozasına adhezyonlarını önlemektedirler. Bunun yanında salgıladıkları bazı kimyasallar ile patojen mikroorganizmalara karşı antogonistik etki göstermektedirler. GİS enfeksiyonlarına, çocuk ishallerine ve ürogenital enfeksiyonlara karşı etkili olduklarını gösteren pek çok çalışma yayınlanmıştır. Kan lipit seviyesine, HDL kolesterolün düşürülmesine, bazı alerjilere, hipertansiyona, gut hastalığına ve kanserin engellenmesine etkileri birçok araştırmaya konu olmuştur.

Probiyotikler ile yapılan çalışmaların büyük bölümünü GİS enfeksiyonlarına karşı olanlar oluşturur. GİS enfeksiyonlarını sorumlusu ise genellikle gıda kaynaklı patojenlerdir. Probiyotiklerin gıda kaynaklı patojenlere etkisi bu açıdan önem arz etmektedir. Çalışmamızda ev yapımı ve ticari geleneksel yoğurtlar, probiyotik katkılı ticari yoğurt ve kefir kullanılacaktır. Bu fermente süt ürünlerin suyunun içerdiği

probiyotik bakterilerin gıda kaynaklı patojenlere karşı etkileri araştırılacaktır. Ucuz ve güvenilir bir alternatif olarak kullanılacak probiyotik süt ürünlerinin in-vitro koşullarda gıda kaynaklı patojenlere etki derecelerinin saptanması amaçlanmıştır.

Gelişen tıpta hastalıkların tedavisinde olduğu kadar hastalıkların önlenmesi ve korunmada da kemoterapotik ilaçların kullanılması tek seçenek olarak görülmekten çıkmıştır. Çalışmamızda bunların yerine biyolojik mekanizmaları destekleyerek iş gören ve bilinen hiçbir zararı saptanmamış probiyotikler kullanılabilceğinin gösterilmesi amaçlanmıştır. Aynı zamanda kullanılan geleneksel ve probiyotik katkılı fermente süt ürünlerinin içerdiği probiyotiklerin antimikrobiyal etkinlikleri karşılaştırılarak farkları ortaya konacaktır.

ÖZET

Probiyotiklerin insan sağlığına yararlı etkileri uzun yıllardır bilinmektedir. Dünya sağlık örgütü (WHO) tarafından belirli miktarları kullanıcısına yararlar sağlayan canlı mikroorganizmalar olarak tanımlanan probiyotiklerin en yaygın besinsel kaynağı fermente süt ürünleridir. Özellikle yoğurt ve probiyotik katkılı yoğurtlar sıklıkla tüketilmektedir. Kefir ise kullanım sıklığı yoğurdun gerisinde kalmakla birlikte güzel bir probiyotik kaynağıdır. Çalışmamızda geleneksel fermente süt ürünleri (kefir, yoğurt) ve probiyotik katkılı yoğurdun gıda kaynaklı patojenlere antimikrobiyal etkisi incelenmiştir.

Gıda kaynaklı patojenler, gıda kaynaklı hastalıklara sebep olarak her yıl milyonlarca insanı hastalandırmaktadırlar. GİS enfeksiyonlarının en büyük sorumlusu gıda kaynaklı patojenlerdir.

Yoğurdun içerdiği probiyotik bakteriler *Lactobacillus bulgaricus* ve *Streptococcus thermophilus* tur. Bu laktik asit bakterilerinin, fermentasyon sırasında ortaya çıkardıkları laktik asit ile ortamın pH'sını düşürerek, H₂O₂, etanol gibi kimyasallar üreterek ve bakteriosin benzeri antimikrobiyallar salgılayarak patojen mikroorganizmalarla mücadele ettiği bilinmektedir. Kefir ise hem probiyotik bakterileri hem de probiyotik mayaları içeren asidik ve alkolik fermentasyonun bir arada olduğu güzel bir probiyotik gıda örneğidir.

Çalışmamızda ev yapımı geleneksel yoğurt, bir firmaya ait hazır geleneksel yoğurt, bir firmaya ait kefir, probiyotik katkılı hazır yoğurt (biogard) kullanılmıştır. Yaygın gıda kaynaklı patojenlerden *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *E. coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 ve *Staphylococcus aerous* ATCC 25923 'un spesifik besiyerleri üzerinde saf kültürleri elde edilmiştir. Bu kültürlerden McFarland bulanıklığı yöntemi kullanılarak yaklaşık 10⁸ / ml mikroorganizma taşıyan süspansiyonlar elde edilerek yeni bir besiyerine 0,1 ml inoküle edilmiştir. Steril şekilde süzülerek elde edilen yoğurt suları disklerle emdirilerek besiyeri üzerine bırakılmış ve disk difüzyon metodu ile antimikrobiyal aktivite ölçülmüştür. Kontrol grubu olarak geniş spektrumlu antibiyotik ve laktik asit içeren diskler kullanılmıştır. Ölçümler 24., 48. saatlerde ve 7. gün tekrarlanmıştır. Elde edilen sonuçlara göre gıda kaynaklı patojenlere, fermente süt ürünlerinin antimikrobiyal etkisi ve etki dereceleri istatistiksel açıdan değerlendirilmiştir.

Gıda kaynaklı patojenlere en iyi antimikrobiyal etki geleneksel yoğurt çeşitlerinde görülmüştür. Fermente süt ürünlerine en duyarlı bakteri ise *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 olarak tespit edilmiştir. En az duyarlı yani en dirençli patojenin ise *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 olduğu görülmüştür. Fermente süt ürünleri içerdikleri probiyotik bakterilerin aktivitesinden kaynaklanan bir antimikrobiyal aktiviteye sahiptirler. Laktik asit kontrolleri sonucunda bu aktivitenin yalnız laktik aside bağlı olmadığı görülmüştür. Elde ettiğimiz sonuçlar gıda kaynaklı enfeksiyonların önlenmesinde ve tedavisinde fermente süt ürünleri özellikle yoğurt tüketiminin faydalı olacağını düşündürmektedir. Ucuz ve kolay bir yol olarak fermente süt ürünlerinin gıda kaynaklı patojenlere karşı kullanılması yanı sıra probiyotiklerin ürettikleri bakteriosinlerin (Örn: nisin) gıda koruyucu olarak kullanılması için yapılan çalışmaların artırılması gerektiği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Probiyotik, Fermente Süt Ürünleri, Gıda Kaynaklı Patojenler, Disk Difüzyon Metodu, Antimikrobiyal Aktivite

SUMMARY

Although the beneficial effects of probiotics on health are known, recently this topic was placed in many researchs. According to the World Health Organization (WHO), probiotics are living microorganisms that, when administered in adequate amounts, confer a health benefit on the host. Most common nutritional sources of probiotics are fermented dairy products. Especially yoghurt and probiotic yoghurt are used usually. Also kefir is a good source of probiotic. In our study, the antimicrobial activities of traditional Turkish yoghurt samples and a probiotic yoghurt product and kefir against food borne pathogens are researched. Food borne pathogens cause food borne infection disease. Therefore millions of people fall ill every year. The most common reason of GIS infections is these pathogens.

Yoghurt contains *Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* as probiotic. These lactic acid bacterias, decrease pH level by producing lactic acid and also product antimicrobials and chemicals such as H₂O₂, ethanol and bacteriocin. By the ways, the probiotics fight against pathogen bacterias. Kefir which is acidifying and mildly alcoholic fermented milk, is accepted as a good example of probiotic mixture of bacteria and yeast.

In our study, home made traditional yoghurt and commercially prepared traditional yoghurt which belongs a company and commercially prepared probiotic yoghurt and commercially prepared kefir are used. *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *E. coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 and *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, most common food borne pathogens, are grown as pure culture on special nutritional agar. To use these bakterias, the suspensions contain adequate amount (10⁸/ml) of they are prepared by emulsified to a turbidity of McFarland 0.5 density. The fermented dairy products samples were strained under aseptic condition. The fermented dairy products water were pipetted on to 5 mm diameter paper disks. We also used disks with wide spectrum antibiotic and lactic acid as the control groups. And than antimicrobial activities were measured by disk diffusion method. Measuring was repeated at 24. and 48 hours and 7. day. According to results, the antimicrobial effects of probiotic bacterias against

food borne pathogens was seen. The difference between effects of fermented dairy products was compared.

The best antimicrobial activity against food-borne pathogens was activated by yoghurt samples. The most sensitive pathogen to fermented dairy products was found as *Salmonella typhimurium* ATCC 14028. The most resistant, in other word the least sensitive pathogen is *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Fermented dairy products have antimicrobial effect, due to they contain probiotic. These activities are not only because of lactic acid. According to our results, fermented dairy products, especially yoghurt should use to protect and treat food-borne disease. Furthermore to eat fermented dairy products, cheap and easy way, the bacteriosin (eg:nisin) producing by probiotics able to use protect against food-borne infections. In our opinion, the researches about this issue should be multiplied and developed.

Key Words: Probiotic, Fermented Dairy Products, Foodborne Pathogens, Disc Diffusion Method, Antimicrobial Activity

1. GİRİŞ

Son yıllarda günlük yaşamda sıkça duyulan probiyotik kavramı yeni gibi görünse de aslında yüzyıllardır insanlarca gıda üretilmesinde kullanılmaktadır. Fermentasyonla süt ürünleri elde edilmesinin başlangıcı tarih öncesi kültürlerle kadar dayanır.

Probiyotik kelimesi Latince ‘yaşam için’ anlamına gelmektedir. Terim, ilk olarak 1965 yılında Lilley D. ve arkadaşları tarafından intestinal mikrobiyal flora dengesini destekleyen madde veya mikroorganizmalar tanımlaması ile kullanılmıştır. Daha sonra Fuller 1986’da probiyotikleri, konukçu canlının bağırsak hijyeni ile sindirimini iyileştirmede yararlı bir etkisi olan ve gıda katkısı gibi kullanılan canlı preparatlar olarak tanımlamıştır. Bugün kabul gören tanımlama ise Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından yapılmıştır: Probiyotikler belirli miktarları taşıyıcısına yararlar sağlayan canlı organizmalardır.

Probiyotikler, bazı yararlı maya ve bakteriler özellikle laktik asit bakterileri olarak bilinmektedir. Yüzyıllardır fermente süt ürünleri (yoğurt, kefir vs.) aracılığıyla insan beslenmesinde yerini almıştır. 20. yüzyılın başlarında Nobel ödüllü Rus bilim adamı Elie Metchnikoff (1845–1916) Bulgar köylülerinin uzun yaşamasını fazlaca fermente süt ürünü tüketmelerine bağlayarak bu konudaki çalışmaların temelini atmıştır (Sanders, 2003).

Gastrointestinal sistemin (GİS) son kısımlarında, kolon ve ince bağırsak, bağırsak mikroflorası olarak adlandırılan kompleks bir bakteri ekosistemi yaşamaktadır. Aslında insanlar bu bakteri ekosistemi ile doğmazlar. Yeni doğan florası steril iken doğum sırasında yutulan annenin vajinal ve fekal florası ilk florayı belirler. Sezaryen ile doğan bebekler doğum kanalından geçmedikleri için flora oluşumu daha geçtir. Bu bebeklerin florasında daha çok çevreden alınan mikroorganizmalar hakim olur. Normal flora bakterilerini kazanamazlarsa GİS ve immünolojik hastalıklara yatkın olurlar (Young ve ark., 2003; Caicedo ve ark., 2005).

Yenilen yiyeceklerle alınan mikroorganizmalar aracılığıyla mikroflorada gelişir. Doğum sonrası 48. saatte kolonda *Enterobacteria*, *Staphylococcus* ve

Streptococcus türlerinden oluşan bakteriler 10^9 - 10^{10} /g gaita yoğunluğunda bulunmaktadır. Bu patojenler devam eden günlerde yerlerini *Bifidobacteria* türlerine bırakırlar. Yaklaşık 1 haftanın sonunda *Bifidobacteria* türleri 10^{10} - 10^{11} /g gaita yoğunluğuyla floraya hakim olurlar (Yalçın ve ark., 2000). Bir yaşın sonunda erişkin florasına yakın bir flora kazanılır. Erişkin florası oluştuktan sonra kalıcı olarak değiştirilmesi mümkün değildir (Vanderhoof ve ark, 2004).

İnsan bağırsağı mukoza ile kaplıdır. Bu mukozanın alanı yaklaşık 200 m^2 dir. Bu alan 10^{14} mikroorganizma barındırmaktadır (Sanders, 2003). Kalın bağırsakta 1-2 kg, akciğerde 20 g, vajende 20 g, burunda 10 g, gözde 1 g florayı oluşturan mikroorganizma bulunmaktadır. İnsan vücudundaki ökoryotik hücre sayısının 10^{13} olduğu düşünülürse, 10-20 katı prokaryotik hücre barındırdığı söylenebilir. Bu mikroorganizmaların büyük bölümü non-patojendir ve bazıları büyüme gelişme için zorunludur. Sağlıklı erişkinlerin bağırsağında yaklaşık 500 tür mikroorganizma vardır (Ouwehand ve ark. 2003, Gill ve ark. 2004, Isolauri ve ark. ,2004). Mide, duodenum ve jejunumda peristaltizmin (sindirim hareketleri) hızlı olması ve mide özsuyu ile safra asitlerinden kaynaklanan asidik ortam sebebiyle daha az sayıda (10^2 - 10^3) bakteri bulunmaktadır. İleumdan itibaren geçiş yavaşlar, kolondakine benzer sayıda (10^{14}) ve çeşitlilikte bakteri bulunur. Erişkin bağırsağında *Bakteroides* grubu mikroorganizmalar baskındır. Stres, antibiyotik kullanımı, kemoterapi ve radyoterapi gibi etkilerle flora dengesi bozulur ve florada geçici değişiklikler oluşur. Çocuklarda en önemli flora değişikliği sebebi geniş spektrumlu antibiyotikler kullanmaktır (Guarner ve ark., 2003).

Florada bulunan yararlı bakteriler bizi patojen olanlara karşı korurlar. Bunun için karmaşık koruyucu mekanizmalar (müsin salınımı, koruyucu hücrelerin çoğalması) kullanılır. Sağlıklı floranın içerdiği bakteriler pH' ı düşürerek patojen olanlar için ortamı uygunsuz hale getirirler. Bunu laktik asit, butirik asit ve asetik asit üreterek yaparlar. Mikroflora aynı zamanda intestinal kanal için fiziksel bir bariyer oluşturur. Gıdaların antijenik bileşenlerini ve patojen mikroorganizmaları bloke ederler. Flora dengesi bozulduğunda mukozanın engel oluşturma işlevi bozulur ve antijenik proteinler bağırsak duvarından geçer, enflamasyon başlar. Floranın dengesinin tekrar kazanılmasında probiyotik kullanımı önemlidir. Oral antibiyotik kullanımı sırasında fermente süt ürünlerinin özellikle yoğurdun fazla miktarda

tüketilmesiyle antibiyotiklerin bağırsak florasına yapacağı olumsuz etkinin azaldığı veya önlenebildiği tespit edilmiştir (Ferreira, 1979).

Probiyotik mikroorganizmalar daha çok laktik asit bakterileri olarak bilinirler. Buna karşın bazı mayalar ve laktik asit üretmeyen bazı bakterilerde probiyotik olarak kabul edilmiştir. Buna göre probiyotikleri 3 gruba ayırmak mümkündür. Bu üç grup ve sık kullanılan bazı probiyotik bakteriler şöyle sıralanabilir (Kopp-Hoolihan 2001; Young ve Huffman, 2003; Senok, 2005):

1. Laktik asit bakterileri

- | | |
|--|--|
| <ul style="list-style-type: none"> ➤ <i>Lactobacillus</i> türleri ▪ <i>L. acidophilus</i> ▪ <i>L. amylovorus</i> ▪ <i>L. casei</i> ▪ <i>L. crispatus</i> ▪ <i>L. delbrueckii</i> ▪ <i>L. gallinarum</i> ▪ <i>L. gasseri</i> ▪ <i>L. paracasei</i> ▪ <i>L. plantarum</i> ▪ <i>L. fermentum</i> | <ul style="list-style-type: none"> ➤ <i>Bifidobacterium</i> türleri ▪ <i>B. adolescentis</i> ▪ <i>B. animalis</i> ▪ <i>B. bifidum</i> ▪ <i>B. breve</i> ▪ <i>B. infantis</i> ▪ <i>B. longum</i> ▪ <i>B. lactis</i> ➤ Diğer laktik asit bakterileri ▪ <i>Enterococcus faecalis</i> ▪ <i>Enterococcus faecium</i> ▪ <i>Lactococcus lactis</i> ▪ <i>Pediococcus aciliactici</i> ▪ <i>Streptococcus thermophilus</i> |
| <h4>2. Non-laktik asit bakterileri</h4> <ul style="list-style-type: none"> ▪ <i>Bacillus cereus var. toyoi</i> ▪ <i>E. coli strain</i> ▪ <i>Propionibacterium freud</i> | <h4>3. Mayalar</h4> <ul style="list-style-type: none"> ▪ <i>Saccharomyces cerevisiae</i> ▪ <i>Saccharomyces boulardii</i> |

Laktik asit bakterileri, prokaryot, spor oluşturmayan, heterotrof, Gram (+) bakterilerdir. Hücre duvarları kalın bir peptidoglikan tabakaya sahiptir.

Anaeropturlar, fakat oksijene toleransları vardır. En önemli özellikleri fermentasyon yaparak laktik asit oluşturmalarıdır (Anonymous^a).

Laktik asit bakterileri ortamda bulunan diğer mikroorganizmaları inhibe ederek mikrobiyal açıdan güvenilir gıdaların üretilmesinde kullanılır. Laktik asit bakterilerinin ortamda bulunan diğer mikroorganizmaları inhibe edici özellikleri, kendilerinin ortamda gelişerek değiştirdiği bazı koşullardan kaynaklandığı saptanmıştır. Bunlar; düşük pH değeri, organik asitler, bakteriosinler, hidrojen peroksit (H_2O_2), etanol, düşük oksidasyon-redüksiyon potansiyelidir (Turantaş,1998).

Laktik asit bakterileri tarafından üretilen laktik asit nedeniyle, üretilen gıdaların son ürününde pH 3,4-4,5 olmaktadır. Laktik asit bakterileri dışındaki bakterilerin çok azı bu değerlerde gelişebilmektedir (Asperger,1986).

Bakteriosinler bakterisidal etki gösteren peptid veya proteinlerdir. Bakteriyosinlerin sentezindeki kontrol mekanizmaları bilinmemekle beraber ekolojik stres durumlarında yaşamı devam ettirecek bir mekanizma olarak sentezlenmiş olabileceği düşünülmektedir. Bakteriyosinlerin etki mekanizması genellikle membraner seviyede olup, K^+ iyonunun ve ATP nin bozulmasına yol açan membran potansiyelini değiştirerek hücrenin intraselüler pH' sını koruyamamasını sağlar (Tagg ve ark., 1976).

Lactococcus lactis tarafından sentezlenen bakteriosinin nisin olduğu bulunmuştur. Nisin, 34 aminoasitli, asidik pH'larda ısıya karşı dirençli, asidik solüsyonlarda çözülebilen, 7000 molekül ağırlıklı bir dimer olarak oluşan, 3500 moleküler ağırlığa sahip bir polipeptittir (Gross ve Morell 1967; Hurst 1981).

Belirli *Lactobacillus* türlerinin antibiyotik benzeri yapılar sentezleyebildikleri ileri sürülmektedir. *L. bulgaricus* tarafından bulgarican, *L. acidophilus* tarafından acidophilin ve lactocidin üretildiği, bu bileşiklerin Gram (+) ve Gram (-) bakterilere karşı etkili olduğu belirtilmiştir (Shahani ve Chandan, 1979).

Laktik asit fermentasyonları anaerobik proseslerdir. Bu ortamda hidrojen peroksit üretimi fermentasyonun başında substratta çözünen oksijen konsantrasyonu ile sınırlıdır. Ortamdaki diğer mikroorganizmaların inhibe edilmeleri açısından fermentasyonun başlangıcında hidrojen peroksidin seçici bir ortam yarattığı

bildirilmiştir (Turantaş,1998). Hidrojen peroksidin (H_2O_2) bazı durumlarda diğer etkili antimikrobiyallerin üretiminde öncü madde olabileceği bildirilmiştir (Condon, 1987). Bakteri membranını bozmada etkin rol oynayan hidrojen peroksida en duyarlı bakteriler Gram (-) bakterilerdir. Çiğ veya işlenmiş süt ürünlerine dışardan hidrojen peroksit (H_2O_2) verilmesiyle patojenlerin inhibe olduğu görülmüştür. Bu laktoperoksidaz sisteminin süt ürünlerinin raf ömrünü uzatmada kullanılabileceği düşünülmektedir (Earnshaw ve Banks 1989).

Bütün laktik asit bakterileri probiyotik olmadığı gibi, laktik asit bakterisi olmayan bazı mikroorganizmalarda probiyotik olabilirler. Bir mikroorganizmanın probiyotik olarak kabul edilebilmesi için taşınması gereken bazı özellikler vardır. Aranılan başlıca özellikler şunlardır:

- Doğal olarak insanların kalın bağırsak florasında bulunması
- Patojen ve toksik olmaması
- Mide asiditesi ve safra asitlerine dirençli olması
- GİS duvarına tutunarak geçici bir süre kolonize olabilmesi
- Canlı olmaları
- Konukçu üzerinde olumlu etkilerinin olması
- Olumlu etkilerinin başlamasının birkaç gün veya haftadan kısa sürmesi
- Antibiyotiklerle alındıklarında etkilerini sürdürebilmeleri (Young ve Huffman, 2003; Salminen ve ark., 2005)

Probiyotik mikroorganizmaların bağırsak lümenine kısa sürede tutunabilmesi ve etkisini gösterebilmesi için viabilitesi (canlılığı) ve aktifliği önemlidir. Bazı tip probiyotik bakteriler sindirim enzimlerinden etkilenirler, fakat önemli bir miktarı intestinal kanalda hayatta kalarak kolona ulaşırlar (Oozeer ve ark.,2003).

Probiyotik preparatları içindeki mikroorganizmalar canlılıklarını koruyacak şekilde saklanmalıdır. Sıcak, nem ve hava ile temas mikroorganizmaların canlılıklarını kaybetmelerine neden olmaktadır (Coşkun, 2004).

Probiyotik ürünlerin raf ömrü 3-6 haftadır. Kurutulmuş supplementlerin 12 ay içinde kullanılan bakteri düzeyine bağlı olarak probiyotik miktarı azalmaktadır.

Etkinliklerini metabolize ve kolonize olarak gösterdiklerinden günlük tüketimleri önerilmektedir (Akman ve Yağcı, 2002).

Probiyotiklerin etkilerinin görülmesi için bağırsak sistemine canlı olarak ulaşması ve probiyotik gıda ürününün en az 10^6 koloni/ g canlı probiyotik bakteri içermesi gerektiği bildirilmiştir (Samone ve Robinson,1994) .

Kolona ulaşan probiyotik mikroorganizmalar farklı etki mekanizmalarıyla iş görürler. Probiyotik bakteriler yararlı etkilerini mikrofloranın kompozisyonuna ve aktivitesine katılarak ya da direk intestinal hücreleri etkileyerek gösterirler (Sanders ve ark.,2003).

Probiyotik mikroorganizmalar ortamın pH' ını düşürerek, bakteriosinler veya defensinler gibi antimikrobiyal peptidler salgılayarak patojenlerle mücadele eder. Epitel hücrelerinde defensin yapımını uyarır (Young ve Huffman, 2003).

Probiyotikler reseptörlere bağlanmada ve besinleri kullanmada patojen mikroorganizmalar ile yarışır (yarışmacı dışlama). Kullanılabilir besinler probiyotiklerce tüketilir, patojenlerin yaşaması için gerekli besin kalmaz (Petrof ve ark.,2004; Meier ve Steuerwald ,2005).

Probiyotiklerin en çok çalışılan etkisi Gastrointestinal sistem üzerine olan yararlarıdır. Akut ishal tedavisine, spastik kolon sendromu (IBS) gibi hastalıkların sendromlarının hafifletilmesine yardımcıdır (Senok ve ark.,2005). Akut ishal tedavisinde etkinliği saptanmış probiyotik suşların kronik ve tekrarlayan ishallerde kullanılabilmesi bildirilmiştir (Benchimol ve Mack, 2004). Rotavirüsler tarafından oluşturulan diyarenin süresinin probiyotik kullanımı ile kısaltılabileceği gösterilmiştir (Pant ve ark.,1996). Bebek mamalarına *B. bifidum* ve *S. thermophilus* eklendiğinde ishal sıklığının %24 azaldığı ortaya konmuştur (Harv Womens Health Watch, 2005).

Antibiyotik kullanımı sırasında probiyotik desteği verilirse antibiyotiğe bağlı ishal sıklığının % 60 oranında azaldığı bildirilmiştir (Harv Womens Health Watch, 2005). Antibiyotik ilişkili ishallerde etkinliği saptanmış mikroorganizmalar *L. acidophilus*, *L. plantarum*, *L. casei* ve *Saccharomyces boulardii*' dir. *Saccharomyces boulardii* antibiyotik ilişkili ishallerde artan *Clostridium difficile*' in toksinlerini bağlayarak etki gösterir (Hoyos,1999; Erdeve ve ark., 2005).

Probiyotiklerin ülseratif kolitte remisyonun devamlılığında, Crohn hastalığında rölapsların önlenmesinde etkili olabileceği düşünülmektedir. Bu konudaki çalışmalar kısıtlı olmakla birlikte *E. coli* ve *Saccharomyces boulardii*' nin en etkili mikroorganizmalar olduğu sonucuna varılmıştır (Jonkers ve Stockbrügger, 2003; Ghosh ve ark.,2004; Sartor, 2004; Kraus ve Mayer, 2005). Sağlıklı bireylerin dışkı süspansiyonları lavman yolu ile ülseratif kolitli hastalara verildiğinde semptomlar hafifletilebilmiş, remisyon ve bunun devamlılığı sağlanabilmiştir. Plasebo kontrollü çalışmalarda probiyotik kullananlarda rölaps sıklığının önemli oranda azaldığı saptanmıştır (Kruis ve ark.,2004; Furrie ve ark.,2005).

Laktik asit probiyotik bakterileri aynı zamanda kolonda prokarsinogenik olabilecek mutajenik ajanları azaltabilecek etkiye sahip enzimler salgırlar (Goldin ve ark., 1984). *L. bulgaricus*' un hücre duvarından elde edilen bir glukopeptidin antitümör aktivite gösterdiği belirtilmiştir (Gönç ve ark. 1990). Laktik asit bakterilerinin birçok seviyede antikanserojen etkilerinin olduğu ileri sürülmüştür (Fernandes ve ark., 1987). Hayvan çalışmalarında , et yemekle artan heterocyclic aminlerin dışkıdaki konsantrasyonunun probiyotikler tarafından azaltıldığı gösterilmiştir (Goldin ve ark., 1984) .

GİS gibi vajina da kendine özel bir floraya sahiptir. Baskın durumda olan *Lactobacillus* türleri, ortam pH'sını düşük tutarak zararlı mikroorganizmaların çoğalmalarına izin vermez. Kadınlarda yakın anatomik komşuluk nedeni ile zararlı mikroorganizmalar anüsten ürogenital sisteme kolayca ulaşabilmektedir. Ayrıca kullanılan ilaçlar (antibiyotikler, doğum kontrol hapları) vajen florasında dengeyi bozup, patojen mikroorganizmaların çoğalmasına uygun bir ortam yaratabilmektedir. Bakteriyel vajinozis gebelik ile ilgili sorunlar ve pelvik enflamatuvar hastalık gibi hastalıklara yol açma riski taşımaktadır. Kadınlarda bakteriyel vajinoziste oral veya vajinal laktobasiller uygulanmasıyla enfeksiyon riskinin azaldığına dair bulgular vardır. Probiyotik desteği ile flora dengesi kurulup vajinozis, mantar enfeksiyonları ve üriner sistem enfeksiyonları kontrol altına alınabilir (Klebanoff ve ark.,1991; Reid 2002; Reid ve ark.,2003; Reid ve Bocking,2003; Hoesl ve Altwein,2005).

Dünyada kadınlar arasında mantar enfeksiyonları yaygındır. Tahminlere göre yılda 500 milyon vaka görülmektedir. Oral veya vajinal yolla Laktobasil

uygulamalarının nükseden vajinal mantar enfeksiyonlarını kontrol altına alabileceği yolunda veriler vardır (Reid ve Bocking, 2003). Buradaki etki mekanizması probiyotiklerin besinlere ve reseptörlere hidrofobik bağlanması (Braun, 1999) ve bazı vakalarda fungustatik bir peptid olarak bakteriosin benzeri bir maddenin üretimidir (Okkers ve ark., 1999).

Üriner sisteminde kendi florası vardır ve bu floranın dengesinin bozulması üriner enfeksiyonların ortaya çıkmasına neden olur. İdrar yolları enfeksiyonlarında *Lactobacillus* türlerinin etkisi yapılan araştırmalarda gösterilmiştir. Laktik asit bakterileri ile yapılan in-vitro çalışmalarda üropatojenik *E. coli*' lerin üroepitelere bağlanmalarını ve büyümelerini inhibe ettikleri gösterilmiştir (McGroarty ve Reid,1988). Patojenlerin reseptörlere ulaşmasını engelleyecek şekilde epitelyumu kapladıklarına dair bulgular elde edilmiştir (Gönç ve ark., 1990). Özellikle H₂O₂ üretebilen mikroorganizmalar üriner sistem enfeksiyon riskini azaltmada etkindir (Reid, 2002; Reid ve Bocking, 2003; Ouwehand ve Vesterlund, 2003; Senok ve ark., 2005).

Helicobacter pylori gastrit, peptik ülser ve mide kanserinden sorumlu tutulan bir gram negatif mikroorganizmadır. *H. pylori* enfeksiyonlarına probiyotiklerin etkisi birçok araştırmaya konu olmuştur. Araştırmalardan elde edilen sonuçlar neticesinde probiyotikler mide mukozasından *H. pylori* eradikasyonunda kullanılmaya başlanmıştır. Bazı Laktobasil suşları in vitro ortamlarda *H. pylori* çoğalmasını inhibe etmektedir. Diğer probiyotik mikroorganizmalar ile böyle bir sonuç alınamamıştır. Diğer bazı çalışmalarda klasik üçlü antibiyotik tedavisinin yanı sıra probiyotik verildiğinde etki saptanamamıştır (Hamilton -Miller,2003 ; Johnson-Henry ve ark., 2004; Sullivan ve Nord,2005). Cremonini ve arkadaşları (2002) *H. pylori* eradikasyonunda etkili olmakla birlikte, probiyotiğin tipi, miktarı ve uygulanma zamanının standardize olmaması nedeniyle tedavideki yerinin tartışmalı olduğunu açıklamışlardır.

Bağırsaklar insan immun sisteminin en büyük immun organıdır, immun sistemin yaklaşık % 70' i GIS' de bulunmaktadır. Flora bakterileri bu immun sistem hücreleri ile devamlı etkileşim halindedir. Bakterisiz ortamda yetiştirilen hayvanların bağırsak lenfoid dokusunun gelişmemesi bakterilerin immun sistemde ne kadar

önemli ve gerekli olduğunu göstermektedir (Ouwehand ve ark.,2002; Vaarala,2003). Probiyotikler GİS' teki immun sistemi güçlendirdiği gibi sistemik immun yanıt üzerine de etkilidir. Tifo aşısı ile birlikte *Lactobacillus GG* verilen grupta aşuya yanıt daha iyi olmuştur. Finlandiya'da yapılan bir çalışmada ise rotavirus aşısına yanıtta benzer sonuçlar alınmıştır (Fang ve ark.,2000 ; Gill ve Guarner,2004).

Çeşitli hayvan deneyleri bazı *Lactobacillus* suşlarının kullanımı ile transplante veya kimyasal olarak oluşturulmuş tümörün yerleşmesi, büyümesi ve metastazının etkilenebileceğini düşündürmektedir (Zubillaga ve ark., 2001; Ouwehand ve Vesterlung, 2003; Penner ve ark., 2005; Senok ve ark., 2005). İnsanlarda probiyotiklerin prokarsinojenlerin aktif karsinojenler haline dönüşünü engelleyerek, mutajenik bileşikleri bağlayarak ya da inaktive ederek, antimutajenik maddeler salgılayarak, prokarsinojen bakterilerin çoğalmasını baskılayarak, mutajenlerin bağırsaklardan emilimini azaltarak ve immun sistemi güçlendirerek kolorektal kanser gelişimini önlediği bildirilmektedir (Commane ve ark., 2005). Toplumsal düzeyde yapılan epidemiyolojik çalışmalarda fermente süt ürünü tüketimi ile kolon ve meme kanseri gelişme sıklığı arasında ters bir ilişki saptanmıştır (Kampman ve ark.,1994).

Probiyotikler kullanılarak atopik dermatit, alerjik rinit ve astımda epidemik verilere göre hastalıkların görülme sıklığında düşüş görülmüştür (Isolauri, 2004). Lodinova-Zadnikova ve arkadaşları enteropatojenik olmayan *E. coli* ile alerjik hastalıkların sıklığının azaltılabileceğini bildirmişlerdir (2003).

Probiyotik laktobasiller kullanılması ile Ca, Mg, Fe gibi minerallerin emiliminin arttığına dair bulgular elde edilmiştir (Franck, 1998).

Probiyotikler ayrıca tiamin (B1), biotin, riboflavin (B2), pridoksin (B6), pantotenik asit, folik asit gibi vitaminlerin sentezinde de rol oynarlar (Yalçın ve ark., 2000).

Yapılan bir çalışmada ise 4-8 hafta süre ile fermente yoğurt tüketimi ile total kolesterol ve LDL seviyesinde düşüş sağlandığı görülmüştür (Agerholm- Larsen ve ark., 2000).

Ağız ve diş sağlığı içinde probiyotiklerin etkili olabileceğini gösteren çalışmalar yapılmıştır. Düzenli olarak probiyotik içeren besinlerin alınmasının

periodental hastalıkların önlenmesinde rolü olabileceği bildirilmiştir (Shimazaki ve ark., 2008).

Probiyotiklerin hayvancılıkta kullanılabilceğini gösteren bir çalışmada, hayvan yemlerine probiyotik eklenmesi ile hayvanların kilolarında bir artış meydana geldiği; bu durumun enfeksiyonun kontrol altına alınmasına ve yiyeceklerin daha iyi sindirilmesine bağlı olabileceği bildirilmiştir (Hargrove ve Alford,1980).

Probiyotiklerin etkilerini göstermeleri için önerilen günlük doz 10 milyar cfu (colony forming unit) dur. Fakat her hastalıkta gerekli olan doz ve kullanılacak tür değişiklik gösterebilir. Koruyucu olarak her gün probiyotiklerin tüketilmesi önerilmektedir. Ürünlerin sıcaklık, nem ve hava ile teması da mikroorganizmaların canlılığını etkilediğinden önlenmelidir (Coşkun, 2004).

Probiyotiklerle birlikte prebiyotik ve sinbiyotik terimleri de sıklıkla anılmaktadır. Prebiyotikler kolon bakterilerinin aktivitelerini artıran, enteropatojen olmayanların kolonizasyonunu kolaylaştıran, fermente olabilen, sindirilmeyen karbonhidratlardır. Vücudumuz için yararlı bakterilerin beslenmesinde gereklidir. İyi bilinen prebiyotik moleküller arasında frukto-oligosakkaritler, galakto-oligosakkaritler, inülin, oligofruktoz, ksilooligosakkaritler, asidik oligosakkaritler ve sindirime dirençli nişasta sayılabilir (Gibson ve Roberfroid, 1995; Manning ve Gibson, 2005).

Probiyotiklerin söz konusu yararlarının elde edilmesi açısından probiyotik mikroorganizmaların yanı sıra bunların gelişmesini teşvik eden prebiyotiklerin tüketilmesi önerilmektedir (Cummings ve Macfarlane, 1997).

Prebiyotikler kolona ulaştıklarında flora bakterilerinin enzimleriyle fermente edilirler. Önce, özellikle bifidobakteriler tarafından betafruktofuranozidaz enzimi ile hidrolize edilirler. Fermantasyon sonrası kısa zincirli yağ asitleri ortaya çıkar. Bu kısa zincirli yağ asitleri (asetat, bütirat ve propiyonat) bağırsak bütünlüğünün korunması, bağırsak ilişkili immun sistemin düzenlenmesi, bağırsaklardan kalsiyum ve magnezyum emilimi ve normal serum kolesterol seviyesinin temini için gereklidir (Gibson ve Roberfroid, 1995; Tokunaga, 2004; McCarty ve Rastall, 2003).

Prebiyotiklerin taşınması gerekli özellikler (Manning ve Gibson 2004):

- Sindirime dirençli olmaları
- Kolon mikroflora bakterileri tarafından hidrolize edilebilmeleri
- Bir veya daha fazla yararlı bakterinin çoğalmasını stimüle etmeleri
- Genel olarak konakçının sağlığına olumlu etkileri olmalı

Bir prebiyotik olan oligosakkaritler hücre yüzey reseptör analogu gibi hareket eder, patojen mikroorganizmaları kendisine bağlayarak dışkı ile atılmasını sağlar (ESPGHAN Committee on Nutrition, 2004).

Anne sütü önemli bir prebiyotik kaynağıdır. Anne sütündeki oligosakkaritler çözünür bir reseptör gibi hareket edip yeni doğanı kolera ve üriner sistem enfeksiyonlarından korumaktadır (Akman ve Yağcı, 2002).

Çocuklar için günlük alınması gereken prebiyotik miktarı 5 gr olarak bildirilmiştir (ESPGHAN Committee on Nutrition, 2004).

Sinbiyotikler ise probiyotik ve prebiyotikleri birlikte bulunduran ürünlerdir. Probiyotiklerle enerji kaynağı olarak kullanabilecekleri prebiyotikler birlikte verildiğinde uzun süre canlı kalacakları varsayılmaktadır (Rastall ve Maitin, 2002) .

Probiyotiklerin alınabileceği en önemli besinsel kaynağı fermente süt ürünleri oluşturur. Dünyada *Bifidobacteria* türleri ve *Lactobacillus acidophilus* ile üretilen 90' dan fazla gıda maddesi olduğu, bunun 50' den fazlasının süt ürünü olduğu ve önemli bir kısmının Japonya'da pazarlandığı bilinmektedir (Dave ve Shah, 1997).

Yoğurt en yaygın kullanılan probiyotik üründür. Ülkemizde tüketim kişi başına 24 kg/yıl ile dünyada birinci sıradadır. Yoğurt, simbiyoz olarak yaşayan süt asidi bakterileri (laktik asit bakterileri) ile aşılınmış süttten meydana getirilen ekşi bir süt ürünüdür. Yoğurt kıvamlı ve beyaz renkli bir maddedir. Gıda maddeleri tüzüğünde yoğurt şöyle tanımlanmaktadır: “ Yoğurt, en az 90°C’ de ısıtılıp mayalanma derecesine kadar soğutulmuş süttün, yoğurt mayası katılarak laktik asit mayalanmasına tabii tutulmasıyla elde edilen özel kıvamdaki süt ürünüdür” (Anonymous^{a,b}).

Yoğurdun ilk defa nasıl yapıldığına dair yeterli miktarda bilgi mevcut olmamakla birlikte Kaşgârlı Mahmut tarafından 10. yüzyılda yazılan Divanı Lügati-t

Türk ve Balas Gumlu Yusuf Has Hacıp tarafından yazılan Kutadgu Bilig adlı eserlerinde yoğurt kelimesine rastlanmaktadır. Yoğurdun Avrupa'da yayılışıyla ilgili ilk bilgiye Fransız tıp tarihinde rastlanmaktadır. 16. yüzyılda Fransa krallarından 1. Fransuva ateşli ishal hastalığına yakalanmıştır. Hiçbir doktorun tedavi edemediği kralı Osmanlı İmparatorluğu'ndan gelen bir doktor yoğurt ile tedavi etmeyi başarmıştır. Bu olaydan sonra yoğurt daha geniş bir coğrafyada tanınmıştır. Günümüzde birçok millet yoğurdun ilk kez kendileri tarafından üretildiğini ileri sürmekte, bu besini sahiplenmektedir. Başlangıçta yoğurdun hangi millet ya da kavim tarafından bulunduğu dair somut bir bilgi olmamakla birlikte, yoğurt öz Türkçe bir kelimedir. Bu nedenle Orta Asya Türkleri tarafından bulunduğu kabul edilmektedir (Anonymous^a).

Yoğurt starter kültürü *Lactobacillus bulgaricus* ve *Streptococcus thermophilus* içerir. Bu iki probiyotik bakteri birbirleri ile sinerjistik ilişki içindedirler. *Streptococcus thermophilus* fermentasyonun başlangıcında *Lactobacillus bulgaricus*' tan daha hızlı gelişir. *Lactobacillus bulgaricus* ise proteolitik aktiviteye sahip olması sebebiyle süt proteininden valin, histidin ve glisin gibi aminoasitleri ortaya çıkarır. Bu ürünler *S. thermophilus* tarafından kullanılır. Yoğurtta kullanılan starter kültürler tarafından üretilen en önemli aroma maddesi asetaldehittir. Karakteristik tat ve aromaya sahip yoğurtta 23-41 mg/kg düzeyinde asetaldehit bulunmaktadır. Bunun yanı sıra yoğurdun tipik tat ve aromasını etkileyen ve az miktarda üretilen maddeler: disaldehit, asetoin, asetik asit, formik asit, kaproik asit, kaprilik asit, butirik, propiyonik ve izovalerik asittir. Yoğurtta fermentasyon sonrasında ölçülen pH 3,8-4,2 olmaktadır. Fermentasyon periyodunu tamamlamış taze bir yoğurt yaklaşık 10^9 mikroorganizma içermektedir. Depolama sırasında bu sayı azalmaktadır (Dave ve Shah,1997; Ünlütürk ve Turantaş, 2003; Fenderya ve Akalın,2003; Türkoğlu ve ark. ,2003).

Çalışmamızda geleneksel ev yapımı yoğurt ve hazır ticari yoğurt kullanılacaktır. Yoğurt starter kültürünü oluşturan iki probiyotik bakterinin (*Lactobacillus bulgaricus* ve *Streptococcus thermophilus*) taksonomideki yeri genel özellikleri Ballows ve ark. (1991) tarafından 'The Prokaryotes' kitabında şöyle tanımlanmıştır:

- *Lactobacillus bulgaricus* (*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*)

Alem: Bacteria

Şube: Firmicutes

Sınıf: Bacilli

Takım: Lactobacillales

Familiya: Lactobacillaceae

Cins: *Lactobacillus*

Tür: *L. delbrueckii*

Alt tür: *L. d. bulgaricus*

Lactobacillus bulgaricus ilk olarak 1905 yılında Bulgar Dr. Stamen Grigorov tarafından tanımlandığı için bulgaricus ismini almıştır. Morfolojik olarak uzun ve filamentli görünen Gram (+) bir basildir. Hareketsizdir ve spor oluşturmaz. Kompleks besin gereksinimleri vardır, laktoz dışındaki şekerleri fermente edemez. Düşük pH'larda (5,4- 4,6) yaşadığından asidofilik bakteri olarak adlandırılır. Sütü fermente ederek oluşturduğu asetaldehit, yoğurdun kendine has kokusunu oluşturur.

- *Streptococcus thermophilus* (*S. salivarius* subsp. *thermophilus*)

Alem: Bacteria

Şube: Firmicutes

Sınıf: Cocci

Takım: Lactobacillales

Familiya: Lactobacillaceae

Cins: *Streptococcus*

Tür: *S. salivarius*

Alt tür: *S. salivarius* subsp. *thermophilus*

Streptococcus thermophilus Gram (+) fakültatif anaerob bir bakteridir. Sitokrom, oksidaz ve katalazdan yoksundur, hareketsizdir, spor oluşturmaz ve homofermentatiftir. *Streptococcus thermophilus* alfa-hemolitik bir türdür aynı zamanda laktik asit bakterisi olarakta sınıflandırılır. Aslında midede canlılığını koruyamadığı için probiyotik sayılmaz.

Çalışmamızda kullanacağımız bir diğer materyal ise bir firmaya ait ticari probiyotik katkılı hazır yoğurttur. Bu yoğurt biogard olarak adlandırılan yoğurt kültürü içermektedir. *Lactobacillus bulgaricus* ve *Streptococcus thermophilus* ile birlikte *Bifidobacterium animalis* kültürü eklenerek hazırlanmıştır (Anonymous^c). *Bifidobacterium animalis* türünün genel özellikleri Masco ve ark. (2004) tarafından şöyle tanımlanmıştır:

- *Bifidobacterium animalis*

Alem: Bacteria

Şube: Firmicutes

Sınıf: Actinobacteria

Takım: Bifidobacteriales

Familiya: Bifidobacteriaceae

Cins: *Bifidobacterium*

Bifidobacterium animalis Gram (+) , anaerobik, basil şeklinde bir bakteridir. Memelilerin kalın bağırsaklarında bulunur. *Bifidobacterium animalis* iki adet alt türe sahiptir *Bifidobacterium animalis* subsp *animalis* ve *Bifidobacterium animalis* subsp *lactis*. Kullandığımız üründe *Bifidobacterium animalis* DN 173 010 kültürü kullanılmaktadır.

Çalışmada kullanılacak bir diğer fermente süt ürünü; aslında kullanımı yüzyıllara dayanan fakat ülkemizde tüketim sıklığı yoğurdun gerisinde kalan önemli bir probiyotik kaynağı kefiridir. Kefir Kuzey Kafkasya orijinli; inek, koyun ve keçi sütünden yapılan fermente süt içeceğidir. Probiyotik bir ürün olarak hem probiyotik bakterileri hem de mayaları içermesi açısından güzel bir örnektir. Kefiri diğer fermente süt ürünlerinden ayıran en önemli özelliği laktik asit fermentasyonu ile birlikte alkolik fermentasyonunda görülmesidir. Kefir starter kültürü kullanılan bölgeye, ticari ve geleneksel oluşuna göre değişiklik göstermektedir. Ticari ürünlerde genellikle, *Lactococcus lactis* ve *Lactococcus cremoris* ve laktozu fermente eden mayalar karışık kültür olarak kullanılmaktadır (Yaygın,1984; Koroleva 1988-1; Ünlütürk ve Turantaş, 2003).

Koroleva (1988-2) , kefir tanesindeki mikroorganizmaları şöyle bildirmiştir:

- *Streptococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Streptococcus durans*
- *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lactobacillus kefir*, *Lactobacillus casei*
- *Leuconostoc masenteroides* subsp. *dextranicum*
- *Acetobacter aceti*, *Acetobacter ranens*
- *Kluyveromyces marxianus* subsp. *marxianus*, *Torulaspota delbrueckii*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida kefir*

Kefir taneleri karnabahar görünümünde fakat lastik kıvamındadır. Kefir tanelerinin dışında kefiran denilen yapışkan bir zar vardır. Yararlı bakteriler ve mayalar kendi yaptıkları bu zarın içinde yaşarlar. Kefirin rengi süt gibidir. Başka bir renk muhtemelen bulaşmayı gösterir (Anonim^d).

Koliform bakteriler doğal olarak kefir mikroflorası tarafından inhibe edilirler. *Shigella*, *Salmonella*, *Helicobacter*, *Staphylococcus* ve *E. coli* gibi patojen mikroorganizmalar kefir saf kültürü ile birlikte üreyemezler (Arihara ve ark., 1990).

Kefirde oluşan süt asidinin %90'dan fazlasının L(+) süt asidini olduğu bildirilmiştir. L(+) süt asidinin kolayca hazmedebilme özeliği bulunmaktadır. Kefir belirli miktarlarda formik, sucrinik ve propiyonik asit, CO₂, etil alkol, propiyonik ve asetik aldehit, az miktarda isoamil alkol ve aseton içerir (Libudzsiz ve Piatkiewicz, 1990).

Klupsch (1984), düzenli olarak günde en az 500 ml 6 ay tüketildiği zaman kefirin organizma üzerine stabilize edici, gençleştirici bir etkiye sahip olduğunu; yaşlıların sağlığı üzerine çok yararlı etki yaptığını bildirmiştir. Aynı araştırmacı kefirin ayrıca karaciğer, safra, böbrek, kan dolaşımı, metabolizma, beyinde kan dolaşımı üzerine olumlu etki yaptığı, kireçlenmeyi önlediğini belirten bilgilerin bulunduğunu açıklamıştır. Birçok çalışmada kefirle tedavi edilen hastalıklar ve tedavi süresi ile ilgili bazı bilgiler bulunmakla birlikte bu konularda yapılmış bilimsel araştırma sonuçlarının yetersiz olduğu görülmektedir.

Gıda kaynaklı patojenler, her yıl dünyada milyonlarca insanı etkileyen gıda kaynaklı enfeksiyonlara sebep olan mikroorganizmalardır. Gıdalar tüketilmeden önce yetiştirme, hazırlanma ve saklanma koşullarına bağlı olarak çeşitli

mikroorganizmalar taşırlar. Besinler, enterik ateş, brusella ve kolera gibi birçok sistemik ve Gastrointestinal sistem (GİS) enfeksiyonlarının oluşumunda temel bulaşma yolunu oluştururlar. Gıdaların taşıyabileceği kimyasal veya toksik maddelerde gıda zehirlenmelerine yol açabilir. Bakteriler, tüm gıda kaynaklı hastalıkların %60-90'ından sorumludur. Gıda kaynaklı patojenlerin sağlığa verdikleri zarar, oluşturdukları toksinlerle ya da bizzat kendisi hastalık etmeni olarak gerçekleşir. Gıda kaynaklı hastalıklar ülkeden ülkeye, yöreden yöreye büyük değişiklikler göstermekle birlikte, özellikle yaz aylarında enfeksiyon hastalıkları polikliniklerine başvuran hastaların büyük bir miktarını oluşturan, çoğu zaman önemsenmeyen ve bu nedenle de bildirilmediği için toplumdaki gerçek insidansı bilinmeyen hastalıklardır. Ortalama olarak Türkiye'de insanların yılda üç kez gıda kaynaklı mikrobiyolojik zehirlenmeye maruz kaldıkları ve bunun sonucunda basit ishalden bir hafta işe gelemeyecek kadar ağır ishal, kusma ve ateş ile karşılaştıkları kabul edilmektedir (Anonim^{b,e}).

Gıdaların hazırlanmasında kullanılan yararlı mikroorganizmalar ve makul miktarları insan sağlığına zarar vermeyecek mikroorganizmalar gıda patojeni olarak kabul edilmez. Gıdada bulunan mikroorganizmaların patojen olarak nitelenebilmesi için taşınması gereken iki koşul vardır (Ünlütürk ve Turantaş, 2003);

- Gıda, açıkça bozuk olarak nitelendirilemeyecek kadar az sayıda bakteri bulunduğu hastalık yapabilme özelliğinde olmalıdır.
- Gıda mikrobiyolojisi doğrudan gıdaların işlenmesi ile ilgili olduğundan gıdanın sadece taşıyıcı olduğu insan patojenleri (tifo, paratifo, şarbon, tüberküloz vs.) bu gruba girmez.

Gıda enfeksiyonlarına neden olan bakterilerden bazıları; *Staphylococcus*, *Salmonella*, *Streptococcus*, *Clostridium* ve *Bacillus cereus*' tur. *Staphylococcus* genusuna ait olan bakteriler insan ve hayvanların nasofarenks (burun-yutak) bölümünden ve diğer vücut kısımlarından özellikle sağlıklı bireylerin saç ve derisinden bulaşmaktadır. *Salmonella* sp. ise insan ve hayvanların bağırsak sisteminden ve dışkı ile bulaşmış diğer malzemelerden bulaşmaktadır. *Clostridium* ve *Bacillus cereus* topraktan bulaşmaktadır. *Streptococcus* türleri ise insan ve hayvan kökenli olmakla birlikte bitkilerden de bulaşmaktadır. Sözü edilen bu

mikroorganizmaların büyük bölümü besin kaynağı olarak yetiştirdiğimiz hayvanlarda bulunur. Bünyesinde patojen bulunan bir besi hayvanı kesildiğinde midesindeki maddeler ya da dışkısı işleme sırasında eti kirletebilir. Hayvan dışkısı ya da kanalizasyon yoluyla bulaşı olmuş sularla yıkanan ya da bu sularla sulanan meyve ve sebzelere patojenler bulaşabilir. Gıda zehirlenmesine sebep olan gıda kontaminasyonunun önemli bir kaynağı da gıdayı işleyen kişilerdir. Tek bir bakteri bile uygun ortam bulduğunda bir gün içinde milyarlarca bakteri kolonisi üretebilecek hızda bölündüğü için yalnızca az bulaşık bir besin bile yüksek oranda bulaşıcı olabilir. Mikroorganizmalar, bulaşık süngerlerinde, mutfak havlularında, kesme tahtalarında, lavabolarda, bıçaklarda ve tezgahlarda gizlenip çoğalabilir ve kolayca insanın ellerine ya da besinlere geçebilirler (Anonymous^{d,e}).

Yaygın gıda kaynaklı patojenler (Fry ve ark.,2005):

- *Bacillus cereus*
- *Campylobacter jejuni*
- *Citrobacter* sp.
- *Clostridium botulinum*
- *Clostridium perfringens*
- *Enterobacter* sp.
- *Enterococcus* sp.
- *Escherichia coli*
- *Klebsiella* sp.
- *Listeria monocytogenes*
- *Plesiomonas shigelloides*
- *Pseudomonas* sp.
- *Salmonella* sp.
- *Shigella* sp.
- *Staphylococcus aureus*
- *Streptococcus* sp.
- *Vibrio cholerae*
- *Yersinia enterocolitica*

Çalışmamızda en yaygın gıda kaynaklı patojenlerden olan *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *Staphylococcus aureus* ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 kullanılacaktır. Bu bakterilerin tür bazında genel özellikleri ve gıda kaynaklı patojen olma durumları (Evans ve Brachman, 1998; Ünlütürk ve Turantaş, 2003):

- *Salmonella typhimurium*

Bölüm: Proteobacteria

Sınıf: Gamma Proteobacteria

Takım: Enterobacteriales

Familya: Enterobacteriaceae

Cins: *Salmonella*

Salmonella çubuk şeklindeki, hareketli (hareketsiz olan *S. gallinarum* and *S. pullorum* hariç), spor oluşturamayan ve Gram (-), fakültatif anaerobik, fermentatif, oksidaz negatif, katalaz pozitif üreaz negatif bir tür bakteridir. *Salmonella* doğal olarak insan ve hayvan bağırsağında ve kanalizasyonda bulunur. Bütün türleri insan için patojendir. Yaygın olarak hayvanlarda özellikle kümes hayvanlarında ve domuzda görülür. Bu organizmanın kaynakları arasında su, toprak, böcekler, fabrika yüzeyleri, mutfak yüzeyleri, hayvan dışkıları, çiğ et, ve çiğ deniz mahsulleri sayılabilir. En bilinen kaynağı ise iyi pişmemiş yumurtadır.

Salmonella sp. taşıyan besin alındıktan 6 – 48 saat sonra hastalık belirtileri görülmeye başlar. Hastalık yapıcı doz 15-20 hücre kadar az sayıdadır. Hastalığın ortaya çıkışı bulaştığı kişinin yaşına ve sağlık durumuna bağlıdır ve suş'un bağlı olduğu cinsler arasında farklılık gösterir. Akut semptomları; mide bulantısı, kusma, karın bölgesinde kramplar, ishal, ateş, ve baş ağrısıdır. Akut semptomlarının görülmesinden sonra eklemlerle ilgili semptomlar 3-4 hafta sürebilir.

S. typhimurium ısıya duyarlıdır ve iyi bir ısıtma (70 °C'nin üzerinde) ile öldürülebilir. Çiğ veya tam olarak pişirilmemiş gıdalar ve çapraz kontaminasyon, pişirilmiş gıdaların pişmemiş olanlarla veya kontamine olmuş maddelerle (kesme tahtası vs) temasta olması bulaşmanın başlıca nedenleridir. İyi bir pişirme ve gıdaların hijyenik bir şekilde muhafaza edilmesi daha fazla *Salmonella* bulaşmasını engeller.

- *Staphylococcus aureus*

Alem: Bacteria

Şube: Eubacteria

Sınıf: Bacilli

Takım: Bacillales

Familya: Staphylococcaceae

Cins: *Staphylococcus*

Staphylococcus mikroskopik olarak incelendiğinde çift, kısa zincirli ve üzüm gibi salkım halinde olduğu gözlenen, kok şeklinde, sporsuz, hareketsiz, Gram (+), fermentatif, genellikle katalaz pozitif ve oksidaz negatif bir bakteridir. Oksijenli veya tamamen oksijensiz ortamda bile üreyebilirler. Optimal olarak 37 °C de, pH 7,4' te gelişirler. Bazı suşları insanlarda hastalığa neden olan yüksek ısıya dayanıklı protein toksinleri üretme eğilimindedir. *S. aureus* insan ve hayvanların deri ve burun mukozasında doğal olarak bulunur. *S. aureus* sarı pigment oluşturur ve koagülaz pozitifdir.

S. aureus suşlarının %30'nun enterotoksin ürettiği bildirilmiştir. *Staphylococcus* kaynaklı gıda zehirlenmesinin başlangıç belirtileri bireyin toksine olan duyarlılığına, tüketilen kontamine gıda miktarına, gıda içinde alınan toksin miktarına ve genel anlamda hastanın sağlığına bağlı olarak hızlı ve ani gelişir. En çok görülen belirtiler; mide bulantısı kusma, karın ağrısıdır. Zehirlenmenin daha şiddetli olduğu durumlarda, bireyde baş ağrısı, kas krampları, kan basıncı değişiklikleri ve çarpıntı gözlemlenebilir. Genellikle, hastanın iyileşme süreci iki gündür fakat şiddetli durumlarda bu sürecin üç gün olması hatta bazen daha fazla devam etmesi beklenebilir. *Staphylococcus* kaynaklı gıda zehirlenmesinde rol alan gıdalar et ve et ürünleri, kümes hayvanları ve ürünleri, salatalar, fırın ürünleri (kremalı pastalar ve tartlar, çikolata), süt ve günlük ürünlerdir. Hazırlanma aşamasında dikkatli bir işleme tarzı gerektiren ve bu aşamadan sonra azar azar yükselen sıcaklıklarda tutulan gıdalar, *Staphylococcus* kaynaklı gıda zehirlenmesi riski altındadır.

İnsanlarda *S. aureus* kaynaklı zehirlenmenin sebebi, gıdaların yeterli sıcaklık ve soğuklukta korunmamasından dolayı, gıdada oluşan enterotoksinlerin (*S. aureus* bazı suşlar tarafından) vücuda alınmasıdır.

Uygun bir şekilde stoklanmış, ısıtılmış ve pişirilmiş gıdalar genellikle güvendedir. Gıdaların uygun olmayan bir şekilde işlenmesi ve depolanması bakterilerin çoğalmasına sebebiyet verir. Az oranda pişirme toksini yok etmeye yeterli değildir.

- *Escherichia coli*

Alem: Eubacteria

Şube: Proteobacteria

Sınıf: Gamma Proteobacteria

Takım: Enterobacteriales

Familya: Enterobacteriaceae

Cins: *Escherichia*

Escherichia, *Enterobacteriaceae* familyasına ait, Gram (-), çubuk şeklinde, fakültatif anaerobik, fermentatif, oksidaz negatif, hareketsiz veya hareketli (peritrik flagella) bir bakteridir. *E. coli* suşlarının büyük çoğunluğu laktozu fermente ederek 1/1 oranında CO₂ ve H₂ gazı üretirler.

E. coli insan ve hayvan bağırsaklarında doğal olarak bulunmaktadır. Aerobik ekim metodu kullanıldığında, dışkıda bulunan baskın tür *E. coli*' dir. Normal olarak *E. coli* zararlı bakteri türlerinin gelişmesini engelleyerek ve kayda değer vitamin sentezlenmesini sağlayarak, vücutta yararlı bir fonksiyona sahiptir. *E. coli*' nin bazı suşları çeşitli mekanizmalarla insanlarda hastalığa neden olmaktadır. Bunların arasında enteroinvasive (EIEC) suşları vardır.

Enteroinvasive *E. coli* (EIEC), dizanteri olarak bilinen hastalığa neden olmaktadır.

EIEC'in tüketilmesinin takibinde, organizmalar bağırsak epitel hücrelerine akın eder ve dizanterinin yumuşak bir formu olan hastalıkla sonuçlanır. Sıklıkla da

Shigella türleri tarafından neden olan dizanteri ile karıştırılır. Hastalık, enfekte bireylerin dışkılarında kan ve sümük gözlenmesi ile tanımlanmaktadır.

EIEC'in enfektif dozu 10 organizma kadar az bir değerdir (*Shigella* ile aynı sayıda).

Şuan hangi gıdaların EIEC barındırdığı bilinmemektedir, fakat hasta bireyin dışkısı ile direkt veya kontamine olmuş su ile kontamine olmuş herhangi bir gıda diğer insanlarda hastalığa sebep olabilmektedir.

E. coli, ısıya duyarlıdır ve 70 °C' nin üstünde ısıtma ile yok edilebilir. Çiğ veya az pişmiş gıdalar, çapraz-bulaşma (pişmiş gıdanın hammadde ile veya kontamine olmuş aletle temasa geçmesi) enfeksiyonun başlıca nedenleridir. Uygun pişirme ve gıdanın hijyenik işlenmesi enterobakteriyel enfeksiyonları yüksek oranda engelleyecektir.

- *Pseudomonas aeruginosa*

Alem: Bacteria

Şube: Proteobacteria

Sınıf: Gamma Proteobacteria

Takım: Pseudomonadales

Familiya: Pseudomonadaceae

Cins: *Pseudomonas*

Pseudomonas, Gram(-) ,aerobik, çubuk şeklinde, katalaz pozitif, genellikle hareketli bakterilerdir. *Pseudomonas* türleri toprak, su ve bitkilerde yaygın olarak bulunur. *P. aeruginosa* genellikle saprofit olmakla birlikte fırsatçı bir patojendir ve özellikle orta kulak, üriner sistem enfeksiyonları gibi tedavisi zor hastane enfeksiyonlarına neden olur. Ekseriye tek hücreler halinde görünürler, fakat bazen üreme esnasında birkaç hücre bitişik kalarak kısa zincirler teşkil ettikleri görülür. Genç kültürler, üzerinde büyüdüğü ortamlarda genellikle mavi-yeşil bir pigment çıkarır. Kültür yaşlandıkça bu renkler kahverengine döner. Proteolitik ve lipolitik aktivite göstermektedirler. Aerobik olmaları nedeni ile gıdaların yüzeyinde hızlı gelişebilmeleri sonucu okside ürünler ve mukoz madde oluştururlar. Kendi gelişmeleri için gerekli gelişme faktörleri ve vitaminleri sentezleme yeteneğindedirler.

P. aeruginosa piyosiyenin (mavi-yeşil), piyorubin (kırmızı-kahverengi) ve flöressein (yeşil-sarı ve flöresan) gibi pigmentler üretir. Flöresseini tüm *Pseudomonas* türleri oluşturabilirken; piyosiyenini sadece *P. aeruginosa* oluşturabilir. Pigment üretimlerini arttırmak için *Pseudomonas* agar P-F gibi özel besiyerleri geliştirilmiştir. Hemoglobini tam olarak hemoliz ettiğinden kanlı agar besiyerindeki kolonilerin etrafında temiz ve berrak zon oluşturur. *P. aeruginosa* in-vitro koşullarda, inci beyazı koloni görüntüsü ve üzüksü kokusuyla tanınır. Organizmanın kesin tanısı 42 °C de üreme yetisinin ve pigment üretiminin incelenmesiyle konur. Kurumaya dirençlilikleri zayıftır. *P. aeruginosa* motorin ve karosen içinde büyüyebilir. Süt içindedeki iyi ürer, sütün pıhtılaşmasında ve çıkardığı pigmentten dolayı yeşil renk almasına neden olur.

Pseudomonas türleri ısıya dirençli değildir ve ısısal işlem görmüş gıdalarda bulunmaları ısısal işlemden sonra olmuş bir bulaşmayı gösterir.

Her yıl dünyada milyonlarca insanı hastalandıran gıda kaynaklı patojenler toplum sağlığı için önemli bir tehdit oluşturmaktadır. Kimyasal ajanlar kullanılarak bu hastalıkların tedavi edilmesi bazı yan etkilere sebep olmaktadır. Özellikle geniş spektrumlu antibiyotiklerin kullanılması insanın sahip olduğu doğal mikrofloraya zarar vererek istenmeyen etkiler göstermektedir. Bu durum bilim insanlarını daha doğal ve güvenilir tedavi yöntemleri bulmaya zorlamıştır. İnsan sağlığında kimyasal veya sentetik ajanlar kullanmak artık tek yol olarak görülmemektedir. İyileştirici ve koruyucu tedavilerde bilinen hiç yan etkisi olmayan doğal ajanların kullanılması yönündeki çalışmalar devam etmektedir. Biyolojik sistemleri destekleyerek iş gören probiyotik bakterilerin bu alanda kullanılabilmesi düşünülmektedir. Gıda kaynaklı patojenlere karşı probiyotiklerin koruyucu, destekleyici veya tedavi edici olarak kullanılması ucuz ve güvenilir bir yol olacağı öngörülmektedir. Aynı zamanda probiyotiklerin H₂O₂, antibiyotik, laktik asit gibi metabolizma ürünlerinin gıda sektöründe gıda koruyucu olarak kullanılabilmesi düşünülmektedir. Çalışmamızda insan beslenmesinde yüzyıllardır kullanılan probiyotik kaynakları olan geleneksel yoğurt, kefir ve probiyotik katkılı hazır yoğurtların içerdiği probiyotik bakterilerin in-vitro ortamda yaygın bazı gıda kaynaklı patojenlere etkisi incelenmiştir. Elde edilen sonuçların gıda kaynaklı hastalıklarda biyolojik ajan olarak probiyotiklerin kullanılabilirliği yönünde önemli bir veri olacağı düşünülmektedir.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Elie Metchnikoff (1845-1916), Bulgar köylülerinin uzun yaşamasını fazlaca fermente süt ürünü tüketmelerine bağlamıştır.

Robinson ve Thompson (1952), patojenlere karşı tedavide farklı doğal yöntemler kullanılması konusunda ilk çalışmaları yapmıştır.

Gürsel ve Fişek (1953), yoğurdun antimikrobiyal etkisini araştırdıkları çalışmalarında yoğurt suyu içinde *Tuberculosis typus humanis* ve *typus bovinusun* ölmediğini, patojen *E. coli*'nin ise bir süre sonra gelişimlerinin durduğunu tespit etmişlerdir.

Haenel ve ark. (1956), Haenel (1963) ve Lembcke (1963), yoğurdun antimikrobiyal etkisinin yoğurt bakterilerinden değil yoğurta fermentasyon sonrası oluşan metabolizma ürünlerinden kaynaklandığını ileri sürmüşlerdir.

Todorov (1962), Danon ve ark.(1963), Mel'nikova ve Koroleva (1975), Pullusani ve ark. (1979), Spilman ve ark. (1978), laktik asit bakterilerinin oluşturduğu antimikrobiyal etkinin *Salmonella*, *Koliform*, *Staphylococcus* ve *Pseudomonas* genuslarına ait türlerin gelişmesini ve aktivitelerini sınırladığını veya durdurduğunu bildirmişlerdir.

Gross ve Morell (1967), laktik asit bakterilerinin yoğurt içinde sentezledikleri nisinin 3500 moleküler ağırlığa sahip bir peptid olduğunu saptamışlardır.

Jarvis ve ark. (1968), nisinin 7000 molekül ağırlıklı bir dimer olduğunu tespit etmiştir.

Blanc (1973) ve Wasserfall (1973), yoğurdun fermentasyonu sırasında oluşan antibiyotik ve antikarsinogenik bileşenlerin mide kanseri tedavisinde etkili olduğunu ileri sürmüşlerdir.

Tagg ve ark. (1976), laktik asit bakterilerinin antimikrobiyal aktivitesinde önemli bir etkisi olan bakteriyosinlerin, bakterisidal etkili peptit ve proteinler olduğunu belirtmişlerdir.

Gilland ve Speck (1977), *L. acidophilus* bakterilerinin enterekolit gibi kalınbağırsakta patojenlerin neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Accolas (1979), laktik asit bakterilerinin özelliklerini belirtmiş ve taksonomik gruplamasını yapmıştır.

Ferreira (1979), antibiyotik kullanımı sırasında fermente süt ürünlerinin özellikle yoğurdun fazla miktarda tüketilmesiyle, antibiyotiklerin intestinal mikrofloraya yaptığı olumsuz etkinin azaltılabileceği veya önlenebileceğini bildirmiştir.

Hargrove ve Alford (1978) , hayvan beslenmesine probiyotikleri ekleyerek hayvanların kilolarında artış görmüşler, bu durumu enfeksiyonların kontrolüne ve sindirimin daha iyi olmasına bağlamışlardır.

Shahani ve Chandan (1979), belirli *Lactobacillus* türlerinin antibiyotik benzeri bileşik üretmelerinden dolayı, patojen mikroorganizmaların gelişimini önlediğini, bu bileşiklerin özellikle incebağırsaktaki Gram(-) bakterilere karşı etkili olduğu ve mide rahatsızlıklarına karşı koruyucu tedavi edici olduğunu saptamışlardır.

Hurst (1981), probiyotiklerin ürettiği nisinin asidik solüsyonlarda çözünebilen bir peptit olduğunu saptamıştır.

Shahani ve ark. (1983), laktik asitin antitümör aktivite gösterdiğini ileri sürmüşlerdir.

Reddy ve ark.(1984), *L. bulgaricus* suşunun *S. aureus* patojen bakterisine 9-12 mm'lik, *E. coli*' de ise 5-8 mm'lik inhibisyon zonu meydana getirdiğini bildirmişlerdir.

Abdel Bar ve Abdel (1985), *L. bulgaricus*' un *S. aureus*' da 29.5 mm'lik, *Pseudomonas fragi* patojen bakterisinde ise 34.67 mm'lik inhibisyon zonu oluşturduğunu bildirmişlerdir.

Asperger (1986), laktik asit bakterileri dışındaki bakterilerin çok azının düşük pH değerlerinde gelişebildiğini belirtmiş ve bazı bakteriler için minimum pH limit değerlerini açıklamıştır.

Fuller (1986), probiyotikleri konukçu canlıının bağırsak hijyenini ve sindirimini düzenleme gibi yararlı etkileri olan ve gıda katkısı olarak kullanılabilen canlı preparatı olarak tanımlamıştır.

Kılıç (1986), yoğurt fermentasyonu sırasında laktik asit üretilmesiyle yoğurdun antimikrobiyal etkisi arasında bir ilişki olduğunu saptamıştır.

Condon (1987), laktik asit bakterilerinin ürettiği hidrojenperoksitin (H_2O_2) diğer etkili antimikrobiyal maddelerin üretilmesine öncü madde olabileceğini bildirmiştir.

Fernandes ve ark. (1987), laktik asit bakterilerinin oluşturduğu antimikrobiyallerin pek çok seviyede antikanserojen etkilerinin olabileceğini belirtmiştir.

Reid ve ark. (1987), Laktobasillerin in-vitro ortamda üropatojenik *E. coli* nin üroepitelyal hücrelere bağlanmalarını inhibe ettiklerini ileri sürmüşlerdir.

McGroarty ve Reid (1988), laktobasillerin in-vitro ortamda üropatojenik *E. coli* nin büyümesini inhibe ettiğini belirtmişlerdir.

Earnshaw ve ark. (1989), laktoperoksidaz sisteminin çiğ süt ve beyaz peynirin raf ömrünü uzatmada kullanılabileceğini saptamışlardır.

Hertelius ve ark. (1989), hayvan deneylerinde idrar yolları enfeksiyonlarına karşı *Lactobacillus* türlerinin kullanılmasının etkili olduğunu bildirmişlerdir.

Gönç ve ark. (1990), idrar yollarında epitelyumu kaplayan laktik asit bakterilerinin bariyer oluşturarak, patojen bakterilerin reseptörlere bağlanmasını engellediğine dair kanıtlar bulunduğunu ve *L. bulgaricus*' un hücre duvarlarından elde ettikleri bir glukopeptidin antitümör aktivite gösterdiğini ileri sürmüşlerdir.

Kotz ve ark. (1990), yoğurdun üç farklı *E. coli* suşu üzerine bakterisidal etki yaptığını saptamışlar. Bu etkinin yoğurt bakterilerinin canlı olması ve pH'nın yaklaşık 4.5 civarında olması gibi koşullara bağlı olduğunu bildirmişlerdir. Aynı çalışmada ısıtılmış veya filtreden geçirilmiş yani canlı probiyotik bakteri taşımayan örneklerin *E. coli* üzerinde yalnızca bakteriyostatik etkide bulunduğunu bildirmişlerdir.

Klebanoff ve ark. (1991) ile Sieber ve Dietz (1998), kadınlarda bakteri kaynaklı vajina enfeksiyonlarında laktobasillerin oral veya vajinal kullanılmasıyla, enfeksiyonun azaldığına dair kanıtlar ileri sürmüşlerdir.

Raz ve Stam (1993), insanlarda laktik asit bakterilerinin idrar yollarında bariyer oluşturarak patojenlere karşı bariyer oluşturduğunu, böylece enfeksiyon riskini azalttığını belirtmişlerdir.

Gournier-Chateau (1994), probiyotik kullanarak intestinal mikroflora stabilitesi sağlandığını, uygun şekilde yönlendirilebildiğini, antibiyotiklerin zararlı etkilerinin ortadan kalktığını bildirmişlerdir.

Kampman ve ark. (1994), Hollanda' da toplumsal boyutta yaptıkları epidemiyolojik çalışmalar sonucunda, fermente süt ürünü tüketimi ile kolon ve meme kanseri gelişme sıklığı arasında ters bir ilişki saptamışlardır.

Saavedra ve ark. (1994) , *Bifidobacterium bifidum* ve *Streptococcus thermophilus* içeren mama ile beslenen çocuklarda rotavirusa bağlı ishal (%7' ye karşın %31) ve dışkıda rotavirus bulundurma sıklığı (%10'a karşın %39) probiyotik içermeyen mama alan çocuklara göre daha düşük bulunmuştur.

Adams ve Marteau (1995) ile Donohue ve Salminen (1996), laktik asit bakterilerinin patojenlere karşı antogonistik etkiye sahip olmalarından dolayı, bunların ürettiği fermente gıdaların sağlık açısından güvenilir kabul edilebileceğini bildirmişlerdir.

Adams ve Moss (1995), laktik asit bakterilerini glikoz metabolizması sonucunda ürettikleri son ürüne bağlı olarak homofermantatif ve heterofermantatif olmak üzere iki gruba ayırmışlardır.

Aso ve ark. (1995) ve Matsuzaki (1998), mesane kanserinde laktobasillerin oral verilmesi ile tümör nüks oranında azalma meydana geldiğini bildirmişlerdir.

Gönç ve Akalın (1995), probiyotik bakterilerin karaciğer sirozu tedavisindeki rollerine dikkat çekmişlerdir.

Pant ve ark. (1996), rotavirüs diyaresinin süresinin laktobasiller kullanılarak kısaltılabileceğini belirtmişlerdir.

Gönç ve ark. (1996), 56 gün yoğurtla besledikleri farelerin serum kolesterol seviyesinde düşüş tespit etmişlerdir.

Hata ve arkadaşları (1996), sekiz hafta süreyle *L. helveticus* ve *S. boulardii* tüketen yaşlı popülasyonun sistolik kan basıncında 14.1 diastolik kan basıncında 6.9 mm/Hg'lik düşüşler elde etmişlerdir.

Frank (1998), osteoporoz sonucu kemik erimelerinin engellenmesi için gerekli Ca, Mg, Fe gibi minerallerin alınımını probiyotik kullanılarak artırılabilceğini ileri sürmüşlerdir.

Turantaş (1998), laktik asit bakterilerinin son ürün olarak oluşturdukları ürünlerin, patojen mikroorganizmalar üzerinde inhibe edici özellikler taşıdığını belirtmişlerdir.

Velreads ve ark. (1998), idrar yolları enfeksiyonlarına sebep olan *E.coli* nin üroepitelyal hücrelere bağlanmasının idrar yollarının iç yüzeyini kaplayan Laktobasiller tarafından engellendiğini bildirmişlerdir.

Braun (1999), Okkers ve ark. (1999), vajinal enfeksiyonların vajinaya Laktobasillerin kolonize edilmesi ile önlenbildiğini belirtmişlerdir. Bu mekanizma, laktik asit bakterilerinin besinlere ve reseptörlere hidrofobik bağlanmasındaki yüksek rekabet gücüne ve bazı olgularda ise bakteriyosin benzeri fungustatik peptitler üretmelerine bağlamışlardır.

Takahaski ve Kawakami (1999), *E. coli* 0157:H7 ve ATCC 25922 suşlarına karşı kefirin notral pH'da antibakteriyal aktivite göstermediğini, ancak ortam asidik olduğunda her iki suşunda büyümesinin inhibe olduğunu bulmuşlardır.

Yaygın (1999) ve McFarland (2000) ,laktik asit bakterilerinin diğer mikroorganizmalar üzerindeki antienfektif özelliklerine dikkat çekmişlerdir.

Kalliomaki ve ark. (2001), gebelere ve yeni doğanlara *Lactobacillus rhamnosus GG* verilerek yaptıkları plasebo kontrollü çalışmada atopik egzama görülme sıklığında %50 azalma görüldüğünü bildirmişlerdir.

Sjazewska ve ark. (2001), yaptıkları çalışmada ishal dışı nedenle hastanede yatmakta olan 1-36 ay arasındaki çocuklara *Lactobacillus rhamnosus GG* içeren mama verildiğinde kontrol grubuna göre nozokomial ishal oranının düştüğü (% 6.7'

ye karşın % 33.3) ve daha az sıklıkta (% 2.2'ye karşın % 16.7) rotavirus ishali görüldüğü bildirmişlerdir.

Cremonini ve ark. (2002), daha önce yapılan dokuz çalışmanın değerlendirildiği bir metaanalizde *Lactobacillus rhamnosus GG* ve *Saccharomyces boulardii* suşlarını antibiyotik kaynaklı ishallerde etkili suşlar olarak belirlemişlerdir.

Huang ve ark. (2002), onu çift kör ve plasebo kontrollü olan 18 çalışmanın değerlendirildiği bir metaanalizde standart ORS(oral rehidrasyon sıvısı) ile birlikte probiyotik verildiğinde ishal süresinin bir gün kısaldığı saptamışlardır.

Hatakka ve ark. (2003), yaptıkları pilot çalışmada Juvenil romatoid artritli hastalarda probiyotik kullanımının olumlu etkilerini görmüşlerdir.

Lodinova-Zadnikova ve ark. (2003), enteropatojenik olmayan *E. coli* kullanımı ile alerjik hastalıkların sıklığının azaltılabileceğini bildirmişlerdir.

Eduardo ve ark. (2003), piyasada bulunan süt ürünlerinin antimikrobiyal etkisini araştırdıkları çalışmalarında, ürünlerin antimikrobiyal aktiviteleri arasında farklılıklar olduğunu bulmuşlardır. Nestle yoğurdun *S. aureus* ve *P. aeruginosa* için bakterisidal, *S. typhi* için inhibitör, *E. coli*' ye ve *Candida albicans*' a etkisiz olduğunu belirlemişlerdir. Yakullt ve Ski D'Lite yoğurtların ise çalışılan tüm patojenlere (*S. typhi*, *E. coli*, *Serratia marcescens*, *Candida albicans*, *S. aureus* ve *P. aeruginosa*) antimikrobiyal aktivite gösterdiğini bulmuşlardır. Fermente bir ürün olmayan Gain infant süt tozunun ise patojen bakterilere hiç etki göstermezken, *Candida albicans* için inhibitör olduğunu tespit etmişlerdir.

De Vrese ve ark. (2005), polio aşısı ile birlikte probiyotik kullanıldığında immün yanıtın arttığını bildirmişlerdir.

Lin ve ark. (2005), tek başına anne sütü ile beslenen bebekler ile anne sütü yanında *L. acidophilus* ve *B. infantis* içeren mama ile beslenen bebekleri karşılaştırmışlar ve nekrotizan enterokolit sıklığının probiyotik alan bebeklerde % 63 azaldığını bulmuşlardır.

Erdeve ve ark. (2005), tarafından ülkemizde yapılan bir çalışmada antibiyotik kullanan 465 çocuk incelenmiş, tek başına antibiyotik alan grupta ishal sıklığı % 16

iken, antibiyotik ile birlikte *Saccharomyces boulardii* alan grupta bu oran % 6 olarak bulunmuştur.

Rodrigues ve ark. (2005), kefir ve kefiranın 7 bakteri ve bir mantar üzerine antimikrobiyal aktivitesini disk diffüzyon metoduyla incelemişler ve *S. pyogenes*'i en sensitif patojen, *S. aureus*, *S. salivarius*, *S. typhimurium*, *C. Albicans*, *L. monocytogenes*'i daha az sensitif patojenler ve *P. aeruginosa* ve *E. coli*' yi ise en az sensitif patojenler olarak belirlemişlerdir. Aynı çalışmada farelerde *S. aureus* ile enfekte edilmiş yaralar üzerine % 70'lik kefir jelinin sürülmesinin Clostebolneomisin emülsiyonundan daha iyi skatrizan etki gösterdiğini bulmuşlardır.

Batdorj ve ark. (2007), Moğol yoğurdundan izole ettikleri ve taksonomik tanımlamasını yaptıkları *L. delbrueckii subsp. lactis* T31 probiyotiği ile yaptıkları çalışmada, gıda kaynaklı bir patojen olan *Listeria sp.* nın canlılığını azaltmakta etkili olduğunu bulmuşlardır. Bu durumu söz konusu probiyotik bakterinin H₂O₂ üretmesine bağlamışlardır, bu özelliğinden dolayı bu suşun gıda endüstrisinde koruyucu olarak veya intestinal ve ürogenital enfeksiyonlara karşı kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Shimazaki ve ark. (2008), 942 hasta üzerinde yaptıkları diş sağlığı kontrollerinde, düzenli olarak günlük fermente süt ürünleri tüketmenin diş sağlığına olumlu etkileri olduğunu bildirmişlerdir.

Perelmuter ve ark. (2008), sağlıklı bir köpeğin dışkıında izole ettikleri ve taksonomik tanımlamasını yaptıkları *Lactobacillus murinus* türü bakterinin probiyotik özellikler taşıdığını ve bu probiyotiğin in vitro ortamda *Escherichia coli* ve *Clostridium perfringens*' in gelişimini inhibe ettiğini bulmuşlardır. *Lactobacillus murinus*' un hayvan gıdalarına eklenerek GİS enfeksiyonlarından korunulabileceğini vurgulamışlardır.

3. MATERYAL METOT

3.1. MATERYAL

3.1.1. Çalışmada Kullanılan Gıda Kaynaklı Patojenler:

Salmonella typhimurium ATCC 14028

Escherichia coli ATCC 25922

Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853

Staphylococcus aureus ATCC 25923

3.1.2. Çalışmada Kullanılan Probiyotik Kaynağı Fermente Süt Ürünü Çeşitleri:

Ev yapımı geleneksel inek yoğurdu

Üretici bir firmanın geleneksel inek yoğurdu

Üretici bir firmanın biogard yoğurdu (probiyotik yoğurt)

Üretici bir firmaya ait kefir

3.1.3. Çalışmada Kullanılan Antibiyotik ve Laktik Asit Diskleri

3.1.3.1.Seftriakson Sodyum

Sefelasporin grubu yarı sentetik, geniş spektrumlu bir antibakteriyaldır. Duyarlı bakterilerin hücre duvarı sentezini inhibe ederek bakterisit etki gösterir. Penisilinaz, sefalosporinaz gibi beta-laktamaz enzimlerine karşı ileri derecede dirençlidir.

3.1.3.2.Laktik Asit (% 0.9)

Laktik asit çözeltisi (%90) steril distile su ile dilüsyon yapılarak % 0.9 laktik asit çözeltisi haline getirildi. Fermente süt ürünlerinin ortalama pH'sına uygun hale getirmek için NaOH ile tamponlanarak pH: 4 yapıldı.

3.1.4. Çalışmada Kullanılan Kültür Ortamları

3.1.4.1. BPLS (Brilliant-green Phenol-red Lactose Sucrose) Agar (*Salmonella typhimurium* için kullanıldı.):

Peptone from meat :	5.0 g/1
Peptone from casein:	5.0 g/1
Meat extract:	5.0 g/1
Sodium chloride:	3.0 g/1
Di-sodium hydrogen phosphate:	2.0 g /1
Lactose:	10.0 g/1
Sucrose:	10.0 g/1
Phenol red:	0.08 g/1
Brilliant green:	0.0125 g/1
Agar-agar:	12.0 g/1
pH:	6.9±0.2

3.1.4.2. TBX (Tryptone Bile X-glucuronide) Agar (*Escherichia coli* için kullanıldı.):

Peptone:	20.0 g/1
Bile salts No. 3:	1.5 g/1
X-β-D-glucuronide :	0.075 g/1
Agar-agar:	15.0 g/1
pH :	7.2 ± 0.2

3.1.4.3. Plate Count Agar (*Pseudomonas aeruginosa* için kullanıldı.):

Peptone from casein:	5.0 g/1
Yeast extract:	2.5 g/1
D(+) glikoz :	1.0 g/1
Agar-agar:	14.0 g/1
pH :	7.0 ± 0.2

3.1.4.4. Baird-Parker Agar Base (*Staphylococcus aureus* için kullanıldı.):

Peptone from casein:	10.0 g/1
Meat extract :	5.0 g/1
Yeast extract:	1.0 g/1
Sodium pyruvate:	10.0 g/1
Glycine:	12.0 g/1
Lithium chloride:	5.0 g/1
Agar-agar:	15.0 g/1
pH:	6.8 ± 0.2
Egg-yolk tellurite emulsion	50 ml /1

3.2. METOT

3.2.1. Besiyeri Ortamlarının Hazırlanması

Kullanılan gıda kaynaklı patojen bakteriler için selektif özellik gösteren besiyerlerinin hazırlanması için bir erlen içine BPLS Agar 52 g konulmuş ve üzerine distile su eklenerek 1 litreye tamamlanmıştır. Aynı şekilde diğer besiyerleri ayrı ayrı steril erlenlere TBX Agar dan 36.6 g, Plate Count agardan 22.5 g, Baird-Parker Agar 58 g konulmuş ve distile su ile 1 litreye tamamlanmışlardır. Erlenler sıcak su banyosunda bekletilerek besin agarın erimesi sağlanmıştır. Daha sonra besiyerleri, 121 °C sıcaklıkta otoklavda 15 dakika bekletilerek steril edilmiştir. Otoklavdan alınan besiyerleri bir müddet soğuduktan sonra Baird-Parker Agar içine her 1 litre medium için egg-yolk emulsiondan 50 ml eklenmiştir. Besiyerleri 90 mm çapındaki steril petri kutularına 15-20 ml dökülerek katılaşması beklenmiştir. Besiyerleri kullanılıncaya kadar +4 °C de muhafazaya alınmıştır.

3.2.2. Fermente Süt Ürünü Çeşitlerinin Toplanması, Ev Yapımı Yoğurdun Hazırlanması ve Yoğurt Sularının Eldesi

Kullanılacak ticari probiyotik yoğurt (biogard), ticari geleneksel yoğurt ve kefir bölgemizdeki satış birimlerinden temin edilmiştir. Ev yapımı geleneksel yoğurt için Diyarbakır yöresinin inek sütü kullanılmıştır. 1 lt taze inek sütü 10 dakika kaynatılmıştır. 37-38 °C ye kadar soğuduktan sonra içine starter yoğurt kültürü katılmıştır. Daha sonra üzeri bir örtü ile kapatılarak 4 saat süreyle fermentasyona bırakılmıştır. Fermentasyon süresinin sonunda elde edilen ürün, +4 °C de buzdolabında muhafazaya alınmıştır.

Kullanılan fermente süt ürünlerinden deney tüplerine alınan örneklerden indikatör strip (Universalindicator-Merck) ile pH ölçümü yapılmıştır.

Fermente süt ürünü materyallerinin her birinden aseptik şartlarda bir miktar, ayrı ayrı steril gazlı bezler içine alınarak suları süzdürülmüştür. Elde edilen fermente ürün suları, ikişer tüpe aktarılmış ve etiketlenmiştir. Elde ettiğimiz fermente süt ürünü sularına ait bir tüp indikatör strip (Universalindicator-Merck) ile pH ölçümü için kullanılmıştır.

3.2.3.Patojenleri İçeren Süspansiyonların Hazırlanması

Salmonella typhimurium ATCC 14028, *E. coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 içeren saf kültürler Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim dalı koleksiyonundan temin edilmiştir. Kültürler yeni besiyerlerine aktarılarak aktive edilmiştir. Her bir patojen bakteri kolonisinden öze yardımıyla alınan bir miktar bakteri 2 ml steril %0.9 NaCl solüsyonu (serum fizyolojik) bulunan steril deney tüplerine konulmuştur.

Süspansiyonların standart sayıda mikroorganizma taşımalarını sağlamak için McFarland bulanıklığı yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntemin prensibi, baryum klorür ile sülfürik asit karıştırılınca meydana gelen baryum sülfatın, ortamda opak renkli bir bulanıklık oluşturmasıdır. Çok kompleks yapıda olmayan bir besiyerinde üretilen bakteriler de aynı renkte bir bulanıklık meydana getirmektedirler. Baryum klorür ile sülfürik asit oranlarının değiştirilmesiyle farklı bulanıklıkta çözeltiler oluşmakta olup, bunlara karşılık gelen bakteri sayısı da, bulanıklığın artması ile doğru orantılı olarak artmaktadır (Gürgün ve Halkman, 1990).

McFarland bulanıklığı skalasını oluşturmak için H_2SO_4 ve $BaCl_2$ 'ün % 1' lik solüsyonları kullanılmıştır. Numaralandırılmış deney tüpleri içerisine çizelgede belirtilen oranlarda (Tablo 1) H_2SO_4 ve $BaCl_2$ karışımı hazırlanarak tüplerde standart bulanıklıklar oluşturulmuştur. Hazırladığımız patojen bakteri süspansiyonları, besiyerinden gelecek rengin bulanıklığı etkilememesi için santrifüj edilip serum fizyolojik ile yıkanmıştır. Süspansiyonlar, McFarland bulanıklığı 0.5 olacak şekilde dilüe edilmiştir. Böylece son bakteri yoğunluğunun yaklaşık 10^8 /ml olması sağlanmıştır.

3.2.4.Disklerin Hazırlanması

5 mm çapındaki kağıt diskler etilen oksit ile steril edilmiştir. Disklere 2 numaralı tüplerde bulunan fermente ürün sularından, 100 µl/disk olacak şekilde emdirilmiştir. Her bir fermente süt ürünü için işlemler ayrı ayrı tekrarlanmıştır.

Seftriakson içeren antibiyotik 10 µg /ml olacak şekilde steril distile su ile dilüe edilmiştir. 5 mm çapındaki kağıt disklere 50 µl/disk olacak şekilde hazırlanan antibiyotik emdirilmiştir.

5 mm çapındaki kağıt disklerin her birine laktik asit çözeltisinden 100 µl/disk olacak şekilde emdirilmiştir.

3.2.5.Patojenlerin İnokülasyonu ve Disk Diffüzyon Metodu ile Ölçümlerin Yapılması

Yaklaşık 10^8 /ml bakteri içeren patojen süspansiyonlarından alınan 0.1 ml örnek ilgili besiyeri yüzeyine homojen şekilde yayılarak inokülasyon işlemi yapılmıştır.

Kontrol olarak kullanılan laktik asit, antibiyotik ve probiyotik ürünlerin sularını içeren diskler bakterilerin inoküle edildiği petri kaplarına aseptik koşullarda yerleştirilmiştir. Kùltürler 37 °C inkübatörde inkübasyona alınmıştır. 24. , 48. saatlerde ve 7. günde disklerin etrafında oluşan inhibisyon zonları mm /çap olarak ölçülmüştür. Deneysel alışma beř kez tekrar edilmiştir.

Elde edilen veriler, SPSS 13.0 istatistik programı kullanılarak tek yönlü varyans analizi ile Duncan testi kullanılarak değerlendirilmiştir. Veriler arasındaki fark, $P<0.05$ olduğu zaman istatistiksel olarak önemli kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

Çalışmamızda, probiyotiklerin en sık kullanılan besinsel kaynağı olan fermente süt ürünlerinin, yaygın gıda kaynaklı patojen bakteri örneklerine (*Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *E. coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923) karşı antimikrobiyal etkisi in-vitro olarak araştırılmıştır. Ticari olarak üretilmiş geleneksel yoğurt, ev yapımı geleneksel yoğurt, biogard kültürü ile yapılmış ticari probiyotik yoğurt ve ticari olarak üretilmiş kefirin disk diffüzyon metodu ile antibakteriyal aktivitesi ölçülmüştür. Kontrol olarak geniş spektrumlu bir antibiyotik olan Seftriakson ile % 0.9 laktik asit çözeltisi kullanılmıştır.

Kullanılan fermente süt ürünlerinden direk ve elde edilen sularından indikatör ile pH ölçümleri yapılmıştır. Fermente ürünlerin hepsinin asidik pH'a sahip oldukları ve pH değerlerinin 3-4 civarında olduğu görülmüştür.

Kullandığımız antibiyotik (Seftriakson), Gram(+) ve (-) bakterilere karşı etkili geniş spektrumlu üçüncü kuşak sefalosporin grubudur. Kullandığımız tüm patojen bakterilerin kontrol antibiyotiğine duyarlı oldukları tespit edilmiştir (Tablo 2-5).

Kontrol olarak kullanılan laktik asit çözeltisi fermente süt ürünlerinde yapılan kimyasal analizlerle elde edilen laktik asit miktarlarına ve pH değerlerine uygun olacak şekilde % 0.9 oranında ve pH: 4,0 olacak şekilde hazırlanmıştır. Laktik asit, *S. aureus* ve *E. coli* üzerinde inhibisyon zonu oluşturmazken, *Pseudomonas aeruginosa* için ilk gün 22.5 mm zon oluşmuştur. Fakat 2. ve 7. günlerde antimikrobiyal etkinin ortadan kaybolduğu gözlenmiştir (Tablo 2,3,5). Laktik asit çözeltisinden istatistiksel açıdan anlamlı ($P < 0.05$) etkilenen tek patojen *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 olmuştur (Tablo 3,10).

Fermente süt ürünleri ile yapılan antimikrobiyal aktivite testleri zamana, çalışılan patojen bakteriye ve probiyotik kaynağı fermente süt ürünü çeşidine göre değişiklik gösterdiği saptanmıştır (Tablo 2-10).

Çalışılan ev yapımı yoğurdun kullandığımız tüm patojenlere karşı antimikrobiyal aktivitesi olduğu görülmüştür. En duyarlı mikroorganizma *S. typhimurium* olarak belirlenirken, *S. aureus* orta derecede duyarlı bulunmuş, en az

duyarlılık ise *P. aeruginosa* ve *E. coli*' de gözlenmiştir (Tablo 6). En yüksek zon ölçümü bütün örneklerde 48. saatte yapılırken 7. gün ölçümlerinde zonların diğer patojenlerde küçüldüğü, *E. coli*' de ise kaybolduğu gözlenmiştir (Tablo 2-5).

Ticari olarak hazırlanmış geleneksel yoğurdun, ev yoğurduna benzer şekilde çalışılan tüm patojenlere karşı antimikrobiyal aktivitesi olduğu gözlenmiştir (Tablo 7). Genel olarak en büyük ölçümlerin yapıldığı 48. saat ölçümlerinde etkilenme derecesine göre patojenler *S. typhimurium*: 28.4 mm, *S. aureus*: 24.2 mm, *P. aeruginosa*: 18.7 mm ve *E. coli* :18.4 mm olarak sıralanmışlardır (Tablo 2-5). 7. gün ölçümünde bütün patojenlerin oluşturduğu zonlar anlamlı derecede azalırken yalnız *S. typhimurium* örneklerinde en büyük ölçüm 32.5 mm ile 7. günde yapılmıştır (Tablo 4).

Kullanılan ticari kefir örneğine karşı *P. aeruginosa*'nın dirençli olduğu görülmüştür. Buna karşın *S. typhimurium* kefire karşı en duyarlı patojen bakteri olarak tespit edilmiştir. En yüksek ölçüm 7. günde 35.3 mm olarak *S. typhimurium*'da yapılmıştır (Tablo 4). *S. aureus* ve *E. coli* örneklerinde ticari kefire karşı sınırlı bir duyarlılık gözlenmiştir, ilk gün oluşan zonların *S. aureus* örneklerinde 7. gün, *E. coli* örneklerinde 48. saatte kaybolduğu gözlenmiştir (Tablo 2,3,8).

Biogard kültürü ile yapılan ticari probiyotik yoğurda karşı en duyarlı patojen mikroorganizma *S. typhimurium* olarak tespit edilmiştir (Tablo 9). *S. typhimurium*'da 24., 48. saatlerde zon oluşumu gözlenirken, en yüksek derecede zon ölçümü 29.9 mm ile 7. gün yapılmıştır (Tablo 4). Diğer patojen mikroorganizma örneklerinde 24. saatte zon oluşumu gözlenirken (*S. aureus*:19.9 mm, *P. aeruginosa*: 14.4 mm ve *E. coli*: 14.1 mm), 48. saatten itibaren zonların ortadan kaybolduğu gözlenmiştir (Tablo 2,3,5).

5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR

Çalışmamızda kullandığımız probiyotik kaynağı fermente süt ürünlerinin birçoğunun, çalıştığımız patojenlere karşı antimikrobiyal aktivitesi, kontrol olarak kullanılan antibiyotikten (Seftriakson) daha düşük derecede bulunmasına karşın, ev yoğurdunun *S. typhimurium*' da antibiyotiğin oluşturduğu zondan istatistiksel açıdan anlamlı derecede büyük kabul edilebilecek zonlar oluşturduğu gözlenmiştir (Tablo 2-5).

Diğer kontrol grubunu oluşturan laktik asit çözeltisine göre, özellikle geleneksel yoğurt örneklerinde anlamlı büyüklükte zonlar elde edilmiştir. Bu durumun, laktik asitin tek başına probiyotik bakterilerin antimikrobiyal aktivitesinden sorumlu olmadığını gösterdiğini düşünmekteyiz. Laktik asitten *S. aureus* ATCC 25923 ve *E. coli* ATCC 25922' nin etkilenmediği, *P. aeruginosa* ATCC 27853' da ilk gün oluşan zonun istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür. Asperger (1986) tarafından patojenlerin gelişmesi için gerekli minimum pH değerleri *S. aureus* için 4 ve *E. coli* için 4.4 olarak belirlenmiştir. Kullandığımız kontrol laktik asit pH:4.0 değerinde olduğundan, *S. aureus* ve *E. coli* için tolere edilebilir olduğu ve patojen gelişiminin bundan etkilenmediği düşünülebilir. Sonuçlarımızla uyumlu olarak Kotz ve ark. (1990), yoğurtla benzer pH'a sahip (pH 4.1-4.4) asidik süt ile yaptıkları çalışmada *E. coli*' nin canlı kaldığını ve çoğalmaya devam ettiğini bildirmişlerdir. *P. aeruginosa* için Asperger (1986) tarafından belirlenen pH değeri min.:5.6 olması sebebiyle ilk gün antibakteriyal etkinin görüldüğü, fakat besiyeri (pH: 7.0 ± 0.2) tarafından tamponlanan ortamın asitlik seviyesinin 2. gün *P. aeruginosa* için uygun hale geldiği düşünülebilir. Laktik asitin antimikrobiyal etkisi ile 19.1 mm zon oluşan *S. typhimurium* ATCC 14028' da istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Koutsoumanis ve ark.(2004) *S. typhimurium*' un gelişebilmesi için gerekli min. pH değerini 3.9 olarak belirlemişlerdir. Buna karşın, Howard E. Rubin ve ark. (1983) laktik asitin *S. typhimurium* üzerine etkisini araştırdıkları çalışmada laktik asitin etkisinin yalnızca ortamın pH'sını değiştirmekten değil, hücre içine girerek gerçekleştirdikleri intraselüler aktivitelerinden kaynaklandığını savunmuşlardır. Çalışmamızda *S. typhimurium* için alınan bu sonucun laktik asitin hücre içine girmesi ile

protoplazmada oluşan metabolik değişikliklerden kaynaklandığı görüşünü (Howard ve ark, 1983) desteklemektedir.

Araştırmada kullandığımız gıda kaynaklı patojenlere karşı en güçlü etki, ev yapımı geleneksel yoğurttan görülmüştür. Patojenlerin tümüne etkili olan ev yoğurdunun aktivitesi inkübasyonun devamında 7.günde azalmıştır (Tablo 2-6). En iyi sonuç 35,7 mm zon oluşumu ile *S. typhimurium*' da görülmüştür. En az duyarlı patojen bakteriler ise *P. aeruginosa* ve *E. coli* olarak belirlenmiştir (Tablo 6). Kotz ve ark.(1990), yoğurdun üç farklı *E. coli* suşuna karşı antimikrobiyal etkisini in-vitro olarak inceledikleri çalışmalarında bakterisidal etkinin görüldüğünü bildirmişlerdir. Ancak bu etkinin yoğurt bakterilerinin canlı olmasına ve pH'nın yaklaşık 4.5 civarında olmasına bağlı olduğunu bildirmişlerdir. Aynı araştırmacılar, ısıtılmış işlem görmüş veya filtreden geçirilmiş yani canlı probiyotik bakteri taşımayan örneklerin *E. coli* üzerinde yalnızca bakteristatik etkileri olduğunu bildirmişlerdir.

Ticari olarak üretilen hazır yoğurt örneğinde ise ev yoğurduna benzer şekilde bütün patojenlere karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği tespit edilmiştir (Tablo 2-5). En çok etkilenen patojen bakteri *S. typhimurium* olurken, diğer patojenlerde istatistiksel olarak birbirine benzer değerlerde inhibisyon zonu oluşturdukları görülmüştür (Tablo 7). Oluşan inhibisyon zonları karşılaştırıldığında genel olarak ev yapımı yoğurdun ticari yoğurttan daha büyük inhibisyon zonları oluşturmasının, kullanılan süttten ve yapım aşamasındaki teknik farklılıkların son ürün içeriğinde meydana getirdiği farklılıktan kaynaklandığı düşünülmektedir.

Kullandığımız ticari kefirin antimikrobiyal aktivitesinden en çok etkilenen patojenin *S. typhimurium* olduğu görülmüştür. *S. aureus*' da ve *E. coli*' de sınırlı etki gösteren kefir, *P. aeruginosa*' da inhibisyon zonu oluşturamamıştır (Tablo 8). Daha önce yapılan bir çalışmada Rodrigues ve ark. (2005), kefir ve kefiranın 7 bakteri ve bir mantar üzerine antimikrobiyal aktivitesini disk diffüzyon metoduyla incelemişlerdir. Araştırmacılar *S. pyogenes*'i en sensitif patojen, *S. aureus*, *S. salivarius*, *S. typhimurium*, *C. albicans*, *L. monocytogenes*'i daha az sensitif patojenler ve *P. aeruginosa* ve *E. coli*' yi ise en az sensitif patojenler olarak belirlemişlerdir. Çalışmamızda benzer sonuçlar elde edilmekle birlikte, *P. aeruginosa*' da herhangi bir etki görülmemesi kullanılan patojen bakteri suşu ve

kullanılan kefirde gelebilecek farklılıklara bağlanabilir. Kefir ile yapılan bir başka çalışmada, Takahaski ve Kawakami (1999), *E. coli* 0157:H7 ve ATCC 25922 suşlarına karşı kefirin nötral pH'da antibakteriyal aktivite göstermediğini, ancak ortam asidik olduğunda her iki suşunda büyümesinin inhibe olduğunu bildirmişlerdir.

Biogard kültürü kullanılarak hazırlanan ticari probiyotik yoğurt örneğinde, istatistiksel olarak anlamlı büyüklükteki zon oluşumu *Salmonella typhimurium*' da görülmüştür (Tablo 9). Ancak biogard yoğurt, çalışılan bütün patojenlere karşı ev yapımı ve ticari geleneksel yoğurtların gösterdiği etkiden daha düşük antimikrobiyal aktiviteye sahip bulunmuştur (Tablo 2-5). *S. aureus*, *E. coli* ve *P. aeruginosa*' da oluşturduğu zonlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

Çalışmamızda araştırılan probiyotik kaynağı fermente süt ürünlerinin, patojen türüne ve zamana göre değişmekle birlikte, çalışılan patojenlere karşı farklı derecelerde antimikrobiyal etkisi olduğu görülmüştür. Reid ve ark. (1987), Turantaş (1998), Yaygın (1999), Takahaski ve ark. (1999), McFarland (2000), Rodrigues ve ark. (2005), Batdorj ve ark. (2007), Perelmuter ve ark. (2008) çeşitli laktik asit bakterileri ile yaptıkları çalışmalarda patojenlere karşı antimikrobiyal etki elde edildiğini bildirmişlerdir.

Danon ve ark. (1963), Mel'nikova ve Koroleva (1975), Pullusani ve ark. (1979), Spillman ve ark. (1978), Todorov (1962), yaptıkları çeşitli çalışmalarda probiyotik bakterilerin oluşturdukları antimikrobiyal etkinin *Salmonella*, *Koliform*, *Staphylococcus* ve *Pseudomonas* genuslarına ait çeşitli türlerin gelişme ve aktivitesini sınırladığını veya durdurduğunu bildirmişlerdir.

Reddy ve ark.(1984), *L. bulgaricus* suşunun *S. aureus* patojen bakterisine 9-12 mm'lik, *E. coli*' de ise 5-8 mm'lik inhibisyon zonu meydana getirdiğini bildirmişlerdir. Abdel Bar ve Abdel (1985), *L. bulgaricus* suşunun *S. aureus* 'da 29.5 mm'lik, *Pseudomonas fragi* patojen bakterisinde ise 34.67 mm'lik inhibisyon zonu oluşturduğunu bulmuşlardır. Çalışmamızda oluşan inhibisyon zonları da patojen bakteri türüne, probiyotik kaynağı fermente süt ürünü çeşidine ve inkübasyon zamanına göre değişkenlik göstermiştir.

Eduardo ve ark. (2003), piyasada bulunan süt ürünlerinin antimikrobiyal etkisini araştırdıkları çalışmalarında, farklı ürünlerin antimikrobiyal aktiviteleri

arasında farklılıklar olduğunu bulmuşlardır. Nestle yoğurdun *S. aureus* ve *P. aeruginosa* için bakterisidal, *S. typhi* için inhibitör, *E. coli*' ye ve *Candida albicans*' a karşı etkisiz olduğunu belirlemişlerdir. Araştırmacılar, Yakult ve Ski D'Lite yoğurtların ise çalışılan tüm patojenlere (*S. typhi*, *E. coli*, *Serratia marcescens*, *Candida albicans*, *S. aureus* ve *P. aeruginosa*) antimikrobiyal aktivite gösterdiğini bulmuşlardır. Aynı çalışmada, fermente bir ürün olmayan Gain infant süt tozunun ise patojen bakterilere karşı etki gösteremezken *Candida albicans* için inhibitör olduğunu tespit etmişlerdir. Çalışmamızda da çeşitli fermente süt ürünlerinin antimikrobiyal etkileri arasında farklılıklar gözlenmiştir.

Sonuç olarak, probiyotik kaynağı fermente süt ürünlerinin yaygın gıda kaynaklı patojenlere karşı antimikrobiyal etkisi, kullanılan fermente süt ürünü çeşidine, patojen bakteri türüne ve inkübasyon süresine göre değişiklik göstermektedir. Kontrol olarak kullanılan saf laktik asitten elde edilen sonuçlar göz önüne alındığında, antimikrobiyal etkinin yalnızca fermente süt ürünlerinin içerdiği laktik aside bağlı olmadığı söylenebilir. Bu etki aynı zamanda probiyotik bakterilerin oluşturduğu diğer metabolitlerden (H_2O_2 ve diğer bakteriosin maddeler) kaynaklanıyor olabilir. Probiyotik gıdalar tüketmenin yanı sıra ortaya çıkardıkları bu ürünlerin tek başlarına veya çeşitli kombinasyonlarda gıda koruyucu olarak kullanmanın mümkün olabileceği öngörülmektedir. Çalışmamızda geleneksel yoğurda ait her iki örneğinde kullanılan bütün gıda kaynaklı patojenleri inhibe etmesi, gıda kaynaklı enfeksiyonların önlenmesinde ve tedavisinde yoğurt tüketiminin faydalı olacağını düşündürmektedir. Kefir ve biogard yoğurt örneklerinde daha sınırlı olmakla birlikte antimikrobiyal etki göstermişlerdir. Ucuz ve kolay bir yol olarak fermente süt ürünlerinin gıda kaynaklı patojenlere karşı kullanılması yanı sıra probiyotiklerin ürettikleri bakteriosinlerin gıda koruyucu olarak kullanılması için çeşitli çalışmalar yapılmaktadır. Gıdalarda güvenli olarak kabul edilen ve kullanımına izin verilen nisin örneğinde olduğu gibi doğal biyolojik mekanizmaları destekleyerek çalışan probiyotiklerden daha iyi yararlanılabilmesi için çalışmaların çeşitlendirilmesi ve artırılması gerektiğini düşünmekteyiz.

6. KAYNAKLAR

ABDEL-BAR M., ABDEL NM, Purification and Characterization at an Antimicrobial Substance Produced by *L. Bulgaricus*, Dissertation on Abs, Int. B. Sci. And Eng., 1985, 46, 1, 12, 202.

ACCOLAS JP., Taxonomic Featres and Identification of *L. bulgaricus* and *S. thermophilus*. Rapport presente du group FIL/IDF.E44 1979, Milan

ADAMS MR, MARTEAU P, The safety of lactic acid bacteria from food. Int J Food Microbiol. 1995 Oct; 27(2-3): 263-4.

ADAMS MR, MOSS MO, Food Microbiology. The Royal Society of Chemistry. 1995 Cambridge

AGERHOLM-LARSEN L, RABEN A, HAULNIK N, HANSEN AS, MANDERS M, ASTRUP A. Effect of eight week intake of probiotic milk products on risk factors for cardiovascular diseases. Eur J Clin Nutr 2000; 54: 288-289.

AKMAN SA., YAĞCI RV, Prebiyotikler ve Probiyotikler ,Çocuk Sağ. Ve Hst. Der., 2002; 47, 337-344.

ASO Y, AKAZA H, KOTAKE T, TSUKAMOTO T, IMAI K, NAITO S. Preventive effect of a *Lactobacillus casei* preparation on the recurrence of superficial bladder cancer in a double-blind trial. The BLP Study Group. Eur Urol. 1995; 27(2): 104-9.

ASPERGER H., Wirkungen von Milchsäurebakterien auf andere Mikroorganismen, Österreiche Milchwirtschaft. 1986; 41, Sonderdruck 4, 1-22.

ARIHARA K., TOBA T., ADACHI S., Immunoflorasans microscopic studies on distribution of *L. kefirifaciens* and *L. kefir* in kefir grain. Intern J Food Microbiol. 1990; 11: 127-134.

BALOWS A, TRUPER H.G., DWORKIN M., HARDER W., SCHLEIFER K.H. (1991). The Prokaryotes, 2nd Edition, A Handbook on the Biology of Bacteria, Chapter 70, pg 1547.

BATDORJ B, TRINETTA V, DALGALARRONDO M, PRÉVOST H, DOUSSET X, IVANOVA I, HAERTLÉ T, CHOBERT JM Isolation, taxonomic identification and hydrogen peroxide production by *Lactobacillus delbrueckii subsp. lactis* T31, isolated from Mongolian yoghurt: inhibitory activity on food-borne pathogens. J Appl Microbiol. 2007 Sep;103(3):584-93.

BENCHIMOL EI, MACK DR. Probiotics in relapsing and chronic diarrhea. J Pediatr Hematol Oncol 2004; 26: 515-517.

BLANC PC, Der wert der Saver Milch Produkte in der Modernen Ernaehrung, Schweiz, Milchze,1973 tg.99,60-61.

BRAUN PC.,Nutrient uptake by *Candida albicans*: the influence of cell surface mannoproteins.Can J., Microbiol. 1999 May;45(5):353-9.

CAICEDO RA., SCHANLER RJ., LI N., NEU J., The developing intestinal ecosystem: implications for the neonate. Pediatr Res 2005; 58: 625-628.

CREMONINI F, DI CARO S, SANTARELLI L, et al. Probiotics in antibiotic-associated diarrhoea. Dig Liver Dis 2002; 34 (Suppl 2): S78-S80.

CUMMING JH, MacFARLANE GT, Role of Intestinal Bacteria in Nutrient Metabolism. Clinical Nut.1997,16:3-11.

CUNNINGHAM-RUNDLES S, AHRNE S, BENGMARK S, et al. Probiotics and immune response. Am J Gastroenterol 2000; 95(1 Suppl): S22-S25.

COMMANE D., HUGHES R., SHORTT C., ROWLAND I.,The potential mechanisms involved in the anticarcinogenic action of probiotics. Mutation Res 2005; 591: 276-289

CONDON S.,Respones of Lactic Acid Bacteria to Oxygen.FEMS Microbiology Review,1987 46,269-280.

COŞKUN T., Pre-, pro- ve sinbiyotikler: genel bilgiler. Katkı Pediatri Dergisi 2004; 26 (Özel Sayı): 151-197.

DANON S., ZHEKOV S., KOZEREVA M., Role of Lactic Acid in the Antibiotic Effect of Yoghurt.d.S.A.1963,25(1)183.

DAVE RI, SHAH NP,Viability of yoghurt and Probiotic Bacteria in Yoghurt made from Commercial Starter Cultures. Int. Diary J,1997,7;31-41.

DE VRESE M, RAUTENBERG P, LAUE C, KOOPMANS M, HERREMANS T, SCHREZENMEÏR J. Probiotic bacteria stimulate virus-specific neutralizing antibodies following a booster polio vaccination. *Eur J Nutr* 2005; 44: 406-413.

DONOHUE D.C. ,Safety of probiotics. *Asia Pac J Clin Nutr.* 2006;15(4):563-9.

EARNSHAW RG., BANKS JG., DEFRISE D., FRANCO C., The Preservation of Cottage Chees by on Activated Lactoperoxidase System.*Food Microbiology* .1989; 6, 285-288.

EDUARDO L.,CHUAYANA JR.,CARMINA V.P., MA.ROSANNA B.RIVERA, ESPERANZA C.CABRERA.,Antimicrobial activity of Probiotics from Milk Products.,*Phil J Microbiol Infect Dis* 2003;32(2):71-74.

ESPGHAN Committee on Nutrition: AGOSTINI C., AXELSSON I., GOULET O., et al. Prebiotic oligosaccharides in dietetic products for infants: a commentary by the ESPGHAN Committee on Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2004; 39: 465-473.

ERDEVE O., TIRAS U., DALLAR Y., SAVAŞ S., *Saccharomyces boulardii* and antibiotic-associated diarrhoea in children. *Aliment Pharmacol Ther* 2005; 21: 1508-1509.

EVANS AS, BRACHMAN PS, *Bacterial Infections of Humans: Epidemiology and Control.* edited by Alfred S. Evans and Philip S. Brachman, 3rd ed,1998.Springer

FANG H., ELINA T., HEIKKI A., SEPPO S. ,Modulation of humoral immune response through probiotic intake. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2000; 29: 47-52.

FENDERYA S, AKALIN S, Probiyotik Yoğurtların Bazı Kimyasal Özellikleri Üzerine Bir Araştırma,*Ege Üniv. Ziraat Fak. Derg.*, 2003, 40(1):87-94.

FERNANDES CF, SHAHANI KM, AMER MA, Therpeutic Role of Dietary Lactobacilli and Lactobacillic Fermented Dairy Science Products. *Federation of European Microbiological Societies, Microbiology Reviews*1987 ;46,343-356.

FERREIRA C.L.,Therapeutic Value of Yogurt and acidophilus Milk,*Revistada Intituto de laticinios Candida tostes*,1979,34,202-25-27-44.

FULLER R.,Probiotics.*J.Suppl.Bact.(Symp. Suppl)*1986,1-7.

FRANCK A.,Prebiotics Stimulate Calcium Absorption, A Review,*Milk Science International Jahrgang* 1998; No:8, 427-429.

FRY AM, BRADEN CR, GRIFFIN PM, HUGHES JM. Foodborne disease. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds). Principles and Practice of Infectious Diseases. 6th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2005:1287-13.

GANDHI D.N. , Nambudripad V.K.N. , Implantation of *Lactobacillus acidophilus* in the intestines of adults suffering from gastrointestinal disorders, 1977, Sci Rep 584.

GERBITZ A., SCHULTZ M., WILKE A., et al. Probiotic effects on experimental graft-versus-host disease: let them eat yogurt. Blood 2004; 103: 4365-4367.

GIBSON GR., Fibre and effects on probiotics (the prebiotic concept). Clin Nutr 2004; 1 (Suppl): 25-31.

GIBSON GR., ROBERFROID MB., Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. J Nutr 1995; 125: 1401-1412.

GILL HS., GUARNER F. , Probiotics and human health: a clinical perspective. Postgrad Med J 2004; 80: 516-526.

GILLAND SE, SPECK ML, Antagonistic Action of *L. acidophilus* Towards Intestinal and Foodborne Pathogens in Associative Cultures, J. Food Prot., 1977, 40:820

GHOSH S., VAN HEEL D., PLAYFORD RJ., Probiotics in inflammatory bowel disease: is it all gut flora modulation? Gut 2004; 53: 620-622.

GOLDIN BR, GORBACH SL, Alterations of the intestinal microflora by diet, oral antibiotics, and *Lactobacillus*: decreased production of free amines from aromatic nitro compounds, azo dyes, and glucuronides. J Natl Cancer Inst 1984; 73:689-695

GOURNIER-CHATEAU N, Criteres de Selection des Souches Probiotiques, 1994, 69-80.

GÖNÇ S., AKÇİÇEK E., AKALIN A., Yoğurdun Terapotik Etkisi, E.Ü.Z.F. Dergisi 1990; 27, 2, 245-264.

GÖNÇ S., AKALIN AS., Yoğurtta Canlı Olarak Bulunan *Lactobacillus acidophilus* ve *Lactobacillus bifidus* 'un Organizma ve Sağlık Üzerine Etkisi. Gıda Dergisi, 1995; 2, 75-80.

GÖNÇ S., AKALIN AS., DÜZEL S., Farelerde Serum Kolesterol Düzeyi Üzerine *acidophilus* Yoğurdunun Etkisi. 1996, Proje No: VHAG-1168, İzmir.

GUARNER F., MALAGELADA J-R., Gut flora in health and disease. Lancet 2003; 360: 512-519.

GÜRGÜN V, HALKMAN K., Mikrobiyolojide Sayım Yöntemleri; 2. Baskı. 1990.Gıda Teknolojisi Derneği Yayın no 7. Ankara

GÜRSEL A, FİŞEK NH, Yoğurt Florası ve Yoğurdun Bakterisit Tesiri,Türk Hijyen ve Tecrübi Bio. Der,1953,40-50.

GROSS E., MORRELL JL., The Presence Of Dehydroalanine in the Antibiotic Nisin and it's Relationship to Activity.Journal of the American Chemical Society,1967,89,2791-2.

HAENEL H,MÜLLER-BEUTHOW W,SCHEUNERT A, Zum Bild der Normalen Dickdarmflora, Klinische Wochenschr 1956, 34,1137.

HAENEL H, Zur Beziehungen Zwischen Sauermilcherzeugnissen und der Dermbesiedlung.,Milchwissenschaft,1963,18,221-224.

HATA Y., YAMAMOTO M., OHNI M, NAKAJIMA K., NAKAMURA Y., TAKANO T. A placebo-controlled study of the effect of sour milk on blood pressure in hypertensive subjects. Am J Clin Nutr 1996; 64: 767-771.

HATAKKA K., MARTIO J., KORPELA M., et al. Effects of probiotic therapy on the activity and activation of mild rheumatoid arthritis--a pilot study. Scand J Rheumatol 2003; 32: 211-215.

HAMILTON-MILLER JM., The role of probiotics in the treatment and prevention of Helicobacter pylori infection. Int J Antimicrobial Agents 2003; 22: 360-366.

HAMILTON-MILLER JM. ,Probiotics and prebiotics in the elderly. Postgrad Med J 2004; 80: 447-451.

HARGROVE R., ALFORD J., Growth rate and feed efficiency of rats fed yogurt and other fermented milks. J Dairy Sci 1978;61:11-19.

Harv Womens Health Watch, Health benefits of taking probiotics. We take vitamins and minerals to safeguard our health. Should we also add a daily dose of bacteria? 2005; 12: 6-7.

HERTELIUS MS., GORBACH L., MOLLBY R., NORD CE., PETTERSSON L., WINBERG J 1989. Elimination of vaginal colonization with Escherichia coli by administration of indigenous flora,Infect.Immun.1989,57,2447-2451.

HILL HS., GUARNER F., Probiotics and human health: a clinical perspective. Postgrad Med J 2004; 80: 516-526.

HOESL CE., ALTWEIN JE., The probiotic approach: an alternative treatment option in urology. *Eur Urol* 2005; 47: 288-296.

HOWARD E. RUBIN, THOMAS NERAD, FRIZELL VAUGHAN Lactate Acid Inhibition of *Salmonella Typhimurium* in Yogurt Department of Environmental and Industrial Health, School of Public Health, *Journal of Dairy Science* ,1982;Vol. 65 No. 2 197-203.

HOYOS AB. Reduced incidence of necrotizing enterocolitis associated with enteral administration of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium infantis* to neonates in an intensive care unit. *Int J Infect Dis* 1999; 3: 197-202.

HUANG JS., BOUSVAROS A., LEE JW., DIAZ A., DAVIDSON EJ., Efficacy of probiotic use in acute diarrhea in children: a meta-analysis. *Dig Dis Sci* 2002; 47: 2625-2634.

HURST A., Nisin. advanced in *Applied Microbiology*, 1981, 27, 85-123.

ISOLAURI E., SALMINEN S., OUWEHAND AC., Probiotics. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2004; 18: 299-313.

JARVIS B, JEFFCOAT J, CHEESEMAN GC, Molecular weight distribution of nisin., *Biochim Biophys Acta*. 1968 Sep 10;168(1):153-5.

JONKERS D., STOCKBRÜGGER R., Probiotics and inflammatory bowel disease. *J R Soc Med* 2003; 96: 157-171.

JOHNSON-HENRY KC., MITCHELL DJ., AVITZUR Y., GALINDO- MATA E., JONES NL., SHERMAN PM., Probiotics reduce bacterial colonization and gastric inflammation in *H. pylori*-infected mice. *Dig Dis Sci* 2004; 49: 1095-1102.

KALLIOMAKI M., SALMINEN S., ARVILOMMI H., et al. Probiotics in primary prevention of atopic disease: a randomized placebo-controlled trial. *Lancet* 2001;357: 1076-1079.

KAMPMAN E., GOLDBOHN RA., van den Brandt PA, van't Veer P. Fermented dairy products, calcium, and colorectal cancer in The Netherlands Cohort Study. *Cancer Res* 1994; 54: 3186-3190.

KLEBANOFF S J., HILLIER S L., ESCHENBACH D A., WALTERSDORPH A M., Control of the microbial flora of the vagina by H₂O₂-generating lactobacilli, *J. Infect. Dis.* 1991, 164, 94-100.

KLUPSCH, H.J., 1984, Produktverbesserung am Beispiel Kefir. Deut-Mol-Zeit., 15,466-473.

KILIÇ S.,Yoğurt kültürünü oluşturan *L.blgaricus* ve *S.thermophilus* bakterilerinin antibakteriyel Özellikleri üzerine bir araştırma.Gıda,1990,16(4)249-253.

KOTZ CM., PETERSON LR., MOODY JA., SAVAIANO DA., LEVITT MD., In vitro antibacterial effect of yogurt on *Escherichia coli*. Dig Dis Sci. 1990 May;35(5):630-7.

KOPP-HOOLIHAN L. Prophylactic and therapeutic uses of probiotics: a review. J Am Diet Assoc 2001; 101: 229-238.

KOROLEVA, P.J., 1988-1. Starter for fermented milks. Bulletin of IDF, 227,35-40.

KOROLEVA, P.J., 1988-2. Tecnology of kefir and kumyss. Bulletin of İDF, 227,96-100.

KOUTSOUMANİS K.P.,KENDALL P.A., SOFOS J.N. Modeling the Boundaries of Growth of *Salmonella Typhimurium* in Broth as a Function of Temperature, Water Activity, and pH, Journal of Food Protection®, Volume 67, Number 1, 1 January 2004 , pp. 53-59(7)

KRAUS TA., MAYER L., Oral tolerance and inflammatory bowel disease. Curr Opin Gastroenterol 2005; 21: 692-696.

KRUIS W., FRIC P., POKROTNIEKS J., et al. Maintaining remission of ulcerative colitis with the probiotic *Escherichia coli* Nissle 1917 is as effective as with standard mesalazine. Gut 2004; 53: 1617-1623.

LEMBCKE A, Einfluss Saurer Milcherzeugnisse auf die Darmflora, Milchwissenschaft,1963 18,215-221.

LIBUDZSIS Z., PIATKIEWICZ A.,Kefir production in Poland.Dairy Industries International.1990;55:31-33

LIN HC., SU BH., CHEN AC., et al. Oral probiotics reduce the incidence and severity of necrotizing enterocolitis in very low birth weight infants. Pediatrics 2005; 115: 1-4.

LODINOVA-ZADNIKOVA R., CUKROWSKA B., TLASKALOVA- HOGENOVA H., Oral administration of probiotic *Escherichia coli* after birth reduces frequency of allergies and repeated infections later in life (after 10 and 20 years). Int Arch Allergy Immunol 2003; 131: 209-211.

MASCO, LIESBETH; MARCO VENTURA, RALF ZINK, GEERT HUYS1, JEAN SWINGS (July 2004). "Polyphasic taxonomic analysis of *Bifidobacterium animalis* and

Bifidobacterium lactis reveals relatedness at the subspecies level: reclassification of *Bifidobacterium animalis* as *Bifidobacterium animalis* subsp. *animalis* subsp. nov. and *Bifidobacterium lactis* as *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* subsp. nov.". *Int J Syst Evol Microbiol* 54 (part 4): 1137–1143. doi:10.1099/ij.s.0.03011-0.

MANNING TS., GIBSON GR. ,Prebiotics. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2004; 18: 287-298.

MATSUZAKI, T., Immunomodulation by treatment with *Lactobacillus casei*. strain Shirota. *International Journal of Food Microbiology* 1998. 41, 133–140.

MCCARTHY KC., RASTALL RA., Sticking your'ose in it: prebiotics. *Biologist* 2003; 50: 259-262.

MCFARLAND LV., Normal flora: Diversity and functions. *Microb Ecol Health Dis.*,2000;12:193–207.

MCGROARTY JA., REID G., Detection of a lactobacillus substance. which inhibits *Escherichia coli*. *Can J Microbiol* 1988; 34:974-978.

MEIER R., STEUERWALD M., Place of probiotics. *Curr Opin Crit Care* 2005; 11: 318-325.

MEL'NIKOVA EU, KOROLEVA NS, Capacity of a *L.bulgaricus* and *S.thermophilus* Starter of Produce Antibiotic Substance DSA 1975,37,7,4329.

MOHAN JC., ARORA R., KHALILULLAH M., Short-term hypolipidemic effects of oral *Lactobacillus sporogenes* therapy in patients with primary dyslipidemias. *Indian Heart J* 1990; 42: 361-364.

OKKERS, D. J., DICKS, L. M., SILVESTER, M., JOUBERT, J. J., ODENDAAL, H. J. Characterzation of pentocin TV35b,A bacteriocin like peptide isolated from *Lactobacillus pentosus* with a fungistatic effect on *Candida albicans*,*J.Appl.Microbiol.*1999,87,726-734.

OOZEER R, GOUPIL-FEULLERAT N, ALPERT CA, VAN DE GUCHTE M, ANBA J, MANGAUD J, CORTHEIR G , *Lactobacillus casei* is able to survive and initiate protein synthesis during transit in the digestive tract of human flora-associated mice. *Appl Environ Microbiol* 2003; Jul;68(7):3570-3574.

OUWEHAND A, SALMINEN S, ISOLAURI E. Probiotics: an overview of beneficial effects. *Antonie van Leeuwenhoek* 2002; 82: 279-289.

OUWEHAND A., VESTERLUND S., Health aspects of probiotics. *Drugs* 2003; 6: 573-580.

PANT AR., GRAHAM SM., ALLEN SJ., et al. Lactobacillus GG and acute diarrhea in young children in the tropics. *J Trop Pediatr* 1996; 42:162-5.

PENNER R., FEDORAK RN., MADSEN KL., Probiotics and nutreaceuticals: non-medicinal treatments of gastrointestinal diseases. *Curr Opin Pharmacol* 2005; 5: 1-8.

PETROF EO., KOJIMA K., ROPELESKI MJ., et al. Probiotics inhibit nuclear factor-kappaB and induce heat shock proteins in colonic epithelial cells through proteasome inhibition. *Gastroenterology* 2004; 127: 1474-1487.

PERELMUTER K., FRAGA M., ZUNINO P., In vitro activity of potential probiotic *Lactobacillus murinus* isolated from the dog. *J Appl Microbiol.* 2008 Jan 9.

PULLUSANI SR, RAO R, SUNKI GR, Antimicrobial Activity of Lactic cultures, Partial Purification and Characterisation of Antimicrobial Compound Produced by *S. thermophilus*. *J. Food Sci*,1979,44,575.

RASTALL RA., MAITIN V., Prebiotics and synbiotics: towards the next generation. *Curr Opin Biotechnol* 2002; 13: 490-496.

RAZ R., STAMM W., A controlled trial of intravaginal estriol in postmenopausal women with recurrent urinary tract infections. *N.Engl.J.Med.*1993,329,753-756.

REDDY GV, SHAHANI KM, FRIEND BA, CHANDAN R, Naturel antibiotic activity of *L. acidophilus* and *L. bulgaricus*. Production and partial Purification of bulgarican from *L. bulgaricus*. *J.Cultured Dairyprot.*May 1984 7-11.

REID G., Probiotics for urogenital health. *Nutr Clin Care* 2002; 5: 3-8.

REID G., JASS J, SEBULSKY MT, MCCORMICK JK., Potential uses of probiotics in clinical practice. *Clin Microbiol Rev* 2003-a; 16: 658-672.

REID G., BOCKING A., The potential for probiotics to prevent bacterial vaginosis and preterm labor. *Am J Obstet Gynecol* 2003-b; 189: 1202-1208.

REID G., HAMMOND JA., Probiotics. Some evidence of their effectiveness. *Can Fam Physician* 2005; 51: 1487-1493.

RODRIGUES K, GAUDINO CAPUTO L, CARVALHO JT, EVANGELISTA J AND SCHNEEDORF JM, Antimicrobial and healing activity of kefir and kefiran extract, 2005, *Int.J.of.Antimicrobial Agents*,Vol.25,5,404-408.

SAAVEDRA JM., BAUMAN NA., OUNG I., PERMAN JA., YOLKEN RH.,
Feeding of Bifidobacterium bifidum and Streptococcus thermophilus to infants in hospital
for prevention of diarrhoea and shedding of rotavirus. *Lancet* 1994; 344: 1046-1049.

SALMINEN SJ, GUEIMONDE M, ISOLAURI E. Probiotics that modify disease risk.
J Nutr 2005; 135: 1294-1298. 33. Kaur IP, Chopra K, Saini A. Probiotics: potential
pharmaceutical applications. *Eur J Pharma Sci* 2002; 15: 1-9.

SAMONE A, ROBINSON R, Effect of yoğhurt cultures on the Survival of
Bifidobacteria in Fermented milks. *J. Soc. Dairy tech*, 1994, 47(2), 58-60.

SANDERS ME., Probiotics: considerations for human health. *Nutr Rev* 2003; 61: 91-
99.

SARTOR RB., Probiotic therapy of intestinal inflammation and infections. *Curr Opin
Gastroenterol* 2004; 21: 44-50.

SENOK AC., ISMAEEL AY., BOTTA GA., Probiotics: facts and myths. *Clin
Microbiol Infect* 2005; 11: 958-966

SHANAHAN F., Probiotics in inflammatory bowel disease -therapeutic rationale and
role. *Adv Drug Deliv Rev* 2004; 56: 809- 818.

SHAHANI K. M. ,, CHANDAN R.C., Nutritional and Helthful aspects of cultured
and culture containing dairy foods. *J. Of Dairy Sci.* 1979; 62, 1685-1694.

SHAHANI, K.M. et al. (1983) Antitumor activity of fermented colostrum and milk. *J.
Food Protection*, 46:385-6.

SHEIL B., MCCARTHY J., O'MAHONY L., et al. Is the mucosal route of
administration essential for probiotic function? Subcutaneous administration is associated
with attenuation of murine colitis and arthritis. *Gut* 2004; 53: 694-700.

SHIMAZAKI Y., SHIROTA T., UCHIDA K., YONEMOTO K., KIYOHARA Y.,
IIDA M., SAITO T., YAMASHITA Y., Intake of dairy products and periodontal disease: the
Hisayama Study. *J Periodontol.* 2008 Jan; 79(1):131-7

SJAZEWSKA H., KOTOWSKA M., MRUKOWICZ J., et al. Lactobacillus GG in
prevention of diarrhea in hospitalized children. *J Pediatr* 2001; 138: 361-365.

SPILMANN VH, PUHAN Z, BANHEGYI M, Antimicrobielle Aktivat Termophiler
Lactobazillen, *Milchwissensch*, 1978, 33, 3, 148-153.

SULLIVAN A., NORD CE., Probiotics and gastrointestinal diseases. J Intern Med 2005; 257: 78-92.

TAGG JR, DAJANI AS, VANNAMAKER LV, Bacteriocin of gram Positive Bacteria. Bacteriological Reviews,1976,40,721-756.

TAKAHASHI F, KAWAKAMI H. Antibacterial action of kefir against. E.coli O157:H7. Jpn J Food Microbiol 1999;16:245-247. 31.

TARANTO MP., MEDICI M., PERDIGON G., RUIZ HOLGADO AP., VALDEZ GF., Evidence for hypocholesterolemic effect of Lactobacillus reuteri in hypercholesterolemic mice. J Dairy Sci 1998; 81: 2336-2340.

TOKUNAGA T., Novel physiological function of fructooligosaccharides. BioFactors 2004; 21: 89-94.

TODOROV D.,The bactericidal Properties of Yoghurt Organisms.D.S.A.1962,24(6)1716.

TURANTAŞ F.,Fermentasyonda Rol Oynayan Mikroorganizmalar.Gıda Mikrobiyolojisi(A.Ünlütürk,F.Turantaş editör),1998,433-453.Mengi Tan Basımevi .

TÜRKOĞLU H, ATASOY F, ÖZER B, Şanlıurfa İlinde Üretilen Ve Satışa Sunulan Süt Yoğurt ve Urfa Peynirlerinin Bazı Kimyasal Özellikleri, HR. Ü.Z.F.Dergisi, 2003, 7 (3-4):69-76.

ÜNLÜTÜRK, A. , TURANTAŞ, F.(Editörler) Gıda Mikrobiyolojisi. Üçüncü baskı. Meta Basım Matbaacılık Hizmetleri, 606 s.,(2003). İzmir.

VAARALA O., Immunological effects of probiotics with special reference to lactobacilli. Clin Exp Allergy 2003; 33: 1634-1640.

VANDERHOOF JA., YOUNG RJ., Current and potential uses of probiotics. Ann Allergy Asthma Immunol 2004; 93 (Suppl 3): S33-S37.

VELRAEDS MC, VAN DER BELT B, VAN DER MEI HC, REID G, BUSSCHER HJ, Interference in Initial Adhesion of Uropathogenic Bacteria and Yeast Silicone Rubber by a L. acidophilus Biourfactant, J.Med. Microbio.,1998, 49,790-794.

WASSERFALD F, Die Rolle der Saver Milchproducte in der Rekonvoleszenz, Schweiz, Milchzeitg, 1973,99,39.

www.wikipedia.org^a

www.foodinfo.net^b

www.dannonprobioticscenter.com^c

www.kefir.com.tr^d

www.gidamikrobiyolojisi.org^e

YALÇIN S, YURDAKÖK K. Gastrointestinal sistem hastalıklarında probiyotik kullanımı. Katkı Pediatri. Dergisi 2000; 21(1): 122-138.

YAYGIN, H. 1984. Kefir ve Özellikleri, Rapor, 17 ocak 1984, 2.

YAYGIN, H., 1999. Yoğurt Teknolojisi, Akdeniz Üniv. Yayınları, 75. Akdeniz Üniv. Basımevi, 164-173, Antalya.

YOUNG RJ., HUFFMAN S., Probiotic use in children. J Pediatr Health Care 2003; 17: 277-283.

ZUBILLAGA M., WEILL R., POSTAIRE E., GOLDMAN C., CARO R., BOCCIO J., Effect of probiotics and functional foods and their use in different diseases. Nutr Res 2001; 21: 569-579.

7. TABLOLAR VE RESİMLER LİSTESİ

Tablo 1:McFarland Bulanıklığı Skalası

Tablo 2: Farklı ürünlerin *Escherichia coli* ATCC 25922 kültüründe 24.,48. saatlerde ve 7. günde oluşturduğu antimikrobiyal etki *

Tablo 3: Farklı ürünlerin *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 kültüründe 24.,48. saatlerde ve 7. günde oluşturduğu antimikrobiyal etki *

Tablo 4: Farklı ürünlerin *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 kültüründe 24.,48. saatlerde ve 7. günde oluşturduğu antimikrobiyal etki *

Tablo 5: Farklı ürünlerin *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 kültüründe 24.,48. saatlerde ve 7. günde oluşturduğu antimikrobiyal etki *

Tablo 6: Ev yapımı geleneksel yoğurdun oluşturduğu etkinin bazı gıda kaynaklı patojenler için istatistiksel olarak karşılaştırılması **

Tablo 7: Ticari geleneksel yoğurdun oluşturduğu etkinin bazı gıda kaynaklı patojenler için istatistiksel olarak karşılaştırılması **

Tablo 8: Ticari olarak üretilen kefirin oluşturduğu etkinin bazı gıda kaynaklı patojenler için istatistiksel olarak karşılaştırılması **

Tablo 9: Ticari olarak üretilen biogard kültürlü probiyotik yoğurdun oluşturduğu etkinin bazı gıda kaynaklı patojenler için istatistiksel olarak karşılaştırılması **

Tablo 10: Kontrol olarak kullanılan laktik asitin oluşturduğu etkinin bazı gıda kaynaklı patojenler için istatistiksel olarak karşılaştırılması **

Resim 1: Disklerin laminar air flow'da patojen inoküle edilmiş besiyerleri üzerine yerleştirilmesi

Resim 2: *Staphylococcus aureus* üzerinde kontrol olarak kullanılan laktik asitin inhibisyon zonu oluşturulmaması

Resim 3: Kefirin 48. saatte *Salmonella typhimurium* örneklerinde oluşturduğu inhibisyon zonu

*Veriler oluşan zonların mm olarak ölçümüdür. Ortalamalar ve standart sapma değerleri verilmiştir. Ortalamalar üzerindeki harfler (a,b,c,d,e) sütun karşılaştırmalarını, altlarında yer alan harfler (x,y,z) satır karşılaştırmalarını göstermektedir. Harflerin farklı olması değerlerin istatistiksel açıdan farklı ($P<0.05$) olduğunu göstermektedir. Aynı harflerle gösterilen değerler istatistiksel açıdan birbirinden farklı değildir.

**İstatistiksel açıdan farklı değerler farklı sütunlarda gösterilmiştir. Aynı sütuna denk düşen değerler istatistiksel açıdan farklı ($P<0.05$) değildir. Sonuçlar büyüklüklerine göre sağdan sola yerleştirilmiştir. En sağdaki sütun en büyük değeri göstermektedir.

Tablo 1: McFarland Bulanıklığı Skalası

Tüp No	0.5	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
% 1 H ₂ SO ₄	9.95	9.9	9.8	9.7	9.6	9.5	9.4	9.3	9.2	9.1	9
% 1 BaCl ₂	0.05	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9	1
Karşılık Gelen Bakteri Hücre Sayısı 10 ⁶ /ml	150	300	600	900	1200	1500	1800	2100	2400	2700	3000

Tablo 2: Farklı ürünlerin *Escherichia coli* ATCC 25922 kültüründe 24.,48. saatlerde ve 7. günde oluşturduğu antimikrobiyal etki (n=5)*

Probiyotik Kaynağı Çeşidi ve Kontrol Grupları	24 saat	48 saat	7.gün
	X ± SD (n=5)	X ± SD (n=5)	X ± SD (n=5)
Ev Yoğurdu	21.9±0.46 ^b _y	24.0±0.23 ^b _x	0±0 ^c _z
Ticari Yoğurt	18.2±0.23 ^c _x	18.4±0.34 ^c _x	14.4±0.38 ^b _y
Ticari Biogard	14.1±0.35 ^e _x	0.00±0.00 ^d _y	0.00±0.00 ^c _y
Ticari Kefir	16.7±0.79 ^d _x	0.00±0.00 ^d _y	0.00±0.00 ^c _y
Seftriakson	38.4±0.16 ^a _y	39.9±0.26 ^a _x	36,0±0.37 ^a _z
Laktik Asit	0.00±0.00 ^f _x	0.00±0.00 ^d _x	0.00±0.00 ^c _x

Tablo 3: Farklı ürünlerin *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 kültüründe 24.,48. saatlerde ve 7. günde oluşturduğu antimikrobiyal etki (n=5)*

Probiyotik Kaynağı Çeşidi ve Kontrol Grupları	24 saat	48 saat	7.gün
	X ± SD (n=5)	X ± SD (n=5)	X ± SD (n=5)
Ev Yoğurdu	28.6±0.79 ^b _y	30.4±0.79 ^b _x	14.4±0.29 ^c _z
Ticari Yoğurt	23.0±0.67 ^c _y	24.2±0.36 ^c _x	16.2±0.71 ^b _z
Ticari Biogard	19.9±0.79 ^d _x	0.00±0.00 ^e _y	0.00±0.00 ^d _y
Ticari Kefir	14.0±0.11 ^e _y	22.1±0.17 ^d _x	0.00±0.00 ^d _z
Seftriakson	32.3±0.25 ^a _z	38.2±0.18 ^a _x	36.4±0.25 ^a _y
Laktik Asit	0.00±0.00 ^f _x	0.00±0.00 ^e _x	0.00±0.00 ^d _x

Tablo 4: Farklı ürünlerin *Salmonella typhimurium* ATCC 14028 kültüründe 24.,48. saatlerde ve 7. günde oluşturduğu antimikrobiyal etki (n=5)*

Probiyotik Kaynağı Çeşidi ve Kontrol Grupları	24 saat	48 saat	7.gün
	X ± SD (n=5)	X ± SD (n=5)	X ± SD (n=5)
Ev Yoğurdu	31.9±0.49 ^b _z	38.68±1.77 ^a _x	36.7±0.38 ^a _y
Ticari Yoğurt	24.0±0.40 ^c _z	28.4±0.23 ^c _y	32.5±0.43 ^d _x
Ticari Biogard	17.2±0.52 ^d _z	22.3±0.28 ^d _y	29.9±0.30 ^d _x
Ticari Kefir	14.04±0.34 ^e _z	20.5±0.39 ^e _y	35.3±0.67 ^c _x
Seftriakson	35.7±0.37 ^a _x	35.0±0.33 ^b _y	35.9±0.51 ^b _x
Laktik Asit	14.20±0.23 ^e _z	22.6±1.01 ^d _x	20.5±0.65 ^f _y

Tablo 5: Farklı ürünlerin *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 kültüründe 24.,48. saatlerde ve 7. günde oluşturduğu antimikrobiyal etki (n=5)*

Probiyotik Kaynağı Çeşidi ve Kontrol Grupları	24 saat	48 saat	7.gün
	X ± SD (n=5)	X ± SD (n=5)	X ± SD (n=5)
Ev Yoğurdu	16.3±0.30 ^d _x	16.5±0.37 ^c _x	14.3±0.33 ^b _y
Ticari Yoğurt	20.4±0.40 ^c _x	18.7±0.68 ^b _y	14.3±0.25 ^b _z
Ticari Biogard	14.4±0.28 ^e _x	0.00±0.00 ^d _y	0.00±0.00 ^c _y
Ticari Kefir	0.00±0.00 ^f _x	0.00±0.00 ^d _x	0.00±0.00 ^c _x
Seftriakson	40.6±0.44 ^a _x	38.5±0.34 ^a _y	30.5±0.45 ^a _z
Laktik Asit	22.5±0.36 ^b _x	0.00±0.00 ^d _y	0.00±0.00 ^c _y

Tablo 6: Ev yapımı geleneksel yoğurdun oluşturduğu etkinin bazı gıda kaynaklı patojenler için istatistiksel olarak karşılaştırılması (P<0.05) **

Gıda Kaynaklı Patojenler	İnhibisyon zonu (mm)		
	1	2	3
<i>E. coli</i> ATCC 25922	15,3000		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	15,7000		
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923		24,3333	
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028			35,7333

Tablo 7: Ticari geleneksel yoğurdun oluşturduğu etkinin bazı gıda kaynaklı patojenler için istatistiksel olarak karşılaştırılması (P<0.05) **

Gıda Kaynaklı Patojenler	İnhibisyon zonu (mm)	
	1	2
<i>E. coli</i> ATCC 25922	17,0000	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	17,8000	
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	21,0667	
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028		28,3000

Tablo 8: Ticari olarak üretilen kefirin oluşturduğu etkinin bazı gıda kaynaklı patojenler için istatistiksel olarak karşılaştırılması (P<0.05) **

Gıda Kaynaklı Patojenler	İnhibisyon zonu (mm)		
	1	2	3
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	0000		
<i>E. coli</i> ATCC 25922	5,5667	5,5667	
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923		12,0000	
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028			23,2667

Tablo 9: Ticari olarak üretilen biogard kültürlü probiyotik yoğurdun oluşturduğu etkinin bazı gıda kaynaklı patojenler için istatistiksel olarak karşılaştırılması (P<0.05) **

Gıda Kaynaklı Patojenler	İnhibisyon zonu (mm)	
	1	2
<i>E.coli</i> ATCC 25922	4,6667	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	4,8000	
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	6,3333	
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028		23,1333

Tablo 10: Kontrol olarak kullanılan laktik asidin oluşturduğu etkinin bazı gıda kaynaklı patojenler için istatistiksel olarak karşılaştırılması ($P<0.05$) **

Gıda Kaynaklı Patojenler	inhibisyon zonu (mm)	
	1	2
<i>E.coli</i> ATCC 25922	0000	
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	0000	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	7,5000	
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028		19,1000

*Veriler oluşan zonların mm olarak ölçümüdür. Ortalamalar ve standart sapma değerleri verilmiştir. Ortalamalar üzerindeki harfler (a,b,c,d,e) sütun karşılaştırmalarını, altlarında yer alan harfler (x,y,z) satır karşılaştırmalarını göstermektedir. Harflerin farklı olması değerlerin istatistiksel açıdan farklı ($P<0.05$) olduğunun göstermektedir. Aynı harflerle gösterilen değerler istatistiksel açıdan birbirinden farklı değildir.

**İstatistiksel açıdan farklı değerler farklı sütunlarda gösterilmiştir. Aynı sütuna denk düşen değerler istatistiksel açıdan farklı ($P<0.05$) değildir. Sonuçlar büyüklüklerine göre sağdan sola yerleştirilmiştir. En sağdaki sütun en büyük değeri göstermektedir.

Resim 1: Disklerin laminar air flow'da patojen inoküle edilmiş besiyerleri üzerine yerleştirilmesi



Resim 2: *Staphylococcus aureus* üzerinde kontrol olarak kullanılan laktik asidin inhibisyon zonu oluşturmaması



Resim 3: Kefirin 48. saatte *Salmonella typhimurium* örneklerinde oluşturduğu inhibisyon zonu



8. ÖZGEÇMİŞ

27.10.1977 tarihinde Ankara'da doğdum. İlk ve orta öğrenimimi Ankara'da tamamladım. 1996-2000 eğitim yıllarında Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji bölümünde lisans eğitimi aldım. 2001-2002 eğitim yılında ODTÜ Yabancı Diller Yüksek Okulunda İngilizce Yüksek Lisans Hazırlık eğitimi aldım. Eylül 2000-Aralık 2005 yıllarında Gata Tıbbi Onkoloji Kemik İliği Transplant Ünitesinde Biyolog olarak görev yaptım. 2006 -2007 güz eğitim döneminde Dicle Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji bölümünde yüksek lisans eğitimine başladım. Halen Diyarbakır Asker Hastanesi Patoloji laboratuvarında Biyolog olarak çalışmaktayım.

EGİTİM ve SEMİNERLER

- 10/2003 1. Ulusal Hemaferaz Kongresi, İstanbul
- 05/2003 Ulusal Tıbbi NBC Savunması Sempozyumu, GATA Ankara
- 01/2003 Hematolojide Uygulamalı Hücre Kültür Teknikleri, KTÜ Tıp Fak. Trabzon
- 06/2002 Bilgisayar Kullanım Kursu, MEB Yenimahalle A.M.L Ankara
- 06/2002 Hematopoetik Kök Hücre Naklinde Son Gelişmeler, GATA Ankara
- 05/2002 1.Hemaferaz Atölye Çalışması, Osmangazi Ün. Eskişehir
- 09/2001 Hematopoetik Kök Hücre Nakli ve Graft Mühendisliği, GATA Ankara
- 05/1996 Acil Yardım ve Savaş Alanında Temel Yaşam Desteği, GATA Ankara

BİLDİRİLER

- **S. Atlıhan**, D. Özel, R. Gürbüz, Z. Samur, F. Arpacı, A. Özet, Ş. Kömürcü, B. Öztürk, S. Ataerğın, O. Kuzhan, 2003, 1. ULUSAL Hemaferaz Kongresi Gata T. Onk. Aferez Ünitesi Aktivitesi ve Komplıkasyonlar.
- F. Arpacı, A. Özet, B. Öztürk, Ş. Kömürcü, **S. Atlıhan**, A. Pekel, S. Ataerğın, O. Kuzhan, D. Özel, R. Gürbüz, Z. Samur, K. Oysul, M. Beyzadeoğlu, 2003, 1. ULUSAL Hemaferaz Kongresi Hastalarda ve Sağlıklı Donörlerde Clinimacs ile CD 34 Seleksiyonunun Teknik değerlendirilmesi.
- F. Arpacı, A. Özet, B. Öztürk, Ş. Kömürcü, **S. Atlıhan**, A. Pekel, S. Ataerğın, O. Kuzhan, D. Özel, R. Gürbüz, Z. Samur, K. Oysul, M. Beyzadeoğlu, 2003, 29th meeting EBMT, Technical evalution of periferal CD 34 (+) selection with clinimacs in patients and healty donors: the role of column type, selection system and initial total nucleated cell number on selection quality.