

PROBİYOTİK ORİJİNLİ TİCARİ OLARAK SATILAN BAZI TAKVİYE EDİCİ GIDALARIN FARKLI VASATLARDA OLUŞTURDUKLARI SÜPERNATLARIN ANTİMİKROBİYEL ETKİLERİ

Emine Yurdakul Ertürk¹, Elif Çil^{2*}, Ömer Ertürk³

ÖZET

Doğumdan itibaren oluşmaya başlayan normal mikrofloramız dengesiz beslenme, antibiyotiklere maruz kalma gibi sebeplerle bozulabilmektedir. Günümüzde ticari olarak satışa sunulan ve sayıları her geçen gün artan takviye edici gıdaların patojen mikroorganizmalarla yarışarak, gastrointestinal sistem ve bağışıklık sistemi üzerinde pek çok olumlu etkisi olduğu bilinmektedir. Bu çalışmada probiyotik orijinli olan altı farklı takviye edici gıdanın dört farklı vasatta (su, süt, yoğurt ve portakal suyu) geliştirilmesiyle oluşan süpernatantların antimikrobiyel özellikleri, pH değişimleri ve H₂O₂ birikimleri incelendi. Antimikrobiyel aktivite için tercih edilen disk difüzyon yöntemi, dört Gram pozitif, beş Gram negatif bakteri ve iki mikrofungus olmak üzere toplam onbir organizmayla gerçekleştirildi. Çalışmada en etkili vasatların süt ve su olduğu görüldü.

Anahtar kelimeler: Probiyotik, disk difüzyon, H₂O₂

GİRİŞ

Probiyotik yunanca "yaşam için" anlamına gelen, insan ve hayvanların doğal mikroflorasına ait özellikleri geliştiren, tüketilmeleri sonucunda ağızda, sindirim sisteminde, üst solunum yollarında ya da ürogenital kanallarda yararlı etkileri ile konakçının sağlığını koruyan, buralarda oluşan enfeksiyonların iyileşmesine katkıda bulunan, tek veya karışık mikroorganizma kültürleridir [1, 2]. Probiyotikler ilk kez Parker tarafından 1974 yılında intestinal mikroflora üzerinde yararlı etkileri olan ilave tamamlayıcı yiyecekler olarak tanımlanmıştır. Fuller 1989'da "konak hayvanın yararına olacak şekilde intestinal mikrobiyal dengesini iyileştiren canlı mikrobiyal besin katkısı" olarak probiyotik tanımını güncellemiştir. [3].

Doğum esnasında bebeğin bağırsakları steril olmasına rağmen, doğumdan hemen sonra çevrede bulunan mikroorganizmalar ile hızlı bir şekilde bebeğin kendi bağırsak florası oluşmaya başlar. Oluşmaya başlayan ilk bağırsak florasında *Escherichia coli* ve Streptokoklar baskındır. Çocuk ek gıdalar tüketmeye başladıktan sonra erişkin florası yönünde değişiklikler olmaya başlar. İkinci yılın sonuna doğru erişkin florasına benzer bir flora oluşur ve probiyotik mikroorganizmaları da içeren bu flora yaşam boyu devam eder

* ¹ Ordu Üniversitesi Tıp Fakültesi Dahili Tıp Bilimleri Bölümü Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AbD,

² Ordu Üniversitesi Eğitim Fakültesi İlköğretim Bölümü Fen Bilgisi Eğitimi AbD, ³ Ordu Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Mikrobiyoloji AbD. Yazışmalardan sorumlu yazar
elifdemir80@gmail.com

[4]. Probiyotik mikroorganizmalar bağırsaklarda oluşturdıkları mikrobiyel denge ile hastalık etkeni mikroorganizmalardan korunmayı, bağışıklık sisteminin güçlenmesini, vitamin sentezini ve çeşitli besinlerin sindirimini sağlar.

Probiyotik bakterilerin etkili olabilmeleri için bazı şartlar vardır. Bunlara örnek olarak gastrointestinal kanallarda canlı kalabilmesi, gastrointestinal sistemde ve epitel hücre duvarlarında koloni oluşturabilmesi dolayısıyla sindirim enzimlerine ve safra tuzuna dayanıklı olması verilebilir. Mukozadan salgılanan mukoz madde salınımını artırarak, içerisindeki mükün maddesini enerji kaynağı olarak kullanıp, çoğalır. Probiyotik bakteriler bağırsak duvarına tutunarak, zararlı patojenlerle adhezyon ve invazyon için yarışır. [5]. Ayrıca ürettikleri antimikrobiyel maddelerle de (asitler, reutein gibi bakteriyosinler) patojen bakterilerin çoğalmalarını kontrol altına almaktadırlar. Probiyotik bakterilerin antimikrobiyel etkisi laktik asit, hidrojen peroksit ve antibiyotik benzeri maddelerin üretiminden kaynaklanmaktadır [6].

Probiyotik bakteriler genel olarak Laktik asit bakterileri olarak bilinirler. Yoğurt yapımında kullanılan mikroorganizmalar (*Lactobacillus bulgaricus* ve *Streptococcus thermophilus*) dışında tüm laktik asit bakterileri bağırsak florasında doğal olarak yaşayabilir [7]. Probiyotik bakterilerden en iyi bilinenleri ince bağırsakta yaşayabilen *Lactobacillus* türleri ve kalın bağırsakta koloni oluşturabilen Bifidobakterilerdir [8]. Bu iki cinsin dışında bazı *Bacillus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Propionibacterium*, *Leuconostoc* türleri de probiyotik bakteriler olarak bilinmektedir. *Saccharomyces*, *Candida* ve *Aspergillus* ise probiyotik olarak kullanılan bazı küf ve mayalara örnektir. Çalışmamızda da kullandığımız *Saccharomyces boulardii* ilk kez Dr. Boulard tarafından Uzakdoğuda yetişen tropikal bir meyvenin kabuğundan izole edilen bir maya mantarındır [9].

Probiyotik olarak kullanılacak bir ürünün güvenilir olması, kullanıldığı insan ve hayvanda yan etkisi olmaması, stabil olması, düşük pH ve safra tuzları gibi olumsuz çevre koşullarından etkilenmeden midede canlı kalabilmesi ve bağırsakta metabolize olması, antimikrobiyel maddeler üreterek patojenik bakterilere antimikrobiyel etki göstermesi, antibiyotiklere dirençli olması istenmektedir. Antibiyotiğe bağlı ortaya çıkan hastalıklarda bağırsak florasını düzeltmek amacı ile kullanılabileceklerinden, bağırsaktaki antibiyotiklerden etkilenmemeli ve gıdalara ilave edildiğinde kaliteyi düşürmemelidirler [10,11].

Probiyotik bakterilerin patojen bakterilere karşı antibakteriyel etkileri olduğu gibi ayrıca alerjik hastalıklar ve bağışıklık sistemi üzerine olumlu birçok etkileri bilinmektedir. Laktik asit bakterilerinin oluşturduğu antimikrobiyel etmen ve özellikleri, pH'nın ve peptid olmayan inhibitörlerin oluşumu, antibakteriyel etkiye sahip H₂O₂ ile asetik, ketoglutarik, melonik asit gibi organik asitleri içeren diğer bileşiklerin oluşumu ve bakteriyosinlerden kaynaklanmaktadır [12].

Bu çalışmada bazı probiyotik ilaçların içerisinde yer alan ve genellikle laktik asit üreten bakteriler olan *Saccharomyces boulardii*, *Lactobacillus reuteri*, *Bifidobacterium animalis* subsp. Lactis (BB-12), *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium infantis* (karışım), *Saccharomyces boulardi* ve *Bifidobacterium lactis* gibi probiyotiklerin farklı sıvılar (su, süt, yoğurt ve portakal suyu) içerisinden büyütülmesi sonucu oluşan vasatların bazı patojen mikroorganizmalar üzerine mikrobiyal etkilerine bakılacak ayrıca bu probiyotiklerin hangi sıvı ile alınması daha etkili bir antimikrobiyel etki oluşturacağı test edildi.

MATERYAL VE METOT

Araştırma Ordu Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarında, kültür koleksiyonlarından temin edilmiş dokuz bakteri, iki mikrofungus ve ticari olarak satılan altı farklı takviye edici gıda ile yürütüldü.

Probiyotik Bakterilerinin Büyütülmesi ve Süpernatantların Oluşturulması

Ticari olarak satılan bazı takviye edici gıdalar temin edilip, laboratuvar kodu verildi. Aşağıdaki tabloda çalışmada kullanılan takviye edici gıdaların laboratuvar kodları, içerdiği probiyotik miktarı ve katkı maddeleri verilmiştir (Tablo 1).

Tablo 1. Çalışmada kullanılan ticari olarak satılan probiyotikler

Laboratuvar kodu	Probiyotik bakteri içeriği	Katkı maddesi
F1	<i>Saccharomyces boulardii</i> (5×10^9 cfu/flakon)	10 mg çinko, fruktoz, palatinoz, mannitol
B2	<i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. Lactis (BB-12)	Maltodekstrin
M3	<i>Bifidobacterium lactis</i> (B94) (5×10^9 cfu/flakon)	Hindiba İnülini (900 mg), maltodekstrin
Bi4	<i>Lactobacillus reuteri</i> (1×10^8 cfu/tablet)	İzomalt, ksilitol, hidrojene palmiye yağı, limon aroması, sitrik asit
D5	<i>Saccharomyces boulardii</i> (250 mg)	Fruktoz (464.5 mg), karışık meyve aroması (13 mg)
Bio6	<i>Bifidobacterium infantis</i> (5×10^8 cfu/flakon), <i>Bifidobacterium breve</i> (3.3×10^8 cfu/flakon), <i>Lactobacillus acidophyllus</i> (7.1×10^8 cfu/flakon)	7,5 mg çinko içerir, fruktoz

Belirtilen ortamlarda bulunan probiyotik bakteriler içerisinde 10 mL sıvı besiyeri, steril su/ süt/ ev yapımı yoğurt/ezme portakal suyu bulunan tüplere aktarıldı ve 37°C'de 48 saat inkübasyona bırakıldı. Bu süre sonunda 5000 rpm de 10 dakika santrifüj edildi. Elde edilen süpernatantların antimikrobiyel etkileri disk difüzyon yöntemiyle belirlendi.

Mikroorganizmalar ve Büyütülmesi

Antimikrobiyel aktivite dördü gram-pozitif, beşi gram negatif olan dokuz bakteri ve iki mikrofungus olmak üzere toplam onbir organizmayla gerçekleştirildi. Çalışmada kullanılan organizmalar ve kültür koleksiyon numaraları Tablo 2'de verilmiştir. Bakteriler Mueller Hinton Broth (MHB, Oxoid)'da 37°C'de 24-48 saat, mikrofunguslar ise Sabouraud Dextrose Broth (SDB, Oxoid)'da 30°C'de 48 saat inkübe edilerek aktifleştirildi.

Tablo 2. Antimikrobiyel aktivite testinde kullanılan mikroorganizmalar kültür koleksiyon kodları

Mikroorganizma	Kot	Mikroorganizma	Kot
<i>Staph. aureus</i>	ATCC 25923	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853
<i>Bacillus subtilis</i>	NRRL B-209	<i>Yersina enterocolitica</i>	ATCC 27729
<i>Micrococcus luteus</i>	NRRL B-1018	<i>Proteus vulgaris</i>	NRRL B-123
<i>Streptomyces murinus</i>	ISP 5091	<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922	<i>Aspergillus parasiticus</i>	NRRL-465
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC 13883		

Antimikrobiyel Aktivite Belirlenmesi

Disk difüzyon yöntemi

Antimikrobiyel aktivite, disk difüzyon yönetimine göre onbir farklı patojen kullanılarak tayin edilmiştir. Antimikrobiyel aktivitenin belirlenmesinde kullanılan disk difüzyon yönteminde; bakteriler için Mueller Hinton Agar (Oxoid), mikrofunguslar için Saboraud Dextrode Agar (Oxoid) besiyerleri kullanıldı. Çalışmada kullanılan besiyerleri, öncelikle otoklavda (1,5 Atmosfer basınç ve 121°C'de, 15 dk süreyle) steril edildi ve 45-50°C'ye kadar soğuması beklendi. Doksan mm çapındaki steril petri kutularına 20 mL besiyeri olacak şekilde döküldü ve soğumaya bırakıldı.

Tablo 2'de disk difüzyon çalışmasında kullanılan bakteri örnekleri McFarland cihazı kullanılarak 0,5 McFarland turbidite yoğunluğuna, mikrofunguslar ise 1 McFarland turbidite yoğunluğuna ayarlandı. McFarland ayarlaması yapılan bakteriler ve mikrofunguslar en geç 15 dk içinde alınarak belirtilen besiyerlerine yayma plaka yöntemi ile en az üç farklı yönde ekildi. Daha sonra, her petri kutusuna 6 adet boş disk (Oxoid, Amerika) hafifçe bastırılarak eşit mesafelerde yerleştirildi. Yukarıda bahsedilen probiyotik bakterilerinin büyüdüğü ortamlardan alınan 30'ar µL, her petri kutusundaki kendi diski üzerine teker teker damlatıldı. Bütün bu ekim işleri sırasında, steril güvenlik kabini olarak Esco Airstream kullanıldı. Ekim işlemleri tamamlandıktan sonra bakteri ekili petri kutuları 37°C'de 24 saat süreyle mikrofungus ekili petri kutuları ise, 30°C'de 48 saat süreyle iki farklı etüvde inkübe edildi. Süre sonunda besiyerleri üzerinde oluşan inhibisyon zonları, dijital kumpasla mm olarak ölçüldü. Denemeler üçer kez tekrarlandı ve elde edilen verilerin aritmetik ortalaması alındı.

Hidrojen peroksit miktarının belirlenmesi

Örneklerdeki hidrojen peroksit miktarını belirlemek için kullanılan yöntem sülfürik asit varlığında potasyum permanganatın hidrojen peroksit tarafından indirgenmesi esasına dayanmaktadır [13]. Uygun miktarda örnek asitlendirildikten sonra, konsantrasyonu sodyum okzalit ile tam olarak ayarlanmış 0,3 N 'lik KMnO_4 'le titrasyon gerçekleştirildi ve dönüm noktasında (pembe renk oluşumu) harcanan permanganat hacminden yola çıkılarak her bir örnekteki hidrojen peroksit miktarı mg/mL olarak hesaplandı.

İstatistik

İstatistiksel analizler için PASW Statistics 18 (Chicago, IL) programı kullanıldı. Çalışmada elde edilen bulgulara tek yönlü varyans analizi uygulandı ve gruplar arasındaki farklılıklar Duncan çoklu karşılaştırma testine göre değerlendirildi. Sonuçlar %95'lik güven aralığında, anlamlılık $p < 0,05$ düzeyinde değerlendirildi. Çalışmada power değeri %95 olarak dikkate alındığında, grup başına düşen sayı 50'den küçük olduğundan pH ve H_2O_2 için Shapiro-wilk'in sig. değeri $> 0,05$ olduğundan normallik göstermektedir ve gruplar homojendir. Gruplar arası farklılıklar için yapılan tek yönlü varyans analizi neticesinde pH için sig. değeri $0,024 < 0,05$ için istatistiki olarak anlamlılık arz ederken, H_2O_2 için sig. değeri $0,104 > 0,05$ için istatistiki olarak gruplar arasında anlamlı bir farklılık olmadığı görülmektedir.

ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

Zamanla bazı bakterilerin antibiyotiğe karşı direnç kazanmasıyla, patojenlerin probiyotik içeren gıdalarla doğal yolla tedavi edilmesi fikri ortaya çıkmıştır. Bağırsak mikroflorasında

bulunan probiyotik bakterilerin çeşitli hastalıklara karşı vücudu koruyucu etkisi bulunduğu bilinmektedir. Probiyotik bakteriler, laktik ve asetik asit gibi organik asitler, hidrojen peroksit ve bakteriyosin üretirler. Probiyotik bakterilerin ürettikleri organik asitlerin %90'ını laktik ve asetik asit oluşturur. Az miktarlarda ise sitrik, hippurik, orotik ve ürik asit gibi diğer asitleri üretirler [14]. Son yıllarda yapılan çalışmalar, probiyotik bakterilerin çocuklarda alerjik semptomların engellenmesinde ve *Helicobacter pylori* enfeksiyonu riskinin azaltılmasında rol oynadıklarını da ortaya koymaktadır [15]. Probiyotikler, patojenlerin üremesine ve invazyonuna birçok yolla engel olurlar. Mukus katmanı ve epitelial hücrelerdeki sınırlı sayıdaki yerler için patojen bakterilerle yarışır ve aynı zamanda patojenlerin üremek için gereksinim duydukları besin maddelerini tüketerek, patojenlerin üremesini inhibe ederler. Probiyotikler hidrojen peroksit, organik asit ve bakteriyosin gibi antimikrobiyel maddeler üretirler. Örneğin, in-vitro ve in-vivo çalışmalarda *Bifidobacterium infantis*'in *Bacteroides vulgatus*'un üremesini inhibe ettiği gösterilmiştir. Probiyotikler aynı zamanda kolonda yağ asidi profilini değiştirerek intestinal mikroflorayı değiştirebilirler. Anne sütüyle beslenen bebeklerde *Bifidobacterium*'lar hakim olurken, mama ile beslenenlerde Enterobacteriaceae, *Bacterioides*, *Clostridium*'lar, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* ve *Streptococcus*'ları içeren kompleks bakteriyel flora hakimdir. Bu bakteriler önemlidir, çünkü onlar epitelial hücre gen ekspresyonunu yönetirler. Uygun flora oluşturarak daha sonra gelecek patojen bakterilerin üremesine engel olurlar [16, 17].

Barsak kökenli laktobasillerin antimikrobiyel özelliğe sahip olduğu çeşitli araştırmalarla saptanmıştır [18]. Sindirim sisteminde bulunan probiyotik bakteriler tarafından üretilen asetik ve laktik asitten dolayı pH'nın düşmesi, patojen bakteriler üzerinde bakterisidal veya bakteriyostatik etki yapar. Probiyotik bakteriler tarafından üretilen bakteriyosinler, *Staphylococcus aureus* ve *Clostridium perfringens* gibi Gram-pozitif bakterilere karşı, *Salmonella typhimurium* ve *Escherichia coli* gibi Gram-negatif bakterilerden daha etkilidir. Organik asitlerle beraber ortamda bulunan hidrojen peroksit, bakterilere karşı tek başına laktik asit veya H₂O₂'den daha etkilidir [19]. Bu çalışmada Gram-pozitif bakteriler Gram-negatif bakterilere göre probiyotik D5 laboratuvar kodlu takviye edici gıdanın süt vasatında geliştirilmesi sonucu elde edilen süpernatantta *S. aureus*'da 34,24 mm, F1 laboratuvar kodlu laboratuvar kodlu takviye edici gıdanın süt vasatında geliştirilmesi sonucu elde edilen süpernatantta *M. luteus*'da 12,58 mm, *S. murinus* Bi4 laboratuvar kodlu laboratuvar kodlu takviye edici gıdanın süt vasatında geliştirilmesi sonucu elde edilen süpernatantta 10,44 mm, ile en yüksek inhibisyon zonu gözlenmiştir ve sonuç önceki çalışmaları destekler niteliktedir (Tablo 3, set 1 ve set 4). Süt vasatında biriken H₂O₂ birikimine baktığımızda 1,0659 mg/mL ile en fazla H₂O₂ birikiminin yine D5 kodlu *Saccharomyces boulardii* probiyotiğinde olduğu belirlenmiştir (Tablo 4).

Çalışmada kullanılan takviye edici gıdaların su, portakal suyu ve yoğurt vasatlarında geliştirilmesiyle elde edilen süpernatantların hiçbirisi, Gram-negatif bakterilerden *Y. enterocolica*, *P. vulgaris* ve *E. coli*'ye karşı inhibitör etki göstermemiştir (Tablo 3 set 1, 2 ve 3). Süt vasatında geliştirilen F1 laboratuvar kodlu probiyotik, Gram-negatif bakterilerden *K. pneumoniae* bakterisine karşı 10,25 mm, *P. vulgaris* bakterisine ise 18,40 mm ile en yüksek inhibisyon zon çapı oluşturarak en etkili takviye edici gıda olmuştur (Tablo 3 set 4). *E. coli*'de 7,31 mm ile en büyük inhibisyon zon çapını M3 laboratuvar kodlu takviye edici gıdanın süt vasatında geliştirilmesi sonucu gözlenmiştir (Tablo 3 set 4). *P. aeruginosa* bakterisi ise süt, yoğurt ve portakal suyu vasatlarından elde edilen süpernatantların hiçbirine karşı inhibisyon etkisi gözlenmemişken, M3 laboratuvar kodlu takviye edici gıdanın su vasatında geliştirilmesi sonucu 9,74 mm inhibisyon zon çapı ölçülmüştür (Tablo 3 set 1, 2, 3 ve 4).

Tablo 3. Antimikrobiyel aktivite sonuçları

Set 1. Probiyotikler-su kombinasyonu süpernatantının patojen bakteriler üzerindeki inhibisyon etkisi

	Zon çapı (mm)										
	Gram-pozitif				Gram-negatif					Mikrofungus	
	S.a	B.s	M.l	S.m	Y.e	K.p	P.v	E.c	P.a	C.a	A.p
F1	9,73*	R	R	R	R	6,90	R	R	R	R	R
B2	7,08	7,65	R	9,23	R	7,70	R	R	8,38	R	R
M3	8,37	9,57	R	9,48	R	7,69	R	R	9,74	R	R
Bi4	R	8,53	9,09	10,44	R	7,32	R	R	R	R	R
D5	9,29	R	R	R	R	7,08	R	R	R	R	R
Bio6	8,51	R	R	R	R	7,19	R	R	R	R	R

R: Dirençli, *İnhibisyon zonu içinde koloni gözlemlendi (S.a: *S. aureus*; B.s: *B. subtilis*; M.l: *M. luteus*; S.m: *S. murinus*; Y.e: *Y. enterocolica*; K.p: *K. pneumoniae*; P.v: *P. vulgaris*; E.c: *E. coli*; P.a: *P. aeruginosa*; C. a: *C. albicans*, A.p: *A. parasiticus*)

Set 2. Probiyotikler-portakal suyu kombinasyonu süpernatantının patojen bakteriler üzerindeki inhibisyon etkisi

	Zon çapı (mm)										
	Gram-pozitif				Gram-negatif					Mikrofungus	
	S.a	B.s	M.l	S.m	Y.e	K.p	P.v	E.c	P.a	C.a	A.p
F1	8,00	R	R	8,99	R	7,11	R	R	R	R	R
B2	R	R	R	R	R	7,45	R	R	R	R	R
M3	R	R	R	6,97	R	7,91	R	R	R	R	R
Bi4	R	R	R	7,40	R	7,30	R	R	R	R	R
D5	R	R	R	R	R	6,67	R	R	R	R	R
Bio6	R	R	R	R	R	7,06	R	R	R	R	R

R: Dirençli (S.a: *S. aureus*; B.s: *B. subtilis*; M.l: *M. luteus*; S.m: *S. murinus*; Y.e: *Y. enterocolica*; K.p: *K. pneumoniae*; P.v: *P. vulgaris*; E.c: *E. coli*; P.a: *P. aeruginosa*; C. a: *C. albicans*, A.p: *A. parasiticus*)

Set 3. Probiyotikler-yoğurt kombinasyonu süpernatantının patojen bakteriler üzerindeki inhibisyon etkisi

	Zon çapı (mm)										
	Gram-pozitif				Gram-negatif					Mikrofungus	
	S.a	B.s	M.l	S.m	Y.e	K.p	P.v	E.c	P.a	C.a	A.p
F1	R	8,07	R	R	R	7,14	R	R	R	R	R
B2	R	R	R	8,46	R	R	R	R	R	6,64	R
M3	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Bi4	11,49	R	R	R	R	7,51	R	R	R	R	R
D5	R	7,14	R	7,45	R	6,60	R	R	R	R	R
Bio6	R	7,16	R	R	R	7,76	R	R	R	6,40	R

R: Dirençli (S.a: *S. aureus*; B.s: *B. subtilis*; M.l: *M. luteus*; S.m: *S. murinus*; Y.e: *Y. enterocolica*; K.p: *K. pneumoniae*; P.v: *P. vulgaris*; E.c: *E. coli*; P.a: *P. aeruginosa*; C. a: *C. albicans*, A.p: *A. parasiticus*)

Çalışmada kullanılan dokuz patojen bakteri üzerinde yapılan çalışmada en yüksek inhibisyon etkisinin öncelikle süt ve su vasatlarından elde edildiği gözlemlenmiştir. En yüksek pH'a sahip vasat olarak ise pH 5.75 seviyesiyle Mueller Hinton Broth bulunmuştur (Tablo 4). H₂O₂ birikimi ise tam tersine 0,01683 mg/mL ile en az MHB'da ölçülmüştür. MHB dışındaki vasatlarda probiyotikler genellikle *C. albicans* ve *A. parasiticus* üzerinde inhibisyon etkisi göstermemiş ya da az göstermişken, MHB vasatında Bi4 kodlu probiyotik *C. albicans*'da

17,39 mm, *A. parasiticus*'da 18,54 mm ile en büyük inhibisyon zon çapını oluşturarak *Lactobacillus reuteri* en etkili probiyotik organizma olmuştur.

Tablo 3. Antimikrobiyel aktivite sonuçları (devam)

Set 4. Probiyotikler-süt kombinasyonu süpernatantının patojen bakteriler üzerindeki inhibisyon etkisi

	Zon çapı (mm)										
	Gram-pozitif				Gram-negatif					Mikrofungus	
	S.a	B.s	M.l	S.m	Y.e	K.p	P.v	E.c	P.a	C.a	A.p
F1	R	7,13	12,58	R	R	10,25	18,40	R	R	R	R
B2	8,68	7,13	R	R	7,70	R	9,10	R	R	R	R
M3	R	R	R	R	R	R	10,46	7,31	R	R	R
Bi4	R	7,24	R	R	R	R	11,98	R	R	R	R
D5	34,24	7,26	9,31	9,78	R	8,85	R	R	R	R	10,13
Bio6	R	7,81	R	R	R	8,43	11,68	R	R	R	R

R: Dirençli (S.a: *S. aureus*; B.s: *B. subtilis*; M.l: *M. luteus*; S.m: *S. murinus*; Y.e: *Y. enterocolica*; K.p: *K. pneumoniae*; P.v: *P. vulgaris*; E.c: *E. coli*; P.a: *P. aeruginosa*; C. a: *C. albicans*, A.p: *A. parasiticus*)

Set 5. Probiyotikler-MHB kombinasyonu süpernatantının patojen bakteriler üzerindeki inhibisyon etkisi

	Zon çapı (mm)										
	Gram-pozitif				Gram-negatif					Mikrofungus	
	S.a	B.s	M.l	S.m	Y.e	K.p	P.v	E.c	P.a	C.a	A.p
F1	R	R	R	R	16,54	R	R	R	R	14,52	R
B2	R	R	R	R	R	10,21	R	R	R	R	R
M3	14,48	R	23,36	12,50	R	R	R	R	R	12,64	R
Bi4	17,79	R	18,60	15,94	18,48	R	12,72	R	R	17,39	18,54
D5	R	R	R	R	R	R	R	R	R	16,04	11,11
Bio6	R	9,83	R	R	R	R	R	R	R	R	R

R: Dirençli (S.a: *S. aureus*; B.s: *B. subtilis*; M.l: *M. luteus*; S.m: *S. murinus*; Y.e: *Y. enterocolica*; K.p: *K. pneumoniae*; P.v: *P. vulgaris*; E.c: *E. coli*; P.a: *P. aeruginosa*; C. a: *C. albicans*, A.p: *A. parasiticus*)

Tablo 4. Probiyotik bakterilerin farklı vasatlarda büyütülmesi sonucunda oluşan süpernatantların pH değerleri ve H₂O₂ (mg/mL) miktarları

Takviye edici gıdaların laboratuvar kodu	MHB		Steril su		Süt		Yoğurt		Portakal suyu	
	pH	H ₂ O ₂ birikimi (mg/mL)	pH	H ₂ O ₂ birikimi (mg/mL)	pH	H ₂ O ₂ birikimi (mg/mL)	pH	H ₂ O ₂ birikimi (mg/mL)	pH	H ₂ O ₂ birikimi (mg/mL)
F1	5,27	0,25806	4,89	0,21318	4,77	0,75735	4,13	1,360425	4,32	0,46002
B2	4,37	0,31416	4,04	0,20757	4,44	0,1122	3,35	0,6732	4,10	0,30668
M3	4,03	0,03366	4,36	0,35904	4,43	0,4488	3,92	0,575025	4,09	0,3366
Bi4	4,59	0,43384	4,89	0,35904	4,10	0,5984	3,89	0,25245	4,17	0,42075
D5	4,75	0,50864	4,94	0,46376	4,30	1,0659	3,83	0,8789	4,40	0,46563
Bio6	5,75	0,01683	7,76	0,46563	5,03	0,45815	3,64	0,11968	4,48	0,03366

Benzer şekilde D5 kodlu *Saccharomyces boulardii* *C. albicans*'da 16,04 mm *A. parasiticus*'da 11,11 mm ile her iki mikro fungusta da etkili probiyotik organizmadır. F1 (*Saccharomyces boulardii*) ve M3 (*Bifidobacterium lactis*) kodlu probiyotikler sırasıyla

14,52 mm ve 12,64 mm ile sadece *C. albicans* üzerinde etkiliyken *A. parasiticus* üzerinde inhibe edici etkiye rastlanmamıştır (Tablo 3 set 5). D5 kodlu *Saccharomyces boulardii* probiyotiği hem *C. albicans* hem de *A. parasiticus*'a etkiliyken F1 kodlu *Saccharomyces boulardii* probiyotiğinin sadece *C. albicans*'da inhibisyon etkili oluşturmasının sebebi içeriğindeki çinko, palatinoz ve mannitolden kaynaklı olabileceği düşünülmektedir.

Gıda takviyesi olarak değerlendirilen probiyotiklerin özellikle gastrointestinal sistem üzerindeki olumlu etkileri birçok araştırma sonucunda kanıtlanmıştır [20, 21]. Günlük yaşantıda sık karşılaşılan gastrointestinal sistem rahatsızlıkları başta olmak üzere birçok rahatsızlığın iyileştirilmesi ve genel sağlığın korunması amacıyla probiyotik ürün tüketiminin teşvik edilmesi gerekmektedir [22, 23, 24]. Bunun yanında hazır gıdalarla beslenme alışkanlığının hızla geliştiği ülkemizde probiyotik ürünler, geleneksel fermente ürünlerin alternatifi olarak değil, destekleyicisi olarak görülmelidir. Geleneksel fermente ürünlerin tüketiminin devamlılığı sağlanırken, özellikle antibiyotik kullanımı, yoğun stres, beslenme bozuklukları gibi bağırsaktaki mikrobiyal dengeyi bozucu durumlarla karşılaşıldığında probiyotik gıda takviyesi de alınması, genel sağlığın korunması yönünde yararlı olacaktır.

KAYNAK LİSTESİ

1. Kanmani, P., Satish Kumar, R., Yuvaraj, N., Paari, K.A., Pattukumar, V., Arul, V. 2013. Probiotics and its functionally valuable products—A Review. Crit Rev Food Sci 53: 641–658.
2. Turchi, B., Mancini, S., Fratini, F., Pedonese, F., Nuvoloni, R., Bertelloni, F., Ebani, V.V., Cerri, D. 2013. Preliminary evaluation of probiotic potential of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from Italian food products. World J Microbiol Biotechnol DOI 10.1007/s11274-013-1356-7.
3. Kiray, E., Kariptaş, E. 2015. Probiyotikler, Prebiyotikler ve Sinbiyotiklerin Kolorektal Kanseri İlişkisi. Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi TR 13(1) 28-46.
4. Mehrnia, L., Yüksekdağ, Z. N., Aslım, B. 2014. Anne sütü ile beslenen bebeklerin dışkılarından izole edilen *Lactobacillus* türlerin bazı probiyotik özelliklerinin araştırılması Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi TR 12 (1): 67-81.
5. Paçal, Y. 2009. *Saccharomyces boulardii*'nin Çocukluk Çağı Akut Diyaresinde Etkinliği. Haydarpaşa Numune Eğitim Ve Araştırma Hastanesi Çocuk Sağlığı Ve Hastalıkları Kliniği. Uzmanlık Tezi, 74s.
6. Frece, J., Kos, B., Svetec, I.K., Zgaga, Z., Mrsa, V., Suskovic J. 2005. Importance of S-layer proteins in probiotic activity of *Lactobacillus acidophilus* M92. Journal of Applied Microbiology 98: 285–292.
7. Doğan M. 2012. Probiyotik Bakterilerin Gastrointestinal Sistemdeki Etki Mekanizması. Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi 7(1)20-27.
8. Yaşar, B. ve Kurdaş, O. Ö. 2009. Probiyotikler ve Gastrointestinal Sistem. Güncel Gastroenteroloji 13:1.
9. Sezen, A. G. 2013. Prebiyotik, Probiyotik ve Sinbiyotiklerin İnsan ve Hayvan Sağlığı Üzerine Etkileri. Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg 8(3) 248-258.
10. Turchi, B., Mancini, S., Fratini, F., Pedonese, F., Nuvoloni, R., Bertelloni, F., Ebani, V.V., Cerri, D. 2013. Preliminary evaluation of probiotic potential of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from Italian food products. World J Microbiol Biotechnol DOI 10.1007/s11274-013-1356-

11. Kabore, D., Sawadogo-Lingani, H., Dicko, M., Diawara, B., Jakobsen, M. 2012. Acid resistance, bile tolerance and antimicrobial properties of dominant lactic acid bacteria isolated from traditional “maari” baobab seeds fermented condiment. *Afr J Biotechnol* 11: 1197-1206.
12. Çetin, A. R., Karabekiroğlu, S., Ünlü, N. 2011. Probiyotikler ve ağız sağlığına etkileri. *Süleyman Demirel Üniv Diş Hek Fak Derg* 3(1)19-29.
13. <http://www.h2o2.com/technical-library/default.aspx?pid=67&name=Analytical-Methods-for-H2O2>
14. Lankaputhra, W.E.V., Shah, N.P. 1998a. Adherence of probiotic bacteria to human colonic cells. *Biosci. Microflora* 17: 105-113.
15. Başoğlu, M. T. 2014. Probiyotikler. *İzmir Üniversitesi Tıp Dergisi* (3) 37-40.
16. Limdi, J.K., Salminen, S., O'Neill, C., McLaughlin, J. 2006. Do probiotics have a therapeutic role in gastroenterology?, *World J Gastroenterol* 12(34)5447-57.
17. Salminen, S., Isolauri, E. 2006. Intestinal colonization, microbiota, and probiotics, *J Pediatr* 149(Suppl 5)115-20.
18. Arıcı, M., Bilgin, B., Sağdıç, O., Özdemir, C. 2004. Some characteristics of *Lactobacillus* isolates from infant faeces. *Food Microbiology* 21: 19-24
19. Lankaputhra, W.E.V., Shah, N.P. 1998b. Antimutagenic properties of probiotic bacteria and of organic acids. *Mutation Res.* 397: 169-182.
20. Özener, H. Ö., Kuru, B. E. 2015. Probiotics in periodontal therapy. *Journal of Marmara University Institute of Health Sciences* 5(1)53-64.
21. Kılıç, A. 2013. *Clostridium difficile* Enfeksiyonu: Epidemiyoloji, Risk Faktörleri, Patogenez, Klinik Özellikler, Tanı ve Tedavi. *Mikrobiyol Bul* 47(3) 556-566.
22. Koca, T. T. 2015. Bağırsak mikroflorasının inflamatuvar hastalık patogenezindeki yeri. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi* 24(1) 78-91.
23. Arıca, S. G., Arıca, V., Özer, C. 2012. Çocukluk çağında üst solunum yolu enfeksiyonu tedavi ve korunmasında probiyotik kullanımı. *Turkish Journal of Family Medicine and Primary Care* 6(2).
24. Maden, E. A., Altun, C. 2012. Probiyotikler ve Ağız Sağlığı. *Atatürk Üniv. Diş Hek. Fak. Derg.* 22(3) 334-339.