

**T.C.**  
**İSTANBUL AYDIN ÜNİVERSİTESİ**  
**LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**



**PİYASADA SATILAN PROBİYOTİK İÇERİKLİ ÜRÜNLERİN  
YENİ NESİL DİZİLEME İLE MİKROBİYOLOJİK  
KALİTESİNİN BELİRLENMESİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Selçuk Ahmet ALGINGİL**

**Gıda Güvenliği Anabilim Dalı**  
**Gıda Güvenliği Programı**

**AĞUSTOS 2024**



**T.C.**  
**İSTANBUL AYDIN ÜNİVERSİTESİ**  
**LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**



**PİYASADA SATILAN PROBİYOTİK İÇERİKLİ ÜRÜNLERİN**  
**YENİ NESİL DİZİLEME İLE MİKROBİYOLOJİK**  
**KALİTESİNİN BELİRLENMESİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Selçuk Ahmet ALGINGİL**  
**(Y.2213.210006)**

**Gıda Güvenliği Anabilim Dalı**  
**Gıda Güvenliği Programı**

**Tez Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi Ayla ÜNVER ALÇAY**

**AĞUSTOS 2024**



## ONAY FORMU

İstanbul Aydın Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 18.03.2024 tarih ve 2024/05 sayılı toplantısında oluşturulan jüri üyeleri önünde, 06.08.2024 tarihinde tez savunma sınavı yapılan SELÇUK AHMET ALGINGİL'in tezi OY BİRLİĞİ \* ile BAŞARILI\*\* kararı verilmiştir.

## JÜRİ

- |                       |                                    |
|-----------------------|------------------------------------|
| 1.Üye (Tez Danışmanı) | : Dr. Öğr. Üyesi AYL A ÜNVER ALÇAY |
| 2. Üye                | : Prof. Dr. Kemal METİNER          |
| 3. Üye                | : Prof. Dr. HAYDAR ÖZPINAR         |

İstanbul Aydın Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun  
18.03.2024 tarih ve 2024/05 sayılı kararı

(\*) Oybirliği/Oyçokluğu hâli yazı ile yazılacaktır.

(\*\*) Kabul kararı hâli yazı ile yazılacaktır



## ONUR SÖZÜ

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “Piyasada Satılan Probiyotik İçerikli Ürünlerin Yeni Nesil Dizileme ile Mikrobiyolojik Kalitesinin Belirlenmesi” adlı çalışmanın, tezin proje safhasından sonuçlanmasına kadarki bütün süreçlerde bilimsel ahlak ve geleneklere aykırı düşecek bir yardıma başvurulmaksızın yazıldığını ve yararlandığım eserlerin Bibliyografya ’da gösterilenlerden oluştuğunu, bunlara atıf yapılarak yararlanılmış olduğunu belirtir ve onurumla beyan ederim. (14/08/2024)

Selçuk Ahmet ALGINGİL



## ÖNSÖZ

Çalışma kapsamında analiz sürecinde yardımlarını sunan kuruluşlara ve yararlandığım, çalışmaya yönelik değerlendirdiğim geliştirilmiş tüm çalışmalara teşekkür ederim. Ayrıca tezin yazımı sırasında, çalışma süresince yardımlarını esirgemeyen saygı değer danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi Ayla ÜNVER ALÇAY, çalışma süresince zorlukların tamamını benimle göğüsleyen arkadaşlarıma ve hayatımın her evresinde bana destek sağlayan aileme teşekkürlerimi sunarım.

Ağustos,2024

Selçuk Ahmet ALGINGİL



# PİYASADA SATILAN PROBİYOTİK İÇERİKLİ ÜRÜNLERİN YENİ NESİL DİZİLEME İLE MİKROBİYOLOJİK KALİTESİNİN BELİRLENMESİ

## ÖZET

Yaşam için (“Pro” ve “biota”) anlamını taşıyan probiyotikler antibiyotik teriminin karşıtıdır ve sağlığa yararlı canlı bakteri(ler) içeren gıda takviyeleri olarak bilinir. Bir probiyotik genellikle yeterli bağırsak kolonizasyonunun gerçekleşme için birkaç milyar mikroorganizma içermelidir. Bir tür veya suşla ilişkili faydalar, diğerleri için mutlaka geçerli olmayabilir. Bu nedenle yanlış etiketleme, yeterli canlı faydalı mikroorganizma içermeme, etikette iddia edilen suşları içermeme, patojen ve kontaminant mikroorganizmalar içirme risklerini tespit etmeyi amaçlayan etkili kalite kontrol yöntemlerine ihtiyaç duyulmaktadır.

NGS'nin yanı sıra probiyotiklerin de gıda ürünlerinde kullanımı sağlığa potansiyel faydalarından dolayı dikkat çekmektedir. Çalışmalar, *Lactobacillus* Spp. gibi probiyotik türlerinin fermantasyon sırasında biyoaktif bileşiklerin biyotransformasyonunu arttırmadaki önemini vurgulamış ve bu da gelişmiş beslenme profillerine sahip fonksiyonel gıdaların geliştirilmesine yol açmıştır.

Bu tezin amacı, piyasada satılan farklı markalara ait probiyotik gıda takviyesinin kültür yöntemi ile canlı bakteri muhteviyatını değerlendirmek ve NGS analizi ile her bir kutu içeriğinde probiyotiklerin tek tek tanımlanması ve etiket bilgileri ile karşılaştırarak mikrobiyolojik kalitesinin değerlendirilmesidir.

İstanbul’da piyasada satılan 20 adet probiyotik içerikli, farklı markalara ait gıda takviyesinin mikrobiyolojik kalitesinin belirlenmesi gerçekleştirilmiştir. İncelenen 20 örneğin hiçbiri, etikette belirlenen mikroorganizma içeriği ile uyumlu bulunmamıştır. İncelenen hiçbir üründe belirtilen türlerin tamamı tespit edilememiştir ve çok sayıda ürün etiketinde bulunmayan mikroorganizma türü belirlenmiştir. 20 örneğin tamamında *Bifidobacterium longum* (%0,32- %99,3 miktarında), on yedisinde *Lactobacillus zae* (%0,65-%60 miktarında), onikisinde *Bifidobacterium bifidum* (% 0,01-%96,78 miktarında), onunda *Lactobacillus reuteri*

(%0,1-20,19 arasında), sekizinde *Lactobacillus paralimentarius* (%0,01-%5,91 miktarında), yedisinde *Lactobacillus brevis* (%0,01-%1,82 miktarında), altısında *Streptococcus alactolyticus* (%1-%3 miktarında), altısında *Lactobacillus delbruckii* (%0,01-2,73 miktarında), dördünde *Streptococcus luteciae* (%0,08-%1,12 miktarında) belirlenmiştir. Bir üründe *Faecalibacterium prausnitzii* %57,83 ve bir üründe *Leuconostoc mesenteroides* %26,51 miktarında olacak şekilde yüksek oranda içerikte saptanmıştır. *Bifidobacterium adolescentis* üç üründe (%0,01-%12,62 miktarında), *Bifidobacterium pseudolongum* iki üründe (%0,04-15,28 miktarında) *Lactobacillus salivarius* iki üründe (%0,06-%1,12 miktarında), *Lactococcus garvieae* iki üründe (%0,14-%0,20 miktarında) belirlenmiştir. Ayrıca bir üründe *Salmonella enterica*, *Enterobacter cowanii*, *Klebsiella oxytoca* ve *Serratia marcescens* identifiye edilmiş olması piyasada satılan ürünlerin gıda güvenliği ve halk sağlığı açısından da riskli olabileceğine işaret etmektedir.

Bu çalışmamızın sonucu, ürün etiketlerine belirtilen canlı bakteri sayıları ve etikette belirtilen suşların uyumsuz olduğu tespit edilmiştir. Probiyotiklerin güvenliği ve işlevselliği içerdiği mikroorganizma sayısı ve bakteri türlerine bağlı olduğundan, bu sonuçlar ticari probiyotik ürünlerde bulunan mikroorganizmaların hem sayı hem de tür bazında kontrol edilmesinin gerekliliğini vurgulamıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Yeni Nesil Dizileme (NGS), Probiyotik Ürünler, Probiyotik Mikroorganizmalar, Mikrobiyal Kalite, 16S rRNA Mikrobiyota

# **DETERMINATION OF MICROBIOLOGICAL QUALITY OF COMMERCIALY AVAILABLE PROBIOTIC-CONTAINING PRODUCTS BY NEXT-GENERATION SEQUENCING**

## **ABSTRACT**

The use of next-generation sequencing (NGS) for determining the microbial quality of probiotic products is a significant area of research. NGS has revolutionized the analysis of microbial communities, enabling a deeper understanding of the composition and function of probiotic products. This technology has been applied to study the microbiome and metagenomics, providing insights into the genetic diversity and functional potential of microbial communities. Furthermore, the application of NGS has been instrumental in assessing the viability and stability of probiotics in various food matrices, such as soy milk, which is crucial for developing functional probiotic products.

In addition to NGS, the use of probiotics in food products has gained attention due to their potential health benefits. Studies have highlighted the importance of probiotic strains, such as *Lactobacillus* Spp., in enhancing the biotransformation of bioactive compounds during fermentation, leading to the development of functional foods with improved nutritional profiles.

The objective of this thesis is to assess the live bacterial content of probiotic dietary supplements from various brands available on the market using culture methods, and to evaluate the microbiological quality by identifying each probiotic strain in the contents of each package through NGS analysis and comparing these identifications with the label information.

This study was conducted to determine the microbiological quality of 20 probiotic-containing dietary supplements from different brands sold in the Istanbul market. None of the 20 samples analyzed were found to be consistent with the microorganism content specified on their labels. None of the products examined contained all the species indicated, and many products contained microorganism species not listed on the label. *Bifidobacterium longum* was detected in all 20

samples (ranging from 0.32% to 99.3%), *Lactobacillus zeae* in 5 samples (ranging from 0.65% to 60%), *Bifidobacterium bifidum* in 12 samples (ranging from 0.01% to 96.78%), *Lactobacillus reuteri* in 10 samples (ranging from 0.1% to 20.19%), *Lactobacillus paralimentarius* in eight samples (ranging from 0.01% to 5.91%), *Lactobacillus brevis* in seven samples (ranging from 0.01% to 1.82%), *Streptococcus alactolyticus* in six samples (ranging from 1% to 3%), *Lactobacillus delbrueckii* in six samples (ranging from 0.01% to 2.73%), and *Streptococcus luteciae* in four samples (ranging from 0.08% to 1.12%). *Faecalibacterium prausnitzii* was found in high amounts (57.83%) in one product, and *Leuconostoc mesenteroides* (26.51%) was detected in high amounts in another product. *Bifidobacterium adolescentis* was found in three products (ranging from 0.01% to 12.62%), *Bifidobacterium pseudolongum* in two products (ranging from 0.04% to 15.28%), *Lactobacillus salivarius* in two products (ranging from 0.06% to 1.12%), and *Lactococcus garvieae* in two products (ranging from 0.14% to 0.20%). Additionally, the identification of *Salmonella enterica*, *Enterobacter cowanii*, *Klebsiella oxytoca*, and *Serratia marcescens* in one product indicates that products sold in the market may pose risks in terms of food safety and public health.

The results of this study revealed that the live bacteria counts and the strains specified on the product labels were inconsistent. Since the safety and functionality of probiotics depend on the number and types of microorganisms they contain, these results demonstrate the necessity of controlling the microorganisms in commercial probiotic products both in terms of quantity and species.

**Key Words:** Next Generation Sequencing (NGS), Probiotic Products, Probiotic Microorganisms, Microbial Quality, 16S rRNA Microbiota

# İÇİNDEKİLER

## Sayfa

|                                                          |      |
|----------------------------------------------------------|------|
| ONUR SÖZÜ .....                                          | i    |
| ÖNSÖZ.....                                               | iii  |
| ÖZET.....                                                | v    |
| ABSTRACT .....                                           | vii  |
| İÇİNDEKİLER .....                                        | ix   |
| KISALTMALAR LİSTESİ.....                                 | xiii |
| ÇİZELGELER LİSTESİ.....                                  | xvii |
| ŞEKİLLER LİSTESİ.....                                    | xxi  |
| I. GİRİŞ .....                                           | 1    |
| II. PROBİYOTİKLERİN GENEL TANIMI.....                    | 5    |
| A. Probiyotiklerin Genel Tanımı .....                    | 5    |
| B. Probiyotiklerin Sınıflandırılması .....               | 6    |
| III. PROBİYOTİK MİKROORGANİZMALAR .....                  | 9    |
| A. Probiyotik Bakteriler .....                           | 10   |
| 1. <i>Lactobacillus</i> .....                            | 11   |
| 2. <i>Bifidobacterium</i> .....                          | 12   |
| 3. <i>Enterococcus</i> .....                             | 13   |
| 4. <i>Bacillus</i> .....                                 | 14   |
| 5. <i>Escherichia coli</i> Nissle 1917 (Mutaflor): ..... | 16   |
| 6. Diğer Probiyotik Mikroorganizmalar .....              | 17   |
| IV. MİKROBİYOTA ve PROBİYOTİKLERLE İLİŞKİSİ.....         | 21   |

## **V. PROBİYOTİKLERDE ULUSAL ve ULUSLARARASI STANDARTLAR23**

### **VI. PROBİYOTİK ANALİZLERİ ..... 25**

|                                                             |    |
|-------------------------------------------------------------|----|
| A. Kültür Tabanlı Yöntemler.....                            | 26 |
| B. Moleküler Yöntemler.....                                 | 27 |
| C. Biyoçeşitlilik Analizi .....                             | 29 |
| D. Yaşayabilir Ancak Kültürü Yapılamaz (VBNC) Analizi ..... | 31 |
| E. İmmünolojik Yöntemler .....                              | 33 |

### **VII.MATERYAL VE METOT ..... 35**

|                                                                                                                                       |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| A. Materyal .....                                                                                                                     | 35 |
| 1. Analiz Edilen Örneklerin Temini.....                                                                                               | 35 |
| 2. Kullanılan Cihazlar .....                                                                                                          | 39 |
| 3. Kullanılan Malzemeler.....                                                                                                         | 41 |
| 4. Kullanılan Besiyerleri- Besiyeri Hazırlama.....                                                                                    | 41 |
| a. MRS (De Man Rogosa Sharpe) Agar .....                                                                                              | 41 |
| b. M17 Agar.....                                                                                                                      | 42 |
| c. Violet Red Bile Agar (VRB Agar) .....                                                                                              | 42 |
| d. Plate Count Agar (PCA Agar) .....                                                                                                  | 42 |
| e. Sabouraud Dextrose Agar (SDA Agar) .....                                                                                           | 43 |
| f. Maximum Recovery Diluent .....                                                                                                     | 43 |
| B. Metot.....                                                                                                                         | 44 |
| 1. Bakteri sayımları .....                                                                                                            | 44 |
| a. Örneklerin alınması ve dilüsyon hazırlanması .....                                                                                 | 44 |
| b. Probiyotik kültür ile aerobik-mezofilik toplam bakteri, laktik asit bakterileri ve diğer mikroorganizmaların koloni sayımları..... | 44 |
| 2. Dilüsyonlardan Bakteriyel Genomik Nükleik Asit İzolasyonu .....                                                                    | 45 |
| 3. Nanodrop 2000 ile Nükleik Asit Ölçümü .....                                                                                        | 46 |

|                                                                |            |
|----------------------------------------------------------------|------------|
| 4. Numunlerin Metagenomik Analizi .....                        | 47         |
| a. Kütüphane hazırlama .....                                   | 47         |
| b. Dizileme .....                                              | 48         |
| c. Biyoinformatik analiz .....                                 | 48         |
| <b>VIII. BULGULAR .....</b>                                    | <b>49</b>  |
| <b>IX. TARTIŞMA .....</b>                                      | <b>69</b>  |
| A. Probiyotik ve Diğer Mikroorganizmaların Koloni Sayımı ..... | 70         |
| B. 16s rRNA NGS Analizi .....                                  | 72         |
| <b>X. SONUÇ .....</b>                                          | <b>79</b>  |
| <b>XI. KAYNAKÇA .....</b>                                      | <b>81</b>  |
| <b>ÖZGEÇMİŞ .....</b>                                          | <b>117</b> |



## KISALTMALAR LİSTESİ

|                 |                                                           |
|-----------------|-----------------------------------------------------------|
| <b>16S rRNA</b> | : 16S ribozomal RNA                                       |
| <b>ABD</b>      | : Amerika Birleşik Devletleri                             |
| <b>CD</b>       | : Crohn hastalığı                                         |
| <b>COVID-19</b> | : Koronavirüs Hastalığı 2019                              |
| <b>DNA</b>      | : Deoksiribonükleik asit                                  |
| <b>dsDNA</b>    | : Çift zincirli deoksiribonükleik asit                    |
| <b>EcN</b>      | : <i>Escherichia coli</i> Nissle                          |
| <b>EFSA</b>     | : Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi                         |
| <b>FAO</b>      | : Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü                |
| <b>FDA</b>      | : ABD Gıda ve İlaç Dairesi                                |
| <b>G+C</b>      | : Guanin ve Sitozin içeriği                               |
| <b>GDO</b>      | : Genetiği Değiştirilmiş Organizma                        |
| <b>GOLD</b>     | : Genomes OnLine Database                                 |
| <b>GI</b>       | : Gastrointestinal                                        |
| <b>HTS</b>      | : Yüksek Verimli Dizileme                                 |
| <b>IBD</b>      | : İrritabl Bağırsak Sendromu                              |
| <b>IgA</b>      | : İmmünoglobulin A                                        |
| <b>ISAPP</b>    | : Uluslararası Sinbiyotik ve Probiyotik Derneği           |
| <b>ISO</b>      | : Uluslararası Standartlar Organizasyonu                  |
| <b>KOB</b>      | : Koloni Oluşturma Birimi                                 |
| <b>KOB/doz</b>  | : Bir Doz Alımında Bakteri Koloni Oluşturma Birimi        |
| <b>KOB/gün</b>  | : Bir Günlük Dozda Bakteri Koloni Oluşturma Birimi        |
| <b>KOB/ml</b>   | : Bir Mililitrede Bulunan Bakteri Koloni Oluşturma Birimi |

|                 |                                                                    |
|-----------------|--------------------------------------------------------------------|
| <b>LBP</b>      | : LPS bağlayıcı protein                                            |
| <b>LC-MS-MS</b> | : Sıvı Kromatografi-Kütle Spektrometrisi-Kütle Spektrometrisi      |
| <b>M17</b>      | : M17 agarı                                                        |
| <b>MLSA</b>     | : Çoklu Locus Dizi Analizi                                         |
| <b>MRS</b>      | : De Man, Rogosa ve Sharpe agar                                    |
| <b>NanoSIMS</b> | : Nano İkincil İyon Kütle Spektrometresi                           |
| <b>NGP</b>      | : Beslenme ve Gıda Piyasası Düzenleme Kurumu                       |
| <b>NGS</b>      | : Yeni Nesil Dizileme                                              |
| <b>NLRP3</b>    | : NOD benzeri reseptör protein 3                                   |
| <b>PCA</b>      | : Plate Count Agar                                                 |
| <b>PCR</b>      | : Polimeraz Zincir Reaksiyonu                                      |
| <b>qPCR</b>     | : Nicel Polimeraz Zincir Reaksiyonu                                |
| <b>pheS</b>     | : Fenilalanin-tRNA ligaz                                           |
| <b>PI</b>       | : Propidyum İyodür                                                 |
| <b>RDP</b>      | : Ribosomal Database Project                                       |
| <b>rpoA</b>     | : RNA polimeraz alfa alt birimi                                    |
| <b>rRNA</b>     | : Ribozomal RNA                                                    |
| <b>SDA</b>      | : Sabouraud Dextrose Agar                                          |
| <b>SMS</b>      | : Shotgun Metagenomik Dizileme SMS                                 |
| <b>TBI</b>      | : Travmatik Beyin Hasarı                                           |
| <b>Th1/Th2</b>  | : T yardımcı hücre tip 1/ T yardımcı hücre tip 2                   |
| <b>TMB</b>      | : Toplam Mezofilik Bakteri (Total Mesophilic Bacteria)             |
| <b>TWI</b>      | : Tolerable Weekly İntake (Haftalık Kabul Edilebilir Alım Miktarı) |
| <b>UC</b>       | : Ülseratif Kolit                                                  |
| <b>VBNC</b>     | : Canlı Ama Kültüre Edilemeyen                                     |

|                         |                                                      |
|-------------------------|------------------------------------------------------|
| <b>VBR</b>              | : Violet Red Bile Agar                               |
| <b>WHO</b>              | : Dünya Sağlık Örgütü                                |
| <b>XAFS</b>             | : X-ışını Absorpsiyon Fein Yapı Spektroskopisi       |
| <b>-</b>                | : Tire                                               |
| <b>%</b>                | : Yüzde                                              |
| <b>/</b>                | : Oran                                               |
| <b>&lt;</b>             | : Küçüktür                                           |
| <b>&gt;</b>             | : Büyüktür                                           |
| <b>°C</b>               | : Santigrat Derece                                   |
| <b>µl</b>               | : Mikrolitre                                         |
| <b>A</b>                | : Adenin                                             |
| <b>bp</b>               | : Baz çifti                                          |
| <b>g</b>                | : Gravite                                            |
| <b>G</b>                | : Guanin                                             |
| <b>g/L</b>              | : gram/litre                                         |
| <b>GC</b>               | : GuaninSitozin                                      |
| <b>H</b>                | : Adenin, Sitozin, Timin'den biri                    |
| <b>L</b>                | : Litre                                              |
| <b>Log<sub>10</sub></b> | : Logaritma 10 tabanı                                |
| <b>N</b>                | : Adenin, Sitozin, Guanin ve Timin'den herhangi biri |
| <b>S</b>                | : Sitozin                                            |
| <b>T</b>                | : Timin                                              |
| <b>W</b>                | : Adenin veya Timin                                  |



## ÇİZELGELER LİSTESİ

### Sayfa

|             |                                                                                                                                                                                                   |    |
|-------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Çizelge 1.  | Piyasadan Toplanan 1-5 No'lu Örneklerin Probiyotik Mikroorganizma İçerikleri ve Toplam Probiyotik Mikroorganizma Sayıları .....                                                                   | 35 |
| Çizelge 2.  | Piyasadan Toplanan 6-10 No'lu Örneklerin Probiyotik Mikroorganizma İçerikleri ve Toplam Probiyotik Mikroorganizma Sayıları .....                                                                  | 36 |
| Çizelge 3.  | Piyasadan Toplanan 11-16 No'lu Örneklerin Probiyotik Mikroorganizma İçerikleri ve Toplam Probiyotik Mikroorganizma Sayıları .....                                                                 | 37 |
| Çizelge 4.  | Piyasadan Toplanan 17-20 No'lu Örneklerin Probiyotik Mikroorganizma İçerikleri ve Toplam Probiyotik Mikroorganizma Sayıları .....                                                                 | 38 |
| Çizelge 5.  | Kullanılan Cihaz Listesi.....                                                                                                                                                                     | 39 |
| Çizelge 6.  | Kullanılan Malzeme Listesi .....                                                                                                                                                                  | 41 |
| Çizelge 7.  | MRS Agar Bileşeni .....                                                                                                                                                                           | 41 |
| Çizelge 8.  | M17 Agar Bileşeni .....                                                                                                                                                                           | 42 |
| Çizelge 9.  | VRB Agar Bileşeni .....                                                                                                                                                                           | 42 |
| Çizelge 10. | PCA Bileşeni.....                                                                                                                                                                                 | 43 |
| Çizelge 11. | SDA Bileşeni .....                                                                                                                                                                                | 43 |
| Çizelge 12. | Maximum Recovery Diluent .....                                                                                                                                                                    | 43 |
| Çizelge 13. | Toplam Mezofilik Bakteri, Laktik Asit Bakterileri ve Diğer Mikroorganizmaların Koloni Sayımları için İnkübasyon Şartları .....                                                                    | 44 |
| Çizelge 14. | Probiyotik Numunelerinin (1-3 No'lu) Etiketinde Belirtilen İçerikleri, NGS 16s rRNA Sonuçları, Kültür Yöntemi ile Belirlenen Mikroorganizma Sayım Sonuçları, Ulusal/Uluslararası Spesifikasyonlar |    |

|             |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |    |
|-------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
|             | ile Karşılaştırılması (Etiketle uyumlu suşlar sarı ile işaretlenmiştir, etikette belirtilmeyen suşlar kırmızı ile yazılmıştır.) .....                                                                                                                                                                                                     | 50 |
| Çizelge 15. | Probiyotik Numunelerinin (4-6 No'lu) Etiketinde Belirtilen İçerikleri, NGS 16s rRNA Sonuçları, Kültür Yöntemi ile Belirlenen Mikroorganizma Sayım Sonuçları, Ulusal/Uluslararası Spesifikasyonlar ile Karşılaştırılması (Etiketle uyumlu suşlar sarı ile işaretlenmiştir, etikette belirtilmeyen suşlar kırmızı ile yazılmıştır.) .....   | 51 |
| Çizelge 16. | Probiyotik Numunelerinin (7-8 No'lu) Etiketinde Belirtilen İçerikleri, NGS 16s rRNA Sonuçları, Kültür Yöntemi ile Belirlenen Mikroorganizma Sayım Sonuçları, Ulusal/Uluslararası Spesifikasyonlar ile Karşılaştırılması (Etiketle uyumlu suşlar sarı ile işaretlenmiştir, etikette belirtilmeyen suşlar kırmızı ile yazılmıştır.) .....   | 52 |
| Çizelge 17. | Probiyotik Numunelerinin (9-11 No'lu) Etiketinde Belirtilen İçerikleri, NGS 16s rRNA Sonuçları, Kültür Yöntemi ile Belirlenen Mikroorganizma Sayım Sonuçları, Ulusal/Uluslararası Spesifikasyonlar ile Karşılaştırılması (Etiketle uyumlu suşlar sarı ile işaretlenmiştir, etikette belirtilmeyen suşlar kırmızı ile yazılmıştır.) .....  | 53 |
| Çizelge 18. | Probiyotik Numunelerinin (12-14 No'lu) Etiketinde Belirtilen İçerikleri, NGS 16s rRNA Sonuçları, Kültür Yöntemi ile Belirlenen Mikroorganizma Sayım Sonuçları, Ulusal/Uluslararası Spesifikasyonlar ile Karşılaştırılması (Etiketle uyumlu suşlar sarı ile işaretlenmiştir, etikette belirtilmeyen suşlar kırmızı ile yazılmıştır.) ..... | 54 |
| Çizelge 19. | Probiyotik Numunelerinin (15-17 No'lu) Etiketinde Belirtilen İçerikleri, NGS 16s rRNA Sonuçları, Kültür Yöntemi ile Belirlenen Mikroorganizma Sayım Sonuçları, Ulusal/Uluslararası Spesifikasyonlar ile Karşılaştırılması (Etiketle uyumlu suşlar sarı ile işaretlenmiştir, etikette belirtilmeyen suşlar kırmızı ile yazılmıştır.) ..... | 55 |
| Çizelge 20. | Probiyotik Numunelerinin (18-20 No'lu) Etiketinde Belirtilen İçerikleri, NGS 16s rRNA Sonuçları, Kültür Yöntemi ile Belirlenen Mikroorganizma Sayım Sonuçları, Ulusal/Uluslararası Spesifikasyonlar ile Karşılaştırılması (Etiketle uyumlu suşlar sarı ile işaretlenmiştir, etikette belirtilmeyen suşlar kırmızı ile yazılmıştır.) ..... | 56 |

|                                                                                                                                                                                                                                                   |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Çizelge 21. Piyasadan Toplanan Probiyotik İçerikli Örneklerde Toplam Aerobik-Mezofilik Bakteri, <i>Lactobacillus</i> Spp., <i>Lactococcus</i> Spp., Küf-Maya ve <i>Enterobacteriaceae</i> Spp. Sayımı Sonuçları (Log <sub>10</sub> KOB/doz) ..... | 57 |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|





## ŞEKİLLER LİSTESİ

### Sayfa

|           |                                                                                                                                                                                                                                                 |    |
|-----------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 1.  | Kullanılan Cihazlar .....                                                                                                                                                                                                                       | 40 |
| Şekil 2.  | Piyasada Toplanan Probiyotik İçerikli Örneklerde Ölçülen Toplam<br>Aerobik Mezofilik Bakteri, <i>Lactobacillus</i> Spp., <i>Lactococcus</i> Spp., Küf-<br>Maya ve <i>Enterobacteriaceae</i> Spp. Sayımı Sonuçları (Log <sub>10</sub> KOB/doz) . | 58 |
| Şekil 3.  | Bir No'lu Örnekteki 16S rRNA NGS ile Belirlenen Probiyotik Bakteri<br>Dağılımı (%).....                                                                                                                                                         | 59 |
| Şekil 4.  | İki No'lu Örnekteki 16S rRNA NGS ile Belirlenen Probiyotik Bakteri<br>Dağılımı (%).....                                                                                                                                                         | 59 |
| Şekil 5.  | Üç No'lu Örnekteki 16S rRNA NGS ile Belirlenen Probiyotik Bakteri<br>Dağılımı (%).....                                                                                                                                                          | 60 |
| Şekil 6.  | Dört No'lu Örnekteki 16S rRNA NGS ile Belirlenen Probiyotik Bakteri<br>Dağılımı (%).....                                                                                                                                                        | 60 |
| Şekil 7.  | Beş No'lu Örnekteki 16S rRNA NGS ile Belirlenen Probiyotik Bakteri<br>Dağılımı (%).....                                                                                                                                                         | 61 |
| Şekil 8.  | Altı No'lu Örnekteki 16S rRNA NGS ile Belirlenen Probiyotik Bakteri<br>Dağılımı (%).....                                                                                                                                                        | 61 |
| Şekil 9.  | Yedi No'lu Örnekteki 16S rRNA NGS ile Belirlenen Probiyotik Bakteri<br>Dağılımı (%).....                                                                                                                                                        | 62 |
| Şekil 10. | Sekiz No'lu Örnekteki 16S rRNA NGS ile Belirlenen Probiyotik Bakteri<br>Dağılımı (%).....                                                                                                                                                       | 62 |
| Şekil 11. | Dokuz No'lu Örnekteki 16S rRNA NGS ile Belirlenen Probiyotik<br>Bakteri Dağılımı (%).....                                                                                                                                                       | 63 |

|           |                                                                                           |    |
|-----------|-------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 12. | On No’lu Örnekteki 16S rRNA NGS ile Belirlenen Probiyotik Bakteri Dağılımı (%).....       | 63 |
| Şekil 13. | On bir No’lu Örnekteki 16S rRNA NGS ile Belirlenen Probiyotik Bakteri Dağılımı (%).....   | 64 |
| Şekil 14. | On iki No’lu Örnekteki 16S rRNA NGS ile Belirlenen Probiyotik Bakteri Dağılımı (%).....   | 64 |
| Şekil 15. | On üç No’lu Örnekteki 16S rRNA NGS ile Belirlenen Probiyotik Bakteri Dağılımı (%).....    | 65 |
| Şekil 16. | On dört No’lu Örnekteki 16S rRNA NGS ile Belirlenen Probiyotik Bakteri Dağılımı (%).....  | 65 |
| Şekil 17. | On beş No’lu Örnekteki 16S rRNA NGS ile Belirlenen Probiyotik Bakteri Dağılımı (%).....   | 66 |
| Şekil 18. | On altı No’lu Örnekteki 16S rRNA NGS ile Belirlenen Probiyotik Bakteri Dağılımı (%).....  | 66 |
| Şekil 19. | On yedi No’lu Örnekteki 16S rRNA NGS ile Belirlenen Probiyotik Bakteri Dağılımı (%).....  | 67 |
| Şekil 20. | On sekiz No’lu Örnekteki 16S rRNA NGS ile Belirlenen Probiyotik Bakteri Dağılımı (%)..... | 67 |
| Şekil 21. | On dokuz No’lu Örnekteki 16S rRNA NGS ile Belirlenen Probiyotik Bakteri Dağılımı (%)..... | 68 |
| Şekil 22. | Yirmi No’lu Örnekteki 16S rRNA NGS ile Belirlenen Probiyotik Bakteri Dağılımı (%).....    | 68 |

## I. GİRİŞ

Probiyotik ürünlerdeki bakteriyel çeşitliliğin değerlendirilmesi, bağırsak mikrobiyotası ve genel sağlık üzerindeki potansiyel etkilerinin anlaşılması için gerekli görülmektedir. Son zamanlarda yapılan araştırmalarda, diyet, prebiyotik ve probiyotik müdahalelere verilen bireyselleştirilmiş yanıtlar göz önünde bulundurularak probiyotik müdahalelere yönelik kişiselleştirilmiş yaklaşımlara duyulan ihtiyaç vurgulanmıştır (Gibbons ve ark., 2022).

Fermente ürünlerden izole edilen potansiyel probiyotik laktik asit bakteri suşlarının bağırsak patojenlerine karşı büyüme inhibisyonu in vitro olarak karakterize edilmiş ve probiyotik tedaviye yanıt olarak fekal mikrobiyotadaki bakteriyel popülasyon değişikliklerinin anlaşılmasının önemi vurgulanmıştır (Jung ve ark., 2021).

Kemoterapi gören köpeklerde probiyotiklerin gastrointestinal (GI) belirtiler üzerindeki etkilerinin ön değerlendirmesinde, bakteri popülasyonları ve genel mikrobiyom çeşitliliği üzerinde potansiyel etkiler belirlenmiş ve probiyotik müdahalelere yanıt olarak bakteri çeşitliliğinin kapsamlı bir şekilde değerlendirilmesi gerektiği belirtilmiştir (Jugan ve ark., 2021).

Probiyotik ürünlerdeki bakteriyel çeşitliliğin kapsamlı bir şekilde değerlendirilmesinin, bağırsak mikrobiyotası ve genel sağlık üzerindeki potansiyel etkilerinin anlaşılması için zorunlu olduğu görülmüştür. Gelişmiş teknolojilerden ve metodolojilerden yararlanmanın yanı sıra bakteriyel çeşitliliği etkileyebilecek çeşitli faktörlerin göz önünde bulundurulması, probiyotik müdahalelere kişiselleştirilmiş yaklaşımlar için gerekli olduğu belirtilmiştir.

Probiyotiklerin çok yönlü etkisi, sağlık yararları, direnç dinamikleri ve bölgeye özgü etkiler de dahil olmak üzere çeşitli alanlarda kapsamlı araştırmalara konu olmuştur. Probiyotiklerin rezistom üzerinde kişiye özgü ve antibiyotiğe bağlı etkiler gösterdiği ve antimikrobiyal direnç genlerinin insan GI sistemi

boyunca yayılmasına katkıda bulunduğu gösterilmiştir (Ben-Yacov ve ark., 2021).

Ayrıca, probiyotik tedavisinin T yardımcı hücre tip 1/ T yardımcı hücre tip 2 (Th1/Th2) dengesizliğini değiştirerek bağışıklık tepkisini etkileme potansiyeline sahip olduğu ve bunun travmatik beyin hasarı (TBI) gibi durumlarla ilgili olduğu belirtilmiştir (Treangen ve ark., 2018). Probiyotikler için kapsülleme yöntemleri araştırılmış ve kapsülleme yönteminin probiyotiklerin yüzey morfolojisini, canlılığını ve hayatta kalma yeteneklerini önemli ölçüde etkilediği bulgular gösterilmiştir (Yoha ve ark., 2021).

Belirli sağlık koşulları bağlamında probiyotiklerin, özellikle yaşlı hastalarda inflamatuvar bağırsak hastalıklarında (IBD) oksidatif stresi azaltmada etkinlik gösterdiği bulunmuştur ve Crohn hastalığı (CD) ve ülseratif kolit (UC) gibi durumlarda genişletilmiş kullanım potansiyeline sahip olduğu belirtilmiştir (Ballini ve ark., 2019). Ek olarak, probiyotiklerin kolesterol düşürücü özellikleri araştırılmış ve sağlık yararlarını korumak için düzenli tüketimin önemi vurgulanmıştır (Sivamaruthi ve ark., 2019).

Probiyotiklerin etkilerini gösterdiği mekanizmaların, patojenlerin rekabetçi bir şekilde dışlanması, bakteriyosin üretimi, bağlanma bölgeleri ve besinler için rekabet, patojen işlevlerinin değiştirilmesi ve konağın bağışıklık uyarıcı ve beslenme durumunun iyileştirilmesi dahil olmak üzere açıklığa kavuşturulmuştur (Yadav ve Chauhan, 2021). Ancak, probiyotiklerin ve prebiyotiklerin ayrı ayrı etkilerine kıyasla, probiyotiklerin ve prebiyotiklerin konakçı fizyolojik sağlık belirteçleri üzerindeki birleşik etkisi hakkında hala sınırlı bir anlayış olduğu belirtilmiştir (Gubert ve ark., 2022).

Ayrıca, probiyotiklerin hepatik ensefalopatide yararlı olduğu bulunmuş ve randomize çalışmaların meta-analizi, bu durumun yönetimi üzerindeki olumlu etkilerini göstermiştir. Bununla birlikte, optimal tedavi süresi, dozu ve mikroorganizmaların canlılığı gibi pratik hususların ele alınması gerektiği vurgulanmıştır (Saab ve ark., 2015).

Yeni nesil dizileme (NGS) yaklaşımlarının kullanımı, özellikle probiyotiklerin araştırılması bağlamında mikrobiyal dinamiklerin incelenmesini önemli ölçüde ilerletilmiştir. NGS'nin, araştırmacıların şarap fermantasyon

mikrobiyomu da dahil olmak üzere çeşitli ortamların mikrobiyal biyoçeşitliliğini araştırmasına olanak sağladığı belirtilmiştir (Pinto ve ark., 2015). Bu, fermantasyon dinamikleri konusundaki anlayışın genişletilmesine ve yeni başlangıç kültürlerinin tanımlanmasına katkıda bulunma potansiyeline sahip olduğu ifade edilmiştir (Pinto ve ark., 2015). Ayrıca, NGS'nin ensefalit vakalarında patojen tespitine uygulanmış ve mikrobiyal enfeksiyonların teşhisinde faydalı olduğu gösterilmiştir (Brown ve ark., 2018). Ek olarak, NGS'nin normal DNA arka planında tümöre özgü mutasyonların ölçülmesinde etkili olduğu ve kanser araştırmalarındaki potansiyelini ortaya koyulduğu bildirilmiştir (Narayan ve ark., 2012).

Probiyotikler bağlamında NGS'nin, periodontitis tedavisinde *Lactobacillus reuteri* probiyotiklerinin etkinliğini araştırmak için kullanıldığı belirtilmiştir (Tricolly ve ark., 2023). Çalışmaların probiyotik kullanımı ile sondalamada kanama, plak indeksi, diş eti indeksi, sondalama derinliği ve zorunlu anaerobik mikroorganizma sayısında azalma olduğunu gösterdiği ifade edilmiştir (Tricolly ve ark., 2023).

Benzer şekilde, probiyotiklerin periodontal tedavide adjuvan tedavi olarak kullanılması, periodontal cep derinliği, klinik ataşman kaybı ve sondalamada kanama parametrelerinde iyileşme gösterilmiştir. Bu bulgular ile probiyotiklerin periodontal bakımı geliştirme potansiyelinin altı çizilmektedir ve NGS, etkilerinin aydınlatılmasında çok önemli bir rol oynadığını gösterilmektedir (Hardan ve ark., 2022).



## II. PROBİYOTİKLERİN GENEL TANIMI

### A. Probiyotiklerin Genel Tanımı

Probiyotiklerin, canlı mikroorganizmaların tüketilmesiyle insan sağlığına fayda sağladığı düşünülen besin takviyeleri olduğu belirtilmiştir. Bu tanım, Gıda ve Tarım Örgütü (FAO) ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından belirlenmiş ve uluslararası alanda kabul görmüştür (Hill ve ark., 2014). Probiyotiklerin sağlık üzerindeki olumlu etkileri, sindirim sistemi sağlığından bağışıklık fonksiyonlarına kadar geniş bir yelpazede araştırılmıştır (Azad ve ark., 2018). Özellikle, probiyotiklerin antibiyotik ilişkili ishalin önlenmesi ve prematüre bebeklerde nekrotizan enterokolit riskinin azaltılmasında etkili olduğu gösterilmiştir (Jacobs ve ark., 2013; Deshpande ve ark., 2010). Ayrıca, probiyotiklerin anksiyete ve depresif semptomlar üzerinde olumlu etkileri olduğu yönünde bulguların varlığı gösterilmektedir (Pirbaglou ve ark., 2016).

Probiyotiklerin tanımı ve uygulamaları konusunda dikkat edilmesi gereken noktalar, bilimsel araştırma, ürün etiketlemesi ve toplumla iletişim açısından önem taşımaktadır. Uluslararası Bilimsel Probiyotikler ve Prebiyotikler Derneği (ISAPP) tarafından belirlenen kriterlerin geniş çapta kabul görmesi, probiyotiklerin bilimsel yayınlarda, ürün etiketlerinde ve toplumla iletişimde doğru bir şekilde kullanılmasını sağlamak için gerekliliği gösterilmektedir (Binda ve ark., 2020). Ayrıca, probiyotiklerin etkili dozajı, ürün formülasyonu ve saklama koşullarının belirlenmesi, ürün etiketlemesi ve tüketici bilgilendirmesi açısından büyük öneme sahip olduğu belirtilmektedir (Schepper ve ark., 2017).

Probiyotiklerin sağlık üzerindeki etkileri ve uygulamaları geniş bir araştırma alanını kapsamaktadır. Özellikle, probiyotiklerin bağırsak mikrobiyotası üzerindeki etkileri, bağışıklık sistemi fonksiyonları ve metabolik sağlık üzerindeki etkileri üzerine yapılan araştırmalar, probiyotiklerin potansiyel uygulama alanlarını genişletmektedir (Azad ve ark., 2018; Schepper ve ark., 2017). Ayrıca, probiyotiklerin gıda korunmasında, sporcuların bağışıklık sistemi

üzerindeki etkileri ve çocuklarda kullanımı gibi farklı uygulama alanları da incelenmektedir (Schnadower ve ark., 2015; Pyne ve ark., 2012).

Probiyotiklerin insan refahı üzerindeki potansiyel yararlı etkileri nedeniyle sağlık ve tıp alanında büyük ilgi gördüğü ifade edilmiştir. Probiyotik tüketiminin bildirilen faydalı etkileri arasında bağırsak sağlığının iyileştirilmesi, laktoz intoleransı semptomlarının iyileştirilmesi ve çeşitli diğer hastalık risklerinin azaltılması yer almaktadır (Kechagia ve ark., 2013).

Probiyotiklerin potansiyel sağlık etkileri, GI bozukluklar, ruh sağlığı ve bağışıklık fonksiyonu dahil olmak üzere çeşitli sağlık koşulları üzerindeki etkilerini araştıran çalışmalarla kapsamlı bir araştırma konusu olmuştur (Kechagia ve ark., 2013; Upadrasta ve Madempudi, 2016).

Probiyotiklerin potansiyel kullanım alanlarının, hipertansiyon gibi bazı metabolik bozuklukları iyileştirdikleri tespit edildiğinden, GI sağlığın ötesine uzandığı belirtilmiştir (Lye ve ark., 2009). Ayrıca, hamile kadınların ve yenidoğanlarının sağlığı için potansiyel olumlu etkiler vurgulanmış ve bu durum hamileliğin probiyotik kullanımı için uygun bir zaman olduğunu göstermektedir (Rutten ve ark., 2015).

Ağız yoluyla uygulanan probiyotiklerin bağırsak mikrobiyomunu etkileyerek atopik dermatit, akne veya rosacea gibi cilt rahatsızlıklarında potansiyel bir iyileşmeye yol açtığı gösterilmiştir (Puebla-Barragan ve Reid, 2021). Ayrıca, probiyotik bakterilerin cildin doğal bariyerini güçlendirmeye ve cilt yüzey sağlığını iyileştirmeye yardımcı olmak için kullanımı araştırılmış ve probiyotiklerin cilt bakımındaki potansiyeli vurgulanmıştır (Bezaha ve ark., 2022).

## **B. Probiyotiklerin Sınıflandırılması**

Probiyotik organizmaların bilimsel sınıflandırmasının, potansiyel sağlık faydalarının anlaşılması ve çeşitli uygulamalarda uygun kullanımlarının sağlanması açısından büyük önem taşıdığı vurgulanmıştır. Gıda ürünlerinde kullanılan probiyotiklerin çoğunluğunun *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* türlerine ait olduğu belirtilmiştir (Zanjani ve ark., 2017; Moreno-Sanz ve ark., 2022; Plant ve Conway, 2001). Bu organizmaların, sindirimi teşvik etmek ve

ishali önlemek gibi konakçı üzerindeki faydalı etkileriyle bilindiği ifade edilmiştir (Sissons, 1989). Bununla birlikte, etkinlik ve güvenliklerinin sağlanması için probiyotik organizmaların doğru bir şekilde sınıflandırılmasının çok önemli olduğu belirtilmiştir.

Probiyotik organizmaların sınıflandırılmasının, DNA-DNA hibridizasyonu, 16S rRNA kodlayan DNA'nın sıralanması ve diğer moleküler teknikler gibi uluslararası kabul görmüş metodolojiler kullanılarak organizmaların cins ve tür düzeyinde tanımlanmasını ve karakterize edilmesini içerdiği belirtilmiştir (Reid, 2005; Iacumin ve ark., 2015). Probiyotik mikroorganizmaların doğru taksonomik tanımlanmasının, gıda ürünleri ve probiyotikler için doğru etiketlerin üretilmesi için gerekli olduğu ifade edilmiştir (Iacumin ve ark., 2015). Ayrıca, DNA temelli yöntemlerin, yakın ilişkili probiyotik bakterilerin sınıflandırılması için en iyi seçenek olarak kabul edildiği belirtilmiştir (Morovic ve ark., 2016).

Uluslararası Probiyotik ve Prebiyotik Bilimsel Birliği (ISAPP), “probiyotik” teriminin kapsamının ve uygun kullanımının tanımlanmasında önemli bir role sahip olduğu gösterilmiştir (Hill ve ark., 2014; Cerk ve Aguilera-Gómez, 2022; Sanders ve ark., 2003).

Hill ve arkadaşları (2014) tarafından yayınlanan Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology dergisinde yayımlanan “Probiyotik teriminin kapsamı ve uygun kullanımı üzerine Uluslararası Probiyotik ve Prebiyotik Bilimsel Birliği konsensüs bildirisi” başlıklı makalede, ISAPP'ın 2013 yılındaki uzlaşılı toplantısında probiyotiklerin, “yeterli miktarda uygulandığında sağlık yararları sağlayan canlı mikroorganizmalar” olarak tanımlanması konusundaki detaylı bilgiler sunulmuştur. Bu makalede, probiyotik etkilerin özgülüğü vurgulanmış ve bireysel probiyotik suşları tanımlamak için suş tanımlamalarının kullanılmasının önemi üzerinde durulduğu ifade edilmektedir.

Probiyotik organizmaların sınıflandırılmasına ek olarak, probiyotik ürünlerin kalite ve güvenliğinin sağlanmasının da önem taşıdığı belirtilmiştir. Birçok probiyotik ürünün içerikleri ve etiket bilgileri açısından kalitesizliği son raporlarda vurgulanmış ve probiyotik organizmalar içeren ürünler için etiketleme ve kalite güvence prosedürlerinde iyileştirmeler yapılması gerektiği ifade edilmiştir (Temmerman ve ark., 2003; Hamilton-Miller ve ark., 1999). Enfekte

eden mikroorganizmaların titizlikle tanımlanmasının, probiyotik tedavisinin güvenliğinin izlenmesi için çok önemli olduğu vurgulanmıştır (Fedorak ve Madsen, 2004).

Probiyotik organizmaların taksonomisi ve kalitesinin, doğru sınıflandırma ve kalite kontrol önlemlerinin önemini vurgulayan çeşitli çalışmalarda bağımsız olarak doğrulandığı belirtilmiştir (Jacobs ve ark., 2013; Kerna, 2018). Probiyotik bakterilerin gıda koruma ve hayvan sağlığı gibi çeşitli uygulamalarda kullanılmasının, doğru sınıflandırma ve karakterizasyonlarının önemini daha da vurguladığı ifade edilmiştir (Davachi ve ark., 2021; Zaloilo ve ark., 2021; Sissons, 1989).



### III. PROBİYOTİK MİKROORGANİZMALAR

Probiyotik mikroorganizmaların tarihi, Yunanlılar ve Romalılar tarafından peynir ve fermente ürünlerin belgelenmiş ilk kullanımına dayandırılmaktadır (Kafshdooz ve ark., 2016).” Probiyotikler” teriminin, insan sağlığı ve hastalıklarında mikroorganizmaların anlaşılması ve kullanılmasındaki ilerlemelere paralel olarak geliştirildiği belirtilmiştir (Teughels ve ark., 2008). En yaygın olarak bulunan probiyotiklerin, laktik asit bakterileri ailesine ait *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* ve *Streptococcus* gibi mikroorganizmaları içerdiği ifade edilmektedir (Sengupta ve ark., 2020). Bu mikroorganizmaların uzun bir güvenli kullanım geçmişine sahip olduğu ve genellikle güvenli olarak kabul edildiği bilinmektedir (Javier, 2020).

Probiyotiklerin kullanımı, probiyotiklerle ilgili yayınlanmış makale sayısının yedi kat artarak 2014 yılında 1.400’ün üzerine çıkmasıyla büyük ilgi gördüğü gösterilmiştir (Sniffen ve ark., 2018). Probiyotiklerin, GI hastalıkları, ağız sağlığı, solunum yolu hastalıkları ve cilt yaşlanması gibi çeşitli sağlık koşullarını yönetme potansiyelleri açısından kapsamlı bir şekilde incelendiği belirtilmiştir (Zhao ve ark., 2022; Javaherian ve ark., 2022; Wietmarschen ve ark., 2020; Kumalasari ve Damayanti, 2022). Ayrıca, probiyotiklerin *Helicobacter pylori* ve antibiyotikle ilişkili ishal gibi enfeksiyonların yönetimindeki rolleri açısından araştırıldığı ifade edilmiştir (Agamennone ve ark., 2018). Probiyotiklerin hiper ürisemiye iyileştirme potansiyeli ve hayvan sağlığında, özellikle kümes hayvanı üretiminde uygulanması da araştırılmıştır (Sumarsih ve ark., 2020).

Probiyotiklerin tarihsel kullanımı, daha kısa bir güvenli ve faydalı kullanım geçmişine sahip olan yeni nesil probiyotiklerin (NGP) veya canlı biyoterapötik ürünlerin (LBP) geliştirilmesinin önünün açıldığı ifade edilmiştir (Wortelboer ve ark., 2022). Bununla birlikte, probiyotiklerin faydalı etkileri gözlemlenmekle birlikte, probiyotiklerle ilişkili enfeksiyonlara dair münferit raporların da mevcut olduğu ve bu durumun probiyotiklerin güvenliğinin ve uygun kullanımının

sağlanması önemi vurguladığı belirtilmiştir (Simkins ve ark., 2013; Tom ve ark., 2021).

Probiyotik organizmalar arasında bakteriler, mayalar, mantarlar ve diğer mikroorganizmaların bulunduğu ifade edilmektedir. Özellikle *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Saccharomyces boulardii* gibi bakteri ve maya türlerinin probiyotik olarak yaygın bir şekilde kullanıldığı belirtilmiştir (Pais ve ark., 2020; Binetti ve ark., 2013; Morovic ve ark., 2016; Salvetti ve O'Toole, 2017; Rajkowska ve Kunicka-Styczyńska, 2010).

Probiyotik organizmaların gıda endüstrisindeki kullanımı da oldukça yaygın olduğu bilinmektedir. Özellikle süt ürünleri, peynir ve fermente gıdaların üretiminde probiyotik organizmaların kullanımının önemli bir yere sahip olduğu belirtilmiştir. Ayrıca, probiyotik bakterilerin hayvan yemlerinde kullanımının, hayvan sağlığı ve performansı üzerinde olumlu etkiler sağlayabileceği gösterilmiştir (Binetti ve ark., 2013; Slavchev ve ark., 2017).

#### **A. Probiyotik Bakteriler**

Probiyotik bakterilerin taksonomik, biyolojik ve fizyolojik özellikleri açısından kapsamlı bir şekilde incelendiği belirtilmiştir. Probiyotik bakterilerin biyolojik ve fizyolojik özelliklerinin çok çeşitli olduğu ve bağışıklık sistemini modüle etme, oksidatif stresi hafifletme ve biyolojik olarak aktif bileşikler üretme yeteneklerini içerdiği ifade edilmiştir (Matsuzaki ve Chin, 2000; Lee ve Kang, 2022; Rio ve ark., 2008). Ayrıca, probiyotik bakterilerin su ürünleri yetiştiriciliği, fermente gıdalar ve hayvan sağlığı gibi çeşitli uygulamalarda potansiyel kullanımları için araştırıldığı belirtilmiştir (Irianto ve Austin, 2002; Chechet ve ark., 2022; Alak, 2012).

Probiyotik bakterilerin taksonomik sınıflandırmasının, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus* ve *Bacillus* dahil olmak üzere çok çeşitli cinsleri kapsadığı ifade edilmiştir. Bu cinslerin probiyotik özellikleri ve sağlığa fayda sağlama potansiyelleri açısından kapsamlı bir şekilde incelendiği belirtilmiştir (Bogusławska-Wąs ve Dłubała, 2022; Cross ve ark., 2004; Rio ve ark., 2008). Ayrıca, probiyotik bakterilerin taksonomik çeşitliliğinin, hayvanların sindirim sistemleri, fermente gıdalar ve hatta bitki probiyotikleri de dahil olmak üzere

çeşitli ortamlara uzandığı ifade edilmiştir. Bu çeşitliliğin, probiyotik bakterilerin geniş spektrumunu ve farklı alanlardaki potansiyel uygulamalarını vurguladığı belirtilmiştir (Irianto ve Austin, 2002; Carro ve Nouiou, 2017; Risa ve ark., 2020).

### 1. *Lactobacillus*

*Lactobacillales* takımı, *Firmicutes* filumunun ve *Bacilli* sınıfının en büyük takımıdır. Bu takım içindeki *Lactobacillus* cinsi, fenotipik, ekolojik ve genotipik seviyelerde oldukça çeşitli bir mikrobiyal gruptur. Bu cins yaklaşık 135 tür ve 27 alt türden oluşmaktadır Hareketli olmayan, katalaz-negatif, havaya toleranslı veya anaerobik, aside toleranslı ve spor oluşturmeyen çubuk veya koklardan oluşmaktadır (Maksimaityte ve ark., 2021).

Bir Gram-pozitif bakteri grubu olan *Lactobacillus*, bağırsak bariyeri işlevini güçlendirmedeki, iltihabı hafifletmedeki ve bağırsak sağlığını geliştirmedeki potansiyel rolü nedeniyle kapsamlı bir şekilde incelenmiştir (Hiippala ve ark., 2018). *Lactobacillus* cinsi içindeki *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus casei* ve *Lactobacillus acidophilus* gibi türlerin, bağırsak sağlığı ve bağışıklık üzerinde faydalı etkilerinin olduğu gösterilmiştir (Panja ve ark., 2023; Oozeer ve ark., 2002; Shida ve ark., 2009). Bu bakterilerin, bağırsak mikrobiyotasını etkilediği, gıda güvenliğini artırdığı ve bağışıklık sistemini modüle ettiği, böylece bağırsak sağlığının korunmasına katkıda bulunduğu bulunmuştur (Khan ve ark., 2020; Ren ve ark., 2016).

*Lactobacillus* cinsinin taksonomisi son yıllarda önemli güncellemeler ve revizyonlardan geçmiştir. *Lactobacillus* cinsi üzerine taksonomik bir not sunularak 23 yeni cins tanımlanmış ve *Lactobacillus* cinsinin düzeltilmiş bir tanımı sunulmuştur (Zheng ve ark., 2020). Bu taksonomik güncellemenin, *Lactobacillus* türlerinin filogenisi, ekolojisi ve fizyolojisine ilişkin gelişen anlayışı yansıttığı ifade edilmiştir. *Lactobacillus* cinsinin taksonomik güncellemesine katkıda bulunmuş ve cins içinde geçerli olarak tanımlanmış 152 türün dahil edildiği vurgulanmıştır (Salveti ve ark., 2012). Ayrıca, Oberg ve arkadaşlarının (2022) süt ürünleri ile ilgili laktobasillerdeki taksonomik değişiklikleri gözden geçirdiği ve tanımlanmış cinsler için standart beklentileri

karşılama üzere yenilenmiş bir taksonominin gerekliliğini vurguladığı belirtilmiştir.

## 2. *Bifidobacterium*

*Actinobacteria* filumunun önde gelen bir üyesi olan *Bifidobacterium* cinsi, taksonomik, genetik ve biyolojik özellikleri nedeniyle büyük ilgi görmüştür. *Actinobacteria* filumu için taksonomik çerçeve ve moleküler imzaların kapsamlı bir şekilde incelendiği ve filum içindeki genetik çeşitlilik ve evrimsel ilişkiler hakkında bilgiler sağladığı belirtilmiştir (Gao ve Gupta, 2012). Ayrıca, *Bifidobacterium* türlerinin genetik, biyokimyasal ve genomik özelliklerinin gözden geçirilerek genetik yapılarına ve metabolik potansiyellerine ışık tutulduğu ifade edilmiştir (Martinez ve ark., 2015). *Bifidobacterium lactis* ve *Bifidobacterium animalis*'in taksonomik durumunun polifazik bir yaklaşım kullanılarak araştırıldığı ve bu türlerin alt tür düzeyinde yeniden sınıflandırılmasına yol açtığı belirtilmiştir (Masco ve ark., 2004). Ayrıca, insan bağırsağındaki *Actinobacteria* filumuna ait ana cins *Bifidobacterium*'un bağırsak mikrobiyomundaki yaygınlığını ve ekolojik önemini vurguladığı ifade edilmiştir (Domingo ve Sánchez, 2017).

*Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium catenulatum* ve *Bifidobacterium pseudocatenulatum* temsilcileri arasındaki genetik çeşitliliğin ve çekirdek genom dizilerinin araştırıldığı ve *Bifidobacterium* filogenetik grubu içindeki genomik çeşitlilik ve evrimsel ilişkiler hakkında değerli bilgiler sağlandığı belirtilmiştir (Duranti ve ark., 2013). Ayrıca, *Bifidobacterium* suşlarının rRNA gen kısıtlama modellerine göre tanımlanmasının, *Bifidobacterium* türlerini karakterize etmek ve ayırt etmek için bir yöntem olarak kullanıldığı ifade edilmiştir (Mangin ve ark., 1994). İnsan dışkısından izole edilen bir *Bifidobacterium* Spp. suşunun karakterizasyonu ve spesifik genlerin ekspresyonunun, *Bifidobacterium*'un genetik ve fizyolojik özelliklerinin moleküler düzeyde anlaşılmasına katkıda bulunduğu belirtilmiştir (Rangel ve ark., 2013).

Genetik ve taksonomik çalışmalara ek olarak, *Bifidobacterium*'un biyolojik özelliklerinin de ilgi konusu olduğu ifade edilmiştir. *Bifidobacterium longum*'ün bağırsak ortamı üzerinde önemli olumlu etkiler gösterdiği ve sağlığı geliştirici

potansiyel özelliklerinin vurgulandığı belirtilmiştir. Ayrıca, *Bifidobacterium*'un bağırsak mikrobiyota sağlığındaki rolü ve işlenmiş süt ürünlerinde probiyotik olarak potansiyelinin araştırıldığı, bağırsak mikrobiyal dengesinin korunmasında ve genel sağlığın geliştirilmesindeki öneminin vurgulandığı ifade edilmiştir (Sherwani ve Bukhari, 2022). Çalışmaların ayrıca *Bifidobacterium* türlerinin, potansiyel immünomodülatör etkilerini göstererek, murin akut ve kronik kolitinin önlenmesinde önemli bir rol oynadığını ileri sürdüğü belirtilmiştir (Kamada ve ark., 2005).

### 3. *Enterococcus*

*Enterococcus*'un taksonomik özelliklerinin, bu cinsin çeşitliliğini ve uyartılabilirliğini anlamak için kapsamlı bir şekilde incelendiği belirtilmiştir. Enterokokların sınıflandırılmasının ve farklılaştırılmasının ilk olarak 1933 yılında Lancefield tarafından serolojik gruplara dayalı olarak tanıtıldığı ifade edilmiştir (García-Solache ve Rice, 2019). Buna ek olarak, *rpoA* ve *pheS* genleri kullanılarak çok odaklı dizi analizinin (MLSA) uygulanmasının, *Enterococcus* türlerinin hızlı bir şekilde tanımlanmasını sağladığı ve taksonomik farklılaşmalarına ilişkin değerli bilgiler sunduğu ifade edilmiştir (Naser ve ark., 2005). Ayrıca, genom temelli çalışmaların *Enterococcus faecium* ve *Enterococcus lactis* izolatları arasındaki taksonomik ilişkiyi gösterdiği ve *Enterococcus* cinsi içindeki taksonomik yapının daha iyi anlaşılmasına katkıda bulunduğu belirtilmiştir (Daza ve ark., 2021). *Enterococcus villorum*'un domuz yavrularında ishale ilişkili yeni bir tür olarak keşfedilmesinin, *Enterococcus*'un taksonomik bilgisini genişlettiği ve enteroadherent özelliklerini vurguladığı ifade edilmiştir (Vancanneyt ve ark., 2001).

*Enterococcus* cinsinin, özellikle probiyotik olarak potansiyeli bağlamında taksonomik, genetik ve biyolojik özelliklerine odaklanarak kapsamlı bir şekilde araştırıldığı belirtilmiştir. Bu cinsle ilişkili probiyotik potansiyeli ve güvenlik endişelerinin vurgulandığı, gıda, yem ve probiyotik kullanımı için kommensal *Enterococcus* adaylarının düzenleyici durumunun tartışıldığı ve potansiyel uygulamaları için güvenlik değerlendirmelerinin öneminin vurgulandığı ifade edilmiştir (Hanchi ve ark., 2018).

Taksonomik ve fizyolojik değerlendirmelere ek olarak, Bhagwat ve arkadaşlarının (2019) insan kökenli *Enterococcus* suşlarının fizyolojik özelliklerinin in vitro değerlendirmelerini yaparak probiyotik kullanım için canlılıklarını ve potansiyellerini gösterdiği belirtilmiştir.

Ayrıca, çalışmaların *Enterococcus* virölans belirleyicilerinin moleküler taramasına ve gıda ile tıbbi izolatlar arasındaki genetik değişim potansiyeline odaklandığı ve *Enterococcus*'un tıbbi önemini ve bu cinsten gelişen antibiyotik direncini vurguladığı ifade edilmiştir (Eaton ve Gasson, 2001). *Enterococcus* türlerinin genomik temelli karakterizasyonunun da araştırıldığı ve özellikle probiyotik olma potansiyelleri bağlamında genetik yapılarının kapsamlı bir şekilde anlaşılması ihtiyacının vurgulandığı belirtilmiştir (Younus ve ark., 2021).

*Enterococcus* suşlarının biyolojik özelliklerinin de ilgi çeken bir konu olduğu ifade edilmiştir. Çalışmaların, çiğ süt ve geleneksel süt ürünlerinden izole edilen *Enterococcus* suşlarının probiyotik özelliklerini karakterize ettiği ve hayvanlar için probiyotik takviye olarak potansiyellerinin vurgulandığı belirtilmiştir (Yerlikaya ve Akbulut, 2019). Ayrıca, tatlı su balıklarının sindirim sisteminden izole edilen yeni bir probiyotik olarak *Enterococcus hirae* F2'nin doğal özelliklerinin araştırıldığı, yüksek asidik ve safra tuzu konsantrasyonları altında hayatta kalmasının yanı sıra spesifik enzimler üretme kabiliyetinin gösterildiği belirtilmiştir (Adnan ve ark., 2017).

Ayrıca, ekşi mayadan izole edilen *E. faecium* YF5'in güvenlik değerlendirmesi ve probiyotik değerlendirmesinin çalışıldığı ve probiyotik olarak kullanılmadan önce *Enterococcus* suşlarında virölans ve antibiyotik direnci ile ilişkili fenotip ve genlerin taranmasının önemi vurgulandığı ifade edilmiştir (Tan ve ark., 2013). *Enterococcus faecium*'un bağırsak mukozasında *Salmonella typhimurium* enfeksiyonu kaynaklı hasar üzerindeki koruyucu etkisinin de gösterildiği ve patojen kaynaklı hasarı önleme potansiyelinin vurgulandığı belirtilmiştir (Zhang ve ark., 2021).

#### **4. *Bacillus***

*Bacillus* cinsinin, özellikle taksonomik, genetik ve biyolojik özelliklerinin yanı sıra probiyotik olma potansiyeli bağlamında kapsamlı araştırmalara konu olduğu belirtilmiştir. *Bacillus* türlerinin, potansiyel probiyotik özellikleri

açısından incelenen Gram-pozitif, spor oluşturan bakteriler olduğu ifade edilmiştir. *Bacillus* türlerinin taksonomik sınıflandırması ve genetik yapısının, probiyotik olarak potansiyellerinin anlaşılmasında çok önemli bir rol oynadığı ve potansiyel probiyotikler olarak *Bacillus*'un kapsamlı bir incelemesinin sağlandığı belirtilmiştir. Ayrıca, durumlarının, endişelerinin ve gelecekteki perspektiflerinin tartışıldığı ifade edilmiştir. Elshaghabee ve arkadaşları (2017) tarafından yapılan çalışmada bireysel *Bacillus* suşlarının güvenliğinin değerlendirilmesine yönelik artan ihtiyacın ve *Bacillus* probiyotik adaylarının seçimi ve tanımlanması için daha derin analizlerin gerekliliğinin vurgulandığı belirtilmiştir.

Ayrıca, *Bacillus* türlerinin probiyotik özelliklerinin de araştırıldığı ifade edilmiştir. *Bacillus pumilus* ve *Bacillus subtilis* dahil olmak üzere seçilen ticari temizlik preparatlarındaki probiyotik konsorsiyumlardaki bakteri türlerinin tanımlandığı ve bunların temizlik ürünlerindeki probiyotik potansiyelinin vurgulandığı belirtilmiştir (Jeżewska-Frąckowiak ve ark., 2019; Talebi ve ark., 2018). Geleneksel lakto-fermente turşudan üç yeni *Bacillus* suşunun potansiyel probiyotikler olarak tanımlandığı ve gıda/yem ve ilaç endüstrilerine katkıları için dikkate değer probiyotik potansiyele sahip yeni *Bacillus* suşlarının belirlenmesinin önemini vurgulandığı ifade edilmiştir (Talebi ve ark., 2018).

*Bacillus*'un genetik özelliklerinin de ilgi çeken bir konu olduğu ifade edilmiştir (Nakharuthai ve ark., 2023). CC kemokinini ifade eden rekombinant probiyotikler oluşturmak için Nil tilapisinin bağırsağından potansiyel probiyotik *Bacillus* Spp. izole edilmiş ve spesifik bağışıklık modüle edici özelliklere sahip rekombinant probiyotiklerin oluşturulması için *Bacillus*'un genetik potansiyelinin gösterildiği belirtilmiştir (Nakharuthai ve ark., 2023). Ayrıca, Li ve arkadaşlarının (2016) filogenetik olarak farklı iki probiyotik olan *Bacillus coagulans* S-lac ve *B. subtilis* TO-A JPC'nin tam bir genom analizini gerçekleştirerek genetik yapılarına ve endüstriyel ve araştırma uygulamaları için potansiyellerine ışık tuttıkları ifade edilmiştir (Khatri ve ark., 2016).

*Bacillus* suşlarının biyolojik özelliklerinin, probiyotik olma potansiyelleri bağlamında da araştırıldığı belirtilmiştir (Mazanko ve ark., 2022). Kanatlı mikrobiyotasından izole edilen spor oluşturan *Bacillus* probiyotik bakterilerinin piliçlerin sağlığı, büyüme performansı ve bağışıklık sistemi üzerindeki yararlı etkilerini inceleyen çalışmanın, *Bacillus* probiyotiklerinin hayvan sağlığını ve

büyüme performansını iyileştirme potansiyelini ortaya koyduğu ifade edilmiştir (Mazanko ve ark., 2022). Ayrıca, büyüyen domuzlarda diyet probiyotiklerinin büyüme performansı, besin sindirilebilirliği, kan özellikleri ve dışkıdaki zararlı gaz içeriği üzerindeki etkilerinin değerlendirilerek *Bacillus* bazlı probiyotiklerin domuz sağlığını ve performansını iyileştirme potansiyelinin vurgulandığı belirtilmiştir (Chen ve ark., 2005).

##### **5. *Escherichia coli* Nissle 1917 (Mutaflor):**

Mutaflor olarak da bilinen *Escherichia coli* Nissle 1917 (EcN), taksonomik, genetik ve biyolojik özellikleri açısından kapsamlı bir şekilde incelenmiş probiyotik bir *Escherichia coli* suşudur. İlk olarak 1917 yılında Alman bir bakteriyolog olan Alfred Nissle tarafından izole edilen EcN'nin, probiyotik özellikleri ve çeşitli GI koşullardaki terapötik potansiyeli ile yaygın olarak tanındığı belirtilmiştir.

EcN'nin, *E. coli*'nin patojenik olmayan bir suşu olduğu ve taksonomik özellikleri açısından kapsamlı bir şekilde incelendiği ifade edilmiştir. *Enterobacteriaceae* familyasına ait Gram-negatif, fakültatif anaerobik bir bakteridir. EcN'nin, idrar yolu enfeksiyonları ile ilişkili patojenik *E. coli* suşlarından ayıran O6:K5 serotipi ile karakterize edildiği belirtilmiştir. EcN'yi patojenik *E. coli* suşlarından ayırmak için moleküler tiplendirme tekniklerinin kullanıldığı ve *E. coli* türleri içindeki farklı taksonomik konumunun ortaya konduğu ifade edilmiştir (Mitterdorfer ve ark., 2002).

EcN'nin genetik yapısının, probiyotik özelliklerini ve terapötik potansiyelini anlamak için araştırmaların odak noktası olduğu belirtilmiştir. Çalışmalar, EcN'nin probiyotik etkilerinin altında yatan moleküler mekanizmaları araştırmış ve bağırsak mukozasında sıkı bağlantı ve epitelyal bariyer onarımına katılımını ortaya çıkarmıştır. EcN'nin probiyotik doğasını yöneten genetik belirleyicilerin henüz tam olarak aydınlatılmadığı ve bu durumun, genetik özelliklerini ve probiyotik mekanizmalarını anlamak için daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyulduğunu vurguladığı ifade edilmiştir (Edwards-Ingram ve ark., 2007).

EcN'nin biyolojik özellikleri, probiyotik özelliklerini ve terapötik etkilerini aydınlatmak için kapsamlı bir şekilde incelenmiştir. EcN'nin insan bağırsak epitel hücrelerinin farklı entero-invaziv bakteriyel patojenler tarafından istilasına

müdahale ettiği gösterilmiş ve bağırsak epitelini patojen bakterilerden korumadaki rolü vurgulanmıştır. Dahası, EcN'nin biyofilm oluşumu sırasında bağırsak patojenlerini geride bıraktığı gösterilmiştir, bu da bağırsakta patojen kolonizasyonunu önlemede bir probiyotik olarak potansiyelini daha da vurgulamaktadır (Fidan ve ark., 2008).

EcN'nin klinik uygulamaları, özellikle GI bozuklukların önlenmesi ve tedavisinde kapsamlı bir araştırma konusu olmuştur. EcN'nin, çeşitli bağırsak rahatsızlıklarına karşı probiyotik olarak uzun yıllardır kullanıldığı ve GI koşullardaki terapötik potansiyelinin yaygın olarak kabul gördüğü ifade edilmiştir (Szajewska ve Kołodziej, 2015). Klinik deneyler ve kontrollü çalışmalar, EcN'nin ülseratif kolitte remisyonun sürdürülmesinde ve antibiyotikle ilişkili ishalin önlenmesindeki etkinliğini göstererek klinik önemini ve potansiyel terapötik faydalarını vurgulamıştır (Szajewska ve Kołodziej, 2015).

EcN, genellikle güvenli olarak kabul edilmesine ve bir probiyotik olarak yaygın şekilde kullanılmasına rağmen, güvenlik hususları ve yan etki potansiyeli ilgi çekici bir konu olmuştur. EcN'nin hayvan modellerinde ve klinik ortamlarda güvenliğini araştıran çalışmalar, yenidoğan buzağı ishalini ve GI enfeksiyonları önlemedeki güvenlik profilini ve terapötik etkinliğini göstermiştir (Obazelu ve ark., 2022). Bununla birlikte, özellikle bağışıklık sistemi baskılanmış bireylerde nadir genotoksisite ve invaziv enfeksiyon vakalarının bildirilmiş olması, güvenlik değerlendirmeleri ve klinik kullanımının dikkatli bir şekilde değerlendirilmesi ihtiyacını vurgulamaktadır (Atıcı ve ark., 2017)

## **6. Diğer Probiyotik Mikroorganizmalar**

Probiyotik mantarlar, maya ve küf, potansiyel sağlık yararları nedeniyle büyük ilgi görmektedir. Bu mikroorganizmaların taksonomisi, biyolojik özellikleri ve genetik özellikleri kapsamlı bir şekilde incelenmiştir. *Saccharomyces cerevisiae*, *Lachancea thermotolerans*, *Metschnikowia ziziphicola* ve *Torulaspora delbrueckii* gibi çeşitli maya suşlarının probiyotik potansiyelini vurgulayan çalışmalar yapılmıştır (Agarbatı ve ark., 2020). Bu bulgular, maya türlerindeki probiyotik yeteneklerin suşa bağlı doğasını göstermektedir. Ayrıca, bakteriler, maya ve filamentli mantarlar dahil olmak üzere probiyotik organizmaların balıkların GI sistemlerinden kaynaklandığı tespit edilmiştir ve bu

durum, çeşitli ekolojik kaynakları ve potansiyel uygulamalarını ortaya koymaktadır (Melo-Bolivar ve ark., 2020).

Probiyotik araştırmalarının geleneksel olarak bakteriler üzerinde yoğunlaşmış olmasıyla birlikte, mantarların probiyotik olarak önemli potansiyeli giderek daha fazla kabul görmektedir (Chuang ve ark., 2020). Çalışmalar, iltihaplı bağırsak hastalıklarının tedavisinde *Saccharomycopsis fibuligera*, *Saccharomyces boulardii* ve *S. cerevisiae* gibi fungal probiyotiklerin takviyesinin terapötik etkilerini göstermiştir (Lam ve ark., 2019). Ayrıca, *S. cerevisiae* gibi yerli probiyotik mayaların ruminant beslenmesinde kapsamlı bir şekilde incelenmiş ve kullanılmış olduğu belirtilmiştir (Ghazanfar ve ark., 2019).

*S. cerevisiae* ve *S. boulardii* gibi probiyotik maya suşlarının taksonomik ve genetik karakterizasyonu, ticari önemleri ve kapsamlı çalışmaları vurgulayan bir araştırma konusu olmuştur (Tamang ve Lama, 2022). Ayrıca, mantarların neden olduğu hastalıklar da dahil olmak üzere bulaşıcı hastalıkların azaltılması amacıyla probiyotik seçimine rehberlik etmek üzere “omik” ve bütünleşmiş multi-omik yaklaşımların kullanılması önerilmiştir. Bu yaklaşım, probiyotik seçiminde genetik ve moleküler içgörülerin önemini vurgulamaktadır (Rebollar ve ark., 2016).

Mayaların probiyotik olma potansiyeli klinik çalışmalarla daha da desteklenmiş ve *S. boulardii* çift kör klinik çalışmalarda etkili bir probiyotik olarak tanımlanmıştır (Czerucka ve ark., 2007). Ayrıca, mayalar ve mantarlar da dahil olmak üzere mikrobiyal katkı maddeleri, ruminant beslenmesinde büyümeyi, laktasyonu ve sağlığı iyileştirmek için yaygın olarak kullanılmakta ve hayvan tarımı üzerindeki önemli etkilerini vurgulamaktadır (Galvão ve ark., 2005).

Probiyotik maya suşlarının moleküler tanımlanması ve karakterizasyonu araştırılmış ve probiyotik uygulamalar için genetik özelliklerinin anlaşılmasının önemi vurgulanmıştır (Ragavan ve Das, 2017). Ayrıca, mayalar da dahil olmak üzere probiyotiklerin mantar enfeksiyonlarına karşı yeni terapötikler olarak potansiyeli kabul edilmiş ve daha geniş terapötik etkileri vurgulanmıştır (Wu ve ark., 2022).

Gerbaldo ve arkadaşları (2012) tarafından yapılan çalışmada *Lactobacillus* gibi probiyotik suşların toksijenik mantarlara karşı antifungal aktivitesi, gıda ve hayvansal üretimdeki mantar kontaminantlarını kontrol etme potansiyellerinin önemi vurgulanmaktadır. Ayrıca, probiyotik takviyelerin kullanımının gıda ürünlerinde küf ve maya gelişimini azalttığı gösterilmiştir, bu da gıda bozulmasını önlemedeki rollerini göstermektedir (Ehsannia ve Sanjabi, 2016).

Probiyotik maya ve probiyotik bakteriler arasındaki etkileşim araştırılmış ve probiyotiklerin zorlu ortamlarda hayatta kalabilirliğini artırmada potansiyel sinerjik etkileri olduğu gösterilmiştir (Lim ve ark., 2015). Ayrıca, probiyotiklerin prebiyotiklerle kapsüllenmesi, probiyotiklerin canlılık oranını artırmak için araştırılmış ve probiyotik uygulamalarında dağıtım sistemlerinin önemi vurgulanmıştır (Dong ve ark., 2020).

Diyetin insan bağırsak mikrobiyomu üzerindeki etkisi araştırılmış ve diyet modellerinin bağırsak mikrobiyotasının bileşimini önemli ölçüde etkileyebileceği ortaya çıkmıştır (Wong ve ark., 2018). Ek olarak, antibiyotik pertürbasyonunun insan bağırsak mikrobiyotası üzerinde derin bir etkisi olduğu ve antibiyotik tedavisini takiben eksik iyileşmeye ve bireyselleştirilmiş tepkilere yol açtığı gösterilmiştir (Dethlefsen ve Relman, 2010).

Bağırsak mikrobiyotasının ayrıca konakçı bağışıklık sistemi ile etkileşime girdiği, bağışıklık hücresi popülasyonlarının dengesini etkilediği ve bağışıklık tepkilerinin düzenlenmesine katkıda bulunduğu bilinmektedir. Hastalık bağlamında, bağırsak mikrobiyotası, kolitin alevlenmesinde ve enflamatuar bağırsak hastalığında bağışıklık hücresi popülasyonlarının düzensizleşmesinde rol oynamıştır (Britton ve ark., 2019). Ayrıca, bağırsak mikrobiyotasının tümör mikro çevresini etkilediği gösterilmiş ve tümör tedavisi ile beklenmedik ittifakı vurgulanmıştır (Mukaida, 2014).

Bağırsak mikrobiyotası, insan sağlığındaki rolünün yanı sıra hayvan modelleri ve çevresel mikrobiyota bağlamında da incelenmiştir. Araştırmalar, bağırsak mikrobiyotasının hayvan sağlığı ve hastalıklarındaki önemini ortaya koymuş ve insan mikrobiyotası ile kronik hastalıklar arasındaki etkileşimleri incelemek için insanlaştırılmış hayvan modellerinin geliştirilmesine yol açmıştır (Hintze ve ark., 2014; Chan, 2020). Dahası, su ortamındaki mikrobiyotanın suda

yaşayan hayvanların bağırsak mikrobiyotasını etkilediği gösterilmiş ve çevresel ve bağırsak mikrobiyotasının birbirine bağlı olduğu vurgulanmıştır (Liu ve ark., 2021; Zhang ve ark., 2022).



#### IV. MİKROBİYOTA VE PROBİYOTİKLERLE İLİŞKİSİ

Probiyotikler ve mikrobiyota arasındaki ilişki karmaşık ve çok yönlüdür. Probiyotiklerin bağırsak mikrobiyotasının bileşimini ve metabolik aktivitesini etkilediği ve böylece sağlıklı bir bağırsak mikrobiyomunun korunmasına katkıda bulunduğu gösterilmiştir (Gerritsen ve ark., 2011). Probiyotikler solunum yollarındaki mikroorganizmaların dengesinin korunmasında da önemli bir rol oynadığından, bu etki bağırsakların ötesine uzanır ve vücudun çeşitli bölgelerindeki mikrobiyota ile ilişkili koşulların modüle edilmesindeki önemlerini vurgular (Yuksel, 2023). Ayrıca, hamilelik sırasında probiyotiklerin uygulanmasının hem annenin hem de yavruların bağırsak mikrobiyotasını ve bağışıklık durumunu etkilediği tespit edilmiş ve probiyotiklerin mikrobiyota ile ilgili sağlık sonuçları üzerindeki geniş kapsamlı etkisi vurgulanmıştır (Chen ve ark., 2019).

Probiyotiklerin mikrobiyota kompozisyonu üzerindeki etkisi, probiyotik takviyesinin mikrobiyotada tespit edilebilir değişikliklere yol açabileceğini gösteren çalışmalarla kapsamlı bir araştırma konusu haline gelmiştir (Ng ve ark., 2013). Bununla birlikte, probiyotiklerin bağırsak mikrobiyotası üzerindeki spesifik etkileri, kullanılan probiyotik suşları ve takviye süresi gibi faktörlere bağlı olarak değişiklik göstermektedir (Aktaş ve ark., 2016). Bazı çalışmalar, probiyotik müdahalesinin ardından bağırsak mikrobiyotasında önemli değişiklikler bildirmişken, diğerleri probiyotik ve plasebo grupları arasında mikrobiyota kompozisyonunda yalnızca küçük ve kısa vadeli farklılıklar bulmuştur. Bu değişkenlik, probiyotikler ve mikrobiyota arasındaki etkileşimi etkileyen faktörlerin daha kapsamlı bir şekilde anlaşılması gerektiğini vurgulamaktadır (Rutten ve ark., 2015).

Probiyotiklerin mikrobiyotayı modüle etme potansiyeli, belirli sağlık koşullarını iyileştirmedeki rollerine kadar uzanmaktadır. Örneğin, probiyotiklerin bağırsak disbiyozunu iyileştirerek ve NOD benzeri reseptör protein 3 (NLRP3) sinyalini körelterek IgA nefropatisini iyileştirdiği gösterilmiş ve mikrobiyota ile

ilgili bozuklukları ele almadaki terapötik potansiyelleri vurgulanmıştır (Tan ve ark., 2022). Ayrıca, bir probiyotik kombinasyonunun uygulanmasının, yaşlanan farelerin bağırsak mikrobiyotasını normal farelerinkine benzer bir bileşime geri getirdiği bulunmuş ve bu durum, probiyotiklerin mikrobiyota bileşimi üzerindeki yaşlanma karşıtı etkilerini üzerine değinildiği belirtilmiştir (Fang ve ark., 2021).

Probiyotiklerin mikrobiyota üzerindeki etkisinin bağırsakla sınırlı olmadığı bilinmektedir. Örneğin, bazı çalışmalarda Alzheimer hastalığının ilerlemesi sırasında bağırsak mikrobiyotasının dinamik dağılımı ve bir fare modelinde probiyotiklerin Alzheimer hastalığı üzerindeki etkisi araştırılmış ve probiyotiklerin nörolojik hastalıklar bağlamında mikrobiyotayı modüle etme potansiyeline sahip olduğu gösterilmiştir (Zhu ve ark., 2023). Ayrıca, probiyotikler ile merkezi sinir sistemi arasındaki etkileşimler de incelenmiş; probiyotiklerin bağırsak mikrobiyotasının bileşimini ve işlevini iyileştirebileceği ve mikrobiyota-beyin eksenini ve bilişsel yönleri modüle etme potansiyeline sahip olduğu belirtilmiştir (Salami, 2021).

Probiyotiklerin mikrobiyota bileşimi ve işlevi üzerindeki etkisinin açık olduğu bilinmekle birlikte, probiyotiklerin mikrobiyota üzerindeki etkilerini hangi spesifik mekanizmalar aracılığıyla gösterdiği, aktif bir araştırma alanı olmaya devam etmektedir. Probiyotiklerin sağlıklı bireylerde bağırsak mikrobiyota kompozisyonunu modüle etme kabiliyetinin, GI hastalıklarda rol oynayan bakteri cinslerinde önemli bir azalmaya yol açtığı ve bu durumun, probiyotiklerin sağlıklı bir mikrobiyotayı şekillendirme ve sürdürme aracı olarak potansiyelini vurguladığı gösterilmiştir (Liu ve ark., 2020). Ayrıca, probiyotiklerin gebelik ve emzirme döneminde yüksek fruktoz tüketiminin neden olduğu hipertansiyonun gelişimsel programlanmasını önleme potansiyeline sahip olduğu ve bu durumun, mikrobiyota ile ilgili gelişimsel sonuçları modüle etmedeki rollerini daha da belirgin hale getirdiği belirtilmiştir (Hsu ve ark., 2018).

## **V.PROBİYOTİKLERDE ULUSAL VE ULUSLARARASI STANDARTLAR**

Probiyotik suşların etkinliği için yeterli miktarda bulunması gerektiği ve genellikle  $1 \times 10^7$  KOB/gün veya daha fazlasının önerildiği belirtilmektedir. Bu miktarın, probiyotiklerin sağlık yararlarından faydalanmak için gereken minimum düzeyi temsil ettiği ve etiketlerde probiyotik suşların sayısının KOB cinsinden belirtilmesi gerektiği vurgulanmaktadır (Miles, 2020). Özellikle, probiyotik ürünlerin raf ömrü boyunca yeterli miktarda canlı mikroorganizma içermesinin, terapötik faydalar sağlayabilmeleri için kritik öneme sahip olduğu ifade edilmektedir (Sniffen ve ark., 2018).

ABD Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından önerilen minimum probiyotik mikroorganizma sayısının  $10^6$  KOB/ml olduğu ve bu miktarın probiyotik gıdalarda beslenme süresi son tüketim anında korunması gerektiği belirtilmektedir (Espitia ve ark., 2016). Bu durumun, fayda sağlamak için günde  $10^8$ - $10^9$  mikroorganizma gibi bir minimum probiyotik hücre dozunun gerekliliğini vurguladığı ifade edilmektedir (Ranadheera ve ark., 2017). Bu miktarın, 100 gram üründe  $10^6$ - $10^7$  canlı hücre içeren bir ürün tüketimiyle eşdeğer olduğu belirtilmiştir (Leite ark., 2015).

FAO/WHO tarafından 2002 yılında yayınlanan “Probiyotiklerin Gıdalardaki Sağlık ve Beslenme Özellikleri ile Değerlendirilmesi İçin Kılavuzlar” başlıklı raporun, probiyotiklerin tanımı ve kullanımı konusunda önemli bir kaynak olarak kabul edildiği belirtilmektedir (Hill ve ark., 2014). Raporun, probiyotik mikroorganizmaların belirli değişikliklerine göre gıdalarda ve besin takviyelerinde kullanılabilmesi için dört basit ve uygulanabilir kriterin belirlenmesine olanak sağladığı ifade edilmektedir (Binda ve ark., 2020). Ayrıca, FAO ve WHO'nun, probiyotiklerin insanlar için kullanımı için sadece insan çıkış sistemi kaynaklı laktik asit bakterilerini önerdiği belirtilmektedir (Zielińska ve Kołożyn-Krajewska, 2018). Probiyotiklerin sağlık yararlarının elde edilmesi için belirli bir miktarın tüketilmesi gerekliliği, FAO/WHO'nun tanımında, günde  $10^8$ -

$10^9$  mikroorganizma gibi bir minimum probiyotik hücre dozunun gerekliliği olarak vurgulanmaktadır (Zhang ve ark., 2022). Bu miktarın, 100 gram üründe  $10^6$ - $10^7$  canlı hücre içeren bir ürün tüketimiyle eşdeğer olduğu ifade edilmektedir (Silva ve ark., 2022).

Türkiye'de probiyotik içerik miktarlarının, Tarım ve Orman Bakanlığı tarafından oluşturulan Türk Gıda Kodeksi Beslenme ve Sağlık Beyanları Yönetmeliği'nde düzenlendiği belirtilmektedir. Bu yönetmeliğe göre, bir gıda ürününün probiyotik beyanına sahip olabilmesi için en az günlük doz alımının  $1.0 \times 10^6$  KOB canlı probiyotik mikroorganizma içermesi gerektiği rapor edilmektedir (TGK, 2017).



## VI. PROBİYOTİK ANALİZLERİ

Probiyotik mikroorganizmaların tespiti ve izolasyonu, analizlerinde temel adımlar olarak kabul edilmektedir. Kültüre dayalı yöntemler ve moleküler teknikler gibi doğrudan tespit stratejilerinin, probiyotik mikroorganizmaları farklı kaynaklardan tanımlamak ve izole etmek için yaygın olarak kullanıldığı belirtilmektedir (Silva ve ark., 2017). Bu yöntemlerin, araştırmacıların belirli probiyotik suşların varlığını doğrulamasına ve gıda ürünleri, hayvan yemi ve çevresel örnekler dahil olmak üzere çeşitli örneklerdeki canlılıklarını ve bolluklarını değerlendirmelerine olanak tanıdığı ifade edilmektedir (Yasmin ve ark., 2022).

Probiyotik mikroorganizmaların karakterizasyonu, fizyolojik, biyokimyasal ve fonksiyonel özelliklerinin değerlendirilmesini içermektedir. Probiyotik mikroorganizmaların karakterize edilmesi ve potansiyel sağlık faydalarının belirlenmesi için titiz tarama yöntemleri ve kapsamlı doğrulama sistemlerinin gerekli olduğu belirtilmektedir (Kosgey ve ark., 2022). Bu karakterizasyon, çevresel koşullara karşı dirençlerinin, konak dokulara yapışmalarının, faydalı metabolitlerin üretiminin ve patojenlere karşı antagonistik aktivitelerinin değerlendirilmesini içermektedir (Schepper ve ark., 2017). Ayrıca, fermente gıdalar, bal ve sucul ortamlar gibi farklı kaynaklardan elde edilen probiyotik mikroorganizmaların analizinin, bu mikroorganizmaların benzersiz özelliklerine göre uyarlanmış özel karakterizasyon yöntemleri gerektirdiği ifade edilmektedir (Tello ve ark., 2020; Sherwani ve Bukhari, 2022).

Genetik analiz, probiyotik mikroorganizmaların incelenmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Bu analizler aracılığıyla spesifik genetik belirteçler tanımlanmakta, genetik çeşitlilik değerlendirilmekte ve probiyotik suşların genetik modifikasyonu gerçekleştirilmektedir (Akçelik ve ark., 2021). Genetik modifikasyon ve dizi analizi, tıp, tarım ve biyoremediasyon gibi çeşitli alanlarda probiyotik mikroorganizmaların fonksiyonel özellikleri ve potansiyel uygulamaları hakkında değerli bilgiler sağlamaktadır (Helmy ve ark., 2020).

Metagenomik tabanlı analizler, mikrobiyal DNA'nın tamamının incelenmesini ve probiyotik mikroorganizmalar ile çevreleri arasındaki karmaşık etkileşimlerin anlaşılmasını mümkün kılmaktadır (Tello ve ark., 2020).

Probiyotik mikroorganizmaların antimikrobiyal etkileri, enfeksiyonların tedavisinde ve çevresel sanitasyonun teşvik edilmesinde alternatif antimikrobiyal ajanlar olarak kullanılma potansiyeli açısından önemli bir odak noktasıdır (Li ve Gu, 2018; Vainshtein, 2014). Antimikrobiyal aktivitelerin altında yatan mekanizmaların anlaşılması, ağız sağlığı, geniş getiren hayvan sağlığı ve çevresel iyileştirme gibi uygulamalardaki etkinlik ve güvenliklerinin değerlendirilmesi için gereklidir (Adjei-Fremah ve ark., 2018; Vainshtein, 2014).

### **A. Kültür Tabanlı Yöntemler**

Probiyotik organizmalar için kültüre dayalı yöntemler, çeşitli uygulamalar için etkili probiyotik suşların tanımlanması ve geliştirilmesi için gereklidir. Bu yöntemler, potansiyel olarak faydalı probiyotik bakterileri seçmek ve karakterize etmek için bir dizi strateji ve teknik içerir. Seçim süreci, probiyotik organizmaların işlevselliğini ve etkinliğini anlamak için tipik olarak kültürden bağımsız ve kültüre bağlı yöntemlerin bir kombinasyonunu içerdiği belirtilmektedir (Ghazanfar ve ark., 2019). Bu yöntemlerin birincil amacı, potansiyel olarak etkili probiyotik bakterileri belirlemek ve konakçı sağlığını geliştirmedeki etki mekanizmalarının anlaşılabilir kılınmasıdır (Dunne ve ark., 1999). Ek olarak, probiyotik kültürler arasında yararlı suşların araştırılması, karmaşık organik bileşikler parçalama ve tehlikeli bağırsak organizmalarını baskılama yetenekleri tarafından yönlendirilir ve bu tür suşların belirlenmesinde kültüre dayalı yöntemlerin önemini vurgulanmıştır (Vainshtein, 2014).

Ayrıca, probiyotik kültürel özelliklerin taranması, seçilmesi ve yeni veya geliştirilmiş antimikrobiyal özelliklerinin belirlenmesi, hastalıkların profilaksisi ve tedavisinin yanı sıra organizmanın direncinin artırılması ve hasta rehabilitasyonunun hızlandırılması için de çok önemli olduğu belirtilmektedir (Lakhtin ve ark., 2019). Bu durum, spesifik antimikrobiyal özelliklere sahip probiyotik suşların belirlenmesinde kültüre dayalı yöntemlerin önemli olduğu vurgulanmaktadır.

Ayrıca, probiyotiklerin ve biyomühendislik ürünü probiyotiklerin gıda kaynaklı patojenleri, antimikrobiyal etkilerini ve dağıtım stratejilerini kontrol etmek için kullanılması, probiyotik organizmaların gıda güvenliği ve sağlığı alanındaki potansiyel uygulamalarının anlaşılmasında kültüre dayalı yöntemlerin önemi vurgulanmaktadır (Amalaradjou ve Bhunia, 2012). Probiyotik organizmaların ve mikrobiyomlarının epigenetik ve para-epigenetik özelliklerinin araştırılması, probiyotik mekanizmanın anlaşılmasında kritik bir adım olarak tanımlanmakta ve probiyotik etkinin altında yatan mekanizmaların keşfedilmesinde kültüre dayalı yöntemlerin karmaşıklığı vurgulanmaktadır (Thumu ve ark., 2023).

Gıda bilimi bağlamında, belirli bakteri suşlarından oluşan liyofilize probiyotik kültürlerin kullanımı, insan tüketimine yönelik probiyotik ürünlerin geliştirilmesinde kültüre dayalı yöntemlerin uygulanması belirtilmektedir (Molero ve Bríñez, 2018). Benzer şekilde, su ürünleri yetiştiriciliğinde, su ürünleri yetiştiriciliğini yönetmek ve yetiştirme organizmaları için iyi bir bağışıklık hastalığı stratejisi geliştirmek için doğal probiyotiklerin veya yeni immünomodülatör maddelerin kullanılmasına odaklanılması, kültüre dayalı yöntemlerin hayvancılık ve tarım gibi çeşitli alanlardaki öneminin olduğu gösterilmektedir (Lu ve ark., 2020).

Çeşitli bakteri türleri, mayalar, bakteriyofajlar ve tek hücreli algler gibi probiyotiklerin çeşitliliği, bu çeşitli probiyotik organizmaları tanımlamak ve karakterize etmek için kapsamlı kültür bazlı yöntemlere duyulan ihtiyacı ortaya koyulmaktadır (Sayes ve ark., 2018).

Probiyotiklerin antimikrobiyal etkileri ve bulaşıcı hastalıklar için yeni probiyotik temelli yaklaşımlara duyulan ihtiyaç, probiyotik organizmaların terapötik potansiyelini keşfetmek için kültür temelli yöntemlerin kullanılmasına yönelik devam eden araştırma ve geliştirme çabaları vurgulanmaktadır (Li ve Gu, 2018).

## **B. Moleküler Yöntemler**

Moleküler yöntemler, probiyotik organizmaların genetik bileşimi, işlevselliği ve potansiyel uygulamaları hakkında bilgiler sunarak probiyotik

organizmaların incelenmesi ve uygulanmasında çok önemli bir rol oynadığı belirtilmiştir. Bu yöntemler, probiyotik organizmaların çeşitli amaçlar için anlaşılmasına ve geliştirilmesine katkıda bulunan çok çeşitli teknik ve yaklaşımları kapsadığı ifade edilmektedir. Probiyotik araştırmalarında moleküler yöntemlerin kullanımı, potansiyel olarak etkili probiyotik bakterilerin tanımlanmasını ve moleküler etki mekanizmalarının aydınlatılmasını sağlayarak önemli ölçüde ilerletildiği gösterilmektedir (Dunne ve ark., 1999).

Bu yöntemler aynı zamanda yüzey proteinleri, kısa zincirli yağ asitleri ve bifidojenik faktörler gibi probiyotik organizmaların faydalı özelliklerine katkıda bulunan genetik özelliklerin ve moleküler aktörlerin araştırılmasını da kolaylaştırdığı ifade edilmektedir (Rodvalho ve ark., 2022).

Moleküler yöntemler, probiyotik organizmaların hayvan hastalık modellerinde ve insan klinik deneylerinde işlevselliğini göstermede etkili olup, moleküler mekanizmalar ve terapötik potansiyeller hakkında değerli bilgiler sağlamaktadır (Dunne ve ark., 1999). Çalışmalar ayrıca probiyotiklerin faydalı etkilerine dahil olan moleküler mekanizmaların tanınmasında moleküler yöntemlerin rolü olduğunu ve moleküler düzeyde etkilerini anlamamızı ilerlettiğini belirtmiştir (Thumu ve ark., 2023). Bununla birlikte, moleküler yöntemlerin uygulanmasının, dış biyofilmleri gibi çeşitli bağlamlarda potansiyel yararlı bakterilerin ve ürünlerinin tanımlanmasını sağlayarak probiyotik araştırmalarındaki önemi daha da vurgulandığını ifade etmektedir (Mağar ve ark., 2020).

Gıda güvenliği ve gıda kaynaklı patojenlerin kontrolü bağlamında, genetiği değiştirilmiş probiyotikleri ve bunların mikroorganizmaların ve gıda kaynaklı hastalıkların büyümesini kontrol etmedeki özel uygulamalarını incelemek için moleküler yöntemler kullanıldığı rapor edilmiştir (Amalaradjou ve Bhunia, 2012). Bu yöntemlerin mikrobiyal sağlık için metabolit çoklu probiyotik formüllerin geliştirilmesine katkıda bulunarak probiyotik araştırmalarında evrensel uygulanabilirlikleri vurgulanmıştır (Lakhtin ve ark., 2019).

Su ürünleri yetiştiriciliği alanında moleküler yöntemler, zararlı maddelerin üretimi ve tespitinde yeni teknolojilerin ve ilerlemelerin uygulanmasında çok önemli bir rol oynamış ve su ürünleri yetiştiriciliği endüstrisinin genişlemesine ve

sürdürülebilirliğine katkıda bulunulduğu ifade edilmektedir (Lu ve ark., 2020). Benzer şekilde, çevresel sanitasyon bağlamında moleküler yöntemler, probiyotiklerin çevresel iyileştirmede olası uygulamalarının araştırılmasında etkili olmuş ve sağlıkla ilgili geleneksel alanların ötesinde geniş uygulanabilirliklerinin gösterildiği belirtilmiştir (Vainshtein, 2014).

Probiyotik bakterilerin genomik özelliklerinin anlaşılmasında moleküler yöntemlerin rolü de vurgulanmış ve farklı probiyotik suşların G+C (guanin+sitozin) içeriği gibi probiyotik türlerin genetik bileşimine ve özelliklerine ışık tutulduğu belirtilmektedir (O'Flaherty ve ark., 2009).

### **C. Biyoçeşitlilik Analizi**

Probiyotik organizmalar için biyoçeşitlilik analizi, probiyotiklerin genetik bileşimini, tür zenginliğini ve işlevsel çeşitliliğini anlamaya katkıda bulunan çok çeşitli teknik ve yaklaşımları kapsamaktadır. Dunne ve arkadaşları (1999) tarafından yapılan çalışma, probiyotiklerin işlevselliğinin hayvan hastalık modellerinde ve insan klinik deneylerinde gösterilmesinin önemini anlatmaktadır. Bu, probiyotik suşların farklı biyolojik sistemlerdeki etkinliğini belirlemek ve değerlendirmek için biyoçeşitlilik analizine duyulan ihtiyaç belirtilmektedir.

Graziottin ve Maseroli (2022) tarafından yapılan çalışma, bağırsak mikrobiyotasının biyoçeşitliliğini yeniden sağlamak ve korumak için probiyotik suşlarda periyodik değişikliklerin terapötik seçimini anlatmaktadır.

Tarım bağlamında, Freyer ve Bingen (2021) erozyon, kirlenmiş su, tehdit altındaki insan sağlığı ve azalan biyoçeşitlilikle ilgili zorlukların altını çizerek sürdürülebilir tarım uygulamalarına duyulan ihtiyacı göstermektedir. Bu referans, tarımsal ekosistemlerdeki biyoçeşitlilik kaybının daha geniş etkilerinin ve probiyotiklerin sürdürülebilir tarım uygulamalarını teşvik etmedeki potansiyel rolünün belirtmektedir.

Rodrigues ve arkadaşları (2023) tarafından yapılan çalışmada, *Daphnia magna*'nın rezervuar suyu kalitesinin bir göstergesi olarak potansiyel kullanımı tartışılmakta ve kirliliğin sucul organizmalar ve biyoçeşitlilik üzerindeki ekolojik etkileri vurgulanmaktadır. Bu referansta, sucul ekosistemlerdeki potansiyel probiyotik organizmalar da dahil olmak üzere, çevresel stres faktörlerinin

mikrobiyal topluluklar üzerindeki etkisini anlamada biyoçeşitlilik analizinin önemi vurgulanmaktadır.

Thumu ve arkadaşları (2023) tarafından yapılan çalışma, DNA'nın rolünü ve canlı organizmalar üzerindeki etkisini vurgulayarak kanser tedavisinde epigenetik tedavinin önemini ifade etmektedir. Probiyotiklerle doğrudan ilgili olmasa da bu referans, probiyotik organizmaların genetik çeşitliliğini anlamakla ilgili olan biyoçeşitlilik analizinin moleküler ve genetik yönlerinin altını çizmektedir.

Pellens ve arkadaşları (2016), biyoçeşitlilik sıcak noktalarındaki filogenetik çeşitliliğin dağılımını vurgulayarak, çoklu filogenetik elde edilen verilerle evrimsel tarihin sıcak noktalarının değerlendirilmesini tartışmaktadır. Probiyotiklerle doğrudan ilgili olmasa da bu referans, potansiyel probiyotik türler de dahil olmak üzere mikrobiyal toplulukların evrimsel geçmişini ve genetik çeşitliliğini anlamada filogenetik analizin öneminin altını çizmektedir.

Balık yetiştiriciliği bağlamında, Sayes ve arkadaşları (2018) probiyotik bakterilerin sürdürülebilir akuakültür gelişimi için ekolojik biyokontrol veya biyoremediasyon ajanları olarak kullanılabileceğini savunmaktadır. Bu bakış açısı, probiyotik organizmaların ekosistem dengesinin korunmasındaki potansiyel rolü de dahil olmak üzere, su ürünleri yetiştiriciliği sistemlerindeki mikrobiyal toplulukların ekolojik dinamiklerini anlamada biyoçeşitlilik analizinin daha geniş etkileri ile uyumludur.

Ayrıca, Skoufogianni ve arkadaşları (2016) organik ve geleneksel tarımın çevresel etkilerini tartışarak arazi kullanım verimliliği, toprak organik madde içeriği, nitro-fosfat sızıntısı, sera gazı emisyonları ve biyoçeşitlilik etkilerini incelemiştir. Probiyotiklerle doğrudan ilgili olmasa da bu referans, probiyotiklerin tarımsal ekosistemler üzerindeki potansiyel etkisiyle ilişkilendirilebilecek tarımsal uygulamaların ekosistem biyoçeşitliliği üzerindeki daha geniş etkilerinin altını çizmektedir.

Selenyum türlerinin kromatografik analizi bağlamında Sentkowska (2020), Sıvı Kromatografi-Kütle Spektrometrisi-Kütle Spektrometrisi (LC-MS-MS) verilerinin nicel ve nitel analizini geliştirmeye yönelik prosedürleri detaylandırmaktadır. Probiyotiklerle doğrudan ilgili olmasa da bu referans, potansiyel probiyotik organizmalar da dahil olmak üzere mikrobiyal toplulukların

kimyasal çeşitliliğini anlamakla ilgili olan biyoçeşitlilik analizinde yer alan analitik teknikleri vurgulamaktadır.

Organik tarım bağlamında, Forster ve ark (2013) organik ve geleneksel tarım uygulamaları altında işlevsel biyoçeşitliliği artırmak için tarla büyüklüğünün azaltılmasını tartışmaktadır. Bu referans, tarımsal ekosistemlerdeki probiyotik organizmalar için potansiyel sonuçlar da dahil olmak üzere, tarımsal uygulamaların ekosistem biyoçeşitliliği üzerindeki potansiyel etkisini ifade etmektedir.

Ghazanfar ve arkadaşları (2020) tarafından yapılan çalışma, dış biyofilmlerdeki potansiyel yararlı bakterilerin ve ürünlerinin tanımlanması için mikroskopik ve moleküler tekniklerin kullanımını vurgulamaktadır. Bu referans, probiyotik organizmaların genetik çeşitliliğini ve işlevsel özelliklerini anlamak için gerekli olan moleküler tekniklerin biyoçeşitlilik analizindeki önemini vurgulamaktadır.

Çin'deki kompost süreci ve organik gübre uygulaması bağlamında, Yu ve arkadaşları (2016) komposttaki organik karbon ve minerallerin bileşimini belirlemek için senkrotron tabanlı X-ışını absorpsiyon ince yapı (XAFS) spektroskopisi ve nano ölçekli ikincil iyon kütle spektrometresi (NanoSIMS) kullanımını tartışmaktadır. Probiyotiklerle doğrudan ilgili olmasa da bu referans, potansiyel probiyotik organizmalar da dahil olmak üzere mikrobiyal toplulukların kimyasal çeşitliliğini anlamakla ilgili olan biyoçeşitlilik analizinde yer alan analitik teknikleri belirtmektedir.

Ayrıca Li ve Gu (2018), probiyotiklerin antimikrobiyal etkilerini ve bulaşıcı hastalıklar için yeni probiyotik temelli yaklaşımları tartışmakta, yaygın olarak kullanılan probiyotik cinslerini ve bunların güvenlik profillerini vurgulamaktadır. Bu referans, probiyotiklerin mikrobiyal çeşitlilik ve mikrobiyal toplulukların ekolojik dengesi üzerindeki potansiyel etkisinin altını çizmektedir.

#### **D. Yaşayabilir Ancak Kültürü Yapılamaz (VBNC) Analizi**

Canlı Fakat Kültürlenemez (VBNC) durumu, probiyotik organizmalar da dahil olmak üzere çeşitli bakteri türlerinde gözlemlenen bir olgudur. VBNC durumu, bakterilerin canlı olduğu ancak standart kültür ortamında büyüyemediği

bir durumu ifade eder. Bu durum hareketsiz, bölünmeyen bir durumla karakterize edilir ve genellikle besin tükenmesi, sıcaklık değişimleri ve antimikrobiyal ajanlara maruz kalma gibi çevresel stres faktörleri tarafından indüklenir. Probiyotik organizmaların VBNC durumuna girme kabiliyeti, hayatta kalmaları ve insan sağlığı ve çevresel ekosistemler üzerindeki potansiyel etkileri açısından önemli etkilere sahiptir.

Nicolò ve Guglielmino (2012) tarafından yapılan çalışmada, gıdalardaki VBNC patojenlerinin varlığını tartışmakta ve VBNC patojenlerinin genel olarak hastalık başlatamamaları da virülanslarını koruduklarını ve yeniden canlandırılmalarının ardından enfeksiyon başlatabilecekleri rapor edilmektedir. Bu durum, VBNC probiyotik organizmalarla ilişkili potansiyel riskin altını çizmektedir; zira bu organizmalar kültürlenemez durumda bile patojenitelerini koruyabilmekte ve gıda güvenliği ve halk sağlığı açısından zorluklar teşkil edebileceğini ifade etmektedir.

Su kaynaklı patojenler bağlamında, Stine ve Morris (2013) *Vibrio cholerae*'nin biyofilmler içinde VBNC durumunda hayatta kalma yeteneğini vurgulayarak bakterinin sterilize edilmiş suda uzun süre kalmasına izin verdiğini belirtmektedir. Bu durum, probiyotik organizmaların VBNC durumunda çevresel kalıcılığının altını çizmektedir ki bu da su sanitasyonu ve su kaynaklı hastalıkların bulaşması üzerinde etkilere sahip olduğunu göstermektedir.

Ayrıca, Orman ve arkadaşları (2016) tarafından yapılan çalışmada, VBNC hücreleriyle benzerlikler gösteren persister hücrelerin, propidyum iyodürün (PI) dışlanması ve büyüme olmamasına rağmen metabolik aktivite gibi fizyolojik özellikleri tartışılmaktadır. Bu referans, VBNC durumundaki bakterilerin metabolik aktivitesi ve fizyolojik özellikleri hakkında fikir vererek bu durumdaki probiyotik organizmaların potansiyel işlevselliğini açıklamaktadır.

Xu ve arkadaşlarının (2016) çalışması, “açlıktan hayatta kalma” durumu ile VBNC durumu arasındaki ayrımı vurgulayarak, bakterilerin canlı kaldığı ancak rutin bakteriyolojik ortamlarda koloni oluşturamadığı belirli koşulların altını çizmektedir. Bu ayrım, probiyotik organizmalar VBNC durumuna girdiklerinde meydana gelen fizyolojik ve metabolik değişiklikleri anlamak açısından

önemlidir ve olumsuz çevresel koşullar altında hayatta kalma stratejilerine dair içgörü sağladığını ifade etmektedir.

Ayrıca, Khalighi ve arkadaşları (2016) tarafından yapılan çalışmada, probiyotik organizmaların patojen bakteriler üzerindeki inhibitör etkileri tartışılmakta ve *Clostridium difficile*'nin büyümesini engellemek için probiyotikler tarafından monosakkaritlerin kullanımı vurgulanmaktadır. VBNC durumu ile doğrudan ilgili olmasa da bu referans probiyotik organizmaların işlevsel yeteneklerinin ve mikrobiyal çeşitlilik ve ekolojik denge üzerindeki potansiyel etkilerinin altını çizmektedir.

### **E. İmmünolojik Yöntemler**

Probiyotik organizmalar, immünomodülatör etkileri de dahil olmak üzere potansiyel sağlık yararları nedeniyle büyük ilgi görmüştür. İmmünolojik yöntemler, probiyotik organizmalar ile konakçı bağışıklık sistemi arasındaki etkileşimin anlaşılmasında rol oynamaktadır.

Hojsak ve Shamir (2013) tarafından yapılan çalışma, probiyotiklerin patojenik bakteriyel etkilerin engellenmesi ve bağırsak epitel hücreleri ve antijen sunan hücrelerle etkileşime girerek konakçı bağışıklık sisteminin modülasyonu ve böylece immünolojik yanıtların başlatılması dahil olmak üzere konakçı immünolojik sistemi üzerindeki etkilerini vurgulamaktadır. Bu durum, probiyotik organizmaların bağışıklık tepkisini modüle etme, bağırsak homeostazının ve genel bağışıklık fonksiyonunun korunmasına katkıda bulunma potansiyelini vurgulamaktadır.

İnsan besleme çalışmaları sırasında çeşitli immünolojik parametrelerin değerlendirilmesini tanımlayarak, klinik çalışmalarda probiyotik müdahalelere verilen immünolojik yanıtların değerlendirilmesinin önemini vurgulamaktadır. Bu durum, probiyotiklerin konakçı bağışıklık sistemi üzerindeki etkisinin değerlendirilmesinde immünolojik yöntemlerin önemini altını çizmektedir (Dunne ve ark., 1999).

Khalighi ve arkadaşları (2016) tarafından yapılan çalışmada, probiyotiklerin immünomodülatör etkilerini anlamak için immünolojik parametrelerin değerlendirilmesine vurgu yapılarak, GI hastalıklara odaklanan probiyotik

etkinliğini değerlendiren klinik araştırma çalışmalarından bahsedilmektedir. Bu referans, probiyotiklerin bağışıklık fonksiyonu üzerindeki etkisini aydınlatmak için klinik araştırmalarda immünolojik yöntemlerin önemini vurgulamaktadır.

Probiyotikler ve Li ve Gu (2018) probiyotiklerin antimikrobiyal etkilerini ve çeşitli vücut sistemlerinde bakteriyel ve fungal patojenlerle mücadele etmek için biyolojik bir yaklaşım olarak potansiyellerini tartışmaktadır. Bu referans, probiyotiklerin doğrudan antimikrobiyal aktiviteye ek olarak immünolojik mekanizmaları da içerebilecek antimikrobiyal etkiler gösterme potansiyelini vurgulamaktadır.

Sherwani ve Bukhari (2022), probiyotiklerin bağışıklık fonksiyonunu modüle etme ve bağışsak mikrobiyota sağlığına katkıda bulunma potansiyelini vurgulayarak, artan immünolojik tepkiler ve laktoz intoleransı semptomlarının hafifletilmesi de dahil olmak üzere probiyotiklerin sağlığa faydalarını tartışmaktadır. Bu referans, probiyotiklerin bağışsak sağlığını ve genel bağışıklık fonksiyonunu desteklemedeki immünomodülatör etkilerinin altını çizmektedir.

Hojsak ve Shamir (2013) yaptıkları çalışmada probiyotiklerin güvenliğini tartışmakta ve olumsuz etkilere neden olmadan konakçı bağışıklık sistemini modüle etme potansiyellerini vurgulamaktadır. Bu referans, çeşitli klinik ve terapötik uygulamalarda probiyotiklerin güvenliğini ve immünolojik etkisini değerlendirmenin önemini vurgulamaktadır.

## VII. MATERYAL VE METOT

### A. Materyal

#### 1. Analiz Edilen Örneklerin Temini

Türkiye pazarında mevcut olan toplam 20 ticari probiyotik bazlı ürün çalışmaya dahil edildi. Aralık 2023'te her ürün partisinden bir paket toplandı. İstanbul'da 13 adet kapsül, 1 flakon ve 6 adet toz olan örnekler internet ve çeşitli eczanelerden alındı. Ürünlerin raf ömrü 2 yıl olup, hiçbir ürünün son kullanma tarihi geçmemiştir. Son kullanma tarihi aralığı Kasım 2023- Ekim 2025'tir. Ürünler analize kadar 4°C 'de buzdolabında saklandı. Analizler Ocak 2024 ila Nisan 2024 arasında gerçekleştirildi. Alınan örneklerin etiketlerinde belirtilen probiyotik mikroorganizma içerikleri ve toplam mikroorganizma sayıları Çizelge 1- 4'te gösterilmektedir.

Çizelge 1. Piyasadan Toplanan 1-5 No'lu Örneklerin Probiyotik Mikroorganizma İçerikleri ve Toplam Probiyotik Mikroorganizma Sayıları

| Örnek No | Örnek İçeriği                                                                                                                                                                                                                                                                  | Ürünlerde Belirtilen Toplam Probiyotik Mikroorganizma Sayıları |
|----------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------|
| 1        | <i>B. infantis</i><br><i>B. lactis</i><br><i>B. longum</i><br><i>L. acidophilus</i><br><i>L. paracasei</i><br><i>L. rhamnosus</i><br><i>S. thermophilus</i>                                                                                                                    | 9 x 10 <sup>9</sup>                                            |
| 2        | <i>B. brevis</i> Br-03<br><i>B. lactis</i> BI-04<br><i>B. longum</i> BB536<br><i>E. faecium</i><br><i>L. acidophilus</i> La-14<br><i>L. casei</i> LC-11<br><i>L. helveticus</i> R0052<br><i>L. paracasei</i> Lpc-37<br><i>L. plantarum</i> Lp-115<br><i>L. rhamnosus</i> R0011 | 1,00 x 10 <sup>10</sup>                                        |

Çizelge 1. (devamı) Piyasadan Toplanan 1-5 No'lu Örneklerin Probiyotik Mikroorganizma İçerikleri ve Toplam Probiyotik Mikroorganizma Sayıları

| Örnek No | Örnek İçeriği                                                                                                                                                                                                                                                                                            | Ürünlerde Belirtilen Toplam Probiyotik Mikroorganizma Sayıları |
|----------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------|
| 3        | <i>B. bifidum</i><br><i>B. longum</i><br><i>L. acidophilus</i><br><i>L. salivarius</i> Ls-33                                                                                                                                                                                                             | $5 \times 10^9$                                                |
| 4        | <i>B. bifidum</i><br><i>B. infantis</i><br><i>B. longum</i><br><i>L. bulgaricus</i><br><i>L. acidophilus</i><br><i>L. paracasai</i><br><i>L. plantarum</i><br><i>L. rhamnosus</i><br><i>L. thermophilus</i><br><i>L. brevis</i><br><i>L. reuteri</i><br><i>S. boulardii</i><br><i>Strp. thermophilus</i> | $10,50 \times 10^9$                                            |
| 5        | <i>B. longum</i><br><i>L. acidophilus</i><br><i>L. rhamnosus</i><br><i>S. boulardii</i><br><i>S. thermophilus</i>                                                                                                                                                                                        | $1,5 \times 10^9$                                              |

Çizelge 2. Piyasadan Toplanan 6-10 No'lu Örneklerin Probiyotik Mikroorganizma İçerikleri ve Toplam Probiyotik Mikroorganizma Sayıları

| Örnek No | Örnek İçeriği                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | Ürünlerde Belirtilen Toplam Probiyotik Mikroorganizma Sayıları |
|----------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------|
| 6        | <i>B. bifidum</i> Bb-06<br><i>B. infantis</i> Bi-26<br><i>B. longum</i> BI-05<br><i>L. acidophilus</i> La-14<br><i>L. brevis</i> Lpr-35<br><i>L. bulgaricus</i> Lb-87<br><i>L. paracasei</i> Lpc-37<br><i>L. plantarum</i> Lp-115<br><i>L. reuteri</i> 1E1<br><i>L. rhamnosus</i> Lr-32<br><i>S. thermophilus</i> St-21 | $2 \times 10^9$                                                |
| 7        | <i>L. reuteri</i><br><i>L. rhamnosus</i> 55,550                                                                                                                                                                                                                                                                         | $4,00 \times 10^7$                                             |

Çizelge 2. (devamı) Piyasadan Toplanan 6-10 No'lu Örneklerin Probiyotik Mikroorganizma İçerikleri ve Toplam Probiyotik Mikroorganizma Sayıları

| Örnek No | Örnek İçeriği                                                                                                                                                                                                                                        | Ürünlerde Belirtilen Toplam Probiyotik Mikroorganizma Sayıları |
|----------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------|
| 8        | <i>B. brevis</i><br><i>B. longum</i><br><i>B. lactis</i><br><i>L. plantarum</i><br><i>L.rhamnosus</i>                                                                                                                                                | $2,00 \times 10^7$                                             |
| 9        | <i>B. bifidum</i><br><i>B. infantis</i><br><i>B. longum</i><br><i>L. acidophilus</i><br><i>L. brevis</i><br><i>L. bulgaricus</i><br><i>L. paracasei</i><br><i>L. plantarum</i><br><i>L. reuteri</i><br><i>L. rhamnosus</i><br><i>S. thermophilus</i> | $10 \times 10^{10}$                                            |
| 10       | <i>L. rhamnosus</i><br><i>L. acidophilus</i>                                                                                                                                                                                                         | $10 \times 10^{10}$                                            |

Çizelge 3. Piyasadan Toplanan 11-16 No'lu Örneklerin Probiyotik Mikroorganizma İçerikleri ve Toplam Probiyotik Mikroorganizma Sayıları

| Örnek No | Örnek İçeriği                                                                                                                                                                                                                                       | Ürünlerde Belirtilen Toplam Probiyotik Mikroorganizma Sayıları |
|----------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------|
| 11       | <i>B. bifidum</i><br><i>B. lactis</i><br><i>B. longum</i><br><i>L acidophilus</i><br><i>L. paracasei</i><br><i>L. rhamnosus</i><br><i>L.prlantarum</i>                                                                                              | $10 \times 10^{10}$                                            |
| 12       | <i>B. bifidum</i><br><i>B. breve</i><br><i>B. longum</i><br><i>L. acidophilus</i><br><i>L. bulgaricus</i><br><i>L. casei</i><br><i>L. paracasei</i><br><i>L. plantarum</i><br><i>L. rhamnosus</i><br><i>L. salivarius</i><br><i>S. thermophilus</i> | $9,80 \times 10^9$                                             |

Çizelge 3. (devamı) Piyasadan Toplanan 11-16 No'lu Örneklerin Probiyotik Mikroorganizma İçerikleri ve Toplam Probiyotik Mikroorganizma Sayıları

| Örnek No | Örnek İçeriği                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | Ürünlerde Belirtilen Toplam Probiyotik Mikroorganizma Sayıları |
|----------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------|
| 13       | <i>B. longum</i><br><i>L. rhamnosus</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                 | $5 \times 10^9$                                                |
| 14       | <i>B. bifidum</i> BI-05<br><i>B. infantis</i> Bi-26<br><i>B. longum</i> Bb-06<br><i>L. acidophilus</i> La-14<br><i>L. brevis</i> Lbr-35<br><i>L. bulgaricus</i> Lb-87<br><i>L. paracasei</i> Lpc-37<br><i>L. plantarum</i> Lp-115<br><i>L. reuteri</i> 1E1<br><i>L. rhamnosus</i> Lr-32<br><i>S. thermophilus</i> St-21 | $5 \times 10^9$                                                |
| 15       | <i>B. animalis</i> Ssp. <i>lactis</i><br>B94                                                                                                                                                                                                                                                                            | $5 \times 10^9$                                                |
| 16       | <i>B. bifidum</i><br><i>B. longum</i><br><i>L. acidophilus</i><br><i>L. brevis</i><br><i>L. paracasei</i><br><i>L. plantarum</i><br><i>L. rhamnosus</i><br><i>L. bulgaricus</i><br><i>S. thermophilus</i>                                                                                                               | $10 \times 10^9$                                               |

Çizelge 4. Piyasadan Toplanan 17-20 No'lu Örneklerin Probiyotik Mikroorganizma İçerikleri ve Toplam Probiyotik Mikroorganizma Sayıları

| Örnek No | Örnek İçeriği                                                                                                                                                 | Ürünlerde Belirtilen Toplam Probiyotik Mikroorganizma Sayıları |
|----------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------|
| 17       | <i>B. bifidum</i><br><i>L. acidophilus</i><br><i>L. lactis</i><br><i>L. paracasei</i><br><i>L. plantarum</i><br><i>L. rhamnosus</i><br><i>S. thermophilus</i> | $10 \times 10^9$                                               |

Çizelge 4. (devamı)Piyasadan Toplanan 17-20 No'lu Örneklerin Probiyotik Mikroorganizma İçerikleri ve Toplam Probiyotik Mikroorganizma Sayıları

| Örnek No | Örnek İçeriği                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | Ürünlerde Belirtilen Toplam Probiyotik Mikroorganizma Sayıları |
|----------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------|
| 18       | <i>B. bifidum</i><br><i>B. infantis</i><br><i>B. lactis</i><br><i>B. longum</i><br><i>B. subtilis</i><br><i>L. acidophilus</i><br><i>L. breve</i><br><i>L. bulgaricus</i><br><i>L. helveticus</i><br><i>L. paracasei</i><br><i>L. plantarum</i><br><i>L. reuteri</i><br><i>L. rhamnosus</i><br><i>S. thermophilus</i> | $10 \times 10^9$                                               |
| 19       | <i>B. bifidum</i><br><i>B. longum</i><br><i>E. faecium</i><br><i>L. acidophilus</i><br><i>L. rhamnosus</i>                                                                                                                                                                                                            | $2,5 \times 10^9$                                              |
| 20       | <i>B. clausii</i><br><i>B. coagulans</i><br><i>B. subtilis</i><br><i>S. boulardii</i>                                                                                                                                                                                                                                 | $10,00 \times 10^9$                                            |

## 2. Kullanılan Cihazlar

Çizelge 5 ve Şekil 1’de sırasıyla analizde kullanılan cihazların listesi ve fotoğrafları gösterilmektedir.

Çizelge 5. Kullanılan Cihaz Listesi

| Cihaz İsmi           | Model ve Kod  | Markası           |
|----------------------|---------------|-------------------|
| Otoklav Cihazı       | OT40L         | Nüve              |
| Biyolojik Kabin      | Class II      | Delta             |
| İnkübatör (Etüv)     | En 055        | Nüve              |
| İnkübatör (Etüv)     | MIN-550       | Microtest         |
| Hassas Terazı        | GR-200        | AND               |
| Su Banyosu (Benmari) | NB5           | Nüve              |
| Etüv                 | ED 240        | BİNDER            |
| Buzdolabı            | AL370EY       | Altus             |
| Spektrofotometre     | NanoDrop 2000 | Thermo Scientific |
| Florometre           | Qubit         | Thermo Scientific |

Çizelge 5. (devamı) Kullanılan Cihaz Listesi

| Cihaz İsmi                | Model ve Kod             | Markası           |
|---------------------------|--------------------------|-------------------|
| Yeni Nesil Seakans Cihazı | NovaSeq6000              | Illumina          |
| Otomatik Pipetler         |                          | Thermo Scientific |
| Fluorometre Cihazı        | Invitrogen™ Qubit™ Flex  | Thermo Scientific |
| PCR Cihazı                | SimpliAmp Thermal Cycler | Thermo Scientific |



Şekil 1. Kullanılan Cihazlar

### 3. Kullanılan Malzemeler

Çizelge 6. Kullanılan Malzeme Listesi

| Sıra No | Malzeme Adı                                        | Marka           | Miktar        |
|---------|----------------------------------------------------|-----------------|---------------|
| 1       | Agencourt AMPure XP Kiti                           | Beckman Coulter | 50 Test       |
| 2       | Distile Su                                         |                 | 20 Lt         |
| 3       | iSeq 100 Reagent Kit                               | Illumina        | 100 Reaksiyon |
| 4       | KAPA HiFi HotStart ReadyMix                        | Roche           | 50 Test       |
| 5       | M17 Agar                                           | Liofilchem      | 500g          |
| 6       | Maximum Recovery Diluent                           | Merck           | 500g          |
| 7       | MicroLine Bakterilerden Genomik DNA İzolasyon Kiti | Fullgen         | 50 Test       |
| 8       | MRS (De Man Rogosa Sharpe) Agar                    | Neogen          | 500g          |
| 9       | Petri                                              | Fıratmed        | 750 Adet      |
| 10      | Nextera XT Index Primer Sets (Primer1-Primer2)     | Illumina        | 1 set         |
| 11      | Plate Count Agar                                   | Neogen          | 500g          |
| 12      | Sabouraud Dextrose Agar (SDA Agar)                 | Condalab        | 500g          |
| 13      | Steril Tek Kullanımlık Pipet Ucu                   | Axygen          | 20 rack       |
| 14      | VRB Agar (Violet Red Bile Agar)                    | Merck           | 500g          |
| 15      | FastQC programı                                    | Illumina        |               |

Çizelge 6'da kullanılan malzeme listesi görülmektedir.

### 4. Kullanılan Besiyerleri- Besiyeri Hazırlama

#### a. MRS (De Man Rogosa Sharpe) Agar

Probiyotik örneklerinden *Lactobacillus* Spp. izolasyonu amacıyla MRS Agar (De Man Rogosa Sharpe) (Neogen, UK) besiyeri kullanılmıştır. Besiyerinin hazırlanmasında 68,2 g/L oranda besiyeri tartılarak distile su ile sulandırılmıştır (ISO 15214:1998). Elde edilen homojen karışım 121°C'de 15 dakika otoklavlanarak sterilize edilmiştir. Besiyerinin bileşimi aşağıda yer almaktadır.

Çizelge 7. MRS Agar Bileşeni

| MRS Agar Bileşeni               | g/L  |
|---------------------------------|------|
| Pepton from casein              | 10.0 |
| Meat Extract                    | 10.0 |
| Yeast Extract                   | 4.0  |
| Glucose                         | 20.0 |
| K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> | 2.0  |
| Sodium acetate                  | 5.0  |
| MgSO <sub>4</sub>               | 0,2  |
| MnSO <sub>4</sub>               | 0,04 |
| Agar-agar                       | 14.0 |

## b. M17 Agar

Probiyotik örneklerden *Lactococcus* Spp. izolasyonu amacıyla M17 Agar (M17, Merck 1.15108, Darmstadt, Almanya) besiyeri kullanılmıştır. 55,0 g/L oranında tartılarak sulandırılan besiyeri 121°C’de 15 dakika otoklavlanarak sterilize edilmiştir (Terzaghi ve Sandine,1975). Besiyerinin içeriği aşağıda verilmiştir.

Çizelge 8. M17 Agar Bileşeni

| M17 Agar Bileşeni                | g/L   |
|----------------------------------|-------|
| Peptone from soymeal             | 5,00  |
| Peptone from meat                | 2,50  |
| Peptone from casein              | 2,50  |
| Yeast extract                    | 2,50  |
| Meat extract                     | 5,00  |
| Lactose mono-hydrate             | 5,00  |
| Ascorbic acid                    | 0,50  |
| Sodium $\beta$ -glycerophosphate | 19,00 |
| Magnesium sulfate                | 0,25  |
| Agar-agar                        | 12,75 |

## c. Violet Red Bile Agar (VRB Agar)

Probiyotik örneklerinden *Enterobacteriaceae* Spp. varlığının ve sayısının tespitinde Violet Red Bile Agar (VRB, Merck 1.01406) (Darmstadt,Almanya) besiyeri kullanılmıştır. 39,5 g/L oranında tartılıp sulandırılarak hazırlanan besiyeri mikrodalgada 5 dakika süreyle kaynatılarak sterilize edilmiştir (ISO 4832 and FDA-BAM). Besiyerinin içeriği aşağıda verilmiştir.

Çizelge 9. VRB Agar Bileşeni

| VRB Agar Bileşeni | g/L   |
|-------------------|-------|
| Peptone from meat | 7,00  |
| Yeast extract     | 3,00  |
| Lactose           | 10,00 |
| NaCl              | 5,00  |
| Ox Bile           | 1,50  |
| Neutral Red       | 0,03  |
| Crystal Violet    | 0.002 |
| Agar-agar         | 13,00 |

## d. Plate Count Agar (PCA Agar)

Probiyotik örneklerinden toplam aerobik mezofilik bakteri varlığının ve sayısının tespitinde Plate Count Agar (PCA Agar, Neogene) (Michigan, ABD) besiyeri kullanılmıştır. 23,5 g/L oranında tartılıp oranında tartılarak sulandırılan

besiyeri 121°C’de 15 dakika otoklavlanarak sterilize edilmiştir (ISO 4833-1&2:2013, ISO 17410:2001). Besiyerinin içeriği aşağıda verilmiştir.

Çizelge 10. PCA Bileşeni

| PCA Agar                   | g/L   |
|----------------------------|-------|
| Enzymatic Digest of Casein | 5,00  |
| Yeast Extract              | 2,50  |
| Dextrose (Glucose)         | 1,00  |
| Agar                       | 15,00 |

**e. Sabouraud Dextrose Agar (SDA Agar)**

Probiyotik örneklerinden toplam küf ve maya varlığının ve sayısının tespitinde Condalab Sabouraud Dextrose Agar (SDA Agar) (Madrid, İspanya) besiyeri kullanılmıştır. 65 g/L oranında tartılıp oranında tartılarak sulandırılan besiyeri 121°C’de 15 dakika otoklavlanarak sterilize edilmiştir (European Pharmacopoeia, ISO:11133, ISO:16212 USP). Besiyerinin içeriği aşağıda verilmiştir.

Çizelge 11. SDA Bileşeni

| SDA Agar            | g/L   |
|---------------------|-------|
| D (+)-Glucose       | 40,00 |
| Peptone from casein | 5,00  |
| Meat Peptone        | 5,00  |
| Agar                | 15,00 |

**f. Maximum Recovery Diluent**

Probiyotik örneklerin dilüsyonun hazırlanması için Maximum Recovery Diluent (Merck, Taufkirchen, Almanya) kullanılmıştır. 9,5 g/L oranında tartılıp oranında tartılarak sulandırılan besiyeri 121°C’de 15 dakika otoklavlayarak sterilize edilmiştir. Besiyerinin içeriği aşağıda verilmiştir.

Çizelge 12. Maximum Recovery Diluent

| Maximum Recovery Diluent       | g/L  |
|--------------------------------|------|
| Peptic digest of animal tissue | 1,00 |
| Sodium chloride                | 8,50 |

## B. Metot

### 1. Bakteri sayımları

#### a. Örneklerin alınması ve dilüsyon hazırlanması

Piyasada bulunan toplam 20 probiyotik gıda takviyesi alındı. Toplam aerobik mezofilik bakteri sayımı için Plate Count Agar (PCA, Neogen Culture Media, UK), Laktobasillerin izolasyonu için De Man Rogosa ve Sharpeagar (MRS agar, Neogen Culture Media, UK), Laktokok sayımı için M17 Agar (Darmstadt, Almanya), Toplam Küf ve Maya sayımı için Sabouraud Dextrose Agar (SDA Agar, Condalab, Madrid, İspanya) *Enterobacteriaceae* Spp. için Violet Red Bile Agar (Darmstadt,Almanya) kullanıldı. Her pakette bulunan her ürünün bir dozu (etiket üzerinde belirtildiği gibi) 10 mL steril Maksimum Recovery Dilüent (Merck, Almanya) içinde süspanse edildi. Seri 10 kat seyreltmeler hazırlandı ve her seyreltmeden 100 µl besiyerlerine aktarıldı. Ekim yapılmış VRB besiyerleri 37°C'de 24 saat, PCA besiyerleri 30 °C'de 48 saat, SDA besiyerleri 20-25 °C'de 5 gün aerobik şartlarda inkübe edildi. MRS ve M17 besiyerleri ise 72 saat boyunca %10 CO<sub>2</sub> ile zenginleştirilmiş atmosferde (Gas-Pak sistemi-Oxoid, Basingstoke, UK) kullanılarak 37°C'de anaerobik olarak inkübe edildi. İnkübasyondan sonra görünür koloniler tanımlandı, sonra bunlar sayıldı ve her üründe bulunan canlı bakteri sayısı doz başına birim oluşturan koloni olarak ifade edildi. (KOB/doz). Her ürün iki kopya halinde analiz edildi ve ortalama sayıları değerlendirildi.

#### b. Probiyotik kültür ile aerobik-mezofilik toplam bakteri, laktik asit bakterileri ve diğer mikroorganizmaların koloni sayımları

Çizelge 13. Toplam Mezofilik Bakteri, Laktik Asit Bakterileri ve Diğer Mikroorganizmaların Koloni Sayımları için İnkübasyon Şartları

| Hedef Mikroorganizma             | Besiyeri | İnkübasyon Sıcaklığı | Koşullar  | Zaman   | Uluslararası Standart      |
|----------------------------------|----------|----------------------|-----------|---------|----------------------------|
| Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri | PCA      | 30°C                 | Anaerobik | 72 saat | ISO 4833-2:2013            |
| <i>Lactococcus</i> Spp           | M17 Agar | 37°C                 | Anaerobik | 72 saat | TERZAGHI and SANDINE ;1975 |

Çizelge 13. (devamı) Toplam Mezofilik Bakteri, Laktik Asit Bakterileri ve Diğer Mikroorganizmaların Koloni Sayımları için İnkübasyon Şartları

| Hedef Mikroorganizma          | Besiyeri    | İnkübasyon Sıcaklığı | Koşullar  | Zaman   | Uluslararası Standart    |
|-------------------------------|-------------|----------------------|-----------|---------|--------------------------|
| <i>Lactobacillus</i> Spp      | MRS<br>Agar | 37°C                 | Anaerobik | 48 saat | ISO 15214:1998           |
| Toplam Küf ve Maya            | SDA         | 25°C                 | Aerobik   | 72 saat | ISO:11133, ISO:16212 USP |
| <i>Enterobacteriaceae</i> Spp | VBR         | 37°C                 | Aerobik   | 24 saat | ISO 4832                 |

Toplam mezofilik bakteri, laktik asit bakterileri ve diğer mikroorganizmaların koloni sayımları, yayma plak yöntemi ile her bir dilüsyon ve örneğe özgü olarak petrilere dökülen besiyerleri döküldü. Soğuyan besiyerlerine her bir örneğe ait dilüsyonlardan 100 µl yayma plak yöntemi kullanılarak ekildi. Bu yöntem aseptik ortamda gerçekleştirildi. Ekim yapılan örnekler aşağıdaki Çizelge 13 baz alınarak inkübasyonları gerçekleştirildi.

## 2. Dilüsyonlardan Bakteriyel Genomik Nükleik Asit İzolasyonu

İnkübasyon sonrası toplam hacmi 10 ml, seyreltme oranı  $10^{-1}$  olan Maximum Recovery Diluent ile dilüe edilen örneklerden 1,5 ml alınarak DNA ekstraksiyonunu gerçekleştirmek için Micro Line Bakterilerden Genomik DNA İzolasyon Kiti (İstanbul, Türkiye) aşağıda belirtilen prosedür kullanılarak gerçekleştirildi.

Prosedür:

- Koloni sayımı yapılan örneklere ait 1/10 dilüe edilen örneklerden 1,5 ml alındı.
- Alınan numune 6 000g'de 15 dakika santrifüj edildi ve süpernantant atıldı.
- Kalan pellet üzerine 200 µl Bakteri Lizis Tamponu eklendi, vorteks ile tekrar karıştırıldı.
- 30 dakika boyunca 56 ° C'de bir termomikser ile inkübe edildi.
- Numune karışımı da dahil olmak üzere tüpe 20 µl Proteinaz K ve 200 µl Lizis Tamponu eklendi.

- Her tüpü 20 kez darbe vorteksi ile karıştırın. Tüpleri bir termomiksere yerleştirin ve 10 dakika boyunca sürekli çalkalayarak 65 ° C'de termomikser ile inkübe edildi.
- Tüpleri kısaca santrifüj edin ve 250 µl 96-100 etanol (Moleküler biyoloji sınıfı) eklendi ve 20 kez darbe vorteks ile karıştırıldı ve oda sıcaklığında 1 dakika inkübe edildi.
- Tüpleri kısaca santrifüj edildi ve lizati toplama tüpüne yerleştirilen spin kolonuna aktarıldı.
- 1 dakika boyunca 6.000 x g'de santrifüj edildi. Spin kolonları yeni bir toplama tüpüne yerleştirildi.
- Spin Kolonuna 500 µl yıkama tamponu 1 eklendi. 1 dakika boyunca 6.000 x g'de santrifüj edildi ve Spin kolonlar yeni toplama tüpüne yerleştirildi.
- Spin Kolonuna 500 µl yıkama tamponu 2 eklendi. 1 dakika boyunca 16.000 x g'de santrifüj edildi. Spin kolonlar yeni toplama tüpüne yerleştirildi.
- 2 dakika boyunca 16.000 g'da santrifüj yapıldı ve spin kolonuna 1.5 ml'lik bir elüsyon tüpüne aktarıldı.
- Spin Kolonunun ortasına 70° C'ye önceden ısıtılmış 100 µl elüsyon tamponu eklendi, Spin Kolonunun kapağını kapatıldı ve oda sıcaklığında 3 dakika inkübe edildi.
- 1 dakika boyunca 6.000 g'da santrifüj, ardından 30 saniye daha 16.000 g'da santrifüj edildi.
- Spin kolon atıldı ve DNA içeren elüsyon tüpü saklandı. Elde edilen DNA -20°C'de saklandı.

### 3. Nanodrop 2000 ile Nükleik Asit Ölçümü

Nanodrop 2000, nükleik asit ve protein konsantrasyonlarını belirlemek için kullanılan bir spektrofotometridir. Bu cihaz, DNA, RNA ve protein örneklerinin mikro hacimlerini (genellikle 1 ila 2 mikrolitre arasında) analiz etmek için kullanılır. Örneklerin ölçümü için aşağıdaki prosedür sırası ile uygulandı:

- Cihazı açmadan önce, çalışma alanı temizlendi ve sterilize edildi.
- Nanodrop cihazınızı açın ve ön ısınması için birkaç dakika beklenildi.
- Kullanmadan önce cihazı kalibre etmek önemlidir. Her kullanımdan önce, boş bir örnek yuvasını seçildi ve “blank” (boş) olarak işaretlendi.
- Analiz edilecek örnek hazırlandı. Genellikle, örnek konsantrasyonlarını belirlemek için distile su kullanıldı.
- Analiz edilecek örnek, homojen bir şekilde karıştırıldı ve son olarak, Nanodrop için gerekli minimum hacmi (genellikle 1-2 mikrolitre) dolduruldu.
- Örneği temiz ve tozsuz bir mikropipet kullanarak cihazın örneğe yerleştirme bölgesine aktarıldı.
- Ekran’da “Measure” (ölçüm) seçeneği ile analiz gerçekleştirildi. Analiz sırasında cihaz, örnek tarafından emilen ışık miktarını ölçer.

#### **4. Numunelerin Metagenomik Analizi**

##### **a. Kütüphane hazırlama**

İzolasyon sonrasında her bir örnekteki 16S rDNA V3-V4 bölgelerinin zenginleştirilmesi için 16S Forward ve 16S Forward Reverse kodlu 16S Universal Eubakteriyal primerler kullanıldı.

Projede, kütüphane hazırlığı sırasında 2 basamaklı PCR işlemi gerçekleştirildi. Bu işlemlerde, KAPA HiFi HotStart ReadyMix (Roche) kullanılarak her bir örnek için ayrı ayrı 25 döngülü PCR gerçekleştirildi. Birinci PCR aşamasında, 95°C’de 3 dk. ardından 25 döngü boyunca 95°C-30sn + 55°C-30sn + 72°C-30sn ve son olarak tek döngü 72°C’de 5dk. koşulları uygulandı.

İkinci PCR uygulamasında, illumina index ve adaptör dizilerinin eklenmesi için Nextera XT Index Primer 1 ve Nextera XT Index Primer 2 setleri (illumina, CA, USA) kullanıldı. Bu PCR aşamasında, 95°C’de 3 dk. ardından 8 döngü boyunca 95°C-30sn + 55°C-30sn + 72°C-30sn ve son olarak tek döngü 72°C’de 5dk. koşulları uygulandı. Her iki PCR işlemi sonrasında Agencourt AMPure XP (Beckman Coulter) kiti ile saflaştırma ve pürifikasyon gerçekleştirildi. Primer setleri 16Sforward ve 16Sreverse dizinleri ile aşağıda belirtildi.

16Sforward:(TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGCCTA  
CGGGNGGCWGCAG)

16Sreverse:(GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGGAC  
TACHVGGGTATCTAATCC)

PCR sonrasında, tüm örneklerle ait PCR ürünleri %2'lik agaroz jel üzerinde, bant varlığı ve göreceli bant yoğunlukları kontrol edildi. Hazırlanan kütüphanenin Qubit florometresi ile ölçümü yapıldı ve normalizasyon sonrası dizileme işlemine alındı.

#### **b. Dizileme**

Dizileme uygulaması, Illumina iSeq 100 yeni nesil dizileme platformunda (illumina, CA, USA), iSeq 100 Reagent kiti ile çift yönlü (2x150 bp) okuma, üretici firma yönergeleri takip edilerek kullanıldı.

#### **c. Biyoinformatik analiz**

Dizileme uygulaması sonrasında kalite kontrol basamaklarında FastQC programı kullanılmıştır. Kalite kontrol sonuçlarına göre her bir örneğin, veri miktarları, okuma kaliteleri, GC dağılımları, kmer dağılımları, olası adaptör kontaminasyonları incelendi.

Kalite kontrol sonrasında, düşük okuma kalitesine (Phred Score <Q20, 30 bp'lik pencere aralığı) sahip okumalar, tüm veriden çıkarılmıştır. Ayrıca, okuma uçlarındaki düşük kaliteli baz okumaları, olası adaptör kontaminantları ile kimerik diziler, Genomes OnLine Database (GOLD) (<https://gold.jgi.doe.gov>) temel alınarak ve Trimmomatic aracı ile kırıldı.

Taksonomik profilendirme için okumalar, Wang ve arkadaşları (2007) tarafından geliştirilmiş Ribosomal Database Project (RDP) Classifier kullanılarak Greengenes veritabanı temel alınarak hedef organizmalara hizalanmıştır. Hizalama sonrasında her bir örnekteki OTU grupları belirlenmiştir. Verilerin raporlanması, istatistik analizleri ve veri görselleştirme çalışmalarında R (<https://www.r-project.org>) betikleri kullanıldı.

## VIII. BULGULAR

Bu çalışmada piyasadan toplanan toplam 20 probiyotik gıda takviyesinin probiyotik kültür ile aerobik mezofilik toplam bakteri, laktik asit bakterileri ve diğer mikroorganizmaların koloni sayımları, NGS 16S rRNA metagenomik analizleri yapıldı. 2024 yılında Türkiye’de 'de mevcut olan 20 ürün üzerinde yaptığımız değerlendirmede, probiyotik ürün içeriğindeki tüm bakterilerin ürün etiket iddialarına uygun olmadığı belirlendi (Çizelge 14-20). Bir üründe (7 no’lu örnek) *Salmonella enterica* %7,87, *Enterobacter cowanii* %1,12, *Klebsiella oxytoca* %2,25 ve *Serratia marcescens* %2,25 oranında identifiye edilmiştir.

Çizelge 14-20’de piyasadan alınan 20 probiyotik numunesinin etiketinde belirtilen kutu içerikleri, Türk Gıda Kodeksi, ABD Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO) spesifikasyonları görülmektedir.

Piyasadan toplanan probiyotik içerikli örneklerde belirlenen toplam aerobik- mezofilik bakteri, *Lactobacillus* Spp., *Lactococcus* Spp., Küf-Maya ve *Enterobacteriaceae* Spp. sayıları Çizelge 21 ve Şekil 2’de belirtilmiştir

İncelenen 20 örneğin hiçbir etikette belirlenen mikroorganizma içeriği ile uyumlu bulunmamıştır. 20 örneğin tamamında *Bifidobacterium longum* (%0,32-99,3 miktarında), 17’sinde *Lactobacillus zae* (%0,65-60 miktarında), oniksinde *Bifidobacterium bifidum* (% 0,01-%96,78 miktarında), onunda *Lactobacillus reuteri* (%0,1-20,19 miktarında), sekizinde *Lactobacillus paralimentarius* (%0,01-%1,20 miktarında), yedisinde *Lactobacillus brevis* (%0,04-%1,82 miktarında), altısında *Streptococcus alactolyticus* (%1-3 miktarında), altısında *Lactobacillus delbruckii* (%0,01-2,25 miktarında), dördünde *Streptococcus luteciae* (%0,08-%1,12 miktarında), belirlenmiştir. Bir üründe *Faecalibacterium prausnitzii* %57,83 ve bir üründe *Leuconostoc mesenteroides* %26,51 miktarında olacak şekilde yüksek oranda içerikte saptanmıştır.

*B. adolescentis* üç üründe (%0,01- %12,62 miktarında), *Bifidobacterium pseudolongum* iki üründe (%0,04-15,28 miktarında) *Lactobacillus salivarius* iki

üründe (%0,06-%1,12 miktarında), *Lactococcus garvieae* iki üründe (%0,14-%0,20 miktarında), *Anoxybacillus kestanbolensis* bir üründe (% 3,37 miktarında), *Lysinibacillus boronitolerans* bir üründe (%2,41- miktarında), "*Streptococcus luteciae* bir üründe (%0,11 miktarında), *Photorhabdus temperata* bir üründe (%1,12), *Lactobacillus mucosae* bir üründe (%0,17miktarında), *Lactobacillus helveticus* bir üründe (%0,06 miktarında), *Lactobacillus vaginalis* bir üründe (%0,06 miktarında), *Bifidobacterium animalis* bir üründe (%2,66 miktarında), *Carnobacterium viridans* bir üründe (%0,04 miktarında), *Enterococcus caseliflavus* bir üründe (%0,04 miktarında), *Lactobacillus ruminis* bir üründe (%0,04 miktarında) belirlenmiştir

Çizelge 14. Probiyotik Numunelerinin (1-3 No'lu) Etiketinde Belirtilen İçerikleri, NGS 16s rRNA Sonuçları, Kültür Yöntemi ile Belirlenen Mikroorganizma Sayım Sonuçları, Ulusal/Uluslararası Spesifikasyonlar ile Karşılaştırılması (Etiketle uyumlu suşlar sarı ile işaretlenmiştir, etikette belirtilmeyen suşlar kırmızı ile yazılmıştır.)

| Örnek No | Örnek İçeriği                                                                                                                                                                                                                                                                  | 16S rRNA NGS<br>Analizi Sonucu<br>Yüzdelik Probiyotik<br>Bakteri Dağılımı                        | Ürünlerde<br>Belirtilen Toplam<br>Probiyotik Koloni<br>Oluşturma Miktarı<br>(Log <sub>10</sub> KOB/gün) | Ürünlerde<br>Ölçülen<br>Toplam<br>Probiyotik<br>Koloni<br>Oluşturma<br>Miktarı<br>(Log <sub>10</sub><br>KOB/doz) |
|----------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1        | <i>B. infantis</i><br><i>B. lactis</i><br><i>B. longum</i><br><i>L. acidophilus</i><br><i>L. paracasei</i><br><i>L. rhamnosus</i><br><i>S. thermophilus</i>                                                                                                                    | <i>B. bifidum</i> %33<br><i>B. longum</i> %61<br><i>L. zeae</i> %2<br><i>S. alactolyticus</i> %1 | 9,95                                                                                                    | 7,32                                                                                                             |
| 2        | <i>B. brevis</i> Br-03<br><i>B. lactis</i> BI-04<br><i>B. longum</i> BB536<br><i>E. faecium</i><br><i>L. acidophilus</i> La-14<br><i>L. casei</i> LC-11<br><i>L. helveticus</i> R0052<br><i>L. paracasei</i> Lpc-37<br><i>L. plantarum</i> Lp-115<br><i>L. rhamnosus</i> R0011 | <i>B. longum</i> %97<br><i>L. zeae</i> %2                                                        | 10                                                                                                      | 6,48                                                                                                             |
| 3        | <i>B. bifidum</i><br><i>B. longum</i><br><i>L. acidophilus</i><br><i>L. salivarius</i> Ls-33                                                                                                                                                                                   | <i>B. bifidum</i> %33<br><i>B. longum</i> %61<br><i>L. zeae</i> %2<br><i>S. alactolyticus</i> %1 | 9,70                                                                                                    | 7,32                                                                                                             |

\*Türk Gıda Kodeksi Tarafından Önerilen Minimum Probiyotik Mikroorganizma Sayısı 6 (Log<sub>10</sub> KOB/gün)

\*ABD Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) Tarafından Önerilen Minimum Probiyotik Mikroorganizma Sayısı 6 (Log<sub>10</sub> KOB/gün)

\*Dünya Sağlık Örgütü (WHO) Tarafından Minimum Probiyotik Mikroorganizma Sayısı 6-7 (Log<sub>10</sub> KOB/gün)

Çizelge 15. Probiyotik Numunelerinin (4-6 No'lu) Etiketinde Belirtilen İçerikleri, NGS 16s rRNA Sonuçları, Kültür Yöntemi ile Belirlenen Mikroorganizma Sayım Sonuçları, Ulusal/Uluslararası Spesifikasyonlar ile Karşılaştırılması (Etiketle uyumlu suşlar sarı ile işaretlenmiştir, etikette belirtilmeyen suşlar kırmızı ile yazılmıştır.)

| Örnek No | Örnek İçeriği                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 16S rRNA NGS Analizi<br>Sonucu Yüzdelik Probiyotik<br>Bakteri Dağılımı                                                                                                                                                | Ürünlerde Belirtilen<br>Toplam Probiyotik<br>Koloni Oluşturma<br>Miktarı (Log <sub>10</sub><br>KOB/gün) | Ürünlerde<br>Ölçülen<br>Toplam<br>Probiyotik<br>Koloni<br>Oluşturma<br>Miktarı<br>(Log <sub>10</sub><br>KOB/doz) |
|----------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 4        | <i>B. bifidum</i><br><i>B. infantis</i><br><i>B. longum</i><br><i>L. bulgaricus</i><br><i>L. acidophilus</i><br><i>L. paracasei</i><br><i>L. plantarum</i><br><i>L. rhamnosus</i><br><i>L. thermophilus</i><br><i>L. brevis</i><br><i>L. reuteri</i><br><i>S. boulardii</i><br><i>S. thermophilus</i>                   | <i>B. longum</i> %97<br><i>L. zeae</i> %2                                                                                                                                                                             | 10,02                                                                                                   | 6,48                                                                                                             |
| 5        | <i>B. longum</i><br><i>L. acidophilus</i><br><i>L. rhamnosus</i><br><i>S. boulardii</i><br><i>S. thermophilus</i>                                                                                                                                                                                                       | <i>B. bifidum</i> %23<br><i>B. longum</i> %75<br><i>L. zeae</i> %1                                                                                                                                                    | 9,92                                                                                                    | 7,70                                                                                                             |
| 6        | <i>B. bifidum</i> Bb-06<br><i>B. infantis</i> Bi-26<br><i>B. longum</i> BI-05<br><i>L. acidophilus</i> La-14<br><i>L. brevis</i> Lpr-35<br><i>L. bulgaricus</i> Lb-87<br><i>L. paracasei</i> Lpc-37<br><i>L. plantarum</i> Lp-115<br><i>L. reuteri</i> 1E1<br><i>L. rhamnosus</i> Lr-32<br><i>S. thermophilus</i> St-21 | <i>B. longum</i> %9,64<br><i>F. prausnitzii</i> %57,83<br><i>L. paralimentarii</i> %1,20<br><i>L. zeae</i> %1,20<br><i>L. mesenteroides</i> %26,51<br><i>L. boronitolerans</i> %2,41<br><i>S. alactolyticus</i> %1,20 | 9,30                                                                                                    | 4,00                                                                                                             |

\*Türk Gıda Kodeksi Tarafından Önerilen Minimum Probiyotik Mikroorganizma Sayısı 6 (Log<sub>10</sub> KOB/gün)

\*ABD Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) Tarafından Önerilen Minimum Probiyotik Mikroorganizma Sayısı 6 (Log<sub>10</sub> KOB/gün)

\* Dünya Sağlık Örgütü (WHO) Tarafından Minimum Probiyotik Mikroorganizma Sayısı 6-7 (Log<sub>10</sub> KOB/gün)

Çizelge 16. Probiyotik Numunelerinin (7-8 No'lu) Etiketinde Belirtilen İçerikleri, NGS 16s rRNA Sonuçları, Kültür Yöntemi ile Belirlenen Mikroorganizma Sayım Sonuçları, Ulusal/Uluslararası Spesifikasyonlar ile Karşılaştırılması (Etiketle uyumlu suşlar sarı ile işaretlenmiştir, etikette belirtilmeyen suşlar kırmızı ile yazılmıştır.)

| Örnek No | Örnek İçeriği                                                                                          | 16S rRNA NGS Analizi Sonucu<br>Yüzdelik Probiyotik Bakteri<br>Dağılımı                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | Ürünlerde<br>Belirtilen<br>Toplam<br>Probiyotik<br>Koloni<br>Oluşturma<br>Miktarı<br>(Log <sub>10</sub><br>KOB/gün) | Ürünlerde<br>Ölçülen<br>Toplam<br>Probiyotik<br>Koloni<br>Oluşturma<br>Miktarı (Log <sub>10</sub><br>KOB/doz) |
|----------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 7        | <b>L. reuteri</b><br>L. rhamnosus 55,550                                                               | <i>A. kestanbolensis</i> %3,37<br><i>B. longum</i> % 4,49<br><i>E. cowanii</i> % 1,12<br><i>K. oxytoca</i> % 2,25<br><i>L. brevis</i> % 1,12<br><i>L. delbrueckii</i> % 2,25<br><i>L. iners</i> % 7,87<br><i>L. paralimentarius</i> % 1,12<br><i>L. pontis</i> % 1,12<br><b>L. reuteri</b> % 7,87<br><i>L. salivarius</i> % 1,12<br><i>L. zeae</i> %53,93<br><i>P. temperata</i> % 1,12<br><b>S. enterica</b> % 7,87<br><i>S. marcescens</i> % 2,25<br><i>S. luteiciae</i> % 1,12<br><i>B. bifidum</i> % 19,95<br><b>B. longum</b> % 70,48<br><i>L. paralimentarius</i> %1,17<br><i>L. brevis</i> % 0,58<br><i>L. reuteri</i> %1,52<br><i>L. zeae</i> % 3,56<br><i>L. iners</i> %0,53<br><i>S. alactolyticus</i> %1,05 | 7,60                                                                                                                | 7,68                                                                                                          |
| 8        | <i>B. brevis</i><br><b>B. longum</b><br><i>B. lactis</i><br><i>L. plantarum</i><br><i>L. rhamnosus</i> | <i>B. bifidum</i> % 19,95<br><b>B. longum</b> % 70,48<br><i>L. paralimentarius</i> %1,17<br><i>L. brevis</i> % 0,58<br><i>L. reuteri</i> %1,52<br><i>L. zeae</i> % 3,56<br><i>L. iners</i> %0,53<br><i>S. alactolyticus</i> %1,05                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | 9,30                                                                                                                | 7,95                                                                                                          |

\*Türk Gıda Kodeksi Tarafından Önerilen Minimum Probiyotik Mikroorganizma Sayısı 6 (Log<sub>10</sub> KOB/gün)  
\*ABD Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) Tarafından Önerilen Minimum Probiyotik Mikroorganizma Sayısı 6 (Log<sub>10</sub> KOB/gün)  
\*Dünya Sağlık Örgütü (WHO) Tarafından Minimum Probiyotik Mikroorganizma Sayısı 6-7 (Log<sub>10</sub> KOB/gün)

Çizelge 17. Probiyotik Numunelerinin (9-11 No'lu) Etiketinde Belirtilen İçerikleri, NGS 16s rRNA Sonuçları, Kültür Yöntemi ile Belirlenen Mikroorganizma Sayım Sonuçları, Ulusal/Uluslararası Spesifikasyonlar ile Karşılaştırılması (Etiketle uyumlu suşlar sarı ile işaretlenmiştir, etikette belirtilmeyen suşlar kırmızı ile yazılmıştır.)

| Örnek No | Örnek İçeriği                                                                                                                                                                                                                                        | 16S rRNA NGS Analizi<br>Sonucu Yüzdelik Probiyotik<br>Bakteri Dağılımı                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | Ürünlerde<br>Belirtilen<br>Toplam<br>Probiyotik<br>Koloni<br>Oluşturma<br>Miktarı<br>(Log <sub>10</sub><br>KOB/gün) | Ürünlerde<br>Ölçülen<br>Toplam<br>Probiyotik<br>Koloni<br>Oluşturma<br>Miktarı<br>(Log <sub>10</sub><br>KOB/doz) |
|----------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 9        | <i>B. bifidum</i><br><i>B. infantis</i><br><i>B. longum</i><br><i>L. acidophilus</i><br><i>L. brevis</i><br><i>L. bulgaricus</i><br><i>L. paracasei</i><br><i>L. plantarum</i><br><i>L. reuteri</i><br><i>L. rhamnosus</i><br><i>S. thermophilus</i> | <i>B. bifidum</i> % 24,79<br><i>B. longum</i> % 67,29<br><i>L. brevis</i> % 0,55<br><i>L. delbrueckii</i> % 0,22<br><i>L. helveticus</i> % 0,06<br><i>L. iners</i> % 0,39<br><i>L. mucosae</i> % 0,17<br><i>L. paralimentarius</i> % 0,66<br><i>L. pontis</i> % 0,17<br><i>L. reuteri</i> % 1,16<br><i>L. salivarius</i> % 0,06<br><i>L. vaginalis</i> % 0,06<br><i>L. zeae</i> % 2,93<br><i>S. alactolyticus</i> % 1,16 | 10                                                                                                                  | 7,58                                                                                                             |
| 10       | <i>L. rhamnosus</i><br><i>L. acidophilus</i>                                                                                                                                                                                                         | <i>B. adolescentis</i> % 12,62<br><i>B. animalis</i> % 2,66<br><i>B. bifidum</i> % 1,33<br><i>B. breve</i> % 9,63<br><i>B. longum</i> % 58,14<br><i>B. pseudolongum</i> % 15,28                                                                                                                                                                                                                                          | 10                                                                                                                  | 8,66                                                                                                             |
| 11       | <i>B. bifidum</i><br><i>B. lactis</i><br><i>B. longum</i><br><i>L. acidophilus</i><br><i>L. paracasei</i><br><i>L. rhamnosus</i><br><i>L. plantarum</i>                                                                                              | <i>B. longum</i> % 99,14<br><i>L. zeae</i> % 0,65                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | 10                                                                                                                  | 6,86                                                                                                             |

\*Türk Gıda Kodeksi Tarafından Önerilen Minimum Probiyotik Mikroorganizma Sayısı 6 (Log<sub>10</sub>KOB/gün)

\*ABD Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) Tarafından Önerilen Minimum Probiyotik Mikroorganizma Sayısı 6 (Log<sub>10</sub>KOB/gün)

\*Dünya Sağlık Örgütü (WHO) Tarafından Minimum Probiyotik Mikroorganizma Sayısı 6-7 (Log<sub>10</sub>KOB/gün)

Çizelge 18. Probiyotik Numunelerinin (12-14 No'lu) Etiketinde Belirtilen İçerikleri, NGS 16s rRNA Sonuçları, Kültür Yöntemi ile Belirlenen Mikroorganizma Sayım Sonuçları, Ulusal/Uluslararası Spesifikasyonlar ile Karşılaştırılması (Etiketle uyumlu suşlar sarı ile işaretlenmiştir, etikette belirtilmeyen suşlar kırmızı ile yazılmıştır.)

| Örnek No | Örnek İçeriği                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 16S rRNA NGS Analizi<br>Sonucu Yüzdelik Probiyotik<br>Bakteri Dağılımı                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | Ürünlerde<br>Belirtilen<br>Toplam<br>Probiyotik<br>Koloni<br>Oluşturma<br>Miktarı<br>(Log <sub>10</sub><br>KOB/gün) | Ürünlerde<br>Ölçülen<br>Toplam<br>Probiyotik<br>Koloni<br>Oluşturma<br>Miktarı (Log <sub>10</sub><br>KOB/doz) |
|----------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 12       | <i>B. bifidum</i><br><i>B. breve</i><br><i>B. longum</i><br><i>L. acidophilus</i><br><i>L. bulgaricus</i><br><i>L. casei</i><br><i>L. paracasei</i><br><i>L. plantarum</i><br><i>L. rhamnosus</i><br><i>L. salivarius</i><br><i>S. thermophilus</i>                                                                     | <i>B. bifidum</i> %15,79<br><i>B. longum</i> %81,60<br><i>C. viridans</i> % 0,04<br><i>E. casseliflavus</i> % 0,04<br><i>L. brevis</i> % 0,08<br><i>L. delbrueckii</i> % 0,08<br><i>L. helveticus</i> % 0,04<br><i>L. mucosae</i> % 0,04<br><i>L. paralimentarius</i> % 0,20<br><i>L. pontis</i> % 0,04<br><i>L. reuteri</i> % 0,33<br><i>L. zeae</i> % 0,98<br><i>S. alactolyticus</i> %0,33<br><i>S. uteciae</i> % 0,08                                 | 10                                                                                                                  | 7,00                                                                                                          |
| 13       | <i>B. longum</i><br><i>L. rhamnosus</i>                                                                                                                                                                                                                                                                                 | <i>B. longum</i> %96,97<br><i>L. zeae</i> % 1,82                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 9,70                                                                                                                | 7,41                                                                                                          |
| 14       | <i>B. bifidum</i> BI-05<br><i>B. infantis</i> Bi-26<br><i>B. longum</i> Bb-06<br><i>L. acidophilus</i> La-14<br><i>L. brevis</i> Lbr-35<br><i>L. bulgaricus</i> Lb-87<br><i>L. paracasei</i> Lpc-37<br><i>L. plantarum</i> Lp-115<br><i>L. reuteri</i> 1E1<br><i>L. rhamnosus</i> Lr-32<br><i>S. thermophilus</i> St-21 | <i>B. adolescentis</i> % 0,04<br><i>B. brevis</i> % 0,08<br><i>B. longum</i> % 73,49<br><i>B. pseudolongum</i> % 0,04<br><i>L. brevis</i> % 0,04<br><i>L. delbrueckii</i> % 0,41<br><i>L. iners</i> % 0,36<br><i>L. paralimentarius</i> % 0,53<br><i>L. pontis</i> % 0,16<br><i>L. reuteri</i> % 20,19<br><i>L. ruminis</i> %0,04<br><i>L. salivarius</i> % 0,04<br><i>L. vaginalis</i> % 0,12<br><i>L. zeae</i> % 2,23<br><i>S. alactolyticus</i> % 1,38 | 9,70                                                                                                                | 5,04                                                                                                          |

\*Türk Gıda Kodeksi Tarafından Önerilen Minimum Probiyotik Mikroorganizma Sayısı 6 (Log<sub>10</sub> KOB/gün)

\*ABD Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) Tarafından Önerilen Minimum Probiyotik Mikroorganizma Sayısı 6 (Log<sub>10</sub> KOB/gün)

\*Dünya Sağlık Örgütü (WHO) Tarafından Minimum Probiyotik Mikroorganizma Sayısı 6-7 (Log<sub>10</sub> KOB/gün)

Çizelge 19. Probiyotik Numunelerinin (15-17 No'lu) Etiketinde Belirtilen İçerikleri, NGS 16s rRNA Sonuçları, Kültür Yöntemi ile Belirlenen Mikroorganizma Sayım Sonuçları, Ulusal/Uluslararası Spesifikasyonlar ile Karşılaştırılması (Etiketle uyumlu suşlar sarı ile işaretlenmiştir, etikette belirtilmeyen suşlar kırmızı ile yazılmıştır.)

| Örnek No | Örnek İçeriği                                                                                                                                                                                             | 16S rRNA NGS Analizi<br>Sonucu Yüzdelik Probiyotik<br>Bakteri Dağılımı                                                                                                                                                                                                                                                  | Ürünlerde<br>Belirtilen<br>Toplam<br>Probiyotik<br>Koloni<br>Oluşturma<br>Miktarı (Log <sub>10</sub><br>KOB/gün) | Ürünlerde<br>Ölçülen Toplam<br>Probiyotik<br>Koloni<br>Oluşturma<br>Miktarı (Log <sub>10</sub><br>KOB/doz) |
|----------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 15       | <i>B. animalis lactis</i> B94                                                                                                                                                                             | <i>B. bifidum</i> % 95<br><i>B. longum</i> % 1<br><i>L. reuteri</i> % 1<br><i>L. zeae</i> % 3                                                                                                                                                                                                                           | 9,70                                                                                                             | 7,56                                                                                                       |
| 16       | <i>B. bifidum</i><br><i>B. longum</i><br><i>L. acidophilus</i><br><i>L. brevis</i><br><i>L. paracasei</i><br><i>L. plantarum</i><br><i>L. rhamnosus</i><br><i>L. bulgaricus</i><br><i>S. thermophilus</i> | <i>B. bifidum</i> % 1<br><i>B. longum</i> % 2<br><i>L. brevis</i> % 2<br><i>L. delbrueckii</i> % 3<br><i>L. iners</i> % 6<br><i>L. pontis</i> % 2<br><i>L. reuteri</i> % 12<br><i>L. salivarius</i> % 1<br><i>L. zeae</i> % 60<br><i>L. paralimentarius</i> % 6<br><i>B. longum</i> % 96<br><i>S. alactolyticus</i> % 3 | 9,70                                                                                                             | 6,70                                                                                                       |
| 17       | <i>B. bifidum</i><br><i>L. acidophilus</i><br><i>L. lactis</i><br><i>L. paracasei</i><br><i>L. plantarum</i><br><i>L. rhamnosus</i><br><i>S. thermophilus</i>                                             | <i>B. bifidum</i> % 1<br><i>B. longum</i> % 2<br><i>L. brevis</i> % 2<br><i>L. delbrueckii</i> % 3<br><i>L. iners</i> % 6<br><i>L. pontis</i> % 2<br><i>L. reuteri</i> % 12<br><i>L. salivarius</i> % 1<br><i>L. zeae</i> % 60<br><i>L. paralimentarius</i> % 6<br><i>B. longum</i> % 96<br><i>S. alactolyticus</i> % 3 | 10                                                                                                               | 5,54                                                                                                       |

\*Türk Gıda Kodeksi Tarafından Önerilen Minimum Probiyotik Mikroorganizma Sayısı 6 (Log<sub>10</sub> KOB/gün)

\*ABD Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) Tarafından Önerilen Minimum Probiyotik Mikroorganizma Sayısı 6 (Log<sub>10</sub> KOB/gün)

\*Dünya Sağlık Örgütü (WHO) Tarafından Minimum Probiyotik Mikroorganizma Sayısı 6-7 (Log<sub>10</sub> KOB/gün)

Çizelge 20. Probiyotik Numunelerinin (18-20 No'lu) Etiketinde Belirtilen İçerikleri, NGS 16s rRNA Sonuçları, Kültür Yöntemi ile Belirlenen Mikroorganizma Sayım Sonuçları, Ulusal/Uluslararası Spesifikasyonlar ile Karşılaştırılması (Etiketle uyumlu suşlar sarı ile işaretlenmiştir, etikette belirtilmeyen suşlar kırmızı ile yazılmıştır.)

| Örnek No | Örnek İçeriği                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | 16S rRNA NGS Analizi<br>Sonucu Yüzdelik Probiyotik<br>Bakteri Dağılımı                                                                                                                                                                                                                                                                              | Ürünlerde<br>Belirtilen Toplam<br>Probiyotik Koloni<br>Oluşturma Miktarı<br>(Log <sub>10</sub> KOB/gün) | Ürünlerde Ölçülen<br>Toplam Probiyotik<br>Koloni Oluşturma<br>Miktarı (Log <sub>10</sub><br>KOB/doz) |
|----------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 18       | <i>B. bifidum</i><br><i>B. infantis</i><br><i>B. lactis</i><br><i>B. longum</i><br><i>B. subtilis</i><br><i>L. acidophilus</i><br><i>L. breve</i><br><i>L. bulgaricus</i><br><i>L. helveticus</i><br><i>L. paracasei</i><br><i>L. plantarum</i><br><i>L. reuteri</i><br><i>L. rhamnosus</i><br><i>S. thermophilus</i> | <i>B. bifidum</i> % 14<br><i>B. longum</i> % 82<br><i>L. reuteri</i> % 1<br><i>L. zeae</i> % 1                                                                                                                                                                                                                                                      | 10                                                                                                      | 7,45                                                                                                 |
| 19       | <i>B. bifidum</i><br><i>B. longum</i><br><i>E. faecium</i><br><i>L. acidophilus</i><br><i>L. rhamnosus</i>                                                                                                                                                                                                            | <i>B. bifidum</i> % 95,74<br><i>B. breve</i> % 0,04<br><i>B. longum</i> % 0,32<br><i>L. garvieae</i> % 0,20<br><i>L. iners</i> % 0,04<br><i>L. paralimentarius</i> % 0,04<br><i>L. reuteri</i> % 0,04<br><i>L. ruminis</i> % 0,04<br><i>L. zeae</i> % 3,30<br><i>S. luteiae</i> % 0,08                                                              | 9,3                                                                                                     | 13,85                                                                                                |
| 20       | <i>B. clausii</i><br><i>B. coagulans</i><br><i>B. subtilis</i><br><i>S. boulardii</i>                                                                                                                                                                                                                                 | <i>B. bifidum</i> %0,01<br><i>B. adolescentis</i> % 0,01<br><i>B. breve</i> % 0,01<br><i>B. longum</i> % 99,03<br><i>L. brevis</i> % 0,01<br><i>L. iners</i> % 0,04<br><i>L. pontis</i> % 0,01<br><i>L. reuteri</i> % 0,10<br><i>L. delbrueckii</i> % 0,01<br><i>L. mucosae</i> % 0,01<br><i>L. paralimentarius</i> % 0,01<br><i>L. zeae</i> % 0,72 | 10,00                                                                                                   | 6,00                                                                                                 |

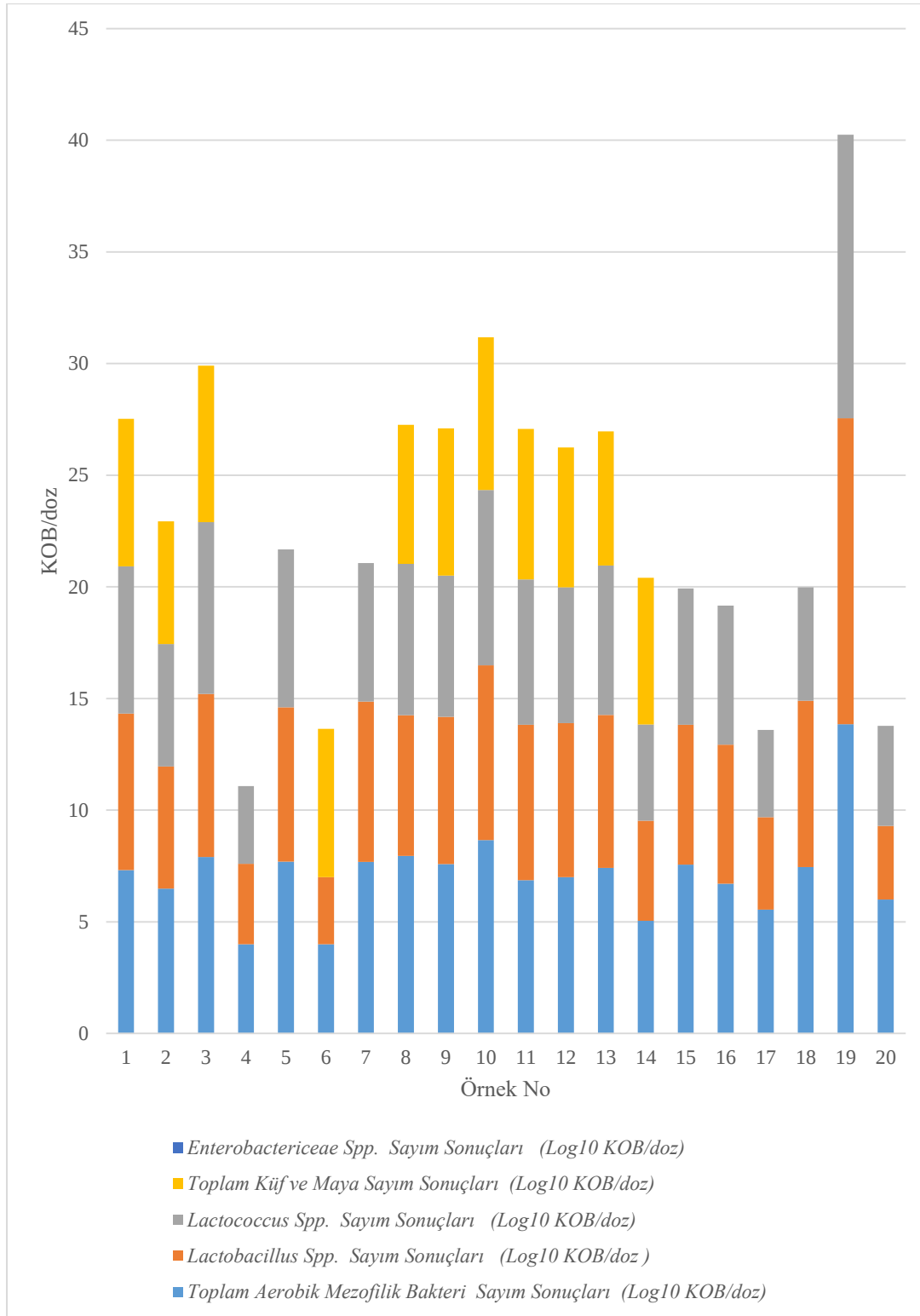
\*Türk Gıda Kodeksi Tarafından Önerilen Minimum Probiyotik Mikroorganizma Sayısı 6 (Log<sub>10</sub> KOB/gün)

\*ABD Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) Tarafından Önerilen Minimum Probiyotik Mikroorganizma Sayısı 6 (Log<sub>10</sub> KOB/gün)

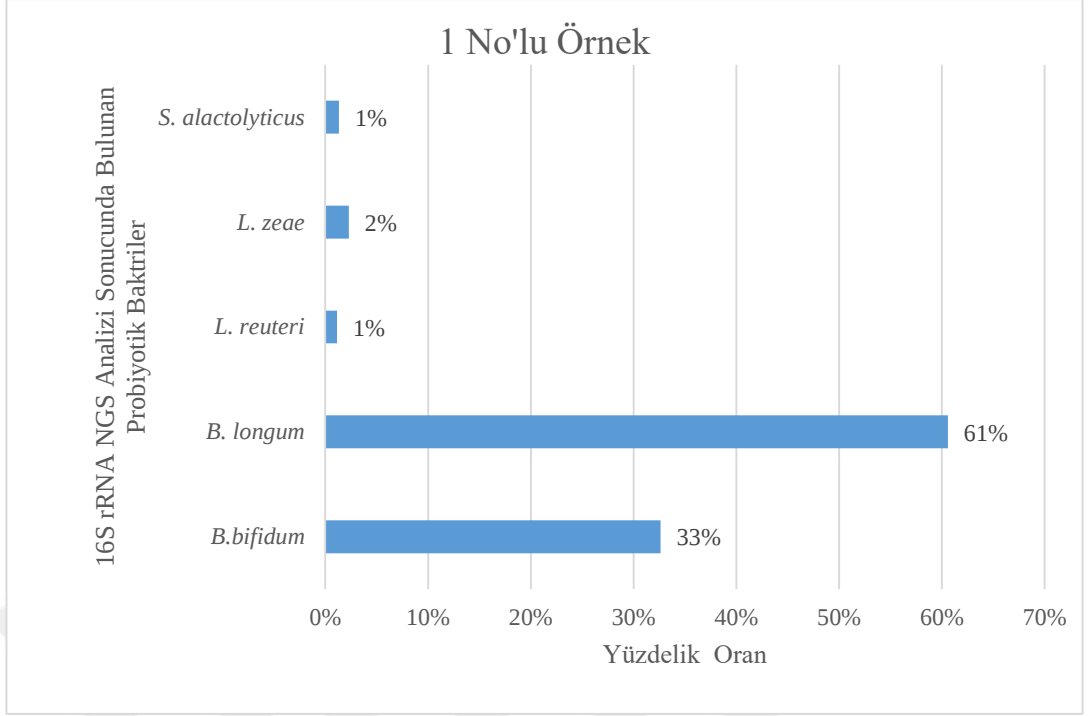
\*Dünya Sağlık Örgütü (WHO) Tarafından Minimum Probiyotik Mikroorganizma Sayısı 6-7 (Log<sub>10</sub> KOB/gün)

Çizelge 21. Piyasadan Toplanan Probiyotik İçerikli Örneklerde Toplam Aerobik-Mezofilik Bakteri, *Lactobacillus* Spp., *Lactococcus* Spp., Küf-Maya ve *Enterobacteriaceae* Spp. Sayımı Sonuçları (Log<sub>10</sub> KOB/doz)

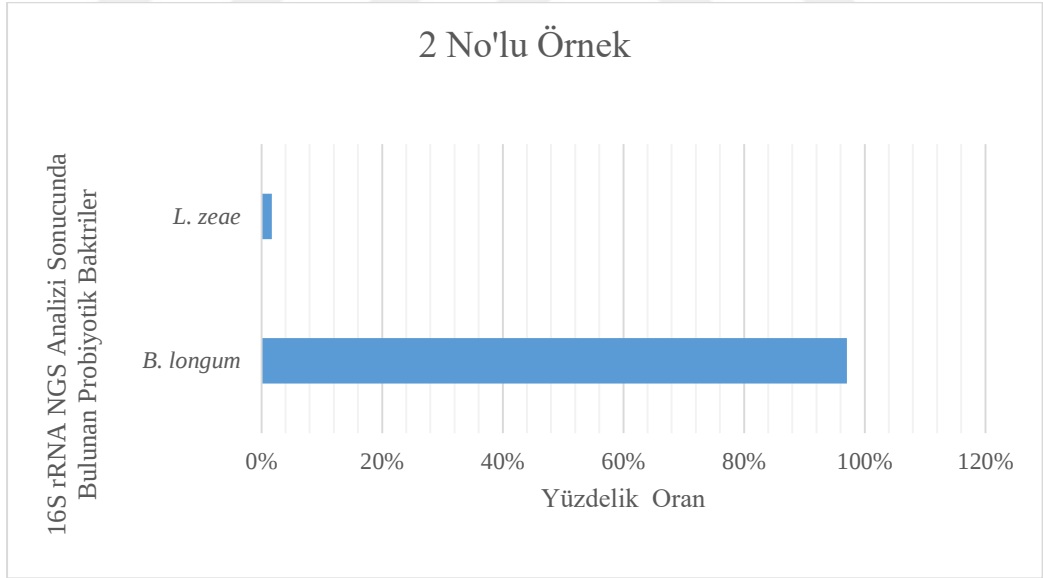
| Örnek | Toplam Aerobik-Mezofilik Bakteri Sayımı Sonuçları | <i>Lactobacillus</i> Spp. Sayımı Sonuçları | <i>Lactococcus</i> Spp. Sayımı Sonuçları | Toplam Küf ve Maya Sayımı Sonuçları | <i>Enterobacteriaceae</i> Spp. Sayımı Sonuçları |
|-------|---------------------------------------------------|--------------------------------------------|------------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------------------|
| 1     | 7,32                                              | 7,00                                       | 6,60                                     | 6,60                                | <10                                             |
| 2     | 6,48                                              | 5,48                                       | 5,48                                     | 5,49                                | <10                                             |
| 3     | 7,90                                              | 7,30                                       | 7,70                                     | 7,00                                | <10                                             |
| 4     | 4,00                                              | 3,60                                       | 3,48                                     | 0,00                                | <10                                             |
| 5     | 7,70                                              | 6,90                                       | 7,08                                     | 0,00                                | <10                                             |
| 6     | 4,00                                              | 3,00                                       | 0,00                                     | 6,64                                | <10                                             |
| 7     | 7,68                                              | 7,18                                       | 6,20                                     | 0,00                                | <10                                             |
| 8     | 7,95                                              | 6,30                                       | 6,78                                     | 6,23                                | <10                                             |
| 9     | 7,58                                              | 6,60                                       | 6,32                                     | 6,60                                | <10                                             |
| 10    | 8,66                                              | 7,83                                       | 7,85                                     | 6,83                                | <10                                             |
| 11    | 6,86                                              | 6,96                                       | 6,51                                     | 6,74                                | <10                                             |
| 12    | 7,00                                              | 6,90                                       | 6,08                                     | 6,26                                | <10                                             |
| 13    | 7,41                                              | 6,85                                       | 6,70                                     | 6,00                                | <10                                             |
| 14    | 5,04                                              | 4,48                                       | 4,32                                     | 6,56                                | <10                                             |
| 15    | 7,56                                              | 6,26                                       | 6,11                                     | 0,00                                | <10                                             |
| 16    | 6,70                                              | 6,23                                       | 6,23                                     | 0,00                                | <10                                             |
| 17    | 5,54                                              | 4,15                                       | 3,90                                     | 0,00                                | <10                                             |
| 18    | 7,45                                              | 7,45                                       | 5,08                                     | 0,00                                | <10                                             |
| 19    | 13,85                                             | 13,70                                      | 12,70                                    | 0,00                                | <10                                             |
| 20    | 6,00                                              | 3,30                                       | 4,48                                     | 0,00                                | <10                                             |



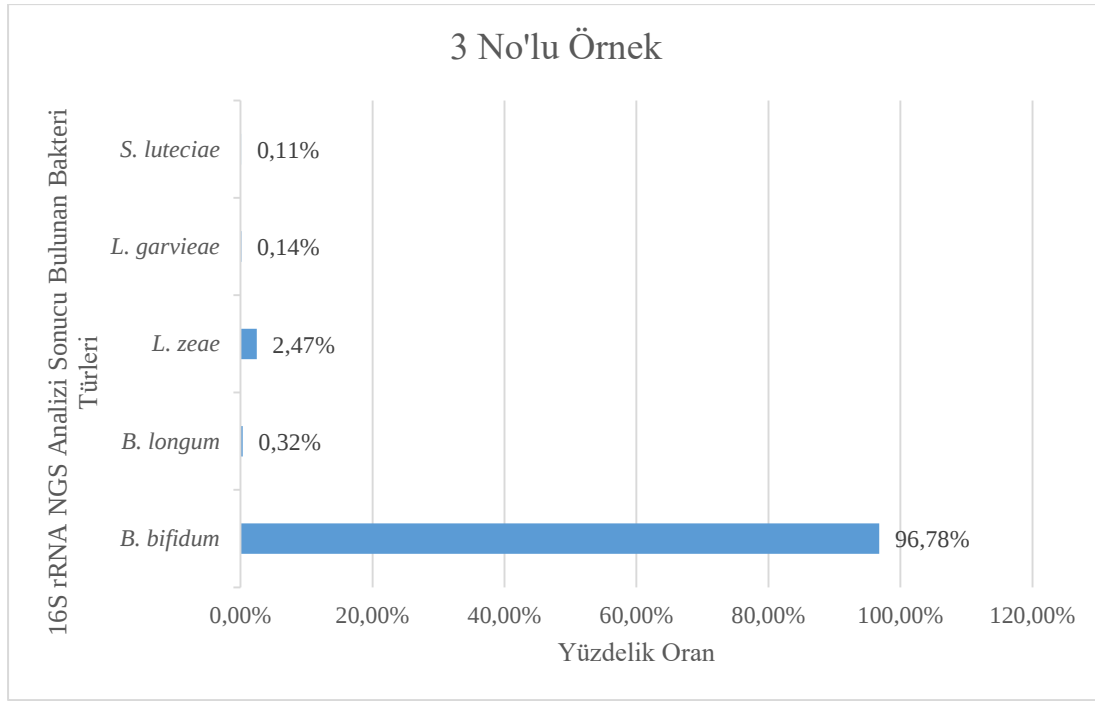
Şekil 2. Piyasada Toplanan Probiyotik İçerikli Örneklerde Ölçülen Toplam Aerobik Mezofilik Bakteri, *Lactobacillus* Spp., *Lactococcus* Spp., Küf-Maya ve *Enterobacteriaceae* Spp. Sayımı Sonuçları (Log<sub>10</sub> KOB/doz)



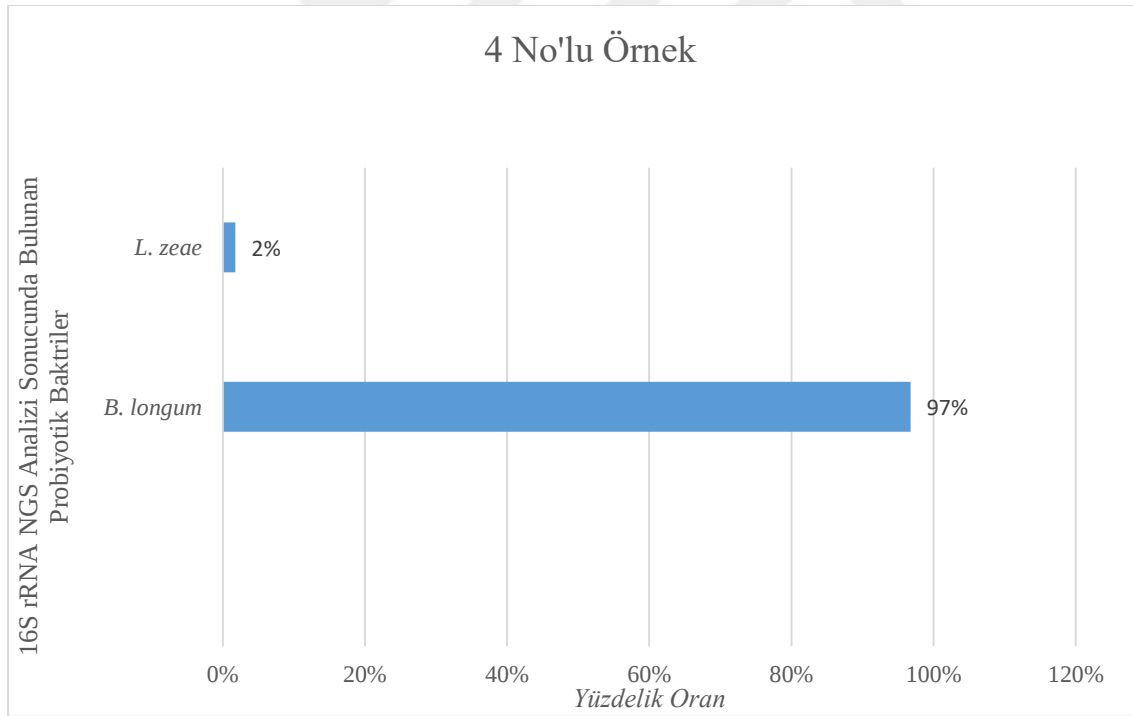
Şekil 3. Bir No'lu Örnekteki 16S rRNA NGS ile Belirlenen Probiyotik Bakteri Dağılımı (%)



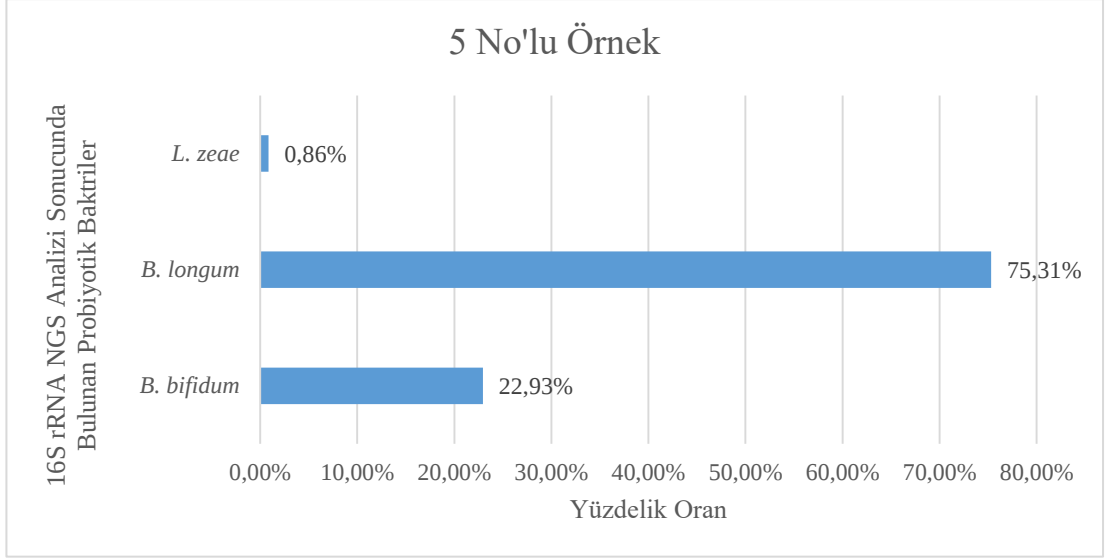
Şekil 4. İki No'lu Örnekteki 16S rRNA NGS ile Belirlenen Probiyotik Bakteri Dağılımı (%)



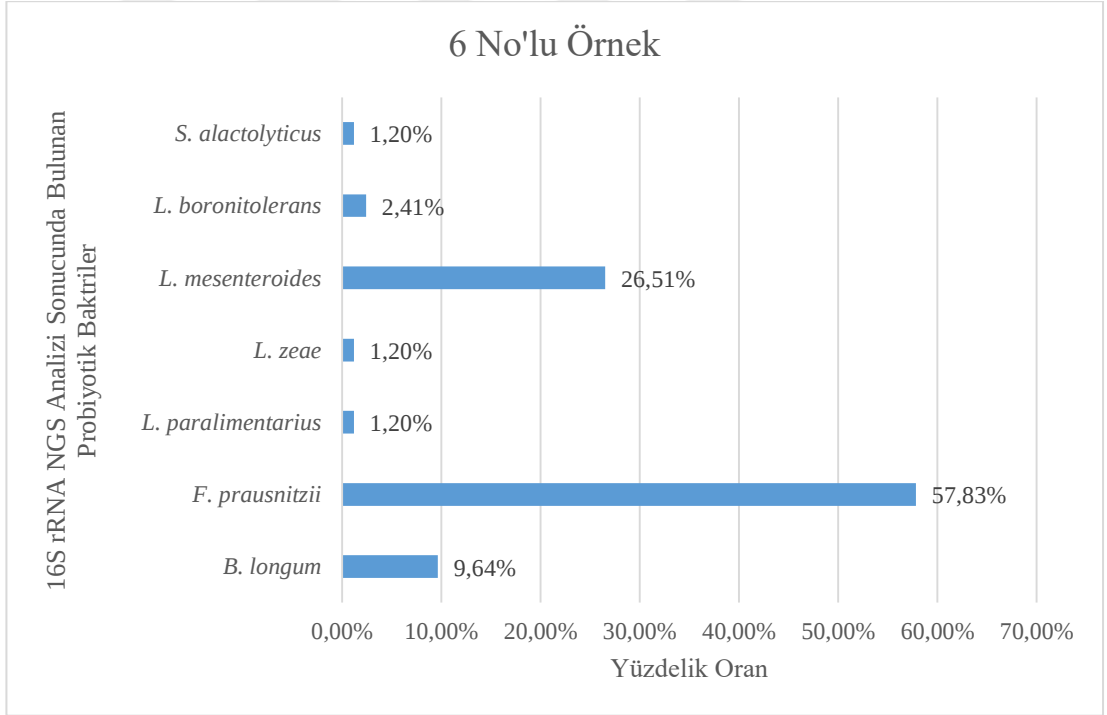
Şekil 5. Üç No'lu Örnekteki 16S rRNA NGS ile Belirlenen Probiyotik Bakteri Dağılımı (%)



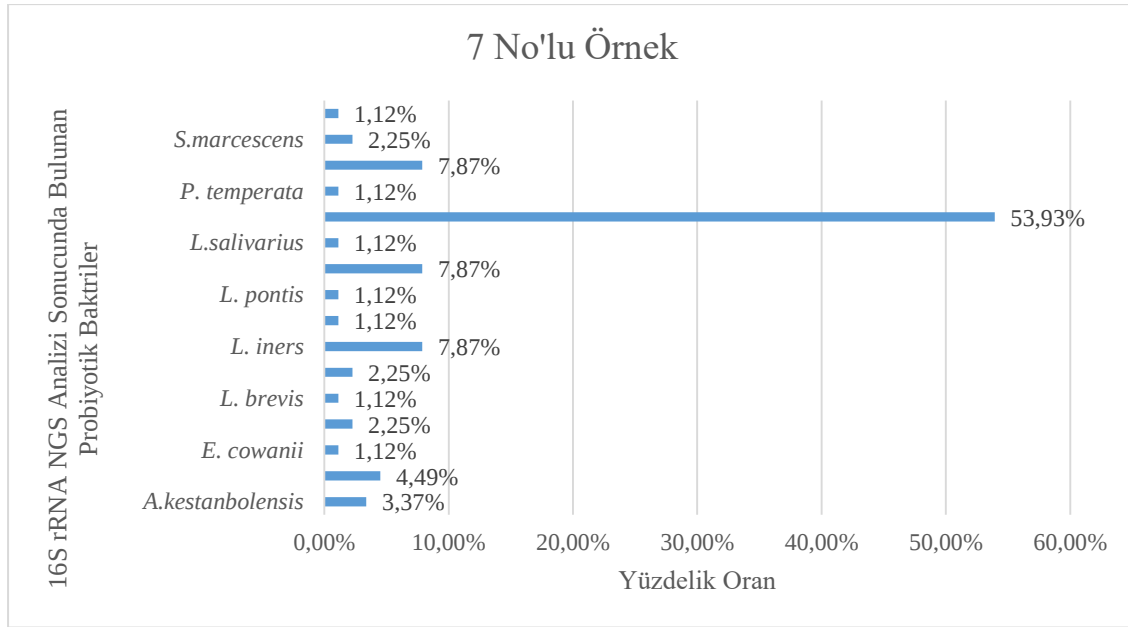
Şekil 6. Dört No'lu Örnekteki 16S rRNA NGS ile Belirlenen Probiyotik Bakteri Dağılımı (%)



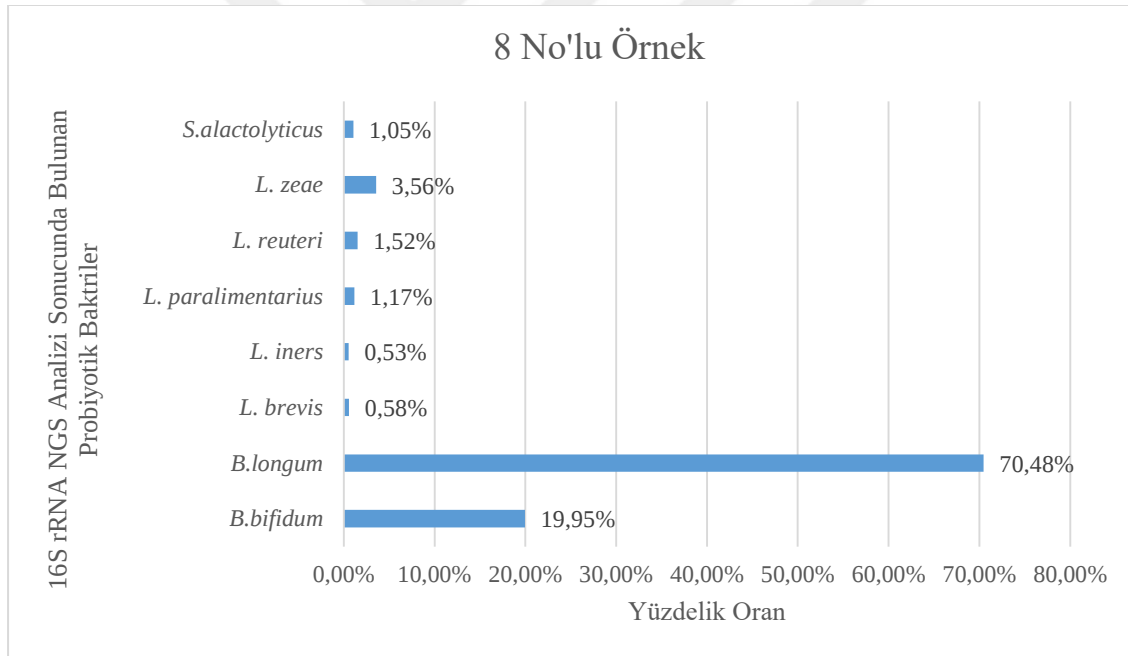
Şekil 7. Beş No'lu Örnekteki 16S rRNA NGS ile Belirlenen Probiyotik Bakteri Dağılımı (%)



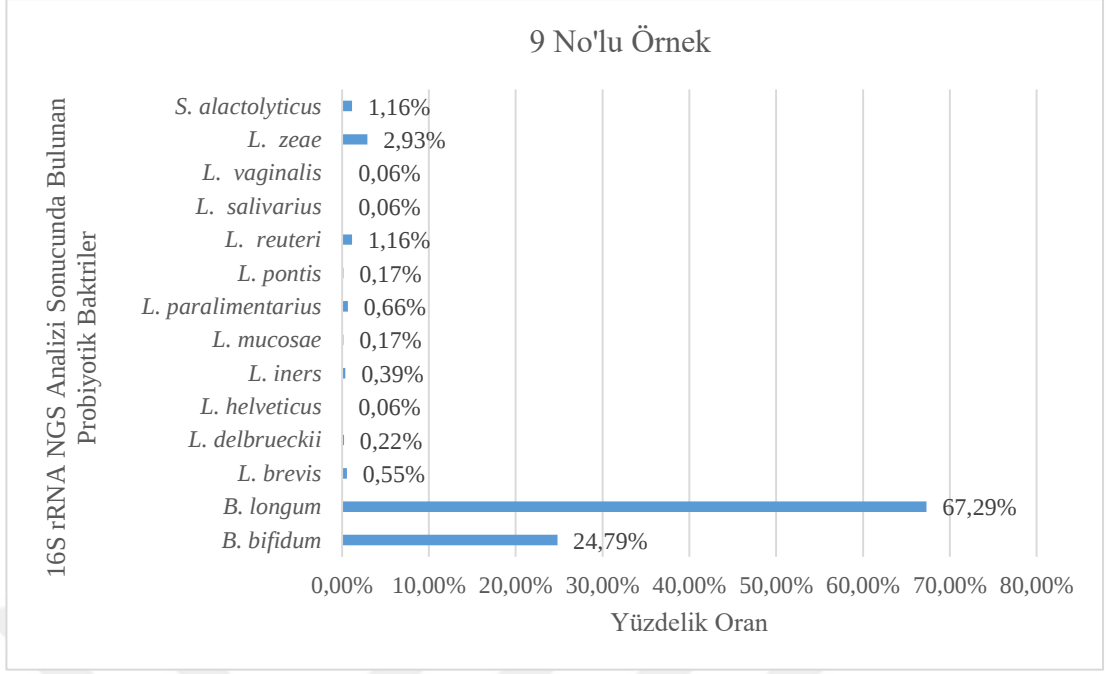
Şekil 8. Altı No'lu Örnekteki 16S rRNA NGS ile Belirlenen Probiyotik Bakteri Dağılımı (%)



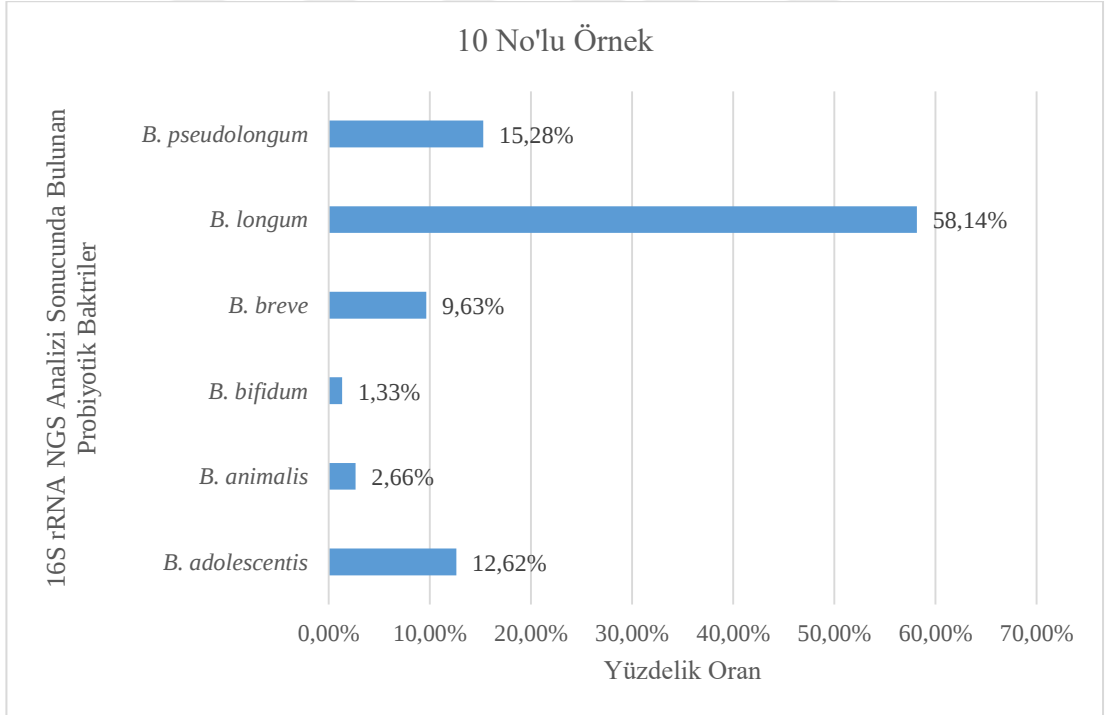
Şekil 9. Yedi No'lu Örnekteki 16S rRNA NGS ile Belirlenen Probiyotik Bakteri Dağılımı (%)



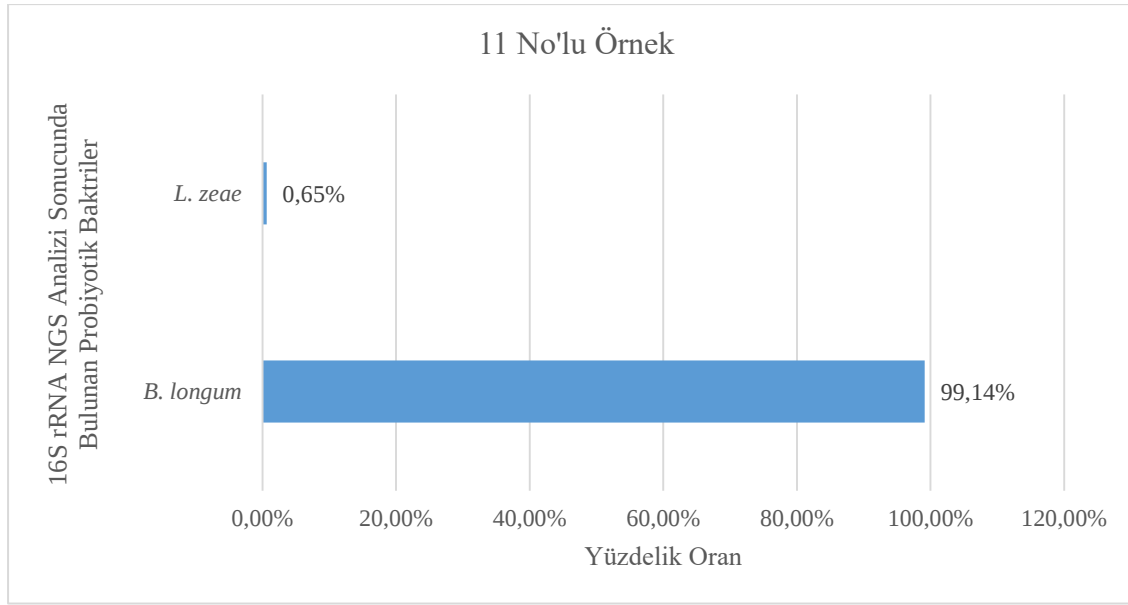
Şekil 10. Sekiz No'lu Örnekteki 16S rRNA NGS ile Belirlenen Probiyotik Bakteri Dağılımı (%)



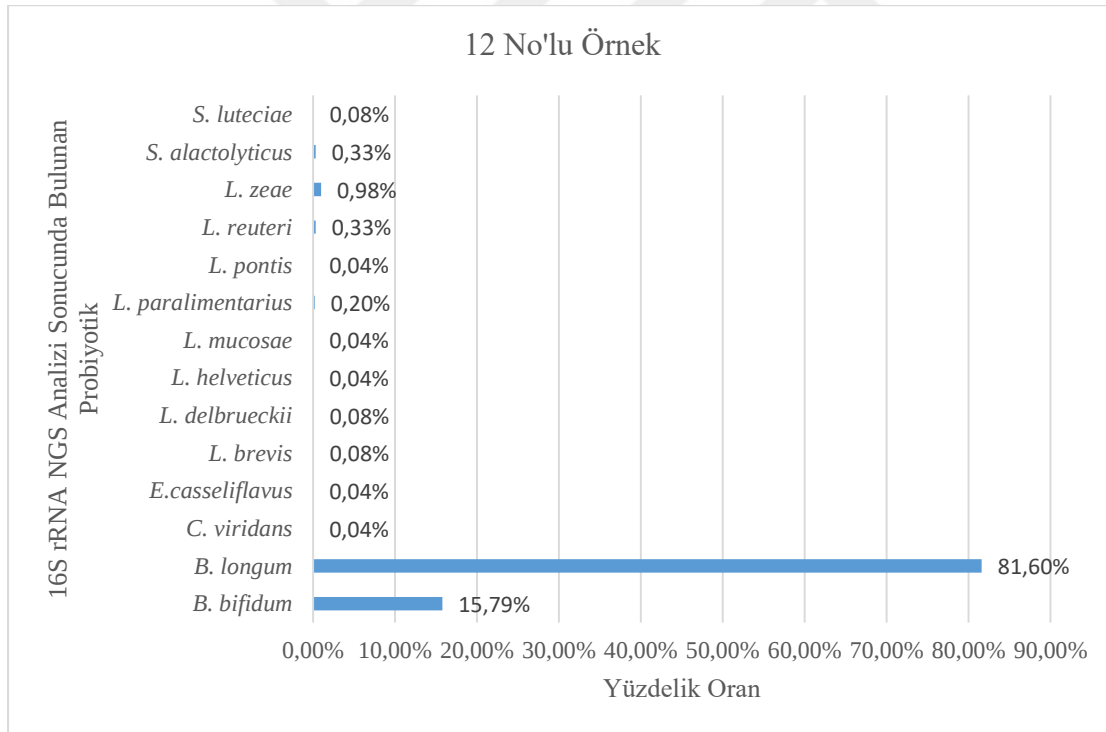
Şekil 11. Dokuz No'lu Örnekteki 16S rRNA NGS ile Belirlenen Probiyotik Bakteri Dağılımı (%)



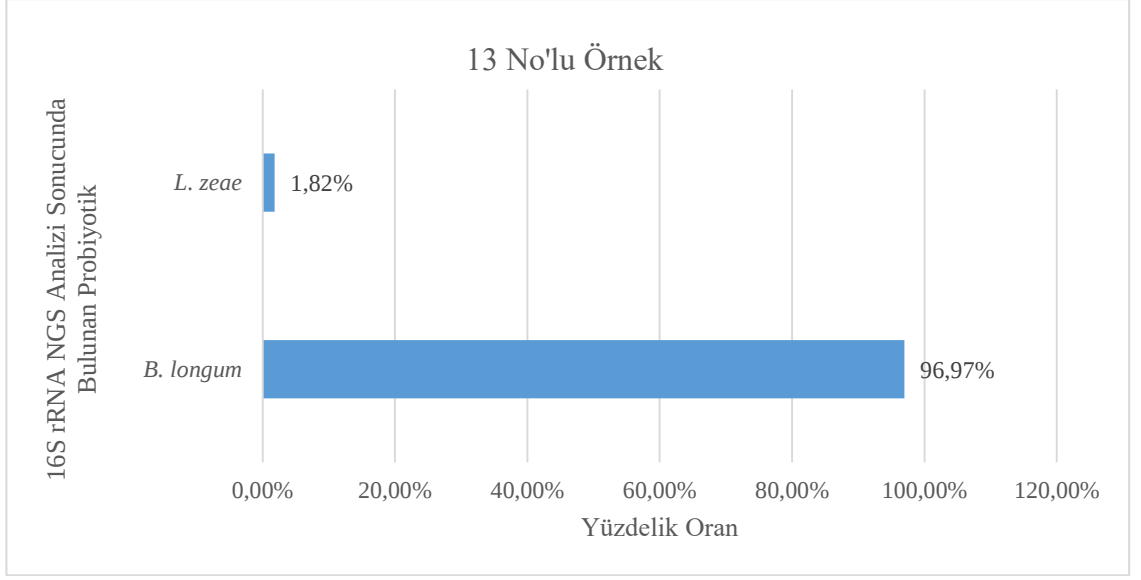
Şekil 12. On No'lu Örnekteki 16S rRNA NGS ile Belirlenen Probiyotik Bakteri Dağılımı (%)



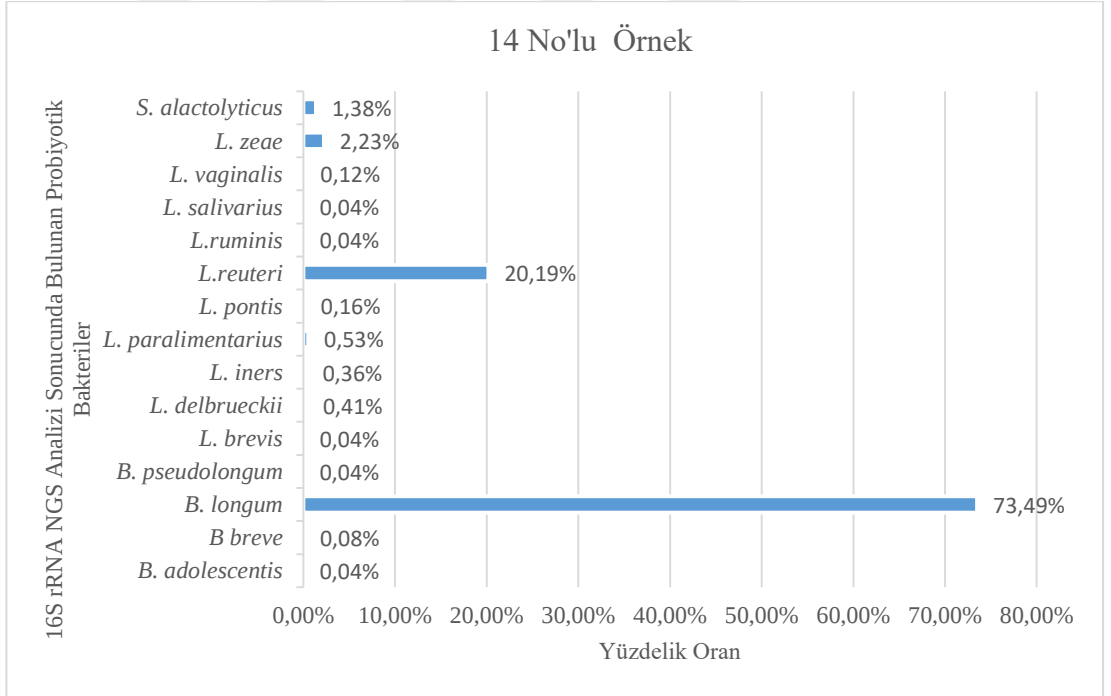
Şekil 13. On bir No'lu Örnekteki 16S rRNA NGS ile Belirlenen Probiyotik Bakteri Dağılımı (%)



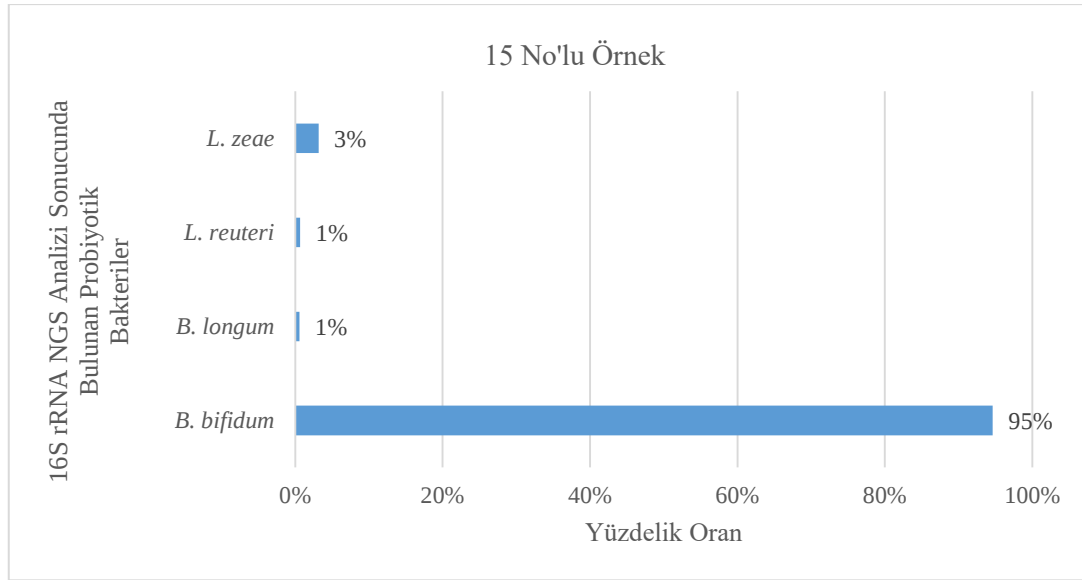
Şekil 14. On iki No'lu Örnekteki 16S rRNA NGS ile Belirlenen Probiyotik Bakteri Dağılımı (%)



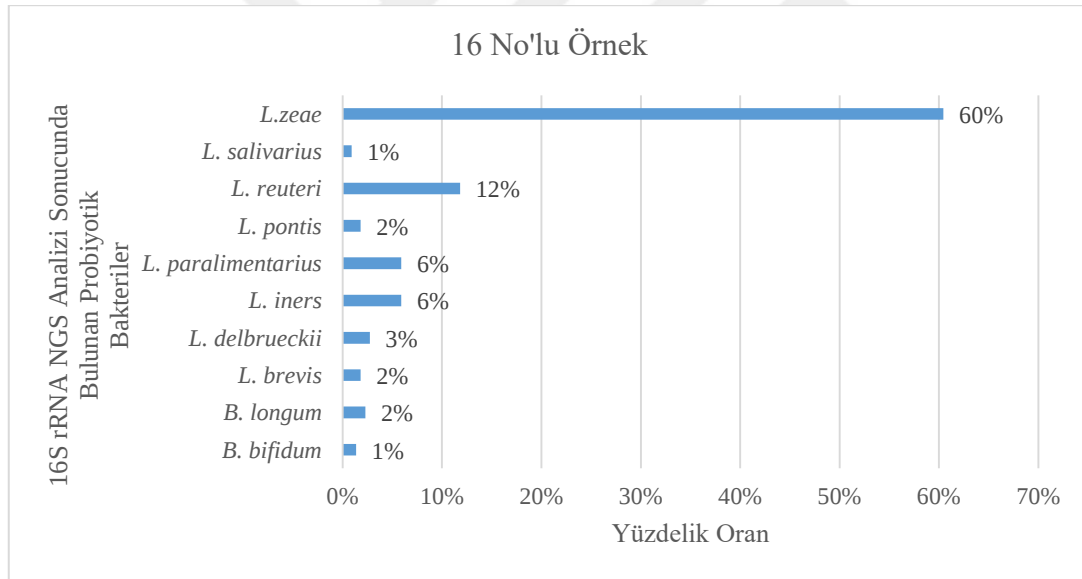
Şekil 15. On üç No'lu Örnekteki 16S rRNA NGS ile Belirlenen Probiyotik Bakteri Dağılımı (%)



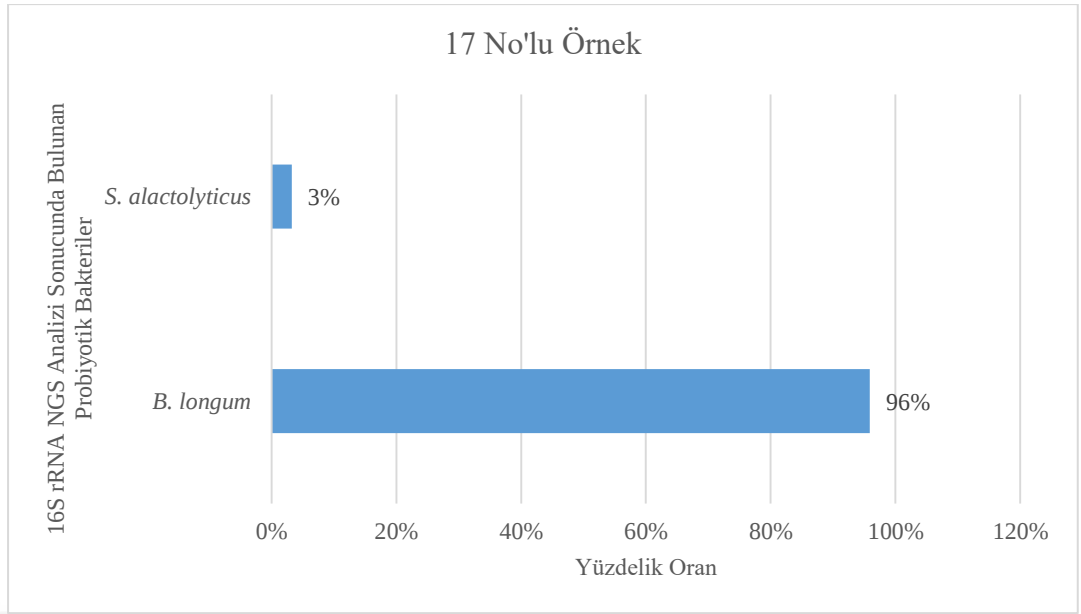
Şekil 16. On dört No'lu Örnekteki 16S rRNA NGS ile Belirlenen Probiyotik Bakteri Dağılımı (%)



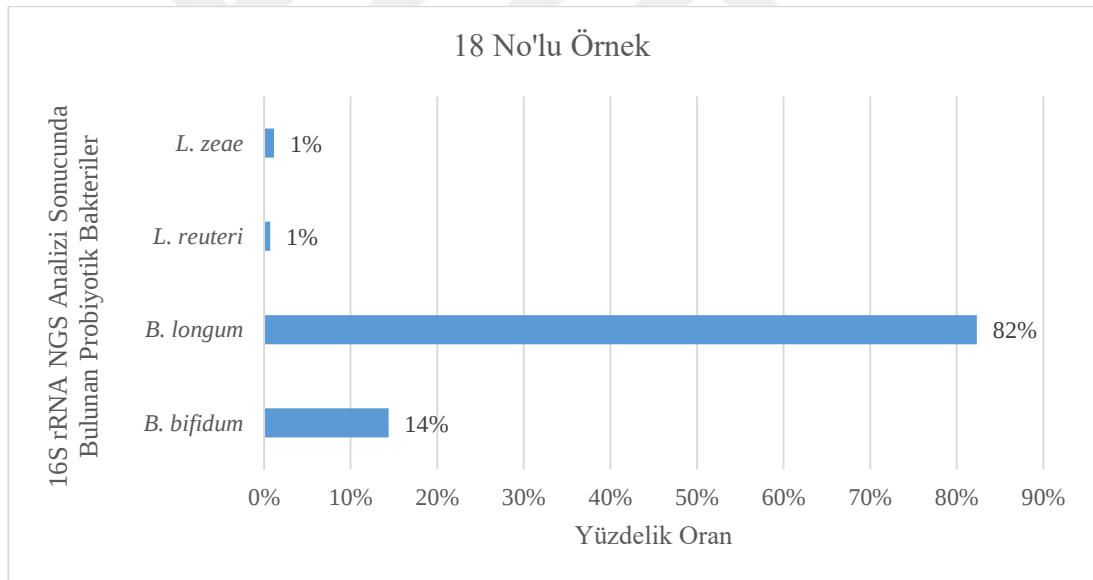
Şekil 17. On beş No'lu Örnekteki 16S rRNA NGS ile Belirlenen Probiyotik Bakteri Dağılımı (%)



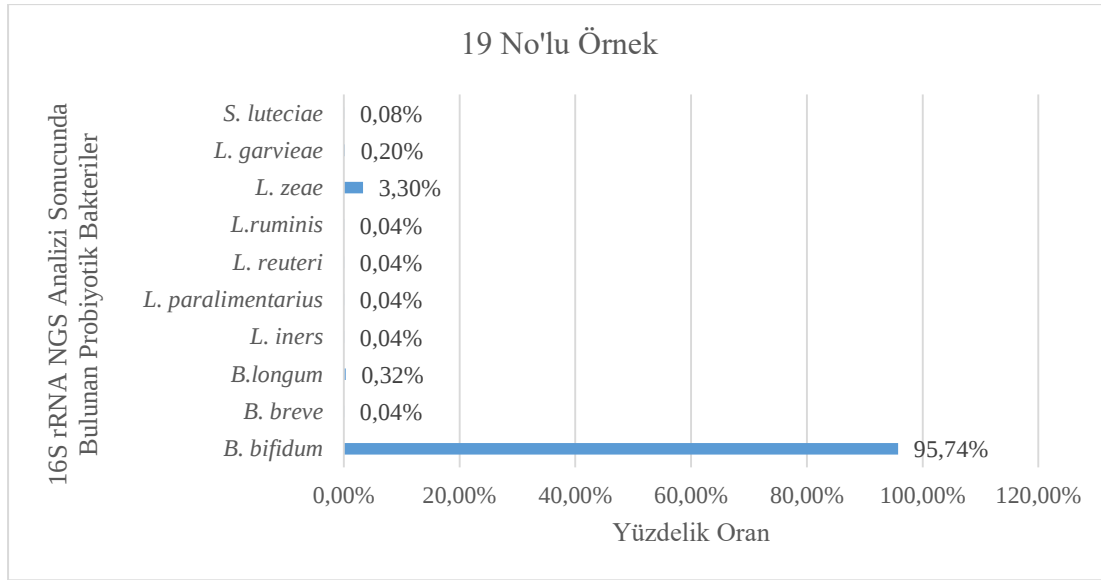
Şekil 18. On altı No'lu Örnekteki 16S rRNA NGS ile Belirlenen Probiyotik Bakteri Dağılımı (%)



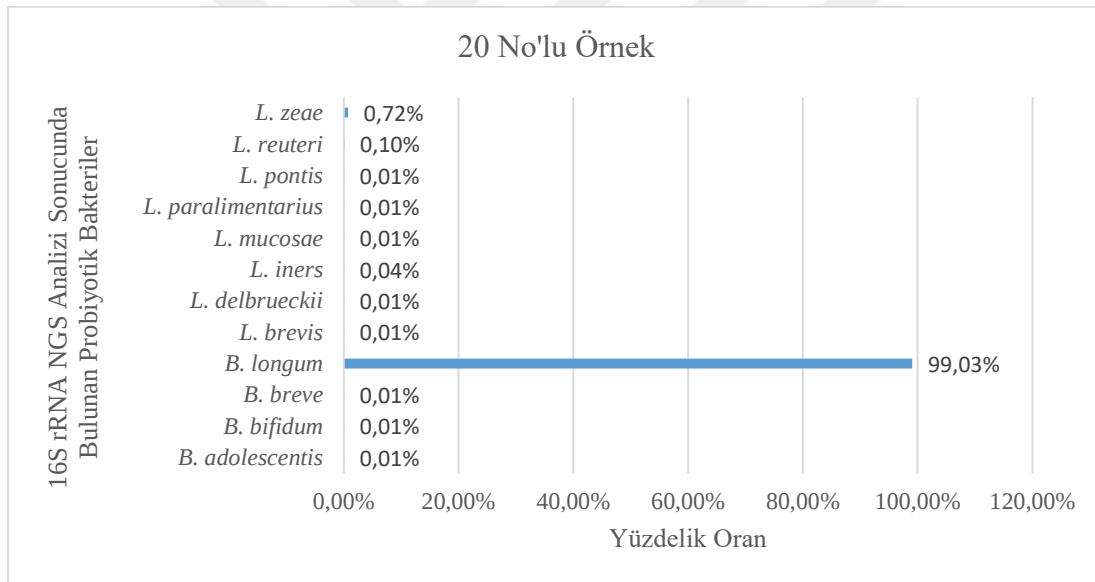
Şekil 19. On yedi No'lu Örnekteki 16S rRNA NGS ile Belirlenen Probiyotik Bakteri Dağılımı (%)



Şekil 20. On sekiz No'lu Örnekteki 16S rRNA NGS ile Belirlenen Probiyotik Bakteri Dağılımı (%)



Şekil 21. On dokuz No'lu Örnekteki 16S rRNA NGS ile Belirlenen Probiyotik Bakteri Dağılımı (%)



Şekil 22. Yirmi No'lu Örnekteki 16S rRNA NGS ile Belirlenen Probiyotik Bakteri Dağılımı (%)

## IX. TARTIŞMA

Ticari probiyotik ürünlerinin üretiminde *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Pediococcus* ve *Lactococcus* gibi çeşitli bakteri türlerine ait suşlar kullanılır. Bu ticari probiyotik ürünler genellikle tablet, poşet tozu ve kapsül formunda piyasada bulunur. Probiyotikler günümüzde yaygın olarak kullanılmakta olup, dünya çapında birçok üretici firma ve ürün bulunmaktadır. Tedarikçiler, ürün etiketlerinde mikrobiyal içerikleri, KOB, üretim ve son kullanma tarihini belirtirler.

Probiyotik ürünlerin içeriği ciddi güvenlik endişeleri oluşturmaktadır. Ancak, bu konuda ortak ve net bir uluslararası mevzuat bulunmamaktadır. Önceki çalışmalar, test edilen ürünlerin çoğunun uluslararası yönergelere uygun olmadığını göstermiştir. Son zamanlarda yapılan çeşitli çalışmalar, farklı ülkelerde satılan ticari probiyotik ürünlerin mikrobiyal canlılığındaki ve etiketli içeriklerindeki yanlışlıklara dikkat çekmektedir.

ABD'de probiyotik ürün içeriklerinin mikrobiyolojik araştırması ile ilgili yapılan bir çalışmada, 13 üründen yalnızca dördünün etiket iddialarına uygun olduğu bulunmuştur (Drago ve ark., 2010). Başka bir çalışmada, Avrupa pazarında satılan toplam 24 üründen 10'unda etiketli bakterilerin canlılığında yanlışlık olduğu belirlenmiştir (Toscano ve ark., 2013). Bunun yanı sıra, çeşitli diğer araştırmalar, probiyotik ürünlerde bulunan mikrobiyal türlerin göreceli bolluğunu araştırmak için seçici kültürleme ile birleştirilmiş metagenomik dizilemeyi analizin önemli bir parçası olarak benimsemiştir. Bu çalışmalar, mikrobiyal içeriklerin etiket yanlışlıklarını ve canlı hücre sayılarındaki tutarsızlıkları belirlemiş ve vurgulamıştır (Lugli ve ark., 2019; Patro ve ark., 2016; Morovic ve ark., 2016).

## A. Probiyotik ve Diğer Mikroorganizmaların Koloni Sayımı

Probiyotik kültürlerin etkililiği ve sağlık yararlarını sağlamak için koloni oluşturan birimlerin (KOB) doz başına minimum sayısını dikkate almak son derece önemlidir. Uluslararası Bilimsel Probiyotikler ve Prebiyotikler Derneği (ISAPP), bir probiyotik hazırlığın doz başına belirli bir minimum KOB sayısına sahip olması gerektiğini önermiştir. Doz-etki ilişkisi üzerine bir çalışma olmamasına rağmen, Kanada Doğal Sağlık Ürünleri Müdürlüğü şu anda reçeteli probiyotikler için 5 gün boyunca her gün  $5 \times 10^9$  KOB dozunu önermektedir (Szajewska ve ark., 2006). Ayrıca, *Lactobacillus*'un bağırsaklarda hayatta kalabilmesi ve optimal bir rol oynaması için barsaklarda standart miktarda  $10^8$  KOB/ml olması gerektiği belirtilmiştir (Nawangsih ve ark., 2021).

Whorwell ve arkadaşlarına (2006) göre *B. longum* subsp. *infantis* 35624 probiyotiğinin üç farklı dozu ( $10^6$ ,  $10^8$  ve  $10^{10}$  KOB) test edilmiştir. İlginç bir şekilde,  $10^8$  KOB dozu etkili bulunurken, diğer iki doz etkili olmamıştır. Bu durum, en yüksek dozu içeren kapsüllerin çözünmemesi nedeniyle oluşmuş ve bu yüzden sadece diğer iki dozun sonuçları değerlendirilebilmiştir.

Dunlap ve arkadaşlarına (2009) göre, pediatrikte akut gastroenterit için probiyotik dozajına ilişkin mevcut öneriler, günlük  $10^9$  ila  $10^{11}$  KOB aralığında olmasını önermektedir.

Maria ve arkadaşlarına (2022) göre, liyofilize kapsül probiyotik takviyesi, her biri  $10^9$  KOB içeren *Lactobacillus plantarum* A87, *Lactobacillus rhamnosus*, *B. bifidum* A218 ve *B. longum* A101 içermektedir. Bunun anlamı her kapsülde toplamda 4 milyar KOB bulunmasıdır.

Durazzo ve arkadaşlarının (2020) nano besin destekleri hakkında bilgi sunan çalışmasında etkili bir probiyotik dozunun genellikle  $>10^6$ – $10^8$  KOB/g veya  $> 10^8$ – $10^{10}$  KOB/g canlı probiyotik bakteri içermesi gerektiği belirtilmiştir. Probiyotik bakteri içeriğinde genellikle Gram-pozitif bakterilerden *Streptococcus*, *Bacillus*, *Lactobacillus*, *Enterococcus* ve *Pediococcus* bulunduğunu ifade etmiştir. Bunun yanı sıra, probiyotikler *S. cerevisiae* ve *Kluyveromyces* gibi mantar ve maya türlerini de içerebileceğini belirtmektedir.

Belirli mikroorganizmalar bağlamında, sütte *L. rhamnosus*'nun uzun süreli tüketiminin çocuklarda diş çürümesi ve çürük riski üzerindeki etkisini inceleyen

bir çalışmada, mutans streptokok sayısı  $10^5$  KOB/ml veya daha yüksek olarak sınıflandırıldı (Näse ve ark., 2001). Ayrıca, ticari probiyotik yoğurtlardan ve dondurulmuş yoğurt başlangıç kültürlerinden *Bifidobacterium* Spp., *L. acidophilus* ve başlangıç kültürlerinin sayımını içeren bir çalışma, *Lactobacillus bulgaricus* koloni sayılarının 5 log KOB/g'nin altında olduğunu bildirilmiştir (Demirci, 2022).

Sumalapao ve arkadaşlarının (2017) araştırması, ticari bir fermente süt içeceğinde *L. casei* Shirota suşunun soğuk depolama sırasında canlılık kinetiğini tartışmaktadır. Çalışma *L. casei* üzerine odaklanmakla birlikte, ticari bir ürünlerdeki probiyotik suşlarının canlılık dinamikleri hakkında değerli bilgiler sunmaktadır. Soğuk depolama sırasında *L. casei* Shirota suşunun canlı sayıları  $3.73 \times 10^8$  koloni oluşturan birim/ml (KOB/ml) seviyesinden  $2.70 \times 10^8$  KOB/ml seviyesine düşmüş ve bu düşüş ikinci dereceden kinetik bir ilişki göstermiştir. Çalışma, probiyotikler için önerilen terapötik doz aralığında canlı sayıları korumanın önemini vurgulamakta ve kabul edilebilir seviyelerin  $10^6$  ile  $10^8$  KOB/ml arasında değiştiğini belirtmektedir. *Bifidobacterium* Spp.'yi özel olarak belirtmese de liyofilizasyon yoluyla mikroenkapsüle edilen probiyotik suşları için canlı koloni sayısı değerleri hakkında ilgili bilgiler sunmaktadır. Probiyotik suşlarının mikroenkapsülasyonu bağlamında *Bifidobacterium* Spp. için canlı koloni sayısı değerlerine ilişkin spesifik verileri bulmak için daha fazla araştırma gerekebilir.

Rodrigues ve arkadaşlarına (2020) göre, enkapsülant olarak fruktooligosakkarit içeren mikro kapsüller, 8.74 log KOB/g laktik asit bakterisi ve 8.75 log KOB/g *Enterokok* ile en yüksek bakteri sayısını göstermiştir. Bu veriler, *Lactobacillus* ve *Lactococcus* gibi probiyotik mikroorganizmalar için probiyotik diyet takviyesinde spesifik canlı koloni sayısı değerlerini sağlamaktadır ve kullanıcının görevi ile uyumludur.

Fiore ve arkadaşlarının (2020) çalışması, Kanada ve İtalya'daki ulusal kamu otoritelerinin probiyotiklerin genel sağlık yararları sağlayan minimum canlı mikroorganizma sayısının porsiyon başına en az  $10^9$  KOB olması gerektiğini öneren kılavuzlar sağlar. Bu referans, probiyotikler için minimum KOB sayısı için bir standart belirler.

## B. 16s rRNA NGS Analizi

Probiyotik uygulamalar bağlamında, NGS, ticari probiyotiklerdeki mikrobiyal toplulukları değerlendirmede önemli bir rol oynamış, mikrobiyal tür kompozisyonu hakkında bilgiler sağlamış ve halk sağlığı açısından önemli bakterileri tanımlamıştır (Joseph ve ark., 2021).

NGS teknolojisi, mikrobiyal genetiğin kapsamlı analizine olanak tanıyarak, geleneksel yöntemlerle kültürlenmesi zor olan probiyotik suşların tanımlanmasını sağlar (Yu ve ark., 2011). 16S ribozomal RNA genini dizileyerek NGS, probiyotik türlerin ve suşların kesin olarak tanımlanmasını kolaylaştırır ve probiyotik ürünlerdeki güvenlikleri ve uygulanabilirlikleri hakkında daha derin bir anlayış sunar (Holzapfel ve ark., 2001). Bu yüksek verimli yaklaşım, geleneksel fermente süt ürünlerindeki laktik asit bakterilerinin çeşitliliğinin incelenmesinde etkili olmuş ve probiyotik mikroorganizmaları karakterize etmede NGS'nin gücünü göstermiştir (Yu ve ark., 2011).

Bunun aksine, probiyotik tanımlama için kullanılan geleneksel yöntemler genellikle tür düzeyinde çözünürlük sağlayamayan Gram boyama ve katalaz aktivitesi gibi fenotipik özelliklere dayanmaktadır (Asenjo ve ark., 2016). Bu yöntemler probiyotik suşların izole edilmesinde ve karakterize edilmesinde değerli olsa da NGS teknolojilerinin sunduğu hassasiyet ve ölçeklenebilirlikten yoksun olabilirler. Örneğin, *Lactobacillus kunkeei* gibi probiyotik suşların genom dizilimi, metabolik yetenekleri ve fermantasyon tercihleri hakkında değerli bilgiler ortaya koymuş ve probiyotik araştırmalarda genomun önemini vurgulamıştır (Lee ve ark., 2009). Ayrıca, probiyotik ürünlerin kalitesini ve etkinliğini sağlamak için probiyotik izolatların güvenlik değerlendirmeleri esastır. Çalışmalar, seçici kültürleme ile birleştirilen NGS'nin ticari probiyotiklerin canlılığını ve bileşimini doğrulayabileceğini ve kalite kontrolüne kapsamlı bir yaklaşım sunabileceğini göstermiştir (Sionek ve ark., 2023).

Ullah ve arkadaşlarının (2019) Çin pazarında satılan 17 ticari probiyotik üründe mikrobiyal canlılığı, bileşimi ve olası kontaminasyonu incelemek için seçici kültürlemeyi yeni nesil dizileme ile birleştirdikleri çalışmada, probiyotik ürün örnekleri Illumina HiSeq-2000 dizileme platformuna tabi tutulmuş ve şirket içinde geliştirilen biyoenformatik hattı tarafından kapsamlı bir şekilde analiz

edilmiştir. Test edilen bazı probiyotik ürünlerin hem canlılığı hem de bileşimi yanlış belirlenmiş, ancak analiz sırasında hiçbir kirletici madde tespit edilmemiştir. Toplamda, beş probiyotik ürünün (%29,41) kültür ortamında yanlış veya düşük KOB sayımları bulunmuş, dört probiyotik ürünün (%23,52) ise yanlış etiketli olduğu belirlenmiştir.

Bir numaralı örnekte belirlenen ve ürün etiketinde belirtilmeyen *Streptococcus* cinsinin bir üyesi olan *S.alactolyticus* tavuk, domuz, köpek, ördek, güvercin ve balık gibi hayvanlarda komensal bağırsak mikrobiyotasının baskın kültürlenebilir laktik asit bakteri türüdür. 2021 yılında yapılan bir araştırma ile, *S. alactolyticus* FGM suşunun gelecekte hayvan yeminde uygulamanın güvenliğini ve yararlarını göstermek için, potansiyel probiyotik adayı olarak genomu dizilenmiş, güvenlik yönleri ve probiyotik özellik analizine tabi tutulmuştur ve probiyotik potansiyelinin varlığı ve olumsuz etkilerin olmadığını gösterilmiştir (Zhang ve ark., 2021b). *S.alactolyticus*'un neden olduğu enfeksiyonlar, insanlarda çok nadirdir ancak literatürde endokarditis vakası bildirilmiştir (Cekmen ve ark., 2019).

Bu çalışmada beş no'lu örnekte yüksek miktarda belirlenen *F. prausnitzii* (%57,83) ürün etiketinde bildirilmemiştir. *F. prausnitzii*, insan bağırsağında yüksek oranda bulunan, mutlak anaerobik, aşırı oksijene duyarlı, Gram pozitif, basil şeklinde, hareketsiz ve spor oluşturmayan bir bakteri türüdür (Duncan ve ark. 2002). Tür, bütirat üreticisidir ve anti-inflamatuvar aktivitesi iyi bilinmektedir. Anaerobik kültürleme ve yeni nesil dizileme tekniklerindeki gelişmeler sayesinde, cinsin karmaşıklığı giderek daha fazla çözülmüştür. *Faecalibacterium* türlerinin bolluğunun çok çeşitli hastalıklar ve bozukluklar boyunca değiştiği bulunmuştur. Bu bakteinin azalması, obezite ve kronik inflamasyonun gelişimi ile ilişkilidir. *F. prausnitzii* yeni nesil probiyotik (NGP) olarak önerilmiş ancak EFSA (Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi) tarafından henüz QPS listesine dahil edilmemiştir (Bai ve ark., 2023).

Kruasuwan ve arkadaşlarının (2023) yaptıkları Nanopore Sekanslama, Ticari Probiyotik Yem Takviyelerinin Bileşimsel Kalitesini Ortaya Çıkarılması adlı çalışmada iki ticari hayvan probiyotik ürünündeki mikrobiyal kompozisyonları araştırmak için uzun okuma nanopore dizileme teknolojisini kullanılmıştır. Hem sıvı hem de katı formdaki bu yem katkı ürünleri analiz

edilmiştir. Çalışmada tam uzunlukta 16S rRNA ampliconları ve uzun okuma metagenomik DNA kütüphaneleri kullanılmıştır ve ardından NanoCLUST ve Kraken2 araçları kullanılarak taksonomik analiz yapılması sonucunda bir üründe *Lactobacillus paracasei* ve *L. plantarum* baskın iken üretici tarafından listelenen *L. acidophilus* tespit edilmediği görülmektedir. Liste dışı bakteriler, örneğin *Bacillus velezensis*, önemli miktarlarda bulunmaktadır. İkinci üründe ise *B. subtilis* ve *B. coagulans* gibi bakteriler tespit edilebilirken *S. cerevisiae* mayası tespit edilememiştir ve liste dışı türler, örneğin *B. velezensis*, yüksek oranlarda mevcutluğu gözlenmektedir. Bu çalışmaya göre üretim sırasında yanlış tanımlama veya kontaminasyondan kaynaklanabilecek bazı listelenmeyen bakterilerin yüksek prevalansını anlamak için daha fazla araştırma gerekmektedir.

Lugli ve arkadaşlarının (2022) yaptıkları Probiotik Kimlik Kartı: Probiyotik Takviyeleri Araştırmak İçin Yeni Bir “Probiyogenomik” Yaklaşım adlı çalışmada İtalya pazarından rastgele seçilen 12 toz bazlı probiyotik takviye incelenmiştir. 5 tane üründe belirtilen mikrobiyal kompozisyon ve canlılıkla ilgili çeşitli tutarsızlıkları ortaya koymuştur. Ayrıca mikrobiyal kompozisyonun ayrıştırılması sonucunda ürünlerin bazıları iddia edilen bakteriyel kompozisyonu doğrularken, bazıları ise belirtilen türlerden yoksun olduğu veya beklenmedik bakteriler içerdiği belirtilmiştir. Bazı ürünlerin bu çalışmadakine benzer şekilde daha düşük canlı bakteri hücreleri içerdiğini gösterilmektedir.

Ansari ve arkadaşlarının (2019) “*Bacillus*, *Lactobacillus* ve *Saccharomyces* Türlerinin Ticari Probiyotik İzolatlarının Moleküler Tanımlama ve Fenotipik Profil Çıkarma ile Gösterilen Suş Düzeyinde Çeşitliliği” adlı çalışmada incelenen probiyotik ürünlerde aynı tür adıyla etiketlenen ürünlerin genellikle farklı suşlar içerdiği bulunduğu belirtilmektedir. Bu, ticari olarak mevcut probiyotikler arasında önemli bir suş düzeyinde çeşitliliğin olduğunu ve bunun işlevsel özellikler ve sağlık yararlarında farklılıklara yol açabileceğini göstermektedir. Ürünlerde ortalama olarak yalnızca %49'u etiketlerinde belirli suş bilgisi sağlanabildiği ve bu detaylı etiketleme eksikliğinin, tüketicilerin ve sağlık sağlayıcılarının probiyotiklerin belirli sağlık endikasyonları için klinik öneminin değerlendirmesini zorlaştırdığını belirtmektedir.

Coeuret ve ark., (2004), Avrupa'da satışa sunulan probiyotik yem veya gıda ürünlerindeki *Lactobacillus* suşlarının sayıları ve türlerini ürün etiketlerinde

belirtilen bilgilerle karşılaştırdıkları çalışmada, cins ve tür açısından etiketlemenin doğruluğunu değerlendirmek için polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) tabanlı yöntemler ve suşları tanımlamak için darbeli alan jel elektroforezi (PFGE) kullanmışlardır. Beş ürünün *Lactobasil* sayıları açısından, üç ürünün ise tür açısından yanlış etiketlendiğini, dört üründe belirtilen suşlar tespit edilemediğini bildirmişlerdir.

NGS teknolojilerin kısıtlılığı ise Laktik asit bakterilerinin sınıflandırılmasında sık olan olan değişiklikler ve ortak DNA homolojileri ile ilgili olabilir. *Lactobacillus casei* subsp. *casei*'nin (ATCC 393) tip suşu, diğer *L. casei* subsp. *casei* suşları (%8 ila 46) ve *L. paracasei* suşlarıyla (%30 ila 50) düşük seviyelerde DNA homolojisi gösterir, ancak orijinal “ *Lactobacterium zeae*” Kuznetsov 1959 tip suşu olan *L. rhamnosus* ATCC 15820 ile %80 düzeyinde DNA benzerliği gösterir. *L. casei* subsp. *casei* ATCC 393 T *L. rhamnosus* ATCC 15820'nin *L. zeae* nom. rev. (tip suşu, ATCC 15820) üyeleri olarak yeniden sınıflandırılması gerektiği araştırmacılar tarafından önerilmiştir (Dicks ve ark., 1996).

Çalışmamıza dahil edilen ürünlerin tamamı etiket açıklamalarıyla örtüşmüyordu. Ana uygunsuzluklar, canlı bakteri içeriğinin daha düşük olması ve etikette beyan edilen türlerdeki uyumsuzluk olarak belirlenmiştir; bu durum 20 ürünün tamamında gözlemlenmiştir. Bir üründe doz başına günlük minimum  $10^7$ - $10^9$  canlı bakteriden az hücre içerdiği belirlenmiştir ki, bu ürün probiyotik olarak kabul edilemez.

Bir üründe *Salmonella enterica*, *Enterobacter cowanii*, *Klebsiella oxytoca* ve *Serratia marcescens* tespit edilmiştir. Bu durum ciddi gıda güvenliği ve halk sağlığı riskine; probiyotik ürün üreten firmaların sanitasyon ve üretim şartlarındaki iyileştirmeye ve ürünlerin piyasa denetimlerine ihtiyacı olan vurgulamaktadır. Hayvanları, insanları ve bitkileri kolonize edebilen ve çevrede de bulunabilen *S. enterica*, küresel insan ve hayvan sağlığı için önemli bir endişe kaynağıdır. Bu bakteri, insanlarda morbidite ve mortalitenin önde gelen nedenlerinden biri olan zoonotik bir patojendir (Knodler ve Elfenbein, 2019).

*Salmonella*'nın çapraz bulaşma ve yeniden bulaşma olayları, kötü sanitasyon uygulamaları, yetersiz ekipman tasarımı ve içeriklerin yetersiz

kontrolü gibi faktörlerle bağlantılıdır. *Salmonella* Spp., kuru mamalarda ve yemlerde uzun süreler boyunca canlı kalma kapasitesine sahiptir. Kötü sanitasyon uygulamaları, standart altı tesisler, uygunsuz ekipman tasarımı ve bakımı, düşük nemli gıdalarda kontaminasyonunun ana nedenleri olarak sayılmıştır. *Salmonella*, gıda ile temas eden yüzeylerde canlı kalabilir ve bu durum gıda işleyicileri, gıda ürünleri ve gıda ile temas eden yüzeyler arasında çapraz bulaşma riskini artırır. Gıda işçilerinin, gıda kaynaklı salgınlardaki rolü bilinmektedir. *Salmonella* gibi enterik patojenlerin gıda işleme ve hazırlama ortamında insanlar aracılığıyla bulaşması ve hayatta kalması önemli bir risk oluşturmaktadır (Carrasco ve ark., 2012; Hiramatsu ve ark., 2005).

*Enterobacter*, *Klebsiella* ve *Serratia*, çok çeşitli enfeksiyonlardan sorumlu olan belirgin ve fırsatçı patojenleri içeren koliform basillerdendir. Gram-negatif basiller olan bu bakteriler, insan ve hayvanların normal bağırsak florasının üyeleridir ve çeşitli çevresel kaynaklardan izole edilebilirler. Gıdalarda ve doğal çevrede bulunan *Klebsiella* ve *Serratia* cinsi bakteriler, insan sağlığı açısından tehlike oluşturabilir. Bu bakteri cinsleri, *Enterobacteriaceae* ailesine ait fırsatçı patojenlerdir. Koliform bakteriler, gıdalarda ve işletmelerde hijyen ve sanitasyon yetersizliği indeksi olarak kullanılırlar (Brisse ve ark., 2006).

*E. cowanii*, *Enterobacteriaceae* ailesinde bulunan, Gram-negatif, fakültatif anaerobik, çubuk şeklinde, spor oluşturmeyen, idrar, balgam, kan ve irin gibi klinik örneklerden izole edilmiş bir fırsatçı patojendir (Mardaneh ve ark., 2014).

Toprak, su ve gıda dahil olmak üzere çeşitli ortamlarda bulunabilen Gram-negatif bir bakteri olan *S. marcescens*, gıda ürünlerini bozan ve tüketicilerde enfeksiyon ve hastalığa neden olabilen biyofilmler ve pigmentler oluşturabilen gıda bakteriyel kontaminantlarından biridir. Genellikle kötü sanitasyon ve hijyen uygulamalarının bir göstergesi olarak kabul edilir. *S. marcescens*'in 10-100 kadar yutulması sağlıklı bireylerde gastroenterite neden olabilir. *S. marcescens*, değişen fizikokimyasal koşullara kolayca uyum sağlayan fırsatçı bir patojendir ve dezenfektan solüsyonları gibi çeşitli ortamlarda hayatta kalma ve gelişme yeteneği gösterir. Bu nedenle, sıklıkla idrar yolu, solunum yolu, yumuşak doku, göz ve septik enfeksiyonlardan izole edilen önemli bir hastane patojenidir (Khayat ve ark., 2023).

*K. oxytoca*, solunum ve idrar yolu enfeksiyonları, karaciğer apseleri ve sepsisemi dahil olmak üzere çeşitli halk sağlığı sorunlarından sorumludur. *K. oxytoca*, doğada yaygın olarak bulunur ve sıklıkla gıdalarda, kanalizasyonda, toprakta, bitkilerde ve hayvanların mide-bağırsak sistemlerinde tespit edilir (Brisse ve ark., 2006). *Klebsiella* Spp.'nin gıda kaynaklı patojen olarak potansiyel rolü konusunda endişeler artmaktadır (Crippa ve ark., 2023).

Çelik Doğan ve arkadaşlarının (2023) yaptığı çalışmada probiyotik ürünlerde hedef türleri NGS ile hızlı ve doğru bir şekilde tanımlar. Yüksek Verimli Dizileme (HTS) ve Shotgun Metagenomik Dizileme (SMS) gibi hedefsiz yöntemler, tüm mevcut türleri tanımlayabilir, ancak daha pahalı ve karmaşıktır. Bu çalışmada, hedefli yöntemler tüm ilan edilen türlerin varlığını doğruladı. V5–V8 bölgesi tabanlı HTS yalnızca hedef türleri, V3–V4 bölgesi tabanlı HTS ise hedef ve az miktarda ilan edilmeyen türleri tespit etti. SMS ise ilan edilen tüm suşların genomlarını tanımladı. Sonuç olarak, probiyotik ürünlerin kalite güvencesi için hem hedefli hem de hedefsiz yöntemlerin bir kombinasyonu önerilmektedir.

Shehata ve Newmaster' ın (2023) yaptığı çalışmada 55 örneği (beş çoklu suşlu bitmiş ürün ve 50 tek suşlu ham madde) kullanarak 100 probiyotik suşunu moleküler yöntemlerle incelemiştir. Hedefe yönelik PCR, apikon tabanlı Yüksek HTS ve SMS yöntemleriyle gerçekleştirilen analizler sonucunda, hedefli PCR yöntemleri tüm suşların kimliklerini doğrulamış; amplicon tabanlı HTS verileri, örneklerin %99 'unun hedef türlere karşılık geldiğini, V3–V4 bölgesine göre ise %95–%97'sinin hedef türlerle eşleştiğini göstermiştir. *Proteus* türlerinin kültürle elde edilmesi başarılı olamamış, ancak SMS verileri bitmiş ürünlerde 10 hedef suşun genomlarına eşleşme göstermiştir. Hedefli yöntemler hızlı ve doğru kimlik doğrulama sağlarken, non-targeted yöntemler daha geniş bir tür tanımlama kapasitesine sahip olmakla birlikte, karmaşıklık, yüksek maliyet ve uzun sonuç süresi gibi dezavantajlar taşımaktadır.



## X.SONUÇ

Sonuç olarak çalışmamızda analiz edilen ürünler için, ürün etiketleri içeriklerinde belirtilen probiyotiklerin hem canlı bakteri sayıları ve hem de içerdiği probiyotik bakteri türlerinin uyumlu olmadıkları görülmüştür. İncelenen hiçbir üründe belirtilen türlerin tamamı tespit edilememiştir. Probiyotiklerin güvenliği ve işlevselliği içerdiği mikroorganizma sayısı ve bakteri türlerine bağlı olduğundan, bu sonuçlar ticari probiyotik ürünlerde bulunan mikroorganizmaların hem sayı hem de tür bazında kontrol edilmesinin gerekliliğini göstermiştir. Bu konuda daha piyasadan daha çok örnek alınarak yapılacak ayrıntılı bilimsel çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Ayrıca bir üründe *S. enterica*, *E. cowanii*, *K. oxytoca* ve *S. marcescens* identifiye edilmiş olması piyasada satılan probiyotik ürünlerin gıda güvenliği ve halk sağlığı açısından da çok riskli olabileceğine işaret etmektedir.

Bu çalışma ile probiyotik takviyelerin geliştirilmesi ve kalite kontrol süreçlerinde klasik mikrobiyolojik yöntemlerin yanı sıra bu süreçlerde NGS analizlerinin önemini vurgulamaktadır.



## XI. KAYNAKÇA

### KİTAPLAR

- ADJEİ-FREMAH, S., EKWEMALOR, K., WORKU, M., & IBRAHİM, S. (2018). “Probiotics and Ruminant Health”, **Probiotics-Current Knowledge and Future Prospects**, London, IntechOpen, 1.Baskı.
- BRISSE, S., GRIMONT, F., & GRIMONT, P. A. (2006).” **The genus Klebsiella. The Prokaryotes**,” NewYork, Springer, 1.Baskı.
- DUNNE, C. P., MURPHY, L., FLYNN, S., O'MAHONY, L., O'HALLORAN, S., FEENEY, M., MORRISSEY, D., THORNTON G., FITZGERALD G., DALY C., KIELY, M., QUIGLEY, E. M. M., O'SULLIVAN, C., G., SHANAHAN F., & COLLINS, J. (1999).” Probiotics: from myth to reality. Demonstration of functionality in animal models of disease and in human clinical trials.” **Lactic Acid Bacteria: Genetics, Metabolism and Applications**, NewYork, Springer, 1.Baskı.
- FORSTER, D., ADAMTEY, N., MESSMER, M., PFIFFNER, L., BAKER, B., HUBER, B., AND NIGGLİ, U. (2013).” Organic Agriculture—Driving Innovations in Crop Research.” **Agricultural Sustainability**, Elsevier, 1.Baskı
- FREYER, B. & BINGEN, J. (2021).” Resetting The African Smallholder Farming System: Potentials To Cope With Climate Change.” **African Handbook of Climate Change Adaptation**, New York, Springer, 1.Baskı
- GHAZANFAR, S., RIAZ, A., ALI, G., NAVEED, S., ARIF, I., SIDRA I., RIAZ, N., & MANZOOR, K. N. (2019).” Common Methods To Understand And Develop Indigenous Probiotics Yeast For Ruminant.” **Yeasts In Biotechnology**, London, IntechOpen, 1.Baskı.

- GRAZIOTTIN, A., & MASEROLI, E. (2022).” Sexual Pain Disorders, Vestibulodynia, And Recurrent Cystitis: The Evil Trio.” **Practical Clinical Andrology**, New York, Springer, 1.Baskı.
- HELMY, Q., KARDENA, E., & GUSTIANI, S. (2020). “Probiotics and Bioremediation.”, **Microorganisms**, London, IntechOpen, 1.Baskı.
- KHALIGHI, A. R., BEHDANI, R., & KOUHESTANI, S. (2016).” Probiotics: A Comprehensive Review of Their Classification, Mode of Action and Role in Human Nutrition”, **Probiotics and Prebiotics in Human Nutrition and Health**, London, London, IntechOpen, 1.Baskı.
- KOSGEY, J. C., MWANIKI, M. W., & ZHANG, F. (2022).” Probiotics and Postbiotics from Food to Health: Antimicrobial Experimental Confirmation”, **Prebiotics and Probiotics- From Food to Health**, London, London, IntechOpen, 1.Baskı.
- LAKHTIN, M. V., LAKHTIN, V. M., ALESHKIN, V. A., & AFANASIEV, S. S. (2019).” Metabolite Multiprobiotic Formulas for Microbial Health”, **Oral Health by Using Probiotic Products**, London, IntechOpen, 1.Baskı.
- LI, P., & GU, Q. (2018).” Antimicrobial Effects of Probiotics and Novel Probiotic-Based Approaches for Infectious Diseases”, **Probiotics- Current Knowledge and Future Prospects**, London, London, IntechOpen, 1.Baskı.
- LU, C., CHEN, S., & HUNG, S. (2020).” Application of Novel Technology in Aquaculture”, Emerging Technologies, **Environment and Research for Sustainable Aquaculture**, London, IntechOpen, 1.Baskı.
- MAĐAR, M., KAČÍROVÁ, J., STYKOVÁ, E., MAĐAROVÁ, M., & NEMCOVÁ, R. (2020).” Methods for Searching of Potential Beneficial Bacteria and Their Products in Dental Biofilm”, **Bacterial Biofilms**, London, IntechOpen, 1.Baskı.
- MOLERO, M. S. and BRÍNEZ, W. (2018).” Probiotics Consumption Increment Through the Use of Whey-Based Fermented Beverages”, **Probiotics- Current Knowledge and Future**, London, IntechOpen, 1.Baskı.

- NICOLÒ, M. S., GUGLIELMINO, S. P. P., & MADDOCK, J. (2012). "Public Health-Methodology", **Environmental and Systems Issues**, London, IntechOpen, 1.Bask1.
- O'FLAHERTY, S., GOH, Y. J., & KLAENHAMMER, T. R. (2009)." Genomics of Probiotic Bacteria", **Prebiotics and Probiotics Science and Technology**, New York, Springer, 1.Bask1
- ORMAN, M. A., HENRY, T. C., DECOSTE, C. J., & BRYNILDSEN, M. P. (2016)." Analyzing Persister Physiology with Fluorescence-Activated Cell Sorting", **Methods in Molecular Biology**, NewYork, Springer, 1.Bask1.
- RODOVALHO, V. D. R., RODRIGUES, D. L. N., JAN, G., LOIR, Y. L., AZEVEDO, V., & GUÉDON, É. (2022)." Propionibacterium Freudenreichii: General Characteristics and Probiotic Traits", **Prebiotics and Probiotics-From Food to Health**, London, IntechOpen, 1.Bask1.
- RODRIGUES, S., PINTO, I., NOGUEIRA, S., & ANTUNES, S. C. (2023)." Perspective Chapter: Daphnia Magna as a Potential Indicator of Reservoir Water Quality – Current Status and Perspectives Focused in Ecotoxicological Classes Regarding the Risk Prediction", **Environmental Sciences**. London, IntechOpen, 1.Bask1.
- SAYES, C., LEYTON, Y., & RIQUELME, C. (2018)." Probiotic Bacteria as an Healthy Alternative for Fish Aquaculture", **Antibiotic Use in Animals**, London, IntechOpen, 1.Bask1.
- SENTKOWSKA, A. (2020)." Chromatographic Analysis of Selenium Species", **Importance of Selenium in the Environment and Human Health**, London, IntechOpen, 1.Bask1.
- SHERWANI, K. F. and BUKHARI, D. A. A. (2022)." Probiotics in Processed Dairy Products and Their Role in Gut Microbiota Health", **Effect of Microbiota on Health and Disease**, London, IntechOpen, 1.Bask1.
- SKOUFOGIANNI, E., SOLOMOU, A. D., MOLLA, A., & MARTINOS, K. (2016)." Organic Farming as an Essential Tool of the Multifunctional

Agriculture”, **Organic Farming- A Promising Way of Food Production**, London, IntechOpen, 1.Bask1.

TELLO, M., VALDES, N., VARGAS, R., ROJAS, J., PARRA, M., GAJARDO, G., & GONZALEZ, A. (2020). “Application of Metagenomics to Chilean Aquaculture”, **Metagenomics-Basics, Methods and Applications**, London, IntechOpen, 1.Bask1.

THUMU, S. C. R., PAPANNA, S. R., & DEVI, S. M. (2023).” Perspective Chapter: Epigenetic Therapy – The Future Treatment for Cancer”, **DNA Replication- Epigenetic Mechanisms and Gene Therapy Applications**, London, IntechOpen, 1.Bask1.

VAINSHTEIN, M. (2014). “Probiotics for environmental sanitation: goals and examples”, **Current Environmental Issues and Challenges**, New York, Springer, 1.Bask1

XU, Z., PETERS, B. M., LI, B., LI, L., & SHIRTLUFF, M. E. (2016).” Staphylococcal Food Poisoning and Novel Perspectives in Food Safety”, **Significance, Prevention and Control of Food Related Diseases**, London, IntechOpen, 1.Bask1.

YASMIN, N., KAUR, K., & SOOD, K. (2022).” Probiotics from Fermented Fish”, **Prebiotics and Probiotics- From Food to Health**, London, IntechOpen, 1.Bask1.

YU, G., WEI, R., & SHEN, Q. (2016).” Compost Process and Organic Fertilizers Application in China”, **Organic Fertilizer- From Basic Concepts to Applied Outcomes**, London, IntechOpen, 1.Bask1.

## MAKALELER

ADNAN, M., PATEL, M., & HADI, S. (2017).” Functional and health promoting inherent attributes of *Enterococcus hirae* F2 as a novel probiotic isolated from the digestive tract of the freshwater fish *Catla catla*.” **PeerJ**, C. 15, S. 5, s. 1-25.

AFORIJIKU, S., FAKOREDE, C. O., & ADEDIRAN, A. (2021).” Strain-level identification of beneficial lactobacilli of dairy origin using 16S rRNA

- sequencing: a biotechnology approach.” **Microbiology Research Journal International**, C. 31, S. 2, s. 13-21.
- AGAMENNONE, V., KRUL, C., RIJKERS, G. T., & KORT, R. (2018).” A practical guide for probiotics applied to the case of antibiotic-Associated diarrhea in the Netherlands.” **BMC Gastroenterology**, C. 18, S. 103, s. 1-12.
- AGARBATI, A., CANONICO, L., MARINI, E., ZANNINI, E., & COMITINI, F. (2020).” Potential probiotic yeasts sourced from natural environmental and spontaneous Processed foods.” **Foods**, C. 9, S. 3, s. 287.
- AKÇELİK, M., AKÇELİK, N., ŞANLIBABA, P., & TEZEL, B. U. (2021). “Genetic modification and sequence analysis of probiotic microorganisms”, **Advances in Probiotics**, London, Elsevier.
- AKTAŞ, B., WOLFE, T. J. D., SAFDAR, N., DARIEN, B. J., & STEELE, J. L. (2016).” The impact of *Lactobacillus casei* on the composition of the cecal microbiota and innate immune system is strain specific.” **Plos One**, C. 11, S. 5, s. 1-15.
- ALAK, G., HİSAR A.Ş. (2012).” The effects of probiotics and prebiotics on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) intestinal flora.” **International Journal of Aquaculture**, C. 2, S., s. 11-14.
- AMALARADJOU, M. A. R. & BHUNIA, A. K. (2012).” Modern approaches in probiotics research to control foodborne pathogens.” **Advances in Food and Nutrition Research**, C. 67, s. 185-239.
- ANSARI, J. M., COLASACCO, C., EMMANOUIL, E., KOHLHEPP, S., & Harriott, O. (2019).” Strain-Level Diversity Of Commercial Probiotic Isolates Of *Bacillus*, *Lactobacillus*, And *Saccharomyces* Species Illustrated By Molecular Identification And Phenotypic Profiling.” **Plos One**, C. 4, S. 3, s. 1-19.
- ASENJO, F., OLMOS, A., HENRIQUEZ-PISKULICH, P., POLANCO, V., ALDEA, P., UGALDE, J. A., & TROMBERT, A. N. (2016).” Genome Sequencing And Analysis Of The First Complete Genome Of

- Lactobacillus Kunkeestrain Mp2, Anapis Melliferagut Isolate". **PeerJ**, C. 4, S. 1, s. 1-14.
- ATICI, S., SOYSAL, A., KARADENİZ CERİT, K., YILMAZ, Ş., AKSU, B., KIYAN, G., & BAKIR, M. (2017)." Catheter-related *Saccharomyces cerevisiae* fungemia following *Saccharomyces boulardii* probiotic treatment: in a child in intensive care unit and review of the literature." **Medical Mycology Case Reports**, C. 15, S. 1, s. 33-35.
- AYAZ, N. AND TÜRKMEN, B. M. (2019)." Yöresel Yiyeceklere Yönelik Gıda Güvenliği Algısı: Mersin Tantanisi Örneği." **Türk Turizm Araştırmaları Dergisi**, C. 3, S. 3, s. 199-219.
- AZAD, M. A. K., SARKER, M., LI, T., & YIN, J. (2018)." Probiotic Species In The Modulation Of Gut Microbiota: An Overview." **BioMed Research International**, C. 2018, S. 1, s. 1-8.
- BAI, Z., ZHANG, N., JIN, Y., CHEN, L., MAO, Y., SUN, L., FANG, F., LIU, Y., HAN, M., & LI, G. (2023)." Comprehensive Analysis Of 84 *Faecalibacterium prausnitzii* Strains Uncovers Their Genetic Diversity, Functional Characteristics, And Potential Risks." **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, C. 12, S.1, s. 1-13.
- BALLINI, A., SANTACROCE, L., CANTORE, S., BOTTALICO, L., DIPALMA, G., TOPI, S., SAINI, R., DE VITO, D., & INCHINGOLO, F. (2019)." Probiotics Efficacy On Oxidative Stress Values In Inflammatory Bowel Disease: A Randomized Double-Blinded Placebo-Controlled Pilot Study." **Endocrine, Metabolic & Immune Disorders- Drug Targets**, C. 1, S. 3, s. 373-381.
- BATISTA, T. M., MARQUES, E. T. A., FRANCO, G. R., & DOURADINHA, B. (2014)." Draft Genome Sequence Of The Probiotic Yeast *Saccharomyces cerevisiae* Var. Boulardii Strain ATCC MYA-796." **Genome Announcements**, C. 2, S. 6, s. 1-2.
- BEGUM, A. A., JAKARIA, D. M., ANISUZZAMAN, S., ISLAM, M., & MAHMUD, S. A. (2015)." Market Assessment And Product Evaluation of Probiotic Containing Dietary Supplements Available in

- Bangladesh Market.” **Journal of Pharmaceutics**, C. 2015, S. 1, s. 1-5.
- BEN-YACOV, O., GODNEVA, A., REIN, M., SHILO, S., KOLOBKOV, D., KOREN, N., COHEN DOLEV, N., TRAVINSKY SHMUL, T., WOLF, B. C., KOSOWER, N., SAGIV, K., LOTAN-POMPAN, M., ZMORA, N., WEINBERGER, A., ELINAV, E., & SEGAL, E. (2021).” Personalized Postprandial Glucose Response–Targeting Diet Versus Mediterranean Diet For Glycemic Control in Prediabetes.” **Diabetes Care**, C. 44, S. 9, s. 1980-1991.
- BERGAMINI C.M., BIANCHINI, GIACCONE. V., CATELLANI P, ALBERGHINI L., STELLA A., BIFFANI S., YADDEHIGE. S.K., BOBBO. T., TACCIOLI. C. (2022).” Machine Learning Algorithms Highlight tRNA Information Content And Chargaff’s Second Parity Rule Score As Important Features in Discriminating Probiotics From Non-Probiotics.” **Biology**, C. 11, S. 7, s. 1-12
- BEZEHA, O., YEMCHENKO, Y., VASYLYEVA, K., & POPOVA, I. (2022).” Role of Local Probiotics as New Therapeutic Approach in Treatment Of Skin Diseases.” **Актуальні Проблеми Сучасної Медицини: Вісник Української Медичної Стоматологічної Академії**, C. 22, S. 3-4, s. 206-211.
- BHAGWAT, A., NANDANWAR, Y. S., WARKE, R., & ANNAPURE, U. S. (2019).” In vitro assessment of physiological properties of *Enterococcus strains* of human origin for possible probiotic use.” **Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research**, C. 17, S. 1, s. 94-203.
- BINDA, S., HILL, C., JOHANSEN, E., OBIS, D., POT, B., SANDERS, M. E., TREMBLAY, A., & OUWEHAND, A. C. (2020).” Criteria To Qualify Microorganisms as ‘Probiotic’ in Foods And Dietary Supplements.” **Frontiers in Microbiology**, C. 11, S. 1, s. 1-9.
- BINETTI, A. G., CARRASCO, M. S., REINHEIMER, J. A., & SUÁREZ, V. B. (2013).” Yeasts from Autochthonal Cheese Starters: Technological

- and Functional Properties.” **Journal of Applied Microbiology**, C. 115, S. 2, s. 434-444.
- BOGUSŁAWSKA-WĄS, E. & DŁUBAŁA, A. (2022).” Assesment of The Properties of Lactobacilli Isolates from Polish Fermented Foods and Human Feces.” **Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria**, C. 21, S. 4, s. 389-399.
- BOOLCHANDANI, M., BLAKE, K. S., TILLEY, D. H., CABADA, M. M., SCHWARTZ, D. J., PATEL, S., MORALES, M. L., MEZA, R., SOTO, G., ISIDEAN, S. D., PORTER, C. K., SIMONS, M. P., & DANTAS, G. (2022).” Impact Of International Travel an Diarrhea on Gut Microbiome and Resistome Dynamics.” **Nature Communications**, C. 13, S. 1, s. 1-9.
- BRITTON G.J., CONTIJOCH E.J., MOGNO I., VENNARO O.H., LLEWELLYN S.R., NG R., LI. Z., MORTHA A., MERAD M., DAS A., GEVERS D., MCGOVERN D.P.B., SINGH N., BRAUN J., JACOBS J.P., CLEMENTE J.C., GRINSPAN A., SANDS B.E., COLOMBEL J.F., DUBINSKY M.C., FAITH JJ. (2019).” Microbiotas from Humans With Inflammatory Bowel Disease Alter The Balance of Gut Th17 and ROR $\gamma$ T+ Regulatory T Cells and Exacerbate Colitis in Mice.” **Immunity**, C. 50, S. 1, s. 212-224.
- BROWN, J. R., BHARUCHA, T., & BREUER, J. (2018).” Encephalitis Diagnosis Using Metagenomics: Application Of Next Generation Sequencing For Undiagnosed Cases.” **Journal of Infection**, C. 76, S. 3, s. 225-240.
- BULCA, S. & AĞALDAY, R. (2020).” Vitability study of probiotic in probiotic follow-up formula.” **Food and Health**, C. 6, S. 2, s. 98-109.
- CARRO, L. & NOUIOUI, I. (2017).” Taxonomy and systematics of plant probiotic bacteria in the genomic era.” **AIMS Microbiology**, C. 3, S. 3, s. 383-412.
- CARRASCO, E., MORALES-RUEDA, A., & GARCÍA-GIMENO, R. M. (2012).” Cross -Contamination And Recontamination by Salmonella

- in Foods: A Review.” **Food Research International**, C. 45, S. 2, s. 545-556.
- CARVALHO, E. H., MENDES, A. S., TAKAHASHI, S. E., ASSUMPÇÃO, R. A. B., BONAMIGO, D. V., MÜLLER, D. B., ... & SIKORSKI, R. (2018).” Defined And Undefined Commercial Probiotics Cultures In The Prevention Of Salmonella Enteritidis In Broilers.” **Pesquisa Veterinária Brasileira**, C. 38, S. 2, s. 271-276.
- CEBIOĞLU, İ. K. AND ÖNAL, A. E. (2019).” Investigation The Relation Between The Consumption Of Probiotic And Prebiotic Foods And Obesity Among Adults, Living In A District In İstanbul.” **Journal of Traditional Medical Complementary Therapies**, C. 2, S. 2, s. 55-63.
- CEKMEN, N., BAYSAN, O., DISBUDAK, E., & GUNT, C. (2019).” A Rare Case Of Bacterial Infective Endocarditis Caused by Streptococcus Alactolyticus.” **Heart, Vessels and Transplantation**, C. 3, S. 3, s. 109-113.
- CERK, K. AND AGUILERA-GÓMEZ, M. (2022).” Microbiota Analysis For Risk Assessment: Evaluation Of Hazardous Dietary Substances And Its Potential Role On The Gut Microbiome Variability And Dysbiosis.” **EFSA Journal**, C. 20, S. 5, s. 1-16
- CHECHET, O. M., KOVALENKO, V. L., HORBATYUK, O. I., GAIDEI, O. S., KRAVTSOVA, O. L., ANDRIYASHCHUK, V. O., MUSIETS. V., & ORDYNSKA, D. O. (2022).” Antagonistic Properties of A Probiotic Preparation Containing Bacteria of The Genera Bacillus And Enterococcus.” **Regulatory Mechanisms in Biosystems**, C. 13, S. 4, s. 362-366.
- CHEN, T., WU, Q., LI, S., XIONG, S., JIANG, S., TAN, Q., ZHANG, Z., ZHU, D., & WEI, H. (2013).” Microbiological Quality And Characteristics Of Probiotic Products In China.” **Journal of the Science of Food and Agriculture**, C. 94, S. 1, s. 131-138.
- CHEN, Y. J., SON, K., MIN, B., CHO, J. H., KWON, O. S., & KIM, I. H. (2005).” Effects Of Dietary Probiotic On Growth Performance,

- Nutrients Digestibility, Blood Characteristics and Fecal Noxious Gas Content in Growing Pigs.” **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences**, C. 18, S. 10, s. 1464-1468.
- CHUANG, W. Y., HSIEH, Y. C., & LEE, T. (2020).” The Effects Of Fungal Feed Additives in Animals: A Review.” **Animals**, C. 10, S. 5, s. 805.
- COEURET, V., GUEGUEN, M., & VERNOUX, J. P. (2004).” Numbers And Strains Of Lactobacilli in Some Probiotic Products.” **International Journal of Food Microbiology**, C. 97, S. 2, s. 147-156.
- CRIPPA, C., PASQUALI, F., RODRIGUES, C., DE CESARE, A., LUCCHI, A., GAMBI, L., MANFREDA, G., BRISSE, S., & PALMA, F. (2023).” Genomic Features Of Klebsiella Isolates From Artisanal Ready-To-Eat Food Production Facilities.” **Scientific Reports**, C. 13, S. 1, s. 1-13.
- CROSS, M. L., GANNER, A., TEILAB, D., & FRAY, L. M. (2004).” Patterns Of Cytokine Induction by Gram-Positive and Gram-Negative Probiotic Bacteria.” **FEMS Immunology & Medical Microbiology**, C. 42, S. 2, s. 173-180.
- CZERUCKA, D., PICHE, T., & RAMPAL, P. (2007).” Review Article: Yeast as Probiotics – *Saccharomyces Boulardii*.” **Alimentary Pharmacology & Therapeutics**, C. 26, S. 6, s. 767-778.
- ELİK DOĞAN, C., YÜKSEL DOLGUN, H. T., İKİZ, S., KIRKAN, Ş., & PARIN, U. (2023).” Detection Of The Microbial Composition Of Some Commercial Fermented Liquid Products via Metagenomic Analysis.” **Foods**, C. 12, S. 19, s. 1-15.
- DAVACHI, S. M., POTTACKAL, N., TORABI, H., & ABBASPOURRAD, A. (2021).” Development And Characterization Of Probiotic Mucilage Based Edible Films For The Preservation of Fruits and Vegetables.” **Scientific Reports**, C. 11, S. 1, s. 1-15.
- DAZA, M. V. B., CORTÌMIGLIA, C., BASSÌ, D., & COCCONCELLÌ, P. S. (2021). “Genome-based studies indicate that the enterococcus faecium clade b strains belong to enterococcus lactis species and lack of the

- hospital infection associated markers”. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, C. 71, S. 8, s. 1-10.
- DEMİRCİ, T. (2022).” Enumeration Of Bifidobacterium Spp., *Lactobacillus acidophilus* and Starter Cultures from Commercial Probiotic Yogurts And Freeze-Dried Yogurt Starter Mixes.” **Selcuk Journal of Agricultural and Food Sciences**, C. 36, S. 3, s. 421-427.
- DESHPANDE, G., RAO, S., PATOLE, S., & BULSARA, M. (2010).” Updated meta-analysis of probiotics for preventing necrotizing enterocolitis in preterm neonates.” **Pediatrics**, C. 125, S. 5, s. 921-930.
- DETHLEFSEN, L., & RELMAN, D. A. (2010).” Incomplete Recovery and Individualized Responses of The Human Distal Gut Microbiota To Repeated Antibiotic Perturbation.” **Proceedings of the National Academy of Sciences**, C. 108, S. 1, s. 4554-4561.
- DICKS, L. M. T., DU PLESSIS, E. M., DELLAGLIO, F., & LAUER, E. (1996).” Reclassification of *Lactobacillus casei* subsp. *casei* ATCC 393 and *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 15820 as *Lactobacillus zeae* nom. rev., Designation of ATCC 334 as The Neotype of *L. casei* subsp. *casei*, and Rejection Of The Name *Lactobacillus paracasei*.” **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, C. 46, S. 1, s. 337-340.
- DRAGO, L., RODIGHIERO, V., CELESTE, T., ROVETTO, L., & DE VECCHI, E. (2010).” Microbiological Evaluation Of Commercial Probiotic Products Available in the USA in 2009.” **Journal of Chemotherapy**, C. 22, S. 1, s. 373-377.
- DOMINGO, J. J. S., & SÁNCHEZ, C. S. (2017).” From The Intestinal Flora To The Microbiome.” **Revista Española De Enfermedades Digestivas**, C. 110, S. 1, s. 51-56
- DONG, L. M., THIEN, L. T., & DANG, T. T. K. (2020).” Enhancing the viability rate of probiotic by co-encapsulating with prebiotic in alginate microcapsules supplemented to cupcake production.” **Microbiology and Biotechnology Letters**, C. 48, S. 2, s. 113-120.

- DUNCAN, S. H., HOLD, G. L., HARMSSEN, H. J. M., STEWART, C. S., & FLINT, H. J. (2002).” Growth requirements and fermentation products of *Fusobacterium prausnitzii*, and a proposal to reclassify it as *Faecalibacterium prausnitzii* gen. nov., comb. nov.” **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, C. 52, S. 1, s. 2141-2146.
- DUNLAP, B. S., YU, H. D., & ELITSUR, Y. (2009).” The probiotic content of commercial yogurts in West Virginia.” **Clinical Pediatrics**, C. 48, S. 5, s. 522-527.
- DURANTI S., TURRONI F., MILANI C., FORONI E., BOTTACINI F., BELLO F.D., FERRARINI A., DELLEDONNE M., VAN SINDEREN D., VENTURA M. (2013).” Exploration of the genomic diversity and core genome of the *Bifidobacterium adolescentis* phylogenetic group by means of a polyphasic approach.” **Applied and Environmental Microbiology**, C. 79, S. 1, s. 336-346.
- DURAZZO, A., NAZHAND, A., LUCARINI, M., ATANASOV, A. G., SOUTO, E. B., NOVELLINO, E., CAPASSO, R., & SANTINI, A. (2020).” An Updated Overview on Nanonutraceuticals: Focus on Nanoprebiotics And Nanoprobiotics.” **International Journal of Molecular Sciences**, C. 21, S. 7, s. 1-24.
- EATON, T. & GASSON, M. J. (2001).” Molecular Screening of *Enterococcus* Virulence Determinants and Potential For Genetic Exchange Between Food and Medical Isolates.” **Applied and Environmental Microbiology**, C. 67, S. 4, s. 1628-1635.
- EDWARDS-INGRAM, L., GITSHAM, P., BURTON, N., WARHURST, G., CLARKE, I., HOYLE, D., OLIVER, S. G., & STATEVA, L. (2007).” Genotypic and Physiological Characterization Of *Saccharomyces Boulardii*, The Probiotic Strain of *Saccharomyces cerevisiae*.” **Applied and Environmental Microbiology**, C. 73, S. 8, s. 2458-2467.
- EHSANNIA, S. & SANJABI, M. R. (2016).” Physicochemical, Microbiological and Spoilage Analysis of Probiotic Processed Cheese Analogues with

- Reduced Emulsifying Salts During Refrigerated Storage.” **Journal of Food Science and Technology**, C. 53, S. 2, s. 996-1003.
- ELSHAGHABEE, F. M. F., ROKANA, N., GULHANE, R. D., SHARMA, C., & PANWAR, H. (2017).” *Bacillus* as Potential Probiotics: Status, Concerns, And Future Perspectives.” **Frontiers in Microbiology**, C. 8, S. 1, s. 1-15
- ESPITIA, P., BATISTA, R., AZEREDO, H., & OTONI, C. (2016).” Probiotics and Their Potential Applications in Active Edible Films and Coatings.” **Food Research International**, C. 90, S. 1, s. 42-52.
- FANG, X., YUE, M., WEI, J., WANG, Y., HONG, D., WANG, B., ZHOU, X., & CHEN, T. (2021).” Evaluation of The Anti-Aging Effects of A Probiotic Combination Isolated From Centenarians in A SAMP8 Mouse Model.” **Frontiers in Immunology**, C. 12, S. 1 s. 1-12
- FEDORAK, R. N. & MADSEN, K. (2004).” Probiotics And The Management of Inflammatory Bowel Disease.” **Inflammatory Bowel Diseases**, C. 10, S. 3, s. 286-299.
- FIDAN, I., KALKANCI, A., YESILYURT, E., YALCIN, B., ERDAL, B., KUSTIMUR, S., & IMIR, T. (2008).” Effects Of *Saccharomyces boulardii* on Cytokine Secretion from Intraepithelial Lymphocytes Infected by *Escherichia Coli* And *Candida Albicans*.” **Mycoses**, C. 52, S. 1, s. 29-34.
- FIGLIORE, W., ARIOLI, S., & GUGLIELMETTI, S. (2020).” The Neglected Microbial Components of Commercial Probiotic Formulations.” **Microorganisms**, C. 8, S. 8, s. 1-15.
- HIRAMATSU, R., MATSUMOTO, M., SAKAE, K., & MIYAZAKI, Y. (2005).” Ability Of Shiga Toxin-Producing *Escherichia Coli* and *Salmonella* Spp. to Survive in A Desiccation Model System and in Dry Foods.” **Applied and Environmental Microbiology**, C. 71, S. 11, s. 6657-6663.
- GALVÃO, K. N., SANTOS, J., COSCIONI, A., VILLASEÑOR, M., SISCHO, W. M., & BERGE, A. C. (2005).” Effect of Feeding Live Yeast

- Products to Calves With Failure of Passive Transfer on Performance and Patterns of Antibiotic Resistance in Fecal *Escherichia coli*.” **Reproduction Nutrition Development**, C. 45, S. 4, s. 427-440.
- GAO, B. & GUPTA, R. S. (2012).” Phylogenetic Framework and Molecular Signatures for The Main Clades of The Phylum Actinobacteria.” **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, C. 76, S. 1, s. 66-112.
- GARCÍA-SOLACHE, M. & RICE, L. B. (2019).” The Enterococcus: A Model of Adaptability to Its Environment.” **Clinical Microbiology Reviews**, C. 32, S. 2, s. 1-28.
- GERBALDO, G., BARBERIS, C. L., PASCUAL, L., DALCERO, A. M., & BARBERIS, L. (2012).” Antifungal Activity Of Two *Lactobacillus* Strains With Potential Probiotic Properties.” **FEMS Microbiology Letters**, C. 332, S. 1, s. 27-33.
- GERRITSEN, J., SMIDT, H., RIJKERS, G. T., & VOS, W. M. D. (2011).” Intestinal Microbiota In Human Health And Disease: The Impact Of Probiotics.” **Genes & Nutrition**, C. 6, S. 3, s. 209-240.
- GIBBONS, S. M., GURRY, T., LAMPE, J. W., CHAKRABARTI, A., DAM, V., EVERARD, A., GOAS, A., GROSS, G., KLEEREBEZEM, M., LANE, J., MAUKONEN, J., PENNA, A. L. B., POT, B., VALDES, A. M., WALTON, G., WEISS, A., ZANZER, Y. C., VENLET, N. V., & MIANI, M. (2022).” Perspective: Leveraging The Gut Microbiota To Predict Personalized Responses To Dietary, Prebiotic, And Probiotic Interventions.” **Advances In Nutrition**, C. 13, S. 5, s. 1450-1461.
- GUBERT, C., GASPAROTTO, J., & MORAIS, L. H. (2022).” Convergent Pathways Of The Gut Microbiota–Brain Axis And Neurodegenerative Disorders.” **Gastroenterology Report**, C. 10, S. 1, s. 1-18.
- HAMILTON-MILLER, J. M. T., SHAH, S., & SMITH, C. T. (1996).” Probiotic Remedies Are Not What They Seem”, **BMJ**, C. 312, S. 7022, s. 55-56.

- HANCHI, H., MOTTAWEA, W., SEBEL, K., & HAMMAMI, R. (2018).” The Genus *Enterococcus*: Between Probiotic Potential and Safety Concerns—An Update”, **Frontiers in Microbiology**, C. 9, S. 1, s. 1-16.
- HARDAN, L., BOURGI, R., CUEVAS-SUÁREZ, C. E., FLORES-RODRÍGUEZ, M., OMAÑA-COVARRUBIAS, A., NICASTRO, M., LAZARESCU, F., ZAROW, M., MONTEIRO, P., JAKUBOWICZ, N., PROC, P., & LUKOMSKA-SZYMANSKA, M. (2022).” The Use of Probiotics as Adjuvant Therapy of Periodontal Treatment: A Systematic Review and Meta-Analysis of Clinical Trials”, **Pharmaceutics**, C. 14, S. 5, s. 1-17.
- HIIPPALA, K., JOUHTEN, H., RONKAINEN, A., HARTIKAINEN, A., KAINULAINEN, V., JALANKA, J., & SATOKARI, R. (2018).” The Potential of Gut Commensals in Reinforcing Intestinal Barrier Function and Alleviating Inflammation”, **Nutrients**, C. 10, S. 8, s. 988.
- HILL, C., GUARNER, F., REID, G., GIBSON, G. R., MERENSTEIN, D. J., POT, B., MORELLI, L., CANANI, R. B., FLINT, H. J., SALMINEN, S., CALDER, P. C., & SANDERS, M. E. (2014).” The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics Consensus Statement on the Scope and Appropriate Use of the Term Probiotic”, **Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology**, C. 11, S. 8, s. 506-514.
- HINTZE K.J., COX J.E., ROMPATO G., BENNINGHOFF A.D., WARD R.E., BROADBENT J., LEFEVRE M. (2014).” Broad Scope Method for Creating Humanized Animal Models for Animal Health and Disease Research Through Antibiotic Treatment and Human Fecal Transfer”, **Gut Microbes**, C. 5, S. 2, s. 183-191.
- HOJSAK, I., & SHAMIR, R. (2013).” Safety of Probiotics”, **World Review of Nutrition and Dietetics**, C. 107, S. 1, s. 161-170.
- HOLZAPFEL, W. H., HABERER, P., GEISEN, R., BJÖRKROTH, J., & SCHILLINGER, U. (2001).” Taxonomy and Important Features of

- Probiotic Microorganisms in Food and Nutrition”, **The American Journal of Clinical Nutrition**, C. 73, S. 2, s. 365-373.
- HSU, C., LIN, Y., HOU, C., & TAIN, Y. (2018).” Maternal Administration of Probiotic or Prebiotic Prevents Male Adult Rat Offspring Against Developmental Programming of Hypertension Induced by High Fructose Consumption in Pregnancy and Lactation”, **Nutrients**, C. 10, S. 9, s. 1229.
- IACUMIN, L., GINALDI, F., MANZANO, M., ANASTASI, V., REALE, A., ZOTTA, T., ROSSI F, COPPOLA. R, & COMI, G. (2015).” High Resolution Melting Analysis (HRM) as a New Tool for the Identification of Species Belonging to the *Lactobacillus casei* Group and Comparison with Species-Specific PCRs and Multiplex PCR”, **Food Microbiology**, C. 46, s. 357-367.
- IRIANTO, A., & AUSTIN, B. (2002).” Probiotics in Aquaculture”, **Journal of Fish Diseases**, C. 25, S. 11, s. 633-642.
- JACOBS, S. E., TOBIN, J., OPIE, G., DONATH, S., TABRIZI, S. N., PIROTTA, M., MORLEY, J.C., & GARLAND, S. M. (2013).” Probiotic Effects on Late-Onset Sepsis in Very Preterm Infants: A Randomized Controlled Trial”, **Pediatrics**, C. 132, S. 6, s. 1055-1062.
- JAVAHERIAN, M., BAKHTIARI, R., AJOUDANIFAR, H., SHOKRI, S., & MIRZAIE, A. (2022).” Microbiota, Probiotics and Common Skin Cancer: Association and Therapeutic Application”, **Journal of Biological Research- Bollettino Della Società Italiana Di Biologia Sperimentale**, C. 95, S. 10594 s. 1-5.
- JAVIER, L. M. B. (2020).” Probiotics and GI Health in Primary Care: A National Survey in Spain”, **Biomedical Journal of Scientific & Technical Research**, C. 26, S. 5, s. 1-10.
- JEŻEWSKA-FRĄCKOWIAK, J., ŻEBROWSKA, J., CZAJKOWSKA, E., JASIŃSKA, J., PEKSA, M., JĘDRZEJCZAK, G., & SKOWRON, P. M. (2019).” Identification of Bacterial Species in Probiotic Consortia in Selected Commercial Cleaning Preparations”, **Acta Biochimica Polonica**, C. 66, S. 2, s. 351-359.

- JOSEPH, T. C., K.S, B., T.R, L., ELTOLTH, M., & MURRAY, F. J. (2021).” Assessing the Microbial Quality of Commercial Aquaculture Probiotics by Next Generation Sequencing Revealed Faecal Bacteria and Bacteria of Public Health Significance”, **Aquaculture Journal**, C. 32, S. 1, s. 123-134.
- JUGAN, M. C., WOUDA, R. M., & HIGGINBOTHAM, M. L. (2021).” Preliminary Evaluation of Probiotic Effects on GI Signs in Dogs with Multicentric Lymphoma Undergoing Multi-Agent Chemotherapy: A Randomised, Placebo-Controlled Study”, **Veterinary Record Open**, C. 8, S. 1, s. 1-10.
- JUNG, J. Y., HAN, S. S., KIM, Z. H., KIM, M. H., KANG, H. K., JIN, H. M., & LEE, M. H. (2021).” In-Vitro Characterization of Growth Inhibition Against the Gut Pathogen of Potentially Probiotic Lactic Acid Bacteria Strains Isolated from Fermented Products”, **Microorganisms**, C. 9, S. 10, s. 2141.
- KAFSHDOOZ, T., AKBARZADEH, A., SEGHINSARA, A. M., POURHASSAN, M., NASRABADI, H. T., & MILANI, M. (2016).” Role of Probiotics in Managing of Helicobacter Pylori Infection: A Review”, **Drug Research**, C. 67, S. 2, s. 88-93.
- KAMADA, N., INOUE, N., HISAMATSU, T., OKAMOTO, S., MATSUOKA, K., SATO, T., CHINEN, H., HONG, K. S., YAMADA, T., SUZUKI, Y., SUZUKI, T., WATANABE, N., TSUCHIMOTO, K., & HIBI, T. (2005).” Nonpathogenic Escherichia Coli Strain Nissle 1917 Prevents Murine Acute and Chronic Colitis”, **Inflammatory Bowel Diseases**, C. 11, S. 5, s. 455-463.
- KECHAGIA, M., BASOULIS, D., KONSTANTOPOULOU, S., DIMITRIADI, D., GYFTOPOULOU, K., SKARMOUTSOU, N. & FAKIRI, E. M. (2013).” Health Benefits of Probiotics: A Review”, **ISRN Nutrition**, C. 2013, S. 481651, s. 1-7.
- KECSKES-NAGY, E., KORZENSZKY, P., & SEMBERY, P. (2016).” The Role of Color Sorting Machine in Reducing Food Safety Risks”,

**Potravinárstvo Slovak Journal of Food Sciences**, C. 10, S. 1, s. 354-358.

KERNA, N. A. (2018).” Global Health Preventive Medicine Overture: Select Probiotic Use in the Prevention of Antibiotic-Associated Diarrhea and the Treatment of C. Difficile and Distinct Tropical Diseases”, **SM Preventive Medicine and Public Health**, C. 2, S. 1, s. 1-5.

KHAN, S., WALIULLAH. S., GODFREY. V., KHAN M.A.W., RAMACHANDRAN R.A., CANTAREL B.L., BEHRENDT. C., PENG. L., HOOPER L.V., ZAKI, H. (2020).” Dietary Simple Sugars Alter Microbial Ecology in the Gut and Promote Colitis in Mice”, **Science Translational Medicine**, C. 12, S. 567, s. 1-12.

KHATRI, I., SHARMA, S., RAMYA, T., & SUBRAMANIAN, S. (2016).” Complete Genomes of *Bacillus coagulans* S-Lac and *Bacillus subtilis* TO-A JPC, Two Phylogenetically Distinct Probiotics”, **Plos One**, C. 11, S. 6, s. 1-25.

KNODLER, L. A., & ELFENBEIN, J. R. (2019).” *Salmonella enterica*”, **Trends in Microbiology**, C. 27, S. 11, s. 964-965.

KRUASUWAN, W., JENJAROENPUN, P., ARIGUL, T., CHOKESAJJAWATEE, N., LEEKITCHAROENPHON, P., FOONGLADDA, S., & WONGSURAWAT, T. (2023).” Nanopore Sequencing Discloses Compositional Quality of Commercial Probiotic Feed Supplements”, **Scientific Reports**, C. 13, S. 1, s. 1-10.

KUMALASARI, D. N., & DAMAYANTI, D. (2022).” The Role of Probiotics in Skin Aging”, **International Journal of Research Publications**, C. 111, S. 1, s. 1-10.

KHAYAT, M. T., ELBARAMAWI, S. S., NAZEIH, S. I., SAFO, M. K., KHAFAGY, E. S., ALI, M. A., HEGAZY, W.A.H., & SELEEM, N. M. (2023).” Diminishing the Pathogenesis of the Food-Borne Pathogen *Serratia marcescens* by Low Doses of Sodium Citrate”, **Biology**, C. 12, S. 4, s. 1-17.

- LAM, S., ZUO, T., HO, M., CHAN, F. K., CHAN, P. K., & NG, S. C. (2019).” Review Article: Fungal Alterations in Inflammatory Bowel Diseases”, **Alimentary Pharmacology & Therapeutics**, C. 50, S. 11-12, s. 1159-1171.
- LAZO-VÉLEZ, M. A., SERNA-SALDÍVAR, S. O., ROSALES-MEDINA, M. F., TINOCO-ALVEAR, M., & BRIONES-GARCÍA, M. (2018).” Application of *S. cerevisiae* var. *boulardii* in Food Processing: A Review”, **Journal of Applied Microbiology**, C. 125, S. 4, s. 943-951.
- LEE, D., SEO, Y., RAYAMAJHI, N., KANG, M., LEE, S., & YOO, H. S. (2009).” Isolation, Characterization, and Evaluation of Wild Isolates of *Lactobacillus reuteri* from Pig Feces”, **The Journal of Microbiology**, C. 47, S. 6, s. 663-672.
- LEE, J. Y., & KANG, C. (2022).” Probiotics Alleviate Oxidative Stress in H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Exposed Hepatocytes and T-BHP-Induced C57BL/6 Mice”, **Microorganisms**, C. 10, S. 2, s. 234.
- LEITE, A. M., MIGUEL, M. A. L., PEIXOTO, R. S., RUAS-MADIEDO, P., PASCHOALIN, V. M. F., MAYO, B., & DELGADO, S. (2015).” Probiotic Potential of Selected Lactic Acid Bacteria Strains Isolated from Brazilian Kefir Grains”, **Journal of Dairy Science**, C. 98, S. 6, s. 3622-3632.
- LIM, P. L., TOH, M., & LIU, S. (2015).” *S. cerevisiae* EC-1118 Enhances the Survivability of Probiotic *Lactobacillus rhamnosus* HN001 in an Acidic Environment”, **Applied Microbiology and Biotechnology**, C. 99, S. 16, s. 6803-6811.
- LIU, Q., LAI, Z., GAO, Y., WANG, C., ZENG, Y., LIU, E., MAI, Y., YANG, W., & LI, H. (2021).” Connection Between the Gut Microbiota of Largemouth Bass (*Micropterus Salmoides*) and Microbiota of the Pond Culture Environment”, **Microorganisms**, C. 9, S. 8, s. 1-12.
- LUGLI, G. A., MANGIFESTA, M., MANCABELLI, L., MILANI, C., TURRONI, F., VIAPPIANI, A., VAN SINDEREN, D., & VENTURA, M. (2019).” Compositional Assessment of Bacterial Communities in Probiotic Supplements by Means of Metagenomic

- Techniques”, **International Journal of Food Microbiology**, C. 294, S. 1, s. 1-9.
- LYE, H., KUAN, C., EWE, J., FUNG, W., & LIONG, M. (2009).” The Improvement of Hypertension by Probiotics: Effects on Cholesterol, Diabetes, Renin, and Phytoestrogens”, **International Journal of Molecular Sciences**, C. 10, S. 9, s. 3755-3775.
- MAKSIMAITYTE, V., BAUŠYS, A., KRYZAUSKAS, M., LUKSTA, M., STUNDIENĖ, I., BICKAITE, K. BAUSYS, B., POSKUS, T., BAUSYS, RIMANTAS & STRUPAS, K. (2021).” Gastrectomy Impact on the Gut Microbiome in Patients with Gastric Cancer: A Comprehensive Review”, **World Journal of GI Surgery**, C. 13, S. 7, s. 678-688.
- MANGIN, I., BOURGET, N., BOUHNİK, Y., BISETTI, N., SIMONET, J., & DECARIS, B. (1994).” Identification of Bifidobacterium Strains by rRNA Gene Restriction Patterns”, **Applied and Environmental Microbiology**, C. 60, S. 5, s. 1451-1458.
- MARDANEH, J., & SOLTAN-DALLAL, M. M. (2014).” Isolation and Identification of E. Cowanii from Powdered Infant Formula in NICU and Determination of Antimicrobial Susceptibility of Isolates”, **Iranian Journal of Pediatrics**, C. 24, S. 3, s. 261.
- MARIA, R. d. A. É., CAVALCANTE, M. G., MARIA, C. M. A., ELIZABETH, D. F. D., & BEZERRA, D. S. J. G. (2022).” Mo584: Effect of Probiotic Supplementation on Endothelial Injury and Inflammation Biomarkers Among Patients with Chronic Kidney Diseases on Hemodialysis”, **Nephrology Dialysis Transplantation**, C. 37, S. 3, s.1.
- MARTINEZ, R. C. R., BEDANI, R., & SAAD, S. M. I. (2015).” Scientific Evidence for Health Effects Attributed to the Consumption of Probiotics and Prebiotics: An Update for Current Perspectives and Future Challenges”, **British Journal of Nutrition**, C. 114, S. 12, s. 1993-2015.

- MASCO, L., VENTURA, M., ZINK, R., HUYS, G., & SWINGS, J. (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.”, **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, C. 54, S. 4, s. 1137-1143.
- MATSUZAKI, T. and CHIN, J. (2000).” Modulating Immune Responses with Probiotic Bacteria”, Immunology & **Cell Biology**, C. 78, S. 1, s. 67-73.
- MAZANKO, M. S., POPOV, I. V., PRAZDNOVA, E. V., REFELD, A. G., BREN, A. B., ZELENKOVA, G. A., CHISTYAKOV, V. A., ALGBURI, A., WEEKS, R. M., ERMAKOV, A. M., & CHIKINDAS, M. L. (2022).” Beneficial Effects of Spore-Forming Bacillus Probiotic Bacteria Isolated from Poultry Microbiota on Broilers' Health, Growth Performance, and Immune System”, **Frontiers in Veterinary Science**, C. 9, S. 877360, s. 1-12.
- MELO-BOLIVAR, J. F., PARDO, R. Y. R., HUME, M. E., SIDJABAT, H. E., & VILLAMIL-DIAZ, L. M. (2020).” Probiotics for Cultured Freshwater Fish”, **Microbiology Australia**, C. 41, S. 2, s. 105.
- MILES, M. P. (2020).” Probiotics and Gut Health in Athletes”, **Current Nutrition Reports**, C. 9, S. 3, s. 129-136.
- MITTERDORFER, G., MAYER, H., KNEIFEL, W., & VIERNSTEIN, H. (2002).” Clustering of *Saccharomyces boulardii* Strains within the Species *S. Cerevisiae* Using Molecular Typing Techniques”, **Journal of Applied Microbiology**, C. 93, S. 4, s. 521-530.
- MORENO-SANZ, B., MONTES, M. T., MANZANO, S., ESPINOSA-MARTOS, I., CÁRDENAS, N., ESTEBAN, S., CRUZ, M., JIMÉNEZ, E., & DE PÍPAÓN, M. S. (2022).” Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Study to Assess the Effect of Two Probiotics on the

- Preterms' Gut Microbiota", **Journal of Pediatric Gastroenterology & Nutrition**, C. 74, S. 6, s. 153-159.
- MOROVIC, W., HIBBERD, A. A., ZABEL, B., BARRANGOU, R., & STAHL, B. (2016)." Genotyping by PCR and High-Throughput Sequencing of Commercial Probiotic Products Reveals Composition Biases", **Frontiers in Microbiology**, C. 7, S. 1, s. 1-11
- MUKAIDA, N. (2014)." Intestinal Microbiota: Unexpected Alliance with Tumor Therapy", **Immunotherapy**, C. 6, S. 3, s. 231-233.
- NAKHARUTHAI, C., BOONANUNTANASARN, S., KAewda, J., & MANASSILA, P. (2023)." Isolation of Potential Probiotic *Bacillus* Spp. from the Intestine of Nile Tilapia to Construct Recombinant Probiotic Expressing CC Chemokine and Its Effectiveness on Innate Immune Responses in Nile Tilapia", **Animals**, C. 13, S. 6, s. 986.
- NARAYAN, A., CARRIERO, N. J., GETTINGER, S. N., KLUYTENAAR, J., KOZAK, K. R., YOCK, T. I., MUSCATO, N. E., UGARELLI, P., DECKER, R. H., & PATEL, A. A. (2012)." Ultrasensitive Measurement of Hotspot Mutations in Tumor DNA in Blood Using Error-Suppressed Multiplexed Deep Sequencing", **Cancer Research**, C. 72, S. 14, s. 3492-3498.
- NASER, S. M., VANCANNEYT, M., DE GRAEF, E., DEVRIESE, L. A., SNAUWAERT, C., LEFEBVRE, K., HOSTE, B., ŠVEC, P., DECOSTERE, A., HAESBROUCK, F., & SWINGS, J. (2005)." *Enterococcus Canintestini* Sp. Nov., from Faecal Samples of Healthy Dogs", **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, C. 55, S. 5, s. 2177–2182.
- NAWANGSIH, E. N., MARIANA, A., & KOSWARA, T. (2021)." Comparison of the Influence of Trypsin on the Number of Colonies *Lactobacillus* Spp. on the Soy Milk and Cow's Milk Medium", **Advances in Health Sciences Research**. C. 37, s. 72-75.
- NÄSE L, HATAKKA K, SAVILAHTI E, SAXELIN M, PÖNKÄ A, POUSSA T, KORPELA R, MEURMAN J.H. (2001). "Effect of long-term consumption of a probiotic bacterium, *Lactobacillus rhamnosus* GG,

- in milk on dental caries and caries risk in children”, **Karger**, C. 35, S. 6, s. 412–420.
- NG, S. C., LAM, E. F., LAM, T. T., CHAN, Y., LAW, W., TSE, P. C., KAMM, M. A., SUNG, J. J., CHAN, F. K., & WU, J. C. (2013).” Effect of Probiotic Bacteria on the Intestinal Microbiota in Irritable Bowel Syndrome”, **Journal of Gastroenterology and Hepatology**, C. 28, S. 10, s. 1624-1631.
- OBAZELU, P. A., ARUOMAREN, I. A., & NWANGWU, C. C. (2021).” Effects of Probiotic *Saccharomyces boulardii* and Co-Trimoxazole on Some Haematological Parameters in Adult Wistar Rats”, **African Journal of Health, Safety and Environment**, C. 2, S. 2, s. 55-62.
- OBERG, T. S., MCMAHON, D. J., CULUMBER, M. D., MCAULIFFE, O., & OBERG, C. J. (2022).” Invited Review: Review of Taxonomic Changes in Dairy-Related Lactobacilli”, **Journal of Dairy Science**, C. 105, S. 4, s. 2750-2770.
- OOZEER, R., LEPLINGARD, A., MATER, D. D., MOGENET, A., MICHELIN, R., SEKSEK, I., MARTEAU, P., DORÉ, J., BRESSON, J. L., & CORTHIER, G. (2006).” Survival of *Lactobacillus casei* in the Human Digestive Tract After Consumption of Fermented Milk”, **Applied and Environmental Microbiology**, C. 72, S. 8, s. 5615–5617.
- PAIS, P., ALMEIDA, V. V. D., YILMAZ, M., & TEIXEIRA, M. C. (2020).” *Saccharomyces boulardii*: What Makes It Tick as Successful Probiotic”, **Journal of Fungi**, C. 6, S. 2, s. 78.
- PANJA, K., AREERAT, S., CHUNDANG, P., PALASEWEENUN, P., AKRIMAJIRACHOOTE, N., SITDHIPOL, J., THAVEETHAPTAIKUL, P., CHONPATHOMPIKUNLERT, P., NIWASABUTRA, K., PHAPUGRANGKUL, P., & KOVITVADHI, A. (2023).” Influence of Dietary Supplementation with New *Lactobacillus* Strains on Hematology, Serum Biochemistry, Nutritional Status, Digestibility, Enzyme Activities, and Immunity in Dogs”, **Veterinary World**, C. 16, S. 4, s. 834–843.

- PATRO, J.N., RAMACHANDRAN, P., BARNABA, T., MAMMEL, M.K., LEWIS, J.L., & ELKINS, C.A. (2016).” Culture-independent metagenomic surveillance of commercially available probiotics with high-throughput next-generation sequencing.” **MSphere**, C. 1, S. 2, s. 1-12.
- PELLENS, R., AHRENDTS, A., HOLLINGSWORTH, P., & GRANDCOLAS, P. (2016).” Assessing Hotspots of Evolutionary History with Data from Multiple Phylogenies: An Analysis of Endemic Clades from New Caledonia”, **Biodiversity Conservation and Phylogenetic Systematics**, C. 8, S. 12, s. 237-262.
- PINTO, C., PINHO, D., CARDOSO, R., CUSTÓDIO, V., FERNANDES, J., SOUSA, S., PINHEIRO, M., EGAS, C., & GOMES, A. C. (2015).” Wine Fermentation Microbiome: A Landscape from Different Portuguese Wine Appellations”, **Frontiers in Microbiology**, C. 6, S. 1, s. 1-13.
- PIRBAGLOU, M., KATZ, J., SOUZA, R. J. D., STEARNS, J. C., MOTAMED, M., & RITVO, P. (2016).” Probiotic Supplementation Can Positively Affect Anxiety and Depressive Symptoms: A Systematic Review of Randomized Controlled Trials”, **Nutrition Research**, C. 36, S. 9, s. 889-898.
- PLANT, L. & CONWAY, P. L. (2001).” Association of *Lactobacillus* Spp. with Peyer's Patches in Mice”, **Clinical Diagnostic Laboratory Immunology**, C. 8, S. 2, s. 320-324.
- PUEBLA-BARRAGAN, S. & REID, G. (2021).” Probiotics in Cosmetic and Personal Care Products: Trends and Challenges”, **Molecules**, C. 26, S. 5, s. 1249.
- PYNE, D. B., WEST, N. P., & CRIPPS, A. W. (2012).” Probiotics and Immune Response to Exercise”, **American Journal of Lifestyle Medicine**, C. 7, S. 1, s. 51-59.
- RAGAVAN, M. L. & DAS, N. (2017).” Molecular Identification of Probiotic Yeast Strains and Their Characterization”, **Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research**, C. 10, S. 10, s. 339.

- RAJKOWSKA, K. & KUNICKA-STYCZYŃSKA, A. (2010).” Probiotic Properties of Yeasts Isolated from Chicken Feces and Kefirs”, **Polish Journal of Microbiology**, C. 59, S. 4, s. 257-263.
- RANADHEERA, C. S., VIDANARACHCHI, J. K., ROCHA, R. S., CRUZ, A. G., & AJLOUNI, S. (2017).” Probiotic Delivery Through Fermentation: Dairy vs. Non-Dairy Beverages”, **Fermentation**, C. 3, S. 4, s. 67.
- RANGEL, N., NAVA, A. G., ESPINOSA, A. A., & REYES, L. M. (2013).” Characterisation of a Bifidobacterium sp. Strain Isolated from Human Faeces and its Expression of the ack and ldh Genes”, **African Journal of Microbiology Research**, C. 7, S. 50, s. 5713-5718.
- REBOLLAR E. A., ANTWIS R. E., BECKER M. H., BELDEN L. K., BLETZ M. C., BRUCKER R. M., HARRISON X. A., HUGHEY M. C., KUENEMAN J. G., LOUDON A. H., MCKENZIE V., MEDINA D., MINBIOLE K. P. C., ROLLINS-SMITH L. A., WALKE J. B., WEISS S., WOODHAMS D. C., HARRIS R. N. (2016).” Using 'Omics' and Integrated Multi-Omics Approaches to Guide Probiotic Selection to Mitigate Chytridiomycosis and Other Emerging Infectious Diseases”, **Frontiers in Microbiology**, C. 7, S. 68, s. 1-19.
- REID, M. (2005).” The Importance of Guidelines in the Development and Application of Probiotics”, **Current Pharmaceutical Design**, C. 11, S. 1, s. 11-16.
- RIO, B. D., DATTWYLER, R. J., AROSO, M., NEVES, V., MEIRELLES, L., SEEGER, J. F., & GOMES-SOLECKI, M. (2008).” Oral Immunization with Recombinant Lactobacillus plantarum Induces a Protective Immune Response in Mice with Lyme Disease”, **Clinical and Vaccine Immunology**, C. 15, S. 9, s. 1429-1435.
- RISA, Y. K., HARIMURTI, S., WIHANDOYO, & WIDODO, W. (2020).” Screening for Probiotic of Lactic Acid Bacteria Isolated from the Digestive Tract of a Native Aceh Duck (Anas Platyrhynchos)”, **Biodiversitas Journal of Biological Diversity**, C. 21, S. 7, s. 1-7

- RODRIGUES, B. M., OLIVO, P. M., OSMARI, M. P., VASCONCELLOS, R. S., RIBEIRO, L. B., BÁNKUTI, F. I., & POZZA, M. S. S. (2020).” Microencapsulation of Probiotic Strains by Lyophilization Is Efficient in Maintaining the Viability of Microorganisms and Modulation of Fecal Microbiota in Cats”, **International Journal of Microbiology**, C. 28, S. 24, s. 1-10.
- RUTTEN, N. B., GUGTEN, A. V. D., UITERWAAL, C. S., VLIEGER, A. M., RIJKERS, G. T., & ENT, C. K. V. D. (2015).” Maternal Use of Probiotics During Pregnancy and Effects on Their Offspring’s Health in an Unselected Population”, **European Journal of Pediatrics**, C. 175, S. 2, s. 229-235.
- SAAB, S., SURAWERA, D., AU, J., SAAB, E. G., ALPER, T. S., & TONG, M. J. (2015).” Probiotics Are Helpful in Hepatic Encephalopathy: A Meta-Analysis of Randomized Trials”, **Liver International**, C. 36, S. 7, s. 986-993.
- SALAMI, M. (2021).” Interplay of Good Bacteria and Central Nervous System: Cognitive Aspects and Mechanistic Considerations”, **Frontiers in Neuroscience**, C. 15, S. 613120, s. 1-28.
- SALVETTI, E. and O’TOOLE, P. W. (2017).” The Genomic Basis of Lactobacilli as Health-Promoting Organisms”, **Microbiology Spectrum**, C. 5, S. 3, s. 1-17.
- SALVETTI, E., TORRIANI, S., & FELIS, G. E. (2012).” The Genus Lactobacillus: A Taxonomic Update”, **Probiotics and Antimicrobial Proteins**, C. 4, S. 4, s. 217-226.
- SANDERS, M. E. and HEIMBACH, J. T. (2003).” Functional Foods in the USA: Emphasis on Probiotic Foods”, **Food Science Technology Bulletin: Functional Foods**, C. 1, S. 8, s. 1-10.
- SCHEPPER, J. D., IRWIN, R., KANG, J., DAGENAIS, K., LEMON, T., SHINOUSKIS, A., PARAMESWARAN, N., & MCCABE, L. R. (2017).” Probiotics in Gut-Bone Signaling”, **Advances in Experimental Medicine and Biology**, C. 1033, s. 225-247.

- SCHNADOWER, D., FINKELSTEIN, Y., & FREEDMAN, S. B. (2015).” Ondansetron and Probiotics in the Management of Pediatric Acute Gastroenteritis in Developed Countries”, **Current Opinion in Gastroenterology**, C. 31, S. 1, s. 1-6.
- SENGUPTA, A. M., CHATTERJEE, D., & GHOSH, R. (2020).” Role of Probiotics in Respiratory Tract Diseases with Special Reference to COVID-19: A Review”, **Asian Journal of Medical Sciences**, C. 11, S. 4, s. 64-70.
- SHEHATA, H. R., HASSANE, B., & NEWMASER, S. G. (2023).” Real-Time Polymerase Chain Reaction Methods for Strain Specific Identification and Enumeration of Strain *Lactobacillus Paracasei* 8700:2”, **Frontiers in Microbiology**, C. 13, S. 1, s. 1-13
- SHIDA, K., TAKAHASHI, R., IWADATE, E., TAKAMIZAWA, K., YASUI, H., SATO, T., HABU, S., HACHIMURA, S., & KAMINOGAWA, S. (2002).” *Lactobacillus casei* Strain Shirota Suppresses Serum Immunoglobulin E and Immunoglobulin G1 Responses and Systemic Anaphylaxis in a Food Allergy Model”, Clinical and Experimental Allergy: **Journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology**, C. 32, S. 4, s. 563–570.
- SILVA, S. V. D., MATTANNA, P., BIZZI, C. A., RICHARDS, N. S. P. D. S., & BARIN, J. S. (2013).” Evaluation of the Mineral Content of Infant Formulas Consumed in Brazil”, **Journal of Dairy Science**, C. 96, S. 6, s. 3498-3505.
- SILVA, J. L., PAULA, D. D. A., LELIS, C. A., VIEIRA, É. N. R., & RAMOS, A. M. (2022).” Double Emulsions Containing Probiotic Cells (*Lactiplantibacillus plantarum*) Added in a Mango Dessert”, **Journal of Food Processing and Preservation**, C. 46, S. 8, S, s. 1-8.
- SIMKINS, J., KALTSAS, A., & CURRIE, B. P. (2013).” Investigation of Inpatient Probiotic Use at an Academic Medical Center”, **International Journal of Infectious Diseases**, C. 17, S. 5, s. 321-324.
- SIONEK, B., SZYDŁOWSKA, A., ZIELIŃSKA, D., NEFFE-SKOCIŃSKA, K., & KOŁOŻYN-KRAJEWSKA, D. (2023).” Beneficial Bacteria

- Isolated from Food in Relation to the Next Generation of Probiotics”, **Microorganisms**, C. 11, S. 7, s. 1-21.
- SISSONS, J. W. (1989).” Potential of Probiotic Organisms to Prevent Diarrhoea and Promote Digestion in Farm Animals – A Review”, **Journal of the Science of Food and Agriculture**, C. 49, S. 1, s. 1-13.
- SIVAMARUTHI, B. S., KESIKA, P., & CHAIYASUT, C. (2019).” A Mini-Review of Human Studies on Cholesterol-Lowering Properties of Probiotics”, **Scientia Pharmaceutica**, C. 87, S. 4, s. 1-26.
- SLAVCHEV, A., KOVÁCS, Z., KOSHIWA, H., BÁZÁR, G., POLLNER, B., KRASTANOV, A., KUBOTA, Y., & TSENKOVA, R. (2017).” Monitoring of Water Spectral Patterns of Lactobacilli Development as a Tool for Rapid Selection of Probiotic Candidates”, **Journal of Near Infrared Spectroscopy**, C. 25, S. 6, s. 423-431.
- SMYTH, E. M., KULKARNI, P., CLAYE, E., STANFILL, S., T.YX, R., MADDOX, C., MONGODIN, E. F., & SAPKOTA, A. R. (2017).” Smokeless Tobacco Products Harbor Diverse Bacterial Microbiota That Differ Across Products and Brands”, **Applied Microbiology and Biotechnology**, C. 101, S. 13, s. 5391-5403.
- SNIFFEN, J., MCFARLAND, L. V., EVANS, C. T., & GOLDSTEIN, E. J. C. (2018).” Choosing an Appropriate Probiotic Product for Your Patient: An Evidence-Based Practical Guide”, **Plos One**, C. 13, S. 12, s. 1-12.
- STANTON, C., GARDINER, G., MEEHAN, H., COLLINS, K., FITZGERALD, G., LYNCH, P. B., & ROSS, R. P. (2001).” Market Potential for Probiotics”, **The American Journal of Clinical Nutrition**, C. 73, S. 2, s. 476-483.
- STINE, O. C. and MORRIS, J. G. (2013).” Circulation and Transmission of Clones of *Vibrio Cholerae* During Cholera Outbreaks”, **Cholera Outbreaks**, s. 181-193.
- SUMALAPAO, D. E. P., MESINA, J. A. R. T., CABRERA, E. C., & GLORIANI, N. G. (2017).” Viability Kinetics of *Lactobacillus casei* Shirota Strain in a Commercial Fermented Milk Drink During

- Refrigerated Storage”, **National Journal of Physiology, Pharmacy and Pharmacology**, C. 7, S. 11, s. 1242-1246.
- SUMARSIH, S., SULISTIYANTO, B., & SETYA, A. C. (2020).” The Effect of Different Methods of Giving Probiotic *Lactobacillus salivarius* I-11 on Broilers Performance in Starter Period”, **Digital Press Life Sciences**, C. 2, S. 7, s. 1-4.
- SZAJEWSKA, H., SETTY, M., MRUKOWICZ, J., & GUANDALINI, S. (2006).” Probiotics in GI Diseases in Children”, **Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition**, C. 42, S. 5, s. 454-475.
- SZAJEWSKA, H. and KOŁODZIEJ, M. (2015).” Systematic Review with Meta-Analysis: *Saccharomyces boulardii* in the Prevention of Antibiotic-Associated Diarrhoea”, **Alimentary Pharmacology & Therapeutics**, C. 42, S. 7, s. 793-801.
- TALEBI, S., MAKHDOUMI, A., BAHREINI, M., MATIN, M. M., & MORADI, H. (2018).” Three Novel Bacillus Strains from a Traditional Lacto-Fermented Pickle as Potential Probiotics”, **Journal of Applied Microbiology**, C. 125, S. 3, s. 888-896.
- TAMANG, J. P. and LAMA, S. (2022).” Probiotic Properties of Yeasts in Traditional Fermented Foods and Beverages”, **Journal of Applied Microbiology**, C. 132, S. 5, s. 3533-3542.
- TAN, J., DONG, L., JIANG, Z., TAN, L., LUO, X., PEI, G., QIN, A., ZHONG, Z., LIU, X., TANG, Y., QIN, W. (2022).” Probiotics Ameliorate IgA Nephropathy by Improving Gut Dysbiosis and Blunting NLRP3 Signaling”, **Journal of Translational Medicine**, C. 20, S. 1.
- TAN, Q., XU, H., AGUILAR, Z.P., PENG, S., DONG, S., WANG, B., LI, P., CHEN, T., XU, F., WEI, H. (2013).” Safety Assessment and Probiotic Evaluation of *Enterococcus faecium* YF5 Isolated from Sourdough”, **Journal of Food Science**, C. 78, S. 4, s. 587-593.
- TAO, L., WANG, B., ZHONG, Y., POW, S. H., ZENG, X., QIN, C., ZHANG, P., CHEN, S., HE, W., TAN, Y., LIU, H., JIANG, Y., CHEN, W., & CHEN, Y. Z. (2017).” Database and Bioinformatics Studies of

- Probiotics”, **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, C. 65, S. 35, s. 7599-7606.
- TEMMERMAN, R., SCHEIRLINCK, I., HUYS, G., & SWINGS, J. (2003).” Culture-Independent Analysis of Probiotic Products by Denaturing Gradient Gel Electrophoresis”, **Applied and Environmental Microbiology**, C. 69, S. 1, s. 220-226.
- TERZAGHI, B. E. and SANDINE, W. E. (1975).” Improved Medium for Lactic Streptococci and Their Bacteriophages”, **Applied Microbiology**, C. 29, S. 6, s. 807-813.
- TEUGHEL, W., ESSCHE, M. V., SLIEPEN, I., & QUIRYNEN, M. (2008).” Probiotics and Oral Healthcare”, **Periodontology**, 2000, C. 48, S. 1, s. 111-147.
- TGK, (2017). Türk Gıda Kodeksi, Beslenme ve Sağlık Beyanları Yönetmeliği, Resmi Gazete, S.: 29960
- TOM, F. S., TUCKER, K., MCCracken, C. M., MCGREGOR, J. C., & GORE, S. J. (2021).” Infectious Complications of Probiotic Use: A Matched Case–Control Study”, **Infection Control & Hospital Epidemiology**, C. 43, S. 10, s. 1498-1500.
- TREANGEN, T. J., WAGNER, J., BURNS, M. P., & VILLAPOL, S. (2018).” Traumatic Brain Injury in Mice Induces Acute Bacterial Dysbiosis Within the Fecal Microbiome”, **Frontiers in Immunology**, C. 9, S. 2757, s. 1-7.
- TRICOLY, T. D. S., FERREIRA, C. L., LIMA, V. C. D. S., MARCO, A. C. D., CANEPPELE, T. M. F., & JARDINI, M. A. N. (2023).” Is the Use of Lactobacillus Reuteri Probiotic Efficient as Adjunctive Therapy in the Treatment of Periodontitis? A Systematic Review”, **Brazilian Dental Science**, C. 26, S. 1, s. 1-10.
- TOSCANO, M., VECCHI, E. D., RODIGHIERO, V., & DRAGO, L. (2013).” Microbiological and Genetic Identification of Some Probiotics Proposed for Medical Use in 2011”, **Journal of Chemotherapy**, C. 25, S. 1, s. 156-161.

- ULLAH, M., RAZA, A., YE, L., & YU, Z. (2019).” Viability and Composition Validation of Commercial Probiotic Products by Selective Culturing Combined with Next-Generation Sequencing”, **Microorganisms**, C. 7, S. 188, s. 1-14.
- UPADRASTA, A. and MADEMPUDI, R. S. (2016).” Probiotics and Blood Pressure: Current Insights”, **Integrated Blood Pressure Control**, C. 9, S. 1, s. 33-42.
- VANCANNEYT, M., LOMBARDI, A., ANDRIGHETTO, C., KNIJFF, E., TORRIANI, S., BJÖRKROTH, K. J., FRANZ, C. M., FOULQUIÉ MORENO, M. R., REVETS, H., DE VUYST, L., SWINGS, J., KERSTERS, K., DELLAGLIO, F., & HOLZAPFEL, W. H. (2002).” Intraspecies Genomic Groups in *Enterococcus faecium* and Their Correlation with Origin and Pathogenicity”, **Applied and Environmental Microbiology**, C. 68, S. 3, s. 1
- WANG, Q., GARRITY, G. M., TIEDJE, J. M., & COLE, J. R. (2007).” Naïve Bayesian Classifier for Rapid Assignment of rRNA Sequences into the New Bacterial Taxonomy”, **Applied and Environmental Microbiology**, C. 73, S. 16, s. 5261-5267.
- WHORWELL, P.J., ALTRINGER, L., MOREL, J., BOND, Y., CHARBONNEAU, D., O’MAHONY, L., KIELY, B., SHANAHAN, F., QUIGLEY, E.M. (2006).” Efficacy of an Encapsulated Probiotic *Bifidobacterium infantis* 35624 in Women with Irritable Bowel Syndrome”, **The American Journal of Gastroenterology**, C. 101, S. 7, s. 1581-1590.
- WIETMARSCHE, H. V., BUSCH, M., OOSTVEEN, A. V., POT, G. K., & JONG, M. C. (2020).” Probiotics Use for Antibiotic-Associated Diarrhea: A Pragmatic Participatory Evaluation in Nursing Homes”, **BMC Gastroenterology**, C. 20, S. 10, s. 1-9.
- WONG, M. W., YI, C. H., LIU, T. T., LEI, W. Y., HUNG, J. S., LIN, C. L., LIN, S. Z., & CHEN, C. L. (2018).” Impact of Vegan Diets on Gut Microbiota: An Update on the Clinical Implications”, **Tzu Chi Medical Journal**, C. 30, S. 4, s. 200.

- WORTELBOER, K., KOOPEN, A. M., HERREMA, H., VOS, W. M. D., NIEUWDORP, M., & KEMPER, E. M. (2022).” From Fecal Microbiota Transplantation Toward Next-Generation Beneficial Microbes: The Case of *Anaerobutyricum soehngenii*”, **Frontiers in Medicine**, C. 13, S. 11, s. 1-12.
- WU, Y., HU, S., WU, C., GU, F., & YANG, Y. (2022).” Probiotics: Potential Novel Therapeutics Against Fungal Infections”, **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, C. 11, S. 1, s. 1-6.
- YADAV, M. and CHAUGHAN, N. S. (2021).” Microbiome Therapeutics: Exploring the Present Scenario and Challenges”, **Gastroenterology Report**, C. 10, S. 1, s. 1-10.
- YERLIKAYA, O. and AKBULUT, N. (2019).” In Vitro Characterisation of Probiotic Properties of *Enterococcus faecium* and *Enterococcus durans* Strains Isolated from Raw Milk and Traditional Dairy Products”, **International Journal of Dairy Technology**, C. 73, S. 1, s. 98-107.
- YOHA, K., NIDA, S., DUTTA, S., MOSES, J., & ANANDHARAMAKRISHNAN, C. (2021).” Targeted Delivery of Probiotics: Perspectives on Research and Commercialization”, **Probiotics and Antimicrobial Proteins**, C. 14, S. 1, s. 15-48.
- YOUNUS, Z., GOYAL, S. M., SINGH, V., IKRAM, A., & IMRAN, M. (2021).” Genomic-Based Characterization of *Enterococcus* Spp.: An Emerging Pathogen Isolated from Human Gut”, **Molecular Biology Reports**, C. 48, S. 6, s. 5371-5376.
- YU, J., WANG, W. H., MENGHE, B. L., JIRI, M. T., WANG, H. M., LIU, W. J., BAO, Q. H., LU, Q., ZHANG, J. C., WANG, F., XU, H. Y., SUN, T. S., & ZHANG, H. P. (2011).” Diversity of Lactic Acid Bacteria Associated with Traditional Fermented Dairy Products in Mongolia”, **Journal of Dairy Science**, C. 94, S. 7, s. 3229-3241.
- YUKSEL, N., GELMEZ, B., & YILDIZ-PEKOZ, A. (2023).” Lung Microbiota: Its Relationship to Respiratory System Diseases and Approaches for

- Lung-Targeted Probiotic Bacteria Delivery”, **Molecular Pharmaceutics**, C. 20, S. 7, s. 3320-3337.
- ZALOILO, I., ZALOILO, O., RUD, Y., HRYTSYNIK, I., & ZALOILO, Y. (2021).” Use of Probiotics in Aquaculture (A Review)”, **Ribogospodars'ka Nauka Ukraïni**, C. 2, S. 56, s. 59-81.
- ZANJANI, M. A. K., EHSANI, M. R., TARZI, B. G., & SHARIFAN, A. (2017).” Promoting *Lactobacillus casei* and *Bifidobacterium adolescentis* Survival by Microencapsulation with Different Starches and Chitosan and Poly L-Lysine Coatings in Ice Cream”, **Journal of Food Processing and Preservation**, C. 42, S. 1, s. 1-10.
- ZAWISTOWSKA-ROJEK, A., ZARĘBA, T., & TYSKI, S. (2022).” Microbiological Testing of Probiotic Preparations”, **International Journal of Environmental Research and Public Health**, C. 19, S. 9, s. 1-19.
- ZHANG, H., WANG, M., JIA, J., ZHAO, J., RADEBE, S. M., & YU, Q. (2021).” The Protective Effect of *E. faecium* on *S. typhimurium* Infection Induced Damage to Intestinal Mucosa”, **Frontiers in Veterinary Science**, C. 8, S. 1, s. 1-10.
- ZHANG, Q., WANG, M., MA, X., LI, Z., JIANG, C., & ZENG, Q. (2022).” In Vitro Investigation on Lactic Acid Bacteria Isolated from Yak Faeces for Potential Probiotics”, **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, C. 12, S. 1, s. 1-13.
- ZHANG, X. ARK, YOU, Y., PENG, F., TANG, X., ZHOU, Y., LIU, J., LIN, D., & ZHOU, Y. (2022). Interaction of microbiota between fish and the environment of an in-pond raceway system in a lake. **Microorganisms**, C. 10, S. 1143, s. 1-13.
- ZHANG, J., ZHANG, H., WANG, L., ZHANG, K., QIU, Z., ZHANG, K., YUE, C., ZHANG, Y., ZHAO X., & LI, J. (2021b).” The Safety and Potential Probiotic Properties Analysis of *Streptococcus alactolyticus* Strain FGM Isolated from the Chicken Cecum”, **Annals of Microbiology**, C. 71, S. 1, s. 1-19.

- ZHAO, H., LU, Z., & LU, Y. (2022).” The potential of probiotics in the amelioration of hyperuricemia.” **Food & Function**, C. 13, S. 5, s. 2394-2414.
- ZHENG, J., WITTOUCK, S., SALVETTI, E., FRANZ, C. M. A. P., HARRIS, H. M. B., MATTARELLI, P., O'TOOLE, P. W., POT, B., VANDAMME, P., WALTER, J., WATANABE, K., WUYTS, S., FELIS, G. E., GÄNZLE, M. G., & LEBEER, S. (2020).” A Taxonomic Note on the Genus *Lactobacillus*: Description of 23 Novel Genera, Emended Description of the Genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, and Union of *Lactobacillaceae* and *Leuconostocaceae*”, **International Journal Of Systematic And Evolutionary Microbiology**, C. 70, S. 4, s. 2782-2858.
- ZHU, J., LIU, S., ZHANG, H., ZHAO, W., DING, J., DAI, R., XU, K., HE, C., LIU, J., YANG, L., & MENG, H. (2023).” Dynamic Distribution of Gut Microbiota During Alzheimer's Disease Progression in a Mice Model”, **APMIS**, C. 131, S. 9, s. 480-490.
- ZIELIŃSKA, D. and KOŁOŻYN-KRAJEWSKA, D. (2018).” Food-Origin Lactic Acid Bacteria May Exhibit Probiotic Properties: Review”, **BioMed Research International**, 2018, C. 2018, S. 1, s. 1-15.

## DİĞER KAYNAKLAR

- EUROPEAN DIRECTORATE FOR THE QUALITY OF MEDICINES & HEALTHCARE. (2021). **European Pharmacopoeia**, Council of Europe.
- FAO/WHO (2002). Guidelines for the Evaluation Of Probiotics in Food. Paris: **FAO**, ss. 1-11.
- International Organization for Standardization. (1998). Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the enumeration of mesophilic lactic acid bacteria — **Colony-count technique at 30 degrees C** (ISO 15214:1998). Geneva, Switzerland: ISO.

International Organization for Standardization. (2006). Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the enumeration of coliforms — **Colony-count technique** (ISO 4832:2006). Geneva, Switzerland: ISO.

International Organization for Standardization. (2013). Microbiology of the food chain — Horizontal method for the enumeration of microorganisms — **Part 2: Colony count at 30 degrees C by the surface plating technique** (ISO 4833-2:2013). Geneva, Switzerland: ISO.

International Organization for Standardization. (2014). Microbiology of food, animal feed and water — **Preparation, production, storage and performance testing of culture media** (ISO 11133:2014). Geneva, Switzerland: ISO.

International Organization for Standardization. (2017). Cosmetics — **Microbiology — Enumeration of yeast and mould** (ISO 16212:2017). Geneva, Switzerland: ISO.

ISAPP (2019). Probiotic Checklist: Making a Smart Selection, Sacramento, CA: **International Scientific Association of Probiotics and Prebiotics.**

TGK, (2017). Türk Gıda Kodeksi, Beslenme ve Sağlık Beyanları Yönetmeliği, Resmi Gazete, Sayı: 29960

U.S. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (2016). Guidance & Regulation. Retrieved from <http://www.fda.gov/Food/GuidanceRegulation/default.htm>

U.S. PHARMACOPEIAL CONVENTION. (2020).” USP General Chapter <62> Microbiological Examination of Nonsterile Products: Tests for Specified Microorganisms”, **United States Pharmacopeia and National Formulary** (USP 43-NF 38). Rockville, MD: United States Pharmacopeial Convention



## ÖZGEÇMİŞ

**Ad-Soyad** : Selçuk Ahmet ALGINGİL

### ÖĞRENİM DURUMU:

**Lisans Durumu** : 2000, İstanbul Üniversitesi- Cerrahpaşa Tıp Fakültesi

Tıbbi Biyolojik Bilimler Bölümü

:2019, Anadolu Üniversitesi İşletme Lisans Eğitimi  
(AÖF İşletme Fakültesi)

### Yüksek Lisans

#### Durumu

: 2019 İstanbul Aydın Üniversitesi Gıda Mühendisliği  
Yüksek Lisans Programı

### MESLEKİ DENEYİM ve ÖDÜLLER

2013 – : Fullgen Biyoteknoloji San.Tic.Ltd.Şti. (İstanbul)

Ar-Ge ve İş Geliştirme Müdürü

2006 – 2013 : Pera Medikal A.Ş. (İstanbul)Ürün Müdürü

2004 – 2006 : Genomed A.Ş. (İstanbul) Satış ve Aplikasyon Sorumlusu

