

PROBİYOTİKLER

PROBIOTICS

Aynur Gül KARAHAN¹ M.Lütfü ÇAKMAKÇI²

1) Tarım ve Köyşleri Bakanlığı İl Müdürlüğü, Yenimahalle-ANKARA

2) Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Dışkapı-ANKARA

ÖZET: Probiyotikler konakçı hayvanın barsaklarındaki mikrobiyel dengeyi geliştirerek olumlu yönde etkili olan yem katkılarıdır. *Salmonella* kökenli gıda zehirlenmelerinin önlenmesinde önemli etkiye sahip olan probiyotik tipleri, probiyotiklerin etki mekanizması, probiyotiklerle yapılan diğer çalışmalar, probiyotik kullanımı ve potansiyeli üzerinde durulmuştur.

SUMMARY: Probiotics are feed additives which are developed for the establishment of intestinal flora of host animals. Probiotics have very important role for the prevention of the food borne disease by *Salmonella*. In this study concentrated on different types of probiotics, detrimental effect on food borne pathogens, the use of probiotics and potentials.

GİRİŞ

Bu derleme ile probiyotik tipleri, probiyotiklerin etki mekanizması, probiyotiklerle yapılan diğer çalışmalar, probiyotik kullanımı ve potansiyeli üzerindeki çalışmalardan yararlanılarak araştırmacıların dikkatini bu alana çekmek amaçlanmıştır.

Dünya ülkelerinde son yıllarda *Salmonella*'nın sebep olduğu vakalarda gözlenen hızlı artışlar sonucu yapılan yoğun çalışmalar, *Salmonella* kontaminasyonunun ana kaynaklarından birinin kümes hayvanlarından elde edilen ürünler olduğunu göstermiştir. Bunun başlıca nedeni kümes hayvanlarının *Salmonella* enfeksiyonuna karşı eti tüketilen diğer hayvanlara nazaran daha fazla duyarlılık göstermesidir (BAILEY ve ark., 1988). Ancak *Salmonella* serotipleri kanatlılarda varlığını sürdürüp çoğalmasına rağmen nadiren klinik belirti vermektedir. Cıvcivlerde ölümlere yol açan *Salmonella pullorum* ve *Salmonella gallinarum* dışındaki konakçıya adapte olmamış serotipler, tanısı konmuş kümes hayvanı hastalıklarının % 10'undan daha azını oluşturmaktadır (STAVRIC, 1987). Konakçıya adapte olmamış *Salmonella* serotipleri kanatlıların körbarsaklarında koloni meydana getirmekte ve daha sonra iç organlara dağılmaktadır (GAST ve BEARD, 1990).

Deneysel olarak 10^4 - 10^6 *Salmonella enteritidis* hücresiyle infekte edilen tavukların iç organlarının yanı sıra yumurtalarının da kontamine olduğunu saptanması (GAST, 1993) gıda zehirlenmelerinde tavuk eti kadar yumurtanın da etken olduğunu göstermiştir. Bu nedenle farklı sıcaklık derecelerinde depolanan yumurtalarda *Salmonella* varlığı araştırılmış ve yumurta sarısında 1 cfu/g (koloni oluşturan birim/g) düzeyinde bulunan *S. enteritidis*'in, yumurtaların ticari koşullarda depolandığı 15.5°C'de 12 saat içinde 10^7 cfu/g düzeyine ulaştığı saptanmıştır (HUMPREY ve ark., 1991; GAST ve BEARD, 1993; HAMMACK, 1993). A.B.D'nde piyasada satışa sunulan tavuk etlerinin % 61'inde (STAVRIC, 1987), pastörize edilmemiş likit yumurtaların ise % 20'sinde *Salmonella* varlığına rastlandığı da elde edilen bulgulardandır (EBEL ve ark., 1993).

Bu değerlerin yüksekliği kanatlılarda *Salmonella* salgınlarının kontrolü için etkin önlemlerin alınmasını zorunlu hale getirmektedir. Ancak *Salmonella*'nın insanlarda patojenik etki yapmasına rağmen kanatlılarda kommensal şekilde bulunması, bağışıklık oluşmasını ve *Salmonella*'nın enfeksiyonlarını kontrol altına almak amacıyla antibiyotiklerin kullanılması da olumlu sonuç vermemektedir. 1950'lerden beri antibiyotiklerin çiftlik hayvanlarında tedavi edici ve gelişimi teşvik edici olarak yaygın şekilde kullanılması dirençli bakteri popülasyonlarının artmasına neden olmuştur. Önceleri tek bir antibiyotige dirençli popülasyonlar çoğalırken, daha sonraları birkaç antibiyotige birden direnç gösteren formlar meydana gelmiştir (LEVY, 1987). Cıvciv körbarsaklarından izole edilen ve tanımlanan toplam 40 adet *Lactobacillus acidophilus*, *L. agilis*, *L. animalis*, *L. brevis*, *L. coryniformis* subsp. *torquens*, *L. fermentum* ve *L. plantarum* suşunun 20 çeşit antibiyotige karşı duyarlılıkları incelenmiştir. Suşların tamamının amoksisilin, ampisilin ve karbenisiline, büyük kısmının ise penisilin, kloramfenikol, eritromisin, novobiosin, rifampisin ve tetrasikline

duyarlı olduğu belirlenmiştir. Buna karşılık tüm suşlarda polimiksin B ye direnç saptanırken basitrasın, gentamisin, kanamisin, nistatin, spektinomisin ve streptomisine karşı direnç saptanırken basitrasın, gentamisin, kanamisin, nistatin, spektinomisin ve streptomisine karşı direnç gösteren suşların oranı % 75-92.5 arasında değişmektedir (KARAHAN ve ÇAKMAKÇI, 1995). Antibiyotik kullanımıyla doğal florada gelişen direnç özelliği dikkate alındığında patojenler açısından riskin ne kadar büyük olduğu anlaşılmaktadır. Antibiyotik kullanımı, aşırı temizlik, stres, gibi çevresel faktörler ve modern yetiştirme yöntemleri normal barsak florasının oluşumuna zararlı etki yapmaktadır. Doğal şartlarda yavru ve anne bir arada bulunduğundan karakteristik flora hızla kazanılmaktadır. Cıvcivlerde yumurtadan çıkıştan hemen sonra normal barsak florasının hızla gelişmesi enteropatojenlere karşı direnci artırarak enfeksiyonları önlemektedir. Ancak yumurtadan çıkışın kuluçka makinelerinde gerçekleşmesi doğal barsak florasının oluşumunu önlemektedir.

Bu nedenle cıvciv başına 10 *Salmonella typhimurium* hücresi bir günlük cıvcivlerin % 50'den fazlasını infekte etmektedir. Ancak barsak florasının geliştiği 14 günlük tavukların % 90'ı bir milyon hücrelik doza direnç göstermektedir (STAVRIC, 1987).

Aşı ve antibiyotikler yoluyla *Salmonella* enfeksiyonlarını kontrol altına almak güç olduğundan, cıvcivlere koruyucu barsak florasını kısa sürede kazandırmak amacıyla, *Salmonella* taşımayan erginlerin barsak florasından seçilerek hazırlanan kültürlerin kullanılması yaygınlaşmaktadır. Bu kültürlere probiyotik adı verilmekte ve "konakçı hayvanın barsaklarındaki mikrobiyel dengeyi geliştirerek olumlu yönde etkili olan yem katkıları" şeklinde tanımlanmaktadır. Probiyotiklerin ticari preparatları çeşitli şekillerde bulunmaktadır. Sıvı süspansiyonlar halinde tüketime sunulabildiği gibi kapsül, toz ya da granül halinde de üretilmektedir (FULLER, 1989).

ÇEŞİTLİ PROBİYOTİKLER

Probiyotiklerin kullanılmasına 1970'lerde başlanmıştır. Önceleri *Salmonella* taşımayan erginlerin barsak materyalinden hazırlanan süspansiyonlar probiyotik olarak kullanılmıştır. Ancak bu kültürler tanımlanmamış olduklarından patojen içerme olasılıklarının yüksek olması, etkenliklerinin farklılık göstermesi ve etkenliklerini laboratuvar koşullarında kısa sürede yitirmeleri tanımlanmış kültürlerin oluşturulmasını zorunluluk haline getirmiştir.

Bu amaçla *Salmonella* taşımayan kanatlıların barsak sistemlerindeki bakterilerin izolasyonu ve tanımlanması gerçekleştirildikten sonra *in vitro* koşullarda patojenlere karşı etkileri incelenmiştir.

Domuz yavrularının barsak sistemlerinden izole edilen *Lactobacillus reuteri* ve *Streptococcus faecalis* sp. *faecalis*'in *in vitro* koşullarda enteropatojenik *Escherichia coli*'yi inhibe ettiği bulunmuştur (BOICHEVA ve CHOMAKOV, 1988; CHOMAKOV ve BOICHEVA, 1988). Ergin tavukların körbarsaklarından izole edilen anaerobik Gram pozitif koklar ise *Salmonella typhimurium* ve *E. coli*'yi laktozlu besiyerinde inhibe etmiştir (HINTON ve ark., 1992). Ancak *in vitro* koşullarda elde edilen bakterilerin cıvcivlere uygulanması ile her zaman başarılı sonuç alınamamıştır. *Bacillus*, *Enterococcus*, *Lactobacillus* türleri kullanılarak hazırlanan probiyotikler, körbarsaktaki *Salmonella* popülasyonunu azaltmadığı gibi, *Bacillus* türlerini içerenler *Salmonella* miktarını artırıcı etki yapmıştır (HINTON ve MEAD, 1991). *Lactobacillus acidophilus* ve *Bifidobacterium bifidum* ya da diğer bifidobakteriyel suşları içeren ticari probiyotik preparatları da olumlu sonuç vermemiştir (STAVRIC ve ark., 1992). Besleyici değeri yanında yapısında bulunan bakteriler yoluyla barsak florasını düzenleyerek barsak hastalıklarını önlediği (GOODENOUGH ve SPECK, 1976; SPECK, 1977) belirlenen yoğurt da probiyotik olarak kullanılmıştır. Ancak farelerin yoğurtla beslenmesi sonucunda barsakta doğal olarak bulunan laktik asit bakterilerinin sayısı azalmış, koliform sayısı ise artmıştır (GARVIE ve ark., 1984). *L. acidophilus* ve *Bifidobacterium* türleri kullanılarak fermente edilen yoğurtlar cıvcivlerde *Salmonella* miktarını azaltmamıştır (STAVRIC ve ark., 1992).

Escherichia, *Streptococcus*, *Bacteroides*, *Bacillus*, *FUSobacterium*, *Lactobacillus*, *Eubacterium*, *Propionibacterium*, *Clostridium* ve *Bifidobacterium* türleri kullanılarak hazırlanan çok suşlu kültürler ise ümit verici bulunmuştur. Bu tür kültürlerin tanımlanmış olmaları, insan ve hayvanlar için patojenik özellik taşıyan kontaminantları içermemeleri, insanlarda gıda zehirlenmelerine neden olan *Salmonella*, *Campylobacter* ve *E.coli* enfeksiyonlarına karşı çiftlik hayvanlarını koruyucu etki yapmaları, gelişimi teşvik etmeleri, kolay

taşınabilen, depolanabilen ve uygulanabilen formlarda bulunmaları en önemli özelliklerdendir (STAVRIC, 1987; TANNOCK, 1988).

PROBİYOTİKLERİN ETKİ MEKANİZMASI

Probiyotikler infeksiyonları çeşitli etki mekanizmaları yoluyla kontrol altına almaktadır. Bu mekanizmalardan en etkili olanı; enteropatojenlerin konakçının barsak sisteminde koloni oluşturmalarını önlemek amacıyla barsak epitel yüzeyindeki tutunma bölgeleri için rekabet oluşturulmasıdır.

Koruyucu floranın tavuk ve domuzların barsak duvarına tutunduğu bilinmektedir (STAVRIC ve ark., 1987; PEDERSEN ve TANNOCK, 1989). Tavuklarda körbarsağın tamponlanmış tuzlu su ile 4 kez yıkanmasından sonra bile koruyucu flora körbarsak duvarına bağlı kalmaktadır ve bu floradan hazırlanan kültürler civcivlere verildikten 6-8 saat sonra infeksiyonlara karşı tam bir korunma sağlamaktadır (STAVRIC ve ark., 1987).

Enteropatojenlerle aynı niçede yaşayabilen ve böylece enteropatojenlerin koloni oluşumuna önleyen *Salmonella* benzeri bakterilerin kullanılması da olumlu sonuç vermektedir.

Barrow ve Tucker (1986) kanalizasyondan ve mezbahadan izole ettikleri 3 adet *E.coli* suşunu civcivlere vererek bu suşların farklı koşullarda çeşitli *Salmonella* türlerine karşı koruyucu etkilerini incelemişlerdir. Bu 3 suşun karışımı civcivlerin barsak epitel yüzeyine tutunarak *S. typhimurium*'a karşı korunma sağlamış, ancak aynı etkiyi diğer *Salmonella* türlerine karşı göstermemiştir. *S.typhimurium*'un avirulent bir suşu kullanılarak yapılan başka bir çalışmada ise aynı mekanizmayla virulent *S. typhimurium*'a karşı etkili bir korunma sağlanmıştır (BARROW ve ark., 1987). Ancak bu tür bakterilerin virulent tipe geri dönüşünün mümkün olması ticari uygulamalardan kaçınılmasına neden olmaktadır (FULLER, 1989).

Barsak epiteline tutunarak enteropatojenlerin koloni oluşturmalarını önleyen probiyotikler, ayrıca antagonistik etki yapmakta, besin elementleri için rekabet ortamı oluşturmakta ve bağışıklığı teşvik etmektedir.

Salmonella infeksiyonundan 3 gün sonra civcivlere verilen probiyotiklerin *Slamonella* sayısında önemli ölçüde azalmaya neden oldukları saptanmıştır. Bu durum tutunma bölgeleri için meydana gelen rekabetle birlikte, üretilen metabolitlerin antagonistik etkilerine bağlanmıştır (ZIPRIN ve ark., 1993).

Doğal barsak florasını oluşturan bakteri cinsleri propiyonik, asetik, bütirik ve laktik asit gibi antibakteriyel etkiye sahip organik asitleri üretmektedir. Civcivler için önemli kontaminasyon kaynaklarından biri olan yemlerde (HINTON, 1986), söz konusu organik asitlerin ticari preparatları kullanılarak *Salmonella* sayısı önemli ölçüde azaltılabilmektedir (LARSEN ve ark., 1993).

Çözünmeyen formdaki yağ asitleri (propiyonik, asetik ve bütirik asit) hücre duvarını kolayca geçerek, bakteriye penetre olmakta ve hücre içinde çözünür forma dönüşerek hücreyi öldürmektedir. *In vivo* koşullarda yapılan çeşitli çalışmalarda pH, kısa zincirli uçucu yağ asitleri ve düşük Eh arasındaki ilişkinin barsakta *Salmonella* infeksiyonuna direnci artırmada etki olduğu saptanmıştır. Probiyotik verilen civcivlerin laktozla beslenmesi sonucunda körbarsakta laktik asit konsantrasyonu önemli ölçüde artmaktadır. Bu artışla, körbarsak pH'sındaki azalma ve bazı uçucu yağ asitlerinin çözünmeyen formlarının artması arasında direkt bir korelasyon bulunmaktadır (ZIPRIN ve ark., 1993; CORRIER ve ark., 1990; CORRIER ve ark., 1993; NISBET ve ark., 1993). Aynı zamanda körbarsaktaki propiyonik, bütirik, asetik ve laktik asit konsantrasyonlarındaki artışlar körbarsak mukozasında önemli değişikliklere yol açarak *S. enteritidis*'in organlara dağılımına karşı direnci de artırmaktadır (TELLEZ ve ark., 1993).

Probiyotiklerin besin elementleri için yarattıkları rekabet yoluyla *Salmonella* infeksiyonlarına engel oldukları şeklinde bilgiler de bulunmaktadır. Örneğin; barsakta bulunan anaeroblar *in vitro* koşullarda arjinin, serin, treonin ve aspartik asit için giriştikleri rekabet sonucunda *S. typhimurium*'un gelişimini engelleyebilmektedirler. Probiyotiklerin yapısında bulunan bazı anaeroblar diğer anaerobların ürettiği fermantatif son ürün laktik asiti kullanarak propiyonik asit oluşturmakta ve enteropatojenlere karşı avantaj kazanmaktadır (NISBET ve ark., 1993).

Tüm bunlara ilaveten barsak florası tam olan hayvanlar, diğerlerine göre daha fazla fagostik aktivite ve immünoglobülin düzeyine sahiptir. Barsak florasında bulunan laktobasiller ve *Enterococcus faecium*'un barsaktan dolaşım sistemine geçerek fagostik aktiviteyi teşvik ettiği ve antikor düzeylerini artırdığı

saptanmıştır. Özellikle laktobasiller dalak, karaciğer ve akciğerde uzun süre canlı kalabilmekte ve böylece *Salmonella* türlerinin sayısını azaltmaktadır (FULLER, 1989).

PROBİYOTİKLERLE YAPILAN DİĞER ÇALIŞMALAR

Yapılan çeşitli araştırmalarda, *Salmonella*'nın kanatlıların körbarsaklarında koloni oluşturmasını önlemek amacıyla tanımlanmış ve tanımlanmamış barsak kültürleri kullanılmıştır.

BLANCHFIELD ve ark. (1984) 10^{-7} düzeyindeki barsak materyalinin anaerobik koşullarda sıvı besiyerinde üretilmesi ile elde ettikleri tanımlanmamış kültürlerin körbarsaktaki *Salmonella* sayısını önemli ölçüde azalttığını saptamışlardır. Bu amaçla civcivlere önce tanımlanmamış kültür verilmiş, daha sonra *Salmonella* enfekte edilmiştir. Enfeksiyondan 7 gün sonra körbarsaktaki *Salmonella* sayısı kullanılan probiyotiklerin etkisi ile belirgin şekilde azalmıştır. Ancak tanımlanmamış kültürlerin dezavantajları, çalışmaların tanımlanmış kültürlerin kullanımı yönünde gerçekleştirilmesine neden olmuştur.

BLANKENSHIP ve ark. (1993)'ün yaptığı çalışmada ise kontrol kümeslerinde % 41 düzeyinde *Salmonella* varlığına rastlanırken, probiyotik verilenlerde bu oran % 10'a kadar düşmüştür.

Probiyotikler *Salmonella* enfeksiyonlarını önlemelerinin yanı sıra gıda zehirlenmesine neden olan *Campylobacter fetus* subsp. *jejuni* enfeksiyonlarına karşı da etkili olmaktadır. Tavuklarda 56 günlük besleme periyodunda *C. fetus* subsp. *jejuni* enfeksiyonu kontrol gruplarında % 100'e ulaşırken, probiyotik kullanılanlarda % 4 düzeyinde kalmıştır (SOERJADI-LIEM ve ark., 1984).

Tanımlanmış kültürlerin kullanımı sırasında karşılaşılan en önemli problem, tekrarlanan pasajlar sonucunda meydana gelen etkenlik kayıplarıdır.

Salmonella içermeyen erginlerin barsak florasından izole edilen 28 organizmanın soğukta depolanması sırasında önemli ölçüde etkenlik kaybına uğradığı saptanmıştır (GLEESON ve ark., 1989). Etkenlik kaybının önlenmek amacıyla yapılan diğer bir uygulama ise kültürlerin pasajlarının *in vivo* koşullarda yapılmasıdır (ZIPRIN ve DELOACH, 1993).

Doğal körbarsak bakterilerinden izole edilen tanımlanmış kültürler de *S. typhimurium*'a karşı etkenliklerini uzun müddet korumuşlardır. 3 günlük civcivlere 10^4 cfu/g düzeyinde *S. typhimurium* verilmesi ve sürekli kültürlerin laktozla birlikte kullanılması sonucunda *Salmonella*'nın koloni oluşturabildiği civciv sayısının önemli ölçüde azaldığı saptanmıştır (CORRIER ve ark., 1993).

PROBİYOTİKLERİN KULLANIMI VE GELECEĞİ

Antibiyotiklerin tedavi edici ve kümes hayvanlarında gelişimi teşvik edici olarak yaygın şekilde kullanılması birden çok antibiyotiğe dirençli bakteri popülasyonlarının yaygınlaşmasını teşvik etmekte, tedavinin kesilmesinden sonra doğal barsak florası üzerindeki etkileri devam etmekte ve dokularda birikerek kesimden sonra tüketici sağlığını olumsuz yönde etkilemektedir. Son yıllarda katkı maddelerinin yarattığı olumsuz etkiler nedeniyle, katkı maddelerine karşı tüketici tepkilerinin artmasının yanı sıra kanatlı ürünlerinden kaynaklanan *Salmonella* zehirlenmeleri antibiyotiklerin kullanımına alternatif aranmasını ve probiyotik kullanımının yaygınlaşmasını teşvik etmiştir (FULLER, 1989).

Laboratuvar koşullarında elde edilen olumlu sonuçlar ticari probiyotik üretimi ve kullanımına hızla geçilmesini sağlamıştır.

İsveç'te tanımlanmamış kültürler 1981'den beri *Salmonella*'ya karşı koruyucu olarak başarı ile kullanılmaktadır. Uygulama görmüş kümeslerin sadece ikisinden *Salmonella* izole edilmiştir.

Hollanda'da yapılan kontrollü bir saha denemesinde ise civcivlerin yaklaşık yarısı yumurtadan çıktıktan sonra kuluçka makinesinde probiyotik spreylenmesi şeklinde yapılan uygulama etkili olmuştur. Kesilmiş tavukların körbarsaklarındaki *Salmonella* kontaminasyonu uygulama yapılmamışlara göre 4 kez daha az bulunmuştur.

Kanada'da yapılan saha denemelerinde ise doğal *Salmonella* enfeksiyonlarına karşı civcivler korunamamıştır (STRAVRIC, 1987).

A.B.D'nde ise *Salmonella* ve *Campylobacter* gibi insanlar için enteropatojen olan bakterilerin tavukların barsak sisteminde koloni oluşturmasını önleyen teknoloji geliştirilmiştir. Tavukların işlem göreceği

merkezlere *Salmonella* ve *Campylobacter*'den ari olarak gönderilmesi, bu patojenlerin tavukları kontamine etme düzey ve sayısında önemli bir azalma meydana getirebilmektedir (BAILEY, 1993).

Probiyotik kullanılan üç ticari kümeste 3 ve 7. haftada çevreden, kümeden, hayvanların derisinden ve kesimden sonra körbarsak ve karkas yıkama suyundan alınan örneklerde *Salmonella* varlığı araştırılmıştır. 3. haftada saman, deri ve körbarsak örneklerinin kontaminasyonunda kontrol örneklerine kıyasla önemli ölçüde azalma saptanmıştır. Körbarsak ve karkas yıkama suyunda kontrol kümeslerinde % 41 olan *Salmonella* varlığı işlem görmüş kümeslerde % 10'a düşmüştür. Bu çalışma ile probiyotik kültürlerinin ticari şartlarda tavuklara uygulanmasının *Salmonella* kontaminasyonunun azaltılmasında yararlı bir araç olarak görev yapabileceği görülmüştür.

İsveç'te 5 yıllık bir periyotta ergin tavukların barsaklarından elde edilen bakteriyel flora *Salmonella* infeksiyonunu engellemek için 144 kez 2.86 milyon tavuğa verilmiştir. Bir yem fabrikasından *Salmonella* kontaminasyonunun olduğu dönemde probiyotik kullanımının infeksiyonları önlediği saptanmıştır (WIERUP ve WOLD-TROELL, 1988).

KAYNAKLAR

- BAILEY, J.S., J.Y. CHIU, N.A. COX, R.W. JOHNSTON, 1988. Improved selective procedure for detection of *Salmonellae* from poultry and sausage products. J. Food Prot. 51(5): 391-396.
- BAILEY, J.S. 1993. Control of *Salmonella* and *Campylobacter* in poultry production. A summary of work at Russel Research Center. Poultry Sci. 72: 1169-1173.
- BARROW, P.A., J.F. TUCKER, 1986. Inhibition of colonization of chicken cecum with *Salmonella typhimurium* by pretreatment with strains of *E. coli* J. Hyg. Camb. 96: 161-169.
- BARROW, P.A., J.F. TUCKER, J.M. SIMPSON. 1987. Inhibition of colonization of the chicken alimentary tract with salmonella typhimurium gram-negative facultatively anaerobic bacteria. Epidem. Inf. 98: 311-322.
- BLANCHFIELD, B., S. STAVRIC, T. GLEESON, H. PIVNICK, 1984. Minimum intestinal inoculum for nurmi cultures and a new method for determining competitive exclusion of *Salmonella* from chicks. J. Food Prot. 47(7): 542-545.
- BLANKENSHIP, L.C., J.S. BAILEY, N.A. COX, N.J. STERN, R. BREWER, O. WILLIAMS, 1993. Two-step mucosal competitive exclusion flora treatment to diminish *Salmonellae* in commercial broiler chickens. Poultry Sci. 72: 1667-1672.
- BOICHEVA, S., H. CHOMAKOV, 1988. A study of inhibitory activity of *Str. faecalis* ssp. *faecalis* on enteropathogene *E.coli*. Animal Sci. 25(4): 77-79.
- CHOMAKOV, H., S. BOICHEVA, 1988. A study of *L. reuteri* and its inhibitory activity towards enteropathogene *E.coli*, Animal Sci. 25(5): 83-86.
- CORRIER, D.E. a. HINTON, R.L. ZIPRIN, R.C. BEIER, J.R. DELOACH, 1990. Effect of dietary lactose on cecal pH, bacteriostatic volatile fatty acids, and *Salmonella typhimurium* colonization of broiler chicks. Avian Dis. 34: 617-625.
- CORRIER, D.E., D.J. NISBET, A.G. HOLUSTER, C.M. SCANLAN, B.M. HARGIS, J.R. DELOACH, 1993. Development of defined cultures of indigenous cecal bacteria to control salmonellosis in broiler chicks. Poultry Sci. 72: 1164-1168.
- EBEL, E.D., J.MASON, L.A. THOMAS, K.E. FERRIS, M.G. BECKMAN, D.R. CUMMINS, L. SCROEDER-TUCKER, W.D. SUTHERLIN, R.L. GLASSHOFF, N.M. SMITHHISTER, 1993. Occurrence of *Salmonella enteritidis* in unpasteurized liqued egg in the United States. Avian Dis. 37: 135-142.
- FULLER, R. 1989. Probiotics in man and animals. J. Appl. Bacteriol. 66: 365-378.
- GARVIE, E.I., C.B. COLE, R. FULLER, D. HEWITT, 1984. The effect of yoghurt on some components of the gut microflora and on the metabolism of lactose in the rat. J. Appl. Bacteriol. 56: 237-245.
- GAST, R.K., C.W. BEARD, 1990. Serological detection of experimental *Salmonella enteritidis* infection in laying hens. Avian Dis. 34: 721-728.
- GAST, R.K. 1993. Detection of *Salmonella enteritidis* in experimentally infected laying hens by culturing pools of egg contents. Poultry Sci. 72: 267-274.
- GAST, R.K., C.W. BEARD, 1993. Research to understand and control *Salmonella enteritidis* in chickens and eggs. Poultry Sci. 72: 1157-1163.
- GLEESON, T.M., S. STAVRIC, B. BLANCHFIELD, 1989. Protection of chicks against *Salmonella* infection with a mixture of pure cultures of intestinal bacteria. Avian dis. 33: 636-642.
- GOODENOUGH, E.R., D.H. KLEYN, 1976. Influence of viable yoghurt microflora on digestion of lactose by the rat. J. Dairy Sci. 59: 601-606.
- HAMMACK, T.S., P.S. SHERROD, V.R. BRUCE, G.A. JUNE, F.B. SATCHELL, W.H. ANDREWS. 1993. Research note: growth of *Salmonelle enteritidis* in Grade A eggs during prolonged storage. Poultry Sci. 72: 373-377.
- HINTON, M. 1986. The artificial contamination of poultry feed with *Salmonella* and its infectivity for young chickens. L. Appl. Microbiol. 3: 97-99.
- HINTON, M., G.C. MEAD, 1991. *Salmonella* control in poultry: the need for the satisfactory evaluation of probiotics for this purpose. L. Appl. Microbiol. 13: 49-50.

- HINTON, A., D.E. CORRIER, J.R. DELOACH, 1992. In vitro inhibition of *Salmonella typhimurium* and *E.coli* 0157: H7 by an anaerobic gram positive coccus isolated from the cecal contents of adult chickens. J. Food Prot. 55(3): 162-166.
- HUMPREY, J.T., A. WHITEHEAD, A.H.L. GAWLER, A. HENLEY, B. ROWE, 1991. Numbers of *Salmonella enteritidis* in the contents of naturally contaminated hens' eggs. Epidemiol. Infect. 106: 489-496.
- KARAHAN, A.G., M.L. ÇAKMAKÇI, 1995. Cırciv körbarsağından izole edilen bazı laktobasil suşlarının çeşitli antibiyotiklere dirençleri. Tarım Bilimleri Dergisi 1(1): 27-30.
- LARSEN, G.J., A.ROLOW, C.E. NELSON, 1993. Research note: the effect of organic acids on *Salmonella* contamination originating from mouse fecal pellets. Poultry Sci. 72: 1797-1799.
- LEVY, B.S., 1987. Antibiotic use for growth promotion in animals: ecologic and public health consequences. J. Food Prot. 50(7): 616-620.
- NISBET, D.J., D.E. CORRIER, J.R.DELOACH, 1993. Effect of mixed cecal microflora maintained in continuous culture and of dietary lactose on *Salmonella typhimurium* colonization in broiler chicks. Avian Dis. 37: 528-535.
- PEDERSEN, K., G.W. TANNOCK, 1989. Colonization of the porcine gastrointestinal tract by lactobacilli. Appl. Environ. Microbiol. 55(2): 279-283.
- SHIVAPRASAD, H.L., J.F. TIMONEY, S. MORALES, B. LUCIO, R.C. BAKER, 1990. Pathogenesis of *Salmonella enteritidis* infection in laying chickens. I. Studies on egg transmission, clinical signs, fecal shedding, and serological responses. Avian Dis. 34: 548-557.
- SOERJADI-LIEM, A.S., G.H. SNOEYENBOS, O.M. WEINACK, 1984. Comparative studies on competitive exclusion of three isolates of *Campylobacter fetus* subsp. *jejuni* in chickens by native gut microflora. Avian dis. 28(1): 139-146.
- SPECK, M.L. 1977. Heated yoghurt-is it still yoghurt? J. Food Prot. 40: 863-865.
- STAVRIC, S. 1987. Microbial colonization control of chicken intestine using defined cultures. Food Technol. 41(7): 93-98.
- STAVRIC, S., T.M. GLEESON, B. BLANCHFIELD, H. PIVNICK, 1987. Role of adhering microflora in competitive exclusion of *Salmonella* control in poultry. L. Appl. Microbiol. 14: 69-71.
- STAVRIC, S., T.M. GLEESON, B. BLANCHFIELD. 1992. Experience of the use of probiotics for salmonella control in poultry. L. Appl. Microbiol. 14: 69-71
- TANNOCK, G.W. 1988. Mini review: molecular genetics: a new tool for investigating the microbial ecology of the gastrointestinal tract. Microbial Ecology 15: 239-256.
- TELLEZ, G., C.E. DEAN, D.E. CORRIER, J.R. DELOACH, L. JAEGER, B.M. HARGIS, 1993. Effect of dietary lactose on cecal morphology, pH, organic acids, and *Salmonella enteritidis* organ invasion in leghorn chicks. Poultry Sci. 72: 636-642.
- WIERUP, M., M. WORLD-TROELL, 1988. Epidemiological evaluation of the *Salmonella* controlling effect of a nationwide use of a competitive exclusion culture in poultry. Poultry Sci. 67: 1026-1033.
- ZIPRIN, R.L., D.E. CORRIER, J.R. DELOACH, 1993. Control of established *Salmonella typhimurium* intestinal colonization with in vivo passaged anaerobes. Avian Dis. 37: 183-188.
- ZIPRIN, R.L., J.R. DELOACH, 1993. Comparison of probiotics maintained by in vivo passage through laying hens and broilers. Poultry Sci. 72: 628-635.