

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

PELİN GÜZELSOY KARA

DOKTORA TEZİ

2025-ANTALYA

PROBİYOTİKLERDEN İZOLE EDİLEN
LAKTOBASİLLERİN ANTİBİYOTİK DİRENCİNİN
ARAŞTIRILMASI

PELİN GÜZELSOY KARA

DOKTORA TEZİ

2025-ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

PROBİYOTİKLERDEN İZOLE EDİLEN
LAKTOBASİLLERİN ANTİBİYOTİK DİRENCİNİN
ARAŞTIRILMASI

PELİN GÜZELSOY KARA

DOKTORA TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Ahmet Yılmaz ÇOBAN

Bu tez Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından TDK-2024-6540 proje numarası ile desteklenmiştir.

“Kaynakça gösterilerek tezinden yararlanılabilir”

2025-ANTALYA

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne;

Bu çalışma jürimiz tarafından Tıbbi Biyoteknoloji Anabilim Dalı Tıbbi Biyoteknoloji
Doktora Programında doktora tezi olarak kabul edilmiştir. .../...../.....

İmza

Tez Danışmanı :
Prof. Dr. Ahmet Yılmaz ÇOBAN
Akdeniz Üniversitesi

Üye :
Prof. Dr. Bülent BOZDOĞAN
Aydın Adnan Menderes Üniversitesi

Üye :
Prof. Dr. Derya MUTLU
Akdeniz Üniversitesi

Üye :
Prof. Dr. Ece ŞİMŞEK
Akdeniz Üniversitesi

Üye :
Dr. Öğr. Üyesi Bora EKİNCİ
Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun
görölmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu'nun/...../..... tarih ve
...../..... sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

Enstitü Müdürü

ETİK BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı beyan ederim.

PELİN GÜZELSOY KARA

İmza

Prof. Dr. Ahmet Yılmaz ÇOBAN

İmza

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam süresince bilgi, deneyim ve desteğiyle her zaman yanımda olan, yol gösterici tutumuyla çalışmalarımı yönlendiren değerli danışmanım Prof. Dr. Ahmet Yılmaz Çoban'na en içten teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca, akademik süreç boyunca bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan, tezime katkıda bulunan Prof. Dr. Ece Şimşek ve Dr. Kübra Yıldırım hocalarıma ve Tıbbi Biyoteknoloji programında birlikte çalıştığım arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Araştırmam sırasında veriye ulaşmamda ve teknik konularda destek sağlayan başta kıymetli hocam Prof. Dr. Bülent Bozdoğan ve Adnan Menderes Üniversitesi Rekombinant DNA ve Rekombinant Protein Uygulama ve Araştırma Merkezi ve öğrencilerine, tez izleme komitelerinde destek ve önerileri için hocam Prof. Dr. Derya Mutlu'ya teşekkür ederim.

Eğitim hayatım boyunca her zaman yanımda olan, sabır ve sevgileriyle beni destekleyen aileme ve anlayışı ve sevgisiyle bu süreçte bana destek olan sevgili eşim Hüseyin'e sonsuz teşekkür ederim.

Son olarak, bu süreçte moral ve motivasyon açısından bana destek olan tüm eczane ekip arkadaşlarıma teşekkür ederim.

ÖZET

Amaç: Probiyotik mikroorganizmaların önemli bir grubu olan laktobasillerde antibiyotik direncine yönelik mevcut ve potansiyel riskleri değerlendirmeyi amaçlamaktadır. Özellikle, probiyotik olarak kullanılan suşların antibiyotik direnç genlerinin varlığı, bu genlerin taşınabilirliği ve bu genleri diğer bakterilere aktarabilme potansiyeli incelenmiştir.

Yöntem: 11 farklı probiyotik üründen izole edilen laktobasillus türleri antibiyotik duyarlılıkları açısından incelenmiş; izolatlar MALDI-TOF MS ile tanımlanmış, disk difüzyon ve E-test yöntemleriyle antibiyotik direnci değerlendirilmiştir. Ayrıca, direnç genleri PCR ile araştırılmış ve antibiyotik inaktivasyon kapasiteleri test edilmiştir.

Bulgular: Laktobasillus suşlarının %100'ü streptomisine dirençli iken; ampisilin, sefazolin, tetrasiklin, rifampin ve kloramfenikole %100 duyarlı bulunmuştur. *aac(6')-Ie-aph(2'')-Ia*, *rmtB*, *linA* ve *linB* direnç genleri tespit edilmiştir, ancak genlerin konjugasyon ve transformasyon yoluyla transferi gözlenmemiştir. Bir örnekte plazmit tespit edilip sekans analizi yapılmıştır ve bu plazmitte direnç geni bulunamamıştır.

Sonuç: Çalışmamız, antibiyotik direncinin laktobasillus suşlarında yaygın olduğu görülmüştür. Ancak, bu konuda çalışmaların sınırlı olmasından dolayı daha fazla araştırma yapılmasına ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: laktobasil, antibiyotik, direnç, aktarım

ABSTRACT

Objective: This study aims to evaluate the current and potential risks associated with antibiotic resistance in lactobacilli, an important group of probiotic microorganisms. In particular, it investigates the presence of antibiotic resistance genes in strains used as probiotics, the transferability of these genes, and their potential to be transmitted to other bacteria.

Methods: Lactobacillus species isolated from 11 different probiotic products were examined for their antibiotic susceptibility. The isolates were identified using MALDI-TOF MS, and their antibiotic resistance profiles were evaluated using disk diffusion and E-test methods. Additionally, resistance genes were investigated via PCR, and their antibiotic inactivation capacities were tested.

Results: All Lactobacillus strains were found to be resistant to streptomycin, while they were 100% susceptible to ampicillin, cefazolin, tetracycline, rifampin, and chloramphenicol. The resistance genes *aac(6')-Ie-aph(2'')*-Ia, *rmtB*, *linA*, and *linB* were detected. However, no gene transfer was observed through conjugation or transformation. A plasmid was detected in one sample, sequenced, and found not to contain any resistance genes.

Conclusion: Our study indicates that antibiotic resistance is prevalent among Lactobacillus strains. However, due to the limited number of studies on this topic, further research is needed to better understand the risks and mechanisms involved.

Keywords: Lactobacillus, antibiotic, resistance, transfer

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER	iii
TABLolar DİZİNİ	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
SİMGELER ve KISALTMALAR	vii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Probiyotiklerin Tanımı	3
2.2. Probiyotik Kültür Olarak Kullanılan Mikroorganizmalar	3
2.3 Probiyotik Mikroorganizmaların Seçim Kriterleri	4
2.4 Probiyotik Gıdaların İnsan Sağlığı Üzerine Etkisi	5
2.4.1. Probiyotikler ve Gastorintestinal Sistem Üzerine Etkileri	6
2.4.2. Probiyotikler ve Metabolik Hastalıklar Üzerine Etkisi	8
2.4.3. Probiyotikler ve Alerji Üzerine Etkisi	9
2.4.4. Probiyotikler ve Ürogenital Sistem Üzerine Etkileri	10
2.4.5. Probiyotikler ve Mental Sağlık Üzerine Etkisi	12
2.4.6. Probiyotikler ve Kanser Üzerine Etkisi	13
2.5. Antibiyotikler	13
2.5.1. Kanamisin	14
2.5.2. Ampisilin	14
2.5.3. Gentamisin	14
2.5.4. Klindamisin	14
2.5.5. Sefazolin	15
2.5.6. Sefoksitin	15
2.5.7. Siprofloksasin	15
2.5.8. Vankomisin	16
2.5.9. Tetrasiklin	16
2.5.10. Rifampin	17
2.5.11. Eritromisin	17
2.5.12. Penisilin G	17
2.5.13. Kloramfenikol	17
2.5.14. Streptomisin	18
2.5.15. Meropenem	18
2.6. Antibiyotik Direnci	18
2.7. Probiyotiklerde Antibiyotik Dirençliliği	21
2.7.1. Glikopeptidlere Direnci	21
2.7.2. Tetrasiklin Direnci	22
2.7.3. Beta-laktam Direnci	22
2.7.4. Makrolid Direnci	23
2.7.5. Kinolon Direnci	23

2.7.6. Aminoglikozit Direnci	23
3. GEREÇ ve YÖNTEM	
3.1. Gereç	25
3.1.1. Gıda Takviyeleri	25
3.1.2. Referans Bakteriler	25
3.1.3.Çalışmada Kullanılan Besiyerleri ve Kimyasallar	26
3.1.4.Çalışmada Kullanılan Antibiyotikler	26
3.1.5. Stok Kültürlerin Hazırlanması	26
3.2. Yöntem	27
3.2.1.Örneklerin Analize Hazırlanması	27
3.2.2. Laktobasillus Türlerinin MALDI-TOF MS ile Moleküler Tanımlanması	27
3.2.3.Probiyotik Gıda Takviyelerinde Canlı Probiyotik Sayısının Belirlenmesi	28
3.2.4.Antibiyotik Dirençlilik Düzeylerinin Saptanması	28
3.2.5. İnaktivasyon Testi	30
3.2.6. Yapılan Moleküler Çalışmalar	31
3.2.7. Direnç Genlerinin Araştırılması	32
3.2.8. Bakteriler Arasında Genetik Madde Aktarımı	36
3.2.9. Sekans Analizi	38
4. BULGULAR	
4.1. Probiyotik Gıdalardan Laktobasillerin İzolasyonu	39
4.2. Laktobasil Suşlarının Moleküler Düzeyde Tanımlanması	40
4.3. Laktobasil Suşlarının Antibiyotik Duyarlılık Düzeyleri	41
4.4. PCR Sonuçları	42
4.5. İnaktivasyon Testi Sonuçları	46
4.6. Konjugasyon Sonucu	46
4.7. Transformasyon Deneyi Sonucu	47
4.8. Sekans Analizi	47
5. TARTIŞMA	50
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	60
KAYNAKLAR	61
ÖZGEÇMİŞ	80

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 2.1.	Probiyotik olarak kullanılan mikroorganizmalar	4
Tablo 3.1.	Çalışmada Kullanılan Probiyotikler	25
Tablo 3.2.	Çalışmada kullanılan besiyerleri ve kimyasallar	26
Tablo 3.3.	Çalışmada kullanılan antibiyotikler ve disk konsantrasyonları	26
Tablo 3.4.	Laktik asit bakterilerinin antibiyotik duyarlılık sınırları	30
Tablo 3.5.	İmipenem MİK değerleri (mg/mL)	30
Tablo 3.6.	Çalışmada kullanılan primerlerin listesi	31
Tablo 3.7.	PCR işlemine ait ısı döngü ve süre diyagramı	35
Tablo 3.8.	PCR solüsyonu	35
Tablo 4.1.	Probiyotik gıda takviyelerindeki canlı hücre sayımları	40
Tablo 4.2.	Laktobasil türlerinin moleküler tanımlanması	41
Tablo 4.3.	İzole edilen laktobasillerin antibiyotik duyarlılıkları	41
Tablo 4.4.	Laktobasillerin antibiyotik dirençleri	45

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1.	MALDI-TOF Kütle spektrometresi cihazı	29
Şekil 3.2.	Elektroforezde kullanılan DNA marker.	36
Şekil 3.3.	Laktobasillus verici suşu ile <i>E. faecalis</i> JH2-2 alıcı suşunun agar üzerine inokülasyonu	37
Şekil 4.1.	MRS Agarda Laktobasillus kolonileri	39
Şekil 4.2.	Laktobasil suşunun antibiyotik zon görünümü	42
Şekil 4.3.	3, 10 ve 11 numaralı örneklerde <i>ermA</i> , <i>ermB</i> ve <i>ermC</i> için spesifik primerlerle yapılan PCR görüntüsü	42
Şekil 4.4.	2, 5 ve 10 numaralı örneklerde <i>aac(6')-Ie-aph(2'')-Ia</i> için spesifik primerlerle yapılan PCR görüntüsü	43
Şekil 4.5.	Tüm örneklerde <i>armA</i> için spesifik primerlerle yapılan PCR görüntüsü	43
Şekil 4.6.	Tüm örneklerde <i>rmtB</i> için spesifik primerlerle yapılan PCR görüntüsü	44
Şekil 4.7.	3, 10 ve 11 numaralı örneklerde <i>linA</i> ve <i>linB</i> için spesifik primerlerle yapılan PCR görüntüsü (M: marker, N: negatif kontrol)	44
Şekil 4.8.	Total DNA ve Plazmid izolasyonu PCR görüntüsü	45
Şekil 4.9.	Gots' testi (klindamisin diski)	46
Şekil 4.10.	Gots' testi (imipenem diski)	46
Şekil 4.11.	Blast sonucu	48
Şekil 4.12.	Plazmit genom haritası.	49

SİMGELER ve KISALTMALAR

WHO	: Dünya Sağlık Örgütü
FAO	: Gıda ve Tarım Örgütü
GABA	: Gama-Aminobütirik Asit
ACTH	: Adrenokortikotropik Hormon
IBS	:İrritabl Bağırsak Sendromu
GIS	: Gastro İntestinal Sistem
İYE	: İdrar Yolu Enfeksiyonu
MDR	: Çoklu İlaç Direnci
MIK	:Minimum İnhibitor Konsantrasyon
FDA	: Gıda ve İlaç Dairesi
GRAS	: Güvenli Olarak Kabul Edilen
CLSI	: Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü
MRS	: De Man–Rogosa–Sharpe
KOB	: Koloni Oluşturan Birim
MALDI-TOF MS	: Matriks assisted lazer desorption ionization time of flight massspectrometry
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
EUCAST	: European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing

1. GİRİŞ

Probiyotikler, insan sağlığı üzerindeki yararlı etkilerini gösteren sürekli genişleyen bilimsel kanıtlar nedeniyle son yirmi yılda giderek daha popüler hale gelmiştir (Lau ve ark., 2024). Probiyotik mikroorganizmaların en önemli gruplarından biri laktik asit bakterileridir. Bunların içerisinde Laktobasillus türleri en yaygın olarak kullanılan probiyotik mikroorganizmalardan biridir (Lidbeck ve Nord, 1993).

Probiyotiklerin birçok faydası bulunmaktadır. Probiyotikler; besinlerin biyoyararlanımını artırır, bağırsak sağlığını geliştirir, bağırsaklık sistemini güçlendirir, serum kolesterol düzeyini azaltır, kansere karşı koruyucudur, laktoz intoleransının azaltır, anti-alerjik özellikler gösterirler. İrritabl bağırsak sendromu, crohn ve ülseratif kolit gibi gastrointestinal sistem hastalıkları, diyabetes mellitus ve obezite gibi metabolik hastalıklar üzerinde de olumlu etkisinin olduğu ifade edilmektedir. Ayrıca antimutajenik, anti-kanserojenik, anti-inflamatuar, anti-oksidatif, kolesterol düşüklüğü, antihipertansif, anti-osteoporoz ve immünomodülatör etkilerinin olduğu da bildirilmiştir (Argyri ve ark.,2013; Kechagia ve ark.,2013; Lee ve ark., 2014; Özdemir ve Demirel, 2017; Jeong ve ark., 2022). Laktobasillerde hem intrinsik hem de ekstrinsik antibiyotik direnç geninin varlığı rapor edilmiştir. Bu amaçla bazı çalışmalar yapılmış olmakla birlikte sadece bazı antibiyotikler ve belirli Laktobasillus türleri (örn: *L. casei*, *L. acidophilus*, *L. reuteri*, *L. rhamnosus*, *L. delbrueckii*, *L. brevis*, *L. fermentum*) çalışılmıştır. *ermB*, *tetK* ve *tetL* gibi aktarılabılır direnç genleri antibiyotik direncinin yayılması açısından önemlidir. Bu durum probiyotiklerin güvenli kullanımı ve direnci yayma potansiyelleri hakkındaki endişeleri artırmaktadır (Jacobsen ve ark., 2007; Dirk Gevers ve ark., 2003a).

Çalışmamız, probiyotik mikroorganizmaların, özellikle de laktobasillerin, antibiyotik direnci konusundaki muhtemel risklerini incelemek açısından oldukça önemli bir araştırma alanını konu almaktadır. Çalışmamızın odaklandığı bazı önemli noktalar şunlardır: Laktobasillerin antibiyotik direnç profillerinin hem fenotipik hem de genotipik olarak karakterize edilmesi, hangi direnç genlerinin bulunduğunu ve bunların hangi antibiyotiklere karşı direnç sağladığını belirlemek için önemlidir. Potansiyel olarak aktarılabılır direnç genlerinin (örn., *ermB*, *tetK*, *tetL*) varlığı ve bu genlerin farklı bakteri

türleri arasında geçiş yapma potansiyeli, mikrobiyotanın antibiyotik direncindeki rolünü anlamak için kritiktir. Probiyotik olarak kullanılan laktobasillus türlerinin, antibiyotik direncini yayma potansiyeli, bu tür ürünlerin güvenli kullanımı konusunda endişeleri artırabilir. Bu yüzden, direnç genlerinin taşınabilirliği ve aktarılabiliirliğinin detaylı değerlendirilmeleri gerekmektedir. Antibiyotik direnci kazandıran genlerin yayılması, yalnızca bireysel sağlık üzerinde değil aynı zamanda daha geniş toplum sağlığı üzerinde de olumsuz etkilere yol açabilir.

Bu gibi çalışmalar, hem probiyotiklerin terapötik faydalarını maksimize etmek hem de antibiyotik direncinin potansiyel yayılımını kontrol altına almak için önemlidir. Çalışmamızın bulguları, probiyotiklerin güvenli kullanım kılavuzlarının geliştirilmesine ve antibiyotik direnç yönetim stratejilerine katkıda bulunabilir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Probiyotiklerin Tanımı

İlk probiyotik tanımı 1908'de fermente süt ürünlerinin tüketiminin yaşamı uzattığını öne süren Metchnikoff tarafından yapılmış olup (Company, 2004) terim olarak ilk Parker tarafından gastrointestinal sistemde mikrobiyal dengeyi sağlayan maddelerin ve organizmaların tanımı için kullanılmıştır (Parker RB, 1974). Yunan diline göre probiyotik terimi “hayat için” anlamına gelir (Iannitti ve Palmieri, 2010). Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütüne göre probiyotikler; gerekli miktarlarda uygulandığında konakçıya sağlık yararı sağlayan canlı mikroorganizmalardır (Sanders ve ark., 2019). Probiyotik laktobasiller, farmasötikler ve diyet takviyeleri olarak pazarlanmakta ayrıca yoğurt ve diğer süt ürünleri gibi gıdalarda da bulunabilmektedir (Fenster ve ark.,2019).

Probiyotik teriminin tanımı yıllar içinde değiştirilmiş ve genişletilmiştir. DSÖ ve FAO tarafından geliştirilen tanım araştırmacıların çoğunluğu tarafından kabul edilse de, son yıllarda probiyotik terminolojiye “paraprobİYotikler” (probiyotiklerin ölü/inaktif hücreleri) ve “postbiyotikler” (probiyotiklerin sağlıklı metabolitleri) gibi yeni tanımlar eklenmiştir (Di Lena ve ark., 2015). Buna göre, canlı ve aktif probiyotik hücreyi ifade eden 'gerçek probiyotik', vejetatif veya spor formlarında canlı ve inaktif hücreyi ifade eden 'psödo-probiyotik' ve sağlam veya yırtılmış formlarında ölü/cansız hücreyi ifade eden 'hayalet probiyotik' olmak üzere üç ana probiyotik sınıfı önerilmiştir (Zendeboodi ve ark., 2020).

2.2. Probiyotik Kültür Olarak Kullanılan Mikroorganizmalar

Günümüzde birçok farklı mikroorganizma türü probiyotik olarak kullanılmaktadır. Probiyotik kültür olarak en yaygın kullanılan bakteriler *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* türleridir. Ayrıca *Bacillus* spp., *Enterococcus* spp., *Escherichia coli*, *Lactococcus* spp., *Streptococcus* spp. ve *Propionibacterium* spp. cinslerine ait bakteri türleri de probiyotik olarak kullanılmaktadır (Soccol ve ark., 2014, Gowri ve ark., 2016).

Tablo 2.1. Probiyotik olarak kullanılan mikroorganizmalar (Ilinskaya ve ark., 2017)

Cinsler	Türler
<i>Lactobacillus</i>	<i>L. plantarum</i> , <i>L. paracasei</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>L. casei</i> , <i>L. rhamnosus</i> , <i>L. crispatus</i> , <i>L. gasseri</i> , <i>L. reuteri</i> , <i>L. bulgaricus</i>
<i>Bifidobacterium</i>	<i>B. adolescentis</i> , <i>B. animalis</i> , <i>B. bifidum</i> , <i>B. infantis</i> , <i>B. lactis</i> , <i>B. longum</i> , <i>B. catenulatum</i>
<i>Propionibacterium</i>	<i>P. jensenii</i> , <i>P. freudenreichii</i>
<i>Peptostreptococcus</i>	<i>P. productus</i>
<i>Pediococcus</i>	<i>P. acidilactici</i>
<i>Leuconostoc</i>	<i>Lc lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> , <i>Lc. mesenteroides</i>
<i>Enterococcus</i>	<i>E. faecium</i>
<i>Streptococcus</i>	<i>S. oralis</i> , <i>S. uberis</i> , <i>S. rattus</i> , <i>S. salivarius</i> , <i>S. sanguis</i> , <i>S. mitis</i> , <i>S. thermophilus</i>
<i>Bacillus</i>	<i>B. coagulans</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>B. laterosporus</i>
<i>Bacteroides</i>	<i>B. uniformis</i>
<i>Akkermansia</i>	<i>A. muciniphila</i>
<i>Saccharomyces</i>	<i>S. cerevisiae</i> , <i>S. boulardii</i>

Probiyotik mikroorganizmaların en önemli gruplarından biri laktik asit bakterileridir. Laktik asit bakterileri, probiyotik mikroorganizmalar arasında önemli bir yere sahiptir ve Laktobasillus türleri bu grubun en yaygın üyelerindendir. Laktobasillus bakterileri, gıdalarda doğal olarak bulunurlar ve probiyotik olarak insan sağlığına katkıda bulunabilirler. Bu bakteriler, genellikle mikroaerofilik veya anaerobik koşullarda yaşarlar, yani düşük oksijenli veya oksijensiz ortamlarda gelişebilirler. Ayrıca, Gram pozitif olmaları, hücre duvarlarının kalın bir peptidoglikan tabakasına sahip olduğunu gösterir. Laktobasillus türleri genellikle fermente süt ürünlerinde sıklıkla bulunur ve sindirim sistemine faydalı etkileri nedeniyle probiyotik takviyelerde yaygın olarak kullanılır. Bu bakterilerin tüketimi, bağırsak florasının dengelenmesine ve sindirim sağlığının iyileştirilmesine katkı sağlayabilir (Lidbeck ve Nord, 1993).

2.3 Probiyotik Mikroorganizmaların Seçim Kriterleri

Probiyotik mikroorganizmaların seçim kriterleri, bu mikroorganizmaların etkinliklerini ve güvenliklerini belirlemek amacıyla çeşitli kriterleri içermektedir.

Probiyotik mikroorganizmalarda bulunması gereken özellikler: (Martinez ve ark., 2015; Abatenh ve ark., 2018)

1. Güvenlik ve stabilite: Patojen ve toksik olmamalıdır; güvenli ve stabil olmalıdır.
2. Yararlı etkiler: Konakçıya yararlı etkiler sunmalıdır.
3. Antimikrobiyal üretim: Bağırsak patojenlerine karşı antimikrobiyal madde üretebilmelidir.

4. Asidik direnç ve canlılık: Düşük pH ve safra asidine karşı direnç göstermelidir ve gastrointestinal kanalda canlı kalabilmelidir.
5. Yapışma kapasitesi: Epitel ve mukozal yüzeylere yapışarak patojenlerin yapışmasını ve kolonizasyonunu önlemelidir.
6. Mikroflora yenileyebilme: Bağırsak mikroflorasını yenileyebilmeli, sindirimi kolaylaştırmalı ve hızlandırabilmelidir.
7. Kolonizasyon: Gastrointestinal sistemde kolonize olabilmelidir.
8. Ek sağlık faydaları: Antikanserojen ve antimutajenik etkiler göstermelidir.
9. Canlı mikroorganizma içeriği: Yüksek oranda canlı mikroorganizma içermeli ve raf ömrü boyunca bu canlılığı korumalıdır.
10. Antibiyotik direnci: Tamamen güvenli ve kontrollü bir şekilde antibiyotik dirençlilik fenotipi sergilemelidir.

2.4 Probiyotik Gıdaların İnsan Sağlığı Üzerine Etkisi

Laktobasiller insan bağırsak mikrobiyomunun, özellikle ağız boşluğu, ileumun ve kadın genital sisteminin temel üyeleri olarak kabul edilir (Rastogi ve Singh, 2022; Vásquez ve ark., 2002). Laktobasiller, belirli hastalıkları önlemek ve tedavi etmek için gıdalarda ve takviyelerde probiyotik olarak kullanımıyla yaygın olarak bilinmektedir (Marco ve ark., 2017; Hill ve ark., 2014).

Laktobasiller patojenlere karşı antagonist aktivite, konak mikrobiyota kompozisyonunun olumlu değişimi ve bağışıklık tepkilerinin modülasyonu ile insan normal bağırsak mikrobiyotasındaki olumlu roller göstermektedir (Anisimova ve ark., 2019). Ayrıca diyet bileşenlerinin metabolizmasını iyileştirdiği, toksik ve mutajenik bileşikler etkisiz hale getirdiği, serum kolesterol seviyesini düşürdüğü, vitamin ürettiği ve antioksidan aktivite gösterdiği saptanmıştır. Laktobasiller patojenlerle rekabet edebilir ve bağırsak mikrobiyotasını düzenleyebilir. Deneysel ve klinik çalışmalarda ishal, kolit, kabızlık, irritabl bağırsak sendromu ve kolorektal kanser gibi gastrointestinal bozuklukların önlenmesinde ve/veya tedavisinde etkinlikleri doğrulanmıştır (Saarela ve ark., 2000). Dahası, Laktobasiller astım, egzema, obezite, ateroskleroz, diyabet, kanser, otizm spektrum bozukluğu ve depresyon dahil olmak üzere bir dizi patolojiye karşı etkisi

olabileceğine dair bazı kanıtlar bulunmuştur (Ilinskaya ve ark., 2017). Son çalışmalar probiyotiklerin COVID-19 enfeksiyonlarını nötralize edebileceğini göstermiştir (Zhang ve ark.,2024; Zhu ve ark., 2024; Li ve ark., 2024; Das ve ark., 2022).

Probiyotiklerin nörotransmitter üretimi üzerindeki etkileri ve stres hormonları üzerindeki potansiyel etkileri üzerine araştırmalar, mikrobiyota ile beyin arasındaki etkileşimleri anlamamıza yardımcı olmaktadır. Probiyotiklerin asetilkolin, oksitosin, norepinefrin, dopamin, serotonin, triptamin ve gama-aminobütirik asit (GABA) gibi nörotransmitterleri üretebildiği veya modüle edebildiği gösterilmiştir. Bu nörotransmitterler, ruh hali, davranış ve bilişsel fonksiyonlar dahil olmak üzere birçok nörolojik süreci etkiler. Özellikle sıçanlar üzerinde yapılan çalışmalarda, probiyotiklerin stresle ilgili hormonlar olan adrenokortikotropik hormon (ACTH) ve kortikosteroid seviyelerini etkilediği gözlemlenmiştir. Bu bulgular, probiyotiklerin stres tepkilerini ve genel olarak beyin işleyişini etkileyebileceğini öne sürmektedir. İnsanlar üzerindeki etkilerinin netleştirilmesi için de daha fazla klinik çalışmaya gereksinim duyulmaktadır. Bu tür araştırmalar, bağırsak mikrobiyotasının ruh sağlığı ve nörodejeneratif hastalıklar üzerindeki olası etkilerini anlamak için umut verici olabilir. (Liang ve ark., 2015).

2.4.1. Probiyotikler ve Gastorintestinal Sistem Üzerine Etkileri

Probiyotikler, bağırsak mikrobiyal topluluklarını modüle ederek ishal ve irritabl barsak sendromunun semptomlarının (IBS) yönetiminde önemli bir rol oynar. Probiyotik bakterilerin bağırsakta antienflamatuar sitokinler salgılayarak bağışıklık sistemini önemli ölçüde etkilediği bulunmuştur. Spesifik probiyotik suşların zararlı bakterileri azalttığı, İnterlökin-6 gibi enflamatuar belirteçleri düzenlediği ve dışkı kıvamı gibi gastrointestinal sistem (GI) semptomlarını iyileştirdiği bulunmuştur. (Rizzello ve ark., 2011).

Probiyotiklerin, laktik asit, bakteriyosin ve hidrojen peroksit gibi maddeler üreterek patojenik bakterilere karşı etkili olduğu vurgulanmaktadır. Probiyotiklerin patojenlerin mukozaya yapışmasını engelleyebileceği ve bağışıklık sistemini güçlendireceği belirtilmektedir. Ayrıca, probiyotikler bağırsak epitel hücrelerinin apoptozunu (programlanmış hücre ölümü) ve çoğalmasını düzenleyerek bağırsak bariyerinin onarımına ve bakımına da katkıda bulunabilirler. Probiyotiklerin hem enfeksiyonlarla

mücadelede hem de bağırsak sağlığının korunmasında önemli roller oynamaktadır (Prabhurajeshwar ve Chandrakanth, 2019; Gou ve ark., 2022; Plaza-Diaz ve ark.,2017)

Araştırmalar, bifidobakteri ve laktobasillus gibi probiyotik türlerinin, bağırsak hareketlerini artırarak kabızlığı azaltabileceğini bildirmiştir. Özellikle kolorektal adenokarsinom ameliyatı geçiren hastalarda, probiyotik takviyesinin postoperatif komplikasyonları ve ölüm oranlarını azaltabileceği belirtilmiştir. Probiyotiklerin kolorektal kanserli hastalarda pro-enflamatuar sitokin seviyelerini düşürebileceği ve daha iyi klinik sonuçlarla ilişkilendirilmiştir. Ayrıca, belirli ülseratif kolit hastalarında probiyotik kullanımı sindirim toleransını artırabilir, gastrointestinal iltihabı azaltabilir ve uzun süreli klinik remisyon sağlayabilir. Sistematik inceleme ve meta-analizler de probiyotiklerin ülseratif kolitte klinik remisyonda etkili olduğunu ortaya koymuştur (Kaur ve ark., 2020; Mwende, 2024)

Kabızlık şikayeti olan hastaların bağırsak mikrobiyotasında bifidobakteri ve laktobasil türlerinin miktarında azalma, *Bacteroides spp.* düzeylerinde ise artış gözlenmektedir (Ohkusa ve ark.,2019; Dimidi ve ark., 2017). Fonksiyonel kabızlığı olan yaşlılarda çok suşlu probiyotik takviyesinin etkili, güvenli ve iyi tolere edildiği bulunmuştur (Šola ve ark.,2022). Araştırmalar, doğrudan perinatal evrede bebeklere veya hamile kadınlara uygulanan probiyotiklerin, bebek kolik ile ilişkili semptomları hafifletebileceğini ve fonksiyonel kabızlık durumlarında bağırsak hareket sıklığını iyileştirebileceği bildirilmiştir (Mohammed ve ark., 2024). *Helicobacter pylori* enfeksiyonu, irritabl bağırsak sendromu ve enflamatuar bağırsak hastalıkları (IBD'ler) dahil olmak üzere birçok GIS hastalığı, bağırsak mikrobiyotası bileşimindeki değişikliklerle ilişkilidir. Midenin *H. pylori* enfeksiyonu GIS mikrobiyotasını etkileyebilir. 2018'de yapılan bir sistematik inceleme ve meta-analiz, probiyotik kullanımının IBS'li hastalarda plasebo ile karşılaştırıldığında semptomları azalttığı bulunmuştur. *Bifidobacterium longum*, *B. bifidum*, *B. lactis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lacticaseibacillus rhamnosus* ve *Streptococcus thermophilus* içeren kombinasyon probiyotiklerin, IBS semptomlarını hafifletmede plaseboya kıyasla önemli ölçüde daha etkili olduğunu göstermektedir (Profir ve ark., 2024; Ford ve ark., 2018).

Probiyotiklerin, bağırsak mikrobiyal ortamının düzeltilmesine yardımcı olmak, IgA üretimini artırmak ve patojenlere karşı mukozal bariyeri güçlendirmek amacıyla *H. pylori* ile doğrudan rekabet edebileceği ileri sürülmektedir (Goderska ve ark., 2018). 167 hastayı içeren *H. pylori* enfeksiyonu tanısı almış prospektif bir çalışmada, üçlü eradikasyon tedavisine ek probiyotik kültürlerle (*Lactobacillus acidophilus* Rosell-52, *Lactobacillus acidophilus* Rosell-11, *Bifidobacterium infantis* Rosell-1755 ve *Saccharomyces boulardii*) yapılan tedavinin, tek başına üçlü eradikasyon tedavisine kıyasla eradikasyon başarısına ulaşmada daha etkili olduğu bulunmuştur (Grgov ve ark.,2016). Ayrıca, prospektif plasebo kontrollü bir çalışmada, dört probiyotik suşunun (*Lactobacillus acidophilus*, *Lactiplantibacillus plantarum*, *Bifidobacterium lactis* ve *Saccharomyces boulardii*) probiyotik takviyesi almayan bireylere kıyasla eradikasyon oranlarını artırdığı ve ilaçların yan etkilerini azalttığı bulunmuştur (Viazis ve ark., 2022).

Randomize kontrollü bir çalışmada, *Lactobacillus casei* DN 114001 içeren bir probiyotik içeceğin antibiyotik ilişkili diyareyi önlemede etkili olduğu bulunmuştur (Dietrich ve ark., 2014). Probiyotiklerin antibiyotik tedavisinden sonraki iki gün içinde kullanıldığında antibiyotikle ilişkili diyarede etkili olduğu bildirilmiştir (Zhang ve ark., 2022).

2.4.2. Probiyotikler ve Metabolik Hastalıklar Üzerine Etkisi

Metabolik hastalık prevalansı artmakta ve dünya çapında çok fazla nüfusu etkilemektedir. Bağırsak bakterileri ekosisteminin enerji homeostazını düzenlemede çok önemli bir rol oynadığı ve metabolik hastalığın gelişimi ile büyük ölçüde ilişkili olduğu düşünülmektedir. Probiyotikler, bağırsak mikrobiyotasını değiştirmek için terapötik hedef olarak genellikle mikrobiyota disbiyozisini iyileştirmeye odaklanır ve metabolik hastalığı tedavi etmek için faydalı olabilir (Cheng ve ark.,2022). Disbiyozis, vücut içerisinde yer alan mikroskobik organizma türlerinde dengesizlik sonucu bağırsaktaki bakteriyel dağılımdaki değişiklik yaşanmasıdır. Günümüzde disbiyozis ve metabolik sendrom arasında bir ilişki bulunmuştur. Metabolik sendromda, düşük dereceli inflamasyon, enerji metabolizması ve bağırsak beyin ekseninin bozulmasının disbiyoza bağlı metabolik sendromun gelişmesinin ana mekanizmaları olduğu düşünülmektedir. Probiyotikler, disbiyozu öbiyozise dönüştürerek metabolik sendromun tedavisinde umut vadeden bir terapötik ajan olabilir. Daha önce yürütülen klinik çalışmalara dayanarak, probiyotiklerin

lipid profillerini, açlık kan şekerini, insülin direnci için homeostatik model değerlendirmesini (HOMA-IR), vasküler hücre yapışma molekülü 1'i (VCAM-1), glukagon benzeri peptid-1'i (GLP-1), peptid YY'yi (PYY) ve vücut kitle indeksini (VKİ) iyileştirebileceği bilinmektedir (Ramadhan ve Rosdiana, 2024).

Obez sıçanlarda *L. plantarum* uygulanması, kilo kaybına, glikoz ve leptin seviyelerinde azalmaya, mezenterik ve inguinal perineal yağ dokusu miktarında azalmaya neden olan bir anti-obezite ajanı olmasının trans-10, cis-12-CLA formunda konjuge lineloik asit metabolitleri üretmesine bağlı olduğu gösterilmiştir (Lee ve ark., 2007). Çift kör randomize klinik çalışmada fazla kilolu veya obez (VKİ > 25) 180 hastaya 3 ay boyunca 1×10^9 CFU *Lactobacillus fermentum* K7-Lb1, K8-Lb1 ve K11-Lb3 suşları verilmiştir ve probiyotik grubunda plaseboya kıyasla vücut yağ kütlelerinde önemli bir azalma olduğu bulunmuştur (Laue ve ark., 2023).

Metabolik sendromu ve prediyabet durumu olan 120 denekte yapılan randomize kontrollü çift kör bir çalışmada, deneklere 24 hafta boyunca günde 6 gr probiyotik, günde 6 gr sinbiyotik veya plasebo verilmiş, probiyotik ve sinbiyotik verilen grupta plaseboya kıyasla metabolik sendrom görülme sıklığında önemli bir azalma olduğu bildirilmiştir (Kassasian ve ark., 2019). 11 haftalık probiyotik kullanımı metabolik sendromlu hastalarda açlık kan şekeri, açlık insülin, trigliserit ve düşük yoğunluklu lipoprotein, kolesterol konsantrasyonlarını önemli ölçüde azaltmıştır (Tenorio-Jiménez ve ark., 2020).

2.4.3. Probiyotikler ve Alerji Üzerine Etkisi

Bağırsak mikrobiyotası, bağışıklık sistemi ve alerjik reaksiyonlar arasındaki dengenin korunmasında önemli bir rol oynamaktadır (Bai ve ark., 2024). Son çalışmalar, probiyotiklerin alerjik rinit tedavisinde ve yönetiminde yararlı rolünü göstermektedir. Probiyotikler, yaşam kalitesini iyileştirmenin yanı sıra belirti ve semptomları da kısaltır. Yaygın olarak kullanılan probiyotikler arasında laktobasillus ve bifidobakteri türleri bulunur. Probiyotiklerin alerjik rinit tedavisindeki rolü en verimli antijen sunan hücreler (APC'ler) olan dendritik hücreleri aktive etme yetenekleri ile tanımlanır. Ayrıca, probiyotikler, sitokinlerin üretimini düzenleyerek hücresel ve moleküler yollar üzerinde etkilerini gösterirler. IgE antikorlarının seviyelerini azaltarak ve IgG antikorlarını

iyileştirerek immünoglobulin regülasyonunu önemli ölçüde etkileyebilir. Ayrıca enfeksiyonları önlemek için interferon-gama (IFN- γ), İnterlökin-6 (IL-6) ve tümör nekroz faktörü-alfa (TNF- α) gibi enflamatuar sitokinlerin üretimini artırır (Liu ve ark., 2018; An ve ark., 2022)

Mikrobiyomdaki bir dengesizlik, yenidoğanlarda Th2 (T helper 2) hücrelerinin egemen olduğu kalıcı bir anormal bağışıklık tepkisine yol açarak çevresel alerjenlere karşı aşırı pro-inflamatuar sitokin üretimi tetiklenebilir. Bu durum, atopik dermatit gibi alerjik koşulların gelişimine katkıda bulunabilir. Atopik dermatit, filaggrin genindeki (FLG) mutasyonlarla ilişkilidir. FLG, nemi koruyarak ve çevresel alerjenlere karşı cilt bariyer bütünlüğünü korumak için çok önemli bir proteini kodlar (Rather ve ark., 2016).

Probiyotiklerin atopik dermatitli yetişkinlerde semptomları iyileştirdiği öne sürülmektedir (Iemoli ve ark., 2012)

Probiyotikler, astım gibi alerjik durumlar için terapötik bir yaklaşım olarak giderek daha fazla kullanılmaktadır. Probiyotikler, Th1(T helper 1) bağışıklık tepkisini artırır, böylece IgE üretimini azaltır. Probiyotikler, bağırsak epitel hücreleri ve immünokompetent hücrelerle etkileşime girerek bağışıklık aracıları, sitokinler ve kemokinlerin üretimini tetikler. Ek olarak, Treg hücrelerini aktive ederek bağışıklık düzenlemesinde yer alan önemli bir antienflamatuar sitokin olan IL-10'u serbest bırakırlar. Bunların sonucunda probiyotikler solunum yolu enfeksiyonlarına karşı bağışıklık savunmasını güçlendirerek enfeksiyon şiddeti hafifletmektedir (Ciprandi ve ark., 2023).

2.4.4. Probiyotikler ve Ürogenital Sistem Üzerine Etkileri

Ürogenital sistem enfeksiyonunun tedavisinde antibiyotiklerle birlikte probiyotiklerin kullanılması, antibiyotiklerin olumsuz etkilerini azaltmaya, antibiyotik tedavisinin verimliliğini artırmaya ve antibiyotiklere karşı bakteriyel direnci azaltmaya yardımcı olabilir (Mula D ve ark., 2024)

Probiyotiklerin idrar yolu enfeksiyonlarını (İYE) önlemedeki etki mekanizmaları çok faktörlüdür ve bir dizi konakçı ve bakteriyel faktörü içerir (Hashempour-Baltork ve ark., 2021). Probiyotikler, besinler ve yapışma bölgeleri için üropatojenlerle rekabet edebilir,

patojenik bakterilerin büyümesini engelleyen bakteriyosinler üretebilir ve konakçı bağışıklık tepkisini modüle edebilir. Ayrıca, probiyotikler bağırsak ve vajinal mikrobiyotanın dengesini geri kazandırabilir ve bu da üropatojenleri koruyabilir (Sánchez ve ark., 2017). *L. plantarum* PBS067 ve *L. rhamnosus* LRH020 suşları ile yapılan in vitro çalışmada, yaygın ürogenital patojenlerin gelişimini engellenebildiği, özellikle antimikrobiyal madde üretimi, epitel hücrelerine yapışmadaki rekabet ve birlikte agregasyon yeteneği ile patojen enfeksiyonuna karşı koyduğu gösterilmiştir (Malfa ve ark., 2023).

Klinik çalışmalar, spesifik probiyotik suşların İYE insidansını azaltmada etkinliğini göstermiştir (Sánchez ve ark., 2017). *Lactobacillus crispatus* ve *L. rhamnosus* bu amaç için en çok çalışılan suşlar olmuştur (Mantegazza ve ark., 2018; Hashempour-Baltork ve ark., 2021). Vajinal probiyotikler veya oral probiyotiklerle kombinasyon halinde profilaktik kullanımı tekrarlayan semptomatik İYE ataklarını önlemede etkin olduğu gösterilmiştir (Gupta ve ark., 2024). Randomize, çift kör, plasebo kontrollü bir çalışmada, *Lactobacillus acidophilus*, *L. rhamnosus* ve *Streptococcus thermophilus* içeren bir probiyotik karışımının kullanılması, tekrarlayan İYE'li kadınlarda bu enfeksiyon insidansını azaltmıştır (Beyitler ve Kavukçu, 2016). Başka bir çalışmada, günlük *Lactobacillus crispatus* CTV-05 alımının menopoz öncesi kadınlarda tekrarlayan İYE riskini azalttığı gösterilmiştir (Akgül ve Karakan, 2018). Benzer şekilde, *L. Rhamnosus* GR-1 ve *Lactobacillus reuteri* RC-14 kullanımı menopoz sonrası kadınlarda İYE insidansını azaltmıştır (Saha ve Saroj, 2022). Başka bir klinik çalışmada ise, *L. rhamnosus* GR-1 ve *Lactobacillus reuteri* RC-14'ün probiyotik kombinasyonunun akut İYE tedavisinde plasebo grubuna kıyasla semptomları daha hızlı iyileştiği ve bakteriyel enfeksiyon etkenini eradike ettiği gösterilmiştir (Petrova ve ark., 2021).

Laktobasillus türleri, laktik asit üretimi ile vajinanın pH'ını azaltabilen vajinadaki baskın bakterilerdir. Bir dizi laktobasil türü de hidrojen peroksit üretebilir. Hidrojen peroksit kaynaklı düşük pH'ın varlığı, diğer birçok mikroorganizmanın büyümesini önleyebilir. Bakteriyel vajinit vakalarında vajinal florada anaerobik bakteri (*Mycoplasma hominis* ve *Gardnerella vaginalis*) sayısında artış olmaktadır. Bu tür vajinal enfeksiyon tedavisinde kullanılan ilaçlar normal vajinal florada bulunan laktobasilleri olumsuz etkilemekte ve

nüks ve kronik enfeksiyona neden olabilmektedir. Probiyotikler ve prebiyotiklerin kullanımının vajinal mikroflorayı optimize ettiği gösterilmiştir (Mashatan ve ark., 2023).

Randomize çift kör plasebo kontrollü iki kollu paralel çalışmaya alınan 89 bakteriyel vajinoz (BV) ve 93 vulvovajinal kandidiyaz (VVC) hastasına (18-50 yaş), üç ay boyunca oral veya vajinal probiyotik kapsüller veya plasebo kapsülleri verilmiştir. Kullanılan probiyotik kapsülü iki *Lactobacillus crispatus* (DSM32717 ve DSM32720, BV durumunda) veya üç *Lactobacillus crispatus* (DSM32720, DSM32718 ve DSM32716, VVC durumunda) suşu içerdiği belirtilmiştir. Çalışma, hem oral hem de vajinal kapsüllerin BV hastalarında belirti ve semptomları azalttığını ortaya koymuştur. Nugent skorunda, akıntı miktarında ve kokusunda, aynı zamanda kaşıntı/tahrişte de dikkate değer bir iyileşme kaydedilmiştir. Vajinal probiyotik tüketimi, vajinalardaki laktobasil sayısını önemli ölçüde artırmıştır. Sonuç olarak, kanıta dayalı iyi odaklanmış probiyotik *L. crispatus* suşlarının yeni formülasyonları, hem vajinal hem de oral uygulama için uygun olan BV ve VVC'ye karşı etkilidir (Liu ve ark., 2023).

2.4.5. Probiyotikler ve Mental Sağlık Üzerine Etkisi

Beyin süreçlerindeki gelişmeler ve genel vücut sağlığı için avantajları nedeniyle, probiyotik bakteriler "psikobiyotikler" olarak adlandırılmıştır (Burnet ve Cowen, 2013). Psikobiyotiklerin psikofizyolojik etkileri üçe ayrılır; bilişsel ve duygusal süreçler üzerindeki psikolojik etkiler, glukokortikoid stresine tepki ve yüksek seviyelerle karakterize edilen inflamasyon ve hipotalamus-hipofiz-adrenal (HPA) eksenini üzerindeki sistemik etkiler (Sarkar ve ark., 2016).

Mikrobiyom araştırmalarındaki en zorlu ve tartışmalı konulardan biri bağırsak mikrobiyal metabolizması ve nöropsikolojik bozukluklarla ilgilidir. Psikobiyotikler, nöronal, bağışıklık ve metabolik yolları içeren bağırsak-beyin eksenini aracılığıyla insan davranışını ve merkezi sinir sistemi süreçlerini etkiler. Depresyon, anksiyete, otizm, dikkat eksikliği hiperaktivite bozukluğu, Alzheimer hastalığı, Parkinson hastalığı, şizofreni, Huntington hastalığı, anoreksiya nervoza ve multipl skleroz gibi çeşitli nörodejeneratif ve nörogelişimsel bozuklukların tedavisinde terapötik potansiyele sahip olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (Cocean ve Vodnar, 2024; Zheng ve ark., 2016)

2.4.6. Probiyotikler ve Kansere Üzerine Etkisi

Probiyotik kullanımının kanser önlemede önemli bir rol oynayabilmektedir ve birçok kanıt anti-kanser tedavilerini desteklemektedir. Birçok *in vitro* çalışmanın sonuçları, probiyotiklerin apoptozu düzenlemede faydalı özelliklere sahip olduğunu ve kanser hücrelerinin çoğalmasını azalttığını göstermiştir (Śliżewska ve ark., 2020). Probiyotiklerin tümör hücrelerine karşı apoptozu indüklemeye yeteneği, kanseri tedavi etmek için daha etkili hale getirir. Dahası, probiyotikler bir anti-tümör etkisine neden olan bir immünomodülasyon mekanizması aracılığıyla bağışıklık sistemini uyarır. Laktik asit bakterileri anti-mutajenik aktivitelere sahiptir. Canlı ve ölü probiyotiklerin, başta kanser olmak üzere farklı hastalıklara karşı savaşmak için yararlı olan anti-inflamatuar, antiproliferatif, antioksidan ve metastaz karşıtı özellikleri gösterilmiştir (Noor ve ark., 2023). Yapılan çalışmada fare kolon kanseri HGC-27 ve insan kolon kanseri Caco-2, DLD-1 ve HT-29 hücre hatlarının proliferasyonunun *Lactobacillus rhamnosus* GG suşu tarafından inhibe edildiği ve apoptozun indüklendiği gösterilmiştir (Orlando ve ark., 2012).

Bağırsak mikrobiyotasının bileşimi ve işlevlerindeki anormal değişiklikler, gastrointestinal tümörlere ek olarak, karaciğer kanseri, pankreas kanseri ve hatta meme kanseri dahil olmak üzere gastrointestinal olmayan tümörleri de etkileyebilir (Nagano ve ark., 2019; Mendoza, 2019). Karaciğer, portal venöz sistem aracılığıyla inflamatuvar değişikliklere ve hepatotoksositeye neden olabilecek ve nihayetinde doğrudan kansere yol açabilen bağırsak bakterilerine ve metabolitlerine maruz kalabilmektedir. Bağırsak florasının bozulmasının karaciğer kanserine neden olabileceği de yaygın olarak kabul edilmiştir (Helmink ve ark., 2019).

2.5. Antibiyotikler

Antibiyotikler, bakteriyel enfeksiyonları tedavi etmek için kullanılan ilaçlardır. Antibiyotikler, bakterilerin büyümesini durdurarak (bakteriyostatik) ya da öldürerek (bakterisidal) etkili olabilir. Hücre duvarı sentezinin inhibisyonu, protein sentezinin inhibisyonu, DNA veya RNA sentezinin inhibisyonu, folik asit sentezinin inhibisyonu, hücre zarı fonksiyonlarının bozulması mekanizmaları ile etki gösterirler. (Özbal, 1992)

2.5.1. Kanamisin

Kanamisin A, *Streptomyces kanamyceticus*'tan izole edilen ve *Mycobacterium tuberculosis* de dahil olmak üzere geniş bir bakteri yelpazesine karşı etkili bir aminoglikozit antibiyotiktir (Mrugała ve ark., 2021).

2.5.2. Ampisilin

Ampisilin, belirli bakteriyel enfeksiyonları tedavi etmek için kullanılan bir penisilin türevidir. Bu ilaç, penisilinlere karşı gelişen direnç sorunlarını aşmak ve bu grubun antimikrobiyal kapsamını genişletmek amacıyla geliştirilmiştir. Ayrıca, aside dayanıklı yapısı sayesinde oral uygulanabilir ve geniş bir kullanım alanına sahiptir. Gram-pozitif ve bazı Gram-negatif bakterilere karşı etkilidir, bu da klinik tedavide önemli bir avantaj sağlar (Peechakara ve ark., 2023).

2.5.3. Gentamisin

Gentamisin, bir aminoglikozid olup öncelikle aerobik Gram-negatif bakteriyel enfeksiyonları tedavi etmek için kullanılır. Terapötik kılavuzlar, Gram-negatif organizmaların neden olduğu ciddi enfeksiyonların tedavisinde gentamisin kullanımını önermektedir. Bunun başlıca nedeni, ilacın hızlı bakterisidal aktivitesi ve çoğu toplum ile hastane kaynaklı Gram-negatif patojenlerde bu antibiyotiğe karşı nispeten düşük direnç oranlarının görülmesidir. Ayrıca, ciddi enfeksiyonların hızlı bir şekilde kontrol altına alınmasında etkili bir ampirik tedavi seçeneği olarak öne çıkar. Gentamisin, genellikle diğer antibiyotiklerle kombine edilerek tedavi etkinliği artırılır. (Moulds ve Jeyasingham, 2010).

2.5.4. Klindamisin

Klindamisin, 50S ribozomal alt birimlere geri dönüşümlü olarak bağlanarak protein sentezini inhibe eder ve peptid bağı oluşumunu engeller. Organizmanın türüne, enfeksiyonun bulunduğu bölgeye ve ilaç konsantrasyonuna bağlı olarak klindamisin, bakteriyostatik veya bakterisidal etkili bir antibiyotik olabilir (Spížek ve Rezenka, 2017).

Klindamisin, özellikle *Staphylococcus aureus* (metisiline duyarlı suşlar), *Streptococcus pneumoniae* (penisiline duyarlı suşlar) ve *Streptococcus pyogenes* gibi Gram-pozitif bakterilerin neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde kullanılır (Carapetis ve ark., 2014; Gudiol ve ark., 2017). Ayrıca; klindamisin, *Clostridium perfringens*, *Fusobacterium necrophorum*, *Fusobacterium nucleatum*, *Peptostreptococcus anaerobius* ve *Prevotella melaninogenica* gibi anaerobik bakterilerin neden olduğu enfeksiyonlarda da etkili olduğu kanıtlanmıştır. Bu geniş etki spektrumu, klindamisini ciddi enfeksiyonların tedavisinde önemli bir seçenek haline getirmektedir. (Struzycka ve ark., 2019; Park ve ark., 2019).

2.5.5. Sefazolin

Sefazolin, Gram-pozitif bakterilere karşı diğer sefalosporin çoğundan daha güçlü aktivite gösteren parenteral birinci kuşak bir sefalosporindir ve metisiline duyarlı *Staphylococcus aureus* ve cerrahi profilaksiye bağlı bulaşıcı hastalıkları tedavi etmek için kullanılır. Gram pozitif etki spektrumu daha geniş olması, yarı ömrünün uzun olması ve uygulandıktan sonra kanda daha yüksek konsantrasyona ulaşması ve daha seyrek doz verilebilmesi birinci kuşak sefalosporinlere üstünlükleridir (World Health Organization, 2019; Ban ve ark., 2016; Bratzler ve ark., 2013).

Sefazolin, cerrahi sonrası enfeksiyonlarda yaygın olarak karşılaşılan organizmalara karşı uygun aktivite spektrumuna sahip olduğu, iyi tolere edildiği ve düşük maliyete sahip olduğu için tercih edilmektedir (Blumenthal ve ark., 2018).

2.5.6. Sefoksitin

Sefoksitin, ikinci kuşak sefalosporin grubuna giren ve parenteral yoldan kullanılan sefamisin yapılı bir antibiyotiktir. 1970'lerin başında keşfedilen sefoksitin, Gram-negatif türlerle karşı güçlü bir aktiviteye sahiptir. Sefoksitin klinikte cilt ve yumuşak doku enfeksiyonları, obstetrik/jinekolojik enfeksiyonlar, solunum ve üriner kanal enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılır (Brumfitt ve ark., 1974).

2.5.7. Siprofloksasin

Siprofloksasin, florokinolon ilaç sınıfından bakterisidal bir antibiyotiktir. Bakteriyel DNA topoizomeraaz enzimini inhibe ederek DNA kırıkları oluşmasına neden olur. Florokinolon

sınıfından siprofloksasin, Gram-negatif basillere karşı güçlü etki gösterir. Siprofloksasin ayrıca bazı Gram-pozitif bakterileri de etkileyebilir ancak levofloksasin güçlü Gram pozitif aktiviteye sahiptir. Siprofloksasin, kinolonlar arasında *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı en etkili olan ve bu enfeksiyonları tedavi eden birkaç oral antibiyotikten biridir. Florokinolonlar, idrar yolu enfeksiyonları, pnömoni, cinsel yolla bulaşan enfeksiyonlar, cilt, kemik, eklem enfeksiyonları, prostatit, tifo ateşi, gastrointestinal enfeksiyonlar, alt solunum yolu enfeksiyonları, şarbon, veba ve salmonelloz tedavisi için FDA onayına sahiptir (Rehman ve ark., 2019; Campoli-Richards ve ark., 1988; Thai ve ark., 2023)

2.5.8. Vankomisin

Vankomisin parenteral yoldan kullanılan glikopeptid yapılı bir antibiyotiktir. Vankomisin, *Nocardia orientalis*'ten elde edilir ve sadece Gram-pozitif bakterilere karşı etkilidir (Moellering, 2016;) (Rodríguez-Baño ve ark., 2009; Cosgrove ve ark., 2003).

Vankomisin bakterisidal etkilidir ve bakteri hücre duvarı sentezinde kullanılan öncü birimlere bağlanır ve sentezi inhibe ederek etkisini gösterir. Vankomisin, peptidoglikan monomerinin D-Ala-D-Ala bölgesi ile karmaşık bir hidrojen bağları ağı oluşturur ve peptidoglikan tabakasının polimerizasyonunu engeller. Vankomisine karşı direnç ise, bu doğal öncülün bozulmasını ve vankomisinin düşük afiniteye sahip olduğu D-Ala-D-lac veya D-Ala-D-Ser alternatifleriyle değiştirilmesini gerektirir (Stogios ve Savchenko, 2020).

2.5.9. Tetrasiklin

Tetrasiklin, *Streptomyces aureofaciens*'ten elde edilen kloratetrasiklinden yarı sentetik olarak üretilen bir antibiyotiktir. Tetrasiklin, bakterilerin 30S ribozomal alt birimine bağlanarak bakteriyel protein sentezini inhibe eder (Nguyen ve ark., 2014). Geniş spektrumlu aktivitesi, yüksek etkinliği ve düşük maliyeti nedeniyle insan ve hayvan tedavisi için yaygın olarak kullanılan bir antibiyotiktir. Tetrasiklin ile tedavi endikasyonları arasında pnömoni, kemik ve eklem enfeksiyonları, bulaşıcı cilt bozuklukları, cinsel yolla bulaşan ve gastrointestinal enfeksiyonlar bulunur. Tetrasiklin, besin zinciri boyunca birikebilir ve antibiyotik direncinin gelişimini ve yayılmasını neden

olabilir. Ayrıca içme ve sulama suyu için tehditler oluşturabilir ve insan bağırsağındaki mikrobiyal florayı bozabilir (Brodersen ve ark., 2000; Amangelsin ve ark., 2023)

2.5.10. Rifampin

Rifampisin (Rifampin), tüberküloz tedavisinde birinci basamak kombinasyon tedavisinin bir parçası olarak kullanılan yarı sentetik bir antibiyotiktir. Rifampin, *Clostridium difficile* dahil olmak üzere çok çeşitli Gram-pozitif koklara ve *Neisseria meningitidis*, *N. gonorrhoeae* ve *Haemophilus influenza* dahil olmak üzere spesifik Gram-negatif organizmalara karşı antibakteriyel aktivite sergiler. Rifampin, DNA'ya bağlı RNA polimerazı (RNAP) inhibe ederek bakterisidal antimikrobiyal etki gösterir (Beloer Suresh ve ark., 2023).

2.5.11. Eritromisin

Eritromisin, *Streptomyces erythreus* tarafından üretilen makrolid yapılı bir antibiyotiktir. Bakteriyel ribozomun 50S alt birimindeki 23S ribozomal RNA molekülüne bağlanır ve protein sentezini inhibe eder (Farzam v Nessel, 2023). İnsanlarda 50S alt birimi bulunmamaktadır ve bu nedenle insanlardaki protein sentezini inhibe edememektedir (Liang ve Han, 2013).

2.5.12. Penisilin G

Penisilin G (benzil penisilin) ilk beta laktam antibiyotik olup bakterilerin hücre duvarı sentezini inhibe ederek etki gösterir. Gram negatif ve Gram pozitif bakterilerin neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde kullanılmaktadır (Etebu ve Ariekpar, 2016).

2.5.13. Kloramfenikol

Kloramfenikol, iyi doku penetrasyonu, geniş spektrumu ve ucuz oluşu nedeniyle yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Bakterinin 50S ve 70S ribozomal alt birimine reversibl olarak bağlanarak peptidil transferazı ve protein zincirinin uzamasını inhibe ederek bakteristatik etki gösterir. Ancak *H. influenzae*, *S. pneumoniae* ve *N. meningitidis* gibi mikroorganizmalara karşı bakterisid etki gösterir (Özkurt ve Çınar Tanrıverdi, 2017).

2.5.14. Streptomisin

Streptomisin, *Streptomyces griseus* kültürlerinden elde edilen parenteral bir aminoglikozittir. Gram negatif bakteriler ve *Mycobacterium tuberculosis* için etkilidir. Streptomisin, mikroorganizmalar üzerindeki etkisini protein sentezini inhibe ederek gösteren bir bakterisidal antibiyotiktir. Streptomisin spesifiktir, taşıma kolaylığı ve düşük maliyeti kullanım sıklığını artırır. Ancak ototoksik ve nefrotoksik yan etkileri streptomisin kullanımını sınırlandırır (Walsh, 2000).

2.5.15. Meropenem

Meropenem, geniş spektrumlu bir karbapenem grubu beta-laktam antibiyotik olup, bakterilerin hücre duvarı sentezini inhibe ederek etki gösterir. Bu ilaç, genellikle ciddi enfeksiyonların tedavisinde kullanılır ve hem Gram pozitif hem de Gram negatif bakterilere karşı etkili bir ajan olarak bilinir. Meropenem, çok sayıda aerobik ve anaerobik Gram pozitif ve Gram negatif bakteriye karşı etkilidir. Özellikle *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Acinetobacter* spp. gibi dirençli Gram negatif bakterilere karşı oldukça güçlüdür. Meropenem, birçok beta-laktamaz enzimi tarafından parçalanmaya karşı dayanıklıdır, bu nedenle diğer beta-laktam antibiyotiklere dirençli olan bakterilere karşı etkilidir. Sepsis, bakteriyel menenjit, karın içi enfeksiyonlar, cilt ve yumuşak doku enfeksiyonları, solunum yolu enfeksiyonları (özellikle hastane kaynaklı pnömoni), idrar yolu enfeksiyonları (komplike durumlarda) tedavisinde kullanılır (Edwards, 1995)

2.6. Antibiyotik Direnci

Bakteriler; hedef değişikliği, mutasyon, geçirgenlik azaltma, efflux pompaları, hidrolaz, inaktive enzim, metabolik değişiklik, hedef koruyucu proteinler, kendi kendini tamir sistemlerinin başlatılması, hücre morfolojisinin değişiklikleri ve biyofilm koruması gibi etki mekanizmaları ile direnç geliştirmektedir. Son yıllarda, bakterilerin hedef koruyucu protein ve hücre morfolojisindeki değişiklikler dahil olmak üzere antibiyotiklere karşı sürekli olarak yeni direnç mekanizmaları geliştirdiği ve bu antibiyotiklere karşı birden fazla savunma sistemleri ile çoklu ilaca dirençli (MDR) bakterilerin ortaya çıkmasına yol açtığı bulunmuştur. Geleneksel antibiyotikler, hassas patojenik bakterilerin neden olduğu

hastalıkların tedavisinde hala önemli bir rol oynasalar da, MDR bakterilerinde etkinliklerini kademeli olarak kaybederler. (Zhang ve Cheng, 2022).

Antibiyotik direnci şu anda insan sağlığına yönelik en büyük tehditlerden biridir. Antibiyotiklerin; insanlarda, hayvanlarda ve çevrede yaygın kullanımı ve kalıntıları, antibiyotik dirençli bakteriler ve antibiyotik direnç genleri üzerinde seçici baskı oluşturarak antibiyotik direncinin yayılmasını hızlandırabilir. Bu nedenle, antibiyotik direncinin insanlara yayılmasını ve insanlardaki antibiyotik direnci yükünü azaltmak kritik öneme sahiptir (Ding ve ark., 2023).

Antibiyotik direnci probiyotiklerin güvenlik değerlendirmesinin önemli bir parçası olarak görülmelidir. Buna rağmen, birçok laktobasilin antibiyotiğe dirençli olduğu bildirilmiştir. (Devirgiliis ve ark., 2013; Abriouel ve ark., 2015) Laktobasilluslar, vankomisine karşı intrinsik direnç göstermektedir (Goldstein ve ark., 2015) Laktobasillus türlerinin çoğu aminoglikozitlere (streptomisin, gentamisin, kanamisin ve neomisin), siprofloksasin ve trimetoprima karşı doğal dirençlidir ve penisilin ve β -laktamlar, kloramfenikol, tetrasiklin, eritromisin, linezolid ve kinupristin-dalfopristin'e duyarlıdır (Abriouel ve ark., 2015).

Probiyotik kültürlerin antibiyotik direnç profilini değerlendirmek için yapılan bir çalışmada; laktobasillus suşlarında metisiline (%100), vankomisine (%95,3) ve sefoksitine (%90,7) karşı yüksek düzeyde direnç gözlenmiştir. Son olarak, çoklu ilaç direnç oranı laktobasillus türlerinde %95,3 olduğu bulunmuştur (Seyirt ve ark., 2024). *Lactobacillus spp.*, *L. acidophilus* ve *Bifidobacterium spp.*'nin izolasyonu ve sayımı sırasıyla de Man-Rogosa-Sharp agar (MRS), klindamisin/siprofloksasin içeren MRS agar (MRS-CC) ve mupirosin (MUP) takviyeli bifidobakteri seçici sayım agarı (BSC-MUP) kullanılarak gerçekleştirildiği bir çalışmada ise, seçilen tüm probiyotik bakteri izolatları 10 farklı yaygın antibiyotiğe karşı çoklu ilaç direnci göstermiştir (Yıbar ve ark., 2024). Piyasada bulunan sekiz marka *Lactobacillus spp.* içeren probiyotik preparat ve diyet takviyesi, yaygın olarak kullanılan farklı sınıflardaki antibiyotiklere karşı direnç açısından taranmıştır. Disk difüzyon sonuçlarına göre, izolatların çoğu vankomisine dirençli ve penisilin tipi antibiyotiklere (ampisilin ve amoksisilin), karbapenemlere (imipenem, meropenem ve ertapenem) ve protein sentez inhibitörlerine (kloramfenikol, eritromisin, tetrasiklin, klaritromisin ve linezolid) duyarlı bulunmuştur. Ancak, minimum inhibitör

konsantrasyon (MİK) değerlerine dayanarak, altı suş tetrasikline dirençli olarak yeniden değerlendirilmiş ve test edilen tüm laktobasiller amikasin, siprofloksasin ve norfloksasine dirençli bulunmuştur. Sefalosporinlere direnç seftazidim/sefepim, seftriakson, sefotaksim, sefazolin ve sefoperazon olarak sırayla azalma göstermiştir (Anisimova ve ark., 2022) Trimetoprim, vankomisine ve kanamisine dirençler en yaygın tespit edilen fenotiplerdir (Campedelli ve ark., 2018).

Bakterilerdeki antibiyotik direnci intrinsik veya edinilmiş direnç olabilir. İntrinsik direnç, tüm bakteri türleri veya cinslerinde görülür. İntrinsik direncin bakteriler arasında transfer olma şansı minimumdur ve antibiyotiklere daha önce maruz kalmaktan kaynaklanmaz ve transfer edilebilirlik şansı düşüktür (Pechere ve ark., 1998). Belirli ilaç hedeflerinin olmaması veya hücre duvarının geçirgen olmaması da intrinsik dirence katkıda bulunur (Zhang ve Feng, 2016). Öte yandan edinilmiş direnç, kromozomal mutasyon veya ekzojen DNA edinimi (transpozonlar veya integronlar aracılığıyla) ile bakterilerde esas olarak iki mekanizma ile edinilir. Kromozomal mutasyonun translokasyon sıklığı, mobil genetik elemanlara kıyasla daha azdır (Clementi ve Aquilanti, 2011). Bakteriler arasındaki gen transferi, lateral (horizontal) veya yatay gen transferi olarak adlandırılır. Yatay gen transferi, bakterilerde genetik çeşitliliğin artmasına ve bazı durumlarda antibiyotik direnci gibi özelliklerin yayılmasına neden olabilir (Gevers ve ark., 2003b). Bu transferin başlıca yolları şunlardır:

1. Konjugasyon: Bir bakteri, başka bir bakteri ile doğrudan temas kurarak plazmid adı verilen genetik materyali aktarır.
2. Transformasyon: Bakteriler, çevrelerinden serbest DNA alır ve bunu kendi genomlarına dahil eder.
3. Transdüksiyon: Bakteriyofaj adı verilen virüsler aracılığıyla bir bakteriden diğerine genetik materyal aktarılır (Burmeister, 2015).

Bakteriler bu mekanizmalar aracılığıyla direnç kazandıktan sonra, direnci çevredeki floraya aktarabilir. (Sakamoto ve Konings, 2003; Suzuki ve ark., 2005).

2.7. Probiyotiklerde Antibiyotik Dirençliliği

FDA tarafından GRAS (Güvenli Olarak Kabul Edilen) olarak tanımlanmış mikroorganizmalar probiyotik olarak kullanılmakta olup bu amaçla en yaygın kullanılan laktik asit bakterileridir (Rivera-Espinoza ve Gallardo-Navarro, 2010; Lee ve Salminen, 2009). Son dönemde yapılan çalışmalarda laktobasillerde antibiyotik direnç genleri tespit edilmiştir (Baumgardner, 2021; Li ve ark., 2020). Antibiyotiklere karşı doğal direnç fenotipine sahip olması istenen probiyotiklerin mikroorganizmalar, yatay gen aktarımı için yüksek potansiyel taşımaktadır. Probiyotiklerin plazmitler ve transpozonlar aracılığıyla kazanılmış antibiyotik direnç genlerine sahip olduğu belirlenmiştir. Bu direnç genlerinin probiyotiklerin yaygın kullanılması ile yayılması en önemli tedirgin edici durumlardan birisidir. Bu nedenle, probiyotiklerde kullanılan laktobasillerde antibiyotik direnç genlerinin takip edilmesi gerekmektedir (Huddleston, 2014 ; Li ve ark., 2020). Laktobasillularda vankomisine karşı doğal direnç tespit edilmiştir (Zhou ve ark., 2005; Nawaz ve ark., 2011). Laktik asit bakterilerin bazı türlerinde plazmitlerde kodlanmış ve aktarılabilen direnç genlerinin tespiti de yapılmıştır (Ouoba ve ark., 2008; Zhou ve ark., 2005). İn vitro koşullarda yapılan çalışmada ise fare barsaklarında *Enterococcus*’dan probiyotik *L. acidophilus* suşuna vankomisin direnç genlerinin aktarımı tespit edilmiş ve probiyotik kullanımı ile insan gastrointestinal sisteminde de gen transferinin gerçekleşebileceğini düşündürmektedir (Mater ve ark., 2008).

2.7.1. Glikopeptidlere Direnci

Laktobasillerdeki antibiyotik duyarlılığı türe özgüdür. CLSI yönergelerine göre, laktobasiller, vankomisine karşı intrinsik bir direnç göstermiştir. Laktobasillerin hücre duvarında bulunan peptidoglikan yapısı, glikopeptid antibiyotiklerin hedef aldığı D-alanin-D-alanin sonlanmasını içermeyebilir. Bunun yerine, D-alanin-D-laktat gibi farklı yapılara sahiptir (Goldstein ve ark., 2015). İntrinsik bir direnç mekanizması olduğu için aktarılamaz olarak kabul edilir. Laktobasillerdeki vankomisin direnci, *C. difficile* enfeksiyonu tedavisinde farklı yaklaşımlar gerektirebilir. *L. rhamnosus* GG gibi probiyotiklerin kullanımı, antimikrobiyal tedavilerle birlikte *C. difficile* enfeksiyonu riskini azaltmada etkili olabilir. Bu tür probiyotikler sindirim sisteminde yararlı bakteri popülasyonunu destekleyebilir ve bağışıklık sistemini güçlendirebilir (Surawicz ve akr.,

2013). Bu nedenle, *L. rhamnosus* GG, tekrarlayan *C. difficile* enfeksiyonunun tedavisinde antibiyotik tedavisiyle birlikte uygulanmıştır (Lawrence ve ark., 2005).

2.7.2. Tetrasiklin Direnci

Laktobasillerdeki en çok çalışılan direnç belirleyicilerinden biri, *tet(M)*, *tet(O)*, *tet(Q)*, *tet(W)*, *tet(S)*, *tet(K)*, *tet(36)*, *tet(L)*, *tetZ* ve *tet(O/W/32/O/W/O)* dahil olmak üzere 11 direnç kodlayan genin tanımlanmasıyla tetrasiklin direncidir (Gevers ve ark., 2003b; VanHoek ve ark., 2008). Bu genlerin çoğu, özellikle *tet(K)* ve *tet(L)* olmak üzere plazmit kodludur ve bazıları *tet(M)*, *tet(O)* ve *tet(Q)* gibi plazmit ve kromozomal olarak kodlanır ve direnç mekanizması ribozomal koruma veya dışarı akış pompaları aracılığıyla (Speer ve ark., 1992).

2.7.3. Beta-laktam Direnci

Laktobasillerin hücre duvarında bulunan peptidoglikan yapısının farklılığı, beta-laktam antibiyotiklerin hedef aldığı penisilin bağlayıcı proteinler (PBP'ler) ile düşük afinite göstermesine neden olur. Bu, antibiyotiklerin hücre duvarı sentezini engelleyememesine yol açar. Özellikle *Lactobacillus plantarum* ve *Lactobacillus casei* gibi türlerde yaygındır. Laktobasillerin beta-laktam direnci genellikle plazmidler veya mobil genetik elemanlar aracılığıyla kazanılmış değildir. Direnç, daha çok doğal bir özellik olarak görülür. Beta-laktam antibiyotiklerle ilgili olarak, laktobasiller genellikle penisiline duyarlıdır, ancak sefalosporinlere karşı önemli direnç gösterirler. Örneğin, Gong ve arkadaşları sefalosporin dirençli *L. casei*'yi vajinit için bir tedavi rejimi olarak bildirdiler (Gong ve ark., 2016). Sefalosporin dirençli *L. casei*'nin sefalosporinaz aktivitesine sahip olduğundan şüphelenilmektedir. Belletti ve arkadaşları tarafından yürütülen bir çalışmada, bir peynir türü olan Parmigiano-Reggiano'dan izole edilen Laktobasil suşları Penisilin G'ye direnç göstermiştir (Belletti ve ark., 2009). Büyüyen karın içi apse geliştiren 60 yaşında bir böbrek nakli alıcısı vakasında karbapenem dirençli bir *Lactobacillus casei* bildirilmiştir (Vanichanan ve ark., 2016).

2.7.4. Makrolid Direnci

Laktobasillerde makrolid direnci, bu bakterilerin makrolid grubu antibiyotiklere (ör. eritromisin, klaritromisin, azitromisin) karşı doğal veya kazanılmış bir direnç geliştirmesini ifade eder. Laktobasiller genellikle makrolidlere duyarlıdır, ancak direnç mekanizmaları türler arasında farklılık gösterebilir ve klinik açıdan önem taşıyabilir. *Erm* (*erythromycin ribosomal methylase*) genleri, bakteriyel ribozomun 23S rRNA bölgesini metilleyerek makrolidlerin bağlanmasını engeller. Bu durum, hedef modifikasyonu yoluyla direnç sağlar (Zhou ve ark., 2012; Orhan, 2021)

Eritromisin direncinden sorumlu genler arasında *ermA*, *ermC*, *ermT* ve *ermB* yaygındır. 23S alt biriminde etkili olan rRNA metilazını kodlayan *ermB*, laktobasil cinsinde baskındır (Sharma ve ark., 2016). Hummel ve arkadaşları tarafından *L. salivarius* BFE7441'i içeren bir çalışmada, kromozom kodlayıcısı *ermB* hariç diğerlerinin plazmit aracılı olduğu gösterilmiştir (Hummel ve ark., 2007).

2.7.5. Kinolon Direnci

Laktobasillerde kinolon direnci, bu bakterilerin DNA giraz ve topoizomera IV enzimlerini hedef alan kinolon grubu antibiyotiklere (ör. siprofloksasin, levofloksasin) karşı direnç göstermesini ifade eder. Laktobasillerde kinolon direnci genellikle doğal (intrinsik) bir özelliktir ve hücresel yapı ve metabolik mekanizmalarla ilişkilidir

Kinolon direnci, *gyrA* veya *parC*'nin kinolon direnci belirleme bölgelerindeki (QRDR) mutasyonlardan ve ayrıca laktobasil dahil bakterilerdeki efflux pompalarından kaynaklanır. Efflux pompası aracılı direnç, florokinolonlara dirençli bir NorA benzeri efflux pompası olan *L. fermentum*'da bildirilmiştir. Guo ve diğerlerine göre, kromozomal mutasyona bağlı direnç olduğu için direncin aktarılabilirliği yoktur (Guo ve ark., 2017).

2.7.6. Aminoglikozit Direnci

Aminoglikozitler, bakteriyel ribozomun 30S alt birimine bağlanarak protein sentezini inhibe eder. Ancak laktobasillerde ribozomun yapısal farklılıkları, aminoglikozitlerin bağlanmasını engeller ve doğal dirence yol açar. Aminoglikozitler, bakteriyel hücre zarından geçiş yapabilmek için enerjiye bağlı aktif taşıma sistemlerine ihtiyaç duyar.

Laktobasillerin anaerobik metabolizması, bu aktif taşıma sistemlerinin etkinliğini azaltarak aminoglikozitlerin hücre içine girişini engeller. Aminoglikozit direnci genleri (ör. *aac*, *ant*, *aph*) mobil genetik elemanlar (plazmidler, transpozonlar) aracılığıyla diğer bakterilere aktarılabilir. Laktobasillerde bu genlerin bulunma oranı düşüktür ancak izlenmesi önemlidir (Demir ve ark., 2017; Vaziri ve ark., 2011).

Laktobasillerde aminoglikozit direnci, bu bakterilerin streptomisin, gentamisin, amikasin ve tobramisin gibi aminoglikozit antibiyotiklere doğal ya da kazanılmış mekanizmalar yoluyla direnç göstermesini ifade eder. Çoğu laktobasil türü, aminoglikozitlere karşı doğal (intrinsik) dirençlidir. Bu direnç, hücresel yapı özelliklerinden ve antibiyotiğin hedef mekanizmalarından kaynaklanır. Laktobasillerdeki gentamisin ve kanamisin direnci, gentamisin hem insanlarda hem de hayvanlarda enfeksiyonları tedavi etmek için tercih edilen ilaç olduğundan aşırı dikkatle değerlendirilmelidir. Gentamisin aşırı kullanımı, direncinin büyük çoğunluğunun başlıca nedeni olabilir. Jaimee ve ark. tarafından yapılan çalışmalar, *L. plantarum*'ın sırasıyla gentamisin ve kanamisin direncini gösteren aminoglikozit değiştirici gen *aac* (6')*Ie-aph*(2'')*Ia* ve *aph*(3')*IIIa* 'nın varlığını gösterdiğini kanıtlamıştır (Jaimee ve Halami, 2016).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Gıda Takviyeleri

Lactobacillus spp. içeren probiyotik ürünler belirlenmiş ve eczaneden temin edilmiştir. Çalışmada 11 farklı marka ve sekiz farklı tür içeren probiyotik seçilmiştir (Tablo 3.1).

Tablo 3.1. Çalışmada Kullanılan Probiyotikler

NO	ÜRÜN MARKASI	ÜRÜN AMBALAJ BİLGİLERİ
1	FS22S998	10x10 ⁹ KOB/saşe 5x10 ⁹ KOB/saşe <i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG, 5x10 ⁹ KOB/saşe <i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>Lactis</i> BB-12
2	MPKA2353001	7x10 ⁹ KOB /kapsül <i>Lactobacillus casei</i> , <i>Lactobacillus helveticus</i> R0052, <i>Bifidobacterium animalis</i> ssp <i>lactis</i> B94
3	NPPK2210048	10 x10 ⁹ /kapsül 2.9 milyar <i>Lactobacillus acidophilus</i> , 2.9 milyar <i>Lactobacillus rhamnosus</i> , 2.9 milyar <i>Bifidobacterium longum</i> , 1.3 milyar <i>Saccharomices bholardi</i>
4	BK042310202	3,5 x10 ⁹ KOB/kapsül <i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Lactobacillus rhamnosus</i> , <i>Bifidobacterium longum</i> , <i>Streptococcus thermophilus</i> , 5x10 ⁹ /kapsül <i>Saccharomices bholardi</i>
5	NTBK2210018	45x10 ⁹ KOB/kapsül <i>Lactobacillus bulgaricus</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>Bifidobacteria</i> spp.
6	PDK23B046	10.10 ⁹ KOB/Kapsül <i>Lactobacillus plantarum</i> 299v
7	MD5253	1x10 ⁹ KOB/6 Damla <i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG DSM33156
8	MLG4126	3x10 ⁹ KOB/ Kapsül <i>Lactobacillus gasseri</i> G12
9	BGS23PB010	1x10 ⁸ KOB/Saşe <i>Lactobacillus reuteri</i>
10	VFVK 2023-04 0556	341mg/kapsül <i>Lcr Regenerans</i> (<i>Lactobacillus casei</i> varyantı <i>rhamnosus</i>)
11	KS GXB3IT	6x10 ⁹ KOB/Saşe <i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG

* örneklerin numaraları kullanılacaktır.

3.1.2. Referans Bakteriler

Tez çalışmasında Akdeniz Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Araştırma Laboratuvarı kültür koleksiyonlarından temin edilen *Staphylococcus aureus* ATCC25923, *Escherichia coli* ATCC35218 ve *Escherichia coli* ATCC25922 suşları antibiyotik duyarlılığını belirlemede şahit suşlar olarak kullanılmıştır.

3.1.3. Çalışmada Kullanılan Besiyerleri ve Kimyasallar

Tez çalışması kapsamında kullanılan besiyerleri, katkıları ve kimyasallar Tablo 2’de gösterilmiştir.

Tablo 3.2. Çalışmada kullanılan besiyerleri ve kimyasallar

BESİYERİ ADI	FİRMA
MRS Agar	Biolife
MUELLER-HINTON Agar	Biolife
MRS broth	Biolife

3.1.4. Çalışmada Kullanılan Antibiyotikler

Antibiyotik duyarlılık testleri, ticari olarak temin edilen toplam 14 adet antibiyotik disk (BIOANALYSE) kullanılarak yapılmıştır. Antibiyotikler ve disk konsantrasyonları Tablo 3.2’de gösterilmiştir.

Tablo 3.3. Çalışmada kullanılan antibiyotikler ve disk konsantrasyonları

	ANTİBİYOTİK	KATALOG NUMARASI	DİSK
			KONSANTRASYONU (µg/disk)
1	Kanamisin	ASD04700	K30
2	Ampisilin	ASD00200	AM10
3	Gentamisin	ASD04300	CN10
4	Klindamisin	ASD03310	DA2
5	Sefazolin	ASD01300	CZ30
6	Sefoksitin	ASD01900	FOX30
7	Siprofloksasin	ASD03000	CIP5
8	Vankomisin	ASD09400	VA30
9	Tetrasiklin	ASD08900	TE30
10	Rifampin	ASD07800	RA5
11	Eritromisin	ASD03700	E15
12	Penisilin G	ASD07400	P10
13	Kloramfenikol	ASD02800	C30
14	Streptomisin	ASD08400	S10

3.1.5. Stok Kültürlerin Hazırlanması

Tez çalışması kapsamında probiyotik gıdalardan izole edilen *Lactobacillus* spp. izolatları %20 oranında steril gliserol içeren MRS broth ortamlarında -20°C’de muhafaza edilmiştir.

Lactobacillus spp. suşları MRS broth ortamında, aerobik şartlarda 37°C’de 18-24 h geliştirilmiştir.

3.2. Yöntem

3.2.1. Örneklerin Analize Hazırlanması

Tablet, kapsül veya saşe formunda satış yerlerinden temin edilen probiyotik gıda takviyeleri serum fizyolojik ile homojenize edilmiştir. Probiyotik gıdalar kapakları aseptik koşullara dikkat edilerek açılmış ve steril kaplarda ürün etiketine uygun miktarlarda kapsül/saşe/damla alınarak üzerine 5 mL serum fizyolojik ilave edilerek cam boncuk ile homojenize edilmiştir. Homojenizasyon işleminin ardından serum fizyolojik ile seri dilüsyonları hazırlanmıştır. 10^4 , 10^5 , 10^6 dilüsyonlar hazırlanmıştır. 100 mikrolitre alınmış ve MRS besiyerine ekim yapılmıştır.

3.2.2. Laktobasillus Türlerinin MALDI-TOF MS ile Moleküler Tanımlanması

MALDI-TOF MS (Matriks assisted laser desorption ionization time of flight massspectrometry) mikroorganizmaların tanımlanmasında kullanılan ucuz, hızlı ve doğru sonuç veren bir sistemdir. Mikroorganizmalara ait büyük organik moleküllerin (polimer, dendrimer, makromolekül) ve biyomoleküllerin (protein, peptid, şeker) iyonize edildikten sonra elektrik ve/veya manyetik alandan geçirilerek protein profilleri çıkarılmaktadır. Cins ve tür bazında tanımlayabilmektedir. Her organizmaya özgül olan proteinlerden parmak izi oluşturmakta, bu sayede bakteri ve mantar tanımlaması yapılabilmektedir. İzolatlar, (Anisimova ve Yarullina, 2018) bir MALDI Biotyper sistemi (Bruker Daltonics, Bremen, Almanya) kullanılarak tanımlanmıştır. Üreticinin önerilerine göre elde edilen kütle spektrumları, entegre veritabanındaki (sürüm 3.2.1.1) referans spektrumlarla karşılaştırılmış ve ortaya çıkan benzerlik değerleri log puanları olarak ifade edilmiştir. Standart Bruker yorumlama kriterlerine göre, güvenilir tür tanımlaması için $\geq 2,0$ puanlar, güvenilir cins tanımlaması için $\geq 1,7$ puanlar ve $< 1,7$ puanlar tanımlama için güvenilir kabul edilmemiştir (Anderson ve ark., 2014) .



Şekil 3.1. MALDI-TOF Kütle spektrometresi cihazı

3.2.3. Probiyotik Gıda Takviyelerinde Canlı Probiyotik Sayısının Belirlenmesi

Probiyotiklerden *Lactobacillus* spp. suşlarının üründeki sayısı tespit edilmeye çalışılmıştır. Bu amaç için analize alınan probiyotik ürünler etiket bilgilerine dikkat edilerek içeriğinde *Lactobacillus* spp. suşlarının bulunduğu ürünler tercih edilmiştir. Ürün ambalaj bilgisine dikkat edilerek (kapsül ya da damla) 5 ml serum fizyolojik içerisine dağıtılmıştır. Üç kez dilüsyon yapılmıştır. MRS agar besiyerine yayma kültürel sayım yöntemi kullanılarak ekimler yapılmıştır. 37°C’de 24-48 saat inkübasyona bırakılan petrilere 30-300 koloni bulunduranlar dikkate alınarak canlı hücre sayımı yapılmış ve sonuçlar KOB/g veya KOB/mL olarak hesaplanmıştır (Todorov ve ark., 1999).

3.2.4. Antibiyotik Dirençlilik Düzeylerinin Saptanması

Disk Difüzyon Yöntemi: Bakteri süspansiyonu 0.5 McFarland bulanıklığına eş hazırlanıp petriye yayılır. Kombinasyon etkisi araştırılan iki antibiyotiğin diskleri yan yana aralarında 25 mm olacak şekilde yerleştirilir. İnkübasyon sonrası değerlendirmede bakterileri duyarlı, orta veya dirençli olarak kategorize ederek nitel sonuçlar sağlar (Balouiri ve ark., 2016).

E-test Yöntemi: E-test, antimikrobiyal duyarlılık testleri içinde kantitatif olan bir yöntemdir. Rutin kullanıma çok uygundur, pratik ve kolay uygulanabilir. Dilüsyon ve difüzyon testlerinin kombinasyonudur. MİK değeri belirlenebilir. E-test kullanılarak elde edilen MİK değerleri birçok antibiyotik ve bakterinin agar veya broth dilüsyon ile elde edilen MİK değerleriyle korelasyon göstermektedir (Baker ve ark., 1991; Van Dyck ve ark., 1994).

Bauer ve ark (1966) tarafından önerilen antibiyotik disk difüzyon yöntemi modifiye edilerek antibiyotik duyarlılık düzeylerinin belirlenmesinde kullanılmıştır. Test edilecek izolatların gelişme koşullarına dikkat edilmiş, 24-48 saat geliştirilmiş ve daha sonra kültürlerin hücre yoğunluğu 0.5 McFarland bulanıklığına eş olarak ayarlanmıştır. *Lactobacillus* spp. suşları için 10 mL’lik MRS broth besiyerine inokülasyon yapılmıştır. Aynı ayrı hazırlanan 90 mL’lik Mueller-Hinton Agar ortamları dökme sıcaklığına gelince (45°C) bu ortama, aynı ayrı hücre yoğunluğu 1×10^6 KOB/mL düzeyinde ayarlanmış kültür içeren 10 mL’lik MRS broth inoküle edilmiştir. 2 ayrı petri plağına eşit miktarlarda ve homojen bir şekilde dağıtılmıştır. Agar katılaştıktan sonra her plağı 7 adet antibiyotik diski yerleştirilerek 37°C’de 24-48 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır. Disk difüzyonu için, 14 farklı antibiyotik kullanılmış olup, bu antibiyotikler ticari olarak temin edilmiştir. İnkübasyon süresinin sonunda antibiyotik disklerinin etrafında oluşan zonların çapı cetvel yardımıyla ölçülmüştür. Ölçülen zon çapları Charteris vd. (1998) ile Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI 2003) tarafından bildirilen standartlara göre duyarlı (S), az hassas (I) ve dirençli (R) olarak değerlendirilmiştir. Çalışmamızda kullanılan antibiyotik disklerine ait duyarlılık sınırları Tablo 3.4 ve Tablo 3.5’te gösterilmiştir.

Tablo 3.4. Laktik asit bakterilerinin antibiyotik duyarlılık sınırları

ANTİBİYOTİKLER	ZON ÇAPI (mm)		
	Duyarlı	Az Hassas	Dirençli
Ampisilin	≥16	13-15	≤12
Penisilin G	≥28	20-27	≤19
Sefazolin	≥18	16-17	≤15
Sefoksitin	≥18	15-17	≤14
Kloramfenikol	≥18	14-17	≤13
Siprofloksasin	≥19	14-18	≤13
Klindamisin	≥12	9-11	≤8
Eritromisin	≥18	14-17	≤13
Gentamisin	≥13	-	≤12
Kanamisin	≥18	14-17	≤13
Streptomisin	≥15	12-14	≤11
Rifampin	≥18	15-17	≤14
Tetrasiklin	≥19	15-18	≤14
Vankomisin	≥17	15-16	≤14

Tablo 3.5. İmipenem MİK değerleri (mg/mL)

NO	MİK Değeri
1	12
2	R
3	0.19
4	0.25
5	3
6	R
7	4
8	0.094
9	R
10	4
11	R

3.2.5. İnaktivasyon Testi

İnaktivasyon varlığı Gots' testi ile test edilmiştir. *Micrococcus luteus* 9341 indikatör bakteri olarak kullanılmıştır. Disk difüzyon testi yapar gibi 0,5 McFarland *M. luteus* 2xYT agar üzerine inoküle edilmiştir. Etüvde 10-15 dakika kurutulduktan sonra 2 µg klindamisin ve 10 µg imipenem içeren antibiyotik diski besiyerinin ortasına konulmuştur. MRS Broth kullanılarak hazırlanan gecelik kültürden alınan bakteriler çizgi halinde petri kenarından antibiyotik diskine doğru çizgi şeklinde ekilmiştir. Antibiyotik etkisiyle oluşan inhibisyon zonunda, test edilen bakteriler eğer inaktive eden enzim sentezliyorlarsa bir küçülme sözkonusu olur. Çünkü inaktivasyon etkisiyle o bölgede antibiyotik kalmadığından *M. luteus* çoğalabilir.

2xYT Agar	1000 ml İçin
Tryptone	16 gr
Yeast Ekstrakt	10gr
NaCl	5gr
Distile Su	

3.2.6.Yapılan Moleküler Çalışmalar

Total DNA Ekstraksiyonu

DNA ekstraksiyonu için aşağıdaki yöntem uygulanmıştır:

- 1,5 ml’lik eppendorf tüpüne alınan gecelik sıvı kültür 5 dk. 10000 rpm’de santrifüj edilmiştir.
- Üst sıvı atılarak, pellet 100 µl TES (50 µl 1M Tris (pH:8), 25 µl 0,25 M EDTA (pH:8), 700 µl %50’lik süktroz 5 ml’e tamamlanır.) eklenip homojenize edilmiştir.
- Bakteri süspansiyonu üzerine 16 µl lizozim (20 mg/mL) ve 5 µl RNAze (10mg/mL) eklenerek karıştırılmış ve 37° C’de 30 dakika inkübasyona bırakılmıştır.
- 2 µl proteinaz K (5mg/mL) eklenip karıştırılmış ve 50°C’de 30 dk inkübe edilmiştir.
- Volume/volume Fenol-Kloroform-İzoamilalkol karışımı eklenip iyice karıştırılmıştır ve >10000 rpm’de 5 dk’da +4 °C’de santrifüj edilmiştir.
- Üst faz yeni bir eppendorfa alınarak 1/10 volume Na-Asetat (3 M pH 5,0) eklenerek karıştırılmıştır.
- V/V %100’lük 100 µl izopropanol eklenmiştir ve -20 °C’de 15 dakika bekletilmiştir.
- >10000 rpm’de 20 dk +4 °C’de santrifüj edilmiştir.
- Pellet bozulmadan supernatant dikkatlice uzaklaştırılmış ve üzerine %70’lik etanol eklenerek >10000 rpm’de 5 dakika +4°C’de santrifüj edilmiştir.
- Üst sıvı atılıp kuruyuncaya kadar bekletilmiştir.
- Pellet kuruduktan sonra 50 µl TE solüsyonu (10 mM Tris hidroklorid (pH 7,5) ve 0,1 mM EDTA) eklenmiştir.

Plazmid izolasyonu

- MRS besiyerindeki gecelik kültürler 10 dakika 5000 rpm’de santrifüj edilmiş ve üst kısmı atılarak pelletlere 200µl TEG (Tris-HCl 50 mM pH: 8, EDTA 10 mM, glukoz 100 mM), 20 µL lizozim ve 2 µL RNAze (10 mg/mL) eklenmiştir. 37 °C’de 30 dakika inkübe edilmiştir.
- 0.2 NaOH 300 µL alkali lizis solüsyonu (1 ml SDS %20, 8 ml NaOH 0.5 N, 11 ml su) eklenerek tüp alt-üst edilerek 5 kez iyice karıştırılmıştır. Tüpler buzun içinde 5 dakika bekletilmiştir.
- 200 µl soğuk çözelti (30 g potasyum asetat, 70 ml su pH:5) eklenmiştir ve tüpler buzda 5 dakika bekletilmiştir.
- 13000 rpm de 5 dakika +4 °C’de santrifüj edilmiştir. Süpernatant temiz bir tüpe aktarılmıştır.
- Eşit hacimde fenol:kloroform eklenmiş ve 5 dakika 13000 rpm’de santrifüj edilmiştir. Süpernatant temiz bir tüpe alınmıştır.
- Süpernatant üzerine iki hacim izopropanol eklenerek oda sıcaklığında 30 dakika bekletilmiştir.
- 13000 rpm’de 15 dakika santrifüj edilerek plazmid DNA çöktürülmüştür.
- Pelet 100 µL 125 mM Tris-HCl ve 300 mM sodyum asetat süspanse edilmiştir.
- 200 µl %95 etanol eklenmiştir ve 30 dakika oda sıcaklığında beklenmiştir. 10 dakika santrifüj edilmiştir.
- Pellet iyice kurutulmuştur ve 15 µL 50 mM Tris-HCl içinde yeniden süspanse edilmiş ve -20 °C de saklanmıştır.

3.2.7.Direnç Genlerinin Araştırılması

PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)

Polimeraz zincir reaksiyonu için A300 Fast Gradient Thermal Cycler ve Thermo Shaker markalı cihazlar kullanılmıştır. Reaksiyonun gerçekleşmesi için Taq DNA polimeraz (5U/ul), 25 mM MgCl₂, 10X Taq Buffer (100 mM Tris-HCl, pH 8,3, 500 mM KCl), 100 mM deoksinükleotid trifosfat (dNTP) seti (dATP, dCTP, dGTP, dTTP) kullanılmıştır.

PCR, tablo 3.6.' da gösterilen direnç genlerine spesifik primerlerle yapılmıştır.

Tablo 3.6. Çalışmada kullanılan primerlerin listesi

Hedef Gen	Primer çift dizisi	
<i>ermA</i>	F:TCTAAAAAGCATGTAAAAGAA R:CTTCGATAGTTTATTAATATTAGT	(Feng ve ark., 2016)
<i>ermB</i>	F:GAAAAGGTACTCAACCAAATA R:AGTAACGGTACTTAAATTGTTTAC	(Feng ve ark., 2016)
<i>ermC</i>	F:TCAAAACATAATATAGATAAA R:GCTAATATTGTTTAAATCGTCAAT	(Feng ve ark., 2016)
<i>aac(6')-Ie-aph(2'')-Ia</i>	F:CCAAGAGCAATAAGGGGCATA R:CACTATCATAACCACTACCG	(Van De Klundert ve Vliegenthart, 1993)
<i>linA</i>	F:GTATTAAGTGGAAAACAGCAAAG R:CAGCTTCTTTTGAAATACATGG	(Petinaki ve ark., 2008)
<i>linB</i>	F:TACAGCTTGTATGATGTAATGG R:AAGGCTAATTTCTTTTCAAG	(Petinaki ve ark., 2008)
<i>armA</i>	F:GGTGCGAAAACAGTCGTAGT R:TCCTCAAAATATCCTCTATGT	(González-Zorn ve ark., 2005)
<i>rmtB</i>	F:GAGACACCGATGAACATC R:CCTTCTGATTGGCTTATC	(Ayad ve ark., 2016)

Örneklerden Ubukata (Kick Out) ile DNA izolasyonu yapılmıştır. 100 µl ubukata lizis solüsyonu içeren eppendorf tüplere örnekler agardan özeyle alınarak eklenmiştir. Termal blokta önce 60°C'de 10 dakika, sonra 90°C'de 5 dakika bekletilmiş ve vortekslenerek daha sonra kullanılmak üzere -20°C'de saklanmıştır.

Kick out

Tris-HCl pH 7.5	1ml
Tween 20	22.5µl
IPEGAL CA630	22.5µl
Proteinaz K 10mg/ml	220 µl
dH2O	8.755ml

Soğutucuda muhafaza edilmiş ve parçalanmış olan bakteri hücreleri çıkartılıp, 13.000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilmiş ve mixlerle birlikte çalışılacak olan steril kabine alınmıştır. Ardından tüpler örnek adedi kadar numaralandırılıp, her bir direnç geni için PCR reaksiyon karışımı 50 µl olacak şekilde ayarlanmıştır. Daha sonra, santrifüj edilen örneklerin supernatant kısımlarından 1'er µl alınıp, ilgili tüplere eklenmiş ve ağızları

sıkıca kapatılmıştır. Hazırlanan tüpler daha sonra termal döngüleme cihazına yüklenip programlanmıştır. Program basamakları Tablo 3.7’de gösterildiği gibidir:

Tablo 3.7. PCR işlemine ait ısı döngü ve süre diyagramı

Reaksiyon Basamağı	Döngü Sayısı	Sıcaklık (°C)	Süre (Dakika)
Bekletme	1	95	7
Denatürasyon	35	94	0.5
Bağlanma	35	50	0.5
Uzama	35	72	1
Bekletme	1	72	8
Bekletme	1	12	∞

Tablo 3.8. PCR solüsyonu

Kimyasal	Miktar (µl)
10x Buffer	60
MgCl ₂	48
dNTP	12
R Primer	2.4
F Primer	2.4
Taq DNA Polimeraz	3.6
Distile Su	471.6
Toplam Hacim	600 µL

Elektroforez

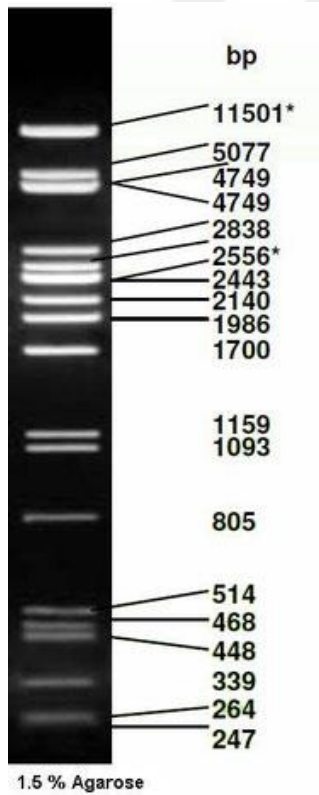
Elektroforez işlemi Thermo marka elektroforez tankında gerçekleştirilmiştir.

Elektroforez jelinin hazırlanması: Hassas terazide 1.5 gr. agaroz tartılıp, 500 ml’lik bir şişe içerisine konulmuştur. Ardından 100 ml ölçülen TBE solüsyonu, şişe içerisindeki agarozun üzerine ilave edilerek, karıştırılmış ve sonra mikrodalga fırında yaklaşık 3-5 dk. kaynatılan karışım, çeşme suyu altında 40-50°C’ye kadar soğutulmuştur. Halen sıvı halde olan karışım, jel kalıbının içerisine yavaşça, kabarcık bırakmayacak şekilde dökülmüş ve içerisine yükleme kuyucuklarını oluşturacak olan taraklar yerleştirilerek, 15–20 dk. oda ısısında soğumaya bırakılmıştır. Soğutulan jel, kalıptan çıkarılarak, elektroforez tankına dikkatlice yerleştirilmiştir.

TBE (Tris, Borik Asit, EDTA) Solüsyonu

10x TBE (Stok Solusyon): 108g Tris Base, 55g borik asit ve 9.3g EDTA karıştırılarak distile su ile hacim 1000 ml'ye tamamlanmış ve 121 C°'de 15 dakika steril edilmiştir. pH 8,0'e ayarlanarak buzdolabında saklanmıştır.

PCR ürünleri %1.5'lik agaroz jele yüklenerek yürütülmüştür. Elektroforez tankına jel tarakları yerleştirilmiş ve tek harekette jel tanka dökülmüştür. Jel polimerleştikten sonra taraklar dikkatli bir şekilde uzaklaştırılmıştır. Jelin üstüne tankta belirtilen seviyeye kadar 0.5x TBE tamponu eklenmiştir. İlk çukura 7 µl marker yüklenmiştir. Ardından diğer kuyulara 6x yükleme boyası ve PCR ürünü karışımından 10 µl yüklenmiştir. Elektroforez güç kaynağının artı (+) ve eksi (–) kutupları dikkatlice yerleştirilmiştir. Örnekler 100 voltta 30 dakika süre ile yürütülmüştür. Jel dökümantasyon sistemi ile DNA bantları görüntülenip bilgisayar ortamında analiz edilmiştir. Şekil 3.2.'de elektroforezde kullanılan DNA marker gösterilmiştir.



Şekil 3.2. Elektroforezde kullanılan DNA marker

3.2.8. Bakteriler Arasında Genetik Madde Aktarımı

Konjugasyon

Konjugasyon, bakteriler arasında genetik materyalin, özellikle plazmidlerin, doğrudan bir hücreden diğerine transfer edilmesi sürecidir. Bu süreç, bakteriyel genetik çeşitliliğin artmasına ve bazı genetik özelliklerin (örneğin, antibiyotik direnci) bir bakteriden diğerine geçmesine olanak tanır. Konjugasyon yöntemiyle direnç geninin mobil bir genetik eleman üzerinde olup olmadığı araştırılmıştır. Bu amaçla alıcı suş olarak *Enterococcus faecalis* JH2-2 kullanılmıştır., EUCAST'e göre MİK değerleri dikkate alınarak gentamisin (64 µg/ml), eritromisin (20 µg/ml), rifampisin (100 µg/ml), vankomisin (4 µg/ml), meropenem (16 µg/ml), siprofloksasin (16 µg/ml) ve azitromisin (64 µg/ml) hazırlanmıştır. Çalışılan laktobasillerin izolatından, *Enterococcus faecalis* JH2-2'e direnç genini alıp alamadığı konjugasyon yöntemiyle test edilmiştir. Her iki bakteri de besiyerine inoküle edilmiş ve bir gecelik inkübasyona bırakılmıştır. Gecelik inkübasyonun ardından alıcı suştan 1 ml, verici suştan 1 ml alınarak steril eppendorf tüpü içine konulmuş ve 5 dakika 10000 rpm hızda santrifüj edilmiştir. Süpernatant atılmış ve pellet PBS de süspanse edilerek xYT agar üzerine 100 µl ekilmiştir. 37°C'de 24 saatlik inkübasyon sonucunda üreyen bakteri topluluğu üzerine bir miktar steril distile su konularak öze yardımı ile karıştırılıp, pipet yardımıyla toplanarak transkonjugantların seçimi için antibiyotikli besiyerine yayılmak üzere alınmıştır. Tüm örnekler vankomisin, 2 ve 5 numaralı örnekler gentamisin, 9 numaralı örnek meropenem, 10 numaralı örnek eritromisin, 3 numaralı örnek siprofloksasin içeren besiyerlerine ekilmiştir.



Şekil 3.3. Laktobasillus verici suşu ile *E. faecalis* JH2-2 alıcı suşunun agar üzerine inokülasyonu

Transformasyon Deneyi

Transformasyon yöntemlerinden biri olan elektroporasyon ile gen aktarımı, hücre zarına kısa elektrik uygulanıp, hücre zarının geçirgen hale gelmesi ile genetik materyalin hücre içine girmesini sağlayan bir yöntemdir (Shi ve ark., 2018).

- *E. faecium* HM1070 suşu ekilmiş plaktan gecelik kültür için tek koloni 2xYT'ye inoküle edilerek 37 °C' de inkübasyona bırakılmıştır.
- Ertesi gün 50 ml sıvı besiyerine (TSB) 1 ml gecelik kültürden inoküle edilmiş ve 37 °C' de 2-3 saat inkübasyona bırakılmıştır (log fazı için)
- Daha sonra hücreler 20 dk buzda bekletilmiştir.
- +4 °C, 5000 rpm, 10 dk' da santrifüj edilmiş, süpernatant atılıp, pellet üzerine 10 ml soğuk dH₂O eklenerek homojenize edilmiştir. Bu basamak 2 kez yapılmıştır.
- +4 °C, 5000 rpm, 10 dk' da santrifüj edilmiş, süpernatant atılıp 10 ml soğuk %10' luk gliserollü su eklenmiştir. Bu basamak 2 kez yapılmıştır.
- +4 °C, 5000 rpm, 10 dk' da santrifüj edilmiş, süpernatant atılıp pellet üzerine 1 ml gliserollü su eklenmiştir.
- Pipetle nazikçe homojenize edilip buz içerisinde eppendorf tüplere 100'er µl aktarılmıştır.
- 2 ve 7 numaralı örneklerden 10'ar µl buz içerisinde eppendorf tüplere eklenmiştir. Bu örnekler sonrasında elektroporasyon küvetine konulup cihaza yerleştirilmiştir. Gene Pulser II with Pulse Controller (Biorad) cihazına; 0,1 cm küvet, 25 µF, 200

Ω , 1.8 kV (1800 watt) elektroporasyon koşulları ayarlanmıştır. Sırası ile küvetler konularak elektroporasyon işlemi yapılmıştır.

- Üzerine 1ml xYT konularak örnekler eppendorfa alınmıştır. Besiyeri eklenip 37°C’de 1 saat inkübe edilmiştir.
- Daha sonra *E.faecium* HM1070 suşu için uygun konsantrasyonlarda vankomisin, gentamisin, eritromisin, meropenem, siprofloksasin içeren xYT besiyerine 2 ve 7 numaralı örneklerden ekilmiş ve 37 °C’de otoklava yerleştirilmiştir.

3.2.9. Plazmit Sekans Analizi

Plazmit izole edilen 8 numaralı örneğin ham veri seti uzunluğu; 10,491,050 bp okuma içeriyordu. Okumaların kalite kontrolü için FASTQC aracı kullanılmıştır. QC’den geçen read sayısı 5,245,525 bp, Total bases 779.6 Mbp ve % GC 41’dir. Kalite kontrolü sağlanan okumalardaki adaptör ve sekanslama aracının gereksiz dizileri Trimmomatic ile kırılmıştır. Trimmomatic sonucu 5,160,809 bp okuma montajlama için kullanılmıştır. Montajlama metaSPAdes - v3.15.3 kullanılarak parametre olarak en küçük contig büyüklüğü 1000 bp olacak şekilde yapılmıştır. Assembly sonucu 46 contig bulunmuştur. Contiglerdeki antibiyotik direnç geni ve virülans genlerinin araştırılması için sırasıyla ResFinder ve VirulenceFinder araçları kullanılmıştır. Contigler BLAST analizi yapılarak tanımlanmıştır. Plazmitin içerdiği genler Rasttk anotasyon aracı kullanılarak tanımlanmıştır. Plazmitin genom haritası SnapGene viewer 5.3.2 kullanılarak görselleştirilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Probiyotik Gıdalardan Laktobasillerin İzolasyonu

11 çeşit probiyotik gıda takviyesi (kapsül, şase veya damla formunda) tez çalışması kapsamında temin edilmiştir. Tablo 3.1’de tez çalışmasında kullanılan probiyotik gıda takviyelerinin harflerle kodlanmış markası, ürün ambalaj bilgileri ve ürünün ambalajında yer alan probiyotik mikroorganizma ile ilgili bilgiler verilmiştir.

Analize alınacak probiyotik gıda takviyelerinin belirlenmesinde laktobasil türü içeren ürünlerin seçilimine dikkat edilmiştir. Çalışmada 11 probiyotik gıda takviyesi örneğinin ambalaj bilgileri incelendiğinde altı tanesi sadece laktobasil türlerini içerirken diğer örnekler laktobasil ve probiyotik olarak kullanılan diğer bakterileri içermektedir. Örneklerin etiket bilgisinde probiyotik mikroorganizma sayısı ve içeriği cins ve tür düzeyinde belirtilmiştir. Tez çalışmasında kullanılan probiyotik gıda takviyelerin canlı hücre sayımları ile ürün ambalaj bilgileri Tablo 4.1’de ve Laktobasillus suşlarına ait petri ortamları Şekil 4.1.’de gösterilmiştir.



Şekil 4.1. MRS Agarda Laktobasillus kolonileri

Tablo 4.1. Probiyotik gıda takviyelerindeki canlı hücre sayımları

	Ürün Markası	Ürün Ambalaj Bilgileri	Sayım Sonucu
1	FS22S998	10x10 ⁹ KOB/saşe 5x10 ⁹ KOB/saşe <i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG, 5x10 ⁹ KOB/saşe <i>Bifidobacterium animalis</i> subsp. <i>Lactis</i> BB-12	400x10 ⁹ /saşe
2	MPKA2353001	7x10 ⁹ KOB /kapsül <i>Lactobacillus casei</i> , <i>Lactobacillus helveticus</i> R0052, <i>Bifidobacterium animalis</i> ssp <i>lactis</i> B94	4x10 ⁹ /kapsül
3	NPPK2210048	10x10 ⁹ /kapsül 2.9 milyar <i>Lactobacillus acidophilus</i> , 2.9 milyar <i>Lactobacillus rhamnosus</i> , 2.9 milyar <i>Bifidobacterium longum</i> ,1.3 milyar <i>Saccharomices bholardi</i>	11x10 ⁷ /kapsül
4	BK042310202	3.5x10 ⁹ KOB/kapsül <i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Lactobacillus rhamnosus</i> , <i>Bifidobacterium longum</i> , <i>Streptococcus thermophilus</i> , 5x10 ⁹ /kapsül <i>Saccharomices bholardi</i>	3.3x10 ⁹ /kapsül
5	NTBK2210018	45x10 ⁹ KOB/kapsül <i>Lactobacillus bulgaricus</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>Bifidobacteria</i> spp.	85x10 ⁹ /kapsül
6	PDK23B046	10x10 ⁹ KOB/kapsül <i>Lactobacillus plantarum</i> 299v	15x10 ⁶ /kapsül
7	MD5253	1x10 ⁹ KOB/6 damla <i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG DSM33156	1x10 ⁶ /6 damla
8	MLG4126	3x10 ⁹ KOB/ kapsül <i>Lactobacillus gasseri</i> G12	5x10 ³ /kapsül
9	BGS23PB010	1x10 ⁸ KOB/saşe <i>Lactobacillus reuteri</i>	5x10 ⁴ /saşe
10	VFVK202304 0556	341mg/kapsül <i>Lcr Regenerans</i> (<i>Lactobacillus casei</i> varyantı <i>rhamnosus</i>)	1x10 ⁶ /kapsül
11	KSGXB3IT	6x10 ⁹ KOB/saşe <i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG	1x10 ⁷ /saşe

4.2.Laktobasil Suşlarının Moleküler Düzeyde Tanımlanması

Laktobasil türlerinin moleküler düzeyde tanımlanması MOLDI TOF-MS cihazı ile yapılmış olup, ürün ambalaj bilgileri ve sonuçları Tablo 4.2’de karşılaştırılmıştır.

Tablo 4.2. Laktobasil türlerinin moleküler tanımlanması

	Ürün Markası	Tanı Sonuçları	Ürün Ambalaj Bilgileri
1	FS22S998	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG,
2	MPKA2353001	<i>Lactobacillus paracasei</i>	<i>Lactobacillus casei</i> <i>Lactobacillus helveticus</i> R0052
3	NPPK2210048	<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Lactobacillus rhamnosus</i>
4	BK042310202	<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Lactobacillus rhamnosus</i> ,
5	NTBK2210018	<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Lactobacillus rhamnosus</i>
6	PDK23B046	<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Lactobacillus plantarum</i> 299v
7	MD5253	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG DSM33156
8	MLG4126	<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Lactobacillus gasseri</i> G12
9	BGS23PB010	<i>Lactobacillus reuteri</i>	<i>Lactobacillus reuteri</i>
10	VFVK2023-04 0556	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	<i>Lcr Regenerans</i> (<i>Lactobacillus casei</i> varyantı <i>rhamnosus</i>)
11	KS GXB3IT	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG

MPKA2353001, NPPK2210048, NTBK2210018 ve MLG4126 probiyotik takviyesinde ambalaj bilgisine göre laktobasillusun farklı suşu tespit edilmiştir. BK042310202 probiyotik takviyesinde laktobasillus bulunamamıştır.

4.3.Laktobasil Suşlarının Antibiyotik Duyarlılık Düzeyleri

Probiyotiklerden izole edilen laktobasil suşlarının disk diffüzyon yöntemi ile antibiyotik duyarlılık düzeyleri Tablo 4.3'te ve agar ortamındaki zon görüntüleri ise Şekil 4.2'de verilmiştir.

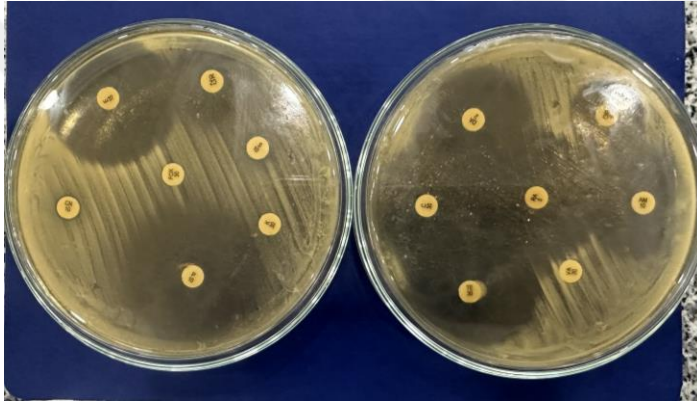
Tablo 4.3. İzole edilen laktobasillerin antibiyotik duyarlılıkları. R Dirençli, S hassas ve I az hassas

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Kanamisin	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R
Gentamisin	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R
Streptomisin	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Klindamisin	S	S	I	S	S	S	S	S	S	R	R
Eritromisin	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S
Ampisilin	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Penisilin G	I	S	I	S	S	S	S	I	R	S	S
Sefazolin	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S
Sefoksitin	R	S	R	S	R	S	R	S	R	R	R
Siprofloksasin	S	R	R	R	I	R	I	R	R	R	I
Rifampin	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Kloramfenikol	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Vankomisin	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R
Tetrasiklin	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S

Laktobasillus suşlarının %100'ü streptomisine, %90.9'u kanamisin, gentamisin ve vankomisine, %18.1'i klindamisin ve sefazoline, %63.6'sı sefoksitin ve siprofloksasine, %9'u eritromisin ve penisilin G'e dirençli olduğu tespit edilmiştir.

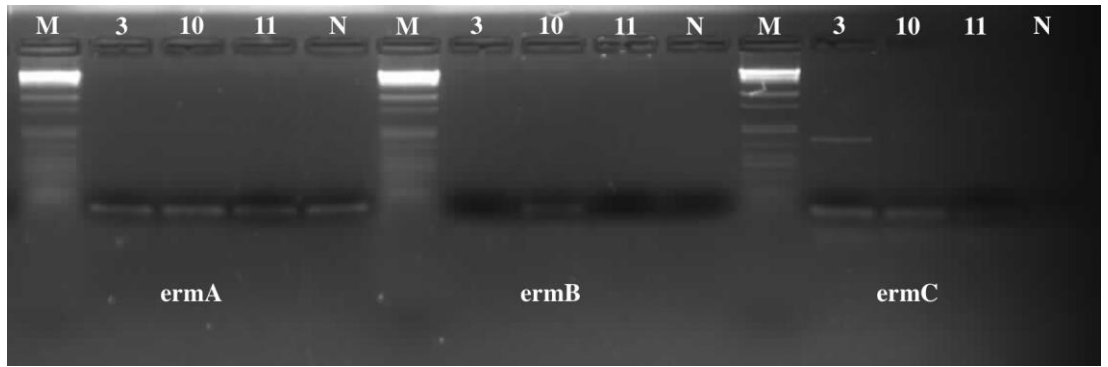
Laktobasillus suşlarının %27.2'si siprofloksasin ve penisilin G'e, %9'u klindamisine az hassas olduğu tespit edilmiştir.

Laktobasillus suşlarının ampisilin, sefazolin, tetrasiklin, rifampin ve kloramfenikole %100 duyarlı bulunmuştur.



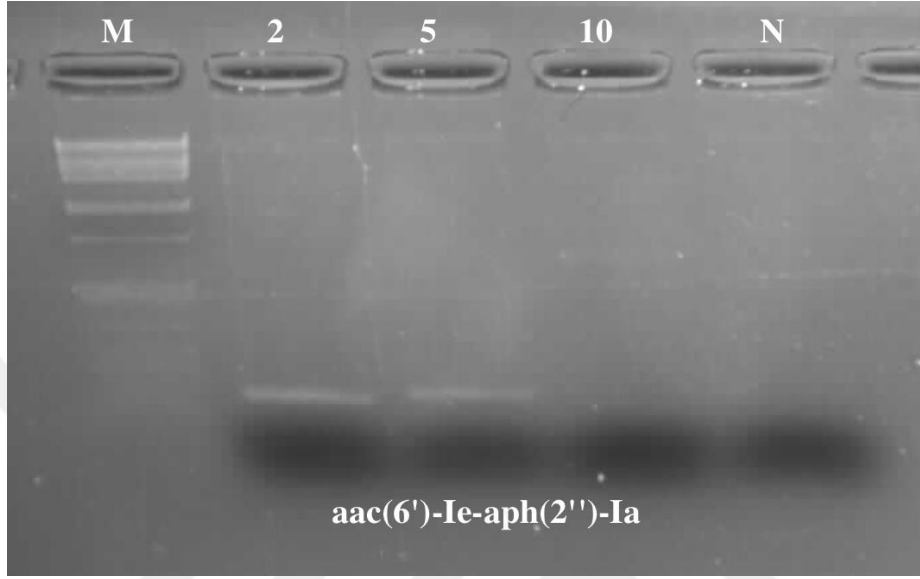
Şekil 4.2. Laktobasil suşunun antibiyotik zon görünümü

4.4. PCR Sonuçları



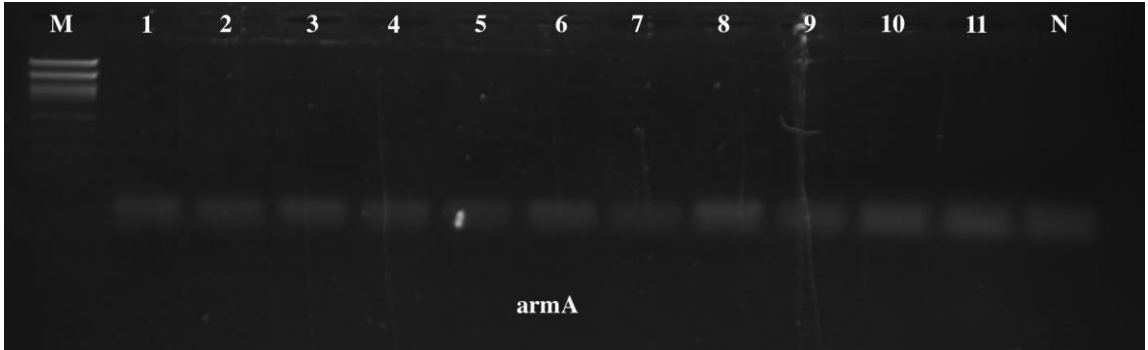
Şekil 4.3. 3, 10 ve 11 numaralı örneklerde *ermA*, *ermB* ve *ermC* için spesifik primerlerle yapılan PCR görüntüsü (M: marker, N: negatif kontrol)

Şekil 4.3'te görüldüğü gibi 3, 10 ve 11 numaralı örneklerde *ermA*, *ermB* ve *ermC* için spesifik primerlerle yapılan PCR sonucunda bu direnç genleri negatif çıkmıştır



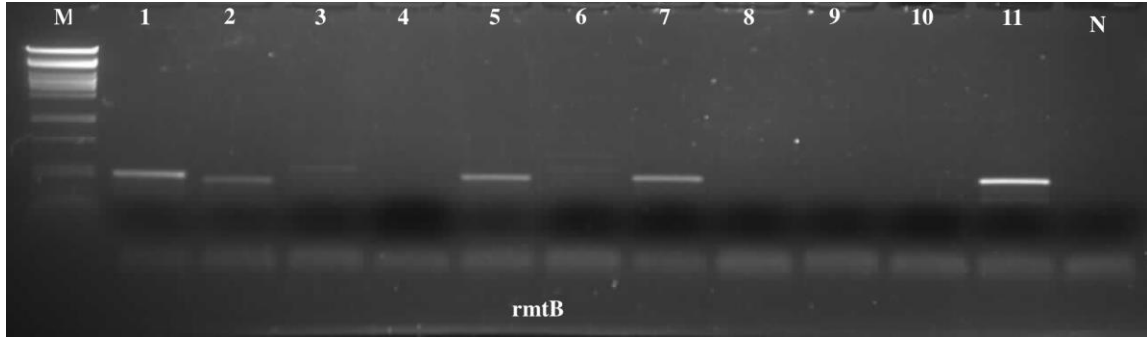
Şekil 4.4. 2, 5 ve 10 numaralı örneklerde *aac(6')-Ie-aph(2'')-Ia* için spesifik primerlerle yapılan PCR görüntüsü 2 ve 5 numaralı suşlar pozitif, 10 ise negatif bulunmuştur. (M: marker, N: negatif kontrol)

Şekil 4.4'de görüldüğü gibi 2, 5 ve 10 numaralı örneklerde *aac(6')-Ie-aph(2'')-Ia* için spesifik primerlerle yapılan PCR sonucunda 2 (*L. paracasei*) ve 5 (*L. plantarum*) nolu örneklerde pozitif çıkmıştır.



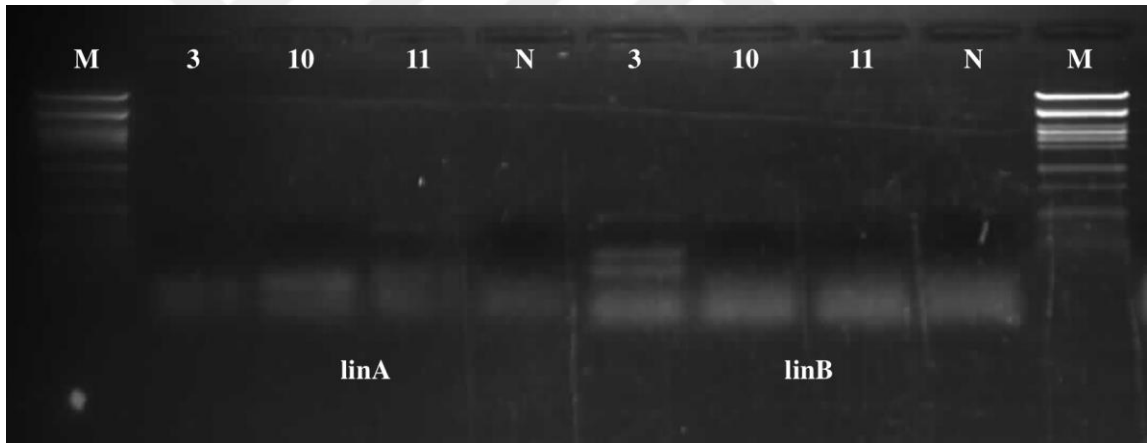
Şekil 4.5. Tüm örneklerde *armA* için spesifik primerlerle yapılan PCR görüntüsü (M: marker, N: negatif kontrol)

Şekil 4.5'te görüldüğü gibi tüm örneklerde *armA* için spesifik primerlerle yapılan PCR sonucunda tüm örnekler için negatif çıkmıştır.



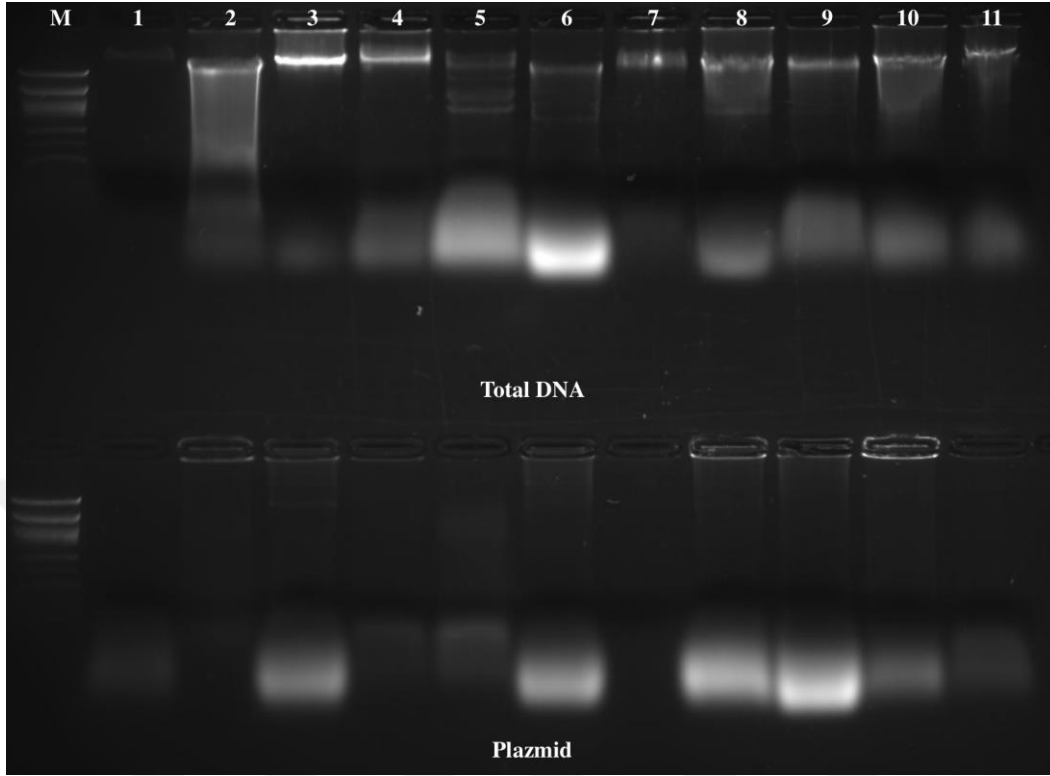
Şekil 4.6. Tüm örneklerde *rmtB* için spesifik primerlerle yapılan PCR görüntüsü (M: marker, N: negatif kontrol)

Şekil 4.6'da görüldüğü gibi tüm örneklerde *rmtB* için spesifik primerlerle yapılan PCR sonucunda 1 (*L.rhamnosus*), 5 (*L.plantarum*), 7 (*L.rhamnosus*) ve 11 (*L.rhamnosus*) numaralı örneklerde pozitif çıkmıştır.



Şekil 4.7. 3, 10 ve 11 numaralı örneklerde *linA* ve *linB* için spesifik primerlerle yapılan PCR görüntüsü (M: marker, N: negatif kontrol)

Şekil 4.7'de görüldüğü gibi 3, 10 ve 11 numaralı örneklerde *linA* ve *linB* için spesifik primerlerle yapılan PCR sonucunda *linA* için 11 (*L.rhamnosus*) numaralı, *linB* için 3 (*L.plantarum*) ve 10 (*L.rhamnosus*) numaralı örneklerde pozitif çıkmıştır.



Şekil 4.8. Total DNA ve Plazmid izolasyonu PCR görüntüsü

Tüm örneklerin total DNA ve plazmid izolasyonu PCR görüntüsü Şekil 4.8.'de gösterilmiştir.

Tablo 4.4. Laktobasillerin antibiyotik dirençleri

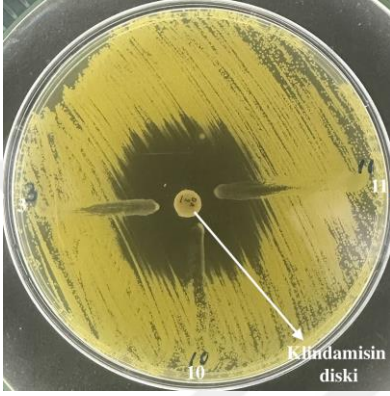
Örnek No	Fenotipik direnç	Tür	Direnç Geni
2	Aminoglikozit (Gentamisin,Kanamisin,Streptomisin)	<i>L. paracasei</i>	<i>aac(6')-Ie-aph(2'')-Ia</i>
5	Aminoglikozit (Gentamisin,Kanamisin,Streptomisin)	<i>L. plantarum</i>	<i>aac(6')-Ie-aph(2'')-Ia</i> <i>rmtB</i>
1, 7	Aminoglikozit (Gentamisin,Kanamisin,Streptomisin)	<i>L. rhamnosus</i>	<i>rmtB</i>
11	Aminoglikozit (Gentamisin,Kanamisin,Streptomisin) Linkozamid (Klindamisin)	<i>L. rhamnosus</i>	<i>rmtB</i> <i>linA</i>
3	Linkozamid (Klindamisin*)	<i>L. plantarum</i>	<i>linB</i>
10	Linkozamid (Klindamisin)	<i>L. rhamnosus</i>	<i>linB</i>

*Fenotipik dirençte 3 numaralı örnek klindamisin için az hassas(I) olarak bulunmuştur.

Tablo 4.4.'te yapılan antibiyotik duyarlılık ve PCR sonucunda laktobasillerin fenotipik ve genotipik dirençleri gösterilmektedir.

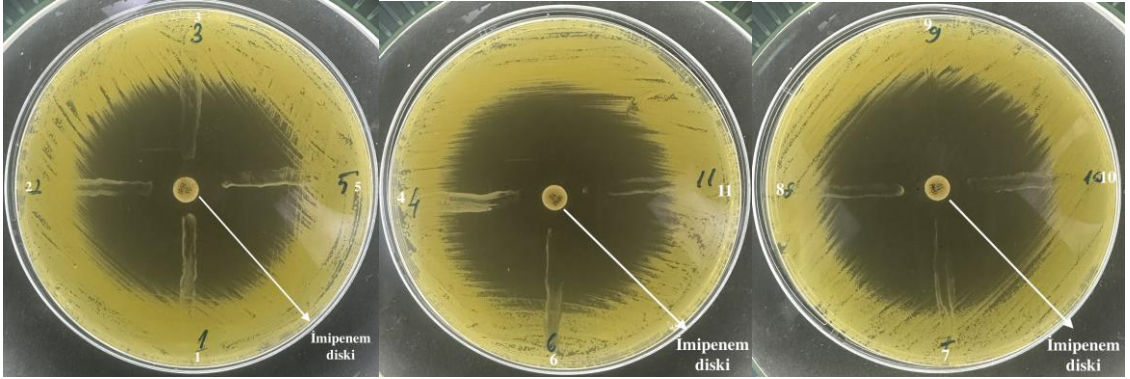
4.5. İnaktivasyon Testi Sonuçları

2xYT agar ile yapılan Gots' testi ile inaktivasyon varlığı test edilmiştir. Şekil 4.9.'da görüldüğü gibi 3,10 ve 11 numaralı örnek suşlarda klindamisin diskiyle *M. luteus* için oluşan inhibisyon zonunu etkilememiş ve negatif olarak değerlendirilmiştir.



Şekil 4.9. Gots' testi (klindamisin diski)

Şekil 4.10'da görüldüğü gibi örnek suşlarda imipenem diskiyle *M. luteus* için oluşan inhibisyon zonunu etkilememiş ve negatif olarak değerlendirilmiştir.



Şekil 4.10. Gots' testi (imipenem diski)

4.6. Konjugasyon Sonucu

Konjugasyon yöntemiyle direnç geninin mobil bir genetik eleman üzerinde olup olmadığı araştırılmıştır. Bu amaçla *Enterococcus faecalis* JH2-2 alıcı suş olarak kullanılmış, EUCAST'e göre MİK değerleri dikkate alınarak çalışılan laktobasillerin izolatından

gentamisin (64 µg/ml), eritromisin (20 µg/ml), rifampisin(100 µg /ml), vankomisin (4 µg/ml), meropenem (16 µg/ml), siprofloksasin (16 µg/ml) ve azitromisin (64 µg/ml) (klindamisin için kullanılmıştır) direnç karakterini alıp alamadığı konjugasyon yöntemiyle test edilmiştir. Her iki bakteri de besiyerine inoküle edilmiş ve bir gecelik inkübasyona bırakılmıştır. *Enterococcus faecalis* JH2-2 suşu rifampisin ve fusidik aside dirençli eritromisine ise duyarlıdır. Örnekler ise rifampisin ve fusidik aside hassastır. Fusidik asit ve rifampisin direnci kromozomal olduğu için bu dirençlerin transferi söz konusu değildir. Konjugasyonun sonucunda fusidik asit (50 µg /ml), gentamisin (64 µg /ml), eritromisin (20 µg /ml), rifampisin (100 µg /ml), vankomisin (4 µg /ml), meropenem (16 µg /ml), siprofloksasin (16 µg /ml) ve azitromisin (64 µg /ml) içeren besiyerlerinde transkonjugantlar ürememiştir.

4.7. Transformasyon Deneyi Sonucu

Vankomisin, gentamisin, eritromisin, meropenem ve siprofloksasin içeren xYT besiyerine 2 ve 7 numaralı örneklerden ekilmiş ve 37°C’de etüve yerleştirilmiştir. Yapılan deneyler sonucunda, *Enterococcus faecium* HM1070 suşuna laktobasillus bakterilerinden direnç genlerinin aktarılmasına yönelik yapılan transformasyonun başarısız olduğu gözlemlenmiştir. Antibiyotik içeren xYT besiyerinde (vankomisin, gentamisin, eritromisin, meropenem, siprofloksasin) hiçbir büyüme tespit edilmemiştir.

4.8. Sekans Analizi

8 numaralı örnekte plazmid tespit edilmiştir ve sekans analizine gönderilmiştir. Ham veri seti uzunluğu; 10,491,050 bp okuma içeriyordu. Okumaların kalite kontrolü için FASTQC aracı kullanıldı. QC’den geçen read sayısı; 5,245,525 bp. Total bases; 779.6 Mbp ve %GC 41. Kalite kontrolü sağlanan okumalardaki adaptör ve sekanslama aracının gereksiz dizileri Trimmomatic ile kırıldı. Trimmomatic sonucu 5,160,809 bp okuma montajlama için kullanıldı. Montajlama metaSPAdes - v3.15.3 kullanılarak, parametre olarak en küçük contig büyüklüğü 1000 bp olacak şekilde yapıldı. Assembly sonucu 46 contig bulundu. Contiglerdeki antibiyotik direnç geni ve virülans genlerinin araştırılması için sırasıyla ResFinder ve VirulenceFinder araçları kullanıldı. Contigler BLAST analizi

yapılarak tanımlandı. Contigler arasında bir contığın *Lactiplantibacillus plantarum* strain ZW5 plasmid pZW5A plazmitiyle eşleştiği görülmüştür.

National Library of Medicine
National Center for Biotechnology Information

BLAST® » blastn suite » results for RID-3BEYANP4016

Home Recent Results Saved Strategies Help

[Edit Search](#) [Save Search](#) [Search Summary](#) [How to read this report?](#) [BLAST Help Videos](#) [Back to Traditional Results Page](#)

Job Title: NODE_31_length_13679_cov_26119.791324
RID: 3BEYANP4016 Search expires on 05-28 21:19 pm [Download All](#)
Program: BLASTN [Citation](#)
Database: core_nt [See details](#)
Query ID: lcl|Query_4002201
Description: NODE_31_length_13679_cov_26119.791324
Molecule type: dna
Query Length: 13679
Other reports: [Distance tree of results](#) [MSA viewer](#)

Filter Results

Organism: only top 20 will appear ☐ exclude
Type common name, binomial, taxid or group name
[Add organism](#)

Percent Identity: to E value: to Query Coverage: to
[Filter](#) [Reset](#)

Descriptions Graphic Summary Alignments Taxonomy

Sequences producing significant alignments Download Select columns Show 100

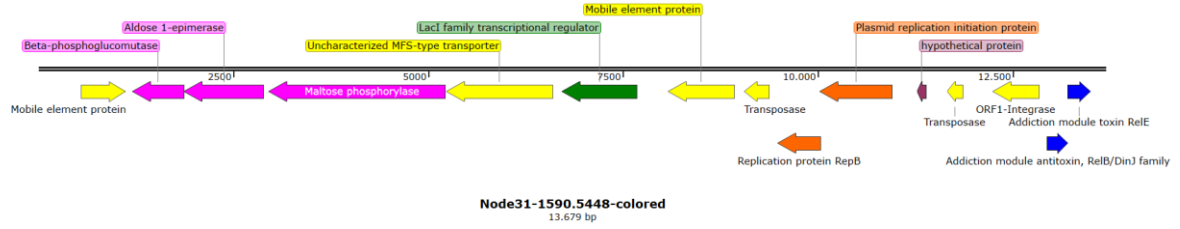
☒ select all 100 sequences selected

[GenBank](#) [Graphics](#) [Distance tree of results](#) [MSA Viewer](#)

Description	Scientific Name	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
☒ Lactiplantibacillus plantarum strain ZW5 plasmid pZW5A complete sequence	Lactiplantibacill...	25248	1.009e+05	100%	0.0	99.99%	54131	CP086413.1
☒ Lactobacillus backii strain TMW 1.1988 plasmid L11988-2 complete sequence	Loigolactobacill...	15512	18092	63%	0.0	99.32%	41380	CP014626.1
☒ Loigolactobacillus bifementans strain LB003 plasmid unnamed1 complete sequence	Loigolactobacill...	15500	17493	64%	0.0	99.23%	83621	CP045873.1
☒ Lactobacillus plantarum strain C410L1 complete genome	Lactiplantibacill...	15485	17591	64%	0.0	99.27%	3097773	CP017954.1
☒ Lactiplantibacillus plantarum strain 83-18 chromosome complete genome	Lactiplantibacill...	15474	17591	64%	0.0	99.23%	3081029	CP046669.1
☒ Loigolactobacillus coryniformis strain CBA3616 chromosome complete genome	Loigolactobacill...	15463	31618	67%	0.0	99.21%	3000133	CP042392.1

Şekil 4.11. Blast sonucu

Plazmitin içerdiği genler Rasttk anotasyon aracı kullanılarak tanımlanmıştır. Toplamda 15 ORF (açık okuma çerçevesi) ve bir tane işlevi henüz bilinmeyen varsayımsal protein içerdiği belirlenmiştir. Plazmitin genom haritası SnapGene platformu kullanılarak görselleştirilmiştir. İlk ORF, Plasmid replication initiation protein, plazmidin replikasyonunun başlatılmasını sağlar. Plazmidin konak hücrede çoğalmasını mümkün kılar. Replication protein RepB, replikasyon sürecinde görev alır, genellikle *theta* tipi replikasyonda rol oynar ve plazmidin stabil kopyalanması için önemlidir. Addiction module toxin RelE ve antitoxin, RelB/DinJ family genleri plazmitin bağımlılık modülünde yer alan genlerdir. Bu genler, plazmitin konak hücrede stabilitesine ve hayatta kalmasına katkıda bulunurlar. Bu önemli genlerin yanısıra plazmitin genetik çeşitliliğine katkıda bulunan transpozonlar ve mobil genetik elementler bulunmuştur. Ayrıca metabolizma ve regülasyondan sorumlu genler plazmit haritasında gösterilmiştir.



Şekil 4.12. Plazmit genom haritası. Oklar, açık okuma çerçevelerinin (ORF'ler) konumlarını temsil eder ve ilgili anahtarla belirtildiği gibi geniş fonksiyonel gruplara bağlılığı gösteren renklerle birlikte sunulur. Turuncu: Replikasyon ilişkili genler, Mavi: Bağımlılık modülü genleri, Sarı: Transpozon ve mobil genetik elementler, Pembe: Metabolizmayla ilişkili genler, Yeşil: Taşıyıcı ve regülatör genler, Mor: varsayımsal (hypothetical) proteinler. Şekil Snapgene viewer 5.3.2 kullanılarak tasarlanmıştır.

8 numaralı örnekte plazmit tespit edilmiştir, ancak sekans analizi sonucunda plazmit aracılı bir antibiyotik direnç geni tespit edilememiştir.

5. TARTIŞMA

Çalışmamızda kullanılan 11 probiyotik gıda takviyesinin üçünde ürün ambalaj bilgisinde içerdiği laktobasil sayısı belirtilmediği için yapılan canlı hücre sayımı ile ürün ambalaj içeriği karşılaştırılamamış olup 7 (%63,63) üründe ambalaj bilgisine göre daha az canlı bakteri bulunduğu saptanmıştır. Başka bir çalışmada 10 probiyotik gıda takviyesindeki laktobasillus tür içeriğinin değerlendirildiği izolatlar fenotipik ve moleküler yöntemler kullanılarak tür düzeyinde tanımlanmış ve antibiyotik dirençliliği disk difüzyon yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Etiket bilgisi ile canlı sayım sonuçları arasında farklılıklar bulunduğu, 10 üründen ikisinde (%20) ise belirtilen sayıdan daha az canlı bakteri bulunduğu saptanmıştır (Seyirt ve ark., 2024).

Tür tanımlaması sonucunda ise 6 (%54,54) probiyotik gıda takviyesi ürün etiket bilgileri ile uyumlu sonuç gösterirken, 4 (%36,36) probiyotik gıda takviyesi farklı laktobasillus türlerini içerdiği bulunmuştur. Bir (%9,09) gıda takviyesinde ise laktobasillus türüne rastlanmamıştır. Laktobasiller vankomisine karşı intrinsik dirence sahiptir ve bizim çalışmamızda %100 dirençli bulunmamıştır.

Çalışmamızda disk diffüzyon test sonucunda laktobasillerin %100'ü streptomisine, %90.9'u kanamisin, gentamisin ve vankomisine, %18.1'i klindamisin ve sefazoline, %63.6'sı sefoksitin ve siprofloksasine, %9'u eritromisin ve penisilin G antibiyotiklerine dirençli olduğu tespit edilmiştir. *Streptococcus thermophilus* ve *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* suşların doğal yoğurtlardan izole edilmiş ve tanımlamaları yapılmıştı. Antibiyotik dirençlilikleri fenotipik ve genotipik olarak incelendiği bir çalışmada *L. bulgaricus* izolatlarının tümü vankomisine, streptomisine, penisiline ve kanamisine dirençli bulunmuştur. *L. bulgaricus* izolatları tüm antibiyotiklere %40-100 oranında dirençli oldukları saptanmıştır. Suşların kullanılan antibiyotiklerden ampisiline genel olarak duyarlı (%60) olduğu, gentamisine (%20) ise düşük seviyede duyarlı olduğu görülmüştür. Çalışmamızla benzer şekilde en yüksek dirençliliğin vankomisin (%100), streptomisin (%100), penisilin (%100) ve kanamisin (%100) antibiyotiklerine karşı olduğu belirlenmiş, en düşük dirençlilik %40 oranında ampisilin antibiyotiğinde gözlenmiştir (Doğan ve ark., 2022).

Bal numunesinden 7 laktobasil izolatlarının elde edildiği bir çalışmada *L. plantarum*, *L. rhamnosus* ve *L. acidophilus* tanımlanmıştır. Tüm izolatlar vankomisine (%100) dirençli bulunurken, sadece bir suş test edilen tüm antibiyotiklere direnç göstermiştir (Goli Mehdi Abadi ve ark., 2023).

Sırp pazarında en sık kullanılan altı ticari probiyotikten, bakterilerin izolasyonu sonrasında toplam 6 izolat MALDI-TOF kullanılarak biyokimyasal düzeyde morfolojik ve biyokimyasal olarak karakterize edilmiş ve *Limosilactobacillus reuteri*, *L. paracasei*, *L. rhamnosus*, *L. rhamnosus*, *Enterococcus faecium* ve *L. plantarum* türleri olarak tanımlanmıştır. Disk difüzyon yöntemi kullanılarak, izolatların her biri 30 standart antibiyotiğe duyarlılık açısından test edilmiştir. Tüm izolatlar (laktobasiller ve enterokoklar) penisilin, sefoksitin, oksasilin ve aztreonama dirençli ve 5 takviyeden elde edilen tüm laktobasiller vankomisine dirençli bulunmuştur (Zavišić ve ark., 2023).

Toplam 20 laktobasillus suşunda antibiyotik direncinin fenotipik ve moleküler yöntemlerle araştırıldığı çalışmada ise disk difüzyon yöntemiyle test edilen laktobasillerin %90'ı klindamisine, %95'i tetrasiklin, eritromisin ve rifampisine duyarlı bulunmuştur. Ampisilin ve kloramfenikolün bu çalışmada kullanılan tüm bakterileri inhibe ettiği bulunmuştur. Test edilen suşlar vankomisin, siprofloksasin ve aminoglikozitlere karşı direnç göstermiştir. Laktobasillus suşları sefotaksim, seftriakson ve sefazolinin yüksek minimum inhibitör konsantrasyonları (MIC'ler) göstermiş ve bu nedenle sefalosporinlere dirençli kabul edilmiştir (Anisimova ve Yarullina, 2019).

Geleneksel Türk fermente süt ürünlerinden izole edilen laktik asit bakterilerinin antibiyotik direnci araştırılmıştır. Yoğurt, beyaz peynir, tulum peyniri, kolak, manda kreması ve kefir süt ürünleri olarak çeşitli süpermarketlerden toplanmıştır. *Lactobacillus spp.* vankomisin (%58), eritromisin (%10,8), tetrasiklin (%4,3), gentamisin (%28) ve siprofloksasine (%26) dirençli bulunmuştur (Erginkaya ve ark., 2018).

Turhan ve ark.ları bizim çalışmamızdan farklı olarak laktobasilleri vankomisin (%20), tetrasiklin (%20), ampisilin (%20), gentamisin (%20) ve siprofloksasine (%80) dirençli olarak belirlerken, bu izolatların kloramfenikol (%100), eritromisin (%100) ve nitrofurantoin (%100) duyarlı olduğunu bulmuştur (Ünal Turhan ve Erginkaya, 2016).

Çalışmamızda *L. rhamnosus* tüm izolatları sefoksitin, vankomisin, streptomisin dirençli bulunurken ampisilin, sefazolin, tetrasiklin, rifampisin, kloramfenikol duyarlı bulunmuştur. Bununla birlikte *L. plantarum* tüm izolatları kanamisin, gentamisin, vankomisin, streptomisin dirençli iken, ampisilin, sefazolin, tetrasiklin, rifampisin, eritromisin, kloramfenikol duyarlı bulunmuştur. *L. acidophilus* ile ilgili olarak, gentamisin (%25) ve siprofloksasine (%75) direnç belirlenirken, *L. acidophilus*'un tüm izolatlarının vankomisin, kloramfenikol, rifampisin, tetrasiklin, eritromisin, nitrofurantoin ve ampisiline duyarlı olduğu bulunmuştur (Turhan ve Erginkaya, 2016).

Tablo 4.4.'te de görüldüğü üzere 1, 2, 3, 5, 7, 10 ve 11 numaralı örnekler izolatlarında fenotipik dirençle uyumlu olarak genotipik dirençte tespit edilmiştir. Aminoglikozitlere fenotipik direnç gösteren 4, 6, 8, 9 ve 10 numaralı örneklerde direnç geni bulunamamıştır. 10 numaralı örnekten izole edilen suş eritromisin için fenotipik direnç göstermiş olmasına rağmen *ermA*, *ermB* ve *ermC* genleri bulunamamıştır. 8 numaralı örnekte plazmit tespit edilmiş olup sekans analizi sonucunda antibiyotik direnç geni tespit edilmemiştir. Plazmid tespit edilmiş olması sebebiyle ilerde antibiyotik direnç geni aktarımında potansiyel risk oluşturabilir.

İzolatlardaki plazmid aracılı antibiyotik direncinin değerlendirilmesi, streptomisin ve gentamisine dirençli karakterlerin *L. rhamnosus* ve *L. plantarum* suşlarında plazmid aracılı tipte olduğunu ortaya koymuştur (Seifabadi ve Baserisalehi, 2021).

Çalışmamızla benzer şekilde 16 makalenin dahil edildiği bir derleme çalışmasında hücre duvarı sentez inhibitörleri ile ilişkili antibiyotikler arasında en fenotipik antibiyotik direnci vankomisine karşı görülmüş ve protein sentez inhibitörleri arasında en fenotipik antibiyotik direnci gentamisin ve streptomisine karşı görülmüştür. Yine aynı derlemede 11 makalenin sonuçlarına göre *tet*, *erm*, *gyr*, *cat*, *par*, *ant*, *aph(3')-IIIa*, *van* ve *lun* direnç genleri tespit edilmiştir. Probiyotiklerde en sık görülen direnç geni ise *tet* geni (%46,61) olup tetrasiklin direncine yol açmıştır. Bu genin plazmidlerde bulunduğu ve başka suşlara aktarılabildiği gösterilmiştir (Shahali ve ark., 2023).

Tüm izolatlarda *aac(6')-Ie-aph(2'')-Ia* için spesifik primerlerle yapılan PCR sonucunda *Lactobacillus paracasei* (2 nolu örnek) ve *Lactobacillus plantarum* (5 nolu örnek) izolatlarında pozitif çıkmıştır. Çin'de yapılan bir çalışmada fermente süt ürünlerinden

izole edilen *L. bulgaricus* izolatında *aac(6'')-aph(2'')* direnç geni tespit edilmiştir (Li ve ark., 2019).

Toplam 75 adet şaraptan izole edilen laktik asit bakterilerinin 12 farklı antibiyotiğe duyarlılıklarının test edildiği bir çalışmada, gentamisin dirençli *L. plantarum* izolatında *aac(6'')-aph(2'')* direnç geni tespit edilmiştir (Rojo-Bezales ve ark., 2006). Çift işlevli aminoglikozit değiştirici enzim 6'-N-aminoglikozit asetiltransferaz-2''-O-aminoglikozit fosfotransferaz (*aac(6')-Ie-aph(2'')-Ia*) geninin ifadesi, tobramisin, kanamisin ve netilmisin gibi aminoglikozitlere karşı dirence ek olarak yüksek düzeyde gentamisin direnci sağlar. 26 sağlıklı domuz ve 15 evcil hayvanın dışkı örneklerinden elde edilen laktik asit bakterilerinde gentamisin MİK değeri ≥ 64 µg/ml olarak bulunmuştur. *L. salivarius* ve *L. acidophilus* izolatlarında *aac(6')Ie-aph(2'')Ia* PCR'de pozitif sonuçlar vermiştir (Tenorio ve ark., 2001). Çiftlik hayvanlarından ve tavuk sosislerinden izole edilen *L. plantarum* PCR'da bifonksiyonel gen *aac(6')-Ie-aph(2'')-Ia* için pozitif bulunmuştur (Jaimee ve Halami, 2016). Tavuklardan izole edilen 88 laktobasillus izolatının antibiyotiklere duyarlılığını ve direnç genleri incelenmiş, *L. salivarius* ve *L. crispatus* izolatlarında aminoglikozit değiştirici enzimi kodlayan *aac(6')-Ie-aph(2'')-Ia* geni bulunmuştur (Dec ve ark., 2017).

Tüm örneklerde *rmtB* için spesifik primerlerle yapılan PCR sonucunda *L. rhamnosus* ve *L. plantarum* izolatlarının bulunduğu 1, 5, 7 ve 11 numaralı örneklerde pozitif çıkmıştır. Aminoglikozitlere yüksek düzeyde direnç kazandırmada 16S rRNA metilaz genleri (*armA* ve *rmtB* genleri) etkilidir. Mevcut bilimsel literatürde, laktobasillus türlerinde aminoglikozid direncine neden olan *armA* ve *rmtB* genlerinin varlığına dair spesifik bir kanıt bulunmamaktadır. Bu genler, genellikle Gram-negatif bakterilerde bulunur ve aminoglikozid antibiyotiklere karşı yüksek düzeyde direnç sağlar. *armA* ve *rmtB* genleri, 16S rRNA metiltransferaz enzimlerini kodlayarak, aminoglikozidlerin ribozomal bağlanma bölgelerini metilleyip antibiyotiğin etkisini engeller (Sarı Kaygısız ve ark., 2022; Ermertcan ve ark., 2013).

Klinik izolat *Enterococcus faecium* HM1025'te linkomisin ve klindamisine direnç, *linA* benzeri plazmid aracılı bir gen tarafından kodlanan nükleotidil transferaz ve bu antibiyotiklerin inaktivasyonundan kaynaklanmaktadır. Bozdoğan ve ark, *E. faecium*'da

nükleotidilasyon yoluyla linkozamidlere direnç kazandıran yeni bir direnç geni olan *linB*'yi tanımladılar. Bu gen, 267 amino asitli bir linkoamid nükleotidiltransferazı kodlar. Enzim, linkomisin ve klindamisinin 3-(5*-adenilasyonunu) (moleküllerin 3. pozisyonundaki hidroksil grubunun adenilasyonu) katalize eder (Bozdogan ve ark., 1999). *S. agalactiae* izolatlarında *linB* gen pozitifliğine bağlı klindamisin direnci bulunmuştur (Bolukaoto ve ark., 2015). Çalışmamızda tüm örneklerde *linA* ve *linB* için spesifik primerlerle yapılan PCR sonucunda *linA* geni *L. rhamnosus*, *linB* geni *L. plantarum* izolatlarında pozitif çıkmıştır.

Moghimi ve ark, geleneksel yoğurt örneklerinden izole edilen *L. bulgaricus* izolatlarının *linA* antibiyotik direnç genini içermediği görülmüştür (Moghimi ve ark., 2023). *linB* geni özellikle *E. faecium* gibi bazı bakterilerde tespit edilmiştir (Bozdogan ve ark., 1999). Literatür incelemesi sonucunda laktobasilluslarda *linA* ve *linB* geni ilk defa tarafımızca tespit edilmiştir.

Streptococcus thermophilus ve *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* suşlarında antibiyotik direnç genlerini incelemek için yapılan PCR uygulamaları sonucunda, *aph(3')-IIIa* (%95), *strB* (%36), *blaZ* (%100) ve *vanE* (%67) genleri bulunmuştur. Disk difüzyon yöntemi ile dirençli bulunan izolatların %51'inde ise direnç genleri tespit edilmiştir (Doğan ve ark., 2022).

L. reuteri 'de gentamisin ve kanamisine karşı çoklu dirençler gözlenmiş olsa da, bu dirençlerin intrinsik olduğu ve tüm genom analizi ile aktarılamaz olduğu ortaya çıkmıştır (Lee ve ark., 2021). Bizim çalışmamızda da *L. reuteri*'de kanamisin, gentamisin, streptomisin, penisilin G, sefazolin, sefoksitin, siprofloksasin ve vankomisine dirençli gözlenmiş olsa da, aktarılamaz olduğu ortaya çıkmıştır.

Laktobasillus cinsindeki antibiyotik direnci tanımlanmasını kapsamlı bir şekilde güncellemek için 182 laktobasillus suşun antibiyotik duyarlılığı araştırılmıştır. Trimetoprim, vankomisin ve kanamisine karşı dirençler en yaygın fenotipler olarak bulunmuştur. Homolojiye dayalı tarama ve manuel açıklamanın bir kombinasyonu, aminoglikozitlere (20 sekans), tetrasiklin (18), eritromisin (6), klindamisin (60) ve kloramfenikole (42) karşı direnci kodlayan genler tanımlamıştır. Özellikle, sırasıyla

aminoglikozitlere ve klindamisine dirençte rol oynayan *aac(3)* ve *lsa* genleri laktobasil suşlarında bulunmuştur. *Lactobacillus ingluviei*, *L. amylophilus* ve *L. amylophicus*'ta tetrasiklin ve eritromisin direnci tespit edilmiştir (Campedelli ve ark., 2018).

Vankomisin direnci için *vanX* geni, laktobasiller arasında en sık tanımlanmıştır (suşların %75'i). Test edilen suşların %20'sinde streptomisin *aadA* ve *aadE'* nin enzimatik modifikasyonu için genler bulunsada, sonuçlar esas olarak laktobasillerde aminoglikozitlere karşı direncin içsel olduğunu kanıtlamaktadır. Laktobasillusta genişletilmiş spektrumlu beta-laktamazların (ESBL) oluşumu bilinmiyor, ancak sonuçlar suşların %80'inde *blaTEM* genini ortaya çıkarırken, *blaSHV* ve *blaOXA-1* (sırasıyla suşların %20'si ve %15'i) genleri daha az sıklıkta tespit edilmiştir (Anisimova ve Yarullina, 2019)

Çin'in farklı bölgelerinden fermente süt ürünlerinden elde edilen 87 laktik asit bakteriyel suşundaki fenotipik ve genotipik antimikrobiyal direnci ve direnç belirteçlerinin aktarılabilişliğini araştırıldığı bir çalışmada, 21 *Lactobacillus bulgaricus*, sekiz *L. casei*, altı *L. rhamnosus*, üç *L. paracasei*, iki *L. acidophilus* ve 47 *Streptococcus thermophilus* suşu olarak tanımlanmıştır. Test edilen türler arasında yüksek düzeyde intrinsik direnç ortaya çıkmıştır. Fermente süt ürünlerinden izole edilen suşlarda direnç *L. bulgaricus* ve *S. thermophilus* izolatında *tetM*, *S. thermophilus* izolatında *strA* ve *strB*, *L. bulgaricus* ve *S. thermophilus* izolatında *sul1*, *S. thermophilus* izolatında *sul2*, *L. bulgaricus* izolatında *aac(6'')-aph(2'')* ve *S. thermophilus* ve *L. bulgaricus* izolatında *aph(3'')-II* ve *aph(3'')-III* genleri tespit edilmiştir. Bu çalışmada filtre eşleme testlerinde izlenen antibiyotik direnç genlerinin transferi gözlenmemiştir (Li ve ark., 2019)

Polonya'da hindilerden izole edilen laktobasiller arasında tetrasikline (%68 dirençli izolatlar), linkomisin (%64,5) ve enrofloksasine (%60) karşı yüksek direnç prevalansı gözlenmiştir. Ampisiline (%47), eritromisin (%45), streptomisin (%31), kloramfenikole (%29) ve gentamisine (%10) dirençli bulunurken, izolatların %64,5'i çoklu ilaç direnci göstermiştir. *ermB* (%45 izolat), *tetL* (%40), *tetW* (%37) ve *tetM* (%29) en sık tanımlanmıştır (Dec ve ark., 2018).

Makrolidlere ve linkozamidlere dirençle ilişkili olan *ermB* (*L. salivarius* ve *L. reuteri*) ve *ermC* (*11 laktobasillus susu*) genleri izolatların sırasıyla %39 ve %12 gözlenmiştir (Dec ve ark., 2017).

L. fermentum izolatlarının eritromisin ve tetrasiklin direncini karakterize etmek ve direnç genlerinin laktobasillerden diğer Gram-pozitif ve Gram-negatif bakterilere potansiyel transferini tahmin etmek için yapılan çalışmada insan dışkılarından ve ticari süt ürünlerinden izole edilen 6 *L. fermentum* suşu kullanılmıştır. Antibiyotik direnç belirleyicileri için PCR taraması, tüm suşlarda plazmide yerleşik tetrasiklin direnç genleri *tetK* ve *tetM* ve eritromisin direnç genleri *L. fermentum* 5-1 kromozomunda *ermB* ve *L. fermentum* 3-4 plazmidinde *ermC* saptanmıştır. Test edilen tüm laktobasiller konjugatif transpozon Tn916'dan yoksun bulunmuş ve tetrasiklin direnç genleri *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Listeria monocytogenes*, *Acinetobacter baumannii*, *Citrobacter freundii* ve *Escherichia coli*'ye filtre eşleme yoluyla aktarılamamıştır. *Staphylococcus haemolyticus*, ilgili laktobasil suşlarından eritromisin direnç genleri aktarılamamıştır. Test edilen *L. fermentum* suşlarının eritromisin ve tetrasiklin direncinin yayılmasında etkisinin olmadığı bulunmuştur (Anisimova ve Yarullina, 2018).

Çin'in farklı bölgelerinden toplanan fermente süttten toplam 33 laktobasillus suşu izole edilmiş, tüm laktobasillus suşlarının vankomisine dirençli olduğu, ancak gentamisin, linezolid, neomisin, eritromisin ve klindamisine duyarlı olduğu bulunmuştur. PCR analizinden elde edilen sonuçlar sırasıyla *vanX*, *vanE*, *gyrA* ve *tetM* genlerini taşıyan 19 vankomisin, 10 siprofloksasin ve 1 tetrasikline dirençli bakteri olduğunu ortaya koymuştur. Konjugasyon deneyinde antibiyotik direnç genlerinin aktarımı gözlemlenmemiştir (Guo ve ark., 2017).

Lactobacillus reuteri ve *L. plantarum* türlerine ait iki temsili suş grubunda eritromisin için atipik MİK'e sahip 6 suşun 4'ünde *ermB* pozitif bulunmuş ve bir suşta *ermC* pozitif bulunmuştur. Genlerin plazmitler üzerinde taşındığı tespit edilmiştir (Egervärn ve ark., 2009a)

Tüm *L. plantarum* suşları ampisiline, gentamisin, eritromisin ve klindamisine duyarlıyken, streptomisine içsel olarak dirençli tespit edilmiştir. *L. reuteri* suşları

tetrasikline, ampisiline, eritromisin/klindamisine ve kloramfenikole karşı kazanılmış direnç göstermiştir. İnsan bağırsağında direnç genlerinin donörü olarak *L. reuteri*, tetrasiklin direnç geni *tetW'nin* fekal enterokoklara, bifidobakterilere ve laktobasillere aktarılabilişliğini inceleyerek araştırılmış ve test edilen koşullar altında hiçbir gen aktarımı gösterilememiştir (Egervärn, 2009).

Bakterilerin genleri yatay olarak aktardığı mekanizmalar arasında konjugasyon, transformasyon ve transdüksiyon önemlidir. Konjugasyon, insan bağırsağında veya başka bir yerde yatay gen aktarımının en çok çalışıldığı mekanizmadır (Arutyunov ve Frost, 2013; Smillie ve ark., 2010). Konjugasyon, çok küçük olabilen, hatta büyük kromozomlara kadar DNA parçalarının aktarımıdır. Konjugasyon olaylarının genel sırası; hücreden hücreye temas, çiftleşme çifti oluşumu ve son olarak konjugatif pilus aracılığıyla plazmit DNA'sının aktarılmasıdır (Bacon ve ark., 2000).

Transdüksiyon, bakteri genomlarının evrimini şekillendiren yatay gen aktarımının bir başka mekanizmasıdır. Bakteriyofajlar aracılığıyla antibiyotik direnç gen aktarımı hakkında bilgi bolluğu, doğal dönüşüm ve konjugasyonla karşılaştırıldığında sınırlıdır. Ancak, bakteriyofajların antibiyotik direnç genlerini aktarmadaki rolü artık daha net hale gelmektedir. Bakteriyofajlar, bakterileri enfekte eden virüslerdir ve konak genomuna entegre olup çevresel koşullar litik büyümelerini tetikleyene kadar profaj haline gelirlerse ılımlı kabul edilirler (Fortier ve Sekulovic, 2013). Transdüksiyon, daha önce başka bir bakteri hücresinde replike olmuş bir bakteriyofajın, konak genomunun (donör) bir kısmını faj kafasına paketlemesi ve genleri başka bir (alıcı) bakteri hücresine aktarmasıyla meydana gelir (Muniesa ve ark., 2013). Bakteriyel genomda bulunan antibiyotik direnci de dahil olmak üzere hemen hemen her DNA dizisi aktarılabılır (Schmiegler ve Schicklmaier, 1999). Buna kromozomal diziler ve plazmidler, transpozonlar ve ekleme elemanları gibi hareketli genetik elemanlar dahildir (Mann ve Schlauch, 1997).

Antibiyotik direnç genleri dirençli suşlardan PCR ile tespit edilmiş, *ermB* eritromisin direnç geni *L. fermentum*, *L. vaginalis*, *L. plantarum*, *L. acidophilus*, *L. salivarius*, ve *L. animalis* suşlarında bulunmuştur. *ermB* ve *tetM* için pozitif olan LAB suşları donör olarak kullanılırken, *E. faecalis* 181 ve *E. faecium* 258 filtre çiftleştirme deneylerinde alıcı suş olarak kullanılmıştır. *L. fermentum* ve *L. salivarius*'tan *ermB*, *L. plantarum* ve *L. brevis*'ten

tetM geninin *E. faecalis*'e başarıyla aktarıldığını göstermiştir (Nawaz ve ark., 2011). Tespit edilen *ermB* geni *L. reuteri*'den *E. faecalis* JH2-2'ye aktarılabilmektedir, ancak *E. faecium* BM 4105'e aktarılamamıştır (Ouoba ve ark., 2008).

Gevers ve arkadaşları tarafından yürütülen bir çalışmada, *tetM* genlerinin dirençli Laktobasillerden *Enterococcus faecalis* ve *Lactococcus lactis*'e aktarıldığı ancak *Staphylococcus aureus*'a aktarılmadığı kanıtlanmıştır (Gevers ve ark., 2003a)

Lactobacillus plantarum suşu, gastrointestinal sistemde antibiyotik direnç plazmidlerini *Enterococcus faecalis* JH2-2'ye transfer etme yetenekleri açısından analiz edilmiştir. Bu amaçla, in vivo model olarak gnotobiyotik sıçanlar kullanılmış. *L. plantarum*'dan *E. faecalis*'e *tetM* ve *ermB* antibiyotik direnç plazmidlerinin in vivo transferi gösterilmiştir (Jacobsen ve ark., 2007)

Tavuk etinden daha önce izole edilen *Lactobacillus salivarius* ve *L. reuteri* in vivo, in vitro ve gıda fermantasyonu sırasında patojenik suşlara *ermB*, *tetM*, *tetL* ve *tetW* antibiyotik direnç genlerinin aktarılabilişliği açısından analiz edilmiş. *Listeria monocytogenes* ve *Yersinia enterocolitica* suşlarında eritromisin ve tetrasikline karşı fenotipik direnç gözlemlenmiştir (Thumu ve Halami, 2019).

L. fermentum'in *tetK* genini laktobasillerin plazmid DNA'sı ile elektroporasyon ve transformasyon yoluyla *Citrobacter freundii* 'ye aktarabileceğini gösterilmiştir (Anisimova ve Yarullina, 2020).

Çin'deki 51 ticari fermente gıda örneğinden laktobasillus ve *Streptococcus thermophilus* LAB izole edilerek antimikrobiyal duyarlılığa, direnç genlerinin saptanmasına ve direnç genlerinin aktarılabilişliğinin araştırılmasına tabi tutulmuştur. Eritromisin (*ermB*), gentamisin (*aac(6')-aph(2'')*), streptomisin (*ant(6)*), sülfametoksazol (*sulI* ve *sulII*), tetrasiklin (*tetM* ve *tetS*) için antimikrobiyal direnç genleri 18 dirençli LAB suşunda tespit edilmiştir. Konjugasyon deneyleri sonucunda *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* R6'dan *tetM*'nin ve *L. plantarum* R41'den *tetS*'nin filtre çiftleşmesiyle *Listeria monocytogenes*'e başarıyla aktarıldığını gösterilmiştir (Yang ve Yu, 2019).

35 kümes hayvanından izole edilen *Lactobacillus* spp. ve *E. coli*'nin ortak kültürü, *qnrS*, *CTX-M-1* ve *tetA*'nın *Lactobacillus* spp.'den *E. coli*'ye aktarılmasıyla sonuçlanmıştır (Rokon-Uz-Zaman ve ark., 2023).

Çift kör bir klinik çalışmada, 7 denek, plazmid kodlu *tetW* (*tetW-reuteri*) geni barındıran *L. reuteri* ATCC 55730'u tüketirken, eşit sayıda denek biri *tetW* genini içeren 2 plazmidin çıkarılmasıyla ATCC 55730 suşundan türetilen *L. reuteri* DSM 17938'i tüketmiştir. Fekal örnekler, 14 gün boyunca günde 5×10^8 CFU *L. reuteri*'nin yutulmasından önce, sırasında ve sonrasında toplanmıştır. Her iki *L. reuteri* suşu da 14 günlük alımdan sonra dışkıda tespit edilememiştir. Her bir dışkı örneğinden tetrasiklin dirençli enterokoklar, bifidobakteriler ve laktobasillerin zenginleştirilmesi ve izole edilmesinden sonra, DNA çıkarılmış ve bu çalışmada geliştirilen gerçek zamanlı PCR allelik ayırım yöntemi kullanılarak *tetW-reuteri* varlığı açısından analiz edilmiştir. DNA örneklerinden hiçbirinde *tetW-reuteri* sinyali üretilmemiş ve bu nedenle probiyotik suşun bağırsak geçişi sırasında enterokoklara, bifidobakterilere ve laktobasillere gen aktarımı test edilen koşullar altında tespit edilememiştir (Egervärn ve ark., 2010).

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Tez çalışması kapsamında;

- 11 farklı marka ve sekiz farklı tür içeren probiyotik seçilmiştir.
- Probiyotik gıda takviyelerinde canlı hücre sayımları yapılmış, belirtilen canlı hücre sayımlarının uyumlu olmadığı, yani ambalaj bilgilerinde belirtilen canlı hücre sayısından daha düşük canlı sayısı içerdiği saptanmış ya da hiç saptanmıştır.
- Moleküler tür tayini için yapılan MALDI-TOF MS sonucunda NTBK2210018, NPPK2210048, MLG4126 probiyotik takviyelerinde ambalaj bilgisine göre laktobasillusun farklı türü tespit edilmiştir. BK042310202 probiyotik takviyesinde ise laktobasillus türü bulunamamıştır.
- Laktobasillus suşlarının %100'ü streptomisine, %90.9'u kanamisin, gentamisin ve vankomisine, %18.1'i klindamisin ve sefazoline, %63.6'sı sefoksitin ve siprofloksasine, %9'u eritromisin ve penisilin G'e dirençli olduğu tespit edilmiştir.
- Laktobasillus suşlarının %27.2'si siprofloksasin ve penisilin G'e, %9'u klindamisine az hassas olduğu tespit edilmiştir.
- Laktobasillus suşlarının ampisilin, sefazolin, tetrasiklin, rifampin ve kloramfenikole %100 duyarlı bulunmuştur.
- Laktobasil suşlarında *aac(6')-Ie-aph(2'')-Ia*, *rmtB*, *linA* ve *linB* direnç genleri tespit edilmiştir.
- Konjugasyon ve transformasyon deneyleri ile gen aktarımı gerçekleşmemiştir.
- 8 numaralı örnekte plazmit tespit edilmiştir ancak sekans analizi sonucunda plazmit aracılı bir antibiyotik direnç geni tespit edilememiştir.

KAYNAKLAR

- Abatenh E, Gizaw B, Tsegaye Z, Tefera G. Microbial Function on Climate Change – A Review. *Open J Environ Biol*. 2018;3(1): 001-007. DOI: 10.17352/ojeb.000008
- Abriouel H, Casado Muñoz MDC, Lavilla Lerma L, et al. New insights in antibiotic resistance of *Lactobacillus* species from fermented foods. *Food Res Int*. 2015;78:465-481. doi:10.1016/j.foodres.2015.09.016
- Akgül T, Karakan T. The role of probiotics in women with recurrent urinary tract infections. *Turk J Urol*. 2018;44(5):377-383. doi:10.5152/tud.2018.48742
- Amangelsin Y, Semenova Y, Dadar M, Aljofan M, Bjørklund G. The Impact of Tetracycline Pollution on the Aquatic Environment and Removal Strategies. *Antibiotics (Basel)*. 2023;12(3):440. Published 2023 Feb 23. doi:10.3390/antibiotics12030440
- An SB, Yang BG, Jang G, et al. Combined IgE neutralization and *Bifidobacterium longum* supplementation reduces the allergic response in models of food allergy. *Nat Commun*. 2022;13(1):5669. Published 2022 Sep 27. doi:10.1038/s41467-022-33176-1
- Anderson AC, Sanunu M, Schneider C, et al. Rapid species-level identification of vaginal and oral lactobacilli using MALDI-TOF MS analysis and 16S rDNA sequencing. *BMC Microbiol*. 2014;14:312. Published 2014 Dec 14. doi:10.1186/s12866-014-0312-5
- Anisimova E, Gorokhova I, Karimullina G, Yarullina D. Alarming Antibiotic Resistance of *Lactobacilli* Isolated from Probiotic Preparations and Dietary Supplements. *Antibiotics*. 2022; 11(11):1557. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11111557>
- Anisimova E, Yarullina D. Characterization of Erythromycin and Tetracycline Resistance in *Lactobacillus fermentum* Strains. *Int J Microbiol*. 2018;2018:3912326. Published 2018 Nov 11. doi:10.1155/2018/3912326
- Anisimova EA, Yarullina DR. Antibiotic Resistance and the Mobility of Its Genetic Determinants in *Lactobacillus fermentum* . *Mol Genet Microbiol Virol*. 2020: 35, 202–209. <https://doi.org/10.3103/S0891416820040035>.
- Anisimova EA, Yarullina DR. Antibiotic Resistance of *LACTOBACILLUS* Strains. *Curr Microbiol*. 2019;76(12):1407-1416. doi:10.1007/s00284-019-01769-7
- Applications. AMS press, Washington, D.C., 1993 p:547-552
- Arutyunov D, Frost LS. F conjugation: back to the beginning. *Plasmid*. 2013;70(1):18-32. doi:10.1016/j.plasmid.2013.03.010

Argyri AA, Zoumpopoulou G, Karatzas KA, et al. Selection of potential probiotic lactic acid bacteria from fermented olives by in vitro tests. *Food Microbiol.* 2013;33(2):282-291. doi:10.1016/j.fm.2012.10.005

Ayad A, Drissi M, de Curraize C, et al. Occurrence of ArmA and RmtB Aminoglycoside Resistance 16S rRNA Methylases in Extended-Spectrum β -Lactamases Producing *Escherichia coli* in Algerian Hospitals. *Front Microbiol.* 2016;7:1409. Published 2016 Sep 12. doi:10.3389/fmicb.2016.01409

Bacon DJ, Alm RA, Burr DH, et al. Involvement of a plasmid in virulence of *Campylobacter jejuni* 81–176. *Infect Immun.* 2000, ve 68(8):4384–4390. doi:10.1128/iai.68.8.4384-4390.2000

Bai J, Zhao X, Zhang M, Xia X, Yang A, Chen H. Gut microbiota: A target for prebiotics and probiotics in the intervention and therapy of food allergy. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2024;64(11):3623-3637. doi:10.1080/10408398.2022.2133079

Baker CN, Stocker SA, Culver DH, Thornsberry C. Comparison of the E Test to agar dilution, broth microdilution, and agar diffusion susceptibility testing techniques by using a special challenge set of bacteria. *J Clin Microbiol.* 1991;29(3):533-538. doi:10.1128/jcm.29.3.533-538.1991

Balouiri M, Sadiki M, Ibnsouda SK. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of pharmaceutical analysis.* 2016; 6(2):71-9.

Ban KA, Minei JP, Laronga C, et al. American College of Surgeons and Surgical Infection Society: surgical site infection guidelines, 2016 update. *J Am Coll Surg.* 2017, ve 224(1):59-74. doi:10.1016/j.jamcollsurg.2016.10.029

Bauer AW, Kirby WM, Sherris JC, Turck M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am J Clin Pathol.* 1966;45(4):493-496.

Baumgardner RM, Berreta A, Kopper JJ. Evaluation of commercial probiotics for antimicrobial resistance genes. *Can Vet J.* 2021;62(4):379-383.

Belletti N, Gatti M, Bottari B, Neviani E, Tabanelli G, Gardini F. Antibiotic resistance of lactobacilli isolated from two italian hard cheeses. *J Food Prot.* 2009;72(10):2162-2169. doi:10.4315/0362-028x-72.10.2162

Beloor Suresh A, Rosani A, Patel P, Wadhwa R. Rifampin. In: StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023: November 12.

Beytler I, Kavukcu S. Probiotics for Prophylaxis and Treatment of Urinary Tract Infections in Children. *Inn J Pediatr.* 2016;27(2):e7695. HYPERLINK "<https://doi.org/10.5812/ijp.7695>" \t "_blank" <https://doi.org/10.5812/ijp.7695>

Blumenthal KG, Ryan EE, Li Y, Lee H, Kuhlen JL, Shenoy ES. The Impact of a Reported Penicillin Allergy on Surgical Site Infection Risk. *Clin Infect Dis*. 2018;66(3):329-336. doi:10.1093/cid/cix794

Bolukaoto J.Y., Monyama C.M., Chukwu M.O., Lekala L.M., Nchabeleng M., Maloba M.R.B., Mavenyengwa R.T., Lebelo S.L., Monokoane S., Tshepuwane C., et al. Antibiotic resistance of *Streptococcus agalactiae* isolated from pregnant women in Garankuwa, South Africa. *BMC Res. Notes*. 2015;8:364. doi: 10.1186/s13104-015-1328-0.

Bozdogan B, Berrezouga L, Kuo MS, et al. A new resistance gene, *linB*, conferring resistance to lincosamides by nucleotidylation in *Enterococcus faecium* HM1025. *Antimicrob Agents Chemother*. 1999;43(4):925-929. doi:10.1128/AAC.43.4.925

Bratzler DW, Dellinger EP, Olsen KM, et al. Clinical practice guidelines for antimicrobial prophylaxis in surgery. *Am J Health Syst Pharm*. 2013;70(3):195-283. doi:10.2146/ajhp120568

Brodersen DE, Clemons WM Jr, Carter AP, Morgan-Warren RJ, Wimberly BT, Ramakrishnan V. The structural basis for the action of the antibiotics tetracycline, pactamycin, and hygromycin B on the 30S ribosomal subunit. *Cell*. 2000;103(7):1143-1154. doi:10.1016/s0092-8674(00)00216-6

Brodersen DE, Clemons WM Jr, Carter AP, Morgan-Warren RJ, Wimberly BT, Ramakrishnan V. The structural basis for the action of the antibiotics tetracycline, pactamycin, and hygromycin B on the 30S ribosomal subunit. *Cell*. 2000;103(7):1143-1154. doi:10.1016/s0092-8674(00)00216-6

Brumfitt W, Kosmidis J, Hamilton-Miller JM, Gilchrist JN. Cefoxitin and cephalothin: antimicrobial activity, human pharmacokinetics, and toxicology. *Antimicrob Agents Chemother*. 1974;6(3):290-299. doi:10.1128/AAC.6.3.290

Burmeister AR. Horizontal Gene Transfer. *Evol Med Public Health*. 2015;2015(1):193-194. Published 2015 Jul 29. doi:10.1093/emph/eov018

Burnet PW, Cowen PJ. Psychobiotics highlight the pathways to happiness. *Biol Psychiatry*. 2013;74(10):708-709. doi:10.1016/j.biopsych.2013.08.002

Campedelli I, Mathur H, Salvetti E, et al. Genus-Wide Assessment of Antibiotic Resistance in *Lactobacillus* spp. *Appl Environ Microbiol*. 2018;85(1):e01738-18. Published 2018 Dec 13. doi:10.1128/AEM.01738-18

Campoli-Richards DM, Monk JP, Price A, Benfield P, Todd PA, Ward A. Ciprofloxacin. A review of its antibacterial activity, pharmacokinetic properties and therapeutic use. *Drugs*. 1988;35(4):373-447. doi:10.2165/00003495-198835040-00003

Carapetis JR, Jacoby P, Carville K, Ang SJ, Curtis N, Andrews R. Effectiveness of clindamycin and intravenous immunoglobulin, and risk of disease in contacts, in invasive group a streptococcal infections. *Clin Infect Dis*. 2014 Aug 01, ve 59(3):358-65.

Charteris WP, Kelly PM, Morelli L, Collins JK. Development and application of an in vitro methodology to determine the transit tolerance of potentially probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* species in the upper human gastrointestinal tract. *J. Appl. Microbiol*. 1998;84 759–768 10.1046/j.1365-2672.1998.00407.x [DOI] [PubMed] [Google Scholar]

Cheng HL, Yen GC, Huang SC, Chen SC, Hsu CL. The next generation beneficial actions of novel probiotics as potential therapeutic targets and prediction tool for metabolic diseases. *J Food Drug Anal*. 2022;30(1):1-10. Published 2022 Mar 15. doi:10.38212/2224-6614.3396

Ciprandi G, Tosca MA, Drago L. Probiotics in asthma management: fiction or truth?. *Expert Rev Clin Immunol*. 2023;19(5):457-460. doi:10.1080/1744666X.2023.2189103

Clementi F, Aquilanti L. Recent investigations and updated criteria for the assessment of antibiotic resistance in food lactic acid bacteria. *Anaerobe*. 2011;17(6):394-398. doi:10.1016/j.anaerobe.2011.03.021

Cocean AM, Vodnar DC. Exploring the gut-brain Axis: Potential therapeutic impact of Psychobiotics on mental health. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2024;134:111073. doi:10.1016/j.pnpbp.2024.111073

Company, Metchnikoff II: The Prolongation of Life: Optimistic Studies. Springer Publishing, 2004.

Cosgrove SE, Sakoulas G, Perencevich EN, Schwaber MJ, Karchmer AW, Carmeli Y. Comparison of mortality associated with methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* bacteremia: a meta-analysis. *Clin Infect Dis*. 2003;36(1):53-59. doi:10.1086/345476

Das TK, Pradhan S , Chakrabarti S , Mondal KC , Ghosh K. 2022. Current status of probiotic and related health benefits. *Applied Food Research*.2022;2.

Dec M, Nowaczek A, Stępień-Pyśniak D, Wawrzykowski J, Urban-Chmiel R. Identification and antibiotic susceptibility of lactobacilli isolated from turkeys. *BMC Microbiol*. 2018;18(1):168. Published 2018 Oct 29. doi:10.1186/s12866-018-1269-6

Dec M, Urban-Chmiel R, Stępień-Pyśniak D. Assessment of antibiotic susceptibility in *Lactobacillus* isolates from chickens. *Gut Pathog.* 2017;9,54. <https://doi.org/10.1186/s13099-017-0203-z>

Demir E, Kaygusuz E, Başığit Kılıç G, Yüce S, et al. Yoğurt Örneklerinden İzole Edilmiş Laktik Asit Bakterilerinin Moleküler Yöntemlerle Tanımlanması ve Ekzopolisakkarit Üretimlerinin Belirlenmesi. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 8(Ek (Suppl.) 1), 2017:262-267. <https://doi.org/10.29048/makufebed.354022>

Devirgiliis C, Zinno P, Perozzi G. Update on antibiotic resistance in foodborne *Lactobacillus* and *Lactococcus* species. *Front Microbiol.* 2013;4:301. Published 2013 Oct 8. doi:10.3389/fmicb.2013.00301

Di Lena M, Quero GM, Santovito E, Verran J, De Angelis M, Fusco V. A selective medium for isolation and accurate enumeration of *Lactobacillus casei*-group members in probiotic milks and dairy products. *Int Dairy J* 2015, 47:27-36.

Dietrich CG, Kottmann T, Alavi M. Commercially available probiotic drinks containing *Lactobacillus casei* DN-114001 reduce antibiotic-associated diarrhea. *World J Gastroenterol.* 2014;20(42):15837-15844. doi:10.3748/wjg.v20.i42.15837

Dimidi E, Christodoulides S, Scott SM, Whelan K. Mechanisms of Action of Probiotics and the Gastrointestinal Microbiota on Gut Motility and Constipation. *Adv Nutr.* 2017;8(3):484-494. Published 2017 May 15. doi:10.3945/an.116.014407

Ding D, Wang B, Zhang X, et al. The spread of antibiotic resistance to humans and potential protection strategies. *Ecotoxicol Environ Saf.* 2023;254:114734. doi:10.1016/j.ecoenv.2023.114734

Doğan F, Gezginç Y , Yavaş ŞNA. Molecular determination of antibiotic resistance properties of *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* strains isolated natural yogurts. *Journal of Food and Feed Science – Technology.* 2022;28:86-95.

Egervärn M, Lindmark H, Olsson J, Roos S. Transferability of a tetracycline resistance gene from probiotic *Lactobacillus reuteri* to bacteria in the gastrointestinal tract of humans. *Antonie Van Leeuwenhoek.* 2010;97(2):189-200. doi:10.1007/s10482-009-9401-0

Egervärn M, Roos S, Lindmark H. Identification and characterization of antibiotic resistance genes in *Lactobacillus reuteri* and *Lactobacillus plantarum*. *J Appl Microbiol.* 2009;107(5):1658-1668. doi:10.1111/j.1365-2672.2009.04352.x

Egervärn M. Antibiotic resistance in *Lactobacillus reuteri* and *Lactobacillus plantarum*. Faculty of Natural Resources and Agricultural Sciences Department of Microbiology Uppsala, Doctoral Thesis, 2009.

Erginkaya Z, Turhan EU, Tatlı D. Geleneksel Türk fermente süt ürünlerinden izole edilen laktik asit bakterilerinin antibiyotik direncinin belirlenmesi. İran J Veteriner Res. 2018 Kış, 19(1):53-56.

Ermertcan S, Yilmaz F, Taşlı H, Yurtman A, Aydemir S, Hosgor LM. Investigation of Plasmid Mediated Methylase Genes in Aminoglycoside Resistant Gram Negative Bacteria. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi. 2013;43(1):12-16. doi:10.5222/TMCD.2013.012

Etebu E, Arikekpar I. Antibiotics: Classification and mechanisms of action with emphasis on molecular perspectives. International Journal of Applied Microbiology and Biotechnology Research. 2016;4, 90-101.

Farzam K, Nessel TA, Quick J. Erythromycin. [Updated 2023 Jul 2]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK532249/>

Feng Y, Qi W, Wang XR, Ling W, Xin-Pu LI, Luo JY, et al. Genetic characterization of antimicrobial resistance in *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis cases in Northwest China. J. Integr. Agric. 2016;15 2842–2847.

Fenster K, Freeburg B, Hollard C, Wong C, Rønhave Laursen R, Ouwehand AC. The Production and Delivery of Probiotics: A Review of a Practical Approach. Microorganisms. 2019;7(3):83. Published 2019 Mar 17. doi:10.3390/microorganisms7030083

Ford AC, Harris LA, Lacy BE, Quigley EMM, Moayyedi P. Systematic review with meta-analysis: the efficacy of prebiotics, probiotics, synbiotics and antibiotics in irritable bowel syndrome. Aliment Pharmacol Ther. 2018;48(10):1044-1060. doi:10.1111/apt.15001

Fortier LC, Sekulovic O. Importance of prophages to evolution and virulence of bacterial pathogens. Virulence. 2013;4(5):354-365. doi:10.4161/viru.24498

Gad GF, Abdel-Hamid AM, Farag ZS. Antibiotic resistance in lactic acid bacteria isolated from some pharmaceutical and dairy products. Braz J Microbiol. 2014;45(1):25-33. Published 2014 May 19. doi:10.1590/s1517-83822014000100005

Gevers D, Danielsen M, Huys G, Swings J. Molecular characterization of tet(M) genes in *Lactobacillus* isolates from different types of fermented dry sausage. Appl Environ Microbiol. 2003;69:1270–5.

- Gevers D, Huys G, Swings J. In vitro conjugal transfer of tetracycline resistance from *Lactobacillus* isolates to other Gram-positive bacteria. *FEMS Microbiol Lett.* 2003;225(1):125-130. doi:10.1016/S0378-1097(03)00505-6
- Goderska K, Agudo Pena S, Alarcon T. *Helicobacter pylori* treatment: antibiotics or probiotics. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2018;102(1):1-7. doi:10.1007/s00253-017-8535-7
- Goldstein EJ, Tyrrell KL, Citron DM. *Lactobacillus* species: taxonomic complexity and controversial susceptibilities. *Clin Infect Dis.* 2015;60 Suppl 2:S98-S107. doi:10.1093/cid/civ072
- Goli Mehdi Abadi ME, Hosseini-Safa A, Habibi S, Dehghan M, Forouzani-Moghaddam MJ, Oshaghi M. Isolation and characterization of the *Lactobacillus* strain from honey and its probiotic properties. *Iran J Microbiol.* 2023;15(3):439-447. doi:10.18502/ijm.v15i3.12905
- Gong Y, Li T, Li S, et al. Achieving High Yield of Lactic Acid for Antimicrobial Characterization in Cephalosporin-Resistant *Lactobacillus* by the Co-Expression of the Phosphofructokinase and Glucokinase. *J Microbiol Biotechnol.* 2016;26(6):1148-1161. doi:10.4014/jmb.1601.01043
- González-Zorn B, Teshager T, Casas M, et al. *armA* and aminoglycoside resistance in *Escherichia coli*. *Emerg Infect Dis.* 2005;11(6):954-956.
- Gou HZ, Zhang YL, Ren LF, Li ZJ, Zhang L. How do intestinal probiotics restore the intestinal barrier?. *Front Microbiol.* 2022;13:929346. Published 2022 Jul 14. doi:10.3389/fmicb.2022.929346
- Gowri RS, Meenambigai P, Prabhavathi P, Raja Rajeswari P, Arul Yesudoss L. Probiotics and its Effects on Human Health-A Review. *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci.* 2016; 5(4): 384-392. doi: <http://dx.doi.org/10.20546/ijcmas.2016.504.046>
- Grgov S, Tasić T, Radovanović-Dinić B, Benedeto-Stojanov D. Can probiotics improve efficiency and safety profile of triple *Helicobacter pylori* eradication therapy? A prospective randomized study. *Vojnosanit Pregl.* 2016;73(11):1044-1049. doi:10.2298/VSP150415127G
- Gudiol C, Cuervo G, Shaw E, Pujol M, Carratalà J. Pharmacotherapeutic options for treating *Staphylococcus aureus* bacteremia. *Expert Opin Pharmacother.* 2017;18(18):1947-1963. doi:10.1080/14656566.2017.1403585
- Guo H, Pan L, Li L, Lu J, Kwok L, Menghe B, et al. Characterization of antibiotic resistance genes from *Lactobacillus* isolated from traditional dairy products. *J Food Sci* 2017;82:724–30.

Gupta V, Mastromarino P, Garg R. Effectiveness of Prophylactic Oral and/or Vaginal Probiotic Supplementation in the Prevention of Recurrent Urinary Tract Infections: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. *Clin Infect Dis*. 2024;78(5):1154-1161. doi:10.1093/cid/ciad766

Hashempour-Baltork F, Sheikh M, Eskandarzadeh S, Tarlak F, Tripathi AD, Khosravi-Darani K, et al. The Effect of probiotics on various diseases and their therapeutic role: An update review. *J Pure Appl Microbiol*. 2021; 15(3):1042-1059.

Helmink BA, Khan MAW, Hermann A. The microbiome, cancer, and cancer therapy. *Nat Med*. 2019;25:377–88. doi: 10.1038/s41591-019-0377-7.

Hill C, Guarner F, Reid G, et al. 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 Gastroenterol Hepatol*. 2014;11(8):506-514. doi:10.1038/nrgastro.2014.66

Huddleston JR. Horizontal gene transfer in the human gastrointestinal tract: potential spread of antibiotic resistance genes. *Infect Drug Resist*. 2014;7:167-176. Published 2014 Jun 20. doi:10.2147/IDR.S48820

Hummel AS, Hertel C, Holzapfel WH, Franz CM. Antibiotic resistances of starter and probiotic strains of lactic acid bacteria. *Appl Environ Microbiol*. 2007;73(3):730-739. doi:10.1128/AEM.02105-06

Iannitti T, Palmieri B. Therapeutical use of probiotic formulations in clinical practice. *Clin Nutr*. 2010;29(6):701-725. doi:10.1016/j.clnu.2010.05.004

Iemoli E, Trabattoni D, Parisotto S, et al. Probiotics reduce gut microbial translocation and improve adult atopic dermatitis. *J Clin Gastroenterol*. 2012;46 Suppl:S33-S40. doi:10.1097/MCG.0b013e31826a8468

Ilinskaya ON, Ulyanova VV, Yarullina DR, Gataullin IG. Secretome of Intestinal Bacilli: A Natural Guard against Pathologies. *Front Microbiol*. 2017;8:1666. Published 2017 Sep 1. doi:10.3389/fmicb.2017.01666

JR Edwards, Meropenem: a microbiological overview, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, Volume 36, Issue suppl_A, July 1995, Pages 1–17, https://doi.org/10.1093/jac/36.suppl_A.1

Jacobsen L, Wilcks A, Hammer K, Huys G, Gevers D, Andersen SR. Horizontal transfer of tet(M) and erm(B) resistance plasmids from food strains of *Lactobacillus plantarum* to *Enterococcus faecalis* JH2-2 in the gastrointestinal tract of gnotobiotic rats. *FEMS Microbiol Ecol*. 2007;59(1):158-166. doi:10.1111/j.1574-6941.2006.00212.x

Jaimee G, Halami PM. High level aminoglycoside resistance in *Enterococcus*, *Pediococcus* and *Lactobacillus* species from farm animals and commercial meat products. *Ann Microbiol* 2016;66:101–10.

Jeong DM, Yoo SJ, Jeon M, Chun BH, Han DM, Jeon CO, Eyun S, Seo Y, Kang HA. Genomic features, aroma profiles, and probiotic potential of the *Debaryomyces hansenii* species complex strains isolated from Korean soybean fermented food. *Food Microbiology*.2022;105,104011.

Karunarathna I, Gunasena P, Gunathilake S, Hapuarachchi T, et al. The Clinical Use of Gentamicin: Indications, Mechanism of Action, and Key Considerations. *UVA Clinical Pharmacology / Antibiotics / Gentamicin*. 2024. Doi:10.13140/Rg.2.2.24754.00969

Kassaian N, Feizi A, Aminorroaya A, Amini M. Probiotic and synbiotic supplementation could improve metabolic syndrome in prediabetic adults: A randomized controlled trial. *Diabetes Metab Syndr*. 2019;13(5): 2991-6.

Kaur L, Gordon M, Baines PA, Ihezor-Ejiofor Z, Sinopoulou V, Akobeng AK. Probiotics for induction of remission in ulcerative colitis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2020;3(3):CD005573. Published 2020 Mar 4. doi:10.1002/14651858.CD005573.pub3

Kechagia M, Basoulis D, Konstantopoulou S, et al. Health benefits of probiotics: a review. *ISRN Nutr*. 2013;2013:481651. Published 2013 Jan 2. doi:10.5402/2013/481651

Lau HC, Zhang X, Ji F, et al. *Lactobacillus acidophilus* suppresses non-alcoholic fatty liver disease-associated hepatocellular carcinoma through producing valeric acid. *EBioMedicine*. 2024;100:104952. doi:10.1016/j.ebiom.2023.104952

Lau LYJ, Quek SY. Probiotics: Health benefits, food application, and colonization in the human gastrointestinal tract. *Food Bioeng*. 2024;3:41–64.

Laue C, Papazova E, Pannenbeckers A, Schrezenmeir J. Effect of a Probiotic and a Synbiotic on Body Fat Mass, Body Weight and Traits of Metabolic Syndrome in Individuals with Abdominal Overweight: A Human, Double-Blind, Randomised, Controlled Clinical Study. *Nutrients*. 2023;15(13):3039. Published 2023 Jul 5. doi:10.3390/nu15133039

Lawrence SJ, Korzenik JR, Mundy LM. Probiotics for recurrent *Clostridium difficile* disease. *J Med Microbiol* 2005;54:905–6.

Lee BS, Ban OH, Bang WY, et al. Safety assessment of *Lactobacillus reuteri* IDCC 3701 based on phenotypic and genomic analysis. *Ann Microbiol*. 2021;71,10. <https://doi.org/10.1186/s13213-021-01622-y>

Lee K, Paek K, Lee HY, Park JH, Lee Y. Antiobesity effect of trans-10,cis-12-conjugated linoleic acid-producing *Lactobacillus plantarum* PL62 on diet-induced obese mice. *J Appl Microbiol.* 2007;103(4): 1140-6.

Lee YK, Salminen S. *Handbook of Probiotics and Prebiotics*. 2nd ed. Hoboken, N.J: John Wiley & Sons, 2009. Print.

Lee JY, Chu SH, Jeon JY, et al. Effects of 12 weeks of probiotic supplementation on quality of life in colorectal cancer survivors: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Dig Liver Dis.* 2014;46(12):1126-1132. doi:10.1016/j.dld.2014.09.004

Li T, Teng D, Mao R, Hao Y, Wang X, Wang J. A critical review of antibiotic resistance in probiotic bacteria. *Food Res Int.* 2020;136:109571. doi:10.1016/j.foodres.2020.109571

Li Y, Li L, Kromann S, Chen M, Shi L, Meng H. Antibiotic Resistance of *Lactobacillus* spp. and *Streptococcus thermophilus* Isolated from Chinese Fermented Milk Products. *Foodborne Pathog Dis.* 2019;16(3):221-228. doi:10.1089/fpd.2018.2516

Liang JH, Han X. Structure-activity relationships and mechanism of action of macrolides derived from erythromycin as antibacterial agents. *Curr Top Med Chem.* 2013;13(24):3131-3164. doi:10.2174/15680266113136660223

Liang S, Wang T, Hu X, et al. Administration of *Lactobacillus helveticus* NS8 improves behavioral, cognitive, and biochemical aberrations caused by chronic restraint stress. *Neuroscience.* 2015;310:561-577. doi:10.1016/j.neuroscience.2015.09.033

Lidbeck A, Nord CE. Lactobacilli and the normal human anaerobic microflora. *Clin Infect Dis.* 1993;16 Suppl 4:S181-S187. doi:10.1093/clinids/16.supplement_4.s181

Liu P, Lu Y, Li R, Chen X. Use of probiotic lactobacilli in the treatment of vaginal infections: In vitro and in vivo investigations. *Front Cell Infect Microbiol.* 2023;13:1153894. Published 2023 Apr 3. doi:10.3389/fcimb.2023.1153894

Liu Q, Jing W, Wang W. *Bifidobacterium lactis* Ameliorates the Risk of Food Allergy in Chinese Children by Affecting Relative Percentage of Treg and Th17 Cells. *Can J Infect Dis Med Microbiol.* 2018;2018:4561038. Published 2018 Dec 11. doi:10.1155/2018/4561038

Malfa P, Brambilla L, Giardina S, et al. Evaluation of Antimicrobial, Antiadhesive and Co-Aggregation Activity of a Multi-Strain Probiotic Composition against Different Urogenital Pathogens. *Int J Mol Sci.* 2023;24(2):1323. Published 2023 Jan 10. doi:10.3390/ijms24021323

Mann BA, Slauch JM. Transduction of low-copy number plasmids by bacteriophage P22. *Genetics.* 1997;146(2):447-456. doi:10.1093/genetics/146.2.447

- Mantegazza C, Molinari P, D'Auria E, Sonnino M, Morelli L, Zuccotti GV. Probiotics and antibiotic-associated diarrhea in children: A review and new evidence on *Lactobacillus rhamnosus* GG during and after antibiotic treatment. *Pharmacol Res.* 2018;128:63-72. doi:10.1016/j.phrs.2017.08.001
- Marco ML, Heeney D, Binda S, Cifelli CJ, Cotter PD, Foligné B, Gänzle M, Kort R, Pasin G, Pihlanto A. Health benefits of fermented foods: microbiota and beyond. *Curr Opin Biotechnol.* 2017;44:94-102. doi:10.1016/j.copbio.2016.11.010
- Martinez RC, Bedani R, Saad SM. Scientific evidence for health effects attributed to the consumption of probiotics and prebiotics: an update for current perspectives and future challenges. *Br J Nutr.* 2015;114(12):1993-2015. doi:10.1017/S0007114515003864m
- Mashatan N, Heidari R, Altafi M, Amiri A, Ommati MM, Hashemzaei M. Probiotics in vaginal health. *Pathogens and Disease.*2023; 81,1–12
- Mater DD, Langella P, Corthier G, Flores MJ. A probiotic *Lactobacillus* strain can acquire vancomycin resistance during digestive transit in mice. *J Mol Microbiol Biotechnol.* 2008;14(1-3):123-127. doi:10.1159/000106091
- Mendoza L. Potential effect of probiotics in the treatment of breast cancer. *Oncol Rev.* 2019;13(2):422. Published 2019 Sep 27. doi:10.4081/oncol.2019.422
- Moellering RC Jr. Vancomycin: a 50-year reassessment. *Clin Infect Dis.* 2006;42 Suppl 1:S3-S4. doi:10.1086/491708
- Moghimi B, Maryam GD, Shapouri R, Jalili M. Antibiotic Resistance Profile of Indigenous *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus* Strains Isolated from Traditional Yogurt. *Journal of Food Quality.* 2023; 11. <https://doi.org/10.1155/2023/4745784>
- Mohammed C, Fuego JP, Garcia KV, et al. A Mini Literature Review of Probiotics: Transforming Gastrointestinal Health Through Evidence-Based Insights. *Cureus.* 2024;16(3):e57055. Published 2024 Mar 27. doi:10.7759/cureus.57055
- Moulds RFW, Jeyasingham MS. Gentamicin: a great way to start. *Aust Prescr* 2010;33:35-7. <https://doi.org/10.18773/austprescr.2010.062>
- Mrugała B, Miłaczewska A, Porebski PJ, et al. A study on the structure, mechanism, and biochemistry of kanamycin B dioxygenase (KanJ)-an enzyme with a broad range of substrates. *FEBS J.* 2021;288(4):1366-1386. doi:10.1111/febs.15462
- Mula D, Dervishi R, Hoxha R, et al. A Comparison of Outcomes from Antibiotic Treatment with and without Probiotics in 897 Patients with Lower Urogenital Tract

Infections, Including Cystitis, Urethritis, Prostatitis, and Vulvovaginitis. *Med Sci Monit Basic Res.* 2024;30:e943939. Published 2024 Jun 26. doi:10.12659/MSMBR.943939

Muniesa M, Colomer-Lluch M, Jofre J. Could bacteriophages transfer antibiotic resistance genes from environmental bacteria to human-body associated bacterial populations?. *Mob Genet Elements.* 2013;3(4):e25847. doi:10.4161/mge.25847

Mwende G. The Role of Probiotics in Gut Health and Disease. *Research Output Journal of Public Health and Medicine* 2024;3(2):14-17.

Nagano T, Ootshi T, Hazama D, et al. Novel cancer therapy targeting microbiome. *Onco Targets Ther.* 2019;12:3619-3624. Published 2019 May 13. doi:10.2147/OTT.S207546

Nawaz M, Wang J, Zhou A, et al. Characterization and transfer of antibiotic resistance in lactic acid bacteria from fermented food products. *Curr Microbiol.* 2011;62(3):1081-1089. doi:10.1007/s00284-010-9856-2

Nguyen F, Starosta AL, Arenz S, Sohmen D, Dönhöfer A, Wilson DN. Tetracycline antibiotics and resistance mechanisms. *Biol Chem.* 2014;395(5):559-575. doi:10.1515/hsz-2013-0292

Noor S, Ali S, Riaz S, Sardar I, Farooq MA, Sajjad A. Chemopreventive role of probiotics against cancer: a comprehensive mechanistic review. *Mol Biol Rep.* 2023;50(1):799-814. doi:10.1007/s11033-022-08023-7

Ohkusa T, Koido S, Nishikawa Y, Sato N. Gut Microbiota and Chronic Constipation: A Review and Update. *Front Med (Lausanne).* 2019;6:19. Published 2019 Feb 12. doi:10.3389/fmed.2019.00019

Orhan Z. Metisiline Dirençli *Staphylococcus aureus* Tedavisinde Kullanılan Antibiyotiklerin Genotipik Direnç Mekanizmaları. *akt. Eylöl 2021;30(3):177-184*

Orlando A, Refolo MG, Messa C, et al. Antiproliferative and proapoptotic effects of viable or heat-killed *Lactobacillus paracasei* IMPC2.1 and *Lactobacillus rhamnosus* GG in HGC-27 gastric and DLD-1 colon cell lines. *Nutr Cancer.* 2012;64(7):1103-1111. doi:10.1080/01635581.2012.717676

Ouoba LI, Lei V, Jensen LB. Resistance of potential probiotic lactic acid bacteria and bifidobacteria of African and European origin to antimicrobials: determination and transferability of the resistance genes to other bacteria. *Int J Food Microbiol.* 2008;121(2):217-224. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2007.11.018

Ozbal Y. Antibiyotiklerin Etki Mekanizmaları ve Bakterilerin Antibiyotiklere Direnç Oluşturması. *Erciyes tıp dergisi.* 1992: 110-119.

Özdemir A, Büyüktuncer Demirel Z. The Relation Between Diet and Microbiota. J Biotechnol and Strategic Health Res. November 2017;1:25-33.

Özkurt Z, Çinar Tanriverdi E. Kloramfenikol. Türkiye Klinikleri J Inf Dis-Special Topics. 2017;10(1):71-4

Park KH, Kim DY, Lee YM, et al. Selection of an appropriate empiric antibiotic regimen in hematogenous vertebral osteomyelitis. PLoS One. 2019;14(2):e0211888. Published 2019 Feb 8. doi:10.1371/journal.pone.0211888

Parker RB. Probiotics, the other half of the antibiotic story. Anim Nutr Health 1974, 29:4-8.

Pechère JC, Michéa-Hamzhepour M, Köhler T. L'efflux antibiotique, un mécanisme de résistance multiple chez *Pseudomonas aeruginosa* [Antibiotic efflux, a mechanism of multiple resistance in *Pseudomonas aeruginosa*]. Bull Acad Natl Med. 1998;182(3):599-615.

Peechakara BV, Basit H, Gupta M. Ampicillin. [Updated 2023 Aug 28]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK519569/>

Petinaki E, Guérin-Faubleé V, Pichereau V, et al. Lincomycin resistance gene *lnu(D)* in *Streptococcus uberis*. Antimicrob Agents Chemother. 2008;52(2):626-630. doi:10.1128/AAC.01126-07

Petrova MI, Reid G, Ter Haar JA. Lactobacillus rhamnosus GR-1, a.k.a. Lactobacillus rhamnosus GR-1: Past and Future Perspectives. Trends Microbiol. 2021;29(8):747-761. doi:10.1016/j.tim.2021.03.010

Plaza-Díaz J, Ruiz-Ojeda FJ, Vilchez-Padial LM, Gil A. Evidence of the Anti-Inflammatory Effects of Probiotics and Synbiotics in Intestinal Chronic Diseases. Nutrients. 2017;9(6):555. Published 2017 May 28. doi:10.3390/nu9060555

Prabhurajeshwar C, Chandrakanth K. Evaluation of antimicrobial properties and their substances against pathogenic bacteria in-vitro by probiotic lactobacilli strains isolated from commercial yoghurt. Clinical Nutrition Experimental. 2019;23, 97–1

Profir M, Roşu OA, Lonescu RF, Pavelescu LA, Creţoiu SA. Benefits and safety of probiotics in gastrointestinal diseases. Chapter 11 - Benefits and safety of probiotics in gastrointestinal diseases, In Drug Discovery Update, Antidotes to Toxins and Drugs, 2024;P:279-328.

Ramadhan AY, Rosdiana DS. The Prospect of Probiotics to Treat Metabolic Syndrome. Molecular and Cellular Biomedical Sciences, 2024;8,2, p.58-126.

Rastogi S, Singh A. Gut microbiome and human health: Exploring how the probiotic genus *Lactobacillus* modulate immune responses. *Front Pharmacol.* 2022;13:1042189. Published 2022 Oct 24. doi:10.3389/fphar.2022.1042189

Rather IA, Bajpai VK, Kumar S, Lim J, Paek WK, Park YH. Probiotics and Atopic Dermatitis: An Overview. *Front Microbiol.* 2016;7:507. Published 2016 Apr 12. doi:10.3389/fmicb.2016.00507

Rehman A, Patrick WM, Lamont IL. Mechanisms of ciprofloxacin resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: new approaches to an old problem. *J Med Microbiol.* 2019;68(1):1-10. doi:10.1099/jmm.0.000873

Rivera-Espinoza Y, Gallardo-Navarro Y. Non-dairy probiotic products. *Food Microbiol.* 2010;27(1):1-11. doi:10.1016/j.fm.2008.06.008

Rizzello V, Bonaccorsi I, Dongarrà ML, Fink LN, Ferlazzo G. Role of natural killer and dendritic cell crosstalk in immunomodulation by commensal bacteria probiotics. *J Biomed Biotechnol.* 2011;2011:473097. doi:10.1155/2011/473097

Rodríguez-Baño J, Millán AB, Domínguez MA, Borraz C, González MP, Almirante B, Cercenado E, Padilla B, Pujol M; GEIH/GEMARA/REIPI. Impact of inappropriate empirical therapy for sepsis due to health care-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Infect.* 2009;58:131–137. doi: 10.1016/j.jinf.2008.11.003.

Royo-Bezares B, Sáenz Y, Poeta P, Zarazaga M, Ruiz-Larrea F, Torres C. Assessment of antibiotic susceptibility within lactic acid bacteria strains isolated from wine. *Int J Food Microbiol.* 2006;111(3):234-240. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2006.06.007

Rokon-Uz-Zaman M, Bushra A, Pospo TA, et al. Detection of antimicrobial resistance genes in *Lactobacillus* spp. from poultry probiotic products and their horizontal transfer among *Escherichia coli*. *Vet Anim Sci.* 2023;20:100292. Published 2023 Mar 10. doi:10.1016/j.vas.2023.100292

Saarela M, Mogensen G, Fondén R, Mättö J, Mattila-Sandholm T. Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties. *J Biotechnol.* 2000;84(3):197-215. doi:10.1016/s0168-1656(00)00375-8

Saha UB, Saroj SD. Lactic acid bacteria: prominent player in the fight against human pathogens. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2022;20(11):1435-1453. doi:10.1080/14787210.2022.2128765

Sakamoto K, Konings WN. Beer spoilage bacteria and hop resistance. *Int J Food Microbiol.* 2003;89(2-3):105-124. doi:10.1016/s0168-1605(03)00153-3

Sánchez B, Delgado S, Blanco-Míguez A, Lourenço A, Gueimonde M, Margolles A. Probiotics, gut microbiota, and their influence on host health and disease. *Mol Nutr Food Res.* 2017;61(1):10.1002/mnfr.201600240. doi:10.1002/mnfr.201600240

Sanders ME, Merenstein DJ, Reid G, Gibson GR, Rastall RA. Probiotics and prebiotics in intestinal health and disease: from biology to the clinic [published correction appears in *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2019 Oct;16(10):642. doi: 10.1038/s41575-019-0199-6.]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2019;16(10):605-616. doi:10.1038/s41575-019-0173-3

Sarı Kaygısız AN, Alpay Özbek Ö, Gülmez A, Öktem İMA, Gülay Z. Bir Üniversite Hastanesinde armA 16S rRNA Metilaz Geninin Yayılımı ve Hızlı Duyarlılık Test Sistemlerinde Belirlenen Aminoglikozid Duyarlılık Hataları [Spread of armA 16S rRNA Methylase Gene in a Tertiary Hospital and Errors in Aminoglycoside Susceptibility Results of Rapid Susceptibility Test Systems]. *Mikrobiyol Bul.* 2022;56(3):534-544. doi:10.5578/mb.20229712

Sarkar A, Lehto SM, Harty S, Dinan TG, Cryan JF, Burnet PWJ. Psychobiotics and the Manipulation of Bacteria-Gut-Brain Signals. *Trends Neurosci.* 2016;39(11):763-781. doi:10.1016/j.tins.2016.09.002

Schmieger H, Schicklmaier P. Transduction of multiple drug resistance of *Salmonella enterica* serovar typhimurium DT104. *FEMS Microbiol Lett.* 1999;170(1):251-256. doi:10.1111/j.1574-6968.1999.tb13381.x

Seifabadi, FS, Baserisalehi M. Plasmid-Mediated Antibiotic-Resistant Pattern of *Lactobacillus* spp. Isolated From Dairy Products. *Avicenna J. Clin. Microbiol. Infect.* 2021, 8, 1–4.

Seyirt S, Uymaz Tezel B, Şanlıbaba P. Identification and Antibiotic Resistance of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* Species From Manufactured Probiotic Dairy Products. *Journal of Food Processing and Preservation.* 2024; 23. Article ID 1619.

Shahali A, Soltani R, Akbari V. Probiotic *Lactobacillus* and the potential risk of spreading antibiotic resistance: a systematic review. *Res Pharm Sci.* 2023;18(5):468-477. Published 2023 Aug 20. doi:10.4103/1735-5362.383703

Sharma P, Tomar SK, Sangwan V, Goswami P, Singh R. Antibiotic Resistance of *Lactobacillus* sp. isolated from commercial probiotic preparations. *J Food Safety.* 2016;36,p38-51.

Shi J, Ma Y, Zhu J, et al. A Review on Electroporation-Based Intracellular Delivery. *Molecules.* 2018;23(11):3044. Published 2018 Nov 21. doi:10.3390/molecules23113044

Śliżewska K, Markowiak-Kopeć P, Śliżewska W. The Role of Probiotics in Cancer Prevention. *Cancers*. 2020;13:20. doi: 10.3390/cancers13010020.

Smillie C, Garcillán-Barcia MP, Francia MV, Rocha EP, de la Cruz F. Mobility of plasmids. *Microbiol Mol Biol Rev*. 2010;74(3):434-452. doi:10.1128/MMBR.00020-10

Šola KF, Vladimir-Knežević S, Hrabač P, Mucalo I, Saso L, Verbanac D. The effect of multistrain probiotics on functional constipation in the elderly: a randomized controlled trial. *Eur J Clin Nutr*. 2022;76(12):1675-1681. doi:10.1038/s41430-022-01189-0

Soccol CR, Rosa M, Prado M. Current developments in probiotics. *J. Microbi. Biochem. Technol*. 2014;7, 11–20. doi: 10.4172/1948-5948.1000175

Speer BS, Shoemaker NB, Salyers AA. Bacterial resistance to tetracycline: mechanisms, transfer, and clinical significance. *Clin Microbiol Rev*. 1992;5(4):387-399. doi:10.1128/CMR.5.4.387

Spížek J, Řezanka T. Lincosamides: Chemical structure, biosynthesis, mechanism of action, resistance, and applications. *Biochem Pharmacol*. 2017;133:20-28. doi:10.1016/j.bcp.2016.12.001

Stogios PJ, Savchenko A. Molecular mechanisms of vancomycin resistance. *Protein Sci*. 2020;29(3):654-669. doi:10.1002/pro.3819

Struzycka I, Mazinska B, Bachanek T, et al. Knowledge of antibiotics and antimicrobial resistance amongst final year dental students of Polish medical schools-A cross-sectional study. *Eur J Dent Educ*. 2019;23(3):295-303. doi:10.1111/eje.12430

Surawicz CM, Brandt LJ, Binion DG, Ananthakrishnan AN, Curry SR, Gilligan PH, et al. Guidelines for diagnosis, treatment, and prevention of *Clostridium difficile* infections. *Am J Gastroenterol*. 2013;108:478–98.

Suzuki K, Iijima K, Ozaki K, Yamashita H. Isolation of a hop-sensitive variant of *Lactobacillus lindneri* and identification of genetic markers for beer spoilage ability of lactic acid bacteria. *Appl Environ Microbiol*. 2005;71(9):5089-5097. doi:10.1128/AEM.71.9.5089-5097.2005

Tenorio C, Zarazaga M, Martinez C, Torres C. Bifunctional enzyme 6'-N-aminoglycoside acetyltransferase-2"-O-aminoglycoside phosphotransferase in *Lactobacillus* and *Pediococcus* isolates of animal origin. *J Clin Microbiol*. 2001;39(2):824-825. doi:10.1128/JCM.39.2.824-825.2001

Tenorio-Jiménez C, Martínez-Ramírez MJ, Gil Á, Gómez-Llorente C. Effects of Probiotics on Metabolic Syndrome: A Systematic Review of Randomized Clinical Trials. *Nutrients*. 2020;12(1):124. Published 2020 Jan 1. doi:10.3390/nu12010124

Thai T, Salisbury BH, Zito PM. Ciprofloxacin. [Updated 2023 Aug 28]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK535454>

Thumu SCR, Halami PM. Conjugal transfer of *erm*(B) and multiple *tet* genes from *Lactobacillus* spp. to bacterial pathogens in animal gut, in vitro and during food fermentation. *Food Res Int*. 2019;116:1066-1075. doi:10.1016/j.foodres.2018.09.046

Todorov S, Onno B, Sorokine O, Chobert JM, Ivanova I, Dousset, X. Detection and characterization of a novel antibacterial substance produced by *Lactobacillus plantarum* ST 31 isolated from sourdough. *International Journal of Food Microbiology*. 1999;48(3), 167-177.

Ünal Turhan E, Erginkaya Z. Determination of antibiotic resistance of lactic acid bacteria isolates of probiotic foods. *Pamukkale Univ Muh Bilim Derg*. 2016;22(7), 620-624. <https://doi.org/10.5505/pajes.2016.87369>.

Van De Klundert J, Vliegenthart J. PCR detection of genes coding for aminoglycoside-modifying enzymes. In: Persing et al (editors). *Diagnostic Molecular Microbiology: Principles and Applications*. AMS press, Washington, D.C., pp. 547-552.

Van Dyck E, Smet H, Piot P. Comparison of E test with agar dilution for antimicrobial susceptibility testing of *Neisseria gonorrhoeae*. *J Clin Microbiol*. 1994;32(6):1586-1588. doi:10.1128/jcm.32.6.1586-1588.1994

Van Hoek AH, Mayrhofer S, Domig KJ, et al. Mosaic tetracycline resistance genes and their flanking regions in *Bifidobacterium thermophilum* and *Lactobacillus johnsonii*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2008;52(1):248-252. doi:10.1128/AAC.00714-07

Vanichanan J, Chávez V, Wanger A, et al. Carbapenem-resistant *Lactobacillus* intra-abdominal infection in a renal transplant recipient with a history of probiotic consumption. *Infection*. 2016;44,793–796. <https://doi.org/10.1007/s15010-016-0903-1>

Vásquez A, Jakobsson T, Ahrné S, Forsum U, Molin G. Vaginal *Lactobacillus* flora of healthy Swedish women. *J Clin Microbiol*. 2002;40(8):2746-2749. doi:10.1128/JCM.40.8.2746-2749.2002

Vaziri F, Peerayeh SN, Nejad QB, Farhadian A. The prevalence of aminoglycoside-modifying enzyme genes (*aac* (6')-I, *aac* (6')-II, *ant* (2'')-I, *aph* (3')-VI) in *Pseudomonas aeruginosa*. *Clinics (Sao Paulo)*. 2011;66(9):1519-1522. doi:10.1590/s1807-59322011000900002

Viazis N, Argyriou K, Kotzampassi K, et al. A Four-Probiotics Regimen Combined with A Standard *Helicobacter pylori*-Eradication Treatment Reduces Side Effects and Increases Eradication Rates. *Nutrients*. 2022;14(3):632. Published 2022 Feb 1. doi:10.3390/nu14030632

Walsh P. PDR- Physicians' Desk Reference 54th Ed. Walsh P. (ed.) Medical Economics Company, Montvale NJ, 2000.

World Health Organization. Model list of essential medicines 21st list 2019, (<https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/325771/WHO-MVP-EMP-IAU-2019.06-eng.pdf?ua=1>).2019.

Yang C, Yu T. Characterization and transfer of antimicrobial resistance in lactic acid bacteria from fermented dairy products in China. *J Infect Dev Ctries*. 2019;13(2):137-148. Published 2019 Feb 28. doi:10.3855/jidc.10765

Yıbar A, Yildiz O, Kucuk S, Akay C. Investigation of vitality, antibacterial properties, and antagonistic effects of probiotic bacteria in probiotic dairy products. *International Food Research Journal*. 2024;31,1,107-118.

Zavišić G, Popović M, Stojkov S, et al. Antibiotic Resistance and Probiotics: Knowledge Gaps, Market Overview and Preliminary Screening. *Antibiotics* (Basel). 2023;12(8):1281. Published 2023 Aug 3. doi:10.3390/antibiotics12081281

Zendeboodi F, Khorshidian N, Mortazavian AM, Cruz AG. Probiotic: conceptualization from a new approach. *Current Opinion in Food Science*, Volume 32,2020,P: 103-123. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2020.03.009>.

Zhang F, Cheng W. The Mechanism of Bacterial Resistance and Potential Bacteriostatic Strategies. *Antibiotics* (Basel). 2022;11(9):1215. Published 2022 Sep 8. doi:10.3390/antibiotics11091215

Zhang G, Feng J. The intrinsic resistance of bacteria. *Yi Chuan*. 2016;38(10):872-880. doi:10.16288/j.ycz.16-159

Zhang H, Xia Y, Wang G, et al. *Lactobacillus plantarum* AR495 improves colonic transport hyperactivity in irritable bowel syndrome through tryptophan metabolism. *Food Funct*. 2024;15(14):7416-7429. Published 2024 Jul 15. doi:10.1039/d4fo01087f

Zhang L, Zeng X, Guo D, Zou Y, Gan H, Huang X. Early use of probiotics might prevent antibiotic-associated diarrhea in elderly (>65 years): a systematic review and meta-analysis. *BMC Geriatr*. 2022;22(1):562. Published 2022 Jul 6. doi:10.1186/s12877-022-03257-3

Zheng P, Zeng B, Zhou C, et al. Gut microbiome remodeling induces depressive-like behaviors through a pathway mediated by the host's metabolism. *Mol Psychiatry*. 2016;21(6):786-796. doi:10.1038/mp.2016.44

Zhou JS, Pillidge CJ, Gopal PK, Gill HS. Antibiotic susceptibility profiles of new probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains. *Int J Food Microbiol*. 2005;98(2):211-217. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2004.05.011

Zhou N, Zhang JX, Fan MT, Wang J, Guo G, Wei XY. Antibiotic resistance of lactic acid bacteria isolated from Chinese yogurts. *J Dairy Sci*. 2012;95(9):4775-4783. doi:10.3168/jds.2011-5271

Zhu M, Frank MW, Radka CD, et al. Vaginal *Lactobacillus* fatty acid response mechanisms reveal a metabolite-targeted strategy for bacterial vaginosis treatment. *Cell*. 2024;187(19):5413-5430.e29. doi:10.1016/j.cell.2024.07.029

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Pelin	Uyruğu	T.C.
Soyadı	Güzelsoy Kara	Tel no	
Doğum tarihi		e-posta	

Eğitim Bilgileri

Mezun olduğu kurum		Mezuniyet yılı
Lise	Konya Ereğli Anadolu Lisesi	2007
Lisans	Hacettepe Üniversitesi	2013
Yüksek Lisans	Hacettepe Üniversitesi	2016
Doktora	Akdeniz Üniversitesi	2025

İş Deneyimi

Görevi	Kurum	Süre (yıl-yıl)
Eczacı	Konya Karapınar Devlet Hastanesi	2013-2017
Eczacı	Antalya Serik Devlet Hastanesi	2017-2018
Eczacı	Antalya Atatürk Devlet Hastanesi	2018-2021
Eczacı	Pelin Eczanesi	2021-

Yabancı Dilleri	Sınav türü	Puanı
İngilizce	Yabancı Dil Seviye Tespit Sınavı	70

Proje Deneyimi

Proje Adı	Destekleyen kurum	Süre (Yıl-Yıl)
Probiyotiklerden İzole Edilen Laktobasillerin Antibiyotik Direncinin Araştırılması	Akdeniz Üniversitesi	2024-2025

Yayın: Çörek Otunun (Nigella Sativa L.) Aktif Bileşeni Timokinonun İnsan Sağlığı Üzerine Olası Etkileri (Türkiye Klinikleri-Literatür Eczacılık Bilimleri Dergisi)