

T.C.  
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

PROBİYOTİK BACİLLUS TÜRLERİNİN BAZI GIDA  
PATOJENLERİ ÜZERİNE ANTİMİKROBİYAL ETKİSİNİN İN  
VİTRO İNCELENMESİ

**Burcu Mine ŞENOL**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Gıda Mühendisliği Programı

Danışman

Prof. Dr. Muhammet ARICI

Haziran, 2022

**T.C.**  
**YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**PROBİYOTİK BACİLLUS TÜRLERİNİN BAZI GIDA  
PATOJENLERİ ÜZERİNE ANTİMİKROBİYAL ETKİSİNİN İN  
VİTRO İNCELENMESİ**

Burcu Mine ŞENOL tarafından hazırlanan tez çalışması 16.06.2022 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Gıda Mühendisliği Programı **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Muhammet ARICI  
Yıldız Teknik Üniversitesi  
Danışman

**Jüri Üyeleri**

Prof. Dr. Muhammet ARICI, Üye  
Yıldız Teknik Üniversitesi

\_\_\_\_\_

Doç. Dr. Enes DERTLİ, Üye  
Yıldız Teknik Üniversitesi

\_\_\_\_\_

Doç. Dr. Ahmet Şükrü DEMİRCİ, Üye  
Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi

\_\_\_\_\_

Danışmanım Prof. Dr. Muhammet ARICI sorumluluğunda tarafımca hazırlanan Probiyotik *Bacillus* Türlerinin Bazı Gıda Patojenleri Üzerine Antimikrobiyal Etkisinin *in vitro* İncelenmesi başlıklı çalışmada veri toplama ve veri kullanımında gerekli yasal izinleri aldığımı, diğer kaynaklardan aldığım bilgileri ana metin ve referanslarda eksiksiz gösterdiğimi, araştırma verilerine ve sonuçlarına ilişkin çarpıtma ve/veya sahtecilik yapmadığımı, çalışmam süresince bilimsel araştırma ve etik ilkelerine uygun davrandığımı beyan ederim. Beyanımın aksinin ispatı halinde her türlü yasal sonucu kabul ederim.

Burcu Mine ŞENOL



Bu çalışma, TÜBİTAK tarafından desteklenen 1505 Üniversite-Sanayi İş Birliği programının 5190060 numaralı projesinden üretilmiştir.



*Rahmetli babam*  
*İbrahim İhsan ŞENOL'a,*

## TEŞEKKÜR

---

Yüksek lisans öğrenimim boyunca hoşgörü ile manevi desteğini esirgemeyen, engin deneyimi ve bilgi birikimi ile bana yardımcı olan, saygıdeğer danışman hocam Sayın Prof. Dr. Muhammet ARICI'ya teşekkürü borç bilirim.

TÜBİTAK 1505 Üniversite-Sanayi İş Birliği programı kapsamında desteklenen projenin parçası olan tezimde, proje kapsamında beraber çalıştığım değerli arkadaşım Burcu KAHRAMAN ve alt yapısından yararlandığım Yıldız Teknik Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü'ne;

2210-A Yurt İçi Genel Yüksek Lisans Burs Programı ile bana destek olan TÜBİTAK'a; Sınırsız sevgi ve sabrı ile yanımda olan sevgili annem Duygu ŞENOL ve aileme; en içten dileklerle teşekkür ederim.

Yüksek lisans tezimi:

Evladı olmaktan her zaman gurur duyduğum, beni dünyanın en şanslı çocuğu gibi hissettiren ve hayatım boyunca arkamdaki gücüm olacağına inandığım rahmetli babam İbrahim İhsan ŞENOL'a adıyorum.

Burcu Mine ŞENOL

# İÇİNDEKİLER

<b>SİMGE LİSTESİ</b>	<b>viii</b>
<b>KISALTMA LİSTESİ</b>	<b>ix</b>
<b>ŞEKİL LİSTESİ</b>	<b>x</b>
<b>TABLO LİSTESİ</b>	<b>xi</b>
<b>ÖZET</b>	<b>xii</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>xiv</b>
<b>1 GİRİŞ</b>	<b>1</b>
1.1 Literatür Özeti .....	1
1.2 Tezin Amacı .....	2
1.3 Hipotez .....	2
<b>2 LİTERATÜR TARAMASI</b>	<b>3</b>
2.1 Probiyotikler .....	3
2.1.1 Probiyotik Tanımı ve Tarihçesi .....	3
2.1.2 Probiyotiklerin Etki Mekanizması .....	4
2.1.3 Probiyotiklerin Sağlığa Yararlı Etkileri ve Kullanımı .....	5
2.1.4 Probiyotik Suşların Seçimi .....	7
2.1.5 Probiyotik Olarak Kullanılan Mikroorganizmalar .....	9
2.2 Probiyotik <i>Bacillus</i> .....	10
2.2.1 <i>Bacillus</i> .....	10
2.2.2 <i>Bacillus</i> Türlerinin Probiyotik Olarak Değerlendirilmesi .....	14
2.2.3 <i>Bacillus</i> Türleri Tarafından Üretilen Antimikrobiyal Maddeler .....	18
<b>3 MATERYAL VE METOT</b>	<b>22</b>
3.1 Materyal .....	22
3.1.1 Probiyotik Suşlar .....	22
3.1.2 Test Mikroorganizmaları .....	23
3.1.3 Çalışmada Kullanılan Besiyerleri ve Kimyasallar .....	23
3.2 Metot .....	23
3.2.1 Kültür Koşulları .....	23
3.2.2 Agar Kuyucuk Yöntemi ile Antimikrobiyal Aktivite Aranması .....	25
3.2.3 Sıvı Besiyerinde Antimikrobiyal Aktivite Tespiti .....	25
3.2.4 Sütte Antimikrobiyal Aktivite Tespiti .....	25
3.2.5 İstatiksel Analiz .....	26


<b>4 ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA</b>	<b>27</b>
4.1 Agar Kuyucuk Yöntemi ile Antimikrobiyal Aktivitenin Değerlendirilmesi .....	27
4.2 Nutrient Broth ve UHT Süt İçerisinde Antimikrobiyal Aktivitenin Değerlendirilmesi.....	29
4.2.1 <i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>aureus</i> ATCC25923 .....	30
4.2.2 <i>Listeria monocytogenes</i> ATCC13932.....	33
4.2.3 <i>Escherichia coli</i> CECT4972 .....	36
4.2.4 <i>Salmonella</i> Typhimurium ATCC14028.....	39
<b>5 SONUÇ VE ÖNERİLER</b>	<b>43</b>
<b>KAYNAKÇA</b>	<b>46</b>
<b>TEZDEN ÜRETİLMİŞ YAYINLAR</b>	<b>57</b>



## SİMGE LİSTESİ

---

±	Artı Eksi İşareti
pH	Asitlik veya Bazlık Derecesini Gösteren Ölçü Birimi
g	Gram
kDa	Kilodalton
µl	Mikrolitre
mL	Mililitre
mm	Milimetre
°C	Santigrat Derece
%	Yüzde



## KISALTMA LİSTESİ

---

ATCC	American Type Culture Collection
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
EFSA	European Food Safety Authority
FAO	Food And Agriculture Organization
FDA	Food And Drug Administration
GRAS	Generally Recognized As Safe
kob	Koloni Oluşturan Birim
log	Logaritma
OTC	Over The Counter
QPS	Qualified Presumption of Safety
RNA	Ribonükleik Asit
rRNA	Ribozomal RNA
SCAN	Scientific Committee on Animal Nutrition
ssp	Subspecies
TÜBİTAK	Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu
UHT	Ultra-High Temperature
WHO	World Health Organization

## ŞEKİL LİSTESİ

---

Şekil 2.1 <i>Bacillus</i> cinsinin taksonomisi .....	11
Şekil 2.2 <i>Bacillus clausii</i> 'ye ait Gram boyama görüntüsü .....	12
Şekil 2.3 <i>Bacillus subtilis</i> 'e ait endospor boyama görüntüsü .....	13
Şekil 3.1 (a) Nutrient agarda geliştirilmiş <i>S. aureus</i> , (b) Oxford Listeria selective agarda geliştirilmiş <i>L. monocytogenes</i> , (c) Violet red bile glucose agarda geliştirilmiş <i>E.coli</i> , (d) Salmonella shigella agarda geliştirilmiş <i>S. Typhimurium</i> .....	24
Şekil 4.1 K1S suşunun <i>S. aureus</i> ve <i>E. coli</i> üzerindeki antimikrobiyal aktivitesi.....	28
Şekil 4.2 Nutrient broth ve UHT sütte zamana bağlı canlı probiyotik <i>Bacillus</i> spp. sayısı .....	29
Şekil 4.3 Nutrient broth ve UHT sütte zamana bağlı canlı <i>S. aureus</i> sayısı.....	33
Şekil 4.4 Nutrient broth ve UHT sütte zamana bağlı canlı <i>L. monocytogenes</i> sayısı.....	36
Şekil 4.5 Nutrient broth ve UHT sütte zamana bağlı canlı <i>E. coli</i> sayısı .....	39
Şekil 4.6 Nutrient broth ve UHT sütte zamana bağlı canlı <i>S. Typhimurium</i> sayısı .....	42

## TABLO LİSTESİ

---

<b>Tablo 2.1</b> Yaygın olarak kullanılan probiyotik mikroorganizmaların cins ve türleri .....	9
<b>Tablo 2.2</b> <i>Bacillus</i> tarafından üretilen bakteriyosinlerin önerilen sınıflandırılması .....	20
<b>Tablo 3.1</b> Probiyotik suşlar .....	22
<b>Tablo 3.2</b> Test mikroorganizmaları .....	23
<b>Tablo 4.1</b> Agar kuyucuk yöntemi ile antimikrobiyal aktivite değerlendirilmesi .....	27
<b>Tablo 4.2</b> Nutrient broth ve UHT sütte zamana bağlı canlı <i>S. aureus</i> sayısı .....	31
<b>Tablo 4.3</b> Nutrient broth ve UHT sütte zamana bağlı canlı <i>L. monocytogenes</i> sayısı .....	34
<b>Tablo 4.4</b> Nutrient broth ve UHT sütte zamana bağlı canlı <i>E. coli</i> sayısı .....	37
<b>Tablo 4.5</b> Nutrient broth ve UHT sütte zamana bağlı canlı <i>S. Typhimurium</i> sayısı .....	41

## Probiyotik *Bacillus* Türlerinin Bazı Gıda Patojenleri Üzerine Antimikrobiyal Etkisinin *In Vitro* İncelenmesi

Burcu Mine ŞENOL

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Prof. Dr. Muhammet ARICI

Konakçı sağlığı üzerinde yararlı etkiler sağladığı bilinen probiyotikler, günümüzde gıda ürünlerine daha fazla dahil edilmekte ve gıda takviyesi olarak kullanımı önerilmektedir. Probiyotikler üzerine yapılan çalışmalar genellikle *Lactobacillus* spp. ve *Bifidobacterium* spp. üzerine odaklansa da son yıllarda *Bacillus* türlerinin insan gastrointestinal sisteminden izole edilmesi ve endospor oluşturmaları onları önemli probiyotik potansiyele sahip mikroorganizma grubu haline getirmiştir. Bu çalışmanın amacı probiyotik *Bacillus* türlerinin *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* (ATCC25923), *Listeria monocytogenes* (ATCC13932), *Escherichia coli* (CECT4972) ve *Salmonella* Typhimurium (ATCC14028)'a karşı antimikrobiyal aktivitesini *in vitro* olarak test etmektir. Bu amaçla farklı kaynaklardan izole edilen ve probiyotik özellikte oldukları belirlenen beş *Bacillus* spp. (*B. subtilis*, *B. coagulans*, *B. clausii*) suşunun antimikrobiyal akvitiesi *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *E. coli* O157:H7 ve *S. Typhimurium*'a karşı zamana bağlı olarak agar, broth ve UHT süt olmak üzere üç farklı ortamda araştırılmıştır. Agar kuyucuk yöntemine göre *B. coagulans* ve *B. clausii*'ye ait suşların seçilen test mikroorganizmalarına karşı herhangi bir antimikrobiyal aktivite gösterdiği tespit edilemezken *B. subtilis*'e ait suşların *S. aureus* ve *E. coli* O157:H7

üzerinde antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Canlı test mikroorganizma sayısı zamana bağlı olarak incelendiğinde bulgular broth ortamındaki probiyotik *Bacillus* spp. ve patojen kombinasyonlarındaki en yüksek inhibisyon etkisinin %50,69 canlı test mikroorganizması sayısı azalmasıyla *S. aureus*'a karşı olduğu tespit edilmiş ve aynı sonucun %33,14 azalmayla UHT süt ortamında da devam ettiği görülmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** *Bacillus*, probiyotik, patojen bakteri, inhibisyon, antimikrobiyal aktivite



## ***In Vitro* Evaluation of the Antimicrobial Effect of Probiotic *Bacillus* Species Against Some Food Pathogens**

Burcu Mine ŞENOL

Department of Food Engineering

Master of Science Thesis

Supervisor: Prof. Dr. Muhammet ARICI

Probiotics, which are known to have beneficial effects on host health, are being included in food products increasingly and their use as food supplements is recommended. Studies on probiotics are commonly based on *Lactobacillus* spp. and *Bifidobacterium* spp., in recent years the isolation of *Bacillus* species from the human gastrointestinal tract and their endospore formation have made them a group of microorganisms with important probiotic potential. The objective of this study is to determine the antimicrobial activity of probiotic *Bacillus* species against *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* (ATCC25923), *Listeria monocytogenes* (ATCC13932), *Escherichia coli* (CECT4972) and *Salmonella* Typhimurium (ATCC14028) in vitro. For this purpose, five *Bacillus* spp. (*B. subtilis*, *B. coagulans*, *B. clausii*) strains against *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *E. coli* O157:H7 and *S. Typhimurium* were investigated in three dissimilar media as agar, broth and UHT milk depending on time. According to the agar well method, it was not determined that the strains of *B. coagulans* and *B. clausii* showed any antimicrobial activity against the selected test microorganisms, while the strains of *B. subtilis* showed antimicrobial activity on *S. aureus* and *E. coli* O157:H7. When the number of viable test microorganisms is examined over time, the findings show that the probiotic *Bacillus*

spp. and pathogen combinations, it was determined that the highest inhibition effect was against *S. aureus* with a 50.69% decrease in the number of live test microorganisms, and it was observed that the same result continued in the UHT milk medium with a decrease of 33.14%.

**Keywords:** *Bacillus*, probiotic, pathogenic bacteria, inhibition, antimicrobial activity



### 1.1 Literatür Özeti

Günümüzde insan epitel yüzeylerinde kolonize olan mikroorganizmaların, insan mikrobiyotası ve sağlığını belirlemede kilit bir role sahip olduğu kabul edilmektedir. Probiyotikler, bağırsak mikrobiyotası üzerindeki etkileriyle konağın fizyolojik ve patolojik süreçleri üzerinde olumlu etkiye sahip mikroorganizmalardır (Erickson & Hubbard, 2000). Probiyotiklerin sağladığı sağlık yararları ile ilgili kesin bilimsel kanıtlar az olsa da onlar, bağırsak epitel bariyerini güçlendirebilmekte, bağışıklık sistemini modüle edebilmekte, antimikrobiyal maddeler üretebilmekte ve sentezleri için metabolik yolları kontrol ederek toksik maddelerin üretimini azaltabilmekte ayrıca bazı patojenlerin adhezyon kabiliyetini engelleyebilmektedir (Monteagudo-Mera vd., 2019).

*Bacillus* cinsinin üyeleri probiyotik olarak yaygın kullanım alanı bulan *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* cinslerine kıyasla spor oluşturması, gastrointestinal sistemde asit ve safra tuzlarına direnci, bağırsaktaki canlılığı, uzun raf ömründe hayatta kalabilme ve çeşitli antimikrobiyal bileşikleri üretme yeteneği gibi özelliklerinden dolayı farklı gıda ürünlerinde ve terapötiklere alternatif olarak giderek artan bir şekilde tercih edilen mikroorganizmalardır (Mohkam vd., 2016).

Probiyotik olarak kullanılacak potansiyel mikroorganizmaları seçerken, arzu edilen fizyolojik özelliklerin ve patojenik bakterilerin gelişmesini engelleme yeteneğinin belirlenmesi çok önemlidir. Patojenlere karşı antagonistik aktivite, probiyotik mikroorganizmaların etki mekanizmalarından biri olarak kabul edilir. Bu antipatojenik aktivite; bakteriyolitik enzimler, bakteriyosinler ve antibiyotikler gibi çok spesifik spektrumlara ve etki mekanizmalarına sahip bileşikler dahil olmak üzere farklı maddeleri üretme yetenekleri ve rekabetçi dışlama dahil olmak üzere pek çok değişkene bağlıdır. Bu maddelerin tümü *Bacillus* cinsi tarafından üretilir ve probiyotik *Bacillus* türlerinin patojenler ile doğrudan etkileşime girdiğini gösteren sınırlı sayıda çalışma mevcuttur (Urdaci & Pinchuk, 2004).

Bu çalışmada çeşitli kaynaklardan izole edilen ve potansiyel probiyotik özellikleri belirlenen beş *Bacillus* spp. (*B. subtilis*, *B. coagulans*, *B. clausii*) suşunun bazı gıda patojenlerine (*S. aureus*, *L. monocytogenes*, *E. coli* O157:H7, *S. Typhimurium*) karşı antimikrobiyal aktivitesi; agar, broth ve UHT süt olmak üzere üç farklı ortamda zamana bağlı olarak incelenmiştir.

## 1.2 Tezin Amacı

Bir mikroorganizmanın potansiyel probiyotik olarak kullanımının belirlenmesindeki en önemli kriterlerden biri de patojen mikroorganizmalar üzerinde antimikrobiyal etkiye sahip olmasıdır. Mevcut alışma, potansiyel probiyotik *Bacillus* suşlarının antimikrobiyal aktivitelerini bazı gıda patojenleri üzerine değerlendirerek bu tür karakterizasyona katkıda bulunmayı amaçlamaktadır. Ayrıca probiyotik suşların antimikrobiyal etkinliklerinin incelenmesinde farklı ortamların kullanılması probiyotik olarak kullanımının değerlendirilmesinde önemli olabilir.

## 1.3 Hipotez

Probiyotik *Bacillus* türlerinin antibakteriyel aktivitelerinin mekanizması ile ilgili bazı belirsizlikler olsa da daha önceki alışmalar *Bacillus* suşlarının bakteriyosinler veya bakteriyosin benzeri maddeler üreterek bakteriyel patojenler üzerinde inhibisyon etkisine sahip olduğunu bildirmiştir. Bu anlamda hipotezimiz, çeşitli kaynaklardan izole edilen ve potansiyel probiyotik olarak kullanılan farklı türlere ait *Bacillus* suşlarının bazı gıda patojenlerine karşı antimikrobiyal aktivitesini farklı ortamlarda değerlendirerek ileri aşamalarda gerekli fonksiyonel kriterleri karşılamadaki önemini ortaya koyarak potansiyel probiyotik olarak kullanımını, enfeksiyonları kontrol ve tedavi etmekte alternatif stratejiler olarak önemini ortaya koymaktır.

## 2.1 Probiyotikler

### 2.1.1 Probiyotik Tanımı ve Tarihçesi

Probiyotikler, konakçı sağlığı üzerindeki etkilerini ve etki mekanizmalarını anlamamıza bağlı olarak bugüne kadar çok çeşitli şekillerde tanımlanmıştır. Probiyotik terimi, Yunanca kökenlidir ve “yaşam için” anlamına gelmektedir. Yaşam için; konağın sağlık kalitesini arttıran her organizma veya madde anlamına gelir. Probiyotik teriminin tanımı ilk defa 1908 yılında fermente süt ürünlerinin tüketiminin ömrü uzattığını belirten Metchnikoff tarafından yapılmıştır. Fakat tanım yıllar içinde değişip gelişmiştir (Zendeboodi vd., 2020). Lilly ve Stillwell (1965) probiyotik terimini bir mikroorganizma tarafından üretilen gelişmeyi destekleyen maddeleri tanımlamak, Sperti ise 1971 yılında mikrobiyal gelişmeyi uyaran doku ekstraktlarını tanımlamak için kullanmıştır (Fuller, 1992). Probiyotik terimini bağırsak mikrobiyotasıyla ilişkilendiren ilk kişi Parker olmuştur. Parker (1974) probiyotiği bağırsaklarda mikrobiyal dengeye neden olan organizma ve maddeleri tanımlamak için kullanmıştır. Roy Fuller (1992) Parker’ın tanımını geliştirerek probiyotikleri “konakçının bağırsak mikrobiyotasını olumlu yönde etkileyen canlı mikrobiyal takviyeler” olarak tanımlamıştır. Bu anlamda Fuller canlılık üzerine vurgu yapan ilk kişi olmuştur. Haveenar ve In't Veld (1992) probiyotiklerin tek veya karışık kültürler şeklinde alınabilen canlı mikroorganizmalar olduğuna dikkat çekmiştir. Salminen (1996) probiyotik tanımını, canlı bir mikrobiyal kültür veya kültürlü süt ürünü olarak genişletmiştir. Yani probiyotiğin süt ürünlerinin mikrobiyal kültürü olduğuna dikkat çekmiştir. Salminen ve arkadaşları (1999) probiyotiklerin mutlaka canlı olması gerekmediğini ifade etmiş ve aynı zamanda konakçı sağlığı üzerinde faydalı etkiye sahip olan mikrobiyal hücrelerin bileşenlerini de probiyotik tanımına dahil etmiştir. Schrezenmeir ve Vrese yerli mikrobiyotanın optimal özellikleri o ana kadar tanımlanmadığı için probiyotiklerin mikrobiyotayı iyileştirmesi yerine değiştirmesi ifadesini kullanmış ve sağlık etkilerinin ortaya çıkması için yeterli mikrobiyal sayının gerekliliğine vurgu yapmıştır. Ayrıca probiyotiklerin konağın bir bölümünde mikrobiyotayı değiştirdiğini dile getirmiş ve mikroorganizmalara ek olarak

ürünleri de bu tanıma dahil etmiştir (Schrezenmeir ve Vrese, 2001). WHO ve FAO tarafından probiyotikler “yeterli miktarlarda alındığında konakçının sağlığını olumlu yönde etkileyen canlı mikroorganizmalar” olarak tanımlanmıştır. O zamandan beri bu tanım kabul görmüş ve günümüzde probiyotik ürünleri canlılık ve miktar olarak değerlendirmek için bir kriter olarak kullanılmaktadır (FAO/WHO, 2002).

### 2.1.2 Probiyotiklerin Etki Mekanizması

Farklı suşlar ve farklı ürün formülasyonlarının mevcut olduğu göz önüne alındığında probiyotikler nasıl çalışır sorusuna verilecek tek bir cevap yoktur (Reid, 2016). Belirli bir probiyotiğin ne tür bir etki göstereceği metabolik özelliklerine ve salgılanan bileşiklerine bağlıdır. Etki mekanizmaları geniş çapta kanıtlanmamış olsa da *in vitro* ve bazı *in vivo* deneyler birkaçını desteklemektedir. Probiyotiklerin etkileri üç etki biçiminde sınıflandırılabilir (Oelschlaeger, 2010):

- (I) Probiyotikler doğuştan gelen ve kazanılmış bağışıklık sistemi dâhil olmak üzere konağın savunmasını modüle edebilir. Bu etki sindirim sistemi bölümlerinin kronik ve iltihabi hastalıklarının tedavisi için önemlidir.
- (II) Probiyotiklerin diğer kommensal veya patojen mikroorganizmalar üzerinde doğrudan etkisi olabilir. Bu etki bağırsaktaki mikrobiyal denge, enfeksiyonların tedavisi ve önlenmesinde etkilidir.
- (III) Probiyotik etkiler toksinler, konakçı ürünleri (safra tuzları ve gıda bileşenleri vb.) gibi mikrobiyal ürünleri etkileyen olaylara bağlı olabilir. Bu tür durumlar bağırsaktaki konakçı ve gıda bileşenlerinin detoksifikasyonuna, toksinlerin inaktivasyonuna neden olabilir.

Probiyotik mikroorganizmaların konak üzerinde çok sayıda ve çok çeşitli etkileri vardır. Probiyotikler epitelyal ve dendritik hücreler ve monositler/makrofajlar ve lenfositlerle etkileşime girme yetenekleri ile immünomodülatör etki göstermektedir (Gómez-Llorente vd., 2010). Bağırsak bariyeri, epitel bütünlüğünü korumak ve organizmayı çevreden korumak için kullanılan önemli bir savunma mekanizmasıdır. Bağırsak epiteli, lümen içeriği değişken enterik mikrobiyota ile sürekli temas halindedir. Bağırsak bariyerinin savunması, mukus tabakası, antimikrobiyal peptitler, salgı IgA ve epitelyal bağlantı adezyon kompleksinden oluşur (Bermudez-Brito vd., 2012). Bu bariyer işlevi bozulursa inflamatuvar bağırsak hastalığı gibi bozukluklara neden olabilir. Probiyotik bakterilerin bu bariyerin korunmasına katılımları, bağırsak bariyer fonksiyonunu

geliştirme mekanizmaları kapsamlı bir şekilde incelenmiştir (Ohland & Macnaughton, 2010). Bağırsak mukozasına yapışma, kolonizasyon için bir ön koşul olarak kabul edilir ve probiyotik suşlar ile konakçı arasındaki etkileşim için önemlidir. Probiyotiklerin bağırsak mukozasına yapışması, bağışıklık sisteminin modülasyonu ve patojenlere karşı antagonizma için de önemlidir (Beachey, 1981). Adhezyon önleyici etki, aynı reseptör için probiyotik ve patojen arasındaki rekabetin veya probiyotikler tarafından müsin üretiminin uyarılmasının sonucu olabilir (Mack vd., 2003). Müsin glikoproteinleri, epitelyal mukusun ana makromoleküler bileşenleridir. Probiyotikler, bariyer fonksiyonunu iyileştirmek için bir mekanizma olarak mukus salgılanmasını teşvik edebilir. Probiyotik bakteriler, hücre kültürü deneylerinde epitel hücrelerine tutunabildikleri ve böylece patojenlerin adhezyonunu engelledikleri için, bu mekanizmanın konakçıdaki probiyotik etki için önemli olduğu tahmin edilmektedir. Bağırsak mikrobiyotasının patojenik bakteriler tarafından kolonizasyona direnç gösterdiği mekanizmalardan biri de pH, redoks potansiyeli ve hidrojen sülfür üretimi ile ilgili olarak fizyolojik olarak kısıtlayıcı bir ortamın üretilmesidir. Probiyotikler, lümen pH'sını düşürerek, bakteri tutunmasını ve yer değiştirmesini engelleyerek veya antibakteriyel maddeler üreterek patojenik bakterileri antagonize edebilir (Ng vd., 2009). Probiyotik bakteriler, safra tuzlarının türevleri olan dekonjuge safra asitleri üretebilir. Dekonjuge safra asitleri, konakçı organizma tarafından sentezlenen safra tuzlarına kıyasla daha güçlü bir antimikrobiyal aktivite gösterir (Candela vd., 2010).

### **2.1.3 Probiyotiklerin Sağlığa Yararlı Etkileri ve Kullanımı**

Beslenmenin rolü, yalnızca vücudun metabolik gereksinimlerini karşılamak için yeterli besini sağlamak değil, aynı zamanda vücudun çeşitli işlevlerini modüle etmektir. Probiyotikler temel sağlık destekleyiciler olarak kabul edilir ve klinik sağlık yararları için kullanılmaktadır. Probiyotik mikroorganizmaların yararlı sağlık etkisi sergileyebilmesi için konakçının mide ve gastrointestinal sistem koşullarında hayatta kalabilmesi gerekmektedir. Minimum etkili konsantrasyon hakkındaki bilgiler tartışmalı olsa da, probiyotik ürünlerin minimum konsantrasyonda  $10^6$  kob/mL veya g olması gerektiği ve günde toplam  $10^8$ - $10^9$  probiyotik mikroorganizmanın alınması gerektiği genel olarak kabul edilmektedir (Sanders, 2008). Probiyotikler laktoz intoleransı, antipatojenik, antidiyabetik, antiobezite, antiinflamatuvar, antikarsinojenik, antialerjik ve anjiyojenik aktiviteler gibi çeşitli özellikleri ile konak sağlığı üzerinde faydalı etkiler gösterirler (Vijaya Kumar vd., 2005; Quijano, 2011; Galdeano vd., 2019).

Laktoz intoleransı, probiyotiklerin araştırılan sağlık etkilerinden biridir. Probiyotikler safra salgılarıyla parçalandığında bağırsak lümeni içinde yüksek düzeyde laktaz içerir. Laktaz daha sonra sindirilen laktozu azaltarak sindirim semptomları üzerinde etki eder (Tuohy vd., 2003).

Bağırsak popülasyonundaki çeşitli mikrobiyal türler arasındaki denge insan sağlığının korunması için bir ön koşuldur. İnflamatuvar bağırsak hastalıkları kronik veya tekrarlayan bağırsak iltihabı ile karakterize rahatsızlıklardır. Araştırmalar, bağırsak mikrobiyotasındaki bir dengesizliğin, inflamatuvar bağırsak hastalıklarının pozitif düzenlenmesinde önemli bir patofizyolojik rol oynadığını göstermiştir. Ayrıca, bozukluğun probiyotik takviye yoluyla değiştirilebileceği de anlaşılmıştır (Vasiljevic & Shah, 2008). Aynı zamanda bağırsak mikrobiyal popülasyonunda dengesizliğine neden olan diyarenin önlenmesi ve tedavisinde, özel durumlarda probiyotik laktik asit bakterileri ve bifidobakterilerin kullanılması da iyi bir seçim olarak ortaya çıkmıştır (Samaržija vd., 2009).

Probiyotiklerin insan sağlığını geliştirme yollarından biri de patojenler tarafından kullanılacak olan gelişme ve çoğalma gerekli olan besinler için rekabet ederek patojenik bakterilerin gelişmesini engellemektir. Bu aktiviteleri probiyotiklerin en faydalı etkilerinden biri olarak kabul edilir çünkü bağırsak mikrobiyotası bileşimindeki herhangi bir bozukluk veya değişiklik inhibe edilebilir. Ayrıca probiyotikler antimikrobiyal bileşiklerin sentezi yoluyla da patojenik bakterilerin gelişmesini engelleyebilir. Bakteriyosin, organik asitler, etanol, hidrojen peroksit, biyoaktif peptitler, diasetil ve asetaldehitler gibi çok çeşitli antipatojenik bileşikler üreterek bakterisidal ve bakteriyostatik etki gösterirler (Miyazaki vd., 2010; Nielsen vd., 2010; Islam, 2016).

Probiyotikler antimutajenik etkilere sahip olabilir veya kanserojen oluşumun modülasyonu ve tümörlerin baskılanması yoluyla mutajenik aktiviteyi inhibe edebilir. Bunlar, hastalığı azaltmak ve minimum yan etkisi olan veya hiç yan etkisi olmayan etkili bir ilaç geliştirmek, işbirlikçi bir şekilde çalışmak için klinik beslenme uzmanları tarafından ilgi görmüştür (Reddy, 1998).

Alerjik hastalıkların etiolojisine katkı sağlayan yeni tedavi yaklaşımlarını anlamak hastalıkların önlenmesi ve takibi için önem taşımaktadır. İnsanların gıdalar ile çok sayıda çevresel ajana maruz kalması, bağışıklık bozukluklarının neden olduğu alerjik

hastalıkların artan prevalansını da beraberinde getirmektedir. Bağırsak mukozası, bu antijenleri asimile etmede etkilidir (Mersha ve Pandita, 2018). Bağırsak mukozal bariyerinin önemli bir bileşeni de bağırsak mikrobiyotasıdır, ve bağırsak mikrobiyotasındaki herhangi bir aksaklıkta antijen taşınması artar. Probiyotik mikroorganizmaların, gıda alerjisi ve atopik dermatit olan hastalarda endojen bariyer mekanizmalarını desteklediği bildirilmiştir (Majamaa & Isolauri, 1997). *Lactobacillus plantarum* L67 gibi belirli probiyotiklerin *in vitro* çalışmaları, konakçılarında interlökin-12 ve interferon-g üretimi ile alerji ile ilişkili bozuklukları önleme potansiyelini göstermiştir (Song vd., 2016).

Bağırsak mikrobiyotasının obezite tedavisinde yeni bir yaklaşım olabileceği öne sürülmüştür. Çalışmalar *Lactobacillus gasseri* SBT2055, *L. rhamnosus* ATCC53103 ve *L. rhamnosus* ATCC53102 ve *Bifidobacterium lactis* Bb12 kombinasyonunun yağlanmayı, vücut ağırlığını ve kilo alımını azaltabileceğine işaret etmiştir. Ayrıca, kısa zincirli yağ asidi üretimi ve düşük dereceli inflamasyon, metabolizmayı ve vücut ağırlığını etkileyen temel etki mekanizmaları olarak bulunmuştur (Mekkes vd., 2013).

Probiyotiklerin glukoz homeostazında dolaylı bir rol oynamasından dolayı diyabetik komplikasyonları kontrol altına almak için alternatif bir korunma yaklaşımı ve tedavi yöntemi olarak kullanılabilirliği öne sürülmektedir. Tip 2 diyabetli hastalar üzerine yapılan bir çalışmada günlük belirli bir miktar probiyotik yoğurt tüketiminin tip 2 diyabetli hastalarda HbA1c ve bazı inflamatuvar belirteçleri azaltabileceğini göstermiştir (Mohamadshahi vd., 2014). Aynı şekilde gestasyonel diyabetli kadınlarda probiyotiklerle takviye, bazı inflamatuvar belirteçleri modüle etmeye yardımcı olabilir ve glisemik kontrol üzerinde yararları olabilir (Jafarnejad vd., 2016).

#### **2.1.4 Probiyotik Suşların Seçimi**

Biyofonksiyonel ürünler pazarı sürekli olarak mevcut ürünlerin uygulanmasına ve çeşitlendirilmesine ihtiyaç duymaktadır. Bu da farklı ve spesifik fonksiyonel özelliklere sahip yeni suşların seçimini içermektedir (de Melo Pereira vd., 2018). Hedef fonksiyonların çeşitliliği ve teknolojik uygulamalar nedeniyle, yeni probiyotik adaylarının seçimi ve değerlendirilmesi, birden fazla adım içeren kapsamlı bir yaklaşım gerektirir. Mikrobiyal suşların probiyotik kriterleri karşılayıp karşılamadığını araştırmak için bir dizi *in vitro* deney mevcuttur. *In vitro* deneylerde doğrulanmış bu genel seçim kriterlerine dayanarak, mikroorganizmaları probiyotik suşları potansiyel değerlerine

göre taramak mümkündür (Havenaar vd., 1992). *In vitro* çalışmaları hayvan modellerinde yapılan çalışmalar takip etmektedir, insana yöneldikten sonra klinik çalışmalar (faz 1), bireysel hasta çalışmaları (faz 2) ve son olarak büyük ölçekli insan çalışmaları (faz 3) ile tamamlanmaktadır. Son olarak uygun hedefe spesifik *in vitro* testlerin *in vivo* sonuçlarla korelasyonu önerilir (Conway, 1996). Bir mikroorganizma suşunun probiyotik olarak değerlendirilebilmesi için şu özellikleri taşıması beklenir (Saarela vd., 2000; Shewale vd., 2014):

1. Probiyotik suş genel olarak güvenli kabul edilen (GRAS) mikroorganizmaları temsil etmelidir.
2. Probiyotik insan orjinli olmalıdır.
3. WHO/FAO yönergelerine göre probiyotikler suşa özgüdür, dolayısıyla cins, tür ve suş düzeyinde tanımlanmalıdır.
4. Seçilen suşlar patojenik ve toksik olmamalıdır.
5. Midenin asidik koşullarına ve safra asitlerine karşı dirençli olmalıdır.
6. Potansiyel olarak patojen bakterilere karşı antimikrobiyal etki göstermelidir.
7. Doğal veya kazanılmış bağışıklığın çeşitli yönlerini uyarabilmenin yanı sıra düzenleyebilmelidir.
8. Bağırsaklarda kolonize olmalı ve tutunabilmelidir.
9. Antimutajenik ve antikarsinojenik özellikler göstermelidir.
10. Aktarılabılır antibiyotik direnç genlerine sahip olmalıdır.

Bir probiyotik suş, gerekli güvenlik ve fonksiyonel kriterleri yerine getirirse de probiyotik üretimi ve işlenmesi ile ilgili hususlar da son derece önemlidir. Probiyotik seçiminde çeşitli teknolojik yönler dikkate alınmalıdır (Chang vd., 2010; Divya vd., 2012; Fernandez-Pacheco vd., 2018):

1. Probiyotikler canlılığını kaybetmeden depolama şartlarında hayatta kalma ve yaşamını sürdürme yeteneğine sahip olmalıdır.
2. Önemli canlılık kaybı olmaksızın işleme koşullarına dayanıklı olmalıdır.
3. Basit bir fermantasyon ortamında maksimum konsantrasyonda hızla gelişme yeteneğine sahip olmalıdır.
4. Üründe iyi duyuşsal özelliklere neden olmalıdır.
5. Faj direncine sahip olmalıdır.

### 2.1.5 Probiyotik Olarak Kullanılan Mikroorganizmalar

Yaygın olarak kullanılan probiyotik mikroorganizma cins ve türleri Tablo 2.1’de listelenmiştir (George Kerry vd., 2018).

**Tablo 2.1** Yaygın olarak kullanılan probiyotik mikroorganizmaların cins ve türleri

<b>Probiyotik Mikroorganizma Cinsi</b>	<b>İlgili Türler</b>
<i>Lactobacillus</i>	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> <i>Lacticaseibacillus paracasei</i> <i>L. acidophilus</i> <i>Lacticaseibacillus casei</i> <i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i> <i>L. crispatus</i> <i>L. gasseri</i> <i>Limosilactobacillus reuteri</i> <i>L. bulgaricus</i> <i>Limosilactobacillus fermentum</i> <i>L. johnsonii</i> <i>L. helveticus</i> <i>L. sporogenes</i>
<i>Propionibacterium</i>	<i>P. jensenii</i> <i>P. freudenreichii</i>
<i>Peptostreptococcus</i>	<i>P. productus</i>
<i>Bacillus</i>	<i>B. coagulans</i> <i>B. subtilis</i> <i>B. clausii</i> <i>B. licheniformis</i> <i>B. polyfermenticus</i> <i>B. cereus</i> <i>B. laterosporus</i>
<i>Lactococcus</i>	<i>Lc. lactis</i> <i>Lc. reuteri</i> <i>Lc. rhamnosus</i> <i>Lc. casei</i> <i>Lc. acidophilus</i>

**Tablo 2.1** Yaygın olarak kullanılan probiyotik mikroorganizmaların cins ve türleri  
(devamı)

<i>Enterococcus</i>	<i>E. faecium</i>
<i>Pediococcus</i>	<i>P. acidilactici</i> <i>P. pentosaceus</i>
<i>Streptococcus</i>	<i>S. sanguis</i> <i>S. oralis</i> <i>S. mitis</i> <i>S. thermophilus</i> <i>S. salivarius</i>
<i>Bifidobacterium</i>	<i>B. adolescentis</i> <i>B. infantis</i> <i>B. longum</i> <i>B. catenulatum</i> <i>B. breve</i> <i>B. animalis</i> <i>B. bifidum</i> <i>B. thermophilum</i>
<i>Bacteriodes</i>	<i>B. uniformis</i>
<i>Akkermansia</i>	<i>A. muciniphila</i>
<i>Saccharomyces</i>	<i>S. boulardii</i> <i>S. cerevisiae</i>

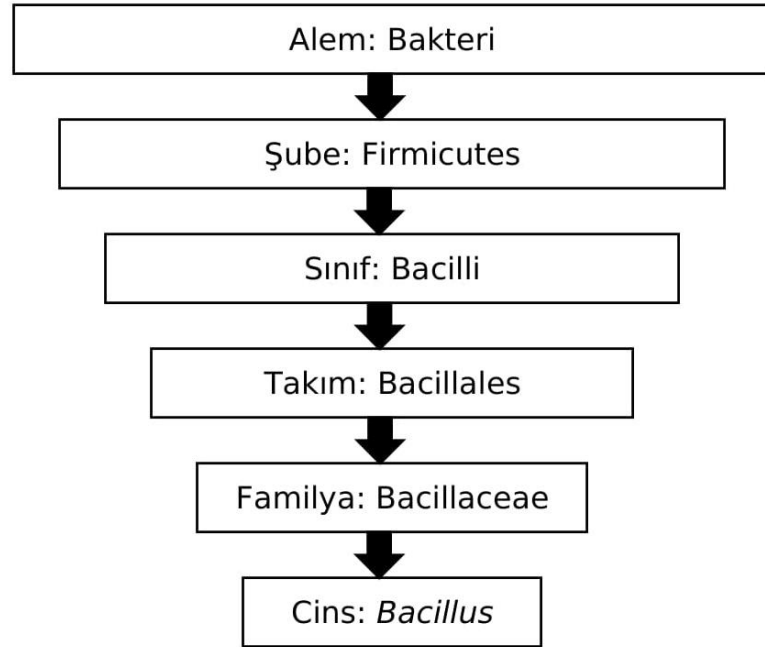
## 2.2 Probiyotik *Bacillus*

### 2.2.1 *Bacillus*

*Bacillus* cinsi taksonomik olarak sınıflandırıldığında (Şekil 2.1) Firmicutes şubesi içerisinde yer alır ve Bacillaceae familyasına mensuptur. Bacillaceae familyası; genellikle protein ortamını enzimler aracılığıyla aktif olarak ayrıştıran, peritrik flagellaya sahip Gram pozitif endospor üreten çubuk şeklindeki bakteriler olarak tanımlanmıştır. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology'in son baskına göre *Bacillus*, *Alkalibacillus*, *Amphibacillus*, *Anoxybacillus*, *Cerasibacillus*, *Filobacillus*, *Geobacillus*, *Gracilibacillus*, *Halobacillus*, *Halolactibacillus*, *Lentibacillus*, *Marinococcus*, *Oceanobacillus*, *Paraliobacillus*, *Pontibacillus*, *Saccharococcus*,

*Tenuibacillus*, *Thalassobacillus* ve *Virgibacillus* olmak üzere 19 farklı cins bu familyanın içerisinde yer almaktadır (Logan & Vos, 2015).

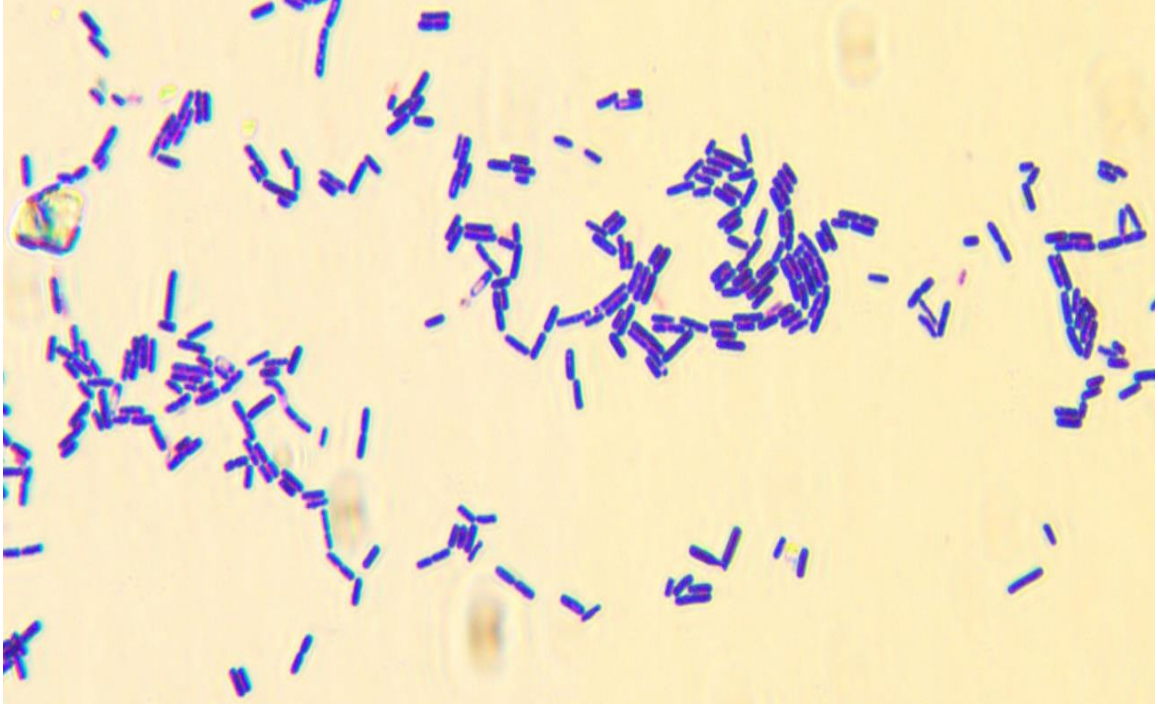
*Bacillus* ise genellikle uzun iplikler halinde bulunan ve rizoid koloniler oluşturan çoğunluğu saprofit aerobik formlar olarak tanımlanmıştır. *Bacillus* cinsi içerisinde pek çok farklı türe ev sahipliği yapmaktadır fakat başlangıçta *Bacillus* cinsinin üyeleri olarak tanımlanan birçok tür, şimdi farklı cins ve familyaların temsilcileri olarak yeniden sınıflandırılmaktadır. Bergey's Manual'ın en son versiyonu 142 *Bacillus* türünü listelemiştir ve bunlardan 95 tanesi onaylanmış türdür. *Bacillus* terimi genel olarak iki farklı anlamda kullanılmıştır; birincisi cins adı olarak ikincisi ise bakteriyologlar tarafından en yaygın olarak kabul edilen "bacillus" olarak şekle genel bir gönderme olarak ifade edilmiştir (Borriss, 2020).



**Şekil 2.1** *Bacillus* cinsinin taksonomisi

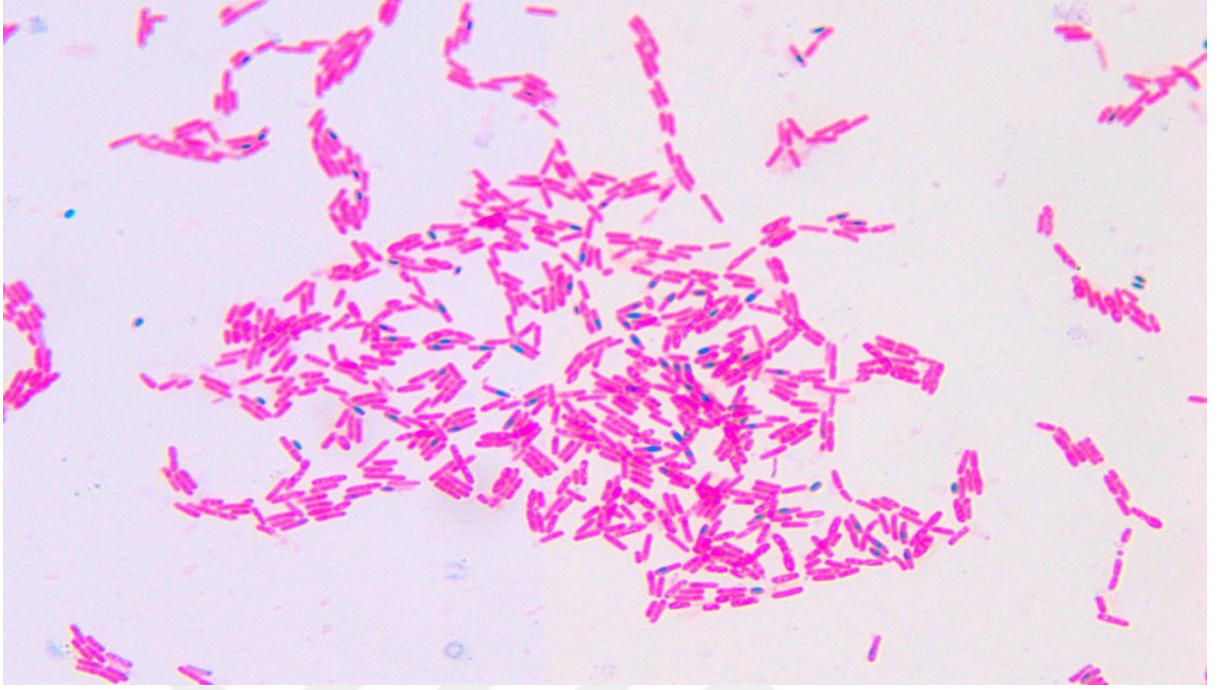
Günümüzde endospor oluşturan *Bacillus subtilis*, genel olarak Gram pozitif bakteriler için bir paradigma olarak kabul edilir (Kunst vd., 1997). *Bacillus* cinsine olan ilgi 19. yüzyılın büyük bilim adamları; modern mikrobiyolojinin kurucularından Ferdinand Cohn, saf bakteri kültürü elde etmek için ilk yöntem olan *B. anthracis*'i kullanarak geliştiren Robert Koch ve ilk olarak un değirmeninden *B. thuringiensis*'i izole eden Alman bilim adamı Ernst Berliner'e kadar gitmektedir (Cohn, 1875; Koch, 1876; Berliner, 1915).

*Bacillus* türleri çubuk şeklinde (Şekil 2.2), endospor oluşturan (Şekil 2.3) aerobik veya fakültatif anaerobik, peritrik veya dejenere peritrik flagella yoluyla hareketli veya hareketsiz, katalaz pozitif, oksidaz pozitif veya negatif, Gram pozitif bakterilerdir; bazı türlerde kültürler yaşlanmaya bağlı olarak Gram negatif olabilir. Koloni morfolojisi ve boyutu türler arasında çok değişkendir. Hücreler tek tek ve çiftler halinde, düz veya hafif kavisli, çubuk şeklinde, bazıları zincirler halinde ve bazen de uzun filamentler halindedir (Gordon vd., 1973).



**Şekil 2.2** *Bacillus clausii*'ye ait Gram boyama görüntüsü

Üstel gelişme fazının sonunda endosporlar oluşur. Sporülasyonun indüklenmesinde besin yoksunluğu, gelişme sıcaklığı, çevresel pH, belirli minerallerin varlığı ve karbon, nitrojen ve fosfor kaynakları ve bunların konsantrasyonları dâhil olmak üzere birçok başka faktör tetikleyici olarak rol oynamaktadır. Endospor merkezi protoplast ve protoplastı çevreleyen, sporun ısı ve radyasyon direncinde de önemli olan büyük ölçüde peptidoglikandan (murein) oluşan bir kortekstir. Sporlar türe bağlı olarak elipsoidal, silindirik veya küresel, konum esas olarak merkezi, subterminal veya terminal olabilir. Çoğu *Bacillus* türü nutrient agar veya kanlı agar gibi standart gelişme ortamlarında gelişebilmektedir. Endosporların oluşumu da normal olarak genel bir besiyerinde geliştikten sonra spor boyama ile gözlemlenebilir (Turnbull vd., 1996; Graumann, 2007).



**Şekil 2.3** *Bacillus subtilis*'e ait endospor boyama görüntüsü

*Bacillus* cinsi çok çeşitli sıcaklıklarda (30-70°C), pH değerlerinde (5-10) ve tuz konsantrasyonlarında (%2-10) gelişebilen termofilik, psikrofilik, asidofilik, alkalifilik, halotolerant ve halofilik türler içerir. Çoğunlukla topraktan veya toprakla kontamine olan ortamlardan izole edildikleri için toprak organizmaları oldukları düşünülse de aynı zamanda su, gıda ve klinik örnekler gibi birçok farklı kaynaktan bulunabilirler (Priest, 1993; Nicholson, 2002).

*Bacillus* cinsi fenotipik ve genotipik karakterleri açısından heterojen bir gruptur. Bu grup içerisinde insanlar ve hayvanlarda hastalıkla ilişkili patojenik potansiyele sahip fırsatçı patojen ve toksin üreticisi türleri barındırır. Bilinen patojen türler *Bacillus anthracis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus thuringiensis* ve *Bacillus licheniformis*'dir. *Bacillus anthracis* şarbon hastalığına neden olur ve hastalığı insanlar doğrudan veya dolaylı olarak enfekte otçul hayvanlardan alırlar. Şarbon hastalığının bilinen üç türü vardır: (1) enfekte olmuş hayvanlarla ile temastan kaynaklanan kutanöz (cilt) şarbonu ki bu hastalığın en yaygın görülen fakat en az tehlikeli olan şeklidir, (2) enfekte hayvansal ürünlerinin tüketimi sonucu sindirim sistemi üzerinde etkisi olan bağırsak şarbonu, (3) spor yüklü tozun solunmasından kaynaklanan pulmoner şarbonudur ki bu hastalığın en nadir görülen türüdür (Hugh-Jones & Blackburn, 2009). *Bacillus cereus* iki farklı enterotoksin üreterek gıda zehirlenmelerine neden olur: Bunlar, mide bulantısı ve kusma

ile karakterize hızlı başlangıçlı bir emetik sendrom ve daha yavaş başlangıçlı, hafif seyreden bir diyarejenik sendromdur (Kotiranta vd., 2000). *Bacillus thuringiensis* sporları ise toprak, rizosfer, filoplan, tatlı su gibi çeşitli ortamlardan ve böcekler, kabuklulardan izole edilebilir. Genellikle toprakta yaşayan ve uygun koşullar altında fırsatçı bir patojen olarak hareket eden bu bakteri insektisidal özelliği nedeniyle biyopestisit olarak kullanılmaktadır (Raymond vd., 2010).

### **2.2.2 *Bacillus* Türlerinin Probiyotik Olarak Değerlendirilmesi**

*Bacillus* türleri genellikle topraktan veya toprak ile kontamine olan ortamlardan izole edildikleri için toprak organizmaları olarak düşünülse de potansiyel probiyotik etkileri üzerine yapılan çalışmalar onları bağırsak kommensalleri olarak düşünmeye itmiştir. *Bacillus* spp. bağırsağın doğal bir sakini değildir ve allokton olarak kabul edilir. Ancak toprak mikrobiyotası ile kontamine olmuş gıda maddelerinin tüketilmesi sonucu bağırsak yolunda kolonize olurlar. İnsan gastrointestinal sistemi üzerinde yapılan araştırmalar gaitadan elde edilen izolatların büyük çoğunluğunun 16S rRNA gen dizisi analizleri sonucunda *Bacillus* cinsine ve ilgili türlere ait olduğunu göstermiştir. Bu durum *Bacillus* suşlarının konağın dışkı mikrobiyotası üzerindeki etkisinin önemli olduğunu, konakçıyla benzersiz simbiyotik ilişkiler gösterebileceğini ve probiyotik potansiyele sahip suşların insan bağırsağından izole edilebileceğini kanıtlamıştır (Tam vd., 2006; Hoyles vd., 2012).

Endospor oluşumu bir mikroorganizma için hayatta kalma mekanizmasıdır. Çoğu mikroorganizma için spor oluşumunun biyolojik rolü, normalde diğer mikroorganizmalar için öldürücü olabilecek ekstrem koşullarda hayatta kalmak ve hücrelerin çoğalma şansını artırmaktır. Sporların uzun süreler boyunca hayatta kalma yeteneği, biyoteknolojik açıdan bakıldığında bu yaşam döngüsü olgusunu probiyotik suşların üretim, depolama ve teslimini iyileştirmek için bir fırsat olarak ortaya çıkarmıştır (Todorov vd., 2021). Laktik asit bakterileri ile karşılaştırıldığında bakteriyel spor oluşturucular araştırma ilgisi açısından yüksek popülerlik kazanmamış olsa da insan diyet takviyelerinde ve hayvan yemlerinde probiyotik takviyeler olarak kullanım alanı bulmuştur. Sporların ısı işleme dayanıklı olması, gastrik bariyerin düşük pH'sında hayatta kalabilmesi, canlılık üzerinde herhangi bir zararlı etki olmaksızın oda sıcaklığında kurutulmuş bir biçimde saklanabilmesi, spor halinde kullanıldığı için süresiz olarak rafta saklanabilmesi diğer spor oluşturmeyen probiyotik mikroorganizmalara göre onları avantajlı kılmaktadır (Hong vd., 2005).

*Bacillus* cinsinin vejetatif hücre ve sporları uzun zamandan beri soya, mısır, pirinç, keçiyoynuzu gibi birçok substratın doğal fermentasyonu ile fermente gıdalar şeklinde ve çiğ sebzeler aracılığıyla tüketilmektedir fakat aynı zamanda güvenliklerine ilişkin endişeler de devam etmektedir. *Bacillus*'un potansiyel patojenik özelliklerinin bulunmasının yarattığı oluşturduğu güvenlik endişesi probiyotik olarak değerlendirilmesinin önüne geçtiği için ilgili türlerin fenotipik ve genotipik özelliklerini kapsamlı bir şekilde değerlendirmek ve bunları GRAS statüsüne sahip olan probiyotik türler ile karşılaştırmak özellikle önemlidir. Bazı *Bacillus* türleri insan sağlığı için büyük bir risk oluşturmaktadır. Bu risklerin arasında enterotoksin üretimi, antibiyotik direnç genlerinin transferi, normal hücrelere karşı sitotoksikite ve biyojenik amin üretimi yer alır. *B. cereus* enterotoksin üretimi ile ilişkili insan patojeni olarak bilinir fakat probiyotik olarak da kullanılmıştır (Hoa vd., 2000). *Bacillus* türlerinin ürettiği hemolizin (hblD/A), hemolitik olmayan enterotoksin (nheB), enterotoksin FM (entFM) ve emetojenik toksin (ces) gibi enterotoksin genleri toksijenik potansiyellerini ortaya koymaktadır (Lee vd., 2019). Antibiyotik direnci, bir suşun güvenliğini değerlendirmek açısından önemli bir konudur çünkü konjüгатif olarak diğer suşlara aktarılabilir. Genetik direnç temelli yollar ile araştırıldıklarında *Bacillus* suşları ampisilin dışındaki tüm antibiyotiklere dirençli/duyarlı olarak listelenmiştir (EFSA, 2012). Biyojenik aminler tüm canlı organizmalarda amino asitlerin mikrobiyal dekarboksilasyonu ile üretilir ve metabolik fonksiyonlar için önemli bileşiklerdir. Yüksek konsantrasyonlarda alındığında baş ağrısı, solunum sıkıntısı, kalp çarpıntısı, hiper veya hipotansiyon ve çeşitli alerjik bozukluklara neden olurlar. *B. licheniformis*, *B. polyfermenticus* ve *B. subtilis* ait bazı suşların putresin, kadaverin, spermidin, feniletilamin ve spermin gibi biyolojik aminleri ürettiği bildirilmiştir (Chang & Chang, 2012).

*Bacillus* türleri, 1958 yılında İtalya'da OTC (reçetesiz satılan ilaç) tıbbi takviyesi olarak tescilli Enterogermina® markasıyla 50 yılı aşkın süredir probiyotik olarak kullanılmaktadır. *Bacillus* cinsinin temsilcilerinin hem geleneksel fermentasyonda hem de modern biyoteknolojik işlemlerde geniş bir uygulama alanına sahip çok işlevli mikroorganizmalar olması, son yıllarda probiyotik olarak değerlendirmeye olan bilimsel ilgiyi arttırmıştır. Probiyotik olarak en kapsamlı incelenen türler *B. subtilis*, *B. clausii*, *B. coagulans*, *B. licheniformis*, *B. polyfermenticus* ve *B. cereus* 'tur (Cutting, 2011).

*Bacillus subtilis*, doğada yaygın olarak bulunan bir mikroorganizmadır. *B. subtilis* sporları tek ve karışık tip ticari probiyotik olarak kullanılmaktadır. *B. subtilis* FDA

tarafından GRAS olarak kabul edilmiştir Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi Nitelikli Güvenlik Öngörüsü'nde yer almaktadır, bu nedenle insan kullanımı için güvenli olduğu ileri sürülmektedir. *B. subtilis*, genomunun %4-5'ini antibiyotik sentezine ayıran ve 66 antibiyotik üreten en verimli türdür. (Suva vd., 2016). *B. subtilis* tarafından sentezlenen ve salgılanan antimikrobiyal ajanlar (sentezlenen antimikrobiyal maddeler), geniş patojen spektrumuna karşı antimikrobiyal etkilere sahiptir. Bu maddeler insan antimikrobiyal savunma sisteminin doğal bir parçasıdır, bu nedenle patojen direnci veya istenmeyen yan etkiler geliştirme olasılığı daha azdır (Sumi vd., 2015). *B. subtilis* ile ilgili yapılan çok sayıda klinik öncesi ve klinik çalışmalar diyarenin tedavisinde ve önlenmesinde profilaktik olarak kullanılabileceğini göstermiştir. *B. subtilis* sporları sıcaklığa, aşırı pH'a, mide asidine karşı oldukça dirençlidir; safra ve çözücüler, dolayısıyla bağırsakta canlılığı korur. *B. subtilis*, soğutma olmaksızın uzun süre saklanabilir. İmmünolojik veriler, *B. subtilis* sporlarının fare bağırsağında çimlendiğini ve çoğaldığını ve gelişip yeniden spor yapabildiğini göstermiştir (Tam vd., 2006). Bu anlamda *B. subtilis*, insanlarda çeşitli klinik durumlar için çok işlevli probiyotik bakteri olarak ortaya çıkma potansiyeline sahiptir.

*Bacillus clausii* sporları OTC tıbbi takviyesi olarak tescilli Enterogermina ürününde infantil ishalin önlenmesi amacıyla kullanılmaktadır. *B. clausii*, spor oluşturan bir probiyotik olma avantajına sahip olduğu için diyare tedavisinde tercih edilen bir probiyotiktir. Oda sıcaklığında stabildir ve düşük pH'a dayanıklıdır. Bu da kolonize olabileceği ve faydalı etkilerini gösterebileceği ince bağırsaklara ulaşmasını sağlar. Bir probiyotik olarak *B. clausii*'nin etki şekli net değildir, ancak suşların immünomodülatör mekanizma, adaptasyon ve bunların insan gastrointestinal kanalında kolonizasyonunda yer alan bazı proteinleri salgıladığı bildirilmiştir (Urdaci vd., 2004). Spor oluşturan bir probiyotik olan *B. clausii*'nin antibiyotik ilişkili diyarenin önlenmesinde ve *Helicobacter pylori* ile ilişkili yan etkilerin önlenmesinde etkinliğine ilişkin kanıtlar bulunmaktadır (Jayanthi & Sudha, 2015). Bununla birlikte *B. clausii* suşları sıklıkla toprak mikrobiyotasının bileşenleri olarak bulunur ve endüstriyel ve biyoteknolojik alanlardaki önemli uygulamalar için alkalın proteaz ve ksilanaz üretimi gibi bazı özellikler kullanılabilir (Cenci vd., 2006).

*Bacillus coagulans*, ilk olarak bozulmuş süttten izole edilmiştir ve laktik asit ürettiği bilindiği için 1933 yılında Horowitz-Wlassowa ve Nowotelnow tarafından ilk olarak *Lactobacillus sporogenes* olarak adlandırılmıştır (Muhammed Majeed vd., 2016). *B.*

*coagulans*, geniş bir enterik mikroorganizma spektrumuna karşı aktiviteye sahip olan coagulin adı verilen bir bakteriyosin üretir. Coagulin, ısıl işleme dayanıklıdır ve hem bakterisidal hem de bakteriyolitik aktivite sergiler. *B. coagulans*, ABD Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) ve Avrupa Birliği Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA) tarafından güvenli olarak rapor edilmiştir ve Genel Olarak Güvenli Olarak Tanınan (GRAS) ve Nitelikli Güvenlik Karinesi (QPS) listesindedir (EFSA, 2013). Antibiyotik direnci, biyojenik amin üretimi ve hemolitik özellikleri değerlendirilerek bu izolatların fonksiyonel gıdalarda ve hayvan yemlerinde probiyotik olarak kullanılabilceğini belirten çalışmalar mevcuttur ve *B. coagulans* içeren birçok gıda ürünü çeşitli ülkelerde satılmaktadır. Ayrıca gıda endüstrisinde kullanılan ve *B. coagulans* tarafından üretilebilen laktik asit,  $\alpha$ -amilaz,  $\alpha$ -galaktosidaz ve  $\beta$ -galaktosidaz gibi ürünler, düşük maliyetleri ve diğer kimyasal kaynaklara alternatif olması nedeniyle dikkat çekmektedir (Konuray & Erginkaya, 2018).

*Bacillus licheniformis*, esas olarak toprakta bulunur. *B. licheniformis* suşları, insan sağlığı, veterinerlik uygulamaları ve su ürünleri yetiştiriciliği için ticari probiyotik ürünlere dahil edilmiştir; ancak çoğu durumda diğer probiyotik suşlarla birlikte kullanılır. *B. licheniformis* suşları ağırlıklı olarak *B. subtilis* ile kombine tip probiyotik olarak kullanılmıştır. *B. subtilis* ve *B. licheniformis* Ukrayna ve Rusya'da ilaç olarak ruhsatlandırılan Biosporin ve hayvan yemlerinde kullanılan BioPlus 2B olmak üzere iki ticari üründe birlikte kullanılmaktadır (Muras vd., 2021). Bununla birlikte, bu bakteriyi içeren bazı probiyotikler, *B. licheniformis* NCTC13123 tarafından taşınan bir plazmide direnç genleri bulunduğundan, eritromisine direnç aktarma riski nedeniyle AB Hayvan Besleme Bilimsel Komitesi (SCAN) tarafından güvenli olmadığı kabul edilmiştir (SCAN, 2002).

*Bacillus polyfermenticus*, Bispan® suşu (Binex Co., Ltd.) olarak bilinir ve ilk olarak 1933'te Dr. Terakado tarafından bir hava örneğinden izole edilmiştir. Klinik olarak çeşitli bağırsak bozukluklarını tedavi etmek için kullanılır. Uzak doğu mutfağının geleneksel fermente ürünleri meju ve kimchiden de izole edilmiş ve probiyotik potansiyeli araştırılmıştır (Jung vd., 2012; Lee vd., 2015). Endospor oluşturma özelliği nedeniyle sindirim enzimlerine, mide asidine ve safra tuzlarına nispeten dirençlidir ve antimikrobiyal ajan olarak polifermentisin adlı bakteriyosini üretir. *B. polyfermenticus*'nun antikanserojenik etkisi insan kolon kanseri hücrelerinde

araştırılmıştır ve sonuçlar klinik olarak kolon kanseri gelişimini önlemede profilaktik bir tedavi olarak kullanılabileceğini düşündürmektedir (Lee vd., 2007.; Ma vd., 2010).

*Bacillus cereus*, gıda kaynaklı enfeksiyon hastalıklarında rol oynayan bir gıda patojenidir. Bununla birlikte, düşük güvenlik değerlendirme standartları ile insanlar ve hayvanlarda probiyotik olarak da kullanılmıştır. Çünkü *B. cereus*'un tüm suşları enterotoksin genleri taşımamaktadır, ancak bazı *B. cereus* probiyotiklerinin enterotoksin genleri taşıdığı gösterilmiştir (Hoa vd., 2000). BiosubtylDL, Bactisubtil, ve Subtyl insan ve Paciflor hayvan kullanımı için ticari olarak bulunan *B. cereus* suşlarıdır. Yapılan çalışmalarda toksin üretimi ve antimikrobiyal direnç genlerinin bulunması, probiyotik olarak kullanılması durumunda güvenlik parametrelerininin kapsamlıca değerlendirilmesi gerekliliğini ortaya koymaktadır (Zhu vd., 2016).

### **2.2.3 *Bacillus* Türleri Tarafından Üretilen Antimikrobiyal Maddeler**

Antibiyotikler mikroorganizmalar tarafından gelişmenin geç logaritmik veya erken durağan fazında üretilen düşük moleküler ağırlıklı sekonder metabolitlerdir. *Bacillus* cinsinin üyeleri, peptit ve lipopeptit antibiyotikler dahil olmak üzere geniş bir antimikrobiyal madde spektrumuna sahiptir (Paik vd., 1997). Bu peptitler, aktif hücre çoğalması sırasında üretilen ribozomal (bakteriyosinler) veya sporlanma sırasında veya gelişmeden sonra üretilen ribozomal olmayan peptitler (polimiksinler ve iturinler) olmak üzere iki farklı gruba ayrılabilir (Marx vd., 2001). Biyosentetik yollarına göre, ribozomal peptitler ribozomal olarak sentezlenmiş peptitlerken ribozomal olmayan peptitler enzimatik yol ile sentezlenir (Stoica vd., 2019).

Ribozomal olarak sentezlenen peptitler, bakteriyosinler ve bakteriyosin benzeri inhibitör maddelerdir. Bakteriyosinler, ilgili bakterilere karşı yüksek derecede hedef spesifikliğı sergileyen, üretici suşla yakından ilişkili suşlara ve bazen de türler arası suşlara karşı antimikrobiyal aktivite gösteren bileşiklerdir (Riley & Wertz, 2002). Bakteriyosin benzeri inhibitör maddeler ise genetik ve aminoasit düzeyinde iyi karakterize edilmemiş, genellikle antimikrobiyal bileşiğın yapısı doğrulanmadığında kullanılan bir terimdir. *B. thuringiensis*, *B. subtilis*, *B. stearothermophilus*, *B. licheniformis*, *B. megaterium* ve *B. cereus* suşları tarafından bakteriyosin benzeri inhibitör maddeler üretildiğı bildirilmiştir (Baruzzi vd., 2019).

Bakteriyosinler üç gruptan oluşacak şekilde sınıflandırılmıştır (Tablo 2.2): sınıf I, farklı türde translasyon sonrası modifikasyonlara maruz kalan antimikrobiyal peptitleri; sınıf II, modifiye edilmemiş ve doğrusal peptitleri; sınıf III ise büyük proteinleri içerir

(Abriouel vd., 2011). Sınıf I; tek peptit, uzun lantibiyotikler, diğer tek peptit lantibiyotikler, iki peptit lantibiyotikler ve diğer post-translasyonel modifiye edilmiş peptitler olmak üzere dört alt sınıfa ayrılır. Alt sınıf I.1, *B. subtilis* tarafından üretilen subtilin, ericin S ve ericin A gibi uzun yapılı A tipi lantibiyotikleri içerir. Subtilin düşük pH ve yüksek sıcaklık değerlerinde kararlı, etki şekli ve yapısı nisine benzeyen, Gram pozitif bakterilerin hücre membranları üzerine antimikrobiyal etkiye sahip ericin S ve ericin A subtilin ile güçlü benzerlikleri olan bir bakteriyosindir (Stein, 2005). Alt sınıf I.2, B tipi küresel lantibiyotik *B. subtilis* tarafından üretilen mersasidin ve sublansin 168 ve *Paenibacillus polymyxa* (eski adıyla *Bacillus polymyxa*) tarafından üretilen paenibasilin gibi diğer lantibiyotikleri içerir. Mersasidin, hücre duvarı biyosentezini inhibe eder ve metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* suşları dahil olmak üzere Gram pozitif bakterilere karşı antimikrobiyal etki gösterdiğini *belirten in vitro* ve *in vivo* çalışmalar mevcuttur (Kruszewska vd., 2004). Sublansin, *B. cereus*, *Streptococcus pyogenes* ve *Staphylococcus aureus* gibi önemli patojenler dahil olmak üzere Gram pozitif bakterilere karşı bakterisidal aktivite sergiler (Dubois vd., 2009). Paenibasilin *Lactobacillus* spp., *L. lactis*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Listeria* spp., *Pediococcus cerevisiae*, *S. aureus* ve *Streptococcus agalactiae* gibi gıdaların bozulmasında ve gıda kaynaklı patojen olarak rol oynayan mikroorganizmalar üzerinde inhibe edici etkiye sahiptir (He vd., 2008). Alt sınıf I.3, *B. halodurans* tarafından üretilen halodurasin ve *B. licheniformis* tarafından üretilen likenisidin gibi iki bileşenli lantibiyotikleri içerir. Halodurasin *S. aureus*, *S. epidermidis* ve *B. cereus* gibi çok çeşitli Gram pozitif mikroorganizmalara karşı bakterisidal etki göstermiştir (Oman ve Donk, 2009). Likenisidin, *L. monocytogenes*, metisiline dirençli *S. aureus* ve vankomisine dirençli enterokok suşlarına karşı antimikrobiyal aktivite sergilemiştir (Begley vd., 2009) Alt sınıf I.4, baştan sona bir peptit bağı ve ayrıca sistein grupları ve susuz amino asit kalıntıları arasında oluşan özel sülfid köprüleri içeren *B. subtilis* ve *B. amyloliquefaciens* tarafından üretilen benzersiz siklik peptit subtilosin A'yı içerir. Subtilosin A, Gram pozitif bakterilere karşı antibakteriyel ve hemolitik aktivite göstermektedir. Sınıf II; pediosin benzeri peptitler, thurisin benzeri peptitler ve diğer lineer peptitler olmak üzere üç alt sınıfa ayrılır. Alt sınıf II.1 *B. coagulans* tarafından üretilen coagulin ve *B. circulans* ve *P. polymyxa* tarafından üretilen SRCAM 37, SRCAM 602, SRCAM 1580'i içerir. Coagulin ısı ile dayanıklıdır ve proteaza duyarlıdır. *Listeria monocytogenes*, *L. innocua*, *L. seeligheri* dahil olmak üzere bazı Gram pozitif bakterilere karşı antimikrobiyal aktiviteye sahip bir peptittir (Marrec, 1998). SRCAM 37, SRCAM 602,

SRCAM 1580 ise anti-*Campylobacter* aktiviteye sahiptir (Svetoch vd., 2005). Alt sınıf II.2 *B. thuringiensis* tarafından üretilen thurincin H, thuricin S, thuricin 17, bacthuricin F4 ve *B. cereus* tarafından üretilen cerein MRX1'i içerir. Bu antimikrobiyal peptitler de *L. monocytogenes*, *L. innocua*, *Staphylococcus epidermidis* gibi Gram pozitif bakterilere karşı antibakteriyel etkiye sahip olduğu bildirilmiştir. Ayrıca thuricin S, *Salmonella Choleraesuis*, *Salmonella Enteritidis*, *Shigella flexneri* ve *Pseudomonas aeruginosa* gibi Gram negatif bakterilere karşı da antibakteriyel özellik gösterir (Sebei vd., 2007). Alt sınıf II.3 *B. cereus* tarafından üretilen cerein 7A ve 7B, *B. licheniformis* tarafından üretilen lichenin ve *B. thuringiensis* tarafından üretilen thuricin 439'u içerir ve Gram pozitif bakterilere karşı geniş bir inhibisyon spektrumu gösterir. Sınıf III büyük proteinler (>30 kDa) ise *B. megaterium* tarafından üretilen megacin A-216 ve megacin A-19213'u içerir.

**Tablo 2.2** *Bacillus* tarafından üretilen bakteriyosinlerin önerilen sınıflandırılması

<b>Bacillus</b> Bakteriyosinleri Önerilen Sınıflandırma	Örnek	Duyarlı Organizma
<b>Sınıf I.</b> Post-translasyonel modifiye edilmiş peptitler		
Alt sınıf I.1. Tek peptit, uzun lantibiyotikler	Subtilin, ericin S, ericin A	Gram pozitif bakteri
Alt sınıf I.2. Diğer tek peptit lantibiyotikler	Sublancin 168, mersacidin, paenibasilin	Gram pozitif ve bazı Gram negatif bakteriler
Alt sınıf I.3. İki peptit lantibiyotikler	Halodurasin, likenidin	Gram pozitif bakteri
Alt sınıf I.4. Diğer post-translasyonel modifiye edilmiş peptitler	Subtilosin A	Gram pozitif bakteri
<b>Sınıf II.</b> Modifiye edilmemiş peptitler		
Alt sınıf II.1. Pediosin benzeri peptitler	Coagulin, SRCAM 37, SRCAM 602, SRCAM 1580	Gram pozitif bakteri
Alt sınıf II.2. Thurisin benzeri peptitler	Thurincin H, thuricin S, thuricin 17, bacthuricin F4, cerein MRX1	Gram pozitif bakteri ve bazı Gram negatif bakteriler
Alt sınıf II.3. Diğer lineer peptitler	Cerein 7A, cerein 7B, lichenin, thuricin 439	Gram pozitif bakteri
<b>Sınıf III.</b> Büyük proteinler		
	Megacin A-216, megacin A-19213	Gram pozitif bakteri

*Bacillus* kaynaklı antimikrobiyal metabolitler genel olarak etki mekanizmalarını hücre duvarını, hücre zarını ve hücre içi diğer süreçleri hedefleyerek gösterir. *Bacillus* suşları

amilaz, selülaz, kitinaz, kitosanaz, glukanaaz ve proteaz gibi enzimleri sentezleme yeteneğine sahiptir. Bu enzimleri ve antimikrobiyal metabolitleri (basitrasin, bacilyisin, klorotetain, clausin, mersacidin vs.) serbest bırakarak hücre duvarını hedeflediği bildirilmiştir. Hücre zarı, hücre dışı ortama bir bariyer görevi görür. Bu zardaki herhangi bir değişiklik bariyer işlevini bozabilir, lipid bileşimini ve fosfolipid tabakasını değiştirerek hücreden esansiyel iyonları serbest bırakabilir ve sonunda hücre ölümüne yol açabilir. *Bacillus* suşlarının çeşitli antimikrobiyal metabolitleri de (plantazolicin, oktapeptin, surfaktin, mikobasilin, subtilisin A) hücre zarının bu farklı işlevlerini hedef alabilir. *Bacillus* metabolitleri plazma zarını geçerek hücrenin hayatta kalması için gerekli olan hücre içi süreçleri etkileyebilir. Bu hücre içi süreçler, DNA transkripsiyonu, RNA translasyonu ve protein metabolizmasını içerir (Tran vd., 2022).

Bakteriyosinler genellikle kültür sıvılarından santrifüj, amonyum sülfat ile çökeltme, pH aracılı hücre adsorpsiyonu/desorpsiyonu gibi klasik yöntemler ile ekstrakte edilir ve bir dizi kromatografik adım (hidrofobik etkileşim, jel filtrasyonu ve ters fazlı yüksek basınçlı sıvı kromatografisi), membran filtrasyonu ile daha fazla saflaştırılarak ayrılabilir (Jamaluddin vd., 2018).

*Bacillus* türleri tarafından üretilen bakteriyosinlerin gıda kaynaklı patojenlere karşı antimikrobiyal etkiye sahip olması ve geleneksel antibiyotiklere karşı artan bakteri direnci, klinik uygulamalarda bakteriyosinleri muhtemel insan ve hayvan enfeksiyonlarının tedavisinde alternatif olarak düşündürebilir. Kimyasal gıda koruyucularının kullanımını sınırlamaya yönelik artan eğilim; GRAS statüsüne sahip olan türleri içinde barındırması, ısıl işlem ve pH koşullarına karşı stabil olması, proteazlara duyarlı olması, geniş bir antimikrobiyal aktivite spektrumuna sahip olması (Gram pozitif ve Gram negatif bakteri, küf, maya) nedeniyle *Bacillus* türleri tarafından üretilen antimikrobiyal peptitleri, gıda muhafazasında laktik asit bakterileri ve bakteriyosinlerine kıyasla avantajlı potansiyel uygulama alanı olarak ortaya çıkarmaktadır (Nath vd., 2015). *Bacillus* bakteriyosinleri, antibiyotiğe dirençli patojenlerin ortaya çıkmasına neden olan tarım ve ilaç endüstrileri tarafından antibiyotiklerin yaygın kullanımından kaçınmak için biyolojik olarak daha güvenli antimikrobiyal bileşiklerin geliştirilmesi için kullanılabilir. *Bacillus* türleri tarafından üretilen bakteriyosinlerin çoğu, bitki patojenik bakterilerini inhibe edebilir ve bitki hastalıklarının biyolojik kontrolünde uygulanabilir (Sansinenea, 2012).

### 3.1 Materyal

#### 3.1.1 Probiyotik Suşlar

Araştırmada kullanılan probiyotik *Bacillus* suşları (Tablo 3.1) toprak, balık bağırsağı, çeşitli probiyotik yumuşak şekerlemeler ve ticari probiyotik gıda takviyeleri gibi farklı kaynaklardan izole edilmiş ve probiyotik özellikleri (antibiyotik duyarlılığı, safra toleransı, hücre yüzeyi hidrofobikliği, otoagregasyon, mide sıvısına tolerans, hemoliz ve lesitinaz testi) test edilmiştir. Çalışmada kullanılan probiyotik suşlar TÜBİTAK tarafından desteklenen Üniversite-Sanayi İş Birliği Programı kapsamındaki 5190060 numaralı “Probiyotik Yumuşak Şekerleme Geliştirilmesi” projesinden temin edilmiştir.

**Tablo 3.1** Probiyotik suşlar

Tür	Suş Kodu	Kaynak
<i>Bacillus subtilis</i>	BB2	Balık bağırsağı
<i>Bacillus coagulans</i>	FC	Beyaz peynir
<i>Bacillus subtilis</i>	K1S	Trunature digestive probiotic gummies
<i>Bacillus coagulans</i>	KKB	Schiff digestive advantage daily probiotic gummies 100x better
<i>Bacillus clausii</i>	EG	Enterogermina kids probiotic

### 3.1.2 Test Mikroorganizmaları

Çalışmada kullanılan test mikroorganizmaları (Tablo 3.2) Yıldız Teknik Üniversitesi Gıda Mühendisliği bölümü kültür koleksiyonundan temin edilmiştir.

**Tablo 3.2** Test mikroorganizmaları

Test Mikroorganizmaları	
Gram pozitif	<i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>aureus</i> ATCC25923
	<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC13932
Gram negatif	<i>Escherichia coli</i> CECT4972 (O157:H7)
	<i>Salmonella</i> Typhimurium ATCC14028

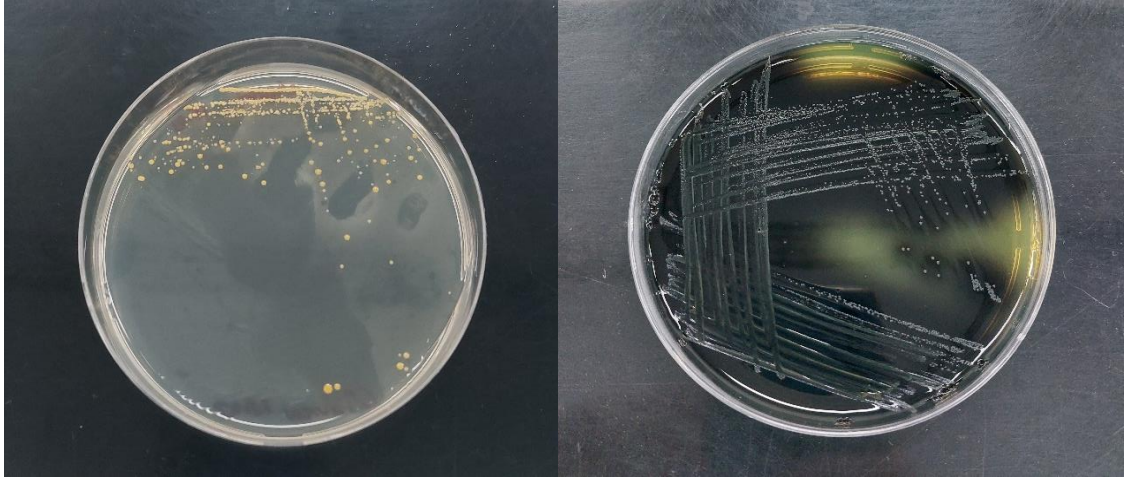
### 3.1.3 Çalışmada Kullanılan Besiyerleri ve Kimyasallar

*Bacillus*'a ait suşların ve test mikroorganizmalarının geliştirilmesi amacıyla Nutrient Broth (Merck, Almanya) ve Nutrient Agar (Merck, Almanya) kullanılmıştır. Antimikrobiyal aktivitenin tespit edilmesinde test mikroorganizmalarına özgü selektif besiyerleri olarak; Violet Red Bile Glucose Agar (Oxoid, İrlanda), Salmonella Shigella (SS) Agar (Merck, Almanya), Oxford Listeria Selective Agar (Merck, Almanya), Oxford Listeria Selective Supplement (Merck, Almanya) ve dilüsyon hazırlama amacıyla Sodium Chloride (Merck, Almanya) kullanılmıştır.

## 3.2 Metot

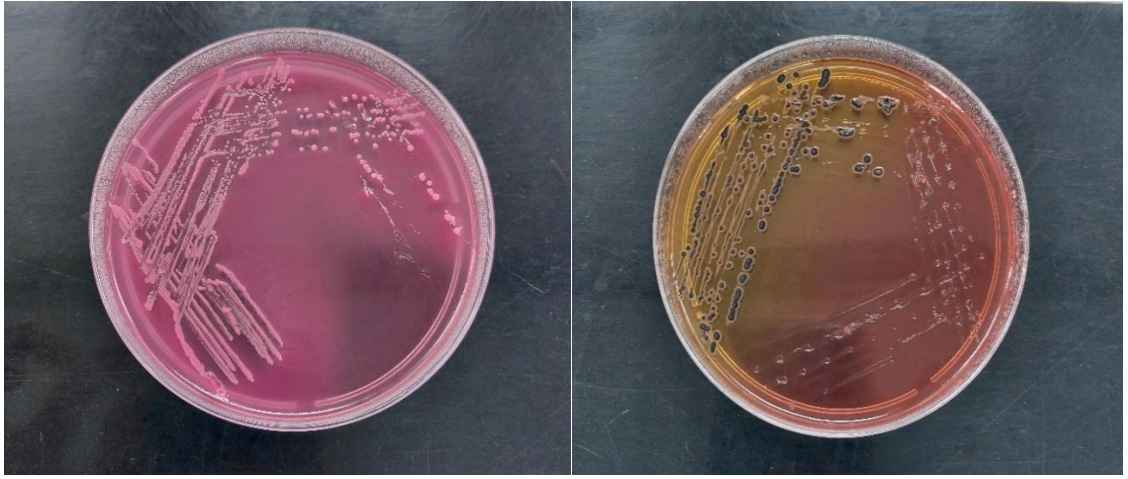
### 3.2.1 Kültür Koşulları

*Bacillus* izolatları ve test mikroorganizmaları, 500 µL %40'lık gliserol ve 500 µL nutrient broth süspansiyonu (1:1) içeren eppendorf tüpleri içerisinde -80°C'de muhafaza edilmiştir. Suşlar nutrient agar üzerinde 24 saat 37°C'de geliştirilerek aktive edilmiş ve tek düşen koloni nutrient broth içerisinde 24 saat 37°C'de geliştirilerek analizlerde kullanılmıştır.



(a) *Staphylococcus aureus*

(b) *Listeria monocytogenes*



(c) *Escherichia coli* O157:H7

(d) *Salmonella* Typhimurium

**Şekil 3.1** (a) Nutrient agarda geliştirilmiş *S. aureus*, (b) Oxford Listeria selective agarda geliştirilmiş *L. monocytogenes*, (c) Violet red bile glucose agarda geliştirilmiş *E. coli*, (d) Salmonella shigella agarda geliştirilmiş *S. Typhimurium*

### 3.2.2 Agar Kuyucuk Yöntemi ile Antimikrobiyal Aktivite Aranması

Probiyotik *Bacillus* izolatlarının seçilen test mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal aktivitesi agar kuyucuk difüzyon yöntemi ile belirlenmiştir. Hedeflenen patojen mikroorganizmalar ve probiyotik suşlar ayrı ayrı nutrient broth içerisinde 24 saat 37°C’de geliştirilmiştir. Yaklaşık  $10^8$ - $10^9$  kob/mL olacak şekilde seyretilmiş patojen mikroorganizmalar nutrient agar yüzeyine 100 µL yayma plak yöntemi ile ekilmiştir ve 30 dakika beklenmiştir. Agar yüzeyine 6 mm çapında kuyucuklar açılarak, bu kuyucuklar 100 µL probiyotik canlı süspansiyonu ile doldurulmuştur. Hazırlanan plakalar 24 saat 37°C’de inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda inhibisyon zon çapları ölçülmüş ve kaydedilmiştir. Metot 2 paralel olarak çalışıldı ve ortalama değer  $\pm$  standart sapma olarak verilmiştir.

### 3.2.3 Sıvı Besiyerinde Antimikrobiyal Aktivite Tespiti

Sıvı besiyeri içerisinde probiyotik *Bacillus* izolatlarının seçilen test mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal aktivitesini belirlemek için, probiyotik *Bacillus* izolatları ve patojen mikroorganizma ayrı ayrı nutrient broth içerisinde 37°C’de geliştirilmiştir. Probiyotik suş ve patojen mikroorganizma hücre sayıları yaklaşık  $10^5$ - $10^6$  kob/mL olacak şekilde beraber nutrient broth içerisine aktarılmıştır. Test edilecek patojen mikroorganizma her örnek için kontrol olarak seçilmiştir. Kontrol ve diğer örneklerin gelişmeleri 0., 24. ve 48. saatlerde selektif besiyerine yayma plak yöntemiyle ekim yapılarak zamana bağlı canlı mikroorganizma sayımları gerçekleştirilmiştir. Metot 2 paralel olarak çalışıldı ve ortalama değer  $\pm$  standart sapma olarak verilmiştir.

### 3.2.4 Sütte Antimikrobiyal Aktivite Tespiti

UHT süt (%3,5 yağ, %2,1 doymuş yağ, %4,5 karbonhidrat, %3 protein, %0,1 tuz) içerisinde probiyotik *Bacillus* izolatlarının seçilen test mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal aktivitesini belirlemek için, probiyotik *Bacillus* izolatları ve patojen mikroorganizma nutrient broth içerisinde ayrı ayrı 37°C’de geliştirilmiştir. Probiyotik suş ve patojen mikroorganizma hücre sayıları yaklaşık  $10^5$ - $10^6$  kob/mL olacak şekilde beraber UHT süt içerisine aktarılmıştır. Test edilecek patojen mikroorganizma her örnek için kontrol olarak seçilmiştir. Kontrol ve diğer örneklerin gelişmeleri 0., 24. ve 48. saatlerde selektif besiyerine yayma plak yöntemiyle ekim yapılarak zamana bağlı canlı mikroorganizma sayımları gerçekleştirilmiştir. Metot 2 paralel olarak çalışıldı ve ortalama değer  $\pm$  standart sapma olarak verilmiştir.

### 3.2.5 İstatiksel Analiz

Bu çalışmada çeşitli kaynaklardan izole edilen ve potansiyel probiyotik özellikleri belirlenen beş *Bacillus* spp. (*B. subtilis*, *B. coagulans*, *B. clausii*) suşunun bazı gıda patojenlerine (*S. aureus*, *L. monocytogenes*, *E. coli* O157:H7, *S. Typhimurium*) karşı antimikrobiyal aktivitesi, test edilecek mikroorganizma her örnek için kontrol olarak seçilerek; agar, broth ve UHT süt olmak üzere üç farklı ortamda 24 ve 48. saatlerde selektif besiyerinde canlı test mikroorganizma sayısı tespit edilerek araştırılmıştır. Elde edilen veriler, JMP 6.0 paket programı ile veriler arasında farklılık olup olmadığının belirlenmesi amacıyla  $\alpha=0,05$  önem düzeyinde istatiksel analize tabi tutulmuş ve tek yönlü varyans analizi (one way ANOVA) yapılarak LSMeans Differences Tukey HSD testi ile karşılaştırılarak harflendirilmiştir.

#### 4.1 Agar Kuyucuk Yöntemi ile Antimikrobiyal Aktivitenin Değerlendirilmesi

Bu çalışma kapsamında çeşitli kaynaklardan izole edilen beş probiyotik *Bacillus* izolatının seçilen test mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal aktivitesi agar kuyucuk yöntemiyle araştırılmış ve elde edilen inhibisyon zon çapları (mm) Tablo 4.1’de verilmiştir. Bu yöntemle göre FC, KKB ve EG suşlarının seçilen test mikroorganizmalarına karşı herhangi bir antimikrobiyal aktivite gösterdiği tespit edilemezken BB2 suşunun *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* ATCC25923 ve *Escherichia coli* CECT4972, K1S suşunun *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* ATCC25923 üzerinde antimikrobiyal aktivite gösterdiği ölçülen inhibisyon zon çapları ile belirlenmiştir (Şekil 4.1).

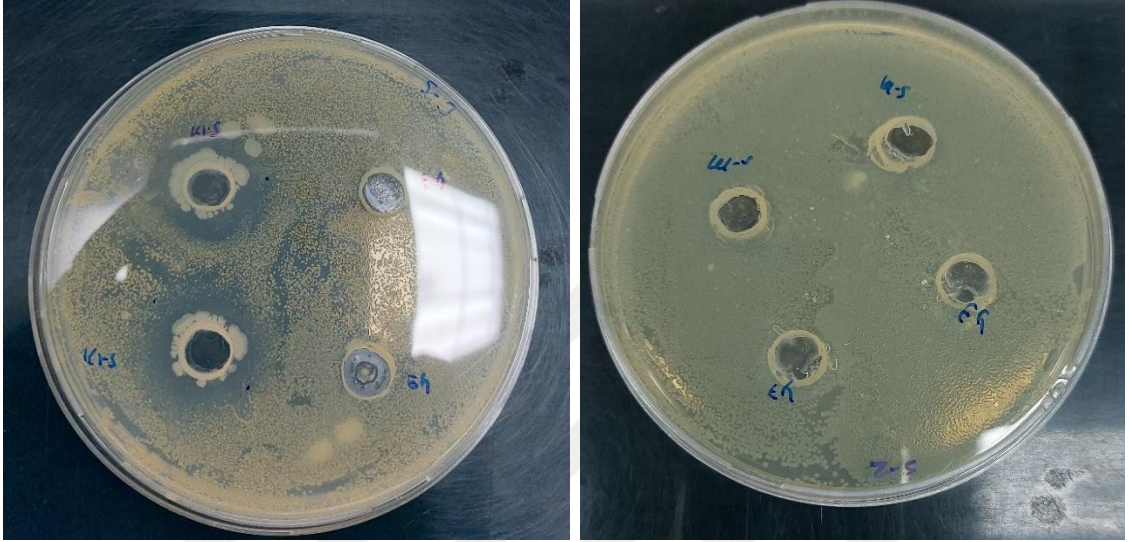
**Tablo 4.1** Agar kuyucuk yöntemi ile antimikrobiyal aktivite değerlendirilmesi

Test Mikroorganizmaları	İnhibisyon bölgesinin çapı (mm)				
	BB2	FC	K1S	KKB	EG
<i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>aureus</i> ATCC25923	21±0,14	-	24,5±0,07	-	-
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC13932	-	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i> CECT4972	16±0,14	-	-	-	-
<i>Salmonella</i> Typhimurium ATCC14028	-	-	-	-	-

“-” inhibisyon gözlenmedi.

*Bacillus subtilis*’e ait BB2 suşunun *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* ATCC25923 suşu üzerinde ölçülen inhibisyon zon çapı ortalama 21±0,14 mm iken *Escherichia coli*

CECT4972 üzerinde  $16\pm 0,14$  mm olmuştur. Bu sonuçlara göre BB2 suşu *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* ATCC25923 üzerinde daha fazla antimikrobiyal aktivite göstermektedir. Diğer bir *Bacillus subtilis*'e ait K1S suşunda *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* ATCC25923'e karşı ortalama  $24,5\pm 0,07$  mm inhibisyon zonu ölçülmüştür ve böylelikle BB2 suşuna kıyasla daha yüksek antimikrobiyal aktivite gösterdiği tespit edilmiştir.



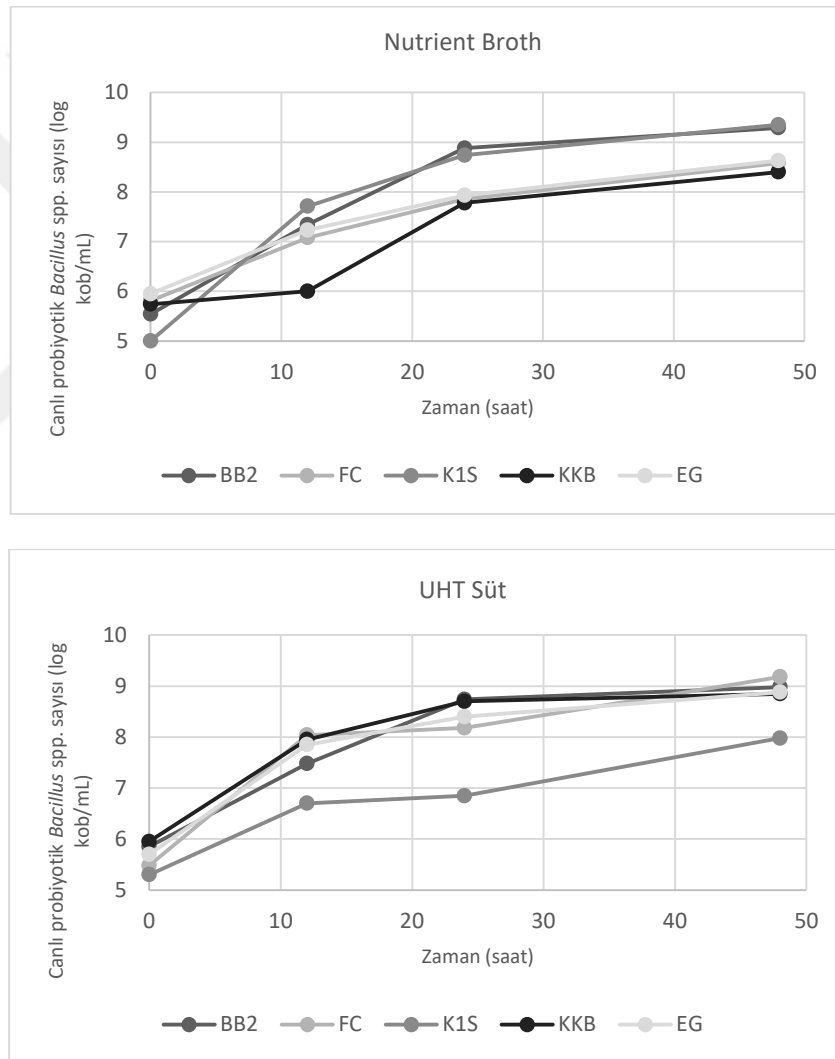
**Şekil 4.1** K1S suşunun *S. aureus* ve *E. coli* üzerindeki antimikrobiyal aktivitesi

*Bacillus* cinsi üyeleri, peptit ve lipopeptit antibiyotikler ve bakteriyosinler dahil olmak üzere geniş bir antimikrobiyal madde üretme yeteneğine sahiptir. Üretilen antimikrobiyal metabolitler genel olarak Gram pozitif bakteriler üzerinde Gram negatif bakterilere kıyasla daha fazla inhibe edici etkiye sahiptir. (Baruzzi vd., 2011). Çeşitli çalışmalar ile probiyotik özellikleri tespit edilen *Bacillus* suşlarının Gram pozitif ve Gram negatif patojenik bakterilere karşı antimikrobiyal özellikleri ortaya konmuştur. Konu ile ilgili olarak farklı bölgelerdeki topraklardan izole edilen probiyotik *Bacillus subtilis*'e ait suşların *E. coli*'ye kıyasla *S. aureus*'a daha yüksek düzeyde antimikrobiyal etki spektrumuna sahip olduğu agar kuyucuk yöntemi ile gösterilmiştir (Kadhum ve Hasan, 2019). Diğer bir araştırmada geleneksel salamura turşularından izole edilen probiyotik özelliklere sahip *B. subtilis* PUFSTP39 suşu *E. coli*, *L. monocytogenes* ve diğer seçilen patojenlerinin hiçbirine karşı antimikrobiyal aktivite göstermemiştir (Ragul vd., 2017). *B. clausii* probiyotik suşları ile yapılan bir çalışmada ise test edilen tüm *B. clausii* suşları *in vitro* olarak *S. aureus* üzerinde antimikrobiyal aktivite gösterirken anti-*Salmonella* ve *E. coli* aktivitesi göstermemiştir (Urdaci vd., 2004). Toprakten izole edilen 4 adet *Bacillus* spp.'ye ait suşun yem katkı maddesi olarak

değerlendirilmek üzere probiyotik özelliklerinin *in vitro* olarak değerlendirildiği bir çalışmada yalnızca *Bacillus* spp. SM2 suşu *E. coli*, *E. coli* O157:H7, *Enterococcus faecalis*, *Listeria monocytogenes* ve *S. aureus*'a karşı inhibitör etki göstermiştir (Lee vd., 2012). Çalışma kapsamında değerlendirilen probiyotik *Bacillus* suşlarının antimikrobiyal aktivitesi literatürdeki bu sonuçlar ile paralellik göstermektedir.

## 4.2 Nutrient Broth ve UHT Süt İçerisinde Antimikrobiyal Aktivitenin Değerlendirilmesi

Probiyotik *Bacillus* suşlarının nutrient broth ve UHT süt içerisindeki sayısının zamana bağlı değişimi Şekil 4.2'de gösterilmiştir.



Şekil 4.2 Nutrient broth ve UHT sütte zamana bağlı canlı probiyotik *Bacillus* spp. sayısı

#### 4.2.1 *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* ATCC25923

Bu çalışma kapsamında zamana bağlı canlı *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* ATCC25923 sayısı nutrient broth ve UHT süt içerisinde 24. ve 48. saatlerde incelenmiştir. Farklı ortamlardaki probiyotik *Bacillus* spp. ve test mikroorganizmaların canlı süspansiyonundan elde edilen bulgular Tablo 4.2 ve Şekil 4.3’de log kob/mL cinsinden ifade edilmiştir. Tablo 4.2 incelediğinde 0. ve 48. saatler arasında nutrient broth içerisindeki canlı test mikroorganizma sayısı başlangıçta 5,72 log kob/mL, 24. saat de 8,14 kob/mL, 48. saat sonunda ise 8,72 log kob/mL’ye ulaştığı görülmektedir. *S. aureus* ve probiyotik *Bacillus* suşları ortama beraber konulduğunda ise canlı test mikroorganizma sayısı suşlara göre değişmekle birlikte 24. saat sonunda en yüksek 7,11 log kob/mL iken en düşük 4,77 log kob/mL olarak kaydedilmiştir. 48. saatte ise bu değer en yüksek 6,48 log kob/mL iken en düşük 4,30 log kob/mL olarak bulunmuştur. İstatiksel olarak incelediğinde probiyotik *Bacillus-S. aureus* kombinasyonlarında 24. saat ve 48. saat sonundaki canlı *S. aureus* sayısı ile kontrol örneği (*S. aureus*) arasındaki farkın önemli olduğu tespit edilmiştir ( $p<0,05$ ). 24. saat sonunda en yüksek inhibisyon etkisinin *B. subtilis*’e ait BB2 suşunda olduğu 48. saat sonunda ise yine en yüksek inhibisyon etkisinin BB2 suşunda olduğu saptanmıştır. En düşük inhisyon etkisinin ise 48. saat sonunda *B. coagulans* ait KKB suşunda olduğu görülmektedir. Tüm veriler incelediğinde nutrient brothdaki kombinasyonlarda zamana bağlı olarak canlı *S. aureus* sayısının azaldığı ve tüm probiyotik *Bacillus* suşlarının *S. aureus* üzerinde inhibe edici etkiye sahip olduğu görülmektedir. UHT süt içerisindeki canlı *S. aureus* sayısı ise başlangıçta 5,95 log kob/mL, 24. saatte 8,42 log kob/mL, 48. saat sonunda ise 8,63 log kob/mL’ye ulaştığı görülmektedir. *S. aureus* ve probiyotik *Bacillus* suşlarının birlikte bulunduğu UHT süt ortamında ise 24. saat sonunda canlı test mikroorganizma sayısı en yüksek 8,35 log kob/mL iken en düşük 6,04 log kob/mL olarak kaydedilmiştir. 48. saat sonunda ise bu değer en yüksek 7,15 kob/mL iken en düşük 5,77 log kob/mL olarak bulunmuştur. İstatiksel olarak incelediğinde probiyotik *Bacillus-S. aureus* kombinasyonlarında 24. saat sonunda canlı *S. aureus* sayısı ile kontrol örneği (*S. aureus*) arasındaki farkın *B. clausii*’ye ait EG suşu haricinde önemli olduğu 48. saat sonunda ise tüm suşlar ve kontrol arasındaki farkın önemli olduğu tespit edilmiştir ( $p<0,05$ ). Tüm bulgular incelediğinde ise UHT süt içerisindeki kombinasyonlardaki canlı *S. aureus* sayısının zamana bağlı olarak azaldığı ve bir gıda matriksi içerisinde de probiyotik *Bacillus* suşlarının *S. aureus* üzerindeki antimikrobiyal etkisini sürdürdüğü saptanmıştır.

**Tablo 4.2** Nutrient broth ve UHT sütte zamana bağlı canlı *S. aureus* sayısı

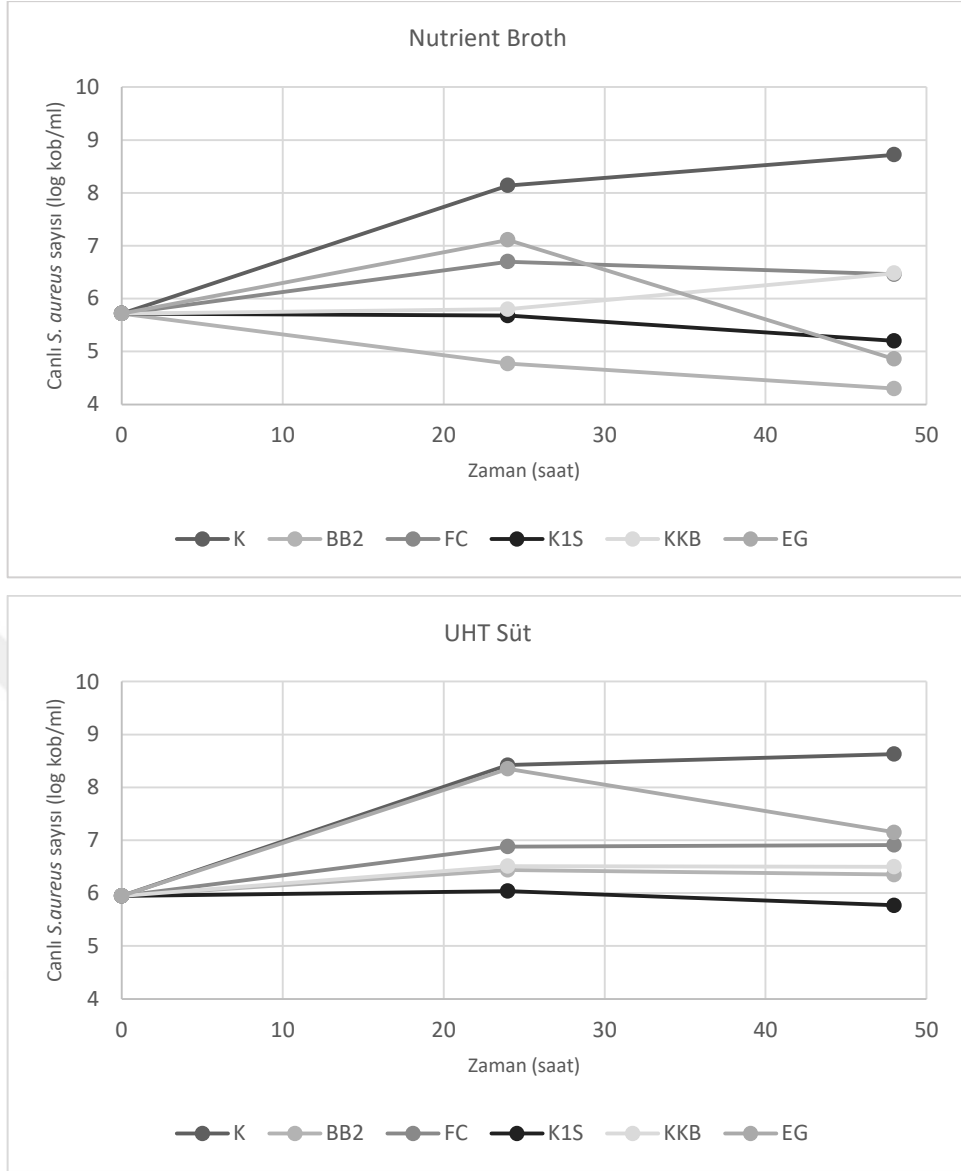
Ortam	Kültürlerin Türü	Canlı Test Mikroorganizma Sayısı (log kob/mL)		
		0 h	24 h	48 h
Nutrient Broth	<i>S. aureus</i>	5,72±0,17	8,14±0,06 <sup>a</sup>	8,72±0,03 <sup>a</sup>
	<i>S. aureus</i> + BB2		4,77±0,10 <sup>c</sup>	4,30±0,43 <sup>d</sup>
	<i>S. aureus</i> + FC		6,70±0,00 <sup>c</sup>	6,46±0,02 <sup>b</sup>
	<i>S. aureus</i> + K1S		5,68±0,03 <sup>d</sup>	5,20±0,02 <sup>c</sup>
	<i>S. aureus</i> + KKB		5,80±0,14 <sup>d</sup>	6,48±0,04 <sup>b</sup>
	<i>S. aureus</i> + EG		7,11±0,10 <sup>b</sup>	4,86±0,02 <sup>c,d</sup>
UHT Süt	<i>S. aureus</i>	5,95±0,07	8,42±0,03 <sup>a</sup>	8,63±0,04 <sup>a</sup>
	<i>S. aureus</i> + BB2		6,44±0,06 <sup>c</sup>	6,35±0,07 <sup>c,d</sup>
	<i>S. aureus</i> + FC		6,88±0,00 <sup>b</sup>	6,91±0,29 <sup>b,c</sup>
	<i>S. aureus</i> + K1S		6,04±0,06 <sup>d</sup>	5,77±0,10 <sup>d</sup>
	<i>S. aureus</i> + KKB		6,51±0,05 <sup>c</sup>	6,50±0,28 <sup>b,c,d</sup>
	<i>S. aureus</i> + EG		8,35±0,07 <sup>a</sup>	7,15±0,21 <sup>b</sup>

\* Aynı sütündeki farklı harfle işaretlenmiş ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (p<0,05).

Çalışma sonucunda elde edilen veriler literatür ile karşılaştırıldığında benzer sonuçlar elde edildiği görülmektedir. *Bacillus* cinsinin üyelerinin *S. aureus*'a karşı antagonistik aktiviteye sahip çeşitli antimikrobiyal peptitler üreterek anti-Stafilokok aktivitesi sergilediği bilinmektedir (Sumi vd., 2015). *Bacillus subtilis* KATMIRA1933 ve *Bacillus amyloliquefaciens* B-1895'in yara enfeksiyonundan izole edilen çeşitli *S. aureus* biyofilmlerine karşı antimikrobiyal potansiyelinin değerlendirildiği bir çalışmada, test edilen *Bacillus* suşlarının hücresiz süpernatantlarının *S. aureus* suşları üzerinde inhibe edici etkiye sahip olduğu bulunmuştur. Böylelikle probiyotik *Bacillus* suşları ve metabolitlerinin biyofilm ile ilişkili enfeksiyonların kontrolünde antibiyotiğe dirençli patojenlere karşı alternatif ve etkili antimikrobiyallerin bulunması ve geliştirilmesinde etkili bir strateji olduğu ortaya konulmuştur (Algburi vd., 2021).

Afrika fermente gıda ürünleri, dışkı ve toprak dâhil olmak üzere farklı kaynaklardan elde edilen *Bacillus* spp. izolatlarının domuz yemi için kullanımında potansiyel probiyotik suşları belirlemek amacıyla yapılan bir çalışmada, izole edilen *B. amyloliquefaciens*, *B. subtilis* ve *B. mojavensis* ait suşlar en yüksek inhibitör aktiviteyi *S. aureus*'a karşı göstermiştir (Larsen vd., 2014).

Kırsal Tayland popülasyonlarındaki 200 sağlıklı bireyden gaita örneklerinin toplanıp ve 16S rRNA metagenomik dizi analizinin gerçekleştirildiği bir çalışmada ise kültür temelli analizlerde bağırsakta *Bacillus* varlığı ile *S. aureus*'un bağırsakta kolonizasyonunun olmaması arasında güçlü bir korelasyon bulunmuştur. *Bacillus* türlerinin geliştiği gaita örneklerinde hiçbir zaman *S. aureus* gelişmemiştir. Bu sonuçlar, probiyotik *Bacillus* suşlarının *S. aureus*'un bağırsaktaki kolonizasyonunu ortadan kaldırmak için potansiyel bir değeri olduğunu ortaya koymuştur (Piewngam & Otto, 2020). Ayrıca *B. clausii* genomlarında *in silico* analiz yoluyla tanımlanan bakteriyosin olan gallidermin de *S. aureus* tarafından biyofilm oluşumuna ve enfeksiyonlara karşı işlev gördüğü bildirilmiştir (Saising vd., 2012).



Şekil 4.3 Nutrient broth ve UHT sütte zamana bağlı canlı *S. aureus* sayısı

#### 4.2.2 *Listeria monocytogenes* ATCC13932

Bu çalışma kapsamında zamana bağlı canlı *Listeria monocytogenes* ATCC13932 sayısı nutrient broth ve UHT süt içerisinde 24. ve 48. saatlerde incelenmiştir. Farklı ortamlardaki probiyotik *Bacillus* spp. ve test mikroorganizmasının canlı süspansiyonundan elde edilen bulgular Tablo 4.3 ve Şekil 4.4'te log kob/mL cinsinden ifade edilmiştir. Tablo 4.3 incelendiğinde nutrient broth içerisindeki canlı *L. monocytogenes* sayısı başlangıçta 5,83 log kob/mL iken 24. saatte 8,27 log kob/mL, 48 saat sonunda ise 8,70 log kob/mL olarak kaydedilmiştir. 24. saatte *L. monocytogenes* ve probiyotik *Bacillus* suşlarının birlikte bulunduğu nutrient broth ortamında ise canlı *L. monocytogenes* sayısı en yüksek 8,51 log kob/mL iken en düşük 7,21 log kob/mL olarak saptanmıştır.

**Tablo 4.3** Nutrient broth ve UHT sütte zamana bağlı canlı *L. monocytogenes* sayısı

Ortam	Kültürlerin Türü	Canlı Test Mikroorganizma Sayısı (log kob/mL)		
		0 h	24 h	48 h
Nutrient Broth	<i>L.monocytogenes</i>	5,83±0,18	8,27±0,04 <sup>a,b</sup>	8,70±0,06 <sup>a</sup>
	<i>L.monocytogenes</i> + BB2		8,14±0,06 <sup>b</sup>	8,05±0,07 <sup>b</sup>
	<i>L.monocytogenes</i> + FC		7,21±0,13 <sup>d</sup>	7,06±0,08 <sup>c</sup>
	<i>L.monocytogenes</i> + K1S		7,44±0,06 <sup>c,d</sup>	7,35±0,07 <sup>d</sup>
	<i>L.monocytogenes</i> + KKB		7,54±0,09 <sup>c</sup>	7,24±0,09 <sup>d,e</sup>
	<i>L.monocytogenes</i> + EG		8,51±0,05 <sup>a</sup>	7,78±0,00 <sup>c</sup>
UHT Süt	<i>L.monocytogenes</i>	6,00±0,06	8,68±0,03 <sup>a</sup>	9,54±0,01 <sup>a</sup>
	<i>L.monocytogenes</i> + BB2		8,14±0,06 <sup>b</sup>	7,57±0,04 <sup>c</sup>
	<i>L.monocytogenes</i> + FC		8,24±0,09 <sup>b</sup>	7,24±0,09 <sup>c,d</sup>
	<i>L.monocytogenes</i> + K1S		7,24±0,09 <sup>d</sup>	6,85±0,21 <sup>d</sup>
	<i>L.monocytogenes</i> + KKB		7,68±0,03 <sup>c</sup>	7,63±0,04 <sup>c</sup>
	<i>L.monocytogenes</i> + EG		8,09±0,12 <sup>b</sup>	8,09±0,12 <sup>b</sup>

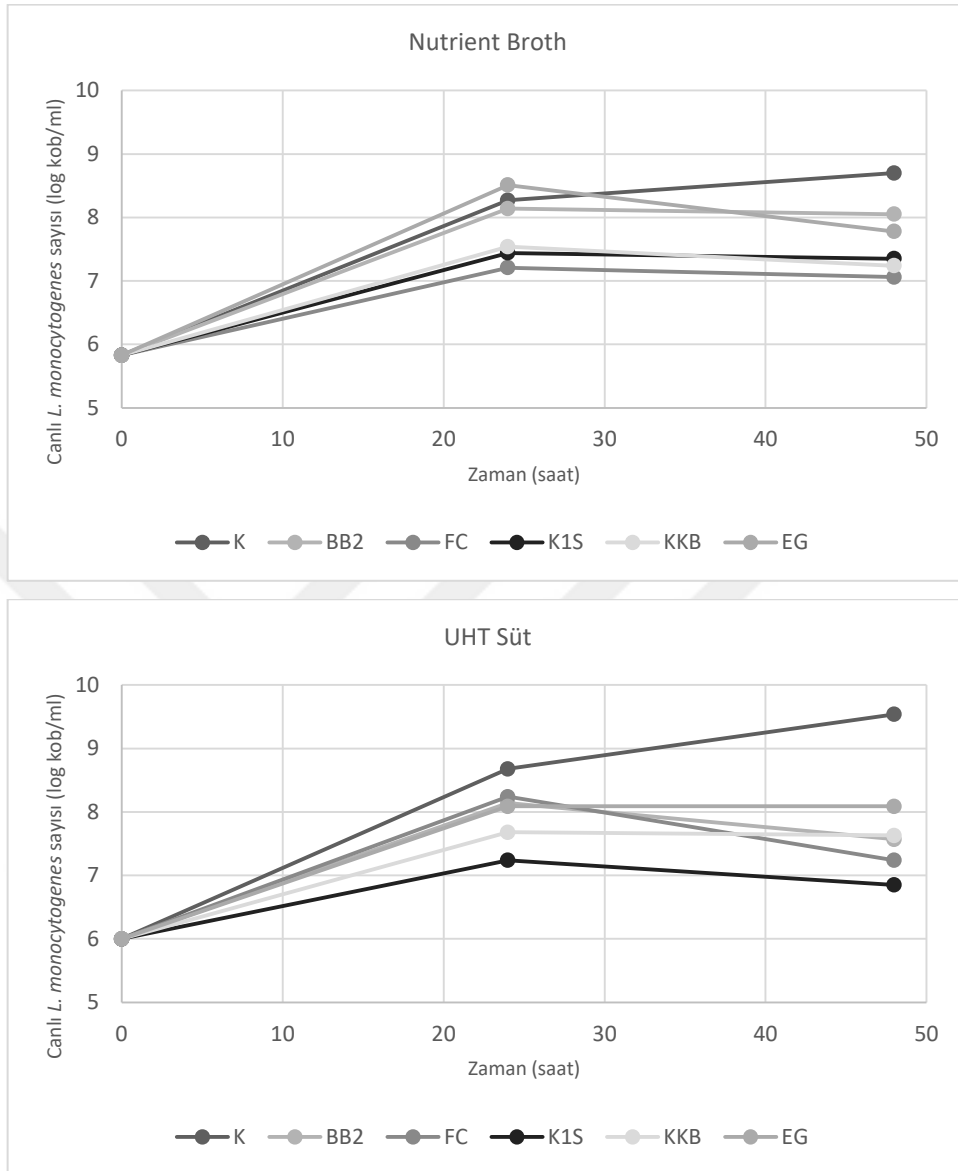
\* Aynı sütündeki farklı harfle işaretlenmiş ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (p<0,05).

İstatiksel olarak incelendiğinde 24. saat sonunda *B. subtilis*'e ait BB2 ve *B. clausii*'ye ait EG suşunda kontrole göre önemli bir farkın olmadığı görülmektedir ( $p>0,05$ ). 48. saat sonunda ise tüm kombinasyonlardaki farkın önemli olduğu görülmektedir ( $p<0,05$ ). Sayım yapılan zamanlarda en yüksek inhibisyon etkisi *B. coagulans*'a ait FC suşunda saptanmıştır. Tüm bulgulara bakıldığında 48. saat sonunda nutrient brothdaki kombinasyonlarda canlı *L. monocytogenes* sayısında azalma saptandığı ve probiyotik *Bacillus* suşları *L. monocytogenes*'in gelişmesini engelleyerek kısmi inhibisyon etkisi oluşturduğu görülmektedir. UHT süt ortamında ise başlangıçta canlı *L. monocytogenes* sayısı 6 log kob/mL, 24. saatte 8,68 log kob/mL, 48. saatte 9,54 log kob/mL olarak tespit edilmiştir. *L. monocytogenes* ve probiyotik *Bacillus* suşlarının birlikte bulunduğu UHT süt ortamında canlı test mikroorganizma sayısı 24. saatte en yüksek 8,24 log kob/mL iken en düşük 7,24 log kob/mL olarak bulunmuştur. 48. saat sonunda ise en yüksek 8,09 log kob/mL iken en düşük 6,85 log kob/mL tespit edilmiştir. İstatiksel olarak incelendiğinde tüm kombinasyonlardaki 24. saat ve 48. saatteki canlı *L. monocytogenes* sayısındaki fark kontrole kıyasla önemlidir ( $p<0,05$ ). En yüksek inhibisyon etkisi *B. subtilis*'e ait K1S suşunda tespit edilmiş ve seçilen zamanlarda bu durumda bir değişim gözlemlenmemiştir. Elde edilen veriler incelendiğinde 48. saat sonunda her iki ortamda da probiyotik *Bacillus* suşlarının varlığına bağlı olarak canlı *L. monocytogenes* sayısının azaldığı fakat ortama bağlı olarak en yüksek inhibisyon etkisinin tespit edildiği suşta farklılık olduğu görülmektedir.

Literatüre bakıldığında; *Bacillus coagulans* CGMCC 9951 kaynaklı bakteriyosinlerin *L. monocytogenes*'e karşı karakterizasyonu ve antibakteriyel etki biçimlerinin incelendiği bir çalışmada, incelenen diğer patojenlere kıyasla en yüksek inhibisyon etkisi *L. monocytogenes*'e karşı gözlenmiştir ve *B. coagulans* CGMCC 9951'in antibakteriyel maddelerinin esas olarak organik asitleri ve bakteriyosinleri içerdiği bulunmuştur (Zhang vd., 2022).

Bal arısının (*Apis mellifera* L.) bağırsaklarından izole edilen, surfaktin üreten üç *Bacillus subtilis* suşu, C4, M1 ve G2III'in yedi farklı *L. monocytogenes* suşuna karşı incelendiği bir çalışmada ise mikrobiyal bir bileşik olan surfaktinin, gıda endüstrisinde *L. monocytogenes*'in gelişmesini önlemek veya kontrol etmek için yeni stratejilerin geliştirilmesinde başka bir doğal araç olarak kabul edilebileceği öngörülmüştür (Sabaté & Audisio, 2013). Ayrıca yapılan diğer bir çalışmada *B. subtilis* JS-4 tarafından üretilen

yeni bir subtilin benzeri lantibiyotik subtilin JS-4 'ün *L. monocytogenes*'e karşı geniş bir antimikrobiyal spektruma sahip olduğu gösterilmiştir (Wei vd., 2021).



Şekil 4.4 Nutrient broth ve UHT sütte zamana bağlı canlı *L. monocytogenes* sayısı

#### 4.2.3 *Escherichia coli* CECT4972

Bu çalışma kapsamında zamana bağlı canlı *Escherichia coli* CECT4972 (O157:H7) sayısı nutrient broth ve UHT süt içerisinde 24. ve 48. saatlerde incelenmiştir. Farklı ortamlardaki probiyotik *Bacillus* spp. ve test mikroorganizmasının canlı süspansiyonundan elde edilen bulgular Tablo 4.4 ve Şekil 4.5'te log kob/mL cinsinden ifade edilmiştir. Tablo 4.4 incelendiğinde nutrient broth içerisindeki canlı *E. coli* sayısı başlangıçta 5,59 log kob/mL, 24. saatte 8,27 log kob/mL ve 48. saatte 8,83 log kob/mL olarak tespit edilmiştir. 24. saatte *E. coli* ve probiyotik *Bacillus* suşlarının birlikte bulunduğu nutrient broth ortamında ise en yüksek canlı test mikroorganizma sayısı 8,54

**Tablo 4.4** Nutrient broth ve UHT sütte zamana bağlı canlı *E. coli* sayısı

Ortam	Kültürlerin Türü	Canlı Test Mikroorganizma Sayısı (log kob/mL)		
		0 h	24 h	48 h
Nutrient Broth	<i>E. coli</i>	5,59±0,16	8,27±0,04 <sup>b,c</sup>	8,83±0,02 <sup>a</sup>
	<i>E. coli</i> + BB2		7,63±0,04 <sup>d</sup>	7,81±0,00 <sup>d</sup>
	<i>E. coli</i> + FC		8,35±0,07 <sup>b</sup>	8,30±0,00 <sup>c</sup>
	<i>E. coli</i> + K1S		8,14±0,06 <sup>c</sup>	8,30±0,00 <sup>c</sup>
	<i>E. coli</i> + KKB		8,18±0,00 <sup>b,c</sup>	8,63±0,04 <sup>b</sup>
	<i>E. coli</i> + EG		8,54±0,00 <sup>a</sup>	8,86±0,02 <sup>a</sup>
UHT Süt	<i>E. coli</i>	5,50±0,28	7,85±0,21 <sup>a</sup>	8,47±0,10 <sup>a</sup>
	<i>E. coli</i> + BB2		7,73±0,11 <sup>a</sup>	7,98±0,03 <sup>a</sup>
	<i>E. coli</i> + FC		7,36±0,26 <sup>a</sup>	8,04±0,14 <sup>a</sup>
	<i>E. coli</i> + K1S		7,71±0,23 <sup>a</sup>	7,94±0,09 <sup>a</sup>
	<i>E. coli</i> + KKB		7,39±0,12 <sup>a</sup>	8,37±0,12 <sup>a</sup>
	<i>E. coli</i> + EG		7,53±0,18 <sup>a</sup>	8,09±0,07 <sup>a</sup>

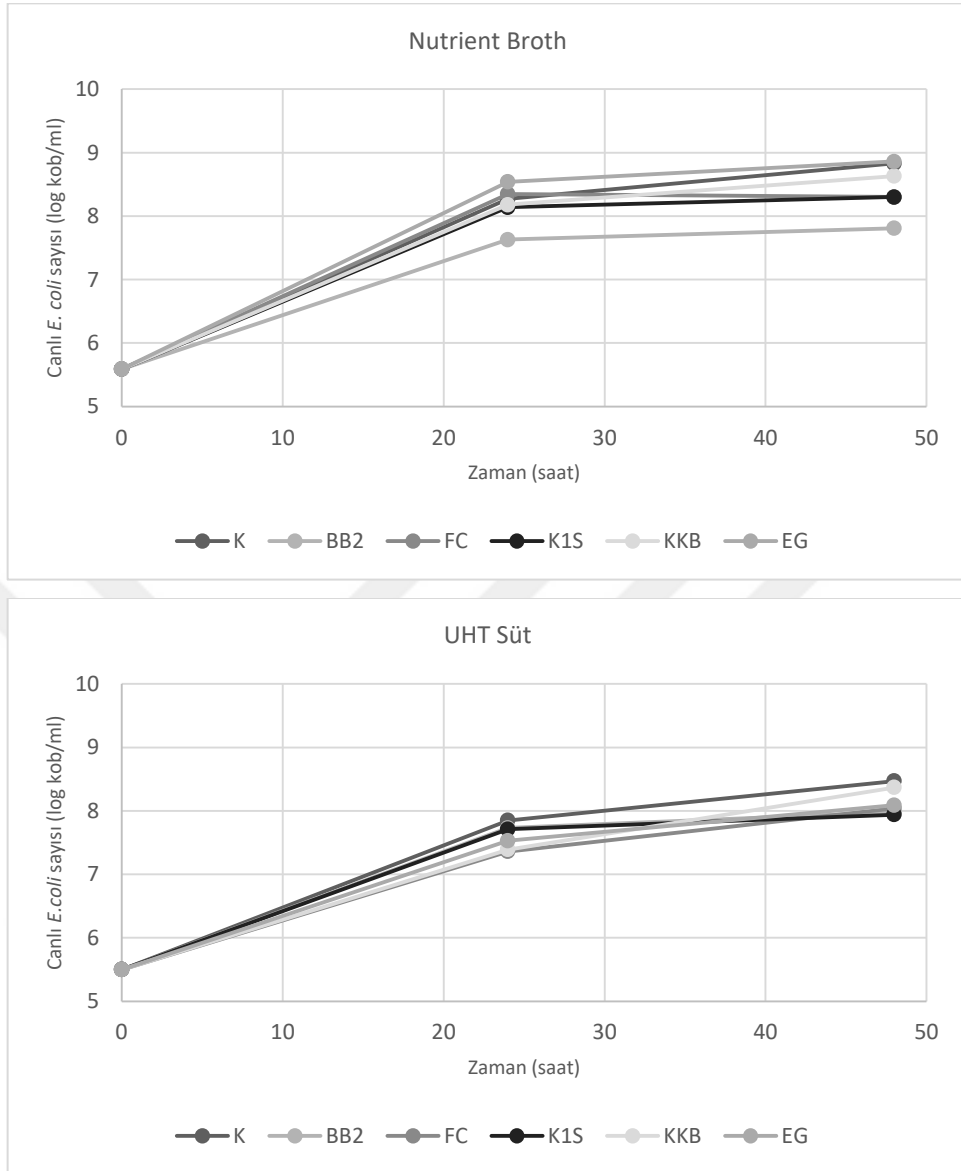
\* Aynı sütündeki farklı harfle işaretlenmiş ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (p<0,05).

log kob/mL iken en düşük 7,63 log kob/mL olarak sayılmıştır. 48. saatte bu değer en yüksek 8,86 log kob/mL iken en düşük 7,81 log kob/mL bulunmuştur. İstatiksel olarak incelediğinde 24. saatteki kombinasyonlarda KKB, K1S ve FC suşlarında ve 48. saatte ise EG suşunda kontrole kıyasla önemli bir fark tespit edilmemiştir ( $p>0,05$ ). Seçilen zamanlarda en yüksek inhibisyon etkisi *B. subtilis*'e ait BB2 suşunda tespit edilmiştir. UHT süt ortamında ise canlı *E. coli* sayısı başlangıçta 5,50 log kob/mL, 24. saatte 7,85 log kob/mL, 48. saatte 8,47 log kob/mL olarak bulunmuştur. *E. coli* ve probiyotik *Bacillus* suşlarının birlikte bulunduğu UHT süt ortamında ise canlı *E. coli* sayısı 24. saatte en yüksek 7,73 log kob/mL iken en düşük 7,36 log kob/mL'dir. 48. saatte ise bu değer en yüksek 8,37 log kob/mL iken en düşük 7,94 kob/mL olarak tespit edilmiştir. İstatiksel olarak incelediğinde probiyotik *Bacillus-E. coli* kombinasyonlarında 24. ve 48. saatlerde kontrole göre önemli bir fark bulunamamıştır ( $p>0,05$ ). Tüm bulgular incelendiğinde 48. saat sonunda nutrient brothda BB2 suşu canlı *E. coli* sayısında inhibisyon etkisi gösterirken UHT süt ortamında tüm suşlar test mikroorganizması üzerinde çok önemli bir inhibisyon etkisi göstermemiştir.

Broiler piliçlerin bağırsakları, fermente gıdalar, toprak ve Çin otlarından izole edilen *Bacillus* suşlarının potansiyel probiyotikler olarak tarandığı bir çalışmada, 124 izolattan yalnızca 6'sının *E. coli*'ye karşı yüksek inhibisyon etkisi gösterdiği tespit edilmiştir (Guo vd., 2006).

Gıda atıklarından izole edilen *Bacillus* suşları JHT3, DET6 ve DET9'un antimikrobiyal etkinliklerinin değerlendirildiği bir çalışmada ise, agar spot yönteminde JHT3 suşunda *E. coli*'ye karşı bir inhibisyon gözlenmezken diğer suşlarda yaklaşık 0,5 mm zon çapı ölçülmüştür (Patel vd., 2009).

*Bacillus subtilis* ATCC6633'ün iki enterik patojen *E. coli* O157:H7 ve *Salmonella* Typhimurium'a karşı *in vitro* antagonistik yeteneklerinin araştırıldığı bir çalışmada ise, her iki patojen de probiyotik suş tarafından inhibe edilmiş, ancak *S. Typhimurium*'un inhibisyonu, *E. coli* O157:H7'ye göre daha yüksek bulunmuştur (El-Naggar, 2004). Literatürde görülen aynı türe ait suşlar arasındaki farklılık ve inhibisyon etkisinin gözlenmemesi sonuçlarımız ile uyumludur.



Şekil 4.5 Nutrient broth ve UHT süte zamana bağlı canlı *E. coli* sayısı

#### 4.2.4 *Salmonella Typhimurium* ATCC14028

Bu çalışma kapsamında zamana bağlı canlı *Salmonella Typhimurium* ATCC14028 sayısı nutrient broth ve UHT süt içerisinde 24. ve 48. saatlerde incelenmiştir. Farklı ortamlardaki probiyotik *Bacillus* spp. ve test mikroorganizmasının canlı süspansiyonundan elde edilen bulgular Tablo 4.5 ve Şekil 4.6'da log kob/mL cinsinden ifade edilmiştir. Tablo 4.5 incelendiğinde nutrient broth içerisinde başlangıçtaki canlı *S. Typhimurium* sayısı başlangıçta 5,30 log kob/mL, 24. saatte 8,69 log kob/mL ve 48. saatte 8,92 log kob/mL olarak bulunmuştur. *S. Typhimurium* ve probiyotik *Bacillus* suşlarının birlikte bulunduğu nutrient broth ortamında ise 24. saatte canlı *S. Typhimurium* sayısı en yüksek 8,60 log kob/mL iken en düşük 6,46 kob/mL olarak

tespit edilmiştir. 48. saatte ise bu değer en yüksek 8,77 log kob/mL iken en düşük 5,84 log kob/mL bulunmuştur. İstatiksel olarak incelendiğinde probiyotik *Bacillus-S. Typhimurium* kombinasyonlarında 24. saatte yalnızca KKB suşunda ve 48. saatte BB2, KKB, EG suşlarında kontrole kıyasla fark önemli olarak saptanmıştır ( $p<0,05$ ). Nutrient brothda en yüksek inhibisyon etkisi 24. ve 48. saat sonlarında KKB suşunda tespit edilmiştir. UHT süt ortamında ise canlı *S. Typhimurium* sayısı başlangıçta 6,05 log kob/mL, 24. saatte 8,98 log kob/mL ve 48. saatte 10,31 log kob/mL olarak kaydedilmiştir. UHT süt ortamında yapılan kombinasyonlarda 24. saatte canlı *S. Typhimurium* sayısı en yüksek 8,97 log kob/mL iken en düşük 8,47 log kob/mL olarak sayılmıştır. 48. saatte ise en yüksek 8,87 log kob/mL iken en düşük 8,40 log kob/mL bulunmuştur. İstatiksel olarak incelendiğinde 24. saatte KKB suşu hariç kontrole kıyasla önemli bir fark saptanamamıştır ( $p>0,05$ ). 48. saatte tüm suşlarda kontrole göre önemli bir fark tespit edilmiştir ( $p<0,05$ ). Tüm bulgular incelendiğinde her iki ortamda da *B. coagulans*'a ait KKB suşunun *S. Typhimurium* üzerinde yüksek inhibisyon etkisine sahip olduğu ve UHT süt ortamında ise tüm suşların inhibisyon etkisinin 48. saat sonunda arttığı saptanmıştır.

Pirinç atıklarından izole edilen 31 adet *Bacillus coagulans*'a ait suşun teknolojik ve güvenlik değerlendirilmesinin yapıldığı bir çalışmada; hiçbir suş *L. monocytogenes* ve *S. Typhimurium*'a karşı antimikrobiyal aktivite göstermezken, *B. coagulans* suşlarının çoğu *B. cereus*, *S. aureus* (Gram pozitif bakteriler) ile *E. coli* O157:H7 (Gram negatif bakteri)'ye karşı antimikrobiyal aktivite göstermiştir (Kim vd., 2021). Bu tez çalışması kapsamındaki *B. coagulans* suşu ile karşılaştırıldığında çalışılan suşun *S. Typhimurium*'a karşı kısmi inhibisyon etkisi olduğu görülmektedir.

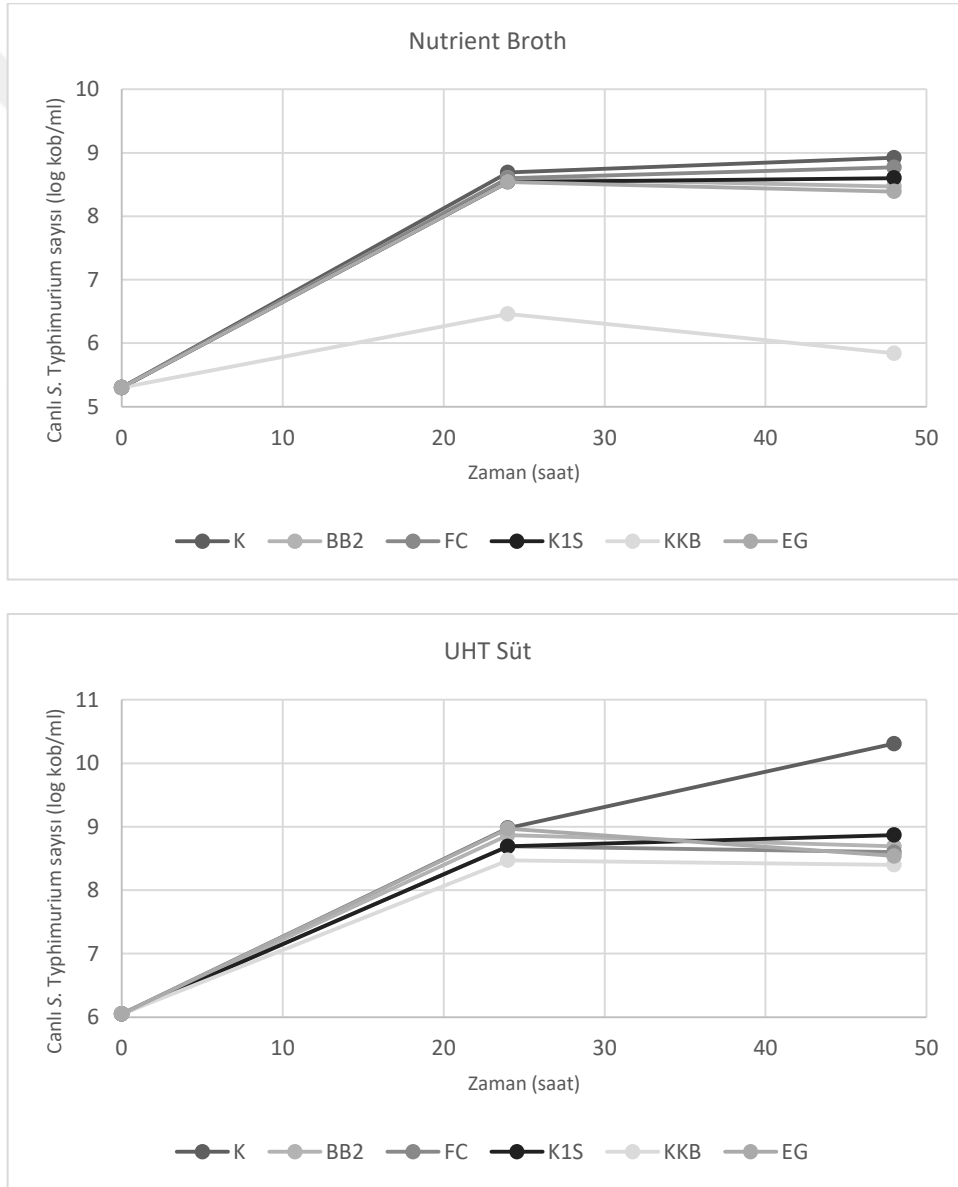
Kanatlı hayvanların gastrointestinal kanallarından alınan 240 bakteri izolatının aktivitesinin hayvan hastalıklarına karşı korunmak ve insan gıda ürünlerinin patojen kontaminasyonunu azaltmak için potansiyel bir probiyotik olarak kullanılmak üzere değerlendirildiği bir çalışmada, 117 *Bacillus* izolatının antimikrobiyal aktivitesi incelenmiş ve sadece 10 izolatın *S. Typhimurium*'un gelişmesini engelleme yeteneğine sahip olduğu bulunmuştur. İçerisinden *B. subtilis* NC11'in *S. Enteritidis* enfeksiyonuna karşı koruma aktivitesi ve rekabetçi dışlama yoluyla ortadan kaldırma yeteneği olduğu tespit edilmiştir (Thirabunyanon & Thongwittaya, 2012).

**Tablo 4.5** Nutrient broth ve UHT sütte zamana bağlı canlı *S. Typhimurium* sayısı

Ortam	Kültürlerin Türü	Canlı Test Mikroorganizma Sayısı (log kob/mL)		
		0 h	24 h	48 h
Nutrient Broth	<i>S. Typhimurium</i>	5,30±0,12	8,69±0,00 <sup>a</sup>	8,92±0,02 <sup>a</sup>
	<i>S. Typhimurium</i> + BB2		8,60±0,10 <sup>a</sup>	8,47±0,06 <sup>b,c</sup>
	<i>S. Typhimurium</i> + FC		8,60±0,13 <sup>a</sup>	8,77±0,15 <sup>a,b</sup>
	<i>S. Typhimurium</i> + K1S		8,54±0,17 <sup>a</sup>	8,60±0,03 <sup>a,b,c</sup>
	<i>S. Typhimurium</i> + KKB		6,46±0,06 <sup>b</sup>	5,84±0,08 <sup>d</sup>
	<i>S. Typhimurium</i> + EG		8,54±0,16 <sup>a</sup>	8,39±0,14 <sup>c</sup>
UHT Süt	<i>S. Typhimurium</i>	6,05±0,10	8,98±0,14 <sup>a</sup>	10,31±0,01 <sup>a</sup>
	<i>S. Typhimurium</i> + BB2		8,87±0,13 <sup>a,b</sup>	8,69±0,11 <sup>b,c</sup>
	<i>S. Typhimurium</i> + FC		8,69±0,16 <sup>a,b</sup>	8,60±0,13 <sup>b,c</sup>
	<i>S. Typhimurium</i> + K1S		8,69±0,02 <sup>a,b</sup>	8,87±0,00 <sup>b</sup>
	<i>S. Typhimurium</i> + KKB		8,47±0,15 <sup>b</sup>	8,40±0,16 <sup>c</sup>
	<i>S. Typhimurium</i> + EG		8,97±0,00 <sup>a</sup>	8,54±0,01 <sup>b,c</sup>

\* Aynı sütündeki farklı harfle işaretlenmiş ortalamalar istatistiksel olarak birbirinden farklıdır (p<0,05).

*Salmonella* Typhimurium'un *in vivo* gelişme inhibisyonunun altı ila yedi haftalık broiler piliçler üzerinde değerlendirildiği bir çalışmada, çevresel ve kanatlı kaynaklarından izole edilen probiyotik *Bacillus subtilis* suşları hayvanların diyetine takviye edilmiş ve denemeler sonunda bazı *Bacillus* izolatlarının broiler piliçlerin sindirim sistemindeki *S. Typhimurium* seviyelerini önemli ölçüde azaltabildiğini göstermiştir (Menconi vd., 2013). Ayrıca yapılan diğer bir çalışmada ise, sıvı besiyeri ortamındaki ortak kültürde probiyotik *Bacillus subtilis* KATMIRA1933 ve metabolitlerinin *Salmonella*'nın gelişmesinde önemli bir inhibisyon etkisi olmadığı gösterilmiştir (Tazehabadi vd., 2021). Sonuç olarak, literatürdeki çalışmalardan alınan sonuçların elde edilen verilerle paralel olduğu görülmektedir.



Şekil 4.6 Nutrient broth ve UHT sütte zamana bağlı canlı *S. Typhimurium* sayısı

Probiyotikler, sağlık yararları sağladığı için yaygın olarak tüketilmekte ve araştırılmaktadır. *Lactobacillus* spp. ve *Bifidobacterium* spp. mevcut ticari tip probiyotik olarak en çok incelenen türler olsa da günümüzde araştırmalar sonucunda *Bacillus* türlerinin bu türlere kıyasla ekstrem fizyolojik koşullarda hayatta kalma yeteneğine sahip olduğunun tespit edilmesi ve insan gastrointestinal sisteminden izole edilmesi bu türü odak noktası haline getirmiştir.

Bu çalışma kapsamında çeşitli kaynaklardan izole edilen ve potansiyel probiyotik özellikleri belirlenen *Bacillus* spp.'ye (*B. subtilis*, *B. coagulans*, *B. clausii*) ait suşların antimikrobiyal aktivitesi zamana bağlı olarak agar, broth ve UHT süt olmak üzere üç farklı ortamda *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *E. coli* O157:H7 ve *S. Typhimurium*'a karşı incelenmiştir. Elde edilen verilerin değerlendirilmesi ile şu sonuçlar çıkarılmıştır;

*Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* ATCC25923 üzerinde agar kuyucuk yönteminde probiyotik *Bacillus* suşlarından *B. subtilis*'e ait sırasıyla K1S ve BB2 suşunun antimikrobiyal etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir. Zamana bağlı olarak probiyotik *Bacillus-S. aureus* kombinasyonundaki canlı *S. aureus* sayısı nutrient broth ve UHT süt içerisinde incelendiğinde ise tüm kombinasyonlarda kontrole kıyasla test mikroorganizma sayısının 48. saat sonunda azaldığı saptanmıştır. Nutrient brothda en yüksek inhibisyon etkisini BB2 suşu gösterirken UHT sütte K1S suşu göstermiştir.

*Listeria monocytogenes* ATCC13932 üzerinde agar kuyucuk yönteminde probiyotik *Bacillus* suşlarının herhangi bir antimikrobiyal aktiveye sahip olduğu tespit edilememiştir. Nutrient broth içerisinde 48. saat sonunda probiyotik *Bacillus-L. monocytogenes* kombinasyonlarında *B. coagulans*'a ait FC suşunda kısmi inhibisyon etkisi gözlenirken UHT süt içerisinde tüm kombinasyonlardaki inhibisyon etkisinin daha da arttığı saptanmıştır.

*Escherichia coli* CECT4972 (O157:H7) üzerinde agar kuyucuk yönteminde probiyotik *Bacillus* suşlarından *B. subtilis*'e ait BB2 suşunun antimikrobiyal etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir ve inhibisyon çapı *S. aureus*'a göre daha düşük bulunmuştur. Nutrient

broth içerisinde de bu etki devam ederken UHT sütte kontrole kıyasla önemli bir fark bulunamamıştır.

*Salmonella* Typhimurium ATCC14028 üzerinde agar kuyucuk yönteminde probiyotik *Bacillus* suşlarının herhangi bir antimikrobiyal aktiveye sahip olduğu tespit edilememiştir. Nutrient broth içerisindeki probiyotik *Bacillus*-S. Typhimurium kombinasyonlarında 48. saat sonunda *B. coagulans*'a ait KKB suşunda önemli bir antimikrobiyal aktivite gözlenirken UHT sütte aktivitenin tüm suşlarda arttığı saptanmıştır.

Sonuç olarak, incelenen tüm patojen mikroorganizmalar göz önünde bulundurulduğunda probiyotik *Bacillus* suşlarının en yüksek antimikrobiyal aktivite gösterdiği patojen *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* ATCC25923 olarak tespit edilmiştir. Elde edilen veriler literatür ile karşılaştırıldığında da probiyotik *Bacillus* suşlarının Gram pozitif bakteriler üzerindeki yüksek antimikrobiyal etkiye sahip olması ile paralellik göstermektedir. Ayrıca *B. subtilis*'e ait suşların diğer türlere kıyasla daha yüksek inhibisyon etkisine sahip olduğu ve aynı türe ait suşlarında patojenler üzerindeki etkilerinde farklılık görülmektedir. Bu sonuç, antimikrobiyal aktivitenin esas olarak türe özgü olduğunu ayrıca suşlar arasında da önemli farklılıklar gösterebileceğini ortaya koymaktadır.

Literatürdeki çalışmalara bakıldığında antimikrobiyal aktivitenin genel olarak çeşitli agar yöntemleriyle çalışıldığı ve *Bacillus* suşlarında kayda değer sonuçlar alınmadığı görülmektedir. Probiyotik *Bacillus* suşlarının patojenlerle doğrudan etkileşime girdiğini gösteren bulgu sayısı sınırlıdır. Sonuçlarımız probiyotik *Bacillus* türlerinin antimikrobiyal aktivitesinin bakteriyosin veya bakteriyosin benzeri maddeler üretmesinden kaynaklandığı gibi aynı ortamdaki patojenik bakteriler arasındaki mikrobiyal gıda rekabetinden kaynaklandığını göstermektedir. Hipotezimiz aynı zamanda probiyotiklerin, zamana bağlı olarak farklı besi ortamlarında maksimum avantaj için potansiyel niş rakiplerini gelişmesini sınırladığı veya öldürdüğünü ortaya koymaktadır.

Rekabetçi dışlama, probiyotiğin konakçının bağırsak epitel hücrelerinde herhangi bir patojenden kaynaklanan enfeksiyona karşı koruma sergilemedeki etki modlarından biridir ve probiyotik *Bacillus* spp. kullanarak rekabetçi dışlamanın etkili olup olmadığı açık değildir. Bu nedenle sonuçlarımız, gıda patojenlerinden kaynaklanan

enfeksiyonları kontrol etmek ve tedavi etmek için alternatif stratejilere önyak olabilir. Aynı zamanda gıda matriksi içindeki olumlu sonuçlarda kullanılan suşların ileriki aşamalarda alternatif bir doğal biyokoruyucu olarak değerlendirilebileceğini göstermektedir, ancak bu uygulamalar için daha fazla çalışma yapılması gerekmektedir.



- Abriouel, H., Franz, C. M., Omar, N. B., & Gálvez, A. (2011). Diversity and applications of Bacillus bacteriocins. *FEMS microbiology reviews*, 35(1), 201-232.
- Algburi, A., Al-Hasani, H. M., Ismael, T. K., Abdelhameed, A., Weeks, R., Ermakov, A. M., & Chikindas, M. L. (2021). Antimicrobial activity of Bacillus subtilis KATMIRA1933 and Bacillus amyloliquefaciens B-1895 against Staphylococcus aureus biofilms isolated from wound infection. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 13(1), 125-134.
- Baruzzi, F., Morea, M., Baruzzi, F., Quintieri, L., & Caputo, L. (n.d.). *Antimicrobial compounds* Baruzzi, F., Quintieri, L., Morea, M., & Caputo, L. (2011). Antimicrobial compounds produced by Bacillus spp. and applications in food. *Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances*, 2(1), 1102-1111.
- Beachey, E. H. (1981). Bacterial adherence: adhesin-receptor interactions mediating the attachment of bacteria to mucosal surfaces. *Journal of Infectious Diseases*, 143(3), 325-345.
- Begley, M., Cotter, P. D., Hill, C., & Ross, R. P. (2009). Identification of a novel two-peptide lantibiotic, lichenicidin, following rational genome mining for LanM proteins. *Applied and environmental microbiology*, 75(17), 5451-5460.
- Berliner, E. (1915). Über die Schlaffsucht der Mehlmottenraupe (Ephestia kühniella Zell.) und ihren Erreger Bacillus thuringiensis n. sp. *Zeitschrift für angewandte Entomologie*, 2(1), 29-56.
- Bermudez-Brito, M., Plaza-Díaz, J., Muñoz-Quezada, S., Gómez-Llorente, C., & Gil, A. (2012). Probiotic mechanisms of action. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 61(2), 160-174.
- Borriss, R. (2020). Bacillus. In *Beneficial Microbes in Agro-Ecology* (pp. 107-132). Academic Press.
- Candela, M., Centanni, M., Fiori, J., Biagi, E., Turrone, S., Orrico, C., ... & Brigidi, P. (2010). DnaK from Bifidobacterium animalis subsp. lactis is a surface-exposed human

- plasminogen receptor upregulated in response to bile salts. *Microbiology*, 156(6), 1609-1618.
- Cenci, G., Trotta, F., & Caldini, G. (2006). Tolerance to challenges miming gastrointestinal transit by spores and vegetative cells of *Bacillus clausii*. *Journal of applied microbiology*, 101(6), 1208-1215.
- Chang, J. H., Shim, Y. Y., Cha, S. K., & Chee, K. M. (2010). Probiotic characteristics of lactic acid bacteria isolated from kimchi. *Journal of Applied Microbiology*, 109(1), 220-230.
- Chang, M., & Chang, H. C. (2012). Development of a screening method for biogenic amine producing *Bacillus* spp. *International journal of food microbiology*, 153(3), 269-274.
- Cohn, F. (1875). *Untersuchungen über Bacterien: I.* JU Kern.
- Conway, P. L. (1996). Selection criteria for probiotic microorganisms. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*, 5, 10-14.
- Cutting, S. M. (2011). *Bacillus* probiotics. *Food microbiology*, 28(2), 214-220.
- de Melo Pereira, G. V., de Oliveira Coelho, B., Júnior, A. I. M., Thomaz-Soccol, V., & Soccol, C. R. (2018). How to select a probiotic? A review and update of methods and criteria. *Biotechnology advances*, 36(8), 2060-2076.
- Divya, J. B., Varsha, K. K., & Nampoothiri, K. M. (2012). Newly isolated lactic acid bacteria with probiotic features for potential application in food industry. *Applied biochemistry and biotechnology*, 167(5), 1314-1324.
- Dubois, J. Y. F., Kouwen, T. R., Schurich, A. K., Reis, C. R., Ensing, H. T., Trip, E. N., ... & van Dijl, J. M. (2009). Immunity to the bacteriocin sublancin 168 is determined by the SunI (YolF) protein of *Bacillus subtilis*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 53(2), 651-661.
- EFSA Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed (FEEDAP). (2012). Guidance on the assessment of bacterial susceptibility to antimicrobials of human and veterinary importance. *EFSA Journal*, 10(6), 2740.
- EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ). (2013). Scientific Opinion on the maintenance of the list of QPS biological agents intentionally added to food and feed (2013 update). *EFSA Journal*, 11(11), 3449.

- El-Naggar, M. Y. (2004). Comparative study of probiotic cultures to control the growth of *Escherichia coli* O157: H7 and *Salmonella typhimurium*. *Biotechnology*, 3(2), 173-180.
- Erickson, K. L., & Hubbard, N. E. (2000). Probiotic immunomodulation in health and disease. *The Journal of nutrition*, 130(2), 403S-409S.
- Fernandez-Pacheco, P., Arévalo-Villena, M., Bevilacqua, A., Corbo, M. R., & Pérez, A. B. (2018). Probiotic characteristics in *Saccharomyces cerevisiae* strains: Properties for application in food industries. *Lwt*, 97, 332-340.
- Fuller, R. (1992). History and development of probiotics. In *Probiotics* (pp. 1-8). Springer, Dordrecht.
- Galdeano, C. M., Cazorla, S. I., Dumit, J. M. L., Vélez, E., & Perdígón, G. (2019). Beneficial effects of probiotic consumption on the immune system. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 74(2), 115-124.
- Gómez-Llorente, C., Muñoz, S., & Gil, A. (2010). Role of Toll-like receptors in the development of immunotolerance mediated by probiotics. *Proceedings of the Nutrition Society*, 69(3), 381-389.
- Gordon, R. E., Haynes, W. C., & Pang, C. H. N. (1973). *The genus bacillus* (No. 427). Agricultural research service, US Department of Agriculture.
- Graumann, P. (2007). *Bacillus*. *Cellular and molecular biology*.
- Guo, X., Li, D., Lu, W., Piao, X., & Chen, X. (2006). Screening of *Bacillus* strains as potential probiotics and subsequent confirmation of the in vivo effectiveness of *Bacillus subtilis* MA139 in pigs. *Antonie van leeuwenhoek*, 90(2), 139-146.
- Havenaar, R., Brink, B. T., & Huis In't Veld, J. H. (1992). Selection of strains for probiotic use. In *Probiotics* (pp. 209-224). Springer, Dordrecht.
- He, Z., Yuan, C., Zhang, L., & Yousef, A. E. (2008). N-terminal acetylation in paenibacillin, a novel lantibiotic. *FEBS letters*, 582(18), 2787-2792.
- Hoa, N. T., Baccigalupi, L., Huxham, A., Smertenko, A., Van, P. H., Ammendola, S., ... & Cutting, S. M. (2000). Characterization of *Bacillus* species used for oral bacteriotherapy and bacteriophylaxis of gastrointestinal disorders. *Applied and environmental microbiology*, 66(12), 5241-5247.

- Hong, H. A., Duc, L. H., & Cutting, S. M. (2005). The use of bacterial spore formers as probiotics. *FEMS microbiology reviews*, 29(4), 813-835.
- Hoyles, L., Honda, H., Logan, N. A., Halket, G., La Ragione, R. M., & McCartney, A. L. (2012). Recognition of greater diversity of *Bacillus* species and related bacteria in human faeces. *Research in Microbiology*, 163(1), 3-13.
- Hugh-Jones, M., & Blackburn, J. (2009). The ecology of *Bacillus anthracis*. *Molecular aspects of medicine*, 30(6), 356-367.
- Islam, S. U. (2016). Clinical uses of probiotics. *Medicine*, 95(5).
- Jafarnejad, S., Saremi, S., Jafarnejad, F., & Arab, A. (2016). Effects of a multispecies probiotic mixture on glycemic control and inflammatory status in women with gestational diabetes: a randomized controlled clinical trial. *Journal of nutrition and metabolism*, 2016.
- Jamaluddin, N., Stuckey, D. C., Ariff, A. B., & Faizal Wong, F. W. (2018). Novel approaches to purifying bacteriocin: A review. *Critical reviews in food science and nutrition*, 58(14), 2453-2465.
- Jayanthi, N., & Sudha, R. M. (2015). *Bacillus clausii*-The probiotic of choice in the treatment of diarrhoea. *Journal of Yoga & Physical Therapy*, 5(4), 1.
- Jung, J. H., Lee, M. Y., & Chang, H. C. (2012). Evaluation of the probiotic potential of *Bacillus polyfermenticus* CJ6 isolated from meju, a Korean soybean fermentation starter. *Journal of microbiology and biotechnology*, 22(11), 1510-1517.
- Kadhun, H. A., & Hasan, T. H. (2019). The study of *Bacillus subtilis* antimicrobial activity on some of the pathological isolates. *International Journal of Drug Delivery Technology*, 9(2), 193-196.
- Kerry, R. G., Patra, J. K., Gouda, S., Park, Y., Shin, H. S., & Das, G. (2018). Benefaction of probiotics for human health: A review. *Journal of food and drug analysis*, 26(3), 927-939.
- Kim, Y. S., Lee, J., Heo, S., Lee, J. H., & Jeong, D. W. (2021). Technology and safety evaluation of *Bacillus coagulans* exhibiting antimicrobial activity for starter development. *LWT*, 137, 110464.

- Koch, R. (2010). Die Ätiologie der Milzbrand-Krankheit, begründet auf die Entwicklungsgeschichte des Bacillus anthracis.
- Konuray, G., & Erginkaya, Z. (2018). Potential use of Bacillus coagulans in the food industry. *Foods*, 7(6), 92.
- Kotiranta, A., Lounatmaa, K., & Haapasalo, M. (2000). Epidemiology and pathogenesis of Bacillus cereus infections. *Microbes and infection*, 2(2), 189-198.
- Kruszewska, D., Sahl, H. G., Bierbaum, G., Pag, U., Hynes, S. O., & Ljungh, Å. (2004). Mersacidin eradicates methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) in a mouse rhinitis model. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 54(3), 648-653.
- Kunst, F., Ogasawara, N., Moszer, I., Albertini, A. M., Alloni, G. O., Azevedo, V., ... & Yoshikawa, H. (1997). The complete genome sequence of the gram-positive bacterium Bacillus subtilis. *Nature*, 390(6657), 249-256.
- Larsen, N., Thorsen, L., Kpikpi, E. N., Stuer-Lauridsen, B., Cantor, M. D., Nielsen, B., ... & Jespersen, L. (2014). Characterization of Bacillus spp. strains for use as probiotic additives in pig feed. *Applied microbiology and biotechnology*, 98(3), 1105-1118.
- Lee, N. K., Park, J. S., Park, E., & Paik, H. D. (2007). Adherence and anticarcinogenic effects of Bacillus polyfermenticus SCD in the large intestine. *Letters in Applied Microbiology*, 44(3), 274-278.
- Lee, J., Park, I., Choi, Y., & Cho, J. (2012). Bacillus strains as feed additives: In vitro evaluation of its potential probiotic properties. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 25(4), 577-585.
- Lee, N. K., Son, S. H., Jeon, E. B., Jung, G. H., Lee, J. Y., & Paik, H. D. (2015). The prophylactic effect of probiotic Bacillus polyfermenticus KU3 against cancer cells. *Journal of functional foods*, 14, 513-518.
- Lee, N. K., Kim, W. S., & Paik, H. D. (2019). Bacillus strains as human probiotics: characterization, safety, microbiome, and probiotic carrier. *Food science and biotechnology*, 28(5), 1297-1305.
- Lilly, D. M., & Stillwell, R. H. (1965). Probiotics: growth-promoting factors produced by microorganisms. *Science*, 147(3659), 747-748.
- Logan, N. A., & De Vos, P. (2015). Bergey's manual of systematics of archaea and bacteria.

- Ma, E. L., Choi, Y. J., Choi, J., Pothoulakis, C., Rhee, S. H., & Im, E. (2010). The anticancer effect of probiotic *Bacillus polyfermenticus* on human colon cancer cells is mediated through ErbB2 and ErbB3 inhibition. *International journal of cancer*, 127(4), 780-790.
- Mack, D. R., Ahrne, S., & Hyde, L. S. Wei and MA Hollingsworth. 2003. Extracellular MUC3 mucin secretion follows adherence of *Lactobacillus* strains to intestinal epithelial cells in vitro. *Gut*, 52, 827-833.
- Majamaa, H., & Isolauri, E. (1997). Probiotics: a novel approach in the management of food allergy. *Journal of allergy and clinical immunology*, 99(2), 179-185.
- Majeed, M. U. H. A. M. M. E. D., Natarajan, S., Sivakumar, A., Ali, F., Pande, A. N. U. R. A. G., Majeed, S., & Karri, S. K. (2016). Evaluation of anti-diarrhoeal activity of *Bacillus coagulans* MTCC 5856 and its effect on gastrointestinal motility in Wistar rats. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 7(1), P311-P316.
- Marrec, L. (1998). Coagulin, a bacteriocin-like inhibitory substance produced by *Bacillus coagulans* I4. *Journal of applied microbiology*, 85(1), 42-50.
- Marx, R., Stein, T., Entian, K. D., & Glaser, S. J. (2001). Structure of the *Bacillus subtilis* peptide antibiotic subtilosin A determined by <sup>1</sup>H-NMR and matrix assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. *Journal of protein chemistry*, 20(6), 501-506.
- Mekkes, M. C., Weenen, T. C., Brummer, R. J., & Claassen, E. (2014). The development of probiotic treatment in obesity: a review. *Beneficial microbes*, 5(1), 19-28.
- Menconi, A., Morgan, M. J., Pumford, N. R., Hargis, B. M., & Tellez, G. (2013). Physiological properties and *Salmonella* growth inhibition of probiotic *Bacillus* strains isolated from environmental and poultry sources. *International journal of bacteriology*, 2013.
- Mersha, F., & Pandita, A. Probiotic effect of *Lactobacillus* bacteria on their host A-review.
- Miyazaki, Y., Yokota, H., Takahashi, H., Fukuda, M., Kawakami, H., Kamiya, S., & Hanawa, T. (2010). Effect of probiotic bacterial strains of *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, and *Enterococcus* on enteroaggregative *Escherichia coli*. *Journal of Infection and Chemotherapy*, 16(1), 10-18.

- Mohamadshahi, M., Veissi, M., Haidari, F., Shahbazian, H., Kaydani, G. A., & Mohammadi, F. (2014). Effects of probiotic yogurt consumption on inflammatory biomarkers in patients with type 2 diabetes. *BioImpacts: BI*, 4(2), 83.
- Mohkam, M., Rasoul-Amini, S., Shokri, D., Berenjian, A., Rahimi, F., Sadraeian, M., ... & Ghasemi, Y. (2016). Characterization and in vitro probiotic assessment of potential indigenous *Bacillus* strains isolated from soil rhizosphere. *Minerva Biotechnologica*, 28(1), 19-28.
- Monteagudo-Mera, A., Rastall, R. A., Gibson, G. R., Charalampopoulos, D., & Chatzifragkou, A. (2019). Adhesion mechanisms mediated by probiotics and prebiotics and their potential impact on human health. *Applied microbiology and biotechnology*, 103(16), 6463-6472.
- Muras, A., Romero, M., Mayer, C., & Otero, A. (2021). Biotechnological applications of *Bacillus licheniformis*. *Critical Reviews in Biotechnology*, 41(4), 609-627.
- Nath, S., Chowdhury, S., & Dora, K. C. (2015). Application of *Bacillus* sp. as a biopreservative for food preservation. *International Journal of Engineering Research and Applications*, 5(4), 85-95.
- Ng, S. C., Hart, A. L., Kamm, M. A., Stagg, A. J., & Knight, S. C. (2009). Mechanisms of action of probiotics: recent advances. *Inflammatory bowel diseases*, 15(2), 300-310.
- Nicholson, W. L. (2002). Roles of *Bacillus* endospores in the environment. *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS*, 59(3), 410-416.
- Nielsen, D. S., Cho, G. S., Hanak, A., Huch, M., Franz, C. M., & Arneborg, N. (2010). The effect of bacteriocin-producing *Lactobacillus plantarum* strains on the intracellular pH of sessile and planktonic *Listeria monocytogenes* single cells. *International journal of food microbiology*, 141, S53-S59.
- Oelschlaeger, T. A. (2010). Mechanisms of probiotic actions—a review. *International journal of medical microbiology*, 300(1), 57-62.
- Ohland, C. L., & MacNaughton, W. K. (2010). Probiotic bacteria and intestinal epithelial barrier function. *American journal of physiology-gastrointestinal and liver physiology*, 298(6), G807-G819.
- Oman, T. J., & Van Der Donk, W. A. (2009). Insights into the mode of action of the two-peptide lantibiotic haloduracin. *ACS chemical biology*, 4(10), 865-874.

- Paik, H. D., Bae, S. S., Park, S. H., & Pan, J. G. (1997). Identification and partial characterization of tochicin, a bacteriocin produced by *Bacillus thuringiensis* subsp *tochigiensis*. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 19(4), 294-298.
- Patel, A. K., Ahire, J. J., Pawar, S. P., Chaudhari, B. L., & Chincholkar, S. B. (2009). Comparative accounts of probiotic characteristics of *Bacillus* spp. isolated from food wastes. *Food Research International*, 42(4), 505-510.
- Piewngam, P., & Otto, M. (2020). Probiotics to prevent *Staphylococcus aureus* disease?. *Gut Microbes*, 11(1), 94-101.
- Priest, F. G. (1993). Systematics and ecology of *Bacillus*. *Bacillus subtilis and other gram-positive bacteria: Biochemistry, physiology, and molecular genetics*, 1-16.
- Quijano, G. (2011). The benefits of probiotics on human health. *Journal of Microbial & Biochemical Technology*, 1(1), 1-6.
- Ragul, K., Syiem, I., Sundar, K., & Shetty, P. H. (2017). Characterization of probiotic potential of *Bacillus* species isolated from a traditional brine pickle. *Journal of food science and technology*, 54(13), 4473-4483.
- Raymond, B., Johnston, P. R., Nielsen-LeRoux, C., Lereclus, D., & Crickmore, N. (2010). *Bacillus thuringiensis*: an impotent pathogen?. *Trends in microbiology*, 18(5), 189-194.
- Reddy, B. S. (1998). Prevention of colon cancer by pre-and probiotics: evidence from laboratory studies. *British Journal of Nutrition*, 80(S2), S219-S223.
- Reid, G. (2016). Probiotics: definition, scope and mechanisms of action. *Best practice & research Clinical gastroenterology*, 30(1), 17-25.
- Riley, M. A., & Wertz, J. E. (2002). Bacteriocins: evolution, ecology, and application. *Annual Reviews in Microbiology*, 56(1), 117-137.
- Saarela, M., Mogensen, G., Fonden, R., Mättö, J., & Mattila-Sandholm, T. (2000). Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties. *Journal of biotechnology*, 84(3), 197-215.
- Sabaté, D. C., & Audisio, M. C. (2013). Inhibitory activity of surfactin, produced by different *Bacillus subtilis* subsp. *subtilis* strains, against *Listeria monocytogenes* sensitive and bacteriocin-resistant strains. *Microbiological research*, 168(3), 125-129.

- Saising, J., Dube, L., Ziebandt, A. K., Voravuthikunchai, S. P., Nega, M., & Götz, F. (2012). Activity of gallidermin on *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* biofilms. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, *56*(11), 5804-5810.
- Salminen, S., Ouwehand, A., Benno, Y., & Lee, Y. K. (1999). Probiotics: how should they be defined?. *Trends in food science & technology*, *10*(3), 107-110.
- Samaržija, D., Tudor, M., Prtilo, T., Dolenčić Špehar, I., Zamberlin, Š., & Havranek, J. (2009). Probiotic bacteria in prevention and treatment of diarrhea. *Mljekarstvo: časopis za unaprjeđenje proizvodnje i prerade mlijeka*, *59*(1), 28-32.
- Sanders, M. E. (2008). Probiotics: definition, sources, selection, and uses. *Clinical infectious diseases*, *46*(Supplement\_2), S58-S61.
- Sansinenea, E. (2012). *Bacillus thuringiensis biotechnology* (Vol. 528). Netherlands: Springer.
- SCAN, 2002. (n.d.). *Opinion of the Scientific Committee on Animal Nutrition on the use of Bacillus licheniformis NCTC 13123 in feedingstuffs for pigs (Product AlCare TM)*.
- Schrezenmeir, J., & de Vrese, M. (2001). Probiotics, prebiotics, and synbiotics—approaching a definition. *The American journal of clinical nutrition*, *73*(2), 361s-364s.
- Sebei, S., Zendo, T., Boudabous, A., Nakayama, J., & Sonomoto, K. (2007). Characterization, N-terminal sequencing and classification of cerein MRX1, a novel bacteriocin purified from a newly isolated bacterium: *Bacillus cereus* MRX1. *Journal of Applied Microbiology*, *103*(5), 1621-1631.
- Shewale, R. N., Sawale, P. D., Khedkar, C. D., & Singh, A. (2014). Selection criteria for probiotics: a review. *International Journal of Probiotics & Prebiotics*, *9*(1/2), 17.
- Song, S., Lee, S. J., Park, D. J., Oh, S., & Lim, K. T. (2016). The anti-allergic activity of *Lactobacillus plantarum* L67 and its application to yogurt. *Journal of dairy science*, *99*(12), 9372-9382.
- Stein, T. (2005). *Bacillus subtilis* antibiotics: structures, syntheses and specific functions. *Molecular microbiology*, *56*(4), 845-857.
- Stoica, R. M., Moscovici, M. I. Ş. U., Tomulescu, C., Căşărică, A. N. G. E. L. A., Băbeanu, N. A. R. C. I. S. A., Popa, O., & Kahraman, H. A. (2019). Antimicrobial compounds of the genus *Bacillus*: A review. *Rom Biotechnol Lett*, *24*(6), 1111-1119.

- Sumi, C. D., Yang, B. W., Yeo, I. C., & Hahm, Y. T. (2015). Antimicrobial peptides of the genus *Bacillus*: a new era for antibiotics. *Canadian journal of microbiology*, 61(2), 93-103.
- Svetoch, E. A., Stern, N. J., Eruslanov, B. V., Kovalev, Y. N., Volodina, L. I., Perelygin, V. V., ... & Kudriavtseva, T. Y. (2005). Isolation of *Bacillus circulans* and *Paenibacillus polymyxa* strains inhibitory to *Campylobacter jejuni* and characterization of associated bacteriocins. *Journal of food protection*, 68(1), 11-17.
- Tam, N. K., Uyen, N. Q., Hong, H. A., Duc, L. H., Hoa, T. T., Serra, C. R., ... & Cutting, S. M. (2006). The intestinal life cycle of *Bacillus subtilis* and close relatives. *Journal of bacteriology*, 188(7), 2692-2700.
- Tazehabadi, M. H., Algburi, A., Popov, I. V., Ermakov, A. M., Chistyakov, V. A., Prazdnova, E. V., ... & Chikindas, M. L. (2021). Probiotic Bacilli inhibit *Salmonella* biofilm formation without killing planktonic cells. *Frontiers in Microbiology*, 12, 242.
- Thirabunyanon, M., & Thongwittaya, N. (2012). Protection activity of a novel probiotic strain of *Bacillus subtilis* against *Salmonella* Enteritidis infection. *Research in veterinary science*, 93(1), 74-81.
- Todorov, S. D., Ivanova, I. V., Popov, I., Weeks, R., & Chikindas, M. L. (2021). *Bacillus* spore-forming probiotics: benefits with concerns?. *Critical reviews in microbiology*, 1-18.
- Tran, C., Cock, I. E., Chen, X., & Feng, Y. (2022). Antimicrobial *Bacillus*: Metabolites and Their Mode of Action. *Antibiotics*, 11(1), 88.
- Tuohy, K. M., Probert, H. M., Smejkal, C. W., & Gibson, G. R. (2003). Using probiotics and prebiotics to improve gut health. *Drug discovery today*, 8(15), 692-700.
- Turnbull, P. C., Kramer, J. M., & Melling, J. (1996). *Bacillus*. *Medical microbiology*.
- Urdaci, M. C., Bressollier, P., & Pinchuk, I. (2004). *Bacillus clausii* probiotic strains: antimicrobial and immunomodulatory activities. *Journal of clinical gastroenterology*, 38, S86-S90.
- Urdaci, M. C., & Pinchuk, I. (2004). Antimicrobial activity of *Bacillus* probiotics. *Bacterial spore formers—Probiotics and emerging applications*. Norfolk, UK: Horizon Bioscience, 171-82.

- Vasiljevic, T., & Shah, N. P. (2008). Probiotics—from Metchnikoff to bioactives. *International Dairy Journal*, *18*(7), 714-728.
- Vijaya Kumar, S. G., Singh, S. K., Goyal, P., Dilbaghi, N., & Mishra, D. N. (2005). Beneficial effects of probiotics and prebiotics on human health. *Die Pharmazie-An International Journal of Pharmaceutical Sciences*, *60*(3), 163-171.
- Wei, Z., Shan, C., Zhang, L., Wang, Y., Xia, X., Liu, X., & Zhou, J. (2021). A novel subtilin-like lantibiotics subtilin JS-4 produced by *Bacillus subtilis* JS-4, and its antibacterial mechanism against *Listeria monocytogenes*. *LWT*, *142*, 110993.
- Zendeboodi, F., Khorshidian, N., Mortazavian, A. M., & da Cruz, A. G. (2020). Probiotic: conceptualization from a new approach. *Current Opinion in Food Science*, *32*, 103-123.
- Zhang, J., Gu, S., Zhang, T., Wu, Y., Ma, J., Zhao, L., ... & Zhang, J. (2022). Characterization and antibacterial modes of action of bacteriocins from *Bacillus coagulans* CGMCC 9951 against *Listeria monocytogenes*. *LWT*, *160*, 113272.
- Zhu, K., Hölzel, C. S., Cui, Y., Mayer, R., Wang, Y., Dietrich, R., ... & Ding, S. (2016). Probiotic *Bacillus cereus* strains, a potential risk for public health in China. *Frontiers in microbiology*, *7*, 718.

## TEZDEN ÜRETİLMİŞ YAYINLAR

---

### Konferans Bildirileri

1. ŞENOL B.M., ARICI M. (2021). Probiyotik *Bacillus* Türlerinin Salmonella *Typhimurium* Karşı Antimikrobiyal Aktivitesinin *in vitro* Değerlendirilmesi. The 12th International Scientific Research Congress (Science and Engineering), 17-18 Aralık 2021, Ankara, Türkiye.

