



GIDA KAYNAKLI PATOJENLERİN İNHİBİSYONUNDA PROBİYOTİK MİKROORGANİZMALARIN KULLANIMI

Zeynep Öztürk, Gülten Tiryaki Gündüz*

Ege Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği, İzmir, Türkiye

Geliş / Received: 20.12.2017; Kabul / Accepted: 29.04.2018; Online baskı / Published online: 26.05.2018

Öztürk, Z., Gündüz, G.T. (2018). Gıda kaynaklı patojenlerin inhibisyonunda probiyotik mikroorganizmaların kullanımı. *GIDA* (2018) 43 (4): 533-548 doi: 10.15237/gida.GD17112

Öztürk, Z., Gündüz, G.T. (2018). Use of probiotic microorganisms for the inhibition of foodborne pathogens *GIDA* (2018) 43 (4): 533-548 doi: 10.15237/gida.GD17112

ÖZ

Gıda kaynaklı hastalıklar, son 30 yılda bu hastalıkların önemli oranda artması ve ciddi sosyo-ekonomik sorunlara yol açması nedeniyle, dünya çapında önemli bir halk sağlığı sorunu haline gelmiştir. Günümüzde nüfusun yaklaşık dörtte biri gıda kaynaklı hastalıklar açısından daha yüksek risk altındadır. Bu nedenle son yıllarda probiyotik mikroorganizmalar tarafından gıda kaynaklı patojen mikroorganizmaların üremelerinin inhibe edilmesi ile ilgili çalışmalar hız kazanmıştır. Probiyotik suşlar laktik asit, hidrojen peroksit, diasetil ve bakteriyosin gibi antimikrobiyal madde üretimi veya rekabet etme yoluyla patojen bakterilere karşı antagonistik aktivite göstermektedir. Ayrıca, probiyotikler immunoglobulin-A (IgA) salınımını ve makrofajların fagositik aktivitelerini artırarak konak canlıda bağışıklık yanıtını uyarırlar. Bu derleme çalışmasında, probiyotik mikroorganizmaların yararlı etkilerini gösterebilmesi için sahip olması gereken özellikler, probiyotik mikroorganizmaların gıda kaynaklı patojen bakteriler üzerindeki inhibitif etkileri ve etki mekanizmaları ile ilgili yapılan çalışmalar incelenmiştir.

Anahtar kelimeler: Probiyotikler, patojen mikroorganizmalar, antagonistik aktivite

USE OF PROBIOTIC MICROORGANISMS FOR THE INHIBITION OF FOODBORNE PATHOGENS

ABSTRACT

Foodborne illnesses have become a major public health problem around the world in the last 30 years due to a significant increase in these diseases and serious socio-economic problems. Nowadays about one-fourth of the population is at a higher risk for foodborne illnesses. For this reason, studies on the growth inhibition of foodborne pathogens by probiotic microorganisms have accelerated in recent years. Probiotic strains exhibit antagonistic activity against pathogenic bacteria by competition or production of antimicrobial substances such as lactic acid, hydrogen peroxide, diacetyl and bacteriocin. Also, probiotics stimulate the immune response in host by increasing immunoglobulin-A (IgA) secretion and phagocytic activities of macrophages. In this review, the studies on the properties that probiotic microorganisms possess in order to demonstrate beneficial effects, the inhibitory effect of probiotics on foodborne pathogenic microorganisms and their mechanisms of inhibitory activity are examined.

Keywords: Probiotics, pathogen microorganisms, antagonistic effects

* Yazışmalardan sorumlu yazar / Corresponding author;

✉ gtgunduz@gmail.com, gulden.tiryaki.gunduz@ege.edu.tr ☎ (+90) 232 311 30 03 📠 (+90) 232 311 48 31

GİRİŞ

Probiyotikler genel olarak, tüketildiğinde sağlığa yarar sağlamaları beklenen mikroorganizmalar (çoğu durumda bakteri) olarak tanımlanmaktadır (Huys vd., 2013; Hill vd., 2014). Geçmişten günümüze kadar çeşitli araştırmacılar tarafından probiyotik tanımları farklı şekillerde yapılmış olup, probiyotikler Gıda ve Tarım Örgütü/Dünya Sağlık Örgütü (FAO/WHO) tarafından "yeterli miktarda tüketildiğinde konak canlılığının sağlığı üzerinde olumlu etkiler sağlayan canlı mikroorganizmalar" olarak tanımlanmaktadır (FAO/WHO, 2002). Sağlığa olumlu etkileri nedeniyle probiyotik mikroorganizmaların araştırılması ve kullanılması yönünde artan bir ilgi ortaya çıkmıştır (Toscano vd., 2017). Probiyotikler antibiyotik ve anti-inflamatuvar ilaçların alternatifleri olarak giderek daha fazla önem kazanmaktadır (Oelschlaeger, 2010).

Probiyotikler, gıdaların yanısıra besin takviyeleri ve ilaç gibi ürünlerde de kullanılmaktadır (Sharma vd., 2014). Probiyotik gıda ürünleri de fonksiyonel gıdalar kategorisinde yer almakta ve toplam fonksiyonel gıda pazarının %60-70'i ile önemli bir bölümünü oluşturmaktadır (Holzapfel, 2006; Sharma vd., 2014). Probiyotik piyasasının yarısından fazlasını gıdalar, yaklaşık %30-40'ını besin takviyeleri ve yaklaşık %10'unu ise ilaçlar oluşturmaktadır (Bansal vd., 2016). 2010 ve 2011 yıllarında, küresel probiyotik satışlarının sırasıyla 21.6 ve 24.23 milyar dolara yükseldiği, 2014 yılında ise probiyotikler için küresel pazarın 62.6 milyar dolar değerinde olduğu ve 2020 yılına kadar 96 milyar dolara ulaşacağı tahmin edilmektedir (Espitia vd., 2016). Günümüzde en yaygın olarak kullanılan probiyotik bakteriler Çizelge 1'de verilmiştir.

Çizelge 1. Günümüzde en yaygın olarak kullanılan bazı probiyotik bakteriler (Koning vd., 2010; Fijan, 2016a; Fijan, 2016b; Lakshmi vd., 2017)

<i>Lactobacillus</i> türleri	<i>Bifidobacterium</i> türleri
<i>L. acidophilus</i>	<i>B. infantis</i>
<i>L. plantarum</i>	<i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i>
<i>L. casei</i>	<i>B. bifidum</i>
<i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	<i>B. longum</i>
<i>L. reuteri</i>	
<i>L. rhamnosus</i>	
Diğer laktik asit bakterileri	Laktik asit bakterisi olmayanlar
<i>Pediococcus acidilactici</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	<i>Bacillus clausii</i>
<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	<i>Escherichia coli</i> strain Nissle
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Saccharomyces boulardii</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>Streptococcus thermophilus</i>	

Potansiyel bir probiyotik suşun yararlı etki gösterebilmesi için, ağız yoluyla alındığında mide asitliği ve safraya karşı tolerans, bağışıklık sistemi modülasyonu, patojenler ile rekabet ve patojen adhezyonunun ve kolonizasyonun önlenmesinde önemli bir özellik olan mukozal ve epitel yüzeylere tutunma, patojen bakterilere karşı antimikrobiyal aktivite ve safra tuzu hidrolaz aktivitesi gibi özelliklere sahip olmalıdır (Kechagia vd., 2013). Probiyotik mikroorganizmaların insan sağlığı üzerinde olumlu etki gösterebilmesi için

gastrointestinal epitele tutunup çoğalabilmesi ve kolonize olabilmesi gerekmektedir. Bununla birlikte, probiyotik mikroorganizmaların gıdalarda en az 10^6 - 10^7 KOB/g düzeylerinde bulunması, ayrıca bazı türlerin 10^7 - 10^8 KOB/g düzeyinde aktif olması gerektiği, bazı türlerin ise 10^6 KOB/g gibi daha düşük miktarlarda etkili olabildiği bildirilmiştir (Shortt, 1999; Kılıç, 2001; Erem vd., 2013). Probiyotik mikroorganizmaların seçiminde; insanlarda kullanıma yönelik suşların tercihen insan kökenli olması, sağlıklı insan

gastrointestinal sisteminden izole edilmesi, patojen olmaması, infektif endokardit veya gastrointestinal rahatsızlıklar gibi hastalıklarla ilişkili geçmişi olmaması, duyarlı bireylerde bağışıklık sisteminin aşırı uyarılmasına neden olmaması ve antibiyotik direnç genleri taşımaması gibi güvenlik unsurlarını içermesi gerekmektedir (Saarela vd., 2000; Pithva vd., 2012; Novik vd., 2014; Sarao ve Arora, 2017). Bu çalışmada, probiyotik mikroorganizmalar, gıda kaynaklı patojen bakteriler üzerindeki inhibitif etkileri ve patojenlere karşı muhtemel etki mekanizması ile ilgili yapılan çalışmaların araştırılması amaçlanmıştır.

Probiyotik mikroorganizmaların patojen bakteriler üzerindeki etkileri

Probiyotikler konak canlıya çeşitli sağlık yararları sağladığı halde, bu etkileri nasıl gerçekleştirdikleri tam olarak aydınlatılmamış olup, bu konuda çeşitli mekanizmalar öne sürülmüştür (Jensen vd., 2012; Kechagia vd., 2013). Probiyotiklerin, gıdanın besin değerini arttırması, bağırsak sağlığını geliştirilmesi ve antimikrobiyal maddelerin üretimi gibi sağlığa yararlı etkilerinin yanısıra, enfeksiyonu önleyebileceği antimikrobiyal maddelerin üretimi, patojenlerin epitel ve mukozal yüzeylerde adezyon bölgelerine tutunmasının engellenmesi, sınırlı besin maddeleri için rekabet, epitel dokunun patojenler tarafından invazyonunun engellenmesi gibi birçok mekanizma bulunmaktadır (Wan vd., 2016). Probiyotiklerin etki mekanizmalarından biri, hücresel tutunma için probiyotik mücadele anlamına gelen adezyon bölgeleri için rekabettir (Khalighi vd., 2016). Probiyotik suşlar fermentasyon için gerekli olan sınırlı substratlar veya reseptörler için rekabet ederek, patojen organizmaların gelişimini inhibe etmektedir. Bağırsak mukozasının bariyer etkisini güçlendirerek patojen bakterilerin konak hücrelerine tutunmasını önlemektedirler (Hemaiswarya vd., 2013). Bir diğer etki mekanizması ise, mikrobiyal floranın antimikrobiyal bileşiklerin sentezi yoluyla modifikasyonudur. Probiyotikler tarafından üretilen organik asitler, hidrojen peroksit, bakteriyosinler ve patojen bakterilerin gelişimini inhibe edebilen biyolojik yüzey aktif maddeler de dahil olmak üzere çeşitli antimikrobiyal bileşikler

patojenlere karşı güçlü antimikrobiyal aktivite göstermektedir (Kanmani vd., 2013; Hossaina vd., 2017). Özellikle asetik asit ve laktik asit gibi organik asitler, Gram negatif bakterilere karşı güçlü inhibitör etkiye sahiptir ve probiyotiklerin patojenlere karşı inhibitif etkinliğinden sorumlu ana antimikrobiyal bileşikler olduğu düşünülmektedir (Bermudez-Brito vd., 2012). Shokri vd. (2018) tarafından yapılan bir çalışmada, probiyotik özellikli *Lactobacillus fermentum* L1 ve L2 suşlarının biyofilm oluşturan *Pseudomonas aeruginosa* üzerindeki etkisi incelenmiş ve probiyotik kültürlerin hücre içermeyen süpernatantlarının biyofilm oluşumunu inhibe ettiği ve önceden oluşmuş olan biyofilmin ise % 100 aktivite ile uzaklaştırıldığı ortaya konmuştur. Süpernatant içeriği incelendiğinde ise değişen oranlarda laktik asit, asetik asit, formik asit ve oksalik asit olduğu, ancak bakteriyosin içermediği dolayısı ile antibiyofilm aktivitesinin üretilen asitlerden kaynaklandığı ifade edilmiştir. *Lactobacillus* spp. ve *Bifidobacterium* türlerinin bakteriyosinler ve/veya diğer antimikrobiyal bileşikler ürettiği bilinmektedir. *L. fermentum* tarafından üretilen bakteriyosin benzeri inhibitör maddeler ile *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus* hücrelerinin morfolojik özelliklerinde değişiklikler olduğu, hücre duvarının parçalandığı ve sitoplazmanın hücre dışına çıkarak görünür hale geldiği elektron mikroskobu ile gözlemlenmiştir (Rybalchenko vd., 2015). *Lactobacillus casei* tarafından üretilen LiN333 isimli bakteriyosinin Gram pozitif ve Gram negatif bakteriler üzerinde inhibitif etkisinin olduğu belirlenmiştir. LiN333'ün 6 saat sonra *E. coli* hücrelerinde hücre duvarında düzensizlikler, hücre duvarı ve zarı arasında boşluklar gözlenmiş ve sitoplazmanın neredeyse kaybolduğu; *S. aureus* hücrelerinde ise nükleoid yapısındaki yoğunlaşmadan dolayı sitoplazmada boşluklar oluştuğu, hücre yüzeyinin düzensiz hale geldiği ve hücre boyutunun küçüldüğü tespit edilmiştir (Ullah vd., 2017). Tavuk kör bağırsağından izole edilen probiyotik özellikteki *Lactobacillus salivarius* SMXD51 suşunun *Campylobacter jejuni*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus* ve *S. aureus* üzerindeki inhibitif etkisin salivarisin SMXD51 olarak isimlendirilen bir bakteriyosin tarafından oluşturulduğu ve tanımlanan bu bakteriyosinin bakterisidal ancak

bakteriyolitik olmadığı belirlenmiştir (Messaoudi vd., 2012). Probiyotik organizmalar tarafından üretilen hidrojen peroksit, diasetil ve kısa zincirli yağ asitleri gibi bileşikler ile mikrofloranın yararlı şekilde modifikasyonu sağlanmaktadır (Hawrelak, 2013). Ayrıca probiyotik mikroorganizmalar epitel ve dendritik hücreler, monositler/makrofajlar ve lenfositler ile etkileşime girerek immünomodülatör etki yapabilmektedir (Bermudez-Brito vd., 2012). Bu mikroorganizmalar IgA salınımını, doğal katil hücrelerin sayılarını veya makrofajların fagositik aktivitesini arttırarak etki gösterebilmektedir (Hawrelak, 2013).

Bağırsak bariyerinin patojen bakterilerce invazyonunun enfeksiyon sürecindeki ilk adım olması nedeniyle, bağırsak mikroflorasının devamlılığı, potansiyel patojen bakterilerin çoğalmasını kontrol ederek, hastalığı önlemede önem arz etmektedir. Probiyotik mikroorganizmaların, patojenlerin üremesini engellemek ve böylece enfeksiyonları kontrol altına almak veya önlemek için etkili araçlar olabileceği giderek daha fazla kabul görmektedir. Bağırsak epiteline patojen adezyonunun probiyotikler ile engellenmesi, kolonizasyonu ve sistemik enfeksiyonu önleyebilmektedir (Tejero-Sarinera vd., 2012; Bendali vd., 2014). Birçok çalışmada, farklı *Lactobacillus* suşlarının *Salmonella* spp., *E. coli* ve *L. monocytogenes* gibi patojen bakterilerin adezyonunu inhibe ederek kolonizasyonu azaltabileceği ve enfeksiyonları önleyebileceği gösterilmiştir (Potočnjak vd., 2017). Bendali vd. (2014) yenidoğan dışkılarından izole edilmiş *L. paracasei* suşunun ve hücre içermeyen kültür süpernatantının antilisterial aktivitesi üzerine yaptıkları çalışmada, *L. paracasei* kullanımı ile, *L. monocytogenes*'in Caco-2 hücrelerine invazyonunun inhibe edilebildiği, *L. paracasei* bakteriyel hücreleri ile *L. monocytogenes*'in inhibisyon seviyelerinin %99.26-99.77 ve *L. paracasei* kültür süpernatantı ile ise %92.90-99.33 arasında değiştiği bildirilmiştir. Aynı çalışmada *L. monocytogenes*'in adezyon seviyesinin, 2.9 log KOB/mL düzeyinde azaltıldığı ve bu azalmanın, kontrol ile karşılaştırıldığında %98.47'lik bir inhibisyon oranını temsil ettiği belirtilmiştir. Sribuathong vd. (2014) ise çalışmasında *L. plantarum* tarafından

Salmonella Typhimurium'un adezyon oranının, kontrol ile karşılaştırıldığında %100'den %3'e düşürülerek önemli ölçüde azaltıldığını ortaya koymuştur. Bağırsak epitel hücrelerine *S. Typhimurium*'un tutunması üzerine *L. rhamnosus*'un etkilerinin araştırıldığı çalışmada, sadece *S. Typhimurium* inoküle edilen kontrol örneği ile karşılaştırıldığında, *S. Typhimurium*'un CCD-18Co hücrelerine invazyonunun %54, Caco-2 hücrelerine invazyonunun ise %64 düzeylerine kadar azaldığı tespit edilmiştir (Eom vd., 2015). Probiyotik özellik gösteren *L. bulgaricus*'un *E. coli*'nin Caco-2 hücrelerine tutunmasını yaklaşık %43.5 oranında azalttığı gözlenmiştir ve çalışma sonucunda *L. bulgaricus*'un bağırsaktaki *E. coli* enfeksiyonunu engelleyebileceği önerilmiştir (Abedi vd., 2013).

Son yıllarda probiyotiklerin özellikle gıda kaynaklı patojen mikroorganizmalar üzerine olan antagonistik aktivitesi önem kazanmış, bu konu üzerine çeşitli *in vitro* çalışmalar yapılmış ve halen araştırmalara devam edilmektedir (Çizelge 2). Probiyotik özellikli mikroorganizmaların patojen bakteriler üzerindeki inhibitif etkilerinin araştırılmasında inhibisyon zon çaplarının ve bakteri sayılarındaki azalmanın belirlenmesi için probiyotik hücrelerin bulunduğu ortamda veya süpernatantın etkisi üzerinde çalışmalar yapılmaktadır. Tejero-Sariñena vd. (2012), *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Lactococcus*, *Streptococcus* ve *Bacillus* cinslerine ait seçilmiş on beş probiyotik suşun, *S. Typhimurium*, *E. coli*, *S. aureus* ve *Clostridium difficile*'ye karşı antagonistik özellikli aktif bileşikler üretebildiklerini göstermişlerdir. *Bifidobacterium breve*'nin, *Bifidobacterium* spp. arasında en güçlü etkiyi gösterdiği, buna karşılık *Bifidobacterium infantis*'in hemen hemen hiçbir etki göstermediği tespit edilmiştir. *L. acidophilus*, *L. casei* Shirota ve *L. rhamnosus* suşlarının *E. coli* 0157:H7 üzerine inhibisyon etkileri araştırılmış ve kullanılan probiyotik mikroorganizmalar içerisinde en fazla inhibitif etkiyi *L. acidophilus*'un, en zayıf etkiyi ise *L. casei* Shirota'nın gösterdiği belirlenmiştir (Taş ve Erginkaya, 2008).

Patojenlerin inhibisyonunda probiyotik mikroorganizmalar

Çizelge 2. In-vitro çalışmalardaki probiyotik mikroorganizmaların gıda kaynaklı patojenler üzerine inhibitif etkileri

Probiyotik mikroorganizma	Patojen mikroorganizma	İnokülasyon düzeyi (log KOB/g veya mL)	İnhibisyon (mm)	Kaynak
<i>L. acidophilus</i>	<i>E. coli</i> <i>S. aureus</i>	6 log 6 log	14.75 15.0	Pereira ve Gómez, 2007
<i>L. acidophilus</i> <i>L. rhamnosus</i> <i>B. animalis</i>	<i>E. coli</i> O157:H7	7.7 log	37 41 6	Arias vd., 2013
<i>L. acidophilus</i> <i>L. rhamnosus</i> <i>B. animalis</i>	<i>S. Typhimurium</i>	7.7 log	32 41 5	Arias vd., 2013
<i>B. bifidum</i> <i>B. infantis</i>	<i>S. Enteritidis</i>	8.18 log	8.4-16	Rahimifard ve Naseri, 2016
<i>L. acidophilus</i> <i>L. plantarum</i> <i>L. casei</i> <i>L. reuteri</i>	<i>S. aureus</i>	8 log	38-40 40-44 33-39 32-35	Soleimani vd., 2010
<i>L. acidophilus</i> <i>L. casei</i>	<i>C. sakazakii</i>	5 log	22-32 22-32	Awaisheh vd., 2013
<i>L. acidophilus</i> <i>L. casei</i> (kültür süpernatantları)	<i>C. sakazakii</i>	5 log	10-16 12-16	Awaisheh vd., 2013
<i>L. fermentum</i> (kültür süpernatantı)	<i>E. coli</i> <i>S. enterica</i> <i>S. sonnei</i>	9 log	23.1 24.1 24.2	Hütt vd., 2006
<i>L. rhamnosus</i> <i>L. acidophilus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	8.18 log	25 16	Al-Malkey vd., 2017
<i>L. plantarum</i>	<i>B. cereus</i>	6 log	17	Zhang vd., 2016

Antibiyotik kullanımının azaltılması ve gastrointestinal hastalıklara neden olan bakterilerin çoğalmasını kontrol etmek amacıyla probiyotikler son yıllarda başarıyla kullanılmaktadır. *S. Typhimurium* ve *S. Enteritidis*, özellikle kanatlılarda ve kanatlı ürünlerinde *Salmonella* spp.'nin baskın serotipleri arasındadır. Yapılan çalışmalarda, probiyotik özellik gösteren mikroorganizmalar ile bu

patojenlerin sayılarının azaltılabileceği tespit edilmiştir. Arias vd. (2013) tarafından yapılan çalışmada, *Lactobacillus rhamnosus* ve *L. acidophilus* süpernatantları antibiyotik dirençli *S. Typhimurium* popülasyonunda 6-7 log KOB, *E. coli* O157:H7 popülasyonunda ise 3-5 log KOB azalma sağlarken, *B. animalis* ile *E. coli* O157:H7 ve *S. Typhimurium* popülasyonunda herhangi bir azalma gözlenmemiştir. *L. casei* ve *L. acidophilus*'un

hücre içermeyen kültür süpernatantlarının her ikisinin de *Cronobacter sakazakii*'ye karşı inhibitif etkisinin olduğu tespit edilmiştir (Awaisheh vd., 2013). *Lactobacillus johnsonii*'nin, *S. Enteritidis*'e karşı inhibitif etkisini incelemek üzere yapılan bir çalışmada *L. johnsonii* ve *S. Enteritidis* kültürlerinin aynı besiyerinde inkübe edilmesi ile *S. Enteritidis* sayısının 2 saatte 3 log KOB/mL'den 5 log KOB/mL'ye yükseldiği ancak, 10 saat sonra belirleme limitinin altına düştüğü gözlenmiştir (Abhisingha vd., 2017). Elbagory vd. (2015), *Lactobacillus brevis*, *L. plantarum*, *L. acidophilus* ve *L. casei* probiyotik mikroorganizmalarının, sırasıyla *B. cereus* üzerinde 12, 10, 11 ve 13 mm ve *E. coli* O159 üzerinde 9, 9, 8 ve 4 mm inhibisyon zonları oluşturduğunu gözlemiştir. *Lactobacillus paracasei*, *L. casei*, *L. rhamnosus* ve *L. rhamnosus* GG suşlarının *Shigella sonnei*'ye karşı antimikrobiyal aktivitesinin araştırıldığı bir çalışmada, kullanılan probiyotik bakterilerin hücresiz kültür süpernatantlarının 2 saat sonra *S. sonnei* sayısını 2.7-3.6 log KOB/mL düzeyinde azalttığı tespit edilmiştir (Zhang vd., 2011). Araştırmacıların bir başka çalışmasında ise, *L. johnsonii* kültürleri kullanılarak *S. sonnei* üzerinde 2-5 mm arasında inhibisyon zonları elde edilebilmiştir (Zhang vd., 2012).

Bacillus türleri, ürettikleri metabolitler ve sporları yardımıyla probiyotik özellikler sergilemekte ve bu özellikleri ile araştırmacıların ilgisini çekmektedir. Çevreden izole edilen probiyotik özellikte yedi *Bacillus* suşunun tanımlandığı ve *Salmonella*, *Shigella* ve *Staphylococcus* türlerine karşı antagonistik aktivitelerinin incelendiği bir çalışmada, *Bacillus subtilis* suşlarının test edilen tüm *Salmonella* ve *Staphylococcus* suşlarına karşı inhibitif etkisinin olduğu gözlenmiştir (Moore vd., 2013). Buna benzer başka bir çalışmada da, *Bacillus amyloliquefaciens*, *B. mojavensis* ve *B. subtilis* probiyotik kültürlerinin, *E. coli*, *S. aureus*, *S. Typhimurium* ve *Clostridium perfringens*'e karşı değişen oranlarda inhibisyon aktivitesi sergilediği belirtilmiştir (Larsen vd., 2014). *Lactobacillus plantarum* suşlarının (2 farklı suş) *Vibrio parahaemolyticus*'a karşı inhibisyon etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, 10:1 oranında *L. plantarum*:*V. parahaemolyticus* kullanıldığında, *V. parahaemolyticus*'un üremesinin inhibe edildiği tespit edilmiştir (Thammasorn vd., 2017).

Enterococcus spp. laktik asit bakterileri arasında yer alan ve gıda mikrobiyolojisi açısından önem taşıyan bakterilerdir. *Enterococcus* cinsi içerisinde probiyotik özellik gösteren iki tür *Enterococcus faecium* ve *E. faecalis* olarak bildirilmiştir (Erginkaya vd., 2007; Pingitore vd., 2012). *Enterococcus* spp. antilisterial aktivite gösteren bakteriyosin üreterek bazı yararlı özellikler göstermektedir (Kıvanç vd., 2016). Hadji-Sfaxi vd. (2011), yaptıkları çalışmada Moğol yoğurdundan (Tarag) izole edilen *E. faecium*'un, *Listeria* spp. ve funguslara karşı bakteriyosin benzeri aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Çalışmalarında *E. faecium*'un hücresiz süpernatantı, *Listeria* spp. (*L. innocua*, *L. ivanovii*) ve özellikle "gıda kaynaklı" patojen olan *L. monocytogenes*'e karşı güçlü bir inhibisyon gösterdiği, ancak, *Salmonella* spp. ve *E. coli* gibi Gram negatif türlere ve *S. aureus*'a karşı etkili olmadığı gözlenmiştir. Bu duruma benzer olarak Ahmadova vd. (2013) tarafından yapılan bir çalışmada, Azerbaycan Motal peynirinden izole edilen *E. faecium*'un güçlü antilisterial aktivite gösterdiği, test edilen *L. monocytogenes* ve *Bacillus cereus*'un üremesini inhibe ettiği, ancak *Salmonella* ve *E. coli*'ye karşı herhangi bir inhibitif aktivite göstermediği belirlenmiştir.

Birçok çalışmada *Campylobacter* spp.'nin, antimikrobiyal maddelerin sentezi, adezyon bölgelerinin ve reseptörlerin invazyonu ile gerekli besin maddeleri için rekabet gibi mekanizmalarla önlenmesi veya sayısının azaltılmasına yönelik probiyotik mikroorganizmaların kullanımı öne sürülmektedir (Bermudez-Brito vd., 2012). *Lactobacillus crispatus*, *L. gallinarum*, *L. helveticus* ve *L. acidophilus*'un *C. jejuni* üzerindeki inhibisyon etkilerinin araştırıldığı çalışmada kullanılan 4 probiyotik suşun da *C. jejuni* üremesini inhibe edebildiği ve bu probiyotik mikroorganizmalar içinde en etkili inhibisyonun *L. crispatus* tarafından sağlandığı bildirilmiştir (Neal-McKinney vd., 2012). Buna benzer olarak *Lactobacillus* türlerinin hücre içermeyen süpernatantlarının *Campylobacter coli* ve *C. jejuni*'ye karşı antimikrobiyal etki gösterdiği, ancak test edilen *Bifidobacterium* spp., *E. faecium* ve *E. coli* Nissle 1917 probiyotik suşlarının herhangi bir inhibitif etkisinin olmadığı tespit edilmiştir (Bratz vd., 2015).

Probiyotik bakteriler tarafından oluşturulan biyofilmlerin de gıdalarda bozulmaya neden olan mikroorganizmalara ve patojen bakterilere karşı antagonistik etkileri bulunmaktadır. Probiyotik *Lactobacillus* türlerinin adezyonu, patojen bakterilerin kolonizasyonunu önlediği ve koruyucu bir bariyer olarak önemli rol oynadığı çeşitli araştırmalarda belirtilmiştir (Dertli, 2015). Bu nedenle son zamanlarda araştırmacılar patojen bakterilerin inhibisyonunda probiyotik biyofilmlerin kullanımı üzerine yoğunlaşmışlardır. Probiyotik biyofilmlerin geliştirildiği ve *L. monocytogenes*'in hem planktonik hücreleri hem de biyofilmleri üzerine inhibisyon etkisinin incelendiği bir çalışmada, *L. casei* Shirota ve *L. rhamnosus* tarafından oluşturulan biyofilmler ile *L. monocytogenes*'in planktonik hücrelerindeki azalma 0.66-2.01 log KOB/mL arasında değişirken, *L. monocytogenes* biyofilmlerinde canlı hücre sayısındaki azalmanın 0.40-1.69 log KOB/mL arasında değiştiği tespit edilmiştir (Turhan vd., 2017). Bu konuyla ilgili başka bir çalışmada *L. paracasei* ve *L. rhamnosus* biyofilmleri varlığında *L. monocytogenes* biyofilm hücrelerinde 3 log azalma

sağlanmıştır (Woo ve Ahn, 2013). Gómez vd. (2016) tarafından yapılan çalışmada ise *L. helveticus* ve *L. casei* biyofilmleri ile *L. monocytogenes*'in biyofilmlerindeki hücrelerde sırasıyla 4 log ve 7 log azalma elde edilmiştir.

Gıdalarda biyokontrol ajanı olarak probiyotik mikroorganizmaların kullanımı

Kimyasal koruyucu içeren gıdaların olası sağlık riskleri konusundaki bilincin artmasıyla doğal, taze ve sağlıklı gıdalara tüketicilerin ilgisi giderek artmaktadır. Gıdaların güvenliğini arttırmak için biyokontrol ajanı olarak probiyotik mikroorganizmaların kullanımı, kimyasal korumaya alternatif olarak ortaya çıkmaktadır. Böylece gıdalardaki istenmeyen mikroorganizmaların gelişimi önlenilmekte veya mikroorganizmalar öldürülebilmektedir (Arena vd., 2016). Probiyotik mikroorganizmaların kullanımı ile çeşitli gıdalarda bulunan gıda kaynaklı patojenlerin inhibisyonuna yönelik çalışmalarda, kullanılan probiyotik mikroorganizmanın ve patojenin türüne bağlı olarak değişen oranlarda azalmalara neden olduğu belirlenmiştir (Çizelge 3).

Çizelge 3. Çeşitli gıdalarda probiyotik mikroorganizmaların gıda kaynaklı patojenler üzerine etkileri

Ürün	Probiyotik mikroorganizma (log KOB/g veya mL)	Patojen adı/İnokülasyon düzeyi (log KOB/g veya mL)	Azalma miktarı (log KOB/g veya mL)	Kaynak
Armut dilimleri	<i>L. rhamnosus</i> GG (7.5 log)	<i>Salmonella</i> spp. (3.7 log)	2 log	Iglesias vd., 2017a
		<i>L. monocytogenes</i> (3.4 log)	3 log	
Elma dilimleri	<i>L. rhamnosus</i> GG (7 log)	<i>Salmonella</i> spp. (3.9 log)	0.5 log	Alegre vd., 2011
		<i>L. monocytogenes</i> (3.7 log)	1 log	
Ananas dilimleri	<i>L. fermentum</i> (8.40 log) <i>L. plantarum</i> (8.40 log)	<i>L. monocytogenes</i> (7.16 log)	2.49 log	Russo vd., 2014
			1.79 log	
Ananas dilimleri	<i>L. fermentum</i> (8.40 log) <i>L. plantarum</i> (8.40 log)	<i>E. coli</i> O157:H7 (7.53 log)	2.56 log	Russo vd., 2014
			3.43 log	
Kavun dilimleri	<i>L. fermentum</i> (8.7 log) <i>L. plantarum</i> (8.7 log)	<i>L. monocytogenes</i> (4.7 log)	2 log	Russo vd., 2015
			3 log	
Tavuk eti köftesi	<i>Leu. pseudomesenteroides</i> (5.20 log)	<i>L. monocytogenes</i> (3.10 log)	1.22 log	Melero vd., 2013
Tavuk butu	<i>B.longum</i> (4.36 log)	<i>C. jejuni</i> (5.30 log)	1.16 log	

Çizelge 3. Devamı

Ürün	Probiyotik mikroorganizma (log KOB/g veya mL)	Patojen adı/İnokülasyon düzeyi (log KOB/g veya mL)	Azalma miktarı (log KOB/g veya mL)	Kaynak
Sterilize yağsız süt	<i>L. plantarum</i> (7.84 log)	<i>E. coli</i> O159 (7.74 log)	2.75 log	Elbagory vd., 2015
	<i>L. acidophilus</i> (7.84 log)		2.7 log	
	<i>L. brevis</i> (7.84 log)		2.75 log	
	<i>L. casei</i> (7.84 log)		0.8 log	
Ekşi kremalı Fransız soğan sosu	<i>L. acidophilus</i> , <i>B. animalis</i> , <i>L. paracasei</i> , <i>P. shermanii</i> (8 log)	<i>B. cereus</i> (8 log)	6 log	Tharmaraj ve Shah, 2009
		<i>S. Typhimurium</i> (8 log)	3.4 log	
		<i>S. aureus</i> (8 log)	3.5 log	
		<i>E. coli</i> (8 log)	3.5 log	
Afrika geleneksel sütlü içeceği	<i>L. rhamnosus</i> yoba (5.5 log)	<i>L. monocytogenes</i> (5.5 log)	3.7 log	Mpofu vd., 2016
		<i>Salmonella</i> spp. (5.5 log)	Artış var	
		<i>C. jejuni</i> (5.5 log)	3.7 log	
		<i>E. coli</i> O157:H7 (5.5 log)	3.9 log	
Fermente sosis	<i>L. reuteri</i> (7 log) <i>B. longum</i> (7 log)	<i>E. coli</i> O157:H7 (7.4 log)	3 log	Muthuku marasamy ve Holley, 2007
			1.9 log	
Süt fermantasy onu	<i>L. casei</i> (6 log)	<i>S. aureus</i> (2 log, 4 log, 6 log)	1 log	Kamal vd., 2016
			3 log	
			4 log	
Mısır geleneksel yoğurdu	<i>L. acidophilus</i> (8.6 log) <i>B. animalis</i> (8.6 log)	<i>S. aureus</i> (8.48 log)	6.18 log	El-Kholy vd., 2014
			5.7 log	
Mısır geleneksel yoğurdu	<i>L. acidophilus</i> (8.6 log) <i>B. animalis</i> (8.6 log)	<i>E. coli</i> O157:H7 (8.30 log)	6.3 log	El-Kholy vd., 2014a
			5.3 log	
Domiyati peyniri	<i>L. acidophilus</i> (9 log)	<i>S. aureus</i> (8.78 log)	3 log	El-Kholy vd., 2014b
		<i>E. coli</i> O157:H7 (8.48 log)	1.88 log	
Beyaz peyniri	<i>L. plantarum</i> (6 log)	<i>L. monocytogenes</i> (5.65 log)	3.9 log	Yıldırım ve Sarımehm etoğlu, 2006
	<i>L. acidophilus</i> (6 log)		3.9 log	
Bifido yoğurdu	<i>B. bifidum</i> (7 log)	<i>E. coli</i> O157:H7 (3.49 log, 7.38 log)	0.76 log	Massa vd., 1997
			1.97 log	

Fermente ürünlerde biyokontrol ajanı olarak probiyotik mikroorganizmaların kullanımı

Fermente ürünler genel olarak asidik özellikte olduğu için güvenli oldukları düşünülse de, proste yapılan bazı hatalar ve patojen bakteriler ile kontamine olmuş hammaddeler nedeniyle gıda kaynaklı hastalıklara neden olabilmektedir (CDC, 2017). *S. aureus*, *E. coli* O157:H7, *Salmonella* spp. ve *L. monocytogenes* gibi mikroorganizmalar birçok gıdada bulunan ve fermente ürünlerde canlılığını sürdürebilen en yaygın gıda kaynaklı patojenler olarak rapor edilmiştir (El-Kholy vd., 2014). Bu nedenle probiyotik mikroorganizmaların, *S. aureus*, *E. coli* O157:H7, *Salmonella* spp. ve *L. monocytogenes* gibi patojenlere karşı antagonistik etkileri birçok araştırmacı tarafından araştırılmıştır. El-Kholy vd. (2014) tarafından yapılan bir çalışmada, *L. acidophilus* ve *B. longum* içeren geleneksel yoğurdun fermantasyonu ve depolanması sırasında *E. coli* O157:H7 ve *S. aureus*'a karşı inhibitif etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir. Buna benzer bir çalışmada yoğurtta probiyotik suş olarak kullanılan *L. casei*'nin sütün fermantasyonu sırasında, *E. coli* O157:H7 ve *S. aureus* gelişimini inhibe edebildiği gözlemlenmiştir (Kamal vd., 2016). Madureira vd. (2011) *B. animalis* ve *L. casei* ile ürettiği probiyotik peynir altı suyu peynirinde, *B. animalis* tarafından *Pseudomonas aeruginosa*'ya ve *L. casei* tarafından *S. Enteritidis* ve *L. innocua*'ya karşı tam inhibisyon gözlemlenmiş, bunun aksine, *B. animalis* ile *L. innocua* ve *L. casei* ile *P. aeruginosa*'ya karşı herhangi bir inhibitif etki gözlenmemiştir. Rus lor peynirinde (tvorog) *E. coli*, *Yersinia enterocolitica*, *Shigella flexneri* ve *Klebsiella pneumoniae* enteropatojen bakterilerine karşı antagonistik aktivitenin araştırıldığı bir çalışmada, elde edilen 17 izolatın patojen bakterileri inhibe ettiği, ancak özellikle *L. casei* ve *L. rhamnosus* suşlarının, tüm patojen bakteriler üzerine yüksek antibakteriyel etki gösterdiği belirtilmiştir (Masoumikia ve Ganbarov, 2015). Probiyotik özellikli bakteriler gerek endüstriyel boyutta ve gerekse sağlık alanında geniş bir kullanım alanına sahiptir. Süt ürünlerinin üretilmesinde kullanılan *L. casei*'nin ürünün duyuşal özelliklerin geliştirilmesinde ve üretmiş olduğu metabolitler ile patojen bakterin inhibisyonunda kullanılabileceği ifade edilmiştir (Sömer vd., 2012). Yıldırım ve Sarımehtemoglu (2006)

tarafından yapılan bir çalışmada, düşük ve yüksek düzeyde *L. monocytogenes* (4.5×10^5 KOB/ml ve 8.0×10^5 KOB/ml) inoküle edilmiş beyaz peynirlerde probiyotik kültür olarak *L. plantarum* ve *L. acidophilus* kullanıldığında olgunlaşmanın 30. gününde *L. monocytogenes* sayısının 2 log seviyesine düştüğü gözlemlenmiştir. İran probiyotik beyaz peynirinde olgunlaşma süresi boyunca *L. monocytogenes* sayısında kontrol grubuna kıyasla, 3.16 log KOB/g azalma olduğu bildirilmiştir (Mahmoudi vd., 2012). Yapılan çalışmalarda elde edilen veriler değerlendirildiğinde her ne kadar istatistiksel açıdan anlamlı düzeyde azalmalar tespit edilse bile, tam bir inaktivasyon sağlanamamaktadır. Probiyotik içeren mavi peynirde *Y. enterocolitica* üreme potansiyelinin belirlenmesi amacıyla yapılan bir çalışmada, *L. acidophilus* La-5 inoküle edilmiş peynirlerde kontrol grubu ile karşılaştırıldığında *Y. enterocolitica* sayısında azalma tespit edilmiş, ancak tam bir inhibisyon sağlanmadığı için ürünün mikrobiyolojik olarak güvenilir olmadığı belirtilmiştir (Zadernowska vd., 2015).

Probiyotik kültürlerin kullanımında tek suş veya çoklu suş içeren kültürler kullanılabilir. *Vibrio cholerae*'ya karşı antagonistik aktiviteyi araştırmak amacıyla, tek veya karışık kültür halindeki probiyotik *Leuconostoc mesenteroides* ve *Bacillus subtilis* natto içeren geleneksel Hint içeceğindeki (ragi), *V. cholerae*'nin maksimum inhibisyon zon çapı 7.5 mm ile *L. mesenteroides* kullanılarak elde edilmiştir. Her iki probiyotik kültür birlikte kullanıldığında ise probiyotiklerin sinerjistik etkisine bağlı olarak *V. cholerae*'ya karşı antimikrobiyal aktivitenin arttığı tespit edilmiştir (Laxme vd., 2014).

Fermente et ürünlerine inoküle edilen *L. acidophilus*, *L. rhamnosus*, *L. reuteri*, *L. casei* ve *Bifidobacterium longum* gibi probiyotik bakteriler fermente ette bulunabilecek Enterobacteriaceae, *E. coli* O157:H7 ve *S. aureus* gibi patojen bakteriler üzerinde antagonistik aktivite gösterebilmektedir. Wang vd. (2015) yaptıkları çalışmada bakteriyosin üreten probiyotik mikroorganizmaların kullanımıyla fermente mersin balığı sosilerinin mikrobiyal güvenliğinin artırıldığını ve duyuşal özelliklerinin geliştirildiğini bildirmiştir.

Probiyotik özellikli gıdaların insan sağlığı üzerinde yararlı etki sağlayabilmeleri için, canlı probiyotiklerin sayısının en az 10^6 - 10^7 KOB/g veya ml olması gerektiği belirtilmektedir. Gıdanın üretimi, depolama aşaması, gastrointestinal sistem koşulları gibi etkenlerden dolayı probiyotikler büyük oranda canlılıklarını kaybedebilmektedir. Probiyotiklerin dayanıklılığını etkileyen bu faktörlerin meydana getirdiği olumsuz koşulları azaltmak için son yıllarda enkapsülasyon yöntemi ile kapsül haline getirilmiş probiyotiklerin kullanım potansiyeli araştırılmaktadır. Enkapsüle probiyotik bakteriler, enkapsüle edilmemiş probiyotik bakterilere göre daha uzun süre canlı kalabilmektedir. Kurutulmuş fermente sosislere inoküle edilmiş *E. coli* O157:H7 üzerine *L. reuteri* ve *B. longum*'un etkilerinin araştırıldığı çalışmada, mikroenkapsülasyon uygulamasının canlı kalan *L. reuteri* ve *B. longum* sayılarını arttırdığı, ancak *E. coli* O157:H7'ye karşı inhibitif etkilerini azalttığı bildirilmiştir (Muthukumarasamy ve Holley, 2007).

Fermente olmayan ürünlerde biyokontrol ajanı olarak probiyotik mikroorganizmaların kullanımı

Probiyotik mikroorganizmalar genellikle fermente süt ürünlerinde kullanılmaktadır. Ancak probiyotiklerin, veganlar, laktoz intoleransı ve süt proteinlerine alerjisi olan bireyler için probiyotik süt ürünlerine alternatif olarak diğer gıda matrislerinde kullanımları giderek artmaktadır. Dilimlenmiş meyve-sebzelerde soyma ve kesme gibi işlemler, yüzey temasını artırarak, meyve dokularına mikroorganizmaların tutunmasını arttırmakta ve probiyotik bakteri gelişiminde mineral, şeker, vitamin gibi ideal substratların serbest kalmasını sağlamaktadır (de Oliveira vd., 2011). Bu hususa dayanarak, yararlı mikroorganizmalar için taşıyıcı görev üstlenen dilimlenmiş meyvelerdeki probiyotik mikroorganizmaların patojenler üzerindeki inhibitif etkileri konusundaki çalışmalar hız kazanmıştır. *L. rhamnosus* GG'nin, elma dilimlerine inoküle edilmiş *Salmonella* spp. üzerinde herhangi bir inhibitif etkisinin olmadığı, ancak *L. monocytogenes*'e karşı inhibitif etkiye sahip olduğu belirtilmiştir (Alegre vd., 2011). Russo vd. (2014) tarafından yapılan bir çalışmada, ananas

dilimlerinde *Lactobacillus fermentum* ve *L. plantarum*'un canlılığını sürdürdüğü ve aynı zamanda bu probiyotiklerin *L. monocytogenes* ve *E. coli* O157:H7'ye karşı antagonistik etkiye sahip olduğu ve ananas dilimlerinin duyu ve fiziksel özelliklerini istatistiksel olarak önemli düzeyde etkilemediği belirtilmiştir. Russo vd. (2015) tarafından yapılan diğer bir çalışmada ise probiyotik suşların, dilimlenmiş kavunların riboflavin içeriğini arttırdığı ve *L. monocytogenes*'e karşı antagonistik etkileri sayesinde dilimlenmiş kavunların mikrobiyal güvenliğinin arttığı tespit edilmiştir. Kümes hayvanlarının *L. monocytogenes* ve *C. jejuni* gibi gıda kaynaklı patojenlerin taşıyıcıları olduğu bilinmektedir. Modifiye atmosferde paketlenmiş tavuk ürünlerinde *Leuconostoc pseudomesenteroides* ve *B. longum* ile *L. monocytogenes* ve *C. jejuni* gibi patojenlerin üremesinin kontrol altına alınması veya azaltılması amacıyla yapılan çalışmada *L. monocytogenes* sayısında 1.22 log KOB/g, *C. jejuni* sayısında ise 1.16 log KOB/g azalma sağlanmıştır (Melero vd., 2013).

Iglesias vd. (2017b) *L. rhamnosus* GG ve *L. monocytogenes* armut dilimlerine inoküle edilip, 10 °C'de 7 gün bekletildikten sonra mide-bağırsak yolundan geçerek canlı kalma yeteneği ve Caco-2 hücrelerine adezyon ve invazyonu üzerindeki etkisini incelemek amacıyla yaptıkları çalışmada, *L. rhamnosus* GG'nin, armut dilimlerine inoküle edilmiş *L. monocytogenes*'in Caco-2 hücrelerine adezyonunu %79.2'den %36.7'ye ve invazyonunu %46.9'dan %12.8'e azalttığı, dolayısıyla *L. monocytogenes*'in patojenik özelliğini azalttığı bildirilmiştir. Yapılan çalışmalarda, *Lactobacillus* spp.'nin *S. Typhimurium* ve *L. monocytogenes* gibi patojen bakterilerin Caco-2 hücrelerine tutunmasının önemli oranda azaltıldığı ortaya konmuştur.

SONUÇ

Son yıllarda yapılan araştırmalarda, probiyotiklerin insan sağlığına faydalı etkileri olduğu belirtilmektedir. Alternatif ve çevre dostu bir yaklaşım olarak, probiyotikler büyük umut vaat etmektedir ve ayrıca birçok alanda patojen mikroorganizmaları kontrol etmek amacıyla kullanılabilir potansiyeli bulunmaktadır. Başlıca probiyotik türler *L. rhamnosus*, *L. acidophilus*, *L.*

plantarum, *B. infantis* ve *B. animalis* olup, tek veya karışık kültür olarak üzerinde en çok çalışılan probiyotik mikroorganizmalardır. Probiyotiklerin antimikrobiyal etkileri önemli özelliklerindedir ve antimikrobiyal bileşiklerin üretimi, patojenler ile rekabet, bağırsak bariyer fonksiyonunun modülasyonu gibi özellikleri içermektedir. Probiyotik mikroorganizmaların potansiyel antimikrobiyal işlevlerini kullanarak, gıda kaynaklı patojenleri kontrol etmek veya sayılarını azaltmak ve böylece tüketicinin kullanımı aşamasında gıda güvenliğini arttırmak için yeni bir yaklaşım olabileceğini öne sürülmektedir. Yapılan *in vivo* veya *in vitro* çalışmalarda probiyotiklerin patojenlerin üremelerini inhibe edebildiği ortaya konulmuştur. Gıdalarda bulunan patojen mikroorganizmaların inhibisyonu için probiyotik mikroorganizmaların kullanımı yapılacak çalışmalarla optimize edilmelidir.

KAYNAKLAR

Abedi, D., Feizizadeh, S., Akbari, V., Jafarian-Dehkordi, A. (2013). *In vitro* anti-bacterial and anti-adherence effects of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* on *Escherichia coli*. *Res Pharm Sci*, 8(4): 260–268.

Abhisingha, M., Dumnil, J., Pitaksutheepong, C. (2017). Selection of potential probiotic *Lactobacillus* with inhibitory activity against *Salmonella* and fecal coliform bacteria. *Probiotics Antimicro*, 1-10. <https://doi.org/10.1007/s12602-017-9304-8>

Ahmadova, A., Todorov, S.D., Choiset, Y., Rabesona, H., Zadi, T.M., Kulyev, A., de Melo Franco, B.D.G., Chobert, J.M., Haertlé, T. (2013). Evaluation of antimicrobial activity, probiotic properties and safety of wild strain *Enterococcus faecium* AQ71 isolated from Azerbaijani Motal cheese. *Food Control*, 30: 631-641.

Alegre, I., Viñas, I., Usall, J., Anguera, M., Abadias, M. (2011), Microbiological and physicochemical quality of fresh-cut apple enriched with the probiotic strain *Lactobacillus rhamnosus* GG. *Food Microbiol*, 28: 59-66.

Al-Malkey, M.K., Ismecal, M.C., Al-Hur, F.J.A., Mohammed, S. W., Nayyef, H. J. (2017). Antimicrobial Effect of Probiotic *Lactobacillus*

spp. on *Pseudomonas aeruginosa*. *J Contemp Med Sci*, 3(9): 172-177.

Arena, M.P., Silvain, A., Normanno, G., Grieco, F., Drider, D., Spano, G., Fiocco, D. (2016). Use of *Lactobacillus plantarum* strains as a bio-control strategy against foodborne pathogenic microorganisms. *Front Microbiol*, 7: 464.

Arias, B.O., Reyes, M.D.L.L., Navarro-V, M.L., Berenice, S.C.Y., Mayra, M.G., Gloria, S.S., Raúl, S.C., Raquel, Z.R. (2013). Antagonistic effect of probiotic strains against two pathogens: *Salmonella* Typhimurium and *E. coli* O157:H7 resistant to antibiotics. *e-Gnosis*, 11, 1-16.

Awaisheh, S.S., Al-Nabulsi, A.A., Osaili, T.M., Ibrahim, S., Holley, S. (2013). Inhibition of *Cronobacter sakazakii* by heat labile bacteriocins produced by probiotic LAB isolated from healthy infants. *J Food Sci*, 78(9): 1416- 1420.

Bansal, S., Mangal, M., Sharma, S. K., Gupta, R.K. (2016). Non-dairy based probiotics: A healthy treat for intestine. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 56(11):1856-1867.

Bendali, F., Hebraud, M., Sadoun, D. (2014). Anti-bacterial and anti-adherence activities of a probiotic strain of *Lactobacillus paracasei* against *Listeria monocytogenes*. *Int J Appl Microbiol Biotechnol Res*, 2: 52-63.

Bermudez-Brito, M., Plaza-Díaz, J., Muñoz-Quezada, S., Gómez-Llorente, C., Gil, A. (2012). Probiotic mechanisms of action. *Ann Nutr Metab*, 61: 160–174.

Bratz, K., Gözl, G., Janczyk, P., Nöckler, K., Alter, T. (2015). Analysis of *in vitro* and *in vivo* effects of probiotics against *Campylobacter* spp.. *Berl Munch Tierarztl*, 128 (3-4): 155-162.

CDC (2017). Foodborne Outbreak Online Database (FOOD Tool). <https://wwwn.cdc.gov/foodborneoutbreaks/> (Accessed: 13 October 2017).

De Oliveira, M.A., Maciel de Souza, V.M., Bergamini, A.M.M., de Martinis, E.C.P. (2011). Microbiological quality of ready-to-eat minimally processed vegetables consumed in Brazil. *Food Control*, 22:(8), 1400–1403.

- Dertli, E. (2015). Isolation and identification of an exopolysaccharide producer *Streptococcus thermophilus* strain from Turkish yogurt. *Kafkas Univ Vet Fak*, 21: 229-232.
- Elbagory, A.M., Eman, S.E., Eman, K.F. (2015). Impact of probiotic strains on growth of some food poisoning bacteria from milk and soft cheese. *Nutr Food Technol*, 1(2): <http://dx.doi.org/10.16966/2470-6086.107>.
- El-Kholy, A.M., El-Shinawy, S.H., Meshref, A.M.S., Kornay, A.M. (2014a). Screening of antagonistic activity of probiotic bacteria against some food-borne pathogens. *J Appl Environ Microbiol*, 2(2): 53-60.
- El-Kholy, A.M., El-Shinawy, S.H., Meshref, A.M.S., Korany, A.M. (2014b). Microbiological quality of domiati cheese and the influence of probiotics on the behavior of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* O157:H7 in domiati cheese. *J Food Safety*, 34: 396-406.
- Eom, J.S., Song, J., Choi, H.S. (2015). Protective Effects of a Novel Probiotic Strain of *Lactobacillus plantarum* JSA22 from traditional fermented soybean food against infection by *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. *J Microbiol Biotechnol*, 25(4): 479-491.
- Erem, F., Küçükçetin, A., Certel, M. (2013). *Bacillus* Türlerinin Probiyotik Olarak Değerlendirilmesi. *GIDA*, 34(8): 247-254.
- Erginkaya, Z., Yurdakul, N.A., Karakaş, A. (2007). *Enterococcus faecium* ve *Enterococcus faecalis*' in starter ve probiyotik kültür özellikleri. *GIDA*, 32(3):137-142.
- Espitia, P.J.P., Batista, R.A., Azeredo, H.M.C., Otoni, C.G. (2016). Probiotics and their potential applications in active edible films and coatings. *Food Res Int* 90: 42-52.
- Fijan, S. (2016a). Influence of the growth of *Pseudomonas aeruginosa* in milk fermented by multispecies probiotics and Kefir microbiota. *J Prob Health*, 3: 136.
- Fijan, S. (2016b). Antimicrobial effect of probiotics against common pathogens. In: *Immunology and Microbiology: Probiotics and Prebiotics in Human Nutrition and Health*, Rao, V., Rao, L.G. (eds.), InTech, pp. 191-221.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization FAO/WHO. (2002). Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food. Joint FAO/WHO Working Group Report on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food London, Ontario, Canada, April 30 and May 1, 2002. http://www.who.int/foodsafety/fs_management/en/probiotic_guidelines.pdf (Accessed: 20 November 2017)
- Gómez, N.C., Ramiro, J.M.P., Quecan, B.X.V. de Melo Franco, B.D.G. (2016). Use of potential probiotic lactic acid bacteria (LAB) biofilms for the Control of *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* Typhimurium, and *Escherichia coli* O157:H7 Biofilms Formation. *Front. Microbiol.*, 7: 863.
- Hadji-Sfaxi, I., El-Ghaish, S., Ahmadova, A., Batdorj, B., Le Blay-Laliberté, G., Barbier, G., Haertlé, T., Chobert, J.M. (2011). Antimicrobial activity and safety of use of *Enterococcus faecium* PC4.1 isolated from Mongol yogurt. *Food Control*, 22: 2020-2027.
- Hawrelak, J. (2013). Probiotics. In: *Textbook of Natural Medicine*, Pizzorno, J.E., Murray, M.T. (eds), 4th ed., Churchill Livingstone Elsevier, St. Louis, Missouri, pp. 979-994.
- Hemaiswarya, S., Raja, R., Ravikumar, R., Carvalho, I. S. (2013). Mechanism of action of probiotics. *Braz Arch Biol Technol*, 56 (1): 113-119.
- Hill, C., Guarner, F., Reid, G., Gibson, G.R., Merenstein, D.J., Pot, B., Morelli, L., Canani, R.B., Flint, H.J., Salminen, S., Calder, P.C., Sanders, M.E. (2014). Expert consensus document. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nat Rev Gastro Hepat*, 11(8): 506-514.
- Holzappel, W.H. (2006). Introduction to prebiotics and probiotics. In: *Probiotics in Food Safety and Human Health*, Goktepe, I., Juneja, V.K., Ahmedna, M. (eds.), CRC Press, Taylor and Francis Group, LLC., New York, US, pp. 1-35.

- Hossaina, M.I., Sadekuzzamana, M., Ha, S. (2017). Probiotics as potential alternative biocontrol agents in the agriculture and food industries: A review. *Food Res Int*, 100: 63–73.
- Huys, G., Botteldoorn, N., Delvigne, F., De Vuyst, L., Heyndrickx, M., Pot, B., Dubois, J.J., Daube, G. (2013). Microbial characterization of probiotics—Advisory report of the Working Group “8651 Probiotics” of the Belgian Superior Health Council (SHC). *Mol Nutr Food Res*, 57: 1479–1504.
- Iglesias, M.B., Abadias, M., Anguera, M., Sabata, J., Vinas, I. (2017a). Antagonistic effect of probiotic bacteria against foodborne pathogens on fresh-cut pear. *LWT - Food Sci Technol*, 81: 243–249.
- Iglesias, M.B., Viñas, I., Colás-Medà, P., Collazo, C., Serrano, J.C.E., Abadias, M. (2017b). Adhesion and invasion of *Listeria monocytogenes* and interaction with *Lactobacillus rhamnosus* GG after habituation on fresh-cut pear. *J Funct Food*, 34: 453–460.
- Jensen, H., Grimmer, S., Naterstad, K., Axelsson, L. (2012). In vitro testing of commercial and potential probiotic lactic acid bacteria. *Int J Food Microbiol*, 153: 216–222.
- Kamal, R.M., Abd El Aal, S.F.A., Elsayed, M.S., Abdallah, R.M. (2016). Influence of addition of probiotic bacteria to yoghurt on survivability of some food borne pathogens. 3rd International Conference of Food Safety "Environmental Hazards and Food Safety" Damanhour University, 10th October 2016, Egypt.
- Kanmani, P., Satish Kumar, R., Yuvaraj, N., Paari, K.A., Pattukumar, V., Arul, V. (2013). Probiotics and its functionally valuable products-A Review, *Crit Rev Food Sci Nutr*, 53 (6), 641–658.
- Kechagia, M., Basoulis, D., Konstantopoulou, S., Dimitriadi, D., Gyftopoulou, K., Skarmoutsou, N., Fakir, E.M. (2013). Health benefits of probiotics: A review. *ISRN Nutrition*, 1-7.
- Khalighi, A., Behdani, R., Kouhestani, S. (2016). Probiotics: A comprehensive review of their classification, mode of action and role in human nutrition, probiotics and prebiotics in human nutrition and health, in: *Immunology and Microbiology "Probiotics and Prebiotics in Human Nutrition and Health*, Rao, V., Rao, L.G. (eds.), InTech, pp. 19–39.
- Kılıç, S. 2001. Süt Endüstrisinde Laktik Asit Bakterileri. *EÜ Ziraat Fakültesi Yayınları* No: 542, İzmir, Türkiye, 451 s.
- Kıvanç, S.A., Kıvanç, M., Yiğit, T. (2016). Antibiotic susceptibility, antibacterial activity and characterisation of *Enterococcus faecium* strains isolated from breast milk. *Exp Ther Med*, 12: 1732–1740.
- Koning, C.J., Jonkers, D., Smidt, H., Rombouts, F., Pennings, H.J., Wouters, E., Stobberingh, E., Stockbrügger, R. (2010). The effect of a multispecies probiotic on the composition of the faecal microbiota and bowel habits in chronic obstructive pulmonary disease patients treated with antibiotics. *Br J Nutr*, 103: 1452–1460.
- Lakshmi, S.J., Jayanthi, N., Saravanan, M., Ratn, M.S., 2017. Safety assesment of *Bacillus clausii* UBBC07, a spore forming probiotic. *Toxicol Reports*, 4: 62-71.
- Larsen, N., Thorsen, L., Kpikpi, E. N., Stuer-Lauridsen, B., Cantor, M.D., Nielsen, B., Brockmann, E., Derkx, P.M.F., Jespersen, L. (2014). Characterization of *Bacillus* spp. strains for use as probiotic additives in pig feed, *Appl Microbiol Biot*, 98: 1105–1118.
- Laxme, B.V., Rovetto, A., Grau, R., Agrawal, R. (2014). Synergistic effects of probiotic *Leuconostoc mesenteroides* and *Bacillus subtilis* in malted ragi (Eleusine corocana) food for antagonistic activity against *V. cholerae* and other beneficial properties. *J Food Sci Technol*, 11: 3072-3082.
- Madureira, A.R., Pintado, M.E., Gomes, A.M.P., Malcat, F.X. (2011). Incorporation of probiotic bacteria in whey cheese: Decreasing the risk of microbial contamination. *J Food Prot*, 74(7): 1194–1199.
- Mahmoudi, R., Tajik, H., Ehsani, A., Zare, P. (2012). Physicochemical and hygienic effects of *Lactobacillus acidophilus* in Iranian white cheese, *Vet Res Forum*, 3(3): 193–197.

- Masoumikia R., Ganbarov, K. (2015). Antagonistic activity of probiotic lactobacilli against human enteropathogenic bacteria in homemade tvorog curd cheese from Azerbaijan, *Bioimpacts*, 5(3): 151-154.
- Melero, B., Vinuesa, R., Diez, A.M., Jaime, I., Rovira, J. (2013). Application of protective cultures against *Listeria monocytogenes* and *Campylobacter jejuni* in chicken products packaged under modified atmosphere. *Poult Sci*, 92: 1108–1116.
- Messaoudi, S., Kergourlay, G., Dalgalarondo, M., Choiset, Y., Ferchichi, M., Prévost, H., Pilet, M.F., Chobert, J.M., Manai, M., Dousset, X. (2012). Purification and characterization of a new bacteriocin active against *Campylobacter* produced by *Lactobacillus salivarius* SMXD51. *Food Microbiol* 32:129–134.
- Moore, T., Globa, L., Barbaree, J., Vodyanoy, V., Sorokulova, I. (2013). Antagonistic activity of *Bacillus* bacteria against food-borne pathogens. *J Probiotics Health*, 1: 110. doi: 10.4172/2329-8901.1000110.
- Mpofu, A., Linnemann, A.R., Nout, M.J.R., Zwietering, M.H., Smid, E.J., den Besten, H.M.W. (2016). Inactivation of bacterial pathogens in yoba mutandabota, a dairy product fermented with the probiotic *Lactobacillus rhamnosus* yoba. *Int J Food Microbiol*, 217: 42–48.
- Muthukumarasamy, P., Holley, R.A. (2007). Survival of *Escherichia coli* O157:H7 in dry fermented sausages containing micro-encapsulated probiotic lactic acid bacteria. *Food Microbiol*, 24: 82–88.
- Neal-McKinney, J.M., Lu, X., Duong, T., Larson, C.L., Call, D.R., Shah, D.H., Konkel, M.E. (2012). Production of organic acids by probiotic Lactobacilli can be used to reduce pathogen load in poultry. *Plos One*, 7(9): e43928.
- Novik, G., Sidarenka, A., Kiseleva, E., Kolomiets, E., Dey, E.S. (2014). Probiotics. In: *Biotransformation of Waste Biomass into High Value*, Brar, S. K., Dhillon, G. S., Soccol, C. R. (eds.), Springer, New York, pp. 187-235.
- Oelschlaeger, T.A. (2010). Mechanisms of probiotic actions—A review. *Int J Med Microbiol*, 300 (1): 57-62.
- Pereira, V.G., Gómez, R.J.H.C. (2007). Antimicrobial activity of *Lactobacillus acidophilus* against foodborne pathogens. *Semina: Ciências Agrárias*, 28(2): 229-240.
- Pingitore, E.V., Todorov, S.D., Sesma, F., Franco, B.D.G.M. (2012). Application of bacteriocinogenic *Enterococcus mundtii* CRL35 and *Enterococcus faecium* ST88Ch in the control of *Listeria monocytogenes* in fresh Minas cheese. *Food Microbiol*, 32: 38-47.
- Pithva, S., Ambalam, P., Dave, J.M., Vyas, B.R. (2012). Potential of Probiotic *Lactobacillus* Strains as Food Additives. In: *Food Additive*, El-Samragy, Y. (ed.), InTech, pp. 175.
- Potočnjak, M., Pušić, P., Frece, J., Abram, M., Janković, T., Gobin, I. (2017). Three new *Lactobacillus plantarum* strains in the probiotic toolbox against gut pathogen *Salmonella enterica* serotype Typhimurium. *Food Technol Biotechnol*, 55 (1): 48–54.
- Rahimifard N., Naseri, M. (2016). *Bifidobacteria bifidum* and *Bifidobacteria infantis* effects on *Salmonella enteritidis*. *J Pure Appl Microbiol*, 10(3): 1885-1889.
- Russo, P., de Chiara, M.L.W., Vernile, A., Amodio, M.L., Arena, M. P., Capozzi, V., Massa, S., Spano, G. (2014). Fresh-cut pineapple as a new carrier of probiotic lactic acid bacteria. *Biomed Res Int*, vol. 2014, Article ID 309183, 9 p. doi:10.1155/2014/309183.
- Russo, P., Peña, N., Amodio, M.L., Colelli, G., Spano, G. (2015). Probiotic lactic acid bacteria for the production of multifunctional fresh-cut cantaloupe. *Food Res Int*, 77: 762–772.
- Rybalchenko, O.V., Bondarenko, V.M., Orlova, O.G., Markov, A.G., Amasheh, S. (2015). Inhibitory effects of *Lactobacillus fermentum* on microbial growth and biofilm formation. *Arch Microbiol* 197: 1027-1032.
- Saarela, M., Mogensen, G., Fondén, R., Mättö, J., Mattila-Sandholm, T. (2000). Probiotic bacteria:

- safety, functional and technological properties. *J Biotechnol*, 84: 197–215.
- Sarao, L.K., Arora, M. (2017). Probiotics, prebiotics, and microencapsulation: A review. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 57 (2): 344-371.
- Sharma, P., Tomar, S.K., Goswami, P., Sangwan, V., Singh, R. (2014). Antibiotic resistance among commercially available probiotics. *Food Res Int*, 57: 176–195.
- Shokri, D., Khorasgani, M.R., Mohkam, M., Fatemi, S.M., Ghasemi, Y., Taheri-Kafrani, A. (2018). The Inhibition Effect of Lactobacilli Against Growth and Biofilm Formation of *Pseudomonas aeruginosa*. *Probiotics Antimicro*, 10: 34-42.
- Shortt, C. 1999. The probiotic century: Historical and current perspectives. *Trends Food Sci Tech*, 10: 411-417.
- Soleimani, N.A., Kermanshahi, R.K., Yakhchali, B., Sattari, T.N. (2010). Antagonistic activity of probiotic lactobacilli against *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis. *Afr J Microbiol Res*, 4(20): 2169-2173.
- Sömer, V.F., Akpınar, D., Kılıç, G.B. (2012). *Lactobacillus casei*'nin sağlık üzerine etkileri ve gıda endüstrisinde kullanımı, *GIDA* 37 (3): 165-172.
- Sribuathong, S., Saengprakai, J., Trevanich, S. (2014). *In Vitro* Anti-Adherent Assessment of Selected Lactic Acid Bacteria Isolates Against *Salmonella* Typhimurium and *Listeria monocytogenes* to Caco-2 Cells. *J Food Safety*, 34: 270–282.
- Taş, E., Erginkaya, Z. (2008). Bazı Probiyotik Laktik Asit Bakterilerinin *Escherichia coli* O157:H7 üzerine inhibisyon Etkisi. Türkiye 10. Gıda Kongresi, 21-23 Mayıs 2008, Erzurum, 877-880.
- Tejero-Sariñena, S., Barlow, J., Costabile, A., Gibson, G.R., Rowland, I. (2012). *In vitro* evaluation of the antimicrobial activity of a range of probiotics against pathogens: Evidence for the effects of organic acids. *Anaerobe*, 18: 530-538.
- Thammasorn, T., Jitrakorn, S., Charoonnart, P., Sirimanakul, S., Rattanarojpong, T., Chaturongakul, S., Saksmerprom, V. (2017). Probiotic bacteria (*Lactobacillus plantarum*) expressing specific double-stranded RNA and its potential for controlling shrimp viral and bacterial diseases. *Aquac Int*, 25:1679–1692.
- Tharmaraj, N. Shah, N.P. (2009). Antimicrobial effects of probiotics against selected pathogenic and spoilage bacteria in cheese-based dips. *Int Food Res J*, 16: 261-276.
- Toscana, M., De Grandi, R., Pastorelli, L., Vecchi, M., Drago, L. (2017). A consumer's guide for probiotics: 10 golden rules for a correct use. *Dig Liver Dis*, 49: 1177–1184.
- Turhan, E.U., Erginkaya, Z., Uney, M.H., Ozer, E.A. (2017). Inactivation effect of probiotic biofilms on growth of *Listeria monocytogenes*. *Kafkas Univ Vet Fak*, 23 (4): 541-546.
- Ullah, N., Wang, X., Wu, J., Guo, Y., Ge, H., Li, T., Khan, S., Li, Z., Feng, X. (2017). Purification and primary characterization of a novel bacteriocin, LiN333, from *Lactobacillus casei*, an isolate from a Chinese fermented food. *LWT - Food Sci Technol* 84: 867-875.
- Vasiljevic, T., Shah, N.P. (2008). Probiotics—From Metchnikoff to bioactives. *Int Dairy J*, 18: 714– 728.
- Wan, L.Y.M., Chen, Z.J., Shah, N.P., El-Nezami, H. (2016). Modulation of intestinal epithelial defense responses by probiotic bacteria. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 56 (16): 2628-2641.
- Wang, Y., Sun, Y., Zhang, X., Zhang, Z., Song, J., Gui, M., Li, P. (2015). Bacteriocin-producing probiotics enhance the safety and functionality of sturgeon sausage. *Food Control*, 50: 729-735.
- Woo, J., Ahn, J. (2013). Probiotic-mediated competition, exclusion and displacement in biofilm formation by food borne pathogens. *Lett Appl Microbiol*, 56: 307-313.
- Yıldırım, Y. Sarımehtemetoğlu, B. (2006). Beyaz peynir yapımında bazı probiyotik bakterilerin kullanılmasının *Listeria monocytogenes* üzerine etkisi. *J Fac Vet Med Univ Erziyes*, 3(1): 1-7.
- Zadernowska, A., Wierzchowska, W.C., Ogryzek, M.P. (2015). Growth potential of *Yersinia enterocolitica* in blue cheese and in blue cheese with

probiotic *Lactobacillus acidophilus* LA-5, *J Food Sci Technol*, 52(11): 7540–7544.

Zhang, Y., Zhang, L., Du, M., Yi, H., Guo, C., Tuo, Y., Han, X., Li, J., Zhang, L., Yang, L. (2011). Antimicrobial activity against *Shigella sonnei* and probiotic properties of wild lactobacilli from fermented food. *Microbiol Res*, 167: 27– 31.

Zhang, Y., Zhang, L., Ma, W., Yi, H., Yang, X., Du, M., Shan, Y., Han, X., Zhang, L. (2012). Screening of probiotic lactobacilli for inhibition

of *Shigella sonnei* and the macromolecules involved in inhibition. *Anaerobe*, 18: 498-503.

Zhang, Z., Tao, X., Shah, N.P., Wei, H. (2016). Antagonistics against pathogenic *Bacillus cereus* in milk fermentation by *Lactobacillus plantarum* ZDY2013 and its anti-adhesion effect on Caco-2 cells against pathogens. *J Dairy Sci*, 99: 1–9.