

Hayvan Beslemede *Bacillus coagulans* Bakterisinin Probiyotik Olarak Önemi

Meltem AŞAN ÖZÜSAĞLAM

Aksaray Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Aksaray
Yazışma yazarı: meltemozusaglam@gmail.com

Geliş tarihi: 11.06.2009, Yayına kabul tarihi: 05.01.2010

Özet: Probiyotikler, bağırsaktaki dengeyi geliştirerek konakçının sağlığını olumlu yönde etkileyen canlı mikrobiyal organizmalardır. Probiyotikler asıl olarak enterik patojenlerin neden olduğu zararlardan koruyarak veya bu zararları minimuma indirerek normal bağırsak mikroflorasını kurmak ve ikincil olarak da antibiyotiklerin yerine görev yapmak amaçları ile hayvanlarda kullanılmaktadır. *Bacillus coagulans* gram pozitif bir bakteri olup, *Bacillus* (spor oluşturan) ile *Lactobacillus* (laktik asit üreten)'un genel ortak özelliklerini taşımaktadır. *B. coagulans* laktik asit üreten ve sporlu bir probiyotik bakteridir. Yem katkısı olarak, sindirimi artırma yoluyla hayvanların (kanatlı, domuz, vb.) gelişimini önemli bir şekilde artırmakta ve bağırsaktaki *Escherichia coli* ve *Staphylococci* gibi enfeksiyona sebep olan mikrobiyal floranın neden olduğu hastalıkları önlemektedir.

Anahtar Kelimeler: *Bacillus coagulans*, probiyotik, hayvan besleme

Importance of *Bacillus coagulans* Bacterium as Probiotic in Animal Nutrition

Abstract: Probiotics are live microbial organisms that beneficially affect the host's health by improving the intestinal balance. Probiotics have been primarily used to establish normal intestinal flora to prevent or minimize the disturbances caused by enteric pathogens and secondarily to substitute the functions of antibiotics in animals. *Bacillus coagulans* is a gram-positive bacterium, sharing characteristics common to the genera *Bacillus* (spore forming) and *Lactobacillus* (lactic acid production). *B. coagulans* is a lactic acid producing and spore forming probiotic bacteria. As a feed additive, it has remarkable effects on growth promotion of animals (poultry, pigs, etc.) through the increase of digestibility and prevention of disease caused by infectious microbial flora, *Escherichia coli* and *Staphylococci* in intestine.

Key Words: *Bacillus coagulans*, probiotic, animal nutrition

Giriş

Günümüzde hayvansal ürünlerde meydana gelen kalıntılar ve antibiyotiklere karşı bakteriyel direncin gelişmesi hakkındaki endişeler nedeniyle hayvan beslemede antibiyotik kullanımı yasaklanmıştır. Bu nedenle antibiyotiklere alternatif yem katkılarının geliştirilmesi üzerine birçok çalışma yapılmakta ve probiyotikler de bunlardan birini oluşturmaktadır (Turner ve ark., 2001).

Probiyotikler canlı mikrobiyal yem katkıları olup konakçı hayvanın intestinal mikrobiyal dengesini geliştirme şeklinde etkide bulunurlar (Fuller, 1992). Sığır, domuz ve kanatlılar üzerine bildirilen yararlı etkileri arasında genel sağlığı iyileştirme, daha etkin yemden yararlanma, daha hızlı büyüme oranı ve süt ve yumurta üretiminin artması yer almaktadır. Hayvanlar için kullanılan probiyotikler arasında genellikle *Lactobacillus*,

Bifidobacterium, *Bacillus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Enterococcus* gibi bakterilerin yanı sıra *Saccharomyces cerevisiae* ve *Saccharomyces boulardii* gibi mayalar da yer almaktadır (Fuller, 1992). Son zamanlarda probiyotik suşlarının seçimi ve hazırlanması konusu oldukça önem kazanmıştır. Çoğu araştırmacılar, *Lactobacillus* spp. (Kabir ve ark., 1997), *Bifidobacterium* spp. (Singh ve ark., 1997) ve *Enterococcus* spp. (Salminen ve ark., 1998) gibi bakteriler üzerine çalışmalar yapmışlardır. Ayrıca birçok *Bacillus* suşu da probiyotik amaçlı kullanım için ümit verici özellikler taşımaktadır (Adami ve Cavazoni, 1993; Kumprecht ve Zobac, 1996).

Probiyotik olarak kullanılan canlı kültürlerin iki temel formu bulunmaktadır: Bunlardan birincisi probiyotiklerin ısı ve neme duyarlı vejetatif formları olup, bu formlar mide asidinden etkilenebilmekte ve peletleme esnasında canlılıklarını kısmen kaybedebilmektedirler. İkincisi ise, güçlü mide asidinden, antibiyotiklerden, yüksek sıcaklık ve depolama süresinden doğal olarak korunmuş olan spor formlarıdır. Ancak tüm yararlı mikroorganizmaların özellikle Laktik Asit Bakterileri (LAB)'nin spor formu yoktur.

Son yıllarda birtakım çalışmalar spor oluşturan ve laktik asit üreten bakteriler üzerine yapılmıştır. Bu bakteriler gram pozitif olup, *Bacillus* (sporlu) ile *Lactobacillus* (laktik asit üreten)'un genel karakteristiklerini taşımaktadır (Suzuki ve Yamasato, 1994). Bu grup bakteriler içerisinde *B. coagulans* (Hammer, 1915), *B. racemilacticus* ve *B. laevolacticus* (Nakayama ve Yanoshi, 1967a, b) ve *Sporolactabacillus*'a ait bakteriler yer almaktadır (Doores ve Westhoff, 1983; Holzapfel ve Botha, 1988). Bu bakteriler çok miktarda kolayca üretilebilmeleri, organik asit üretmeleri ve sporlu olmaları gibi birtakım özelliklerinden dolayı probiyotik olarak önem taşımaktadırlar. Ayrıca bu bakteriler, spor oluşturmaları nedeniyle, probiyotik hayvan katkılarının üretimi sırasında kullanılan peletleme aşamasında sıcaklığa daha dirençli olabilmektedirler (Hyronimus ve ark., 2000).

***Bacillus Coagulans* Bakterisi Ve Probiyotik Olarak Önemi**

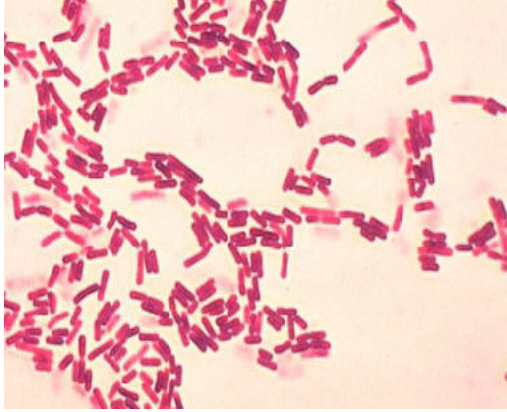
Lactobacillus sporogenes bakterisi Horowitz-Wlassowa ve Nowotelnow tarafından (1933) izole edilerek tanımlanmış ve daha sonra *Bacillus coagulans* ile benzer karakteristik özellikler göstermesi nedeni ile *B. coagulans* olarak sınıflandırılmıştır. Buchanan ve Gibbons (1974), bakterinin, spor oluşturan, laktik asit üreten, fakültatif ya da aerobik olan ve katalaz üretenlerin *Bacillus* cinsi içerisinde sınıflandırılması gerektiğini bildirmişlerdir. Ancak bazı ticari ürünler halen *L. sporogenes* olarak etiketlenmekte olup ancak bunların *B. coagulans* olarak yeniden isimlendirilmesi gerekmektedir (Vecchi ve Drago, 2006). Öte yandan *B. coagulans* bakterisi, hücrede endosporun oluşum yeri (*B. coagulans*'da terminal; diğer *Bacillus*'larda sentral veya subterminal), sitokrom-c oksidazın olmayışı ve nitratı nitrite indirgeyememesi nedenleriyle de *Bacillus*'lardan farklılık göstermektedir (Çizelge 1).

Çizelge 1. *Bacillus* ve *Lactobacillus* cinsleri arasında yer alan *Bacillus coagulans* bakterisinin temel özellikleri (Vecchi ve Drago, 2006)

Özellikler	<i>Bacillus coagulans</i>	<i>Bacillus</i>	<i>Lactobacillus</i>
Katalaz	+	+	-
Oksidaz	-	+	-
Nitrat indirgeme	-	+	-
Spor	+	+	-
Hareketlilik	+	+	-/+
Laktik asit üretimi	+	-	+
Meso-diaminopi melik asit	+	+	-/+

Probiyotikler içerisinde yer alan *B. coagulans*; gram (+), fakültatif anerobik, patojen olmayan, laktik asit üreten ve sporlu bir bakteridir (Anonim, 2008) (Şekil 1).

Bakterinin gelişebildiği sıcaklık optimumu 35-50 °C arasında olup pH optimumu 5.5-6.5 arasında değişebilmektedir. Asit üretmesine rağmen maltoz, manitol, rafinoz ve sükrozun fermentasyonundan gaz üretmemektedir. Asit üretmesinden dolayı süt ürünleri, meyve ve sebzelerde bozulmalara sebep olduğu bildirilmektedir (Anderson, 1984; Cosentino ve ark., 1997; Ramon-Blanco ve ark., 1999; DeClerk ve ark., 2004). Ancak bunun aksine laktik asit ve bazı suşların da termostabil alfa-amilaz gibi diğer ürünleri üretmesi nedenleriyle endüstriyel açıdan önem taşımaktadır (Payot ve ark., 1999; Batra ve ark., 2002; Yoon ve ark., 2002). *Bacillus coagulans* bakterisinin gram boyama sonrası görüntüsü Şekil 1’de görülmektedir.



Şekil 1. *Bacillus coagulans* bakterisinin gram boyama sonrası görüntüsü (Anonim, 2009)

Probiyotiklerin konakçıda yararlı olabilmesi için mide asidine, lizozime ve safra asidine dirençli olması gerekmektedir (Tuomola ve ark., 2001). Hyronimus ve ark. (2000) yaptıkları bir çalışmada, üç *B. coagulans* suşunun (ikisi ticari ve biri sığır dışkısından izole edilmiş (*B. coagulans* BCL₄) suşlar) pH 2.5 ve 3.0’da canlılıklarını sürdüremediklerini bildirmişlerdir. Bunun aksine, Adami ve Cavazzoni (1993)’nin yaptıkları çalışmada ise *B. coagulans* CNCMI-1061 suşunun, kanatlılarda probiyotik olarak kullanıldığında, vejetatif hücrelerin canlılıklarını %50 oranında koruduğunu belirlemişlerdir. Bu nedenle, aside direncin değişik *B. coagulans* suşlarında farklılık gösterebileceği sonucuna varılmıştır (Adami ve Cavazzoni, 1993). Safraya dirençlilik açısından *B.*

coagulans BCL₄ suşu az derecede de olsa toleranslı bulunmasına rağmen test edilen diğer iki suş hassas olarak sınıflandırılmıştır (Hyronimus ve ark., 2000).

Probiyotikler açısından mikroorganizmaların bağırsak epitel hücrelerine tutunması kolonizasyonun ilk aşaması olmasından dolayı önemli bir kriterdir (Tuomola ve ark., 2001). Ancak in-vitro çalışmaların çok fazla bulunmamasına rağmen bir çalışmada; domuzlarda *B. coagulans*’ın bağırsak epiteline tutunma yeteneğinin olmadığı, geçici olarak bağırsakta kaldığı ve konakçıya verildikten bir hafta sonra dışarıya atıldığı bildirilmiştir (Adami ve Cavazzoni, 1993).

Probiyotiklerin mide ve safra asidine dirençli olması, bağırsak epitel hücrelerine tutunması gibi kriterlerin yanı sıra potansiyel patojenik bakterilere karşı antimikrobiyal aktivite göstermesi, işlenmesi ve depolanması süresince canlılığını ve stabilitesini devam ettirmesi de gerekmektedir. Probiyotik etkili mikroorganizmalarca organik asitler, yağ asitleri, hidrojen peroksit ve bakteriosinler gibi çeşitli antimikrobiyal maddeler üretilmektedir. *B. coagulans* bakterisi değişik fekal bakteriler üzerine antimikrobiyal aktivite gösteren laktik asit üretmektedir (Hyronimus ve ark., 2000; Bondi ve ark., 2000). Farelerde, *B. coagulans*’ın, bağırsakta vancomycin dirençli Enterococ yoğunluğunu azalttığı bildirilmektedir (Donskey ve ark., 2001). Ancak bazı araştırmacılar da *B. coagulans*’ın vancomycin dirençli Enterococ’ların gelişimini engelleyecek uçucu olmayan maddeleri üretme yeteneği olmadığını belirtmektedirler (Wilson ve Perini, 1988). Sığır dışkısından izole edilen *B. coagulans* I₄ suşunun, plazmid üzerinde kodlanan ve birçok patojen mikroorganizmalar üzerine etkili olan coagulin adı verilen bakteriosin benzeri maddeler üretmesi nedeniyle bazı *B. coagulans*’ların antimikrobiyal maddeler üretmesi suşa bağlı bir özellik olarak görülmektedir (Hyronimus ve ark., 1998). İlk izole edilen bakteriosin olan coagulin Lactobaciller üzerine engelleyici bir etki göstermeksizin değişik gram pozitif bakterilere karşı hem bakterisidal hem de bakteriyolitik etki göstermektedir

(Hyronimus et al. 1998; Le Marrec et al. 2000). Son yıllarda Abada (2008), gram pozitif ve gram negatif bakteriler ve funguslar üzerine antimikrobiyal etkisine sahip yeni bir bakteriosin de karakterize etmiştir.

Probiyotiklerin teknolojik işlemlere dayanıklı olmaları pazarlanmaları sırasında canlılıklarının ve aktivitelerinin korunmasına neden olur. Bu nedenle liyofilize olarak satılır ve işlem görme aşaması ve muhafazası sırasında da canlılığını sürdürmesi istenir. Mikroorganizmaların spor formları olumsuz çevre şartlarına vejetatif hücrelere nazaran daha dirençlidirler. Bu özellikten dolayı sporlar daha uzun süre canlılıklarını sürdürebilirler (Sanders ve ark., 2001). Kanatlılarda probiyotik amaçlı kullanılmak üzere liyofilize hale getirilmiş *B. coagulans* CNCM I-1061 suşunun (0.5×10^{11} CFU/g (% 50 spor içeriyor)) 5 yıl sonrasında spor içeriği değişmezken vejetatif hücre sayısının % 20-30 azaldığı bildirilmektedir (Adami ve Cavazzoni, 1993).

B. coagulans bakterisinin spor formunun dış tabakası kalın olup ısıya, kimyasallara, aside ve radyasyona direnci yüksektir. Su veya yemle birlikte kanatlı hayvanlara verildiğinde ve uygun koşullarda (vücut sıcaklığı, asitliği, safra ve diğer salgılarda) spor formundan aktif vejetatif hücrelere dönüşebilmektedir. *B. coagulans*'ın spor formu termostabildir. Peletleme sırasında ve depolama süresince canlılığını koruyabilmektedir. Ayrıca spor formu, mide ve safra salgılarından etkilenmeden canlılığını sürdürebilmekte ve bağırsağa ulaştığında hızla kolonize olabilmektedir. Sindirim sistemine yerleştikten sonra laktik asit ve diğer antogonistik maddeler üreterek patojenik bakterilerin gelişmesini engellerken, bağırsakta *L. acidophilus*'un gelişimini teşvik etmektedir. Ancak bağırsağın doğal mikroflorası olmadığı için sporları (yarı konukçul (semi-resident)) vücuttan yavaş bir şekilde atılmaktadır. Bu nedenle probiyotik olarak kullanıldığında *B. coagulans*'ın hayvanlara günlük olarak verilmesi gerekmektedir (Anonim, 2007).

Yem katkısı olarak *B. coagulans*, kanatlılar ve domuz gibi hayvanlarda etkili bir şekilde büyümeyi uyarıcı etkiye sahiptir.

Besin madde sindirimini artırır ve *E. coli* ve *Staphylococcus* gibi enfeksiyona neden olan bakterilere karşı koruyucu olarak görev yapar. Probiyotik olarak civcivlerde 1-2 milyon, broylerde ise 6-12 milyon spor önerilmektedir (Anonim, 2008).

Yapılan bir çalışmada *B. coagulans* ile beslenen (% 0.04 oranında) civcivlerde kontrol grubuna göre canlı ağırlık kazancı önemli derecede daha yüksek bulunmuştur. Ayrıca % 0.04 *B. coagulans* ve % 0.05 Zn-bacitracin ilavesi ile yemden yararlanma oldukça artmıştır. *B. coagulans* bağırsak pH'sını düşürmekte ve fekal amonyak konsantrasyonunu önemli derecede azaltmaktadır. *B. coagulans* katkısı ile dışkıda *B. coagulans* ve *Lactobacillus* miktarı artmakta ve *Staphylococcus* ve *Coliform* miktarı azalmaktadır (Anonim, 2008).

Kanatlılarda yapılan başka bir çalışmada ise, probiyotik olarak *B. coagulans*'ın broylerde performansa etkisi araştırılmıştır. Yapılan çalışmada 3 grup oluşturulmuştur: Sadece standart diyetin verildiği kontrol grubu, standart diyet + virginamisin ve standart diyet + *B. coagulans* CNCM I-1061. Çalışma sonucunda probiyotik katkılı diyetle beslenen grubun kontrol ve virginamisin katkılı gruplara nazaran performanslarının (canlı ağırlık, günlük canlı ağırlık kazancı ve yemden yararlanma) daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Araştırmacılar antibiyotiklerin oluşturduğu sakıncalı durumlardan dolayı (ette ve dışkıda antibiyotik kalıntılarının bulunması gibi) bu bakterinin antibiyotiklere alternatif olacak şekilde probiyotik amaçlı kullanılabilceğini belirtmişlerdir (Cavazzoni ve ark., 1998).

Adami ve Cavazzoni (1998)'nin yaptıkları çalışmada, domuzlarda, probiyotik olarak *B. coagulans*'ın dışkıdan seçilen bakteri grupları üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Çalışmada; kontrol grubu, *B. coagulans* CNCM I-1061'in probiyotik olarak verildiği grup ve yeme Zn-bacitracin ilave edildiği olmak üzere 3 grup oluşturulmuştur. Seçilen bakteri grupları (laktik asit bakterileri, *Lactococcus*, *Enterococcus*, aerobik ve anaerobik cocci, toplam ve fekal koliform, *Clostridia*, *Bacteroides*, *Bifidobacteria*) 1. gün, 1, 4 ve

10. haftalarda belirlenmiştir. Çalışma sonunda, antibiyotiğe kıyasla probiyotik kullanımı ile *Enterococcus* ve koliform (özellikle fekal koliform) miktarında azalma tespit etmişlerdir. Günlük *B. coagulans* verilmesi ile bu bakteri enterik mikrofloraya entegre olmuştur. Araştırmacılar bu probiyotiğin antibiyotiklere alternatif olarak kullanılabileceğini bildirmişlerdir.

Kanathı yemlerinde fazla miktarda arpa ve buğday kullanıldığında içerdikleri beta glukozidaz nedeniyle bağırsakta viskozite artmakta ve yapışkan dışkı (sticky dropping) denilen fizyolojik bir rahatsızlık oluşmaktadır (Bedford, 1991). Ayrıca kanathılar yemlerle alınan fitatı parçalayamamakta ve dolayısıyla fitat fekal materyalde birikmektedir (Maenz ve Classen, 1998). Bu nedenle fitat entansif hayvancılığın yapıldığı alanlarda fosfor kirliliğine neden olmaktadır. Ayrıca fitik asit değişik tuzları antibesleyici etkiye sahiptir. Fitik asit, besleme açısından önemli olan kalsiyum, çinko, magnezyum ve demir gibi elementler ve proteinlerle suda çözünmez kompleksler oluşturmakta, bu da tahıl ve baklagillerin, insan ve hayvanlarda besleyici değerini sınırlandırmaktadır (Harland ve Morris, 1995). Bu nedenlerden dolayı kanathılar için daha iyi bir probiyotik geliştirmek amacıyla beta glukozidazı hidrolize eden likenaz ve yemlerdeki fitin fosforundan yararlanmayı artıran fitaz enzim genlerinin *B. coagulans*'da klonlaması ve eksprese edilmesi için çeşitli çalışmalar da yapılmıştır. (Aşan Özusağlam, 2007; Aşan Özusağlam ve Özcan, 2009).

Himabindu ve ark. (2004)'nın yaptıkları bir çalışmada ise, postlarval dönemlerindeki tatlısu karideslerini (*Macrobrachium rosenbergii*) *Lactobacillus*'a dayalı probiyotiklerle beslemenin, bağırsak mikroflorasına, büyüme ve yaşam gücüne etkisini araştırmışlardır. Beş grup içerisinde bir grup bazal diyet ve *Lactobacillus acidophilus* (140×10^{11} CFU 100 g^{-1}), bir grup bazal diyet ve *L. sporogenes* (yeni ismi *B. coagulans*) (24×10^7 CFU 100 g^{-1}) ve bir grup da *L. sporogenes* ile biyokapsül oluşturulmuş (beslenmiş) *Artemia nauplii* ile beslenmiştir. Bakteriyolojik çalışmalar postlarval dönemde bağırsak

mikroflorasının LAB içermediğini göstermiştir. Bu probiyotik suşlarının bağırsakta bulunan gram negatif bakteriyel floraya karşı engelleyici bir etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir. Probiyotikle beslenen grupların büyümelerinin kontrol gruplarına göre önemli düzeyde daha yüksek bulunmuştur. *L. sporogenes* ile beslenerek biyokapsül haline getirilmiş *Artemia* ile beslenen grupta, önemli düzeyde daha yüksek miktarda büyüme, yüzde ağırlık kazancı (%132.5), spesifik büyüme oranı (%1.41), yemden yararlanma oranı (0.45), protein etkinlik oranı (1.29) ve protein kazancı (%161.6) tespit edilmiştir. Yaşam gücünün ise diyetlerdeki probiyotikten etkilenmediğini bildirmişlerdir.

Karideslerle (*Penaeus vannamei*) yapılan bir başka çalışmada *B. coagulans* SC8168 suşunun probiyotik etkisi araştırılmıştır. Probiyotik uygulanan gruplarda kontrol grubuna nazaran yaşam oranının arttığı bildirilmiştir. Sindirim enzim aktiviteleri bakımından proteaz, amilaz ve lipaz aktiviteleri kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuştur (Zhou ve ark., 2009).

Zhou ve ark. (2009), Tilapia balıklarıyla (*Oreochromis niloticus*) yaptıkları çalışmada su katkısı olarak probiyotiğin büyüme performansı ve bağışıklık sistemi üzerine etkisini araştırmışlardır. *B. subtilis* BT10, *B. coagulans* B16 ve *Rhodopseudomonas palustris* G06 probiyotik olarak 2 güne bir (1×10^7 cfu ml^{-1}) su tanklarına eklenmiştir. Deneme sonucunda *B. coagulans* B16 ve *Rhodopseudomonas palustris* G06'nın *B. subtilis* ve kontrol grubuna nazaran toplam ağırlığı, günlük ağırlık kazancını ve spesifik büyüme oranını önemli düzeyde artırdığı tespit edilmiştir. Çalışma sonucunda, *B. coagulans* B16 ve *Rhodopseudomonas palustris* G06'nın su katkısı olarak bağışıklık sistemini ve sağlığı geliştirdiği ve böylece bu balıklarda büyüme performansının da arttığı bildirilmiştir.

Buzağılarla yapılan bir çalışmada ise, Ripamonti ve ark. (2009), buzağı dışkısından izol edilen *B. coagulans* bakterisinin spor formunu probiyotik olarak yeme ilave etmişlerdir. Günlük olarak *B.*

coagulans sporları ($9 \log_{10}$ CFU g^{-1}) 10 buzağıya verilmiş ve 10 buzağı da kontrol olarak kullanılmıştır. Deneme boyunca fekal spor miktarı probiyotik uygulanan grupta kontrol grubuna göre önemli düzeyde daha yüksek bulunmuştur. Bulunan sonuçlar itibariyle araştırmacılar; sığır dışkısından izole edilen *B. coagulans* suşunun, gastrointestinal sistemin sağlıklı bir şekilde devam ettirilmesinde yeni bir türe özgü probiyotik olarak önerilebileceğini bildirmişlerdir.

Sonuç

Canlı mikrobiyal yem katkıları olan probiyotikler konakçının sağlığına olumlu yönde etki ederler. Günümüzde probiyotik suşlarının seçimi ve hazırlanması konusu oldukça önem kazanmış olup halen birçok araştırma devam etmektedir. *B. coagulans* bakterisinin, *Bacillus* ile *Lactobacillus*'lara ait birtakım olumlu özellikler taşıması probiyotik olarak kullanımını gündeme getirmiş ve son zamanlarda bu konuda çeşitli araştırmalar yapılmaktadır.

Kaynaklar

- Abada, E.A.E. 2008. Isolation and Characterization of an Antimicrobial Compound from *Bacillus coagulans*. Anim. Cells Syst., 12:41-46.
- Adami, A. and Cavazzoni, V. 1993. Biomass Production, Preservation and Characteristic of a Strain of *Bacillus coagulans* Usable as Probiotic. Microbiologie-Aliments-Nutrition, 11: 93-100.
- Adami, A. and Cavazzoni V. 1998. Occurrence of Selected Bacterial Groups in the Faeces of Piglets Fed with *Bacillus coagulans* as Probiotic. J. Basic Microbiol., 39(1): 3-9.
- Asan Ozusaglam, M. and Ozcan N. 2009. Cloning of Phytase Gene in Probiotic Bacterium *Bacillus coagulans*. Advanced Studies in Biology, 1(1): 15-24.
- Aşan Özusağlam, M. 2007. Yem Değerini Artırıcı Enzim Genlerinin Probiyotik Etkili Laktik Asit Bakterilerinde Klonlanarak Üretimi. Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 140 sayfa, Adana.
- Anderson, R.E. 1984. Growth and Corresponding Elevation of Tomato Juice pH by *Bacillus coagulans*. Journal of Food Science, 49: 647-649.
- Anonim, 2007. Lactospore <http://www.vetcareindia.com/Ptobioc> (erişim tarihi: 22.12.2007).
- Anonim, 2008. *Bacillus coagulans* (*Lactobacillus sporogenes*)—A new Generation Probiotics <http://lactospore.com/lsporo.htm> (erişim tarihi: 26.02.2009).
- Anonim, 2009. The Genus *Bacillus*. <http://www.textbookofbacteriology.net/Bacillus.html> (erişim tarihi: 11.06.2009)
- Batra, N., Singh, J., Banerjee, U.C., Patnaik, P.R. and Sobti, R.C. 2002. Production and Characterization of a Thermostable β -galactosidase from *Bacillus coagulans* RCS3. Biotechnol. Appl. Biochem., 36: 1-6.
- Bedford, M. 1991. Digestive Constraints in Feed Ingredients and Theoretical Opportunities for Supplementary Enzymes. European Feed Enzyme Seminar. Finnfeeds International Ltd., Redhill, UK.
- Bondi, M., Messi, P., Danila, I. and Marchioretto, D.I. 2000. Biological Characteristics of LABLYS98, a *Lactobacillus sporogenes* for Use as a Probiotic Compound. Industrie Alimentari, 39:704-710.
- Buchanan, R.E. and Gibbons, N.E. 1974. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. The Williams and Wilkins Company, Baltimore, Maryland
- Cavazzoni, V., Adami, A. and Castrovilli, C. 1998. Performance of Broiler Chickens Supplemented with *Bacillus coagulans* as Probiotic. British Poultry Science, 39: 526-529.
- Cosentino, S., Mulargia, A.E., Pisano, B., Tuveri, P. and Palmas, E. 1997. Incidence and Biochemical Characteristics of *Bacillus* Flora in

- Sardinian Dairy Products. Int. J. Food Microbiol., 97:147-156.
- De Clerk, E., Rodriquez-Diaz, M., Forsth, G., Lebbe, L., Logan, N.A. and De Vos, P. 2004. Polyphasic Characterization of *Bacillus coagulans* Strains, Illustrating Heterogeneity within this Species, and Emended Description of the Species. Syst. Appl. Microbiol., 27: 50-60.
- Donskey, C.J., Hoyen, C.K., Das, S.M., Farmer, S., Dery, M. and Bonomo, R.A. 2001. Effect of Oral *Bacillus coagulans* Administration on the Density of Vancomycin-Resistant Enterococci in the Stool of Colonized Mice. Lett. Appl. Microbiol., 33: 84-88.
- Doores, S. and Westhoff, D.C. 1983. Selective Method for the Isolation of *Sporolactobacillus* from Food and Environmental Samples. J. Appl. Bacteriol., 54: 273-280.
- Fuller, R. 1992. Probiotics: The Scientific Basis. Chapman and Hall, London.
- Hammer, B.W. 1915. Bacteriological Studies on the Coagulation of Evaporated Milk. Iowa Agric. Exp. States Res. Bull., 19: 119-131.
- Harland, B.F. and Morris, E.R. 1995. Phytate: A Good or Bad Food Component? Nutr. Res., 15: 733-754.
- Himabindu, K.V., Narottam, P.S. and Kamal, K.J. 2004. Effect of Feeding *Lactobacillus*-Based Probiotics on the Gut Microflora, Growth and Survival of Postlarvae of *Macrobrachium rosenbergii* (de Man). Aquaculture Research, 35:501-507.
- Holzapfel, W.H. and Botha, S.J. 1988. Physiology of *Sporolactobacillus* Strains Isolated from Different Habitats and the Indication of in Vitro Antagonism against *Bacillus* sp.. Int. J. Food Microbiol., 7: 161-168.
- Horowitz-Wlassowa, L.M. and Nowotelnov, N.H. 1933. Über Eine Sporogene Milchsäurebakterienart, *Lactobacillus sporogenes* n. sp. Cent. F. Bak. II Abt., 87: 331.
- Hyronimus, B., Le Marrec, C. and Urdaci, M.C. 1998. Coagulin, a Bacteriosin-Like Inhibitory Substance Produced by *Bacillus coagulans*. J. Appl. Microbiol., 85:42-50.
- Hyronimus, B., Le Marrec, C., Hadj Sassi, A. and Deschamps, A. 2000. Acid and Bile Tolerance of Spore-Forming Lactic Acid Bacteria. Int. J. Food Microbiol., 6: 193-197.
- Kabir, A.M., Aiba, Y., Takagi, A., Kamiya, S., Miwa, T. and Koga, Y. 1997. Prevention of *Helicobacter pylori* Infection by *Lactobacilli* in a Gnotobiotic Murine Model. Gut, 41: 49-55.
- Kumprecht, I. and Zobac, P. 1996. Continuous Application of Probiotics Based on *Saccharomyces cerevisiae* var. *elipsoideus* and *Bacillus* C.I.P. 5832 in the Nutrition of Chicken Broilers. Anim. Sci., 41: 311-316.
- Le Marrec, C., Hyronimus, B., Bressollier, P., Verneuil, B. and Urdaci, M.C. 2000. Biochemical and Genetic Characterization of Coagulin, a new Antilisterial Bacteriocin in the Pediocin family of Bacteriocins, Produced by *Bacillus coagulans* I4. Appl. Environ. Microbiol., 66:5213-5220.
- Maenz, D.D. and Classen, H.L. 1998. Phytase Activity in the Small Intestinal Brush Border Membrane of the Chicken. Poult. Sci., 77: 557-563.
- Nakayama, O. and Yanoshi, M. 1967a. Spore Bearing Lactic Acid Bacteria Isolated from Rhizosphere. I. Taxonomic Studies on *Bacillus laevolacticus* nov. sp. and *Bacillus racemilacticus* nov. sp. J. Gen. Appl. Microbiol., 13: 139-153.
- Nakayama, O. and Yanoshi, M. 1967b. Spore Bearing Lactic Acid Bacteria Isolated from Rhizosphere. II. Taxonomic Studies on the Catalase Negative Strains. J. Gen. Appl. Microbiol., 13: 155-165.
- Payot, T., Chemaly, Z. and Fick, M. 1999. Lactic Acid Production by *Bacillus*

- coagulans*-Kinetic Studies and Optimization of Culture Medium for Batch and Continuous Fermentations. *Enz. Microbial Technol.*, 24: 191-197.
- Ramon-Blanco, C., Sanz-Gomez, J.J., Lopez-Diaz, T.M., Otero, A. and Garcia-Lopez, M.L. 1999. Numbers and Species of *Bacillus* during the Manufacture and Ripening of Castellano Cheese. *Milchwissenschaft-Milk Science International*, 54: 385-388.
- Ripamonti, B, Agazzi, A., Baldi, A., Balzaretto, C., Bersani, C., Pirani, S., Rebutti, R., Savoini, G., Stella, S., Stenico, A. and Domeneghini, C. 2009. Administration of *Bacillus coagulans* in Calves: Recovery from Faecal Samples and Evaluation of Functional Aspects of Spores. *Vet. Res. Commun.*, 33: 991-1001.
- Salminen, S., Isolauri, E. and Salminen, E. 1998. Clinical Uses of Probiotics for Stabilizing the Gut Mucosal Barrier: Successful Strains and Future Challenges. *Antonie van Leeuwenhoek*, 70: 347-358.
- Sanders, N.E., Morelli, L. and Bush, S. 2001. "*Lactobacillus sporogenes*" is not a *Lactobacillus* probiotic. *ASM News*, 67: 385-386.
- Singh, J., Rivenson, A., Tomita, M., Shimamura, S., Ishibashi, N. and Reddy, B.S. 1997. *Bifidobacterium longum*, a Lactic Acid Producing Intestinal Bacterium Inhibits Colon Cancer and Modulates the Intermediate Biomarkers of Colon Carcinogenesis. *Carcinogenesis*, 18: 833-841.
- Suzuki, T. and Yamasato, K. 1994. Phylogeny of Spore-Forming Lactic Acid Bacteria Based on 16S rRNA Gene Sequences. *FEMS Microbiol. Lett.*, 115: 13-18.
- Tuomola, E., Crittenden, R., Playne, M., Isolauri, E. and Salminen, S. 2001. Quality Assurance Criteria for Probiotic Bacteria. *American Journal of Clinical Nutrition*, 73(suppl): 393-398.
- Turner, J.L., Dritz, S.S. and Minton, J.E. 2001. Review: Alternatives to Conventional Antimicrobials in Swine Diets. *Prof. Anim. Sci.*, 17: 217-226.
- Vecchi, E. and Drago, L. 2006. *Lactobacillus sporogenes* or *Bacillus coagulans*: Misidentification or Mislabelling? *Int. J. Probio. Prebio.*, 1(1): 3-10.
- Wilson, K.H. and Perini, F. 1988. Role of Competition for Nutrients in Suppression of *Clostridium difficile* by the Colonic Microflora. *Infection & Immunity*, 56: 2610-2614.
- Yoon, H., Lee, K., Kim, H.Y., Kim, H.K., Shin, D., Hong, B. and Cho, H. 2002. Gene Cloning and Biochemical Analysis of Thermostable Chitosanase (*TCH-2*) from *Bacillus coagulans* CK108. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 66(5): 986-995.
- Zhou, X., Wang, Y., and Li, W. 2009. Effect of Probiotic on Larvae Shrimp (*Penaeus vannamei*) Based on Water Quality, Survival Rate and Digestive Enzyme Activities. *Aquaculture*, 287: 349-353.
- Zhou, X., Tian, Z., Wang, Y. and Li, W. 2009. Effect of Treatment with Probiotics as Water Additives on Tilapia (*Oreochromis niloticus*) Growth Performance and Immune Response. *Fish Physiol. Biochem.*, DOI 10.1007/s10695-009-9320-z.