TÜRKİYE CUMHURİYETİ
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ÇEŞİTLİ MİKROORGANİZMALARIN VE MADDELERİN ENFEKSİYON ÖNLEYİCİ ETKİLERİNİN *CAENORHABDITIS ELEGANS* MODELİNDE ARAŞTIRILMASI

SİNEM SEZEN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

FARMASÖTİK MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

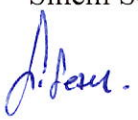
DANIŞMAN
Dr. Öğr. Üyesi ERKAN RAYAMAN

2020- İSTANBUL

BEYAN

Bu tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu çalışmada kullandığım bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin hazırlanması sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

Sinem Sezen



TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim ve tez çalışmam süresince kıymetli bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan, her şekilde bana destek olan ve yol gösteren değerli danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi Erkan RAYAMAN' a en içten dileklerimle teşekkür ederim.

Eğitimim boyunca yardımlarını ve bilgilerini benden esirgemeyen Anabilim Dalı Başkanımız değerli hocam Prof. Dr. Ümran SOYOĞUL GÜRER başta olmak üzere bana sundukları desteklerinden dolayı Dr. Öğr. Üyesi Pervin RAYAMAN, Dr. Öğr. Üyesi Burçak GÜRBÜZ ve klinik suşların teminini sağlayan Doç.Dr. Rıza ADALETİ' ye teşekkürü bir borç bilirim.

Tez çalışmamızı, "SAG-C-YLP-130319-0097" numaralı proje ile destekleyen Marmara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı' na teşekkür ederiz.

Tez çalışmam sırasında desteklerini esirgemeyen sevgili arkadaşlarım Ayfer GÜNER ve Betül Esra İPEK' e teşekkür ederim.

Hayatımın her aşamasında bana gösterdikleri sevgi, destek ve fedakarlıkları için sevgili aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ŞEKİLLER DİZİNİ **viii**

KISALTMALAR ve SİMGELER DİZİNİ **xii**

RESİMLER DİZİNİ **xiii**

1. ÖZET **1**

2. SUMMARY **2**

3. GİRİŞ ve AMAÇ **3**

4. GENEL BİLGİLER **7**

4.1. *Caenorhabditis elegans* 7

4.2. Probiyotikler 11

4.2.1. *Bifidobacterium* cinsi 14

4.2.1.1. *Bifidobacterium bifidum – Bifidobacterium longum* 14

4.2.2. *Lactobacillus* cinsi 15

4.2.2.1. *Lactobacillus acidophilus - Lactobacillus fermentum* 15

4.2.3. *Streptococcus* cinsi 16

4.2.3.1. *Streptococcus thermophilus* 16

4.2.4. *Bacillus* cinsi 17

4.2.4.1. *Bacillus clausii* 18

4.3. Patojen Mikroorganizmalar 18

4.3.1. *Enterococcus* cinsi 19

4.3.1.1. *Enterococcus faecalis* 20

4.3.2 *Staphylococcus* cinsi 21

4.3.2.1. *Staphylococus aureus* 21

4.3.3 *Escherichia* cinsi 22

4.3.2.1. *Escherichia coli* 22

4.3.4. *Salmonella* cinsi 23

4.3.4.1. *Salmonella typhi* 24

4.4. Prebiyotikler 25

4.4.1 İnülin 28

4.4.2. Laktuloz 30

4.4.3. Fruktooligosakkarit 31

4.4.4. 4-O-metil-D-glucurono-D-xylan 32

5. GEREÇ VE YÖNTEM 33

5.1. Gereçler 33

5.1.1. *Caenorhabditis elegans* 33

5.1.2. Probiyotik mikroorganizmalar 33

5.1.3. Patojen mikroorganizmalar 33

5.1.4. Prebiyotik maddeler 34

5.1.5. Besiyeri ve katkıları 34

5.1.6. Kimyasal maddeler, tamponlar, çözeltiler ve diğer maddeler 35

5.1.7. Cihazlar 36

5.1.8. Plastik ve cam malzemeler 37

5.2. Yöntemler 37

5.2.1. *C. elegans*' ın yaşamının sürdürülmesi 37

5.2.2. Nematode growth medium' un hazırlanması 38

5.2.3. *E. coli* OP50 kültürünün hazırlanması 38

5.2.4. Kontamine *C. elegans* stoklarının sterilizasyonu 38

5.2.5. Probiyotik mikroorganizmaların enfeksiyon önleyici etkilerinin belirlenmesi 39

5.2.5.1. *C. elegans*' ın senkronizasyonu 39

5.2.5.2. Probiyotik mikroorganizmalı besin plağı hazırlanması ve *C. elegans*' ın transferi 40

5.2.5.3. Patojen mikroorganizmaların hazırlanması ve probiyotik mikroorganizmalarla beslenen *C. elegans'* ın mikroplaklara transferi 41

5.2.6. Probiyotik mikroorganizmaların, prebiyotik varlığındaki enfeksiyon önleyici etkilerinin belirlenmesi 42

5.2.6.1. *C. elegans*' ın senkronizasyonu 43

5.2.6.2. Prebiyotiklerle inkübe edilmiş probiyotik mikroorganizma içeren besiyerlerinin hazırlanması ve *C. elegans' ın* transferi 43

5.2.6.3. Patojen mikroorganizmaların hazırlanması ve probiyotik mikroorganizmalarla beslenen C. elegans' ın mikroplaklara transferi 44

5.2.7. İstatistiksel analiz 44

5. BULGULAR **45**

6.1. Probiyotik Mikroorganizmaların Enfeksiyon Önleyici Etkilerinin Belirlenmesi 45

6.1.1. *E. faecalis* ATCC 29212 ile enfekte edilen *C. elegans*' ın yaşam süresinin tespiti 46

6.1.2. *E. coli* ATCC 25922 ile enfekte edilen *C. elegans*' ın yaşam süresinin tespiti 46

6.1.3. *S. aureus* ATCC 29213 enfekte edilen *C. elegans*' ın yaşam süresinin tespiti 47

6.1.4. *S. aureus* ATCC 43300 ile enfekte edilen enfekte edilen *C. elegans*' ın yaşam süresinin tespiti 47

6.1.5. *S. typhi* ATCC 15373 ile enfekte edilen *C. elegans*' ın yaşam süresinin tespiti 48

6.1.6. Klinik *E. faecalis* ile enfekte edilen *C. elegans'* ın yaşam süresinin tespiti 48

6.1.7. Klinik *E. coli* ile enfekte edilen *C.elegans*' ın yaşam süresinin tespiti 49

6.1.8. Metisiline duyarlı *S. aureus* ile enfekte edilen *C. elegans*' ın yaşam süresinin tespiti 49

6.1.9. Metisiline dirençli *S. aureus* ile enfekte edilen *C. elegans*' ın yaşam süresinin tespiti 50

6.1.10. Klinik *Salmonella* spp. ile enfekte edilen *C. elegans*' ın yaşam süresinin tespiti 51

6.2. Prebiyotik Maddelerin Enfeksiyon Önleyici Etkilerinin Belirlenmesi 52

6.2.1. İnülin ile inkübe edilmiş probiyotik mikroorganizmalarla beslendikten sonra patojen mikroorganizmalarla enfekte olan *C. elegans*' ın yaşam süresinin tespiti 53

6.2.1.1. *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 ile enfekte edilen *C. elegans*' ın yaşam süresinin tespiti 54

6.2.1.2. *Escherichia coli* ATCC 25922 ile enfekte edilen *C. elegans*' ın yaşam süresinin tespiti 54

6.2.1.3. *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 ile enfekte edilen *C. elegans*' ın yaşam süresinin tespiti 55

6.2.1.4. *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 ile enfekte edilen *C. elegans'* ın yaşam süresinin tespiti 55

6.2.1.5. *Salmonella typhii* ATCC 15373 ile enfekte edilen *C. elegans'* ın yaşam süresinin tespiti 56

6.2.1.6. Klinik *Enterococcus faecalis* suşu ile enfekte edilen *C. elegans*' ın yaşam süresinin tespiti 57

6.2.1.7. Klinik *Escherichia coli* suşu ile enfekte edilen *C. elegans'* ın yaşam süresinin tespiti 58

6.2.1.8. Klinik metisiline duyarlı *Staphylococcus aureus* suşu ile enfekte edilen *C. elegans'* ın yaşam süresinin tespiti 58

6.2.1.9. Klinik metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* suşu ile enfekte edilen *C. elegans*' ın yaşam süresinin tespiti 59

6.2.1.10. Klinik *Salmonella* spp. ile enfekte edilen *C. elegans*' ın yaşam süresinin tespiti 60

6.2.2. Laktuloz ile inkübe edilmiş probiyotik mikroorganizmalarla beslendikten sonra patojen mikroorganizmalarla enfekte olan *C. elegans*' ın yaşam süresinin tespiti 61

6.2.2.1. *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 ile enfekte edilen *C. elegans* ' ın yaşam süresinin tespiti 62

6.2.2.2. *Escherichia coli* ATCC 25922 ile enfekte edilen *C. elegans*' ın yaşam süresinin tespiti 62

6.2.2.3. *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 ile enfekte edilen *C. elegans*' ın yaşam süresinin tespiti 63

6.2.2.4. *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 ile enfekte edilen *C. elegans'* ın yaşam süresinin tespiti 64

6.2.2.5. *Salmonella typhii* ATCC 15373 ile enfekte edilen *C. elegans'* ın yaşam süresinin tespiti 64

6.2.2.6. Klinik *Enterococcus faecalis* suşu ile enfekte edilen *C. elegans'* ın yaşam süresinin tespiti 65

6.2.2.7. Klinik *Escherichia coli* suşu ile enfekte edilen *C. elegans'* ın yaşam süresinin tespiti 66

6.2.2.8. Klinik metisiline duyarlı *Staphylococcus aureus* (MSSA) ile enfekte edilen *C. elegans'* ın yaşam süresinin tespiti 66

6.2.2.9. Klinik metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) ile enfekte edilen *C. elegans'* ın yaşam süresinin tespiti 67

6.2.2.10. Klinik *Salmonella* spp. enfekte edilen *C. elegans'* ın yaşam süresinin tespiti 68

6.2.3. Fruktooligosakkarit ile inkübe edilmiş probiyotik mikroorganizmalarla beslendikten sonra patojen mikroorganizmalarla enfekte olan *C. elegans*' ın yaşam süresinin tespiti 68

6.2.3.1. *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 ile enfekte edilen *C. elegans'* ın yaşam süresinin tespiti 69

6.2.3.2. *Escherichia coli* ATCC 25922 ile enfekte edilen *C. elegans'* ın yaşam süresinin tespiti 70

6.2.3.3. *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 ve *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 ile enfekte edilen *C. elegans'* ın yaşam süresinin tespiti 71

6.2.3.4. *Salmonella typhii* ATCC 15373 ile enfekte edilen *C. elegans*' ın yaşam süresinin tespiti 71

6.2.3.5. Klinik *Enterococcus faecalis* suşu ile enfekte edilen *C. elegans*' ın yaşam süresinin tespiti 72

6.2.3.6. Klinik *Escherichia coli* suşu ile enfekte edilen *C. elegans'* ın yaşam süresinin tespiti 72

6.2.3.8. Klinik metisiline duyarlı ve dirençli *Staphylococcus aureus* ile enfekte edilen *C. elegans'* ın yaşam süresinin tespiti 72

6.2.3.9. Klinik *Salmonella* spp. suşu ile enfekte edilen *C. elegans'* ın yaşam süresinin tespiti 73

6.2.4. 4-o-metil-D-glucurono-D-xylan ile inkübe edilmiş probiyotik mikroorganizmalarla beslendikten sonra patojen mikroorganizmalarla enfekte olan *C. elegans'* ın yaşam süresinin tespiti 73

7. TARTIŞMA 75

8. KAYNAKÇA 82

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1: *Caenorhabditis elegans'* ın yapısı

Şekil 2:*Caenorhabditis elegans*' ın gelişim evreleri ve hayat döngüsü

Şekil 3: *Caenorhabditis elegans'* ın yaşam evreleri

Şekil 4: Gıdalardan elde edilen prebiyotik substratlar

Şekil 5: İnülin yapısal formu

Şekil 6: Laktulozun yapısal formu

Şekil 7: Laktuloz üretimi

Şekil 8: Fruktooligosakkaritin yapısal formu

Şekil 9: 4-o-metil-D-glucurono-D-xylan yapısal formu

Şekil 10: *B. longum, B. bifidum, L. acidophilus* ve *S. thermophilus* ile beslendikten sonra *E. faecalis* ATCC 29212 ile enfekte edilen *C. elegans'* ların yaşam süresinde meydana gelen değişim

Şekil 11: *B. longum* ve *B. bifidum* ile beslendikten sonra *E. coli* ATCC 25922 ile enfekte edilen *C. elegans'* ların yaşam süresinde meydana gelen değişim

Şekil 12: *B. longum* ile beslendikten sonra *S. aureus* ATCC 29213 ile enfekte edilen *C. elegans'* ların yaşam süresinde meydana gelen değişim

Şekil 13: *B. longum, L. acidophilus* ve *S. thermophilus* ile beslendikten sonra *S. aureus* ATCC 43300 ile enfekte edilen *C. elegans'* ların yaşam süresinde meydana gelen değişim değişim

Şekil 14: *B. bifidum* ve *L. fermentum* ile beslendikten sonra klinik *E. faecalis* ile enfekte edilen *C. elegans'* ların yaşam süresinde meydana gelen değişim

Şekil 15: *L. acidophilus* ve *S. thermophilus* ile beslendikten sonra klinik *E. coli* ile enfekte edilen *C. elegans'* ların yaşam süresinde meydana gelen değişim

Şekil 16: *B. longum* ve *S. thermophilus* ile beslendikten sonra klinik MSSA ile enfekte edilen *C. elegans'* ların yaşam süresinde meydana gelen değişim

Şekil 17: *B. longum, L. fermentum, S. thermophilus* ve *B. clausii* ile beslendikten sonra klinik MRSA ile enfekte edilen *C. elegans'* ların yaşam süresinde meydana gelen değişim

Şekil 18: *B. longum, B. bifidum, L. acidophilus, L. fermentum, S. thermophilus* ve *B. clausii* ile beslendikten sonra klinik *Salmonella spp.* ile enfekte edilen *C. elegans'* ların yaşam süresinde meydana gelen değişim

Şekil 19: İnülin içeren besiyerinde inkübe edilmiş *L. fermentum* ve *B. calusii* ile beslendikten sonra *E. faecalis* ATCC 29212 ile enfekte edilen *C. elegans'* ların yaşam süresinde meydana gelen değişim

Şekil 20: İnülin içeren besiyerinde inkübe edilmiş *L. fermentum* ve *S.thermophilus* ile beslendikten sonra *E.coli* ATCC 25922 ile enfekte edilen *C. elegans'* ların yaşam süresinde meydana gelen değişim

Şekil 21: İnülin içeren besiyerinde inkübe edilmiş *L. fermentum, S.thermophilus* ve *B. clausii* ile beslendikten sonra *S. aureus* ATCC 43300 ile enfekte edilen *C. elegans'* ların yaşam süresinde meydana gelen değişim

Şekil 22: İnülin içeren besiyerinde inkübe edilmiş *B.bifidum* ile beslendikten sonra *S. typhii* ATCC 15373 ile enfekte edilen *C. elegans'* ların yaşam süresinde meydana gelen değişim

Şekil 23: İnülin içeren besiyerinde inkübe edilmiş *B.bifidum* ve *B. clausii* ile beslendikten sonra klinik *E. faecalis* ile enfekte edilen *C. elegans'* ların yaşam süresinde meydana gelen değişim

Şekil 24: İnülin içeren besiyerinde inkübe edilmiş *B.bifidum* ve *L. fermentum* ile beslendikten sonra klinik *E. coli* ile enfekte edilen *C. elegans'* ların yaşam süresinde meydana gelen değişim

Şekil 25: İnülin içeren besiyerinde inkübe edilmiş *B. longum* ve *L. acidophilus* ve *B. clausii* ile beslendikten sonra klinik MSSA ile enfekte edilen *C. elegans'* ların yaşam süresinde meydana gelen değişim

Şekil 26: İnülin içeren besiyerinde inkübe edilmiş *L. fermentum* ve *B. clausii* ile beslendikten sonra klinik MRSA ile enfekte edilen *C. elegans'* ların yaşam süresinde meydana gelen değişim

Şekil 27: Laktuloz içeren besiyerinde inkübe edilmiş *L. fermentum* ve *B. clausii* ile beslendikten sonra *E. faecalis* ATCC 29212 ile enfekte edilen *C. elegans'* ların yaşam süresinde meydana gelen değişim

Şekil 28: Laktuloz içeren besiyerinde inkübe edilmiş *B. longum, L. acidophilus L. fermentum, S. thermophilus* ve *B. clausii* ile beslendikten sonra *E. coli* ATCC 25922 ile enfekte edilen *C. elegans'* ların yaşam süresinde meydana gelen değişim

Şekil 29: Laktuloz içeren besiyerinde inkübe edilmiş *L. acidophilus* ve *L. fermentum* ile beslendikten sonra *S. aureus* ATCC 43300 ile enfekte edilen *C. elegans'* ların yaşam süresinde meydana gelen değişim

Şekil 30: Laktuloz içeren besiyerinde inkübe edilmiş *B. longum* ile beslendikten sonra *S. typhii* ATCC 15373 ile enfekte edilen *C. elegans'* ların yaşam süresinde meydana gelen değişim

Şekil 31: Laktuloz içeren besiyerinde inkübe edilmiş *B. bifidum ve B. clausii* ile beslendikten sonra klinik *E. faecalis* ile enfekte edilen *C. elegans'* ların yaşam süresinde meydana gelen değişim

Şekil 32: Laktuloz içeren besiyerinde inkübe edilmiş *B. longum*, *B. bifidum* ve *L. fermentum* ile beslendikten sonra klinik *E. coli* ile enfekte edilen *C. elegans'* ların yaşam süresinde meydana gelen değişim

Şekil 33: Laktuloz içeren besiyerinde inkübe edilmiş *B. longum ve B. clausii* ile beslendikten sonra klinik MSSA ile enfekte edilen *C. elegans'* ların yaşam süresinde meydana gelen değişim

Şekil 34: Laktuloz içeren besiyerinde inkübe edilmiş *B. clausii* ile beslendikten sonra klinik MRSA ile enfekte edilen *C.elegans'* ların yaşam süresinde meydana gelen değişim

Şekil 35: Fruktooligosakkarit içeren besiyerinde inkübe edilmiş *B. bifidum ve B. longum* ile beslendikten sonra *E. faecalis* ATCC 29212 ile enfekte edilen *C.elegans'* ların yaşam süresinde meydana gelen değişim

Şekil 36: Fruktooligosakkarit içeren besiyerinde inkübe edilmiş *B. longum ve B. bifidum* ile beslendikten sonra *E. coli* ATCC 25922 ile enfekte edilen *C.elegans'* ların yaşam süresinde meydana gelen değişim

Şekil 37: Fruktooligosakkarit içeren besiyerinde inkübe edilmiş *B. bifidum ve B. longum ve B. clausii* ile beslendikten sonra *S. typhii* ATCC 15373 ile enfekte edilen *C. elegans'* ların yaşam süresinde meydana gelen değişim

Şekil 38: Fruktooligosakkarit içeren besiyerinde inkübe edilmiş *L. acidophilus* ile beslendikten sonra klinik *E. coli* ile enfekte edilen *C.elegans'* ların yaşam süresinde meydana gelen değişim

Şekil 39: Fruktooligosakkarit içeren besiyerinde inkübe edilmiş *B. bifidum* ve *B. longum* ile beslendikten sonra klinik *Salmonella* spp. ile enfekte edilen *C. elegans'* ların yaşam süresinde meydana gelen değişim

KISALTMALAR ve SİMGELER DİZİNİ

‘ : Dakika

°C : Santigrat derece

µL : Mikrolitre

µg : Mikrogram

ark. : Arkadaşları

B. clausii : *Bacillus clausii*

B. longum : *Bifidobacterium longum*

B. bifidum: *Bifidobacterium bifidum*

C. elegans: *Caenorhabditis elegans*

CGC : Caenorhabditis genetik merkezi

dH2O : Distile su

DAF : Dauer formasyonu

E. coli : *Escherichia coli*

E. faecalis : *Enterococcus faecalis*

FOS : Fruktooligosakkarit

g : Gram

kg : Kilogram

L. acidophilus : *Lactobacillus acidophilus*

L. fermentum : *Lactobacillus fermentum*

mm : Milimetre

M : Molar

mL : Mililitre

mg : Miligram

NGM : Nematode growth medium

rpm : Dakikada dönüş sayısı

S. thermophilus : *Streptococcus thermophilus*

S. aureus : *Staphylococcus aureus*

vb. : Ve benzeri

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1: *C. elegans'* ın stereo mikroskopta farklı büyütmelerdeki görünümü

Resim 2: *C. elegans*' ın transfer edildiği 24 kuyucuklu mikroplak

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 1: Probiyotik özellikte olan başlıca mikroorganizmalar

Tablo 2:Gıdalardan elde edilen prebiyotik substratlar

Tablo 3: Prebiyotiklerin gıda endüstrisinde kullanım alanları

Tablo 4: Çeşitli bitkisel kaynaklardaki inülin içeriği

Tablo 5: Probiyotik mikroorganizmaların, patojen mikroorganizmalara karşı *C. elegans*' ın yaşam süresi üzerine etkisi

Tablo 6: İnülin içeren besiyerinde inkübe edilen probiyotik mikroorganizmaların, patojen mikroorganizmalara karşı *C. elegans*' ın yaşam süresi üzerine etkisi

Tablo 7: Laktuloz içeren besiyerinde inkübe edilen probiyotik mikroorganizmaların, patojen mikroorganizmalara karşı *C. elegans*' ın yaşam süresi üzerine etkisi

Tablo 8: Fruktooligosakkarit (FOS) içeren besiyerinde inkübe edilen probiyotik mikroorganizmaların, patojen mikroorganizmalara karşı *C. elegans*' ın yaşam süresi üzerine etkisi

Tablo 9: 4-o-metil-D-glucurono-D-xylan içeren besiyerinde inkübe edilen probiyotik mikroorganizmaların, patojen mikroorganizmalara karşı *C. elegans*' ın yaşam süresi üzerine etkisi

Çeşitli Mikroorganizmaların ve Maddelerin Enfeksiyon Önleyici Etkilerinin *Caenorhabditis elegans* Modelinde Araştırılması

Öğrencinin Adı : Sinem SEZEN

Danışman : Dr. Öğr. Üyesi Erkan RAYAMAN

Anabilim dalı : Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

1. ÖZET

Amaç: Çalışmamızda *Caenorhabditis elegans* modeli üzerinde, insan vücuduna faydalı etkileri olan bazı probiyotik mikroorganizmaların, bazı patojen mikroorganizmaların standart ve klinik izolatlarının enfeksiyon geliştirme yetenekleri üzerine etkinlikleri ve prebiyotik özellikleri olan bazı maddelerin bu etkileşim üzerine olan etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmamızda 6 farklı probiyotik mikroorganizmanın ve 4 farklı prebiyotik maddenin *C. elegans* üzerinde patojen olan 5' i klinik olmak üzere 10 farklı patojen mikroorganizmanın oluşturduğu enfeksiyona karşı, yaşam sürelerinde meydana getirdiği değişiklikler istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır.

Bulgular: Farklı probiyotik mikroorganizmalar ile beslenen *C. elegans*' ın patojen mikroorganizmalarla enfekte edildiğinde, yaşam süresinde meydana gelen değişimler istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Prebiyotik maddelerin aktiviteleri, probiyotik ve patojen mikroorganizmaların türlerine bağlı olarak birbirlerinden farklı etki göstermişlerdir. Genel olarak inülin, laktuloz ve fruktooligosakkarit maddelerinin kullanımında enfeksiyona karşı olumlu sonuçlar elde edilirken, 4-o-metil-D-glucurona-D-xylan maddesinin enfekte *C. elegans*' ın yaşam süresinde anlamlı bir değişiklik meydana getirmediği gözlenmiştir.

Sonuçlar: Probiyotik mikroorganizma ve prebiyotik madde kullanımının, patojen mikroorganizmaların meydana getirdiği enfeksiyonlar üzerinde gösterdiği etkiden yola çıkarak bu tür enfeksiyonların önlenmesi veya daha hafif seyretmesini sağlayarak tedavi sürecinde yardımcı olarak kullanılabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar Sözcükler: *Caenorhabditis elegans*, probiyotik, prebiyotik, patojen bakteri

2. SUMMARY

Investigation of Infection Prevention Effects of Various Mikroorganisms and Substances in *Caenorhabditis elegans* Model

Student's Name: Sinem SEZEN

Supervisor: Dr. Öğr. Üyesi Erkan RAYAMAN

Department: Pharmaceutical Microbiology

Aim: In this study, we aimed to investigate the effects of some probiotic microorganisms which have beneficial effects on human body, standard and clinical isolates of some pathogenic microorganisms on infection development ability and the effects of some substances having prebiotic properties on this interaction.

Material and Methods: In our study, 6 different probiotic microorganisms and 4 different prebiotic substances against infection caused by 10 different pathogenic microorganisms, 5 of which are clinical pathogens on *C. elegans*, were compared statistically.

Results: When *C. elegans*, fed with different probiotic microorganisms, was infected with pathogenic microorganisms, changes in lifetime were found statistically significant. The activities of prebiotic substances showed different effects depending on the types of probiotic and pathogenic microorganisms. In general, positive results were obtained against the infection in the use of inulin, lactulose and FOS substances, while the 4-o-methyl-D-glucurona-D-xylan substance did not produce a significant result in the life span of the infected *C. elegans*.

Conclusion: It suggests that the use of probiotic microorganisms and prebiotic substances can be used as an adjunct in the treatment process by preventing or milder infections of this type based on the effect on the infections caused by pathogenic microorganisms.

Keywords: *Caenorhabditis elegans*, probiotics, prebiotics, pathogen bacteria

3. GİRİŞ ve AMAÇ

Patojen özellik taşıyan bakteri, virüs veya parazit gibi mikroorganizmaların insan vücuduna girerek doku ve/veya organda yaşaması ve çoğalması sonucu, istenmeyen etkiler meydana getirmesiyle oluşan klinik tabloya enfeksiyon adı verilir (Wilke ve ark., 2008).

Bakterilerin sebep olduğu enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde antibiyotikler kullanılmaktadır. Son yıllarda çeşitli nedenlerle birçok enfeksiyon etkeni mikroorganizma, antibiyotiklere karşı artan oranlarda direnç göstermektedir. Günümüzde dirençli bakterilere karşı, tedavide kullanılabilecek antibiyotik seçeneklerinin çok kısıtlı olması nedeni ile enfeksiyonların tedavisinde zorluklar yaşanmaktadır. Birbirlerinden farklı özellik ve etki mekanizmalarına sahip olabilen yeni antibakteriyel ilaçların klinik tedavide kullanıma başlanmasıyla birlikte mikroorganizmaların zaman içerisinde bunlara karşı direnç geliştirmeleri kaçınılmazdır (Sümerkan, 2005). Hastaların daha fazla sayıda, daha toksik, daha geniş spekturumlu antibiyotiklerin kullanılması ekonomik kayıplara neden olabildiği gibi psikolojik ve fizyolojik olarak da tedavi sürecini olumsuz etkilemektedir. Bu nedenlerle günümüzde enfeksiyonları engelleyebilecek, tedavi süresince olumlu etkiler oluşturabilecek yöntemler üzerinde yapılan çalışmalar artmaktadır. Bu çalışmalardan bazıları, faydalı mikrroganizmalar olarak bilinen probiyotikler üzerine yoğunlaşmaktadır.

İnsan sağlığı üzerinde olumlu etkiler oluşturduğu saptanan, probiyotik özellik taşıyan mikroorganizmalar ilk defa 1908 yılında, Nobel ödüllü Rus araştırmacı Elie Metchnikoff tarafından ileri sürülmüştür (Çakır, 2003). Probiyotik mikroorganizmaların tüketici sağlığı üzerinde yarattığı çeşitli etkiler son yıllardaki çoğu araştırmalara konu olmuştur. Bu çalışmalardan elde edilen sonuçlar; probiyotik kullanımının insanların ve hayvanların sağlıklı beslenmesinde ve mikrobiyal enfeksiyonlardan korunmasında uygun maliyetli ve güvenli bir yol olduğuna işaret etmektedir (Kim ve ark., 2006). Probiyotik mikroorganizmaların sindirim sistemindeki mikrobiyal dengeyi destekleyerek konak canlının bağışıklık sistemi

üzerinde oluşturduğu yararlı etkiler birçok çalışmada gösterilmiştir (Langlands ve ark., 2004). Bu özelliklerine bakıldığında, probiyotik mikroorganizmalar insan sağlığı açısından önemli bir potansiyele sahiptir.

Enfeksiyon hastalıklarının temel özelliklerinin araştırılmasında guinea pig (kobay, *Cavia porcellus*), fare (*Mus musculus*), sıçan (*Rattus norvegicus*) ve zebra balığı *Saccharomyces cerevisiae*, *Drosophila melanogaster* ve *Caenorhabditis elegans* gibi modeller kullanılabilmektedir (Shane ve ark., 2010). Çalışmanın amacı ve kapsamı doğrultusunda en uygun olan model organizmanın seçimi yapılmaktadır. Çalışmamızda model organizma olarak bir nematod olan *Caenorhabditis elegans* kullanılmıştır.

Nematodlar, birey sayısı bakımından dünya üzerinde en fazla sayıda bulunan çok hücreli hayvanlardır (Viglierchio, 1991). Mikroorganizmalar ve nematodlar 600 milyon yıldan fazla bir süredir etkileşime girmiş ve birlikte evrimleşmiştir. Bu nematodlardan biri olan *C. elegans* insan genleriyle %60-80 oranında homolog olan, doğada toprakta ve ağaç diplerinde serbest olarak yaşayan, ışığı geçiren şeffaf görünümlü, patojen olmayan canlılardır. *C. elegans*' ın genom ve genetiğinin iyi bilinmesi, laboratuvar ortamında hücresel gelişim ve yaşam süresinin takip edilebilir olması ve ekonomik olması nedeniyle özellikle genetik ve embriyoloji alanlarında birçok çalışmada model organizma olarak kullanılmaktadır. Son yıllardaki çalışmalarla birlikte *C. elegans*' ın insanda hastalık meydana getiren mikroorganizmalardan etkilendiği ve enfeksiyonun gelişimi açısından insanla benzerlik gösterdiği ortaya çıkmıştır. Konak ve mikroorganizma ilişkisinin incelenmesinde, etken patojen mikroorganizmaya ait virulans faktörlerin belirlenmesinde, enfeksiyon hastalıklarının gelişim evrelerinin gözlenmesinde ve bazı ilaç araştırmalarında sağladığı kolaylıklardan dolayı, bu alanlarda örnek model organizma olarak kullanılmaktadır. 2002 ve 2006 yıllarında ki Nobel Tıp ve Fizyoloji ödülleri, *C. elegans*' ın model organizma olarak kullanıldığı bilimsel araştırmalara verilmiştir (Ergen, 2012). Çalışmamızda da *C. elegans* probiyotik mikroorganizmaların enfeksiyon etkenlerine karşı olan etkisinin saptanmasında model konak organizma olarak kullanılmıştır.

Prebiyotikler sindirim sisteminde ki yararlı bakteriler olan probiyotiklerin üreme ve/ veya aktiviteleri üzerinde olumlu etki yaratarak konakçıya fayda sağlayan, sindirilemeyen gıda içerikleri olarak tanımlanır (Harman ve Knol, 2006). Probiyotik bakteriler prebiyotik maddeleri enerji kaynağı olarak kullanarak çoğalmaktadırlar. Bir besin bileşeninin prebiyotik özellik taşıyabilmesi için sindirime dirençli olması, bağırsak mikroflora bakterileri tarafından hidrolize edilmesi, bir veya kısıtlı sayıda olmak üzere daha çok bakterinin çoğalmasını uyarması, konakçının sağlığı üzerinde diğer olumlu etkilerinin olması gibi özellikleri taşıması beklenir (Coşkun, 2006). Laktuloz, inülin ve bazı oligosakkaritlerin de içlerinde yer aldığı sindirilemeyen karbonhidratlar, prebiyotiklere örnek olarak gösterilebilir. İnce bağırsaktaki sindirimden kaçabilen bazı nişastalar, kolonda yer alarak bağırsaktaki flora bakterilerinin karbonhidrat kaynakları olarak kullanılırlar (Crittenden, 2001). Kısacası prebiyotikler, sindirilmeyen ancak bağırsakta fermente olan ve kolondaki bakterilerin çoğalmasını ve etkinliğini olumlu yönde etkileyerek aynı zamanda konağın sağlığını da iyileştiren besin öğeleridir.

Bilimsel araştırmalar, son yıllarda probiyotik ve prebiyotik kombinasyonu olan sinbiyotikler üzerinde yoğunlaşmıştır. Sinbiyotikler, insan ve hayvan bağırsaklarında bulunan faydalı flora bakterilerinin etkinliklerini arttırmalarını ve çoğalmalarını sağlar (Taşdemir, 2017).

Probiyotik mikroorganizmaların ve prebiyotik maddelerin etkinliklerinin özellikle sindirim sistemi enfeksiyonlarında etkili olabileceği düşünülmektedir. Bu enfeksiyonlar dünya üzerinde en sık karşılaşılan enfeksiyonlardandır. Bu enfeksiyonlar özeelikle immunsupresif ve yaşlı kişiler ile çocuklarda ciddi sağlık sorunlarına ve ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Bu enfeksiyonlarda bakteriyel etkenler olarak başlıca, *Escherichia coli, Salmonella spp.* saptanmaktadır. Bunların yanında *Staphylococcus aureus* gibi mikroorganizmalar toksinleri ile sindirim sisteminden alınarak zehirlenmelere neden olabilmektedir. *Enterococcus spp.* gibi bazı bağırsak bakterileri herhangi bir sebeple, bağırsakta aşırı çoğaldığında yada bağırsaktan vücudun başka bölgelerine gittiğinde ciddi enfeksiyonlara neden olabilmektedir. Bu nedenle gerek *S. aureus* gerekse *Enterococcus spp.*' nin

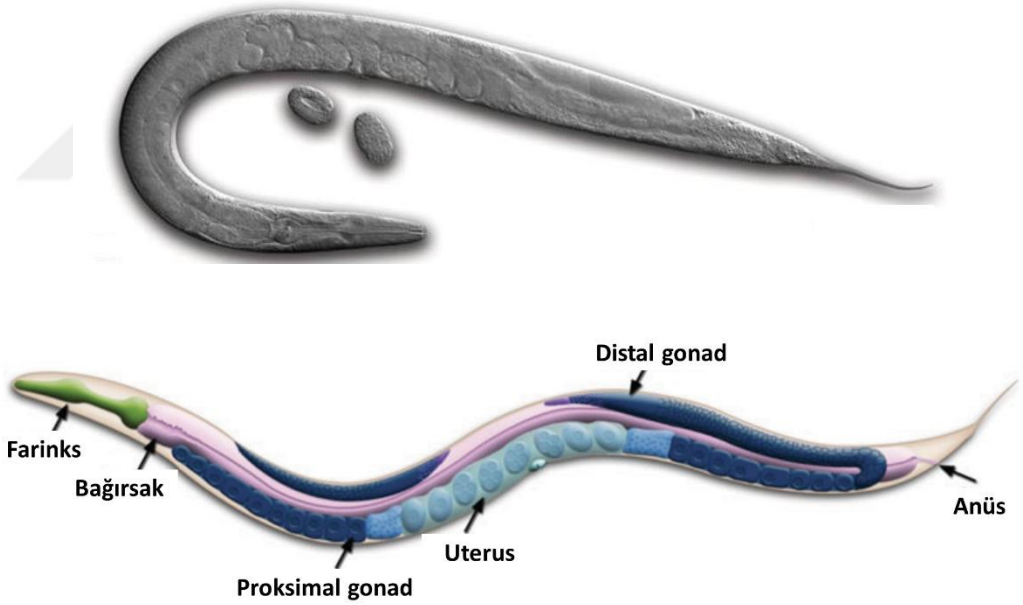
bağırsakta dengeli sayıda tutulması önemlidir. Bu nedenle çalışmamızda, *Salmonella spp., Escherichia coli, Enterococcus faecalis, S. aureus* mikroorganizmaları yer almıştır (Thielman, 2004; Aytaç ve ark., 2014; Velusamy ve ark., 2010; Bhunia, 2008; Kadariya ve ark., 2014; Zboromyrska ve Vila, 2016; Nelson ve ark., 2014; https://www.who.int, Erişim tarihi: 13 Mayıs 2020).

Çalışmamızda, *C. elegans* modeli üzerinde, insan vücuduna faydalı etkileri olan bazı probiyotik mikroorganizmaların, bazı patojen mikroorganizmaların standart ve klinik izolatlarının enfeksiyon geliştirme yetenekleri üzerine etkilerini ve prebiyotik özellikleri olan bazı maddelerin bu etki üzerine olan etkinliklerinin araştırılması amaçlanmıştır. Bu etkinlikler, patojen mikroorganizmalar ile probiyotik, prebiyotik ve ikisinin birden uygulanması ile *C. elegans*' ın yaşam süresi üzerinde oluşan değişikliklerin tespiti ile saptanmıştır. Bu tür etkileşimlerin saptanması enfeksiyon gelişiminin durdurulması adına temel bilgiler sağlayacak, kullanılan probiyotik mikroorganizmaların ve prebiyotiklerin patojen mikroorganizmalar üzerine spesifik olarak etkinlikleri ortaya konulacaktır. Bu etkinliklerin ortaya konulması ile eczacılık sektöründe, daha faydalı probiyotik ve prebiyotik formüllerinin oluşturulması için kaynak görevi görecektir.

4. GENEL BİLGİLER

4.1. *Caenorhabditis elegans*

Caenorhabditis elegans, yaklaşık olarak 1mm boyutunda, ışığı geçiren yapısı sayesinde mikroskop altında kolaylıkla incelenebilen, patojen olmayan ve doğada ağaç diplerinde yaşayan çoğunlukla bakteriler ile beslenen bir nematod dur (Hertweck ve ark., 2003). Laboratuvar koşullarında, üzerinde *Escherichia coli* OP50 bakterisi bulunan nematod growth medium (NGM) agar plakları üzerinde yaşamını sürdürürler. Canlı, oda sıcaklığında (20-25°C) 2,5-4 gün içerisinde yetişkin hale gelir. Ortalama yaşam süresi 12 - 20 gün arasında değişmektedir (Şekil 1, Resim 1) (Segalat, 2006; Ergen, 2012).



Şekil 1: *Caenorhabditis elegans*' ın yapısı (WormAtlas, 2018)



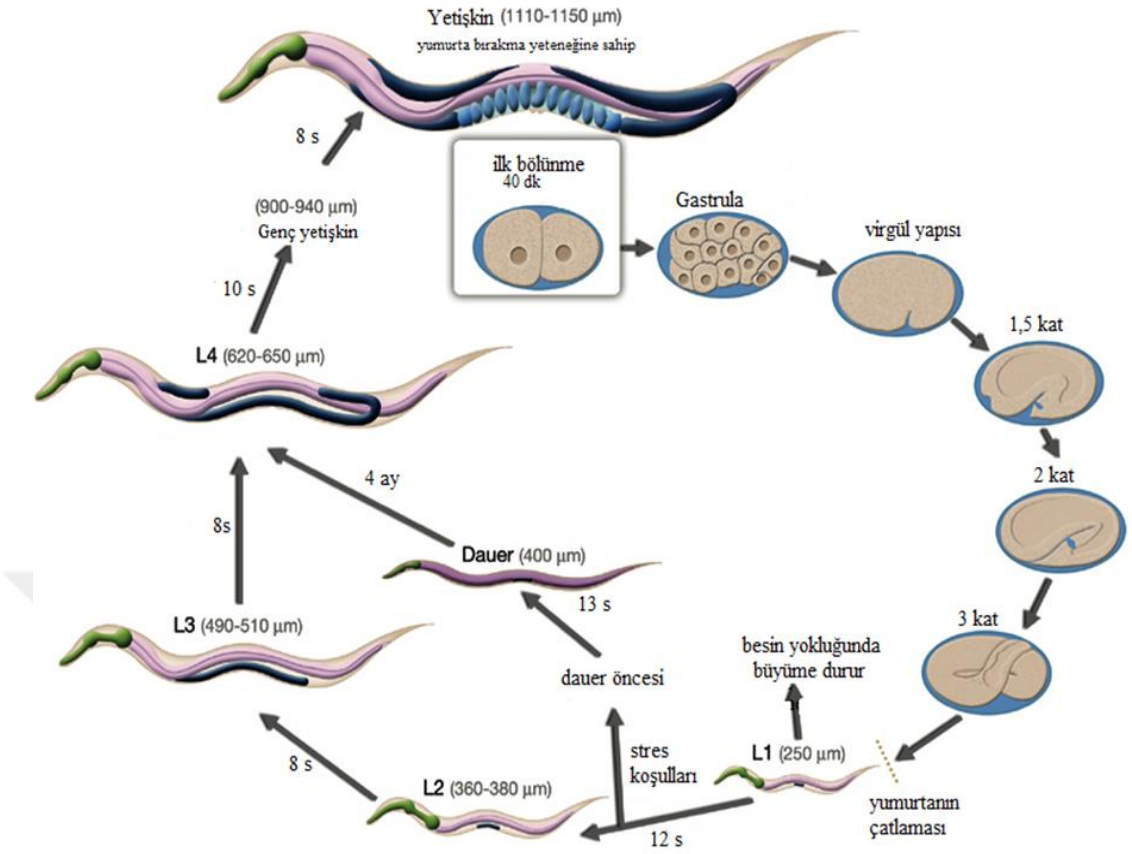
Resim 1: *C. elegans'* ın stereo mikroskoptaki görünümü

Yetişkin bir *C. elegans* 959 somatik hücreye sahiptir. Somatik hücre sayısının her yaşam evresinde sabit olması sayesinde döllenmeden yetişkinlik zamanına kadar her hücrenin takibi kolaylıkla yapılabilmektedir (Sulston ve Horvitz, 1977; Kimble ve Hirsh, 1979; Sulston ve ark., 1983). İnsan genlerine %80 oranında olan benzerliği ve genomunda homologlarının da bulunması nedeniyle memeli canlılardaki birçok buluş, bu model organizma üzerinde yapılmıştır. 1998 yılında genomu tamamen belirlenen *C. elegans*, genomu dizilenen ilk çok hücreli, ikinci ökaryotik organizmadır (Segalat, 2006; Ergen, 2012)..

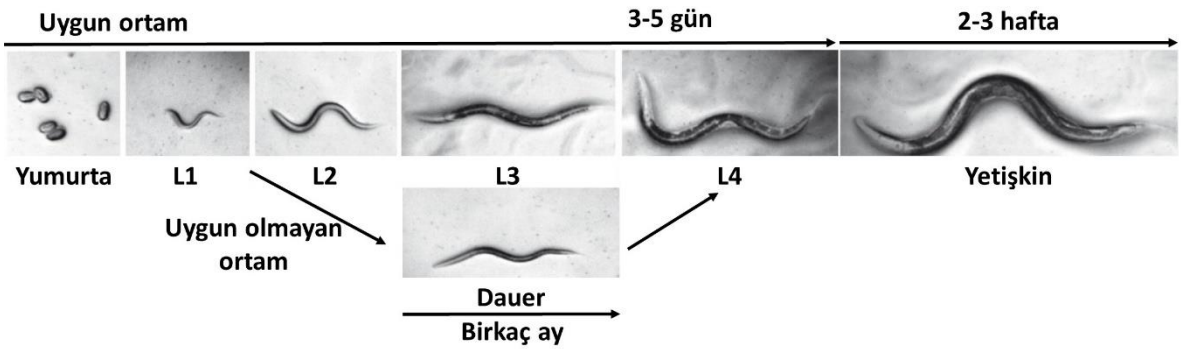
C. elegans sahip olduğu çeşitli özellikleriyle, çalışma sırasında sağladığı kolaylıklar ve avantajlar ile Sydney Brenner tarafından ideal deney hayvanı olarak tanımlanmıştır. *C. elegans*' ın hızlı yaşam döngüsüne sahip olması, genom ve genetiği hakkında pek çok bilginin elde edilmiş olması, ekonomik olması ve laboratuvarda yaşamının kolaylıkla devam ettirilebilir olması bu organizmanın ideal bir model organizma olarak kullanılmasına neden olmuştur (Ergen, 2012).

C. elegans hermafrodit ve erkek olmak üzere 2 cinsel forma sahiptir. Hermafroditler gonadları oosit üretmeden önce sperm üreten dişilerdir ve kendi kendilerine döllenerek yaklaşık 300 yavru meydana getirebilirler. Popülasyon içerisinde hermafroditlerin baskın olmasıyla birlikte erkek form %0,5' den daha az oranda bulunur. Erkekler farklı genetik kombinasyonlara sahip bireylerin oluşmasında ihtiyaç duyulan genetik materyalin değişimine izin verirler (Riddle, 2010).

Diğer nematodlar da olduğu gibi *C. elegans'* ın yaşam döngüsü de dört larval evre (L1 - L4) ile yetişkinlik evresinden oluşur. Her farklı larval evrede döneme özgü kütikül tabakası sentezlenerek deri değişimi yaşanır. Embriyoların oluşması ve gelişmesi 20 °C' de yaklaşık 16 saat boyunca devam eder. Yumurtadan çıkan larvalar beslenme ve gelişmeye başlar. Embriyoların yumurtadan çıktıkları ilk evre L1 evresidir, bu aşama yaklaşık 16 saat sürmektedir. Diğer aşamalar yaklaşık olarak 12 saatte tamamlanır. L4 evresinden 12 saat sonra yetişkin olan nematodlar yumurta üretmeye başlayarak üreme gerçekleştirirler. *C. elegans* oda sıcaklığında (20-25 °C) 2,5-4 gün gibi bir süre zarfında yetişkin hale gelir ve ortalama yaşam süresi 10-20 gün arasındadır. Açlık ve uygun olmayan koşullar altında, *C. elegans* larvaları, canlının nöroendokrin sinyalleri tarafından uyarılarak 'dauer' adı verilen alternatif bir forma dönüşebilmektedir (Finch ve Ruvkun, 2001). Ortamdaki besin miktarı azaldığında veya stres koşullarıyla karşılaşıldığında L2 larvaları alternatif bir yaşam döngüsü meydana getirir Dauer larva olarak isimlendirilen bu form *C. elegans* larvasının beslenmesi ve gelişmesi durur, çevredeki stres koşullarına ve kimyasal ajanlara karşı korunma sağlanmış olur. Bu aşamadaki canlılar birkaç ay boyunca beslenmeden yaşayabilirler. Dauer formda ki larvaların hareketleri L3 formda ki larvalara kıyasla daha hızlıdır. Ortam koşulları normale döndüğünde ve stres şartları ortadan kalktığında L4 larva dönemine geri dönebilirler (Şekil 2, 3) (Corsi ve ark., 2006).



Şekil 2: *C. elegans*‘ ın gelişim evreleri ve hayat döngüsü (Ergen, 2012)



Şekil 3: *C. elegans*’ın yaşam evreleri (Fielenbach ve Antebi, 2008)

Sindirim sistemi; *C. elegans*’ ın sindirim sistemi farinks ve bağırsaktan meydana gelir. Besin olarak kullanılan bakteriler nematodun anterior kısmından vücuda alınır. İki loblu nöromüsküler bir pompa görevi gören farinks yiyecekleri öğüterek sindirim için bağırsağa iletir (Avery ve You, 2012). Hayvanların pompalama davranışı, ortamdaki yiyeceklerin yoğunluğu ve kalitesine bağlıdır. Örneğin, nematodlar aç

olduklarında daha fazla pompalayıp yeterli miktarda besine sahip olduklarında ise daha az pompalama davranışı göstermektedirler (Avery ve Shtonda, 2003).

C. elegans çeşitli bakteriyel patojenler, mikrosporidia ve sindirim sistemini kolonize eden virüslerin neden olduğu enfeksiyon ve enfeksiyonun araştırılması için bir model teşkil etmektedir (Diogo ve Bratanich, 2014).

Çalışmamızda model organizma olarak kullanılan *C. elegans* AU37 ısıya duyarlı olarak sterildir ve 25 °C'da sterildir. Ayrıca genetik değişiklikler (glp-4(bn2) I; sek-1(km4)) ile patojenlere karşı hasasiyeti artırılmıştır. Bu nedenle özellikle enfeksiyon etkenlerine karşı yapılan çalışmalarda bu canlı kullanılmaktadır (Zacchino ve ark., 2017; Vega ve Gore, 2017; Scorzoni ve ark., 2018; Jakobsen ve ark., 2013).

4.2. Probiyotikler

Probiyotikler vücuda yeterli miktarda alındığında, mikrobiyal ortamı iyileştirerek konak canlıda faydalı etkiler gösteren canlı mikroorganizmalardır. Yunanca 'pro' ve 'bios' kelimelerinden türetilmiş 'yaşam için' anlamını taşıyan probiyotik terimi ilk kez 1965 yılında Lily ve Stillwell tarafından tanımlanmıştır. Eski çağlardan beri süt, yoğurt, kefir, kımız gibi probiyotik özellik taşıyan fermente süt ürünleri insanların beslenme düzenlerinde önemli derecede yer almıştır. Probiyotik özellik taşıyan mikroorganizmaların insan sağlığı üzerindeki olumlu etkileri ilk defa 1908 yılında, Nobel ödüllü Rus araştırmacı Elie Metchnikoff tarafından ortaya çıkarılmıştır (Çakır, 2003). Elie Metchnikoff, fermente süt ürünleriyle beslenen Bulgaristan köylülerinin fark edilir derecede uzun ömürlü olduklarını rapor etmiştir. Bu gözleminden yola çıkarak yaptığı çalışmalar doğrultusunda süt ve süt ürünleri içerisinde bulunan bakterilerin bağırsaktaki mikroflorayı olumlu yönde etkilediğini ve toksik mikrobiyel aktiviteyi azalttığını gözlemlemiştir. Günümüzde de en yaygın kullanım alanı bulan probiyotik mikroorganizmalardan biri olan laktik asit bakterilerinin ömrü uzattıkları teorisini ileri sürmüştür. Bu dönemden itibaren mikrobiyoloji alanında yeni bir sayfa açılmış ve bu alanda yapılan çalışmalar hız kazanmıştır (Taşdemir, 2017).

Almanya Sağlık Bakanlığı Uzman Komitesi probiyotik özellikteki gıda ürünlerinin üretiminde kullanılan mikroorganizmalarla ilgili bir bildirge yayınlayarak konuyla ilgili belirli standartlar oluşturmuştur.

Bu bildirgeye göre;

- Gıda üretiminde kullanılan probiyotik bakterinin taksonomik sistemi belirlenmiş olmalıdır.
- Gıda maddesinin raf ömrü boyunca yeterli sayıda hücre canlı olarak kalabilmelidir.
- Alınan probiyotik mikroorganizmanın bağırsaklara canlı bir şekilde ulaşabilme burada canlılığını sürdürebilme ve çoğalabilme yeteneği göstermesi gerekmektedir.
- Probiyotik özellikte olan gıda maddesinin insan sağlığı üzerine olumlu etkilerde bulunması gerektiği belirtilmiştir (Reuter ve ark., 2002).

Probiyotik mikroorganizmaların bağırsaklara kadar canlı olarak ulaşabilmesi; mide asiditesine dayanıklı olması, safra tuzuna ve lizozim enzimimin aktivitesine karşı daha dirençli olması ile açıklanır. Bağırsaklara ulaşan probiyotik mikroorganizmalar laktik asit, asesik asit, bakteriyosin gibi antimikrobiyal maddeler üreterek zararlı mikroorganizmaların çoğalmasını engelleyerek doğal mikrofloranın korunmasını sağlarlar. Probiyotik bakteriler bağırsak yüzeyine tutunarak bulundukları bölgeye patojen mikroorganizmaların tutunmalarına engel olurlar. Bu özellikleri mikroflorada ki biyolojik etkileşimler için önem taşımaktadır (İnanç ve ark., 2005).

Yapılan çalışmalarda gıdalardaki canlı probiyotik mikroorganizmaların diyarelerin azaltılması ve önlenmesi, bağırsakta ki mikrobiyal dengenin sağlanması, laktoz intoleransının azaltılması, immün sistemin desteklenmesi ve antitümörjenik özelliklerinin varlığı yapılan çalışmalarda gözlemlenmiş ve bu gıdaları tüketen bireyler üzerinde sağladığı olumlu etkiler klinik olarak gösterilmiştir (Liong, 2007). Probiyotiklerin yoğun olarak bulunduğu bağırsaklarımızı 2. beyin olarak nitelendiren bilim insanları da bulunmaktadır. Ayrıca yukarıda anlatılan faydalar yanında probiyotiklerin insanın ruhsal durumunu bile etkiyebildiği düşünülmektedir.

Bağırsak mikroorganizmaları ile insan beyni arasındaki ilişkinin keşfedilmesi yeni immüno veya mikroorganizma kaynaklı tedavilerin planlanmasını yeni bir düşünce olarak gündeme getirmektedir (Ignatova, 2019).

Probiyotik bakterilerin patojen bakterilere karşı olan antibakteriyel etkinliklerinin yanısıra allerjik hastalıklara karşı bağışıklık sisteminin desteklenmesine yönelik gösterdiği olumlu etkiler de bilinmektedir (Chandan, 1997). Yapılan çalışmalar sonucunda ortaya çıkan veriler doğrultusunda probiyotiklerin insan sağlığı üzerinde olan olumlu etkileri incelenmekte ve bu etkinliklerinin arttırılmasına dair çalışmalar ve ticari ürünler giderek artmaktadır (Tablo 1).

Tablo 1: Probiyotik özellikte olan başlıca mikroorganizmalar (Özbaş,1995)

Lactobacillus türleri	*Lactobacillus bulgaricus* *Lactobacillus brevis* *Lactobacillus lactis* *Lactobacillus fermentum* *Lactobacillus plantarum* *Lactobacillus rhamnosus*
Bifidobacterium türleri	*Bifidobacterium breve* *Bifidobacterium infantis* *Bifidobacterium longum* *Bifidobacterium bifidum*
Bacillus türleri	*Bacillus subtilis* *Bacillus clausii* *Bacillus coagulans*
Streptococcus türleri	*Streptococcus lactics* *Streptococcus thermophilus*
Mayalar	*Saccharomyces cerevisiae* *Candida albicans*

4.2.1. *Bifidobacterium* cinsi

Bifidobacterium cinsi bakteriler insan gastrointestinal sisteminde kolonize olan ilk mikroorganizmalardandır. İlk olarak 1899-1900 yıllarında Henry Tissier tarafından anne sütüyle beslenen bebeklerin dışkısından izole edilmişlerdir. Yıllar içerisinde çeşitli çalışmalar sonucu sırasıyla *Bacillus bifidus communis*, *Bacterium bifidus* ve *Lactobacillus bifidus* olarak isimlendirilmişledir. Son olarak Denhert isimli araştırmacı tarafından yapılan çalışmalar doğrultusunda laktobasillerden farklı oldukları belirlenmiş ve bu bakteriler *Bifidobacterium* spp. olarak kabul edilmişlerdir *Bifidobacterium* cinsinin 30 civarında türü bulunur (Kılıç, 2009).

Bifidobacterium cinsi üyeleri genellikle insan ve hayvanların bağırsak florasında sıklıkla karşılaşılan gram pozitif, hareketsiz ve spor oluşturmayan bakterilerdir. Bazı türlerin aerob olmasının yanı sıra genellikle zorunlu anaeroblardır (Simpson ve ark., 2004).

4.2.1.1. *Bifidobacterium bifidum – Bifidobacterium longum*

Bifidobacterium bifidum ve *Bifidobacterium longum g*ram pozitif, hareketsiz ve spor oluşturmayan, anaerobik ya da fakültatif anaerobik bakterilerdir insan ve hayvan mikroflorasında sık sık karşılaşılan mikroorganizma türleridir. Optimum gelişme sıcaklıkları 36-38 $^{\circ}$C, optimum gelişme pH' sı 6,5 – 7,0' dır (Bottacini ve ark., 2014).

Bu bakterileriler insan bağırsağında ki mikroflorayı dengeleyerek patojen bakterilere karşı koruyucu görev üstlenirler. Bireyin yaşının ilerlemesi, beslenme düzeninde ki değişiklikler ve antibiyotik kullanımına bağlı olarak bağırsakta ki kolonizasyonları değişebilir. *Bifidobacterium bifidum* ve *Bifidobacterium longum* fermente süt ve süt ürünlerinin hazırlanmasında sıklıkla kullanılan türlerdir. Bu bakteriler diğer probiyotik özellikte olan laktik asit bakterileriyle uyum sağlayarak ortaya çıkan ürün kalitesini arttırmaktadır. İnsan sağlığını olumlu yönde etkilediği kanıtlanan Bifidobacteriumlar birçok fonksiyonel gıdaya da ilave edilmektedir (Elal, 2018).

4.2.2. *Lactobacillus* cinsi

Lactobacillus cinsi üyeleri gram pozitif, spor oluşturmayan, anaerob veya mikroaerofil özellik gösteren bakterilerdir. Birkaç tür haricinde genellikle hareketsizdirler. *Lactobacillus* cinsi bakteriler aktivitelerine göre 3 farklı gruba ayrılır, içeresinde toplamda 50 tür bulunur. Patojen formlarına şimdiye kadar rastlanılmamıştır. *Lactobacillus* cinsi içerisinde yer alan türlerin çoğu bakteriyosin üretmektedir. *Lactobacillus acidophilus* tarafından acidophilin ve lactocidin, *Lactobacillus plantarum* tarafından lactolin ve *Lactococcus lactis* tarafından nisin bakteriyosinleri sentezlenir. Bu maddelerin patojen ve saprofit bakteriler üzerinde antibakteriyel etki gösterdiği saptanmıştır (Kurt ve Zorba, 2005).

Lactobacillus cinsi bakteriler fermente süt ve süt ürünleri üretiminde, şarap fermantasyonunda, et süt ve sebze ürünlerinin tadını geliştirmek amacıyla kullanılırlar (Evren ve ark., 2011).

4.2.2.1. *Lactobacillus acidophilus - Lactobacillus fermentum*

Lactobacillus acidophilus ve *Lactobacillus fermentum* gram pozitif, spor oluşturmayan mikroaerofilik bakterilerdir. Optimum sıcaklık aralığı 35-38 °C, optimum ph aralığı 5,5-6,0' dır. *L. acidophilus* türü heksoz şekerlerin fermentasyonu sonucu birincil derecede laktik asit üreten bakterilerdir. İnsan ağız, bağırsak ve vagina da flora bakterisi olarak karşımıza çıkarlar. Doğumdan itibaren vaginaya yerleşen *L. acidophilus* türü bakterilerin buradaki epitel dokuda bulunan glikojenden laktik asit oluşturarak pH'ı 4-4,2 ye kadar düşürmeleri sonucunda bu bölgeye patojen bakterilerin yerleşmesi engellenmiş olur (http://www.mikrobiyoloji.org.com, Erişim tarihi: 18 Nisan 2020).

L. fermentum metabolik faaliyetleri sonucu laktik asit, CO_2 ve etanol gibi ürünler ortaya çıkaran heterofermentatif özellik gösterir. Homofermentatif türlerden farklı olarak asetaldehit ve diasetil gibi tat ve aroma artırıcı maddeleri üretmeleri sebebiyle bu bakterilerin fermente süt ürünlerindeki kullanımı lezzet yoğunluğunu

artırmaktadır. Aynı zamanda *L. fermentum* suşlarının ürettiği antimikrobiyal peptitler gıda koruyucu maddeler olarak gıdaların içerisinde kullanılmaktadır (Työppönen ve ark., 2003).

Kısaca bu bakteriler fermente süt ve süt ürünlerinin üretiminde, metabolik bozuklukların azaltılmasında, konak canlının zararlı mikroorganizmalara karşı korunmasında ve bağışıklık sisteminin güçlendirilmesinde önemli derecede rol oynayan en yaygın kullanılan probiyotik mikroorganizmalardandır (Kılıç, 2001).

4.2.3. *Streptococcus* cinsi

Gram pozitif özellik gösteren, fakültatif anaerob, hareketsiz ve spor oluşturmayan mikroorganizmalardır. Yuvarlak veya oval şekle sahip; tek, çift veya uzun zincirler halinde çeşitli şekillerde bulunabilirler. Optimum üreme sıcaklıkları genel olarak 35-42 °C, optimum gelişme pH' sı 6,0-6,5 arasındadır (Forbes ve ark., 2008).

Streptococcus cinsine ait mikroorganizmalara doğada sıklıkla rastlanır. İnsan ve hayvan normal florasında bulunabildikleri gibi süt ve süt ürünleri gibi gıda maddelerinin üretiminde de kullanılırlar. İnsan ve hayvanlar üzerinde çeşitli enfeksiyonlarının etkeni olarak karşımıza çıkan patojen formları da bulunmaktadır (Dellaglio ve ark, 1991).

4.2.3.1. *Streptococcus thermophilus*

Streptococcus thermophilus probiyotik özellik gösteren gram pozitif, hareketsiz ve fakültatif anaerob mikroorganizmadır. Sitokrom, oksidaz ve katalaz enzimlerine sahip olmayan mikroorganizmalardır. Kanlı besiyeri üzerinde alfa-hemolitik aktivite gösterirler (Sneath ve ark., 1986).

S. thermophilus insan kökenli olmamasına rağmen mide asiditesine karşı dayanıklıdır, mide bağırsak bariyerinden zarar görmeden geçebilir ve bağırsakta ki epitel hücrelere yapışma yeteneğine sahiptir (Brigidi ve ark., 2003) *S. thermophilus*

suşları doğal bariyerlere olan dirençleri ve vücudun ihtiyaç duyduğu folatı yüksek düzeyde üretmeleri nedeniyle probiyotik olarak kullanımları önerilmektedir (Iyer ve ark., 2010).

S. thermophilus yoğurt bakterisi olarak da bilinir. Laktoz intoleransının azaltılmasını sağlayarak insan sağlığı üzerinde olumlu etkinlikler gösterir. *S. thermophilus'* a süt ve süt ürünleri içerisinde, bunlarla ilgili ekipmanlarda yaygın olarak rastlanmaktadır (Pearce ve Flint, 2002).

4.2.4. *Bacillus* cinsi

Gram pozitif, kapsüllü, endospor oluşturan, genellikle anaerob özellik gösteren çomak şekilli mikroorganizmaladır (Logan ve Berkeley, 1984).

Bacillus cinsi içerisinde yer alan 100 çeşit tür arasında patojen özellik gösteren mikroorganizmalar yoğunluk göstermektedir. Bunların dışında *Bacillus coagulans*, *Bacillus clausii* ve *Bacillus subtilis* gibi birkaç türü içeren gıda ürünlerinin tüketiminin insan sağlığı üzerinde olumlu etkiler göstermesi neticesinde probiyotik olarak kullanımları uygun görülmüş türler de bulunmaktadır (Urdaci ve ark., 2004).

Bacillus spp.' nin spor yapan formlarının mide asidi ve yüksek sıcaklığa dayanıklı olmaları, antibiyotiklere karşı dirençli olmaları nedeniyle probiyotik olarak kullanımları artmıştır. Sporların geniş bir pH aralığında aktivite gösterebilmesi, düşük pH' ya sahip mide bariyerinden zarar görmeden geçerek alt bağırsağa daha fazla sayıda canlı mikroorganizma ulaşmasını sağlar (Cutting, 2011)

B. clausii, *B. coagulans*, *B. subtilis* içeren probiyotik gıda maddelerinin düzenli olarak kullanılması sonucu; çocukluk döneminde ki diyare gibi gastrointestinal sistem ve solunum yolu enfeksiyonlarının önlendiği rapor edilmiştir (Hong ve ark., 2005; Marseglia ve ark., 2007).

4.2.4.1. *Bacillus clausii*

Bacillus clausii türü de genel cins özelliklerini taşıyarak gram pozitif özellik gösteren, kapsüllü bir yapıya sahip, endospor oluşturan, aerob ve çomak şekilli mikroorganizmaladır. Galaktoz, dulcitol, sorbitol ve L-aribose gibi çeşitli karbon kaynaklarını kullanabilmektedir. Büyümesi için 37- 40 °C sıcaklık ve alkali bir ortam olması gerekir, optimum pH 9,0' dur (Cutting, 2011).

Şimdiye kadar insan üzerinde patojenik etkileri gözlenmemiştir. Konak canlının bağırsak mikroflorasında yer alarak simbiyotik ilişkiler oluşturan mikroorganizmalardır. Probiyotik *Bacillus*' ları içeren gıdalar ve yemler, insanlar üzerinde bağışıklığı artırıcı takviye edici besin maddesi olarak, hayvanlar üzerinde büyümeyi teşvik etmek amacıyla, su ürünleri için ise büyüme düzenleyici olarak kullanılmaktadır (Cutting, 2011).

4.3. Patojen Mikroorganizmalar

Patojen kelimesi Yunanca acı anlamında ki "pathos" ve oluşma anlamında ki "genesis" kelimelerinin birleşiminden oluşmuştur (Bag, 2017). Hastalığa yol açma kapasitesi olan mikroorganizmalara patojen adı verilir. Bakteriler, virüsler, mantarlar, protozoalar ve riketsiyalar konakta hastalık oluşturan patojen mikroorganizmalardır (Görak ve Savaşer, 1992).

Mikroorganizmaların hastalık meydana getirebilme özellikleri ilk olarak 1876 yılında Robert Koch tarafından ortaya konulmuştur. Robert Koch yaptığı çalışmalar sonucu 1884 yılında bir mikroorganizma ile hastalık arasındaki ilişkiyi tanımlayan ve ilişkilendiren 4 kriter belirlemiş ve Koch Postülatları'nı (varsayım) tanımlamıştır. (Byrd ve Segre, 2016).

Patojen özellik taşıyan bakteri, virüs veya parazit gibi mikroorganizmaların insan vücuduna girerek doku ve/veya organda yaşaması ve çoğalması sonucu, istenmeyen etkiler meydana getirmesiyle oluşan klinik tabloya enfeksiyon adı verilir (Görak ve Savaşer, 1992).

Patojen mikroorganizmaların enfeksiyon oluşturabilmesi için belirli bir mikrobiyal yüke sahip olması gerekir. Bu değer enfeksiyon dozu olarak tanımlanmaktadır. Enfeksiyon dozları mikroorganizma türleri hatta bireyler arasında bile arasında değişkenlik gösterebilir. Bazı türlerin (*Salmonella* gibi) enfeksiyon dozu yüksek iken, bazılarında ise (*E. coli* gibi) düşük enfeksiyon dozu yeterli olmaktadır (Bhunia, 2008).

4.3.1. *Enterococcus* cinsi

Rebecca Lancefield tarafından D grubu streptokok olarak sınıflandırılan enterokokların, yapılmaya başlanan DNA-DNA ve DNA-RNA hibridizasyon çalışmaları sonucunda streptokoklardan farklılıkları belirlenmiş ve 1984 yılında farklı bir cins oldukları kabul edilmiştir (Murray, 1990).

Morfolojik olarak streptokoklardan ayrılmaları zordur. Gram pozitif özellik gösteren, spor oluşturmayan, kapsülsüz ve fakültatif anaerob mikroorganizmalardır. 10 - 45 °C arasında gelişme gösterebilmelerine rağmen optimum üreme ısıları 37 °C iken pH 7,2' dir (Koneman, 2005).

Enterokoklar çevre koşullarına dayanıklı olduklarından birçok ortamda canlılıklarını sürdürebilirler. Toprak, su, bitki ve hayvan orjinli gıda ürünlerinde yaygın olarak bulunmaktadır (Jamet ve ark., 2012).

Enterokoklar, insan ve hayvanların gastrointestinal sistemlerinde bulunabilmektedir. Bu durum hastane ya da hastane dışı ortamlarda endojen kaynaklı enfeksiyonlar oluşturmasına da neden olmaktadır (Gültekin, 2004). Enterokoklar genel olarak düşük virülansa sahip olmalarına rağmen toplum ve hastane kaynaklı enfeksiyonlar

da önemli etkenlerdir. İmmün sistemi baskılanmış kişilerde, çocuk ve yaşlılarda daha büyük sorunlara yol açabilirler. Taksonomik ayırım sonrasında günümüze kadar 35 farklı enterokok türü tanımlanmıştır. Ama klinik olarak en önemli patojenlerin *Enterococcus faecalis* ve *Enterococcus faecium* olduğu bildirilmiştir. Tüm enterokok enfeksiyonlarının %80'inden bu iki mikroorganizmanın sorumlu olduğu saptanmış olduğu bildirilmiştir (Klein, 2003).

Enterokoklar gibi bağırsaklarımızda kolonize olan bazı mikroorganizmalarda fırsat bulduklarında, o bölgede ya da vücudun farklı yerlerine yayılarak diğer organ ve dokularda enfeksiyonlara neden olabilirler. *Enterococcus* cinsi içinde özellikle *Enterococcus faecalis* ve *Enterococcus faecium* bağırsaklarda kolonize olabilmektedir. Bu mikroorganizmalar birçok antibiyotiğe karşı kolaylıkla direnç geliştirme kabiliyetine sahiptir. Bu kabiliyet nedeni ile herhangi bir sebeple bağırsaktan vücuda yayıldığında ciddi enfeksiyonlara sebep olabilir (Nelson ve ark., 2014). Bu nedenle bu bakterilerin bağırsakta kontrol altında tutulması önemlidir.

4.3.1.1. *Enterococcus faecalis*

Enterococcaceae familyası üyesi olan, gram pozitif özellik gösteren, hareketsiz, aerob, katalaz negatif, mezofilik bir bakteri olan *Enterococcus faecalis* insan ve hayvan gastrointestinal sisteminde yer alan bir bakteridir. Zor çevre şartlarına dayanıklıdır ve bu şartlar altında uzun süre yaşayabilirler (Jamet ve ark., 2012).

E. faecalis güçlü bir antimikrobiyal direnç mekanizmasına sahiptir. Bu sebeple meydana getirdiği enfeksiyonlarda, hastalar ciddi problemler yaşamaktadır. İnsanlarda endokarditis, septisemi, idrar yolları enfeksiyonu, yara enfeksiyonları, yeni doğan enfeksiyonları, bakteriyemi ve menengit gibi enfeksiyonlarında etken olabilmektedir (Jamet ve ark., 2012; Anderson ve ark., 2016). *E. faecalis* veya onların toksinleriyle kontamine olan et ve et ürünleri, süt ve süt ürünleri gibi gıdaların tüketimiyle vücuda alınır (Anderson ve ark., 2016).

4.3.2 *Staphylococcus* cinsi

Staphylococcus cinsi 2009 yılına kadar *Micrococcaceae* familyasında yer almaktaydı. Yapılan çalışmalar sonucunda bu yıldan itibaren *Staphylococcaceae* familyası üyesi olarak tanımlanmışlardır (De Vos ve ark., 2009). *Staphylococcaceae* ailesi içerisinde yer alan *Staphylococcus* cinsi bakteriler, insanlar için önemli patojenlerdir. *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus carnosus*, *Staphylococcus xylosus*, ve *Staphylococcus simulans* gibi patojen olan türlerin dışında, starter kültür olarak kullanılan türlerde bulunmaktadır (Gönülalan ve ark., 2004).

Stafilokoklar gram pozitif özellik gösteren, genellikle hareketsiz, spor oluşturmayan, kapsülsüz, aerob veya faültatif anaerob ve üzüm salkımı görünümünde olan mikroorganizmalardır (Erol, 2007). Stafilokoklar genel olarak 6,5 - 45 °C gibi geniş bir sıcaklık aralığında, optimum 37 °C' de ve pH 7-7,5 aralığında 18-24 saat içerisinde üreme yeteneğine sahiptirler (Murray ve ark., 2005). Bu cinsin içerisinde 30' dan fazla farklı tür yer almaktadır. Patojen olan stafilokokların çoğu kanda hemoliz yapar, plazmayı pıhtılaştırıp toksin üretirler (Waldvogel, 2000).

Stafilokoklar karşılaştıkları antibiyotiklere karşı, sürekli geliştirdikleri mekanizmalarıyla direnç göstermektedirler. Antibiyotiğe dirençli bir çok türü bulunması nedeniyle enfeksiyon sırasında uygulanacak antibiyotik tedavilerinde zorluklar yaşanmaktadır (Tohidpour ve ark., 2010; Wang ve ark., 2015).

4.3.2.1. *Staphylococus aureus*

Gram pozitif, fakültatif anaerob, spor oluşturmayan, hareketsiz mikroorganizma türürdür. İnsanlar ve hayvanlar için patojen mikroorganizmalardır. *S. aureus* stafilokok türleri içindeki en patojen türdür (Peacock, 2006).

S. aureus birçok virulans faktörüne sahiptir. Bu virülans faktörleri ike konağın savunma sisteminden kaçabilmekte ve ciddi enfeksiyonlara sebep olabilmektedir. Bazı suşlarda ekzotoksin üretimi de mevcuttur (Bhunia, 2008).

S. aureus' ın hastalık oluşturabilmesi için 10^5-10^8 kob/g enfeksiyon dozu yeterli olmaktadır. Özellikle diğer ciddi lokalize ve sistemi enfeksiyonlarının yanında kontamine olmuş et ve et ürünlerinin tüketilmesiyle meydana gelen hastalıklara da sebep olabilirler (Bhunia, 2008).

4.3.3 *Escherichia* cinsi

Escherichia cinsi üyeleri gram negatif, spor oluşturmayan, kapsüllü, çoğu hareketli ve genellikle parlak pürüzsüz koloniler oluşturmaktadır. Aerob veya fakültatif anaerob ortamda optimum 37 °C' de 16-18 saat inkübasyon süresinde optimum üreme göstermektedir. Karbon kaynağı olarak glikozu kullanan, katalaz pozitif, oksidaz negatif özellik gösterirler. Cins içerisinde yedi çeşit tür bulunur. Bu türler *E. coli*, *E. adecarboxylata*, *E. fergusonii*, *E.hermanii*, *E. vulnaris*, *E. blattae* ve *E. alberti'* dir (Chaudhury ve ark., 1999).

4.3.2.1. *Escherichia coli*

İlk olarak 1885'de Thedor Escherich tarafından ishalli süt çocuklarının dışkısından izole edilmiştir. 1999' dan itibaren Castellani ve Chalmer tarafından şimdiki ismiyle '*Escherichia coli'* olarak tanımlanmıştır (Karlı ve ark., 2010). *Escherichia cinsi* içerisinde, üzerinde bir çok çalışma yapılan ve genetik özellikleri en iyi bilinen mikroorganizmadır. *G*ram negatif özellik gösteren, fakültatif anaerob, spor oluşturmayan çomak şekilli bakterilerdir. En iyi üremeyi 37 °C ve nötral pH (7,2)' da gösterir. Özellikle 44 °C' de üreyebilme özelliğinde olması diğer bakterilerden ayırt edilmesini sağlar (Fricker, 1996).

E. coli bakterileri insan ve diğer sıcak kanlı hayvanların bağırsak mikroflorasında diğer flora bakterileriyle uyumlu bir şekilde yaşayarak sindirime yardımcı olurlar. Patojen olmayan flora bakterilerinin dışında, konak canlıda sindirim sistemi ve bağırsak enfeksiyonları, idrar yolu enfeksiyonları ve menenjit etkeni olarak sıklıkla karşımıza çıkan patojen suşları bulunmaktadır. *E. coli* suşlarının oluşturdukları hastalıklar ve serolojik farklılıkları değerlendirildiğinde dört farklı gruba ayrılmaktadır. Bu gruplar; enteropatojenik *E. coli* (EPEC), enterotoksijenik *E. coli* (ETEC), enteroinvasif *E. coli* (EIEC) ve enterohemorajik *E. coli*' (EHEC) dir. EPEC, EIEC ve ETEC suşlarının kaynağı insanlardır. İnsan dışkısı ile bulaşan bu mikroorganizma, hijyene dikkat etmeyen bireylerle olan temas ve kanalizasyon ile kontamine olmuş sular vasıtasıyla gıdalara bulaşabilirler (Uğur ve ark., 2003).

E. coli suşlarının etken olduğu enfeksiyon tedavisinde antibiyotikler kullanılmaktadır. Tüm dünyada toplumda sıklıkla karşılaşılan, ortam şartlarına uyum sağlama konusunda dayanıklı ve kolaylıkla adaptasyon geçirebilen bir bakteri türü olmasından dolayı son yıllarda antibiyotiklere gösterdiği direnç de giderek artmaktadır. Ülkemizde yapılan çalışmalar doğrultusunda da *E. coli* suşlarının tedavilerde kullanılan antimikrobiyal madde ve antibiyotiklere karşı geliştirdikleri direnç oranlarının oldukça önemli boyutlarda olduğu saptanmıştır (Taşbakan, 2004).

4.3.4. *Salmonella* cinsi

Salmonella cinsi 1885'te Daniel Elmer Salmon tarafından tanımlanmıştır (Brands, 2006). *Salmonella* cinsi gram negatif özellik gösteren, fakültatif anaerob, hareketli, kapsülü bulunmayan çubuk şekilli mikroorganizmalardır. Optimum üreme sıcaklıkları 35-37 °C, pH değeri ise 6,5 - 7,5' dir (Vazgeçer ve Temiz, 2005).

Salmonella cinsi bakteriler bağırsak sistemi enfeksiyonlarının etkeni olarak sıklıkla karşılaşılan mikroorganizmalardandır. Etken oldukları hastalıklar genel olarak salmonellozis olarak adlandırılmaktadır (Castelijn, 2013).

Salmonella türlerinin etken olduğu enfeksiyonun ardından, konağın duyarlılığı ve bağışıklık sistemiyle ilişkili olarak farklı klinik belirtiler ortaya çıkmaktadır. *S. typhi* ve *S. paratyphi* türleri ölüme neden olabilen ince bağırsak enfeksiyonlarından sorumlu iken, *S. enteritidis* ve *S. typhimurium* türleri ise tifoidal olmayan gastroenterite neden olmaktadır (López ve ark., 2012).

Salmonella cinsine ait patojen türler Türkiye' de en sık karşılaşılan halk sağlığı sorunlarındandır. Salmonella enfeksiyonları bireyler arasında fekal-oral yolla bulaşmaktadır. Kontamine yiyecek ve içeceklerin tüketilmesi enfeksiyonların yayılmasına sebep olmakradır (Willke, 2002). Hastalığa tanı konulmasıyla birlikte uygun antibiyotik tedavisine başlanmaktadır. Tedavi sonunda klinik iyileşme gözlenir ancak dışkı kültürleri genellikle pozitif kalır ve diğer kişiler için enfeksiyon kaynağı oluşturur (Janda ve Abbott, 1998).

Kullanılan antibiyotiklere karşı direnç geliştirebilen mekanizmalara sahiptirler. Florokinolon ve üçüncü kuşak sefalosporinler başta olmak üzere çeşitli antimikrobiyal maddelere karşı direnç kazanmış olan *Salmonella* suşları, tüm dünyada önemli bir sorun haline gelmiştir. Kazanılan direnç sonucunda tedavi maliyetlerinin artmasının yanı sıra morbidite ve mortalite oranların da da artış görülmektedir (https://www.who.int/ , Erişim tarihi: 13 Mayıs 2020).

4.3.4.1. *Salmonella typhi*

Salmonella typhi gram negatif özellik gösteren, aerob veya fakültatif anaerob, sporsuz, kapsülsüz, hareketli ve 20-40 °C arasında üreyebilen bir mikroorganizmadır (Murray ve ark, 1999).

S. typhi enfeksiyonları kompleks bir patojenite göstermektedir. Patojen mikroorganizma kontamine olmuş gıdaların tüketilmesiyle vücuda alınır. Hücre içi bir patojen olması sebebiyle fagositoz ile parçalanmazlar ve konak hücrede çoğalabilmektedirler (Hensel, 2004).

Bu patojen türünün 1-10^9 kob/g gibi geniş bir aralığa sahip enfeksiyon dozu bulunur. Gönüllü yetişkin bireylerle yapılan araştırmalarda 10^5-10^{10} kob/g aralığındaki enfeksiyon dozunun hastalık oluşturmada etkili olduğu saptanmıştır. Birey tarafından mide asiditesini azaltan süt ve süt ürünlerinin tüketilmesiyle enfeksiyon dozunun azaldığı gözlemlenmiştir (Bhunia, 2008).

4.4. Prebiyotikler

Prebiyotik kavramı ilk olarak 1995 yılında Gibson ve Roberfroid tarafından tanımlanmıştır (Gibson ve Roberfroid, 1995). Bu kavram geçen zaman içerisinde farklı kurumlar tarafından tekrar tanımlanmıştır. Son olarak 2017 yılında, Uluslararası Probiyotik ve Prebiyotik Bilimsel Derneği (ISAPP- International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics) tarafından yapılan tanıma göre prebiyotikler, konağın bağırsak florasındaki mikroorganizmaların kullandığı ve sağlık üzerine yararlı etkileri olan substratlar olarak tanımlanmıştır (Ouwehand, 2005).

Prebiyotikler bağırsaktaki yararlı flora bakterilerinin gelişimini destekleyerek sindirimin düzenli ve sağlıklı bir şekilde tamamlanmasını olumlu yönde etkiler. Bağırsak sistemini korunmasıyla birlikte kalsiyum, magnezyum ve mineral emilimini artırırlar ve bağışıklık sisteminin güçlenmesini sağlarlar (Aşan ve Özcan, 2006).

Prebiyotik maddeler kimyasal yapılarına göre sakkarit türevleri, protein/peptidler ve yağlar olarak gruplandırılabilirler. Gruplarına göre sakkarit türevi prebiyotikler; disakkaritler, oligosakkaritler ve polisakkaritler alt sınıflara ayrılmaktadır (Şekil 4, Tablo 2) (Roberfroid 2000).

PREBİYOTİKLER

Sakkarit Türevleri

1- Disakkaritler
(Laktoz, Laktuloz ve Şerker alkolleri (Poliol)

2- Polisakkaritler
(Fruktanlar ve Dirençli Nişasta)

3- Oligosakkaritler
(GOS, FOS, Rafinoz, Sitakiyoz)

Şekil 4: Gıdalardan elde edilen prebiyotik substratlar

Bir besin maddesinin prebiyotik olarak değerlendirilebilmesi için belirli kriterlere sahip olması gerekmektedir. Bu kriterler;

I. Mide asidine, bağırsaktaki diğer hidroliz enzimlerine ve safra tuzlarına karşı dirençli olmalıdır
II. Üst gastrointestinal sistemde hidroliz ve absorbe olmamalıdır
III. Bağırsakta bulunan probiyotik bakteriler tarafından fermente edilebilmelidir
IV. Yararlı mikroorganizmaların metabolizmasını artırabilmelidir
V. Konak sağlığı için yararlı fizyolojik etkiler oluşturması ‘ dır.
(https://www.worldgastroenterology.org, Erişim tarihi: 13 Mayıs 2020)

Tablo 2: Gıdalardan elde edilen prebiyotik substratlar (Ishwarya ve Prabhasakar 2014)

Prebiyotikler	Özellikleri
Fruktooligosakkaritler (FOS)	Buğday, soğan, muz, hindiba ve sarımsak gibi bitki türünde bulunur. Inülinin endoinülinaz enzimi tarafından hidrolizi ile elde edilir. Bisküvi, içecek, yoğurt kahvaltılık gevrek ve tatlandırıcı olarak birçok besine eklenirler.
Galaktooligosakkaritler (GOS)	İnsan sütünde, inek sütünde ve yoğurtta bulunur Süt ürünlerinin tatlılığını artırır ve laktoz intoleranslı olan bireyler için laktoz konsantrasyonunu düşürür. Kolonda seçici olarak *Bifidobacteria* ve *Lactobacillus*' ların sayısını artırır.
İnülin	Meyveler ve sebzelerde doğal olarak bulunur (soğan, muz, sarımsak vb.). Hindiba kökü ve *Agave tequilana*' dan ekstrakte edilir. Orta asitlikte stabildir, ürüne kalıcı bir tat vermediğinden ve renginde bir değisime neden olmadığından fermente süt ürünlerinin üretiminde kullanılır.
Laktuloz	Laktuloz, ince bağırsaklarda emilmediğinden ya da sindirilmediğinden laksatif olarak kullanılır. Çok fazla kullanım alanına sahip değildir
Polidekstroz	Polimerizasyon derecesi 2 ila 120 arasında değişir ve ortalama 12 olan yüksek ölçüde dallanmış, rastgele bağlı bir glukoz polimeridir.
Dirençli nişasta	Amilaz ve pullulanaz enzimleri ile hidrolize direnç gösteren nişastadır. Tohumlarda, tahıl tanelerinde ve pişirilip soğutulmuş nişastalı besinlerde doğal olarak oluşmaktadır.

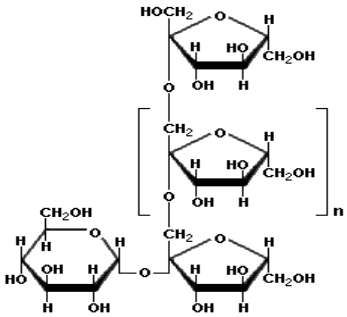
Prebiyotikler gıda endüstrisinde; süt ve süt ürünleri, dondurulmuş tatlılar, meyveler sebzeler, kahvaltılık tahıllar ve aperatif gıdalar, fırınlanmış ürünler, ekmek, şekerlemeler, çikolata, diyetetik ürünler, sürülebilen ürünler, tereyağı, salata sosları, et ürünleri ve meşrubatlar gibi günlük hayatta tüketilen çoğu gıda maddelerinin içeriğinde kullanılmaktadır (Tablo 3) (Ishwarya ve Prabhasakar, 2014).

Tablo 3: Prebiyotiklerin gıda endüstrisinde kullanım alanları (Ishwarya ve Prabhasakar, 2014)

Gıda ürünü	Kullanım alanı
Yoğurt ve tatlılar	Şeker, tat ve lif takviyesi olarak Köpük stabilizatörü olarak Dondurulmuş tatlılar erime özelliği avantajıyla
Alkollü alkolsüz içecekler	Şeker, tat takviyesi olarak Köpük oluşumu ve stabilizatörü olarak
Ekmek	Yağ ve şeker takviyesi olarak tat ve lif takviyesi olarak
Et ürünleri	Yağ, tat ve lif takviyesi olarak
Diyetetik ürünler	Yağ ya da şeker takviyesi olarak Tat, lif takviyesi olarak ve kuvvetli tatlandırıcılarla sinerji özelliği varlığı
Kek ve bisküvi	Şeker, tat ve lif takviyesi olarak Nem dengeleyici olarak
Peynir	Yağ takviyesi olarak
Bebek mamaları	Tat ve stabilizatör olarak

4.4.1 İnülin

İnülin, birbirlerine β-(2→1) bağlarıyla bağlı fruktoz molekülleri (n~35) ile ucunda sükroz molekülü bulunan düz zincirli yapıya sahip, sık sık kullanılan bir polifruktandır (Şekil 5) (Edelman ve Jefford, 1964).



Şekil 5: İnülinin yapısal formülü (Edelman ve Jefford, 1964)

Prebiyotik olarak kullanılan inülin doğal olarak çeşitli meyve ve sebzelerde önemli oranlarda bulunmaktadır (Tablo 4).

Tablo 4: Çeşitli bitkisel kaynaklardaki inülin içeriği (Crow, 2005)

Besin maddesi	**Ortalama inülin değeri (g/ 100g)**
Soğan (çiğ)	4,3
Yer elması (yumru)	18,0
Hindiba (kök)	41,6
Pırasa (çiğ)	6,5
Sarımsak (çiğ)	12,5
Pirinç (pişmiş)	0,7
Muz	0,5
Enginar (yaprak)	4,4

Ticari olarak kullanılan inülinler hindiba, yerelması ve enginardan elde edilmektedir. Bu bitkiler arasında yer alan hindiba, içeriğinde yüksek oranda inülin bulunması ve devamlı olarak verimli olması nedeniyle endüstriyel olarak inülin ve hidrolizatlarının üretiminde sıklıkla kullanılmaktadır (De Leenheer ve Hoebregs, 1994).

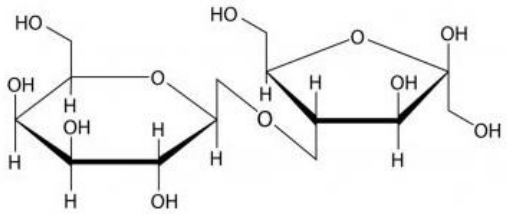
İnülinler ince bağırsakta sindirilmeden kolona doğru ilerler ve oradaki bakteriler tarafından metabolize edilirler. Mikroorganizmalar kalın bağırsakta ki anaerob fermentasyon sonunda kısa zincirli yağ asitleri ve laktat meydana getirirler (Jenkins ve ark., 1999). Meydana gelen bu bileşikler ortamın asiditesinin artmasına neden olarak patojenik mikroorganizmaların gelişimini sınırlandırırlar. Probiyotik mikroorganizmaların gelişimi teşvik eden prebiyotikler, bağırsak florasında *E. coli* ve *Salmonella* gibi patojen mikroorganizmaların kolonize olmasına engel olur. Probiyotik mikroorganizmaların etkinliklerinin artmasıyla birlikte ortama saldıkları vitaminler de artış göstererek sindirim ve emilime yardımcı olurlar (Kolida ve ark., 2002).

İnülin tipi prebiyotikler gıdalarda tatlandırıcı olarak, yağların yerine, gıda dokusunun düzeltilmesinde, stabilizatör olarak, dondurma ve tatlılarda kıvam arttıcı olarak, ekmekçilikte, pastacılıkta ve bebek mamalarında kullanılmaktadır (Sağdıç ve ark., 2004).

Prebiyotikler ve probiyotik mikroorganizmalar üzerine olan etkinlikleri hakkında yapılan çalışmalarda, *B. breve* ve *B. longum* bakterilerinin 2mg/ mL inülin içeren besiyerinde inkübasyonu sonrası, hücre yoğunlukları ve spesifik gelişim oranlarının inülin içermeyen besiyerine oranla önemli derecede artış meydana geldiği tespit edilmiştir (Yang ve ark. , 2012). Bu nedenle çalışmamızda inülin bu konsantrasyonda kullanılmıştır.

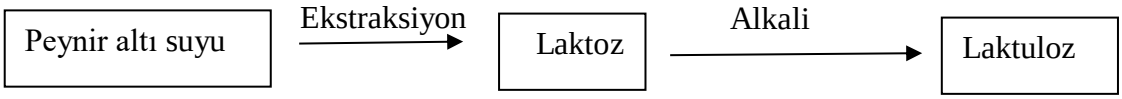
4.4.2. Laktuloz

Laktuloz, birbirine β-1,4 glikosidik bağlarıyla bağlı galaktoz ve fruktoz moleküllerinden oluşan sentetik bir disakkarittir (Şekil 6) (Panesar ve Kumari, 2011).



Şekil 6: Laktulozun yapısal formülü (Panesar ve Kumari, 2011)

Laktuloz laktozun alkali isomerizasyonu sonucu elde edilir (Şekil 7). Yapısında bulunan β-1,4 bağlar kanatlılar ve memeliler tarafından sindirilmesine engel olur (Boler ve Fahey Jr., 2012).



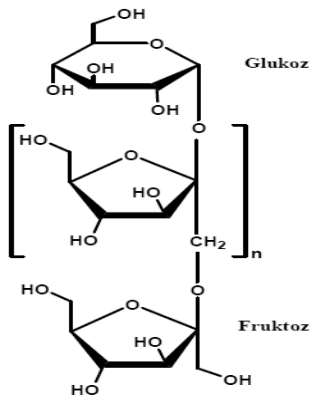
Şekil 7: Laktuloz üretimi (Boler ve Fahey Jr., 2012)

Laktuloz; içecekler, yoğurt, bebek mamaları ve unlu mamüller başta olmak üzere gıda endüstrisinde yaygın olarak kullanılır. Yaşlılar için hazırlanan sıvı veya katı gıda takviyelerinde ve diyabetik hastaların kullandığı tatlandırıcılar içinde bulunur (Panesar ve Kumari, 2011).

Belirlenmiş uygun dozlarda tüketildiğinde herhangi bir sindirim bozukluğuna yol açmayan laktuloz, bağırsak florasında yer alan *Bifidobacteria* ve *Lactobacillus* spp. gibi faydalı bakterilerin gelişmesini teşvik ederken *Salmonella, Clostridium perfringens, Bacteroides, Enterobacteriaceae,* ve *Streptococcus* gibi patojen bakterilerin gelişimini inhibe ettiği gözlenmiştir (Aider ve Halleux, 2007).

4.4.3. Fruktooligosakkarit

Fruktooligosakkaritler (FOS), birbirlerine β (2-1) bağlarıyla bağlı fruktoz oligomerleridir (Şekil 8).

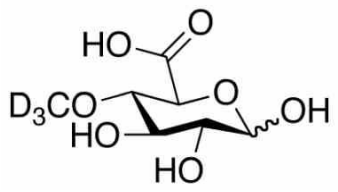


Şekil 8: Fruktooligosakkaritin yapısal formülü (Ishwarya ve Prabhasankar, 2013)

Buğday, soğan, muz, hindiba gibi çoğu bitki türünde doğal olarak bulunur. Gıda sanayisinde imal edilen bisküvi, içecek, süt ürünleri gibi ürünlere tatlandırıcı olarak ilave edilir. Besin desteği olarak FOS yağ ve şeker ikamesi olarak kullanılırlar. Fruktooligosakkarit inülinin endoinülinaz enzimi ile hidrolizi sonucu meydana gelir. FOS' un kalori değeri 1,5 kcal/g' dır. Fruktooligosakkaritler sindirim sistemindeki bakteriler üzerinde özellikle bifidobakterilere karşı en iyi etkiler gösteren oligosakkaritlerdir (Ishwarya ve Prabhasankar, 2013

4.4.4. 4-O-metil-D-glucurono-D-xylan

Glukuronoksilanlar, ağaçların yapısında yer alan, temel bileşenlerinde glukuronik asit ve ksiloz bulunan hemiselüloz yapıdaki bitki hücre duvarı polisakkaritleridirler (Şekil 9).



Şekil 9: 4-O-metil-D-glucurono-D-xylanın yapısal formülü

Birbirine (1→4) glikosidik bağlarla bağlı olan β-D-ksilopirozosil birimlerinin doğrusal olarak yapılanmış olan polimerleridir. 4-O-metil-D-glukurono-D ksilan olarak tanımlanan bu yapısal form (MGX) olarak adlandırılır (Maceková D ve ark. , 2006).

Yapılan çalışmalarda mayalar üzerinde kullanılan 4-O-metil-D-glukurono-D-ksilan' ın mayaların gelişimleri üzerinde olumlu etkileri olduğu gözlemlenmiştir, ayrıca bu maddenin prebiyotik özelliklere de sahip olduğu belirtilmektedir (Maceková D ve ark. , 2006; Acuña-Gutiérrez ve ark., 2019).

5. GEREÇ VE YÖNTEM

5.1. Gereçler

5.1.1. *Caenorhabditis elegans*

Çalışmamızda kullanılan *C. elegans* AU37 Caenorhabditis Genetik Merkezi (CGC)' nden temin edilmiştir.

5.1.2. Probiyotik mikroorganizmalar

Bifidobacterium longum ATCC 15707
Bifidobacterium bifidum ATCC 29521
Lactobacillus fermentum ATCC 14931
Lactobacillus acidophilus ATCC 4356
Streptococcus thermophilus ATCC 19258
Bacillus clausii (Ticari üründen izole edilmiştir)

5.1.3. Patojen mikroorganizmalar

Çalışmamızda kullanılan klinik izolatlar T.C. Sağlık Bakanlığı, Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarından temin edilmiştir. Çalışmamız Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Etik Kurulu tarafından 17.12.2018 tarih ve 238 no ile onaylanmıştır.

Çalışmamızda kullanılan enfeksiyon etkeni olarak tespit edilmiş patojen mikroorganizmalar;

Enterococcus faecalis
Staphylococcus spp.
Salmonella spp.
Escherichia coli

Standart patojen mikroorganizmalar

Escherichia coli ATCC 25922
Enterococcus faecalis ATCC 29212
Staphylococcus aureus ATCC 29213
Staphylococcus aureus ATCC 43300
Salmonella typhi ATCC 15373

5.1.4. Prebiyotik maddeler

İnülin (Sigma)
Laktuloz (Ticari ürün)
Fruktooligosakkarit (Sigma)
4-o-metil-D-glucurono-D-xylan (Sigma)

5.1.5. Besiyeri ve katkıları

Nematode Growth Medium (NGM)
3 g NaCl (Sigma)
17 g Agar (Sigma)
2,5 g Pepton (Merck)
975 mL Su

Karıştırılarak 121 °C' de 50 dk otoklavda steril edilir. Besiyeri 55 °C' de ki su banyosuna alınır. Üzerine;

1 mL 1M $CaCl_2$
1 mL 1M $MgSO_4$
25 mL 1M KPO_4 tamponu
5mg/mL etanol içinde çözdürülmüş 1mL kolesterol eklenerek karıştırılır.

% 5 Koyun Kanlı Agar (Sanotema)

Tryptic Soy Agar (Merck)

Tryptic Soy Broth (Merck)

LB Broth (Merck)

MRS Broth (LabM)

Agar (Merck)

Kolesterol (Sigma)

5.1.6. Kimyasal maddeler, tamponlar, çözeltiler ve diğer maddeler

KH_2PO_4 (Sigma)

K_2HPO_4 (Sigma)

NaCl (Merck)

Agar (Merck)

Pepton (Oxoid)

$CaCl_2$ (Sigma)

$MgSO_4$ (Sigma)

KPO_4 (Sigma)

Kolesterol (Sigma)

M9 tamponu

3 g KH_2PO_4

6 g Na_2HPO_4

5 g NaCl

1 mL 1M $MgSO_4$

1L' ye kadar su eklenir. Otoklavda steril edilir.

1M $MgSO_4$

24,648 g $MgSO_4.7H_2O$ 100 mL distile su eklenir. 121°C' de 15dk steril edilir.

1M $CaCl_2$

11,099 g $CaCl_2$ 100 mL distile su eklenir. Otoklavda 121°C' de 15dk steril edilir.

KPO_4 tamponu

8,9 g K_2HPO_4

27,075 g KH_2PO_4

200 mL distile su ekleyip pH 6' ya ayarlayıp 250 mL' ye tamamlanır.

5.1.7. Cihazlar

İnkübatör (Binder)

Kaba terazi (Kern 440-33N)

Hassas terazi (Precisa)

Otoklav (Hirayama HVL50)

Derin dondurucu (Uğur UCF10)

Buzdolabı (LG)

pH metre (HANNA)

Mikroskop (Olympus CX21)

Çalkalamalı inkübatör (Heidolph)

Vortex (IKA)

Pastör fırını (Electro-Mag)

Mikropipetler (Brand 0,5-5 µL / 100 µL, Rainin 20-200 µL)

Su banyosu (NÜVE)

5.1.8. Plastik ve cam malzemeler

Pipet ucu
Balon joje
24 kuyucuklu mikroplak (düz tabanlı, steril)
Enjektör
Deney tüpleri
Santrifüj tüpü (15 mL)
Falcon tüpleri
0,22 µm membran filtre
0,45 µm membran filtre
Petri kutusu (9 cm)
Mezür
Eküvyon
Öze

5.2. Yöntemler

5.2.1. *C. elegans*' ın yaşamının sürdürülmesi

C. elegans üzerine *E. coli* OP50 aktarılmış NGM besiyeri üzerinde 16 °C' de üremektedir. *C. elegans*' ın canlılığının sürdürülmesi için 3-5 günde bir pasajlanması gerekmektedir. Pasaj işlemlerinin yapılması, mevcut olan kültürden, aseptik koşullarda steril spatül ile kesilen parçanın yeni besiyerine aktarılması ile yapılmıştır. Aktarma işleminden sonra stereo mikroskopta *C. elegans* varlığı ve canlılığı kontrol edilmiştir. Daha sonra bu besiyerleri 16 °C' de inkübe edilerek *C. elegans*' ın canlılığının sürdürülmesi sağlanmıştır (www.wormbook.org, Erişim tarihi: 20.04.2020).

5.2.2. Nematode growth medium' un hazırlanması

Nematode growth medium (NGM), bir nematodun yaşamını sürdürebilmesi için gerekli olan maddeleri içermekyedir. Besiyerinin hazırlanmasında 3 g NaCl, 17 g agar ve 2,5 g pepton' a 975 mL su ilave edilerek 121 °C' de 50 dk otoklavda steril edilir. Besiyeri 55 °C' de ki su banyosuna alınmıştır. Daha sonra hazırlanan karışımın üzerine 500 µL $MgSO_4$ (1M), 500 µL $CaCl_2$ (1M) ve 12,5 mL KPO_4 tamponu (pH 7) ve etanol içinde 5mg/mL konsantrasyondaki kolesterolden 500 µl eklenerek homojen bir karışım oluşturulmuştur. Hazırlanan besiyeri steril koşullar altında 24 kuyucuklu plakalar için 1,5 mL, petrilerin ise 2/3' ü olacak şekilde doldurulup soğumaya bırakılmıştır. Besiyerleri aşırı nemin buharlaşmasını sağlamak ve olası kontaminantların varlığının tespiti için 37 °C' de 24 saat inkübatörde bekletilmiştir (www.wormbook.org, Erişim tarihi: 20.04.2020).

5.2.3. *E. coli* OP50 kültürünün hazırlanması

C. elegans çalışmalarında besin olarak *Escherichia coli* OP50 suşu kullanılmaktadır. Daha önce hazırlanmış LB içine 1:100 oranında *E. coli* OP50 bakterisi eklenmiş ve 37 °C' de 24 saat boyunca inkübe edilmiştir. Hazırlanmış olan NGM plakaları üzerine aseptik koşullarda, *E. coli* OP50 sıvı kültüründen 150 µL ilave edilmiş ve steril cam çubuklar kullanılarak yayılmıştır. *E. coli* OP50 yayılmış NGM besiyerleri 37 °C' de 24 saat inkübatörde bekletilmiş, kontaminasyon kontrolü yapıldıktan sonra kullanılana kadar buzdolabında saklanmıştır (www.wormbook.org , Erişim tarihi: 20.04.2020).

5.2.4. Kontamine *C. elegans* stoklarının sterilizasyonu

C. elegans stokları kolaylıkla bakteri, maya veya küf ile kontamine olabilmektedir. Bu kontaminantların *C. elegans* stok plakalarından uzaklaştırılması için 5N NaOH ve %5' lik sodyum hipoklorit (ev tipi çamaşır suyu) çözeltisi kullanılmıştır. Kontamine olan *C. elegans* plakaları 2 mL steril su ile yıkanmıştır. Nematodların mümkün olabildiğince fazla alınabilmesi için birkaç kez pipetaj yapılmış ve steril santrifüj

tüpüne alınmıştır. Total hacim 3,5 mL olacak şekilde üzerine steril su eklenmiştir. Üzerine yeni hazırlanan 0,5 mL NaOH ve 1 mL sodyum hipoklorit ilave edilmiştir. Santrifüj tüpü 10dk boyunca 2dk da bir vortekslenmiş, 1300g' de 30 saniye santrifüjlenmiş ve 0,1 mL' ye kadar aspire edilmiştir. Üzerine 5 mL M9 tamponu eklenmiş ve vortekslendikten sonra 1300g' de 30 saniye santrifüj edilmiştir. Süpernatant atılıp tüpte kalan 0,1 mL' lik yumurta içeren sıvı alınarak ortasına *E. coli* OP50 ekilmiş NGM besiyerinin kenarına aktarılmıştır. Yumurtalar ertesi gün açılır ve larvalar besiyerinin ortasına doğru hareket ederler. Bu larvalar alınarak yeni bir NGM besiyerine aktarılmıştır (www.wormbook.org, Erişim tarihi: 20.04.2020).

5.2.5. Probiyotik mikroorganizmaların enfeksiyon önleyici etkilerinin belirlenmesi

Probiyotik mikroorganizmaların enfeksiyon önleyici etkilerinin belirlenmesinde öncelikle *C. elegans*' ların hepsinin L4 evresinde olmasının sağlanması amacı ile senkronizasyon işlemi uygulanmıştır. Senkronize edilen *C. elegans*' lar probiyotik mikroorganizma içeren NGM besiyerierine aktarılarak probiyotikler ile beslenmesi sağlanmıştır. Probiyotiklerle beslenen *C. elegans*' lar alınarak patojen mikroorganizmaların bulunduğu mikroplak kuyucuklarına aktarılmış ve günlük sayımları yapılarak *C. elegans*' ın yaşam süresi belirlenmiştir.

5.2.5.1. *C. elegans*' ın senkronizasyonu

C. elegans' ın deneylerde kullanılması için aynı yaşam evresinde olması gerekmektedir. Bunun sağlanması için kültürdeki tüm *C. elegans*' lar toplanmış ve öldürülerek sadece yumurtaları elde edilmiştir. Bu izolasyon sayesinde nematodların aynı gelişim evresinde olması sağlanmış olur. Senkronizasyon için petri kabında gelişmekte olan erişkin nematodlar 2 mL M9 tamponu ile yıkanmıştır. Birkaç kez pipetaj yapılarak santrifüj tüpüne alınmış ve buz üzerinde 5 dakika bekletilmiştir. Daha sonra 2000 rpm' de 3 dakika santrifüj edilmiş, santrifüjden sonra, eppendorf tüplerindeki sıvı, pellet kaldırılmadan 250 µL çizgisine kadar çekilmiştir. Bu miktarın üzerine her defasında pipet ucu değiştirilerek sırası ile; 650 µL M9

tamponu, 200 µL 5M NaOH, 400 µL çamaşır suyu (ev tipi) ilave edilmiştir. Tüplerin kapakları kapatılmış ve oda sıcaklığında 5 dakika inkübe edilmiştir. Bu esnada tüpler dakikada bir kere alt üst edilerek karıştırılmıştır. Sonra 2000 rpm' de 3 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüjden sonra dipteki pellet oynatılmadan içindeki sıvı 0,1 çizgisine kadar çekilmiş üzerine 1 mL distile su eklenmiştir. Bu işlem 2 kez tekrar edilmiştir. Bu işlemden sonra, tekrar 2000 rpm' de 3 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüjlemeden sanra tüplerdeki sıvı 0,1 mL çizgisine kadar çekilmiştir. Süpernatant atılıp, tüpte kalan 0,1 mL sıvı ve pellet karıştırılarak çekilmiş ve yeni besiyerine aktarılmıştır. Son olarak besiyerine aktarılan yumurtalar stereo mikroskopta gözlemlenmiştir. Aktarma işlemi yapılan besiyerleri 16 °C' de bekletilerek yumurtaların açılması sağlanmıştır. Bu besiyerleri her gün kontrol edilerek *C. elegans*' ların yaşam evreleri kontrol edilmiştir. Senkronize edilmiş olan *C. elegans*' lar deneylerde kullanılmıştır (www.wormbook.org, Erişim tarihi: 20.04.2020).

5.2.5.2. Probiyotik mikroorganizmalı besin plağı hazırlanması ve *C. elegans*' ın transferi

Probiyotik özellik gösteren *Bifidobacterium longum* ATCC 15707 ve *Bifidobacterium bifidum* ATCC 29521 MRSB broth besiyerinde 37 °C' de anaerob ortamda 3 gün; *Lactobacillus fermentum* ATCC 14931, *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356, *Streptococcus thermophilus* ATCC 19258 ve *Bacillus clausii* ise 37 °C' de aerob ortamda 3 gün inkübe edilmiştir. Daha önce hazırlanan NGM besiyerleri üzerine probiyotik mikroorganizmaların sıvı kültürlerinden 150 µL ilave edilerek steril cam çubuklar ile yüzeye yayılmıştır. *B. longum* ve *B. bifidum* yayılmış NGM besiyerleri anaerob ortamda; *L. fermentum, L. acidophilus, S. thermophilus* ve *B. clausii* yayılmış NGM besiyerleri aerob ortamda 37 °C' de 24 saat etüvde inkübe edilmiştir. Senkronize edilmiş *C. elegans'* lar yetişkin faza ulaştıklarında, her bir petri 2 mL M9 tamponu ile yıkanarak steril falkon tüpte biriktirilmiştir. Daha sonra probiyotik mikroorganizmaların bulunduğu NGM besiyerlerine aktarılarak, 25 °C' de 24 saat bekletilirek *C. elegans*' ların probiyotik mikroorganizmalarla beslenmesi

sağlanmıştır (www.wormbook.org, Erişim tarihi: 20.04.2020; Kim ve Mylonakis, 2012).

5.2.5.3. Patojen mikroorganizmaların hazırlanması ve probiyotik mikroorganizmalarla beslenen *C. elegans'* ın mikroplaklara transferi

Escherichia coli ATCC 25922, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, *Salmonella typhimium* ATCC 15373 ve klinik örneklerden elde edilen *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella spp.* ve *Escherichia coli* TSB besiyerinde 37 °C' de aerob ortamda 24 saat inkübe edilmiştir.

Steril NGM besiyeri, sterilizasyondan sonra soğutulmuş ve 24 kuyucuklu mikroplak içerisine 1,5 mL/ kuyucuk olarak eşit şekilde dağıtılarak 37 °C' de 24 saat bekletilmiştir. Hazırlanan 24 kuyucuklu mikroplak kuyucuklarına (Resim 2), her patojen mikroorganizmanın sıvı kültüründen 20 µL alınarak kuyucuklara yayılmıştır. 37 °C' de 24 saat inkübe edilerek fazla nemin yok olması sağlanmıştır. Bir gün boyunca probiyotik mikroorganizmalar beslenen *C. elegans'* ların bulunduğu petri kutuları, 2 mL M9 tamponu ile yıkanarak, bulundukları petriden uzaklaştırılıp santrifüj tüpüne alınmıştır. Buradan, patojen mikroorganizmalar içeren mikroplak kuyucukları içerisine, her bir kuyucukta 15-20 *C. elegans* olacak şekilde ve 3 tekrarlı olarak aktarılmıştır. Mikroplaklar 25 °C' de inkübe edilerek, *C. elegans*' ların tümü ölene kadar her gün sayımları yapılmış ve yaşam süreleri belirlenmiştir. Kontrol olarak *E. coli* OP50 içeren ve hiçbir mikroorganizma içermeyen kuyucuklar kullanılmıştır. Tüm deneyler 3 tekrarlı olarak yapılmış ve her gün canlı ve ölü sayıları not edilmiştir. *C. elegans*' ın kontrole göre oluşan yaşam sürelerindeki farklılıklar istatistiksel olarak değerlendirilmiştir (www.wormbook.org, Erişim tarihi: 20.04.2020; Kim ve Mylonakis, 2012).



Resim 2: *C. elegans*' ın transfer edildiği 24 kuyucuklu mikroplak

5.2.6. Probiyotik mikroorganizmaların, prebiyotik varlığındaki enfeksiyon önleyici etkilerinin belirlenmesi

Probiyotik mikroorganizmaların prebiyotik varlığındaki enfeksiyon önleyici etkilerinin belirlenmesinde öncelikle *C. elegans*' ların hepsinin L4 evresinde olmasının sağlanması amacı ile senkronizasyon işlemi uygulanmıştır. Senkronize edilen *C. elegans*' lar prebiyotikli besiyerinde geliştirilen probiyotik mikroorganizma içeren NGM besiyeririne aktarılarak prebiyotikli ortamda gelişen probiyotikler ile beslenmesi sağlanmıştır. Bu probiyotiklerle beslenen *C. elegans*' lar alınarak patojen mikroorganizmaların bulunduğu mikroplak kuyucuklarına aktarılmış ve günlük sayımları yapılarak *C. elegans*' ın yaşam süresi belirlenmiştir (www.wormbook.org, Erişim tarihi: 20.04.2020; Kim ve Mylonakis, 2012).

5.2.6.1. *C. elegans*' ın senkronizasyonu

C. elegans' ın senkronizasyonu 5.2.5.1. de anlatıldığı şekilde yapılmıştır.

5.2.6.2. Prebiyotiklerle inkübe edilmiş probiyotik mikroorganizma içeren besiyerlerinin hazırlanması ve *C. elegans' ın* transferi

Prebiyotik madde olarak kullanacağımız inülin, laktuloz, fruktooligosakkarit ve 4-o-metil-D-glucurono-D-xylan maddeleri daha önceki yapılan çalışmalarda kullanıldığı gibi besiyeri içinde 2 mg/mL konsantrasyonda olacak şekilde hazırlanmıştır. Hazırlanan prebiyotik çözeltisi 0,45 µm por çaplı filtreden geçirilerek, mikroorganizmalar için hazırlanmış olan MRSB broth besiyeri içerisine son konsantrasyonu 2 mg/mL olacak şekilde ayrı ayrı eklemiş ve steril deney tüplerine paylaştırılmıştır. *Bifidobacterium longum* ATCC 15707 ve *Bifidobacterium bifidum* ATCC 29521, ayrı ayrı prebiyotik içeren MRBS broth besiyerinde 37 °C' de anaerob ortamda 4 gün; *Lactobacillus fermentum* ATCC 14931, *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356, *Streptococcus thermophilus* ATCC 19258 ve *Bacillus clausii* ise 37 °C de aerob ortamda 4 gün inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra, daha önce hazırlanan NGM besiyerleri üzerine prebiyotik madde içeren probiyotik mikroorganizma kültürlerinden ilave edilerek steril cam çubuklar ile yüzeye yayılmıştır. *B. longum* ve *B. bifidum* yayılmış NGM besiyerleri anaerob ortamda; *L. fermentum, L. acidophilus, S. thermophilus* ve *B. clausii* yayılmış NGM besiyerleri aerob ortamda 37 °C' de 24 saat inkübe edilmiştir. Senkronize edilmiş *C. elegans'* lar yetişkin faza ulaştıklarında, her bir petri 2 mL M9 tamponu ile yıkanarak prebiyotikle beslenmiş olan probiyotik mikroorganizma içeren NGM besiyeri plaklarına aktarılmıştır. 24 saat boyunca, 25 °C' de inkübe edilmiştir (Mumcu ve Temiz, 2014; Kim ve Mylonakis, 2012; www.wormbook.org, Erişim tarihi: 20.04.2020).

5.2.6.3. Patojen mikroorganizmaların hazırlanması ve probiyotik mikroorganizmalarla beslenen *C. elegans*' ın mikroplaklara transferi

Patojen mikroorganizmaların hazırlanması ve probiyotik mikroorganizmalarla beslenen *C. elegans*' ın mikroplaklara transferi 5.2.5.3. de anlatıldığı şekilde yapılmıştır.

5.2.7. İstatistiksel analiz

Probiyotik mikroorganizmaların *C. elegans* yaşam süresi üzerinde meydana getirdiği etkiye ait deney sonucunda elde edilen verilerin kontrolü olarak *E. coli* OP50 kullanılmıştır. Elde edilen sonuçların kontrol grupları ile karşılaştırılmasında, GraphPad 6.0 yazılımı yardımıyla Kaplan-Meier sağ kalım analizi yapılmıştır. Yaşam sürelerinin karşılaştırılmasından elde edilen p değerinin 0,05' in altında olması anlamlı olarak kabul edilmiştir.

5. BULGULAR

6.1. Probiyotik Mikroorganizmaların Enfeksiyon Önleyici Etkilerinin Belirlenmesi

Probiyotik mikroorganizmaların, *C. elegans*' ın patojenlere karşı olan yaşam süresi üzerine olan etkileri Tablo 5' te görülmektedir.

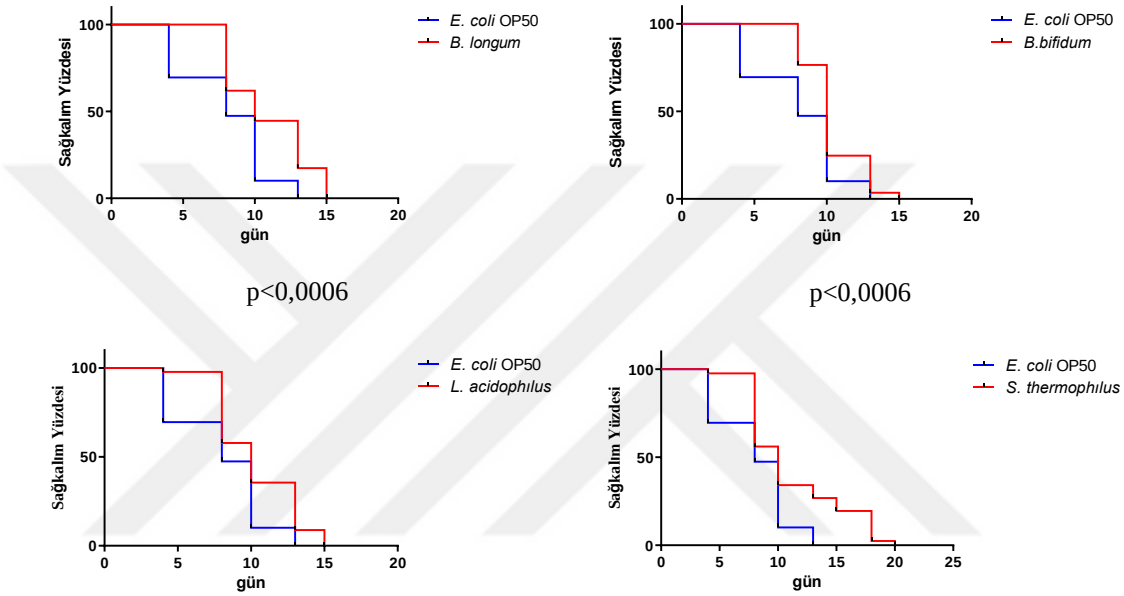
Tablo 5. Probiyotik mikroorganizmaların, patojen mikroorganizmalara karşı *C. elegans*' ın yaşam süresi üzerine etkisi

			Yaşam süresi (gün)						
			Probiyotik Mikroorganizmalar						
			***Bifidobacterium longum* ATCC 15707**	***Bifidobacterium bifidum* ATCC 29521**	***Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356**	***Lactobacillus fermentum* ATCC 14931**	***Streptococcus thermophilus* ATCC 19258**	***Bacillus clausii***	***E. coli* OP50 Kontrol mikroorganizma**
Patojen Mikroorganizmalar	**Standart suşlar**	***Enterococcus faecalis* ATCC 29212**	**15±1[1]**	**15±1[2]**	**15±1[3]**	13±1	**20±1[4]**	8±1	13±1
		***Escherichia coli* ATCC 25922**	**13±1[5]**	**15±1[6]**	13±1	15±1	10±1	10±1	10±1
		***Staphylococcus aureus* ATCC 29213**	**15±1[7]**	18±1	15±1	15±1	18±1	13±1	13±1
		***Staphylococcus aureus* ATCC 43300**	**15±1[8]**	13±1	**15±1[9]**	8±1	**18±1[10]**	13±1	13±1
		***Salmonella typhi* ATCC 15373**	13±1	13±1	13±1	15±1	15±1	15±1	10±1
	Klinik suşlar	***Enterococcus faecalis***	15±1	**15±1[11]**	15±1	**18±1[12]**	18±1	13±1	13±1
		Escherichia coli	17±1	15±1	**13±1[13]**	10±1	**15±1[14]**	10±1	10±1
		MSSA	**15±1[15]**	18±1	10±1	15±1	**18±1[16]**	13±1	10±1
		MRSA	**18±1[17]**	15±1	15±1	**13±1[18]**	**13±1[19]**	**13±1[20]**	10±1
		***Salmonella* spp.**	**13±1[21]**	**15±1[22]**	**15±1[23]**	**15±1[24]**	**15±1[25]**	**15±1[26]**	10±1

Koyu renkte belirtilen değerler istatistiksel olarak anlamlı bulunan değerlerdir.
[1]p<0,0006, [2]p<0,0006, [3]p=0,0023, [4]p=0,0031, [5]p=0,0223, [6]p=0,0006, [7]p<0,0001, [8]p=0,0349, [9]p=0,0004, [10]p=0,0336, [11]p<0,0001, [12]p=0,0024, [13]p=0,0189, [14]p=0,0008, [15]p=0,0027, [16]p=0,0006, [17]p=0,0129, [18]p=0,0003, [19]p=0,0068, [20]p<0,0001, [21]p=0,0009, [22]p<0,0001, [23]p=0,0174, [24]p=0,0325, [25]p<0,0001, [26]p<0,0001

6.1.1. *E. faecalis* ATCC 29212 ile enfekte edilen *C. elegans*' ın yaşam süresinin tespiti

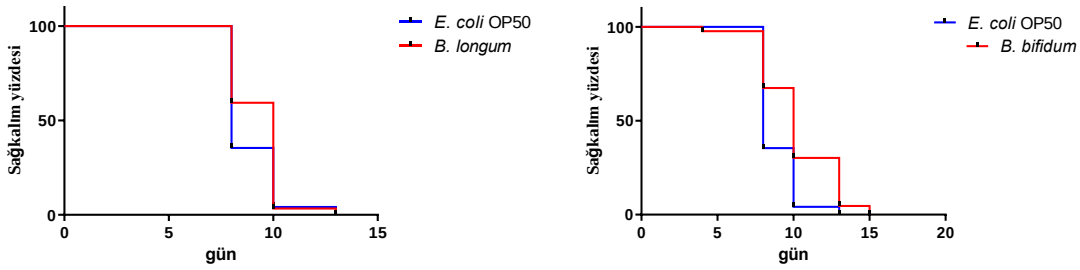
B. longum, *B. bifidum*, *L. acidophilus* ve *S. thermophilus* ile 24 saat beslenme sonrasında *E. faecalis* ATCC 29212 ile enfekte edilen *C. elegans'* ların yaşam süresinde anlamlı bir artış gözlenmiştir (Tablo 5, Şekil 10).



Şekil 10: *B. longum*, *B. bifidum*, *L. acidophilus* ve *S. thermophilus* ile beslendikten sonra *E. faecalis* ATCC 29212 ile enfekte edilen *C. elegans'* ların yaşam süresinde meydana gelen değişim (Sadece istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar verilmiştir).

6.1.2. *E. coli* ATCC 25922 ile enfekte edilen *C. elegans*' ın yaşam süresinin tespiti

B. longum, *B. bifidum* ile 24 saat beslenmenin *E. coli* ATCC 25922 ile enfekte edilen *C. elegans'* ların yaşam süresinde anlamlı bir artışa yol açtığı gözlenmiştir (Tablo 5, Şekil 11).

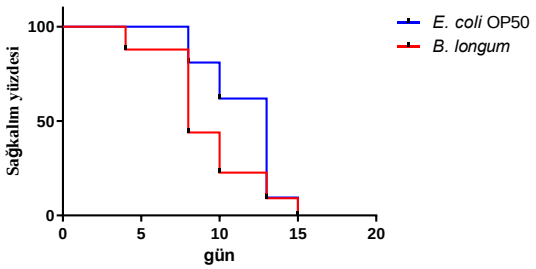


p=0,0223 p=0,0006

Şekil 11: *B. longum* ve *B. bifidum* ile beslendikten sonra *E. coli* ATCC 25922 ile enfekte edilen *C. elegans'* ların yaşam süresinde meydana gelen değişim (Sadece istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar verilmiştir).

6.1.3. *S. aureus* ATCC 29213 enfekte edilen *C. elegans*' ın yaşam süresinin tespiti

B. longum ile 24 saat beslenmenin *S. aureus* ATCC 29213 ile enfekte edilen *C. elegans'* ların yaşam süresinde anlamlı bir artışa yol açtığı gözlenmiştir. Diğer probiyotik mikroorganizmalar enfekte nematodun yaşam süresine anlamlı bir değişikliğe sebep olmamıştır (Tablo 5, Şekil 12).

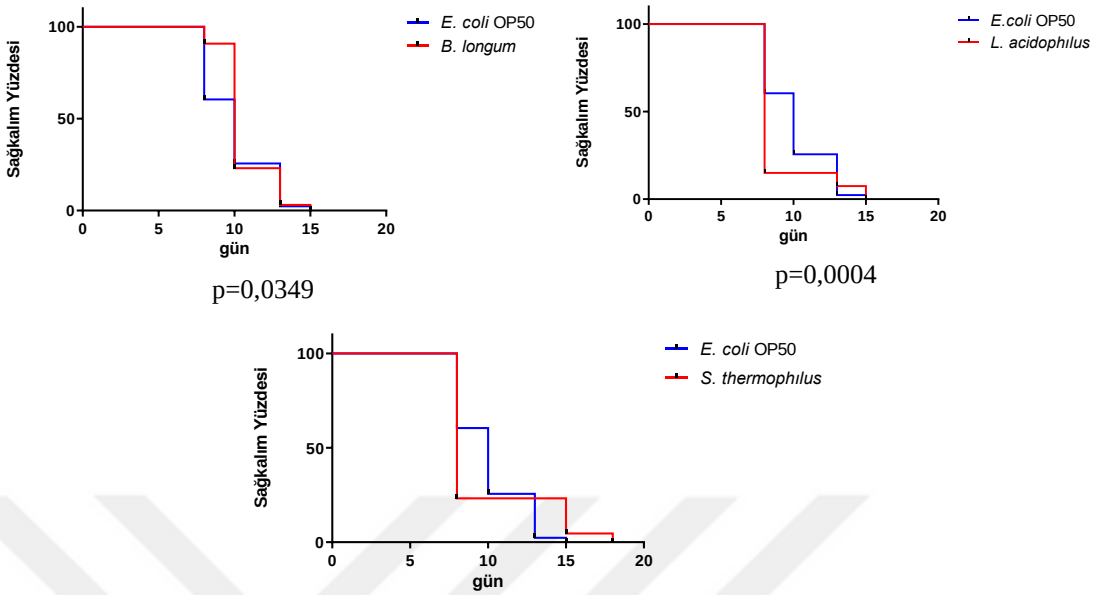


p<0,0001

Şekil 12: *B. longum* ile beslendikten sonra *S. aureus* ATCC 29213 ile enfekte edilen *C. elegans'* ların yaşam süresinde meydana gelen değişim (Sadece istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar verilmiştir).

6.1.4. *S. aureus* ATCC 43300 ile enfekte edilen enfekte edilen *C. elegans*' ın yaşam süresinin tespiti

B. longum, L. acidophilus ve *S. thermophilus* ile 24 saat beslenme sonrasında *S. aureus* ATCC 43300 ile enfekte edilen *C. elegans'* ların yaşam süresinde anlamlı bir artış gözlenmiştir (Tablo 5, Şekil 13).



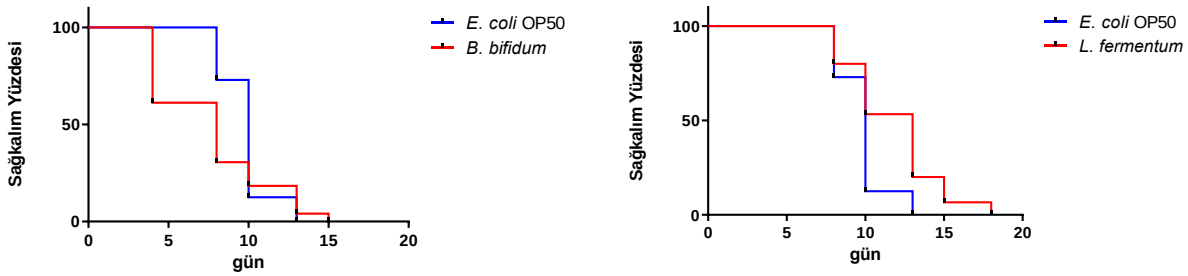
Şekil 13: *B. longum*, *L. acidophilus* ve *S. thermophilus* ile beslendikten sonra *S. aureus* ATCC 43300 ile enfekte edilen *C. elegans'* ların yaşam süresinde meydana gelen değişim (Sadece istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar verilmiştir).

6.1.5. *S. typhi* ATCC 15373 ile enfekte edilen *C. elegans*' ın yaşam süresinin tespiti

Çalışmamızda yer alan tüm probiyotiklerle beslenen *C. elegans*' lar *S. typhi* ATCC 15373 ile enfekte edildiklerinde yaşam süresinde anlamlı değişiklik oluşmamıştır (Tablo 5).

6.1.6. Klinik *E. faecalis* ile enfekte edilen *C. elegans'* ın yaşam süresinin tespiti

B. bifidum ve *L. fermentum* ile 24 saat beslenme sonucunda klinik *E. faecalis* ile enfekte edilen *C. elegans'* ların yaşam süresinde anlamlı bir artış gözlenmiştir (Tablo 5, Şekil 14).

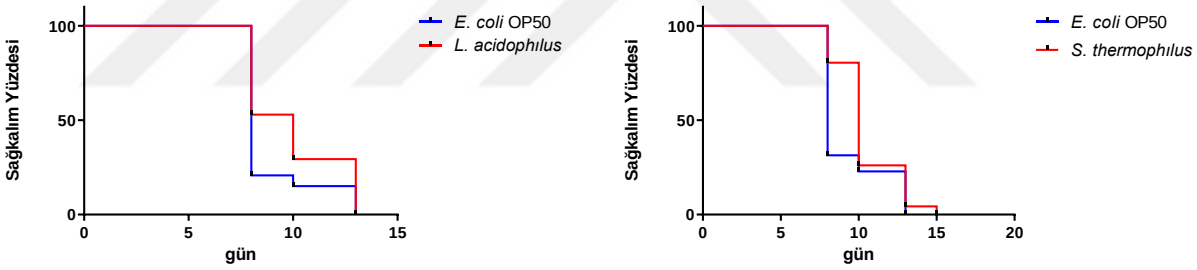


p<0,0001 p=0,0024

Şekil 14: *B. bifidum* ve *L. fermentum* ile beslendikten sonra klinik *E. faecalis* ile enfekte edilen *C. elegans'* ların yaşam süresinde meydana gelen değişim (Sadece istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar verilmiştir).

6.1.7. Klinik *E. coli* ile enfekte edilen *C.elegans*' ın yaşam süresinin tespiti

L. acidophilus ve S. thermophilus ile 24 saat beslenme sonucunda klinik *E. coli* ile enfekte edilen *C. elegans'* ların yaşam süresinde anlamlı bir artış gözlenmiştir (Tablo 5, Şekil 15).

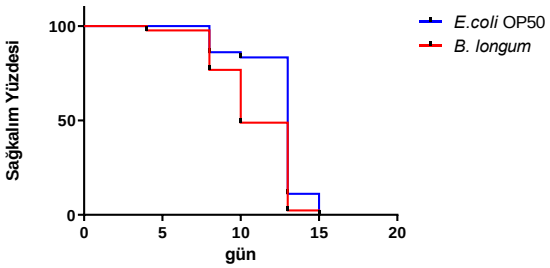


p=0,0189 p=0,0008

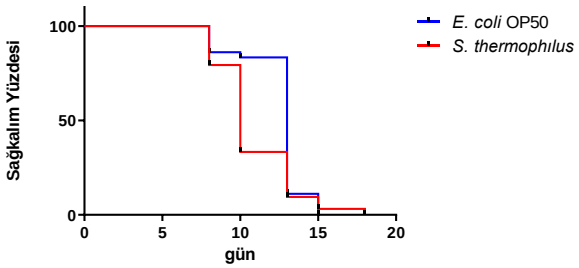
Şekil 15: *L. acidophilus* ve *S. thermophilus* ile beslendikten sonra klinik *E. coli* ile enfekte edilen *C. elegans'* ların yaşam süresinde meydana gelen değişim (Sadece istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar verilmiştir).

6.1.8. Metisiline duyarlı *S. aureus* ile enfekte edilen *C. elegans*' ın yaşam süresinin tespiti

B. longum ve S. thermophilus ile 24 saat beslenme sonucunda klinik MSSA ile enfekte edilen *C. elegans'* ların yaşam süresinde anlamlı bir artış gözlenmiştir (Tablo 5, Şekil 16).



p=0,0027

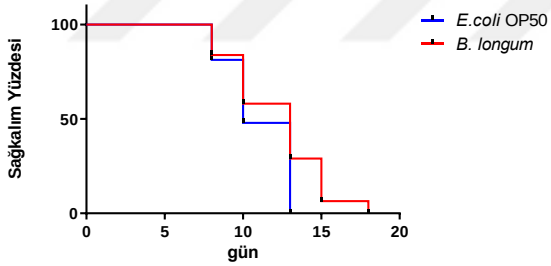


p=0,0006

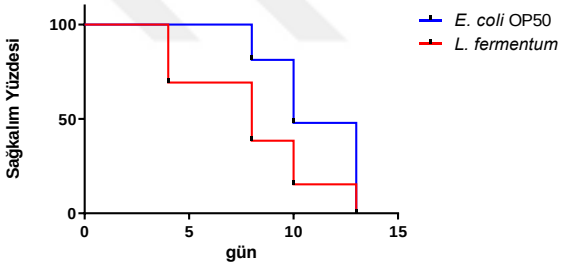
Şekil 16: *B. longum* ve *S. thermophilus* ile beslendikten sonra klinik MSSA ile enfekte edilen *C. elegans'* ların yaşam süresinde meydana gelen değişim (Sadece istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar verilmiştir).

6.1.9. Metisiline dirençli *S. aureus* ile enfekte edilen *C. elegans*' ın yaşam süresinin tespiti

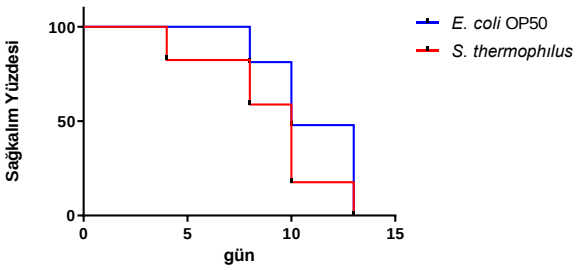
B. longum, L. fermentum, S. thermophilus ve B. clausii ile 24 saat beslenmenin klinik MRSA ile enfekte edilen *C. elegans'* ların yaşam süresinde anlamlı bir artışa yol açtığı gözlenmiştir (Tablo 5, Şekil 17).



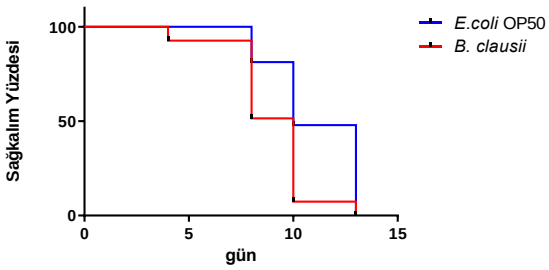
p=0,0129



p=0,0003



p=0,0068

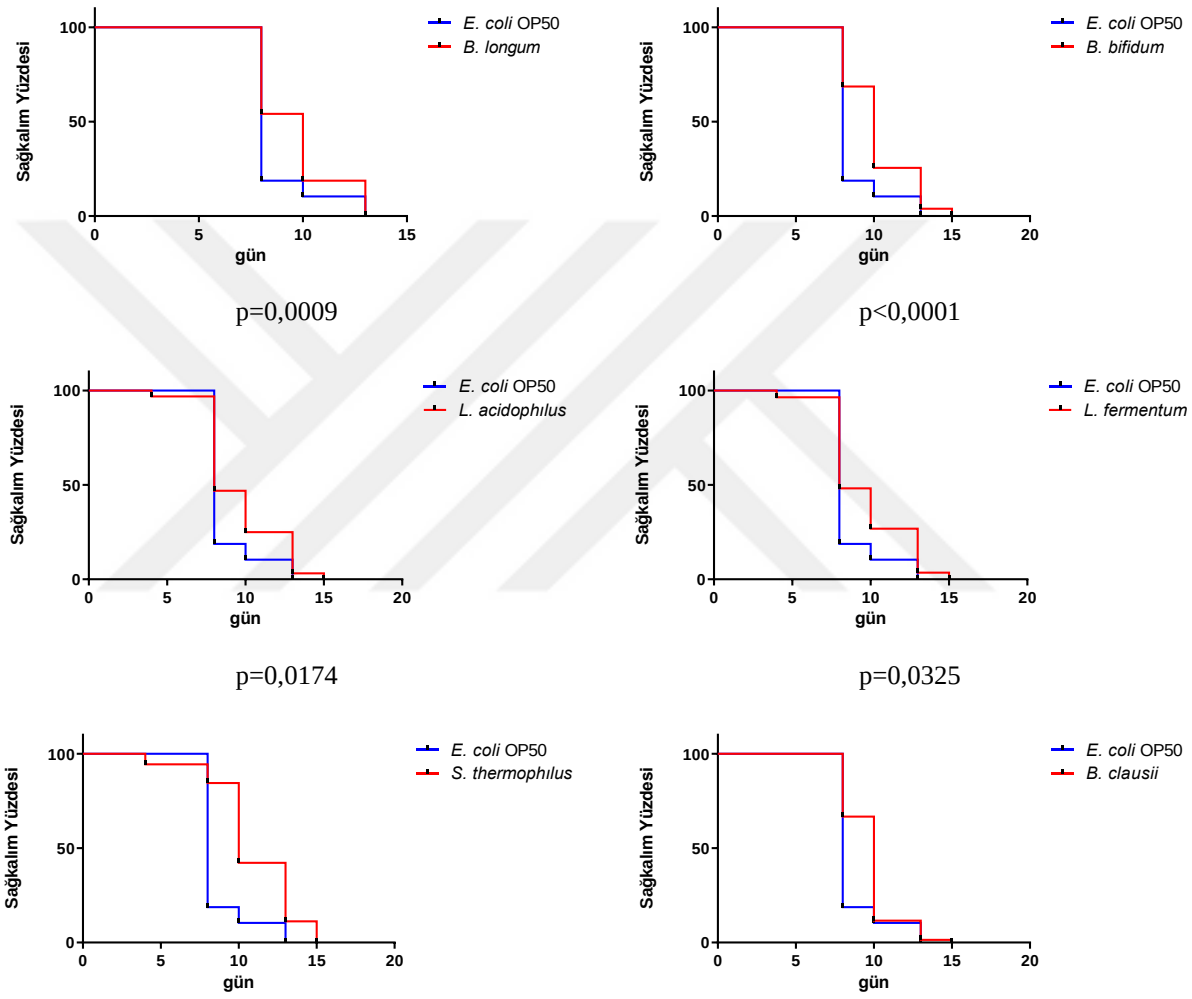


p<0,0001

Şekil 17: *B. longum, L. fermentum, S. thermophilus* ve *B. clausii* ile beslendikten sonra klinik MRSA ile enfekte edilen *C. elegans'* ların yaşam süresinde meydana gelen değişim (Sadece istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar verilmiştir).

6.1.10. Klinik *Salmonella* spp. ile enfekte edilen *C. elegans*' ın yaşam süresinin tespiti

Çalışmamızda kullanılan tüm probiyotik mikroorganizmalar ile 24 saat beslemenin, klinik *Salmonella spp.* ile enfekte edilen *C. elegans'* ların yaşam süresinde anlamlı bir artışa yol açtığı gözlenmiştir (Tablo 5, Şekil 18).



Şekil 18: *B. longum, B. bifidum, L. acidophilus, L. fermentum, S. thermophilus* ve *B. clausii* ile beslendikten sonra klinik *Salmonella spp.* ile enfekte edilen *C. elegans'* ların yaşam süresinde meydana gelen değişim (Sadece istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar verilmiştir).

6.2. Prebiyotik Maddelerin Enfeksiyon Önleyici Etkilerinin Belirlenmesi

Bu çalışma sonuçlarının istatistiksel olarak değerlendirilmesi, prebiyotikler ile elde edilen veriler ile sadece probiyotik mikroorganizmalarla beslenmiş *C. elegans* deneyinden (6.1. de yer alan veriler) elde edilen veriler karşılaştırılarak yapılmıştır (Tablo 5).

6.2.1. İnülin ile inkübe edilmiş probiyotik mikroorganizmalarla beslendikten sonra patojen mikroorganizmalarla enfekte olan *C. elegans*' ın yaşam süresinin tespiti

İnülin ile beslenen probiyotik mikroorganizmaların, patojen mikroorganizmalarla enfekte edilen *C. elegans*' ın yaşam süresi üzerine etkisi Tablo 6' da görülmektedir.

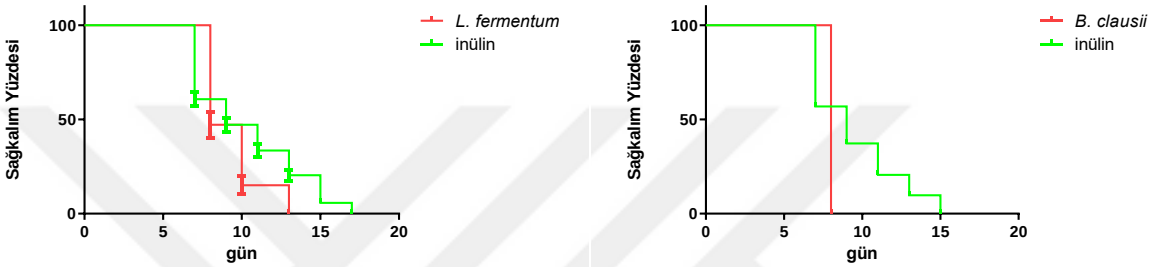
Tablo 6: İnülin içeren besiyerinde inkübe edilen probiyotik mikroorganizmaların, patojen mikroorganizmalara karşı *C. elegans*' ın yaşam süresi üzerine etkisi

			Yaşam süresi (gün)					
			Probiyotik Mikroorganizmalar					
			***Bifidobacterium longum* ATCC 15707**	***Bifidobacterium bifidum* ATCC 29521**	***Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356**	***Lactobacillus fermentum* ATCC 14931**	***Streptococcus thermophilus* ATCC 19258**	***Bacillus clausii***
Patojen Mikroorganizmalar	**Standart suşlar**	***Enterococcus faecalis* ATCC 29212**	15±1	15±1	15±1	**16±1**[1]	20±1	**15±1**[2]
		***Escherichia coli* ATCC 25922**	16±1	15±1	16±1	**15±1**[3]	**15±1**[4]	11±1
		***Staphylococcus aureus* ATCC 29213**	16±1	16±1	16±1	15±1	15±1	16±1
		***Staphylococcus aureus* ATCC 43300**	16±1	16±1	15±1	**15±1**[5]	**16±1**[6]	**15±1**[7]
		***Salmonella typhi* ATCC 15373**	15±1	**16±1**[8]	15±1	16±1	15±1	15±1
	Klinik suşlar	***Enterococcus faecalis***	15±1	**15±1**[9]	15±1	18±1	18±1	**13±1**[10]
		Escherichia coli	16±1	**16±1**[11]	16±1	**16±1**[12]	16±1	16±1
		MSSA	**15±1**[13]	16±1	**15±1**[14]	16±1	18±1	**13±1**[15]
		MRSA	16±1	14±1	15±1	**16±1**[16]	16±1	**16±1**[17]
		***Salmonella* spp.**	13±1	13±1	15±1	15±1	15±1	15±1

Sonuçları istatistiksel karşılaştırılması Tablo 5' te yer alan veriler ile yapılmıştır.
Koyu renkte belirtilen değerler istatistiksel olarak anlamlı bulunan değerlerdir.
[1]p=0,0037, [2]p=0,0012, [3]p=0,0398, [4]p<0,0001, [5]p=0,0232, [6]p=0,0352, [7]p=0,0128, [8]p=0,0317, [9]p<0,0001, [10]p=0,0082, [11]p<0,0001, [12]p=0,0185, [13]p=0,0122, [14]p=0,5278, [15]p<0,0001, [16]p=0,0098, [17]p<0,0001

6.2.1.1. *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 ile enfekte edilen *C. elegans*' ın yaşam süresinin tespiti

Belirlenen uygun konsantrasyonda inülin içeren besiyeri içerisinde 4 gün boyunca inkübe edilen probiyotik mikroorganizmalardan *L. fermentum ve B. clausii* ile 24 saat beslendikten sonra *E. faecalis* ATCC 29212 ile enfekte edilen *C. elegans'* ların yaşam süresinde anlamlı bir artış olduğu gözlenmiştir (Tablo 6, Şekil 19).

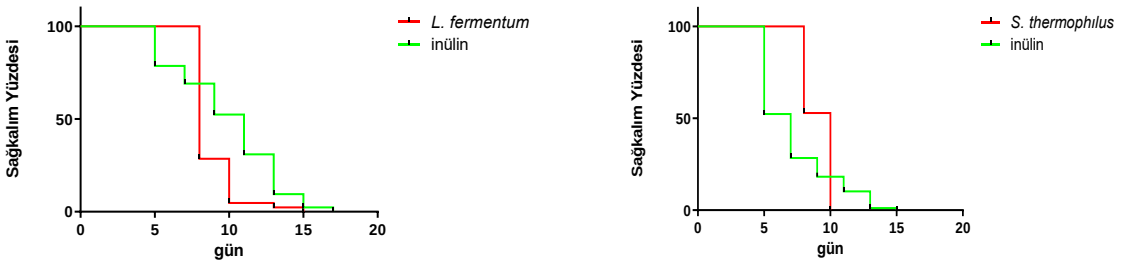


p=0,0037 p=0,0012

Şekil 19: İnülin içeren besiyerinde inkübe edilmiş *L. fermentum* ve *B. calusii* ile beslendikten sonra *E. faecalis* ATCC 29212 ile enfekte edilen *C. elegans'* ların yaşam süresinde meydana gelen değişim (Sadece istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar verilmiştir).

6.2.1.2. *Escherichia coli* ATCC 25922 ile enfekte edilen *C. elegans*' ın yaşam süresinin tespiti

İnülin içeren besiyeri içerisinde 4 gün boyunca inkübe edilen probiyotik mikroorganizmalardan, *L. fermentum ve S. thermophilus* ile 24 saat beslendikten sonra *E. coli* ATCC 25922 ile enfekte edilen *C. elegans'* ların yaşam süresinde anlamlı bir artış olduğu gözlenmiştir (Tablo 6, Şekil 20).



p=0,0398 p <0,0001

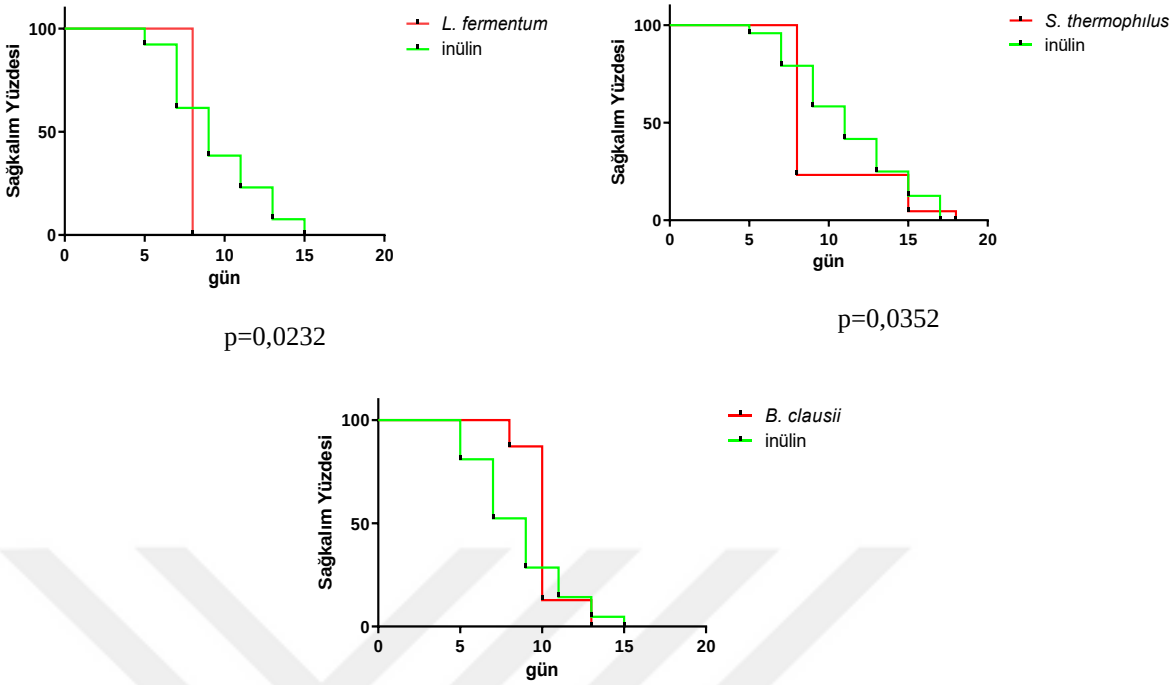
Şekil 20: İnülin içeren besiyerinde inkübe edilmiş *L. fermentum* ve *S. thermophilus* ile beslendikten sonra *E.coli* ATCC 25922 ile enfekte edilen *C. elegans'* ların yaşam süresinde meydana gelen değişim (Sadece istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar verilmiştir).

6.2.1.3. *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 ile enfekte edilen *C. elegans*' ın yaşam süresinin tespiti

İnülin içeren besiyeri içerisinde 4 gün boyunca inkübe edilen tüm probiyotik mikroorganizmalarla, ayrı ayrı olarak 24 saat beslenen *C. elegans'* lar, *S. aureus* ATCC 29213 ile enfekte edildiklerinde, yaşam sürelerinde anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir (Tablo 6).

6.2.1.4. *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 ile enfekte edilen *C. elegans'* ın yaşam süresinin tespiti

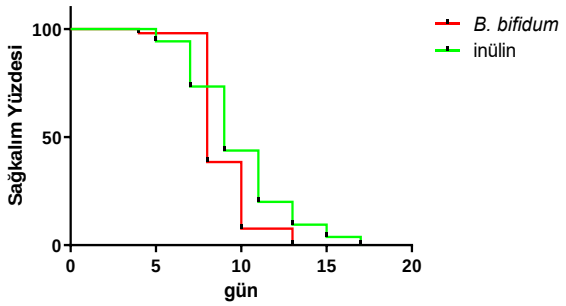
İnülin içeren besiyeri içerisinde 4 gün boyunca inkübe edilen probiyotik mikroorganizmalardan *L. fermentum, S. thermophilus* ve *B. clausii* ile 24 saat beslendikten sonra *S. aureus* ATCC 43300 ile enfekte edilen *C. elegans'* ların yaşam süresinde anlamlı bir artış olduğu gözlenmiştir (Tablo 6, Şekil 21).



Şekil 21: İnülin içeren besiyerinde inkübe edilmiş *L. fermentum, S. thermophilus* ve *B. clausii* ile beslendikten sonra *S. aureus* ATCC 43300 ile enfekte edilen *C. elegans'* ların yaşam süresinde meydana gelen değişim (Sadece istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar verilmiştir).

6.2.1.5. *Salmonella typhii* ATCC 15373 ile enfekte edilen *C. elegans'* ın yaşam süresinin tespiti

İnülin içeren besiyeri içerisinde 4 gün boyunca inkübe edilen probiyotik mikroorganizmalardan, *B. bifidum* ile 24 saat beslendikten sonra *S. typhii* ATCC 15373 ile enfekte edilen *C. elegans'* ların yaşam süresinde anlamlı bir artış olduğu gözlenmiştir (Tablo 6, Şekil 22).

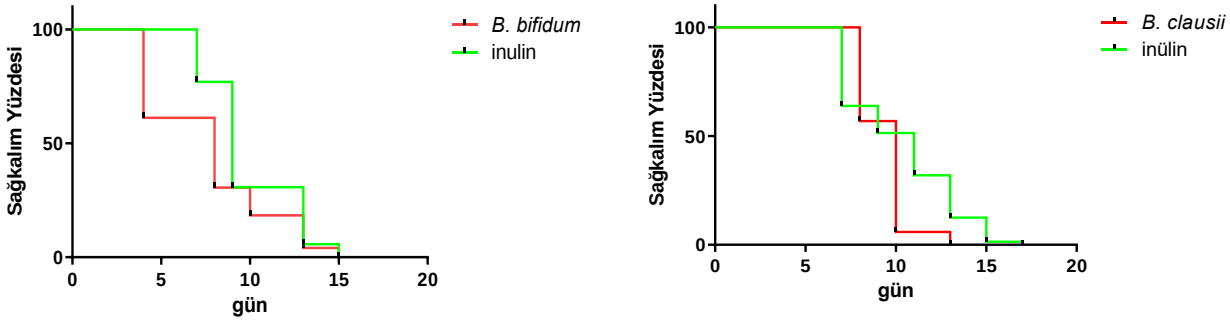


p=0,0352

Şekil 22: İnülin içeren besiyerinde inkübe edilmiş *B. bifidum* ile beslendikten sonra *S. typhii* ATCC 15373 ile enfekte edilen *C. elegans'* ların yaşam süresinde meydana gelen değişim (Sadece istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar verilmiştir).

6.2.1.6. Klinik *Enterococcus faecalis* suşu ile enfekte edilen *C. elegans*' ın yaşam süresinin tespiti

İnülin içeren besiyeri içerisinde 4 gün boyunca inkübe edilen probiyotik mikroorganizmalardan, *B. bifidum* ve *B. clausii* ile 24 saat beslenme sonucunda klinik *E. faecalis* ile enfekte edilen *C. elegans'* ların yaşam süresinde anlamlı bir artış gözlenmiştir (Tablo 6, Şekil 23).



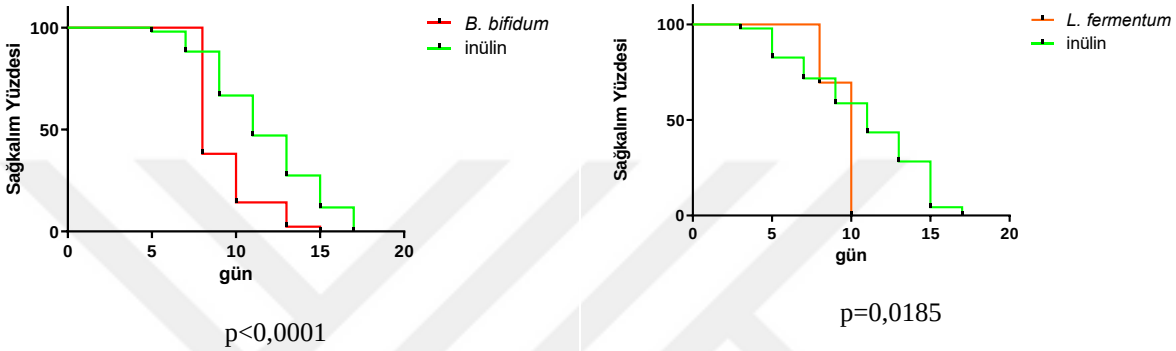
p <0,0001

p=0,0082

Şekil 23: İnülin içeren besiyerinde inkübe edilmiş *B. bifidum* ve *B. clausii* ile beslendikten sonra klinik *E. faecalis* ile enfekte edilen *C. elegans'* ların yaşam süresinde meydana gelen değişim (Sadece istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar verilmiştir).

6.2.1.7. Klinik *Escherichia coli* suşu ile enfekte edilen *C. elegans'* ın yaşam süresinin tespiti

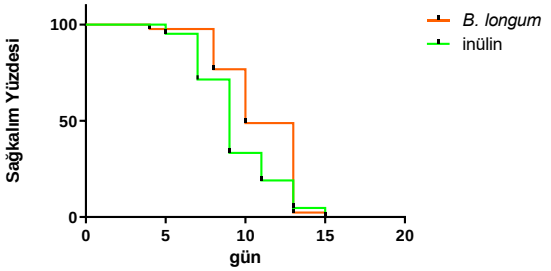
İnülin içeren besiyeri içerisinde 4 gün boyunca inkübe edilen probiyotik mikroorganizmalardan, *B. bifidum* ve *B. clausii* ile 24 saat beslenme sonucunda klinik *E. coli* ile enfekte edilen *C. elegans'* ların yaşam süresinde anlamlı bir artış gözlenmiştir (Tablo 6, Şekil 24).



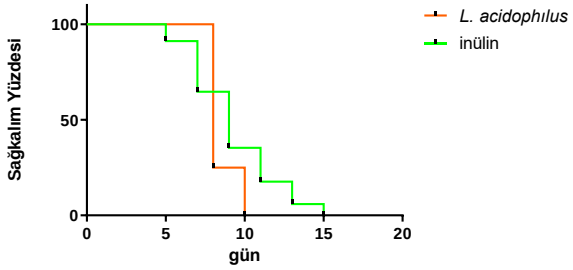
Şekil 24: İnülin içeren besiyerinde inkübe edilmiş *B. bifidum* ve *L. fermentum* ile beslendikten sonra klinik *E. coli* ile enfekte edilen *C. elegans'* ların yaşam süresinde meydana gelen değişim (Sadece istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar verilmiştir).

6.2.1.8. Klinik metisiline duyarlı *Staphylococcus aureus* suşu ile enfekte edilen *C. elegans'* ın yaşam süresinin tespiti

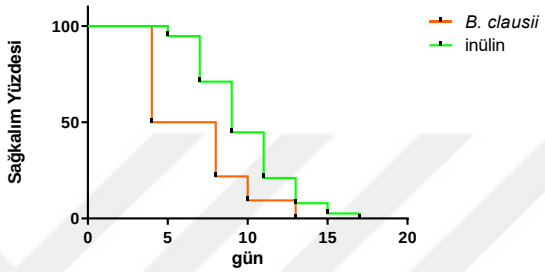
İnülin içeren besiyeri içerisinde 4 gün boyunca inkübe edilen probiyotik mikroorganizmalardan, *B. longum ve L. acidophilus ve B. clausii* ile 24 saat beslenme sonucunda, klinik MSSA ile enfekte edilen *C. elegans'* ların yaşam süresinde anlamlı bir artış gözlenmiştir (Tablo 6, Şekil 25).



p=0,0122



p=0,5278

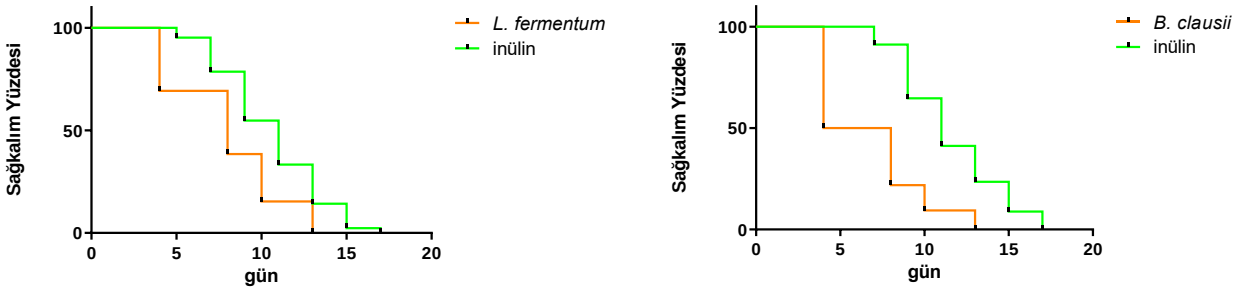


p<0,0001

Şekil 25: İnülin içeren besiyerinde inkübe edilmiş *B. longum* ve *L. acidophilus* ve *B. clausii* ile beslendikten sonra klinik MSSA ile enfekte edilen *C. elegans'* ların yaşam süresinde meydana gelen değişim (Sadece istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar verilmiştir).

6.2.1.9. Klinik metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* suşu ile enfekte edilen *C. elegans*'ın yaşam süresinin tespiti

İnülin içeren besiyeri içerisinde 4 gün boyunca inkübe edilen probiyotik mikroorganizmalardan, *L. fermentum ve B. clausii* ile 24 saat beslenmenin klinik MRSA ile enfekte edilen *C. elegans'* ların yaşam süresinde anlamlı bir artışa yol açtığı gözlenmiştir (Tablo 6, Şekil 26).



p=0,0098 p<0,0001

Şekil 26: İnülin içeren besiyerinde inkübe edilmiş *L. fermentum* ve *B. clausii* ile beslendikten sonra klinik MRSA ile enfekte edilen *C. elegans'* ların yaşam süresinde meydana gelen değişim (Sadece istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar verilmiştir).

6.2.1.10. Klinik *Salmonella* spp. ile enfekte edilen *C. elegans*' ın yaşam süresinin tespiti

İnülin içeren besiyeri içerisinde 4 gün boyunca inkübe edilen tüm probiyotik mikroorganizmalarla, ayrı ayrı olarak 24 saat beslenen *C. elegans*' lar, klinik *Salmonella* spp. ile enfekte edildiklerinde, yaşam sürelerinde anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir (Tablo 6).

6.2.2. Laktuloz ile inkübe edilmiş probiyotik mikroorganizmalarla beslendikten sonra patojen mikroorganizmalarla enfekte olan *C. elegans*' ın yaşam süresinin tespiti

Laktuloz ile beslenen probiyotik mikroorganizmaların, patojen mikroorganizmalarla enfekte edilen *C. elegans*' ın yaşam süresi üzerine etkisi Tablo 7' de görülmektedir.

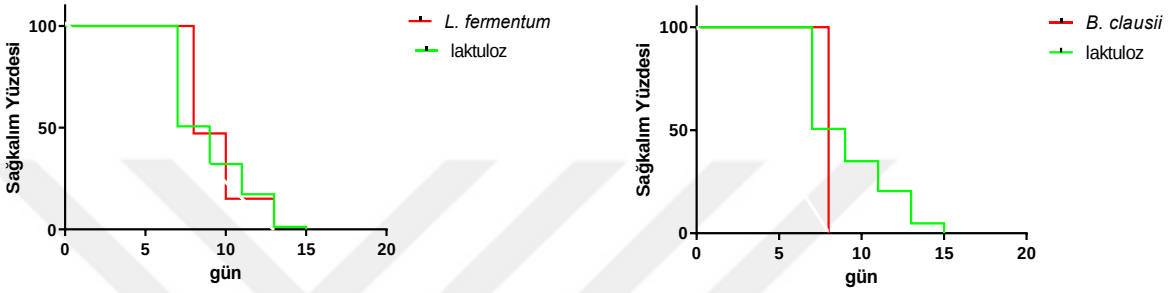
Tablo 7: Laktuloz içeren besiyerinde inkübe edilen probiyotik mikroorganizmaların, patojen mikroorganizmalara karşı *C. elegans*' ın yaşam süresi üzerine etkisi

			Yaşam süresi (gün)					
			Probiyotik Mikroorganizmalar					
			***Bifidobacterium longum* ATCC 15707**	***Bifidobacterium bifidum* ATCC 29521**	***Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356**	***Lactobacillus fermentum* ATCC 14931**	***Streptococcus thermophilus* ATCC 19258**	***Bacillus clausii***
Patojen Mikroorganizmalr	**Standart suşlar**	***Enterococcus faecalis* ATCC 29212**	15±1	15±1	15±1	**13±1**[1]	13±1	**8±1**[2]
		***Escherichia coli* ATCC 25922**	**16±1**[3]	16±1	**16±1**[4]	**16±1**[5]	**10±1**	**16±1**[7]
		***Staphylococcus aureus* ATCC 29213**	16±1	15±1	15±1	16±1	13±1	16±1
		***Staphylococcus aureus* ATCC 43300**	15±1	16±1	**16±1**[8]	**16±1**[9]	13±1	16±1
		***Salmonella typhi* ATCC 15373**	**13±1**[10]	**13±1**	13±1	15±1	10±1	15±1
	Klinik suşlar	***Enterococcus faecalis***	15±1	**15±1**[11]	15±1	18±1	13±1	**13±1**[12]
		Escherichia coli	**17±1**[13]	**15±1**[14]	13±1	**10±1**[15]	10±1	10±1
		MSSA	**28±1**[16]	16±1	10±1	16±1	10±1	**15±1**[17]
		MRSA	15±1	15±1	15±1	15±1	10±1	**16±1**[18]
		***Salmonella* spp.**	13±1	15±1	15±1	15±1	10±1	12±1

Sonuçları istatistiksel karşılaştırılması Tablo 5' te yer alan veriler ile yapılmıştır.
Koyu renkte belirtilen değerler istatistiksel olarak anlamlı bulunan değerlerdir.
[1]p=0,0213, [2]p=0,0323, [3]p=0,0040, [4]p=0,0003, [5]p=0,0003, [6]p=0,0008, [7]p=0,0111, [8]p=0,0021, [9]p=0,0200, [10]p<0,0001, [11]p=0,0082, [12] p<0,0001, [13]p=0,0050, [14]p=0,0011, [15]p=0,0032, [16]p=0,0493, [17]p=0,0013, [18]p=0,0003

6.2.2.1. *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 ile enfekte edilen *C. elegans* ' ın yaşam süresinin tespiti

Laktuloz içeren besiyeri içerisinde 4 gün boyunca inkübe edilen probiyotik mikroorganizmalardan *L. fermentum ve B. clausii* ile 24 saat beslendikten sonra *E. faecalis* ATCC 2921 ile enfekte edilen *C. elegans'* ların yaşam süresinde anlamlı bir artış olduğu gözlenmiştir (Tablo 7, Şekil 27).

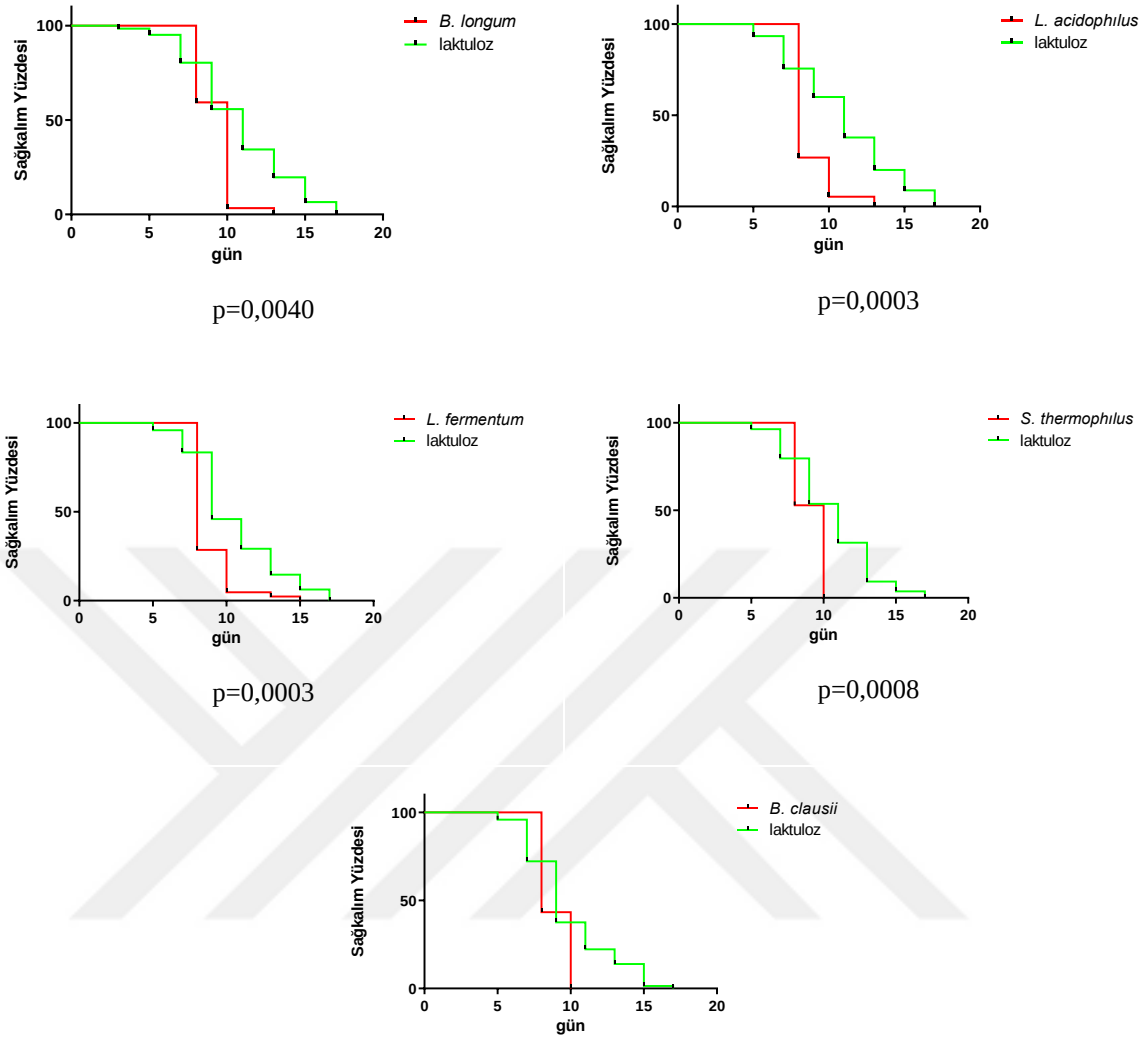


p=0,0213 p=0,0323

Şekil 27: Laktuloz içeren besiyerinde inkübe edilmiş *L. fermentum* ve *B. clausii* ile beslendikten sonra *E. faecalis* ATCC 29212 ile enfekte edilen *C. elegans'* ların yaşam süresinde meydana gelen değişim (Sadece istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar verilmiştir).

6.2.2.2. *Escherichia coli* ATCC 25922 ile enfekte edilen *C. elegans*' ın yaşam süresinin tespiti

Laktuloz içeren besiyeri içerisinde 4 gün boyunca inkübe edilen probiyotik mikroorganizmalardan *B. longum, L. acidophilus, L. fermentum, S. thermophilus ve B. clausii* ile 24 saat beslendikten sonra *E. coli* ATCC 25922 ile enfekte edilen *C. elegans'* ların yaşam süresinde anlamlı bir artış olduğu gözlenmiştir (Tablo 7, Şekil 28).



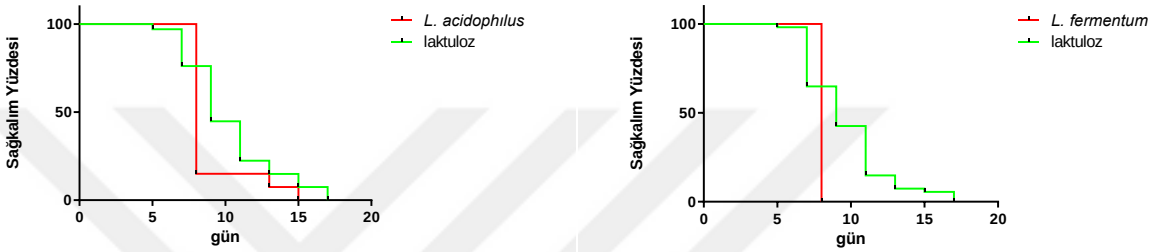
Şekil 28: Laktuloz içeren besiyerinde inkübe edilmiş *B. longum, L. acidophilus L. fermentum, S. thermophilus* ve *B. clausii* ile beslendikten sonra *E. coli* ATCC 25922 ile enfekte edilen *C. elegans'* ların yaşam süresinde meydana gelen değişim (Sadece istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar verilmiştir).

6.2.2.3. *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 ile enfekte edilen *C. elegans*' ın yaşam süresinin tespiti

Laktuloz içeren besiyeri içerisinde 4 gün boyunca inkübe edilen tüm probiyotik mikroorganizmalarla, ayrı ayrı olarak 24 saat beslenen *C. elegans'* lar, *S. aureus* ATCC 29213 ile enfekte edildiklerinde, yaşam sürelerinde anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir (Tablo 7)

6.2.2.4. *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 ile enfekte edilen *C. elegans'* ın yaşam süresinin tespiti

Laktuloz içeren besiyeri içerisinde 4 gün boyunca inkübe edilen probiyotik mikroorganizmalardan *L. acidophilus ve L. fermentum* ile 24 saat beslendikten sonra *S. aureus* ATCC 43300 ile enfekte edilen *C. elegans*' ların yaşam süresinde anlamlı bir artış olduğu gözlenmiştir (Tablo 7, Şekil 29).

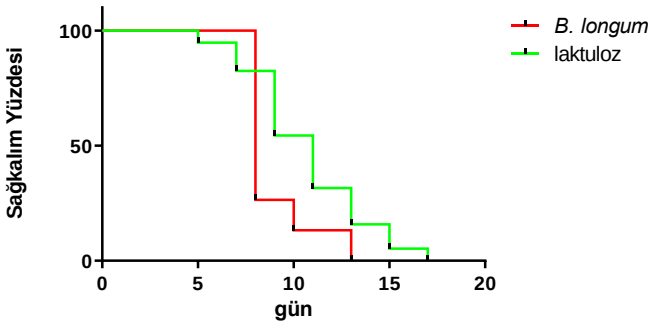


p=0,0200 p=0,0021

Şekil 29: Laktuloz içeren besiyerinde inkübe edilmiş *L. acidophilus* ve *L. fermentum* ile beslendikten sonra *S. aureus* ATCC 43300 ile enfekte edilen *C. elegans'* ların yaşam süresinde meydana gelen değişim (Sadece istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar verilmiştir).

6.2.2.5. *Salmonella typhii* ATCC 15373 ile enfekte edilen *C. elegans'* ın yaşam süresinin tespiti

Laktuloz içeren besiyeri içerisinde 4 gün boyunca inkübe edilen probiyotik mikroorganizmalardan sadece *B. longum* ile 24 saat beslendikten sonra *S. typhii* ATCC 15373 ile enfekte edilen *C. elegans'* ların yaşam süresinde anlamlı bir artış olduğu gözlenmiştir (Tablo 7, Şekil 30).

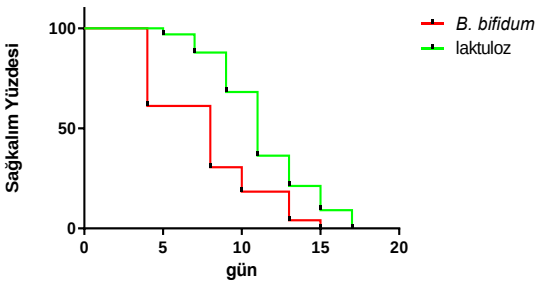


p<0,0001

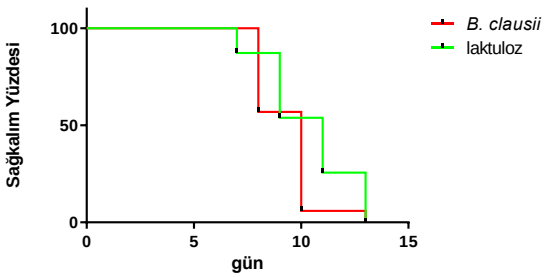
Şekil 30: Laktuloz içeren besiyerinde inkübe edilmiş *B. longum* ile beslendikten sonra *S. typhii* ATCC 15373 ile enfekte edilen *C. elegans'* ların yaşam süresinde meydana gelen değişim (Sadece istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar verilmiştir).

6.2.2.6. Klinik *Enterococcus faecalis* suşu ile enfekte edilen *C. elegans'* ın yaşam süresinin tespiti

Laktuloz içeren besiyeri içerisinde 4 gün boyunca inkübe edilen probiyotik mikroorganizmalardan *B. bifidum* ve *B. clausii* ile 24 saat beslenme sonucunda klinik *E. faecalis* ile enfekte edilen *C. elegans'* ların yaşam süresinde anlamlı bir artış gözlenmiştir (Tablo 7, Şekil 31).



p=0,0082

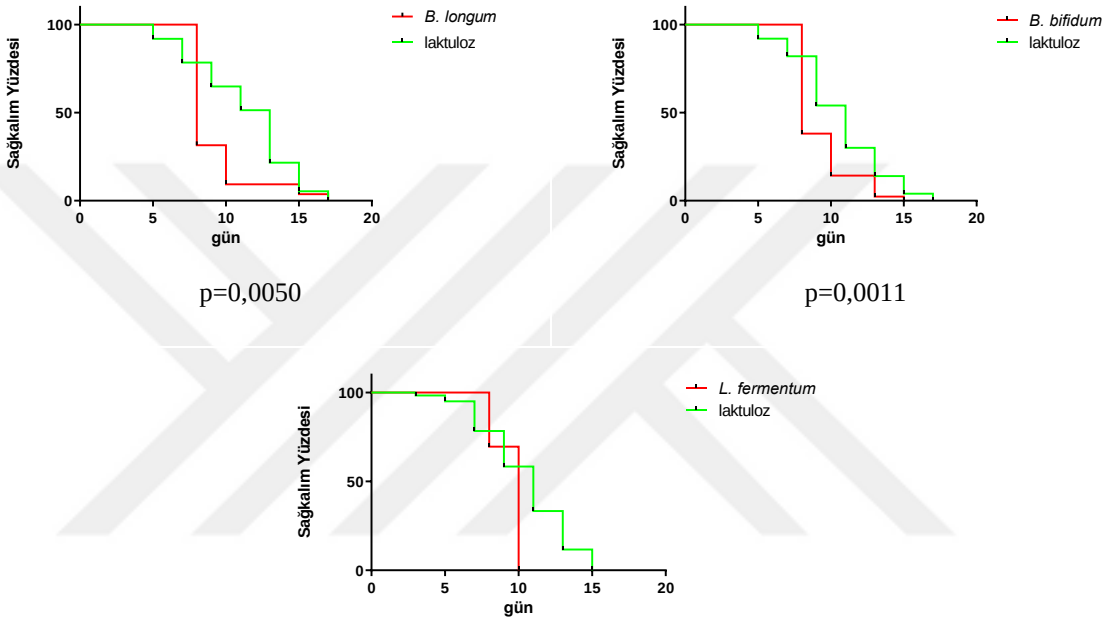


p<0,0001

Şekil 31: Laktuloz içeren besiyerinde inkübe edilmiş *B. bifidum ve B. clausii* ile beslendikten sonra klinik *E. faecalis* ile enfekte edilen *C. elegans'* ların yaşam süresinde meydana gelen değişim (Sadece istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar verilmiştir).

6.2.2.7. Klinik *Escherichia coli* suşu ile enfekte edilen *C. elegans'* ın yaşam süresinin tespiti

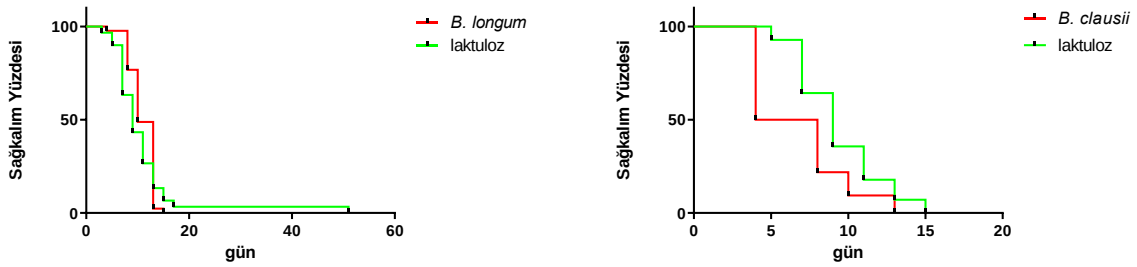
Laktuloz içeren besiyeri içerisinde 4 gün boyunca inkübe edilen probiyotik mikroorganizmalardan *B. longum*, *B. bifidum* ve *L. fermentum* ile 24 saat beslenme sonucunda klinik *E. coli* ile enfekte edilen *C. elegans'* ların yaşam süresinde anlamlı bir artış gözlenmiştir (Tablo 7, Şekil 32).



Şekil 32: Laktuloz içeren besiyerinde inkübe edilmiş *B. longum*, *B. bifidum* ve *L. fermentum* ile beslendikten sonra klinik *E. coli* ile enfekte edilen *C. elegans'* ların yaşam süresinde meydana gelen değişim (Sadece istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar verilmiştir).

6.2.2.8. Klinik metisiline duyarlı *Staphylococcus aureus* (MSSA) ile enfekte edilen *C. elegans'* ın yaşam süresinin tespiti

Laktuloz içeren besiyeri içerisinde 4 gün boyunca inkübe edilen probiyotik mikroorganizmalardan *B. longum ve B. clausii* ile 24 saat beslenme sonucunda klinik MSSA ile enfekte edilen *C. elegans'* ların yaşam süresinde anlamlı bir artış gözlenmiştir (Tablo 7, Şekil 33).

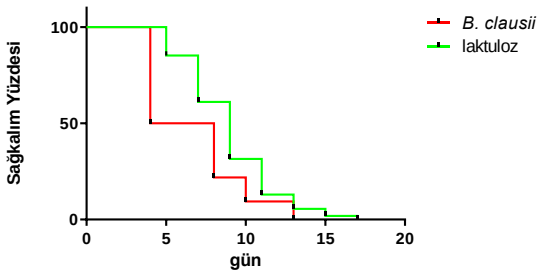


p=0,0493 p=0,0013

Şekil 33: Laktuloz içeren besiyerinde inkübe edilmiş *B. longum ve B. clausii* ile beslendikten sonra klinik MSSA ile enfekte edilen *C. elegans'* ların yaşam süresinde meydana gelen değişim (Sadece istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar verilmiştir).

6.2.2.9. Klinik metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) ile enfekte edilen *C. elegans'* ın yaşam süresinin tespiti

Laktuloz içeren besiyeri içerisinde 4 gün boyunca inkübe edilen probiyotik mikroorganizmalardan sadece *B. clausii* ile 24 saat beslenmenin klinik MRSA ile enfekte edilen *C. elegans'* ların yaşam süresinde anlamlı bir artışa yol açtığı gözlenmiştir (Tablo 7, Şekil 34).



p=0,0003

Şekil 34: Laktuloz içeren besiyerinde inkübe edilmiş *B. clausii* ile beslendikten sonra klinik MRSA ile enfekte edilen *C.elegans'* ların yaşam süresinde meydana gelen değişim (Sadece istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar verilmiştir).

6.2.2.10. Klinik *Salmonella* spp. enfekte edilen *C. elegans'* ın yaşam süresinin tespiti

Laktuloz içeren besiyeri içerisinde 4 gün boyunca inkübe edilen tüm probiyotik mikroorganizmalarla, ayrı ayrı olarak 24 saat beslenen *C. elegans'* lar, klinik *Salmonella spp.* ile enfekte edildiklerinde, yaşam sürelerinde anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir (Tablo 7).

6.2.3. Fruktooligosakkarit ile inkübe edilmiş probiyotik mikroorganizmalarla beslendikten sonra patojen mikroorganizmalarla enfekte olan *C. elegans*' ın yaşam süresinin tespiti

Fruktooligosakkarit (FOS) ile beslenen probiyotik mikroorganizmaların, patojen mikroorganizmalarla enfekte edilen *C. elegans*' ın yaşam süresi üzerine etkisi Tablo 8' de görülmektedir.

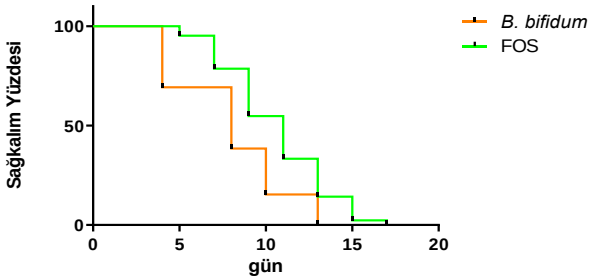
Tablo 8: FOS içeren besiyerinde inkübe edilen probiyotik mikroorganizmaların, patojen mikroorganizmalara karşı *C. elegans*' ın yaşam süresi üzerine etkisi

			Yaşam süresi (gün)					
			Probiyotik Mikroorganizmalar					
			***Bifidobacterium longum* ATCC 15707**	***Bifidobacterium bifidum* ATCC 29521**	***Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356**	***Lactobacillus fermentum* ATCC 14931**	***Streptococcus thermophilus* ATCC 19258**	***Bacillus clausii***
Patojen Mikroorganizmalr	**Standart suşlar**	***Enterococcus faecalis* ATCC 29212**	**16±1[1]**	**16±1[2]**	15±1	13±1	20±1	8±1
		***Escherichia coli* ATCC 25922**	**16±1[3]**	**15±1[4]**	13±1	15±1	10±1	10±1
		***Staphylococcus aureus* ATCC 29213**	15±1	18±1	15±1	15±1	18±1	13±1
		***Staphylococcus aureus* ATCC 43300**	15±1	13±1	15±1	8±1	18±1	13±1
		***Salmonella typhi* ATCC 15373**	**15±1[5]**	**16±1[6]**	13±1	15±1	15±1	**16±1[7]**
	Klinik suşlar	***Enterococcus faecalis***	15±1	15±1	15±1	18±1	18±1	13±1
		Escherichia coli	17±1	15±1	**15±1[8]**	10±1	15±1	10±1
		MSSA	15±1	18±1	10±1	15±1	18±1	13±1
		MRSA	18±1	15±1	15±1	13±1	13±1	13±1
		***Salmonella* spp.**	**16±1[9]**	**15±1[10]**	15±1	15±1	15±1	15±1

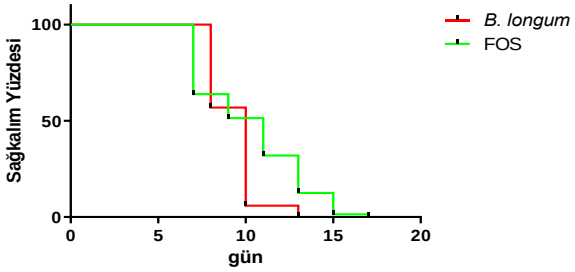
Sonuçları istatistiksel karşılaştırılması Tablo 5' te yer alan veriler ile yapılmıştır.
Koyu renkte belirtilen değerler istatistiksel olarak anlamlı bulunan değerlerdir.
[1]p<0,0001, [2]p<0,0001, [3]p=0,0077, [4]p<0,0001, [5]p=0,0495, [6]p=0,0203, [7]p=0,8063, [8]p=0,0005, [9]p<0,0001, [10]p<0,0001

6.2.3.1. *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 ile enfekte edilen *C. elegans'* ın yaşam süresinin tespiti

FOS içeren besiyeri içerisinde 4 gün boyunca inkübe edilen probiyotik mikroorganizmalardan, *B. longum* ve *B. bifidum* ile 24 saat beslendikten sonra *E. faecalis* ATCC 29212 ile enfekte edilen *C. elegans'* ların yaşam süresinde anlamlı bir artışa sebep olduğu gözlenmiştir (Tablo 8, Şekil 35).



p<0,0001

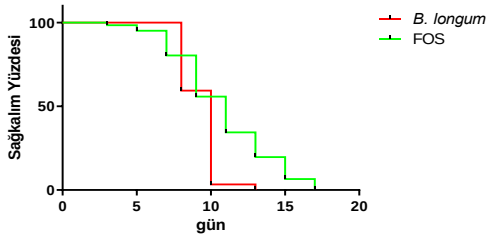


p<0,0001

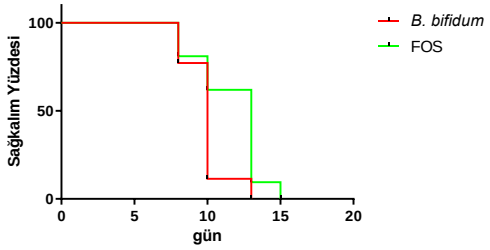
Şekil 35: FOS içeren besiyerinde inkübe edilmiş *B. bifidum ve B. longum* ile beslendikten sonra *E. faecalis* ATCC 29212 ile enfekte edilen *C.elegans'* ların yaşam süresinde meydana gelen değişim (Sadece istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar verilmiştir).

6.2.3.2. *Escherichia coli* ATCC 25922 ile enfekte edilen *C. elegans'* ın yaşam süresinin tespiti

FOS içeren besiyeri içerisinde 4 gün boyunca inkübe edilen probiyotik mikroorganizmalardan *B. longum* ve *B. bifidum* ile 24 saat beslendikten sonra *E. coli* ATCC 25922 ile enfekte edilen *C. elegans'* ların yaşam süresinde anlamlı bir artış meydana getirdiği gözlenmiştir (Tablo 8, Şekil 36).



p=0,0077



p<0,0001

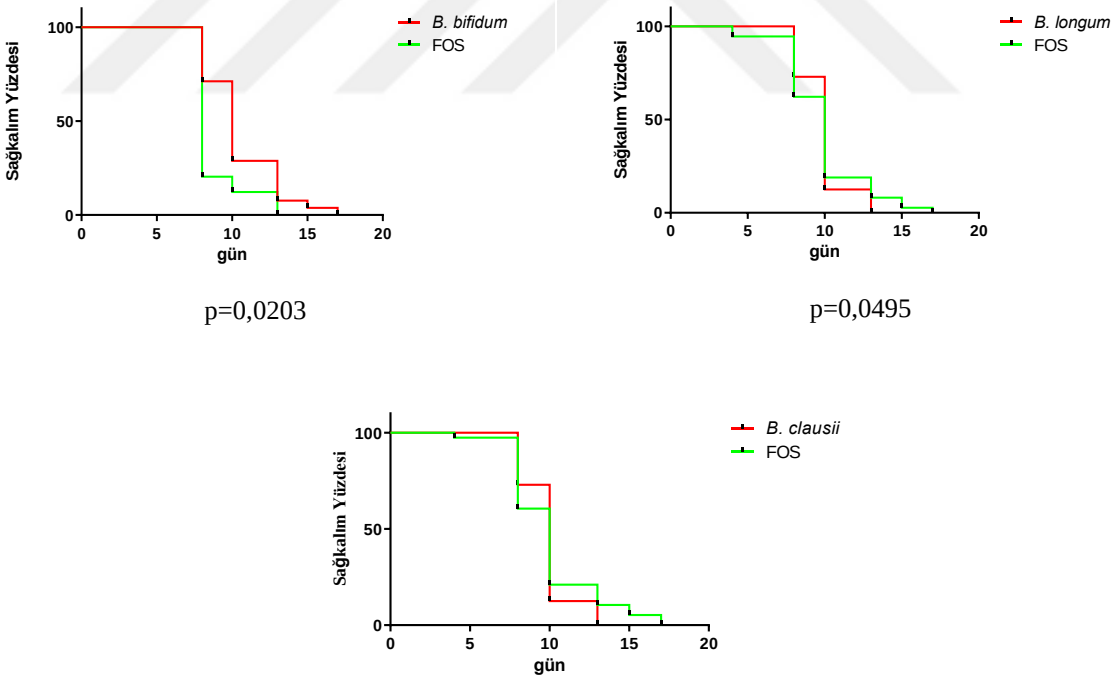
Şekil 36: FOS içeren besiyerinde inkübe edilmiş *B. longum ve B. bifidum* ile beslendikten sonra *E. coli* ATCC 25922 ile enfekte edilen *C.elegans'* ların yaşam süresinde meydana gelen değişim (Sadece istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar verilmiştir).

6.2.3.3. *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 ve *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 ile enfekte edilen *C. elegans'* ın yaşam süresinin tespiti

FOS içeren besiyeri içerisinde 4 gün boyunca inkübe edilen tüm probiyotik mikroorganizmalarla, ayrı ayrı olarak 24 saat beslenen *C. elegans'* lar, *S. aureus* ATCC 29213 ve *S. aureus* ATCC 43300 ile enfekte edildiklerinde, yaşam sürelerinde anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir (Tablo 8).

6.2.3.4. *Salmonella typhii* ATCC 15373 ile enfekte edilen *C. elegans*' ın yaşam süresinin tespiti

FOS içeren besiyeri içerisinde 4 gün boyunca inkübe edilen probiyotik mikroorganizmalardan *B. longum*, *B. bifidum*, ve *B. clausii* ile 24 saat beslendikten sonra *S. typhii* ATCC 15373 ile enfekte edilen *C. elegans'* ların yaşam süresinde anlamlı bir artış olduğu gözlenmiştir (Tablo 8, Şekil 37).



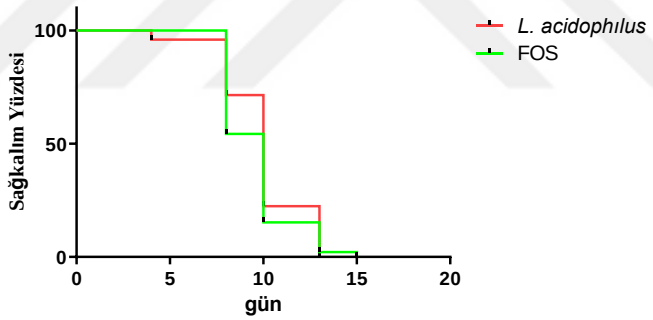
Şekil 37: FOS içeren besiyerinde inkübe edilmiş *B. bifidum ve B. longum ve B. clausii* ile beslendikten sonra *S. typhii* ATCC 15373 ile enfekte edilen *C. elegans'* ların yaşam süresinde meydana gelen değişim (Sadece istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar verilmiştir).

6.2.3.5. Klinik *Enterococcus faecalis* suşu ile enfekte edilen *C. elegans*' ın yaşam süresinin tespiti

FOS içeren besiyeri içerisinde 4 gün boyunca inkübe edilen tüm probiyotik mikroorganizmalarla, ayrı ayrı olarak 24 saat beslenen *C. elegans'* lar, Klinik *E. faecalis* ile enfekte edildiklerinde, yaşam sürelerinde anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir (Tablo 8).

6.2.3.6. Klinik *Escherichia coli* suşu ile enfekte edilen *C. elegans'* ın yaşam süresinin tespiti

FOS içeren besiyeri içerisinde 4 gün boyunca inkübe edilen probiyotik mikroorganizmalardan sadece *L. acidophilus* ile 24 saat beslenme sonucunda klinik *E. coli* ile enfekte edilen *C. elegans'* ların yaşam süresinde anlamlı bir artış gözlenmiştir (Tablo 8).



p=0,0005

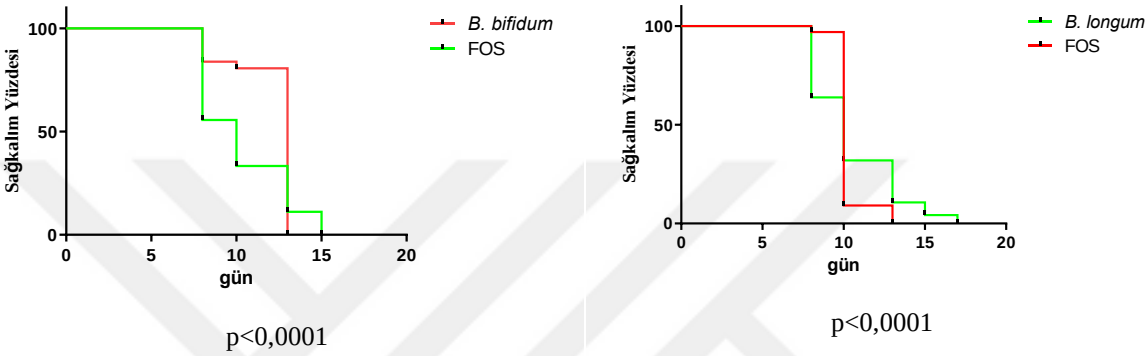
Şekil 38: FOS içeren besiyerinde inkübe edilmiş *L. acidophilus* ile beslendikten sonra klinik *E. coli* ile enfekte edilen *C. elegans'* ların yaşam süresinde meydana gelen değişim (Sadece istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar verilmiştir).

6.2.3.8. Klinik metisiline duyarlı ve dirençli *Staphylococcus aureus* ile enfekte edilen *C. elegans'* ın yaşam süresinin tespiti

FOS içeren besiyeri içerisinde 4 gün boyunca inkübe edilen tüm probiyotik mikroorganizmalarla, ayrı ayrı olarak 24 saat beslenen *C. elegans'* lar, klinik MSSA ve MRSA ile enfekte edildiklerinde, yaşam sürelerinde anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir (Tablo 8).

6.2.3.9. Klinik *Salmonella* spp. suşu ile enfekte edilen *C. elegans'* ın yaşam süresinin tespiti

FOS içeren besiyeri içerisinde 4 gün boyunca inkübe edilen probiyotik mikroorganizmalardan *B. bifidum ve B. longum* ile 24 saat beslendikten sonra *Salmonella* spp. ile enfekte edilen *C. elegans'* ların yaşam süresinde anlamlı bir artış olduğu gözlenmiştir (Tablo 8, Şekil 39).



Şekil 39: FOS içeren besiyerinde inkübe edilmiş *B. bifidum* ve *B. longum* ile beslendikten sonra klinik *Salmonella* spp. ile enfekte edilen *C. elegans'* ların yaşam süresinde meydana gelen değişim (Sadece istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar verilmiştir).

6.2.4. 4-o-metil-D-glucurono-D-xylan ile inkübe edilmiş probiyotik mikroorganizmalarla beslendikten sonra patojen mikroorganizmalarla enfekte olan *C. elegans'* ın yaşam süresinin tespiti

4-o-metil-D-glucurono-D-xylan içeren besiyeri içerisinde 4 gün boyunca inkübe edilen tüm probiyotik mikroorganizmalarla, ayrı ayrı olarak 24 saat beslenen *C. elegans'* lar, çalışmamızda yer alan patojen mikrooganizmalar ile enfekte edildiklerinde, yaşam sürelerinde anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir (Tablo 9).

Tablo 9: 4-o-metil-D-glucurono-D-xylan içeren besiyerinde inkübe edilen probiyotik mikroorganizmaların, patojen mikroorganizmalara karşı *C. elegans*' ın yaşam süresi üzerine etkisi

			Yaşam süresi (gün)					
			Probiyotik Mikroorganizmalar					
			***Bifidobacterium longum* ATCC 15707**	***Bifidobacterium bifidum* ATCC 29521**	***Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356**	***Lactobacillus fermentum* ATCC 14931**	***Streptococcus thermophilus* ATCC 19258**	***Bacillus clausii***
Patojen Mikroorganizmalr	**Standart suşlar**	***Enterococcus faecalis* ATCC 29212**	15±1	15±1	13±1	13±1	20±1	8±1
		***Escherichia coli* ATCC 25922**	13±1	15±1	13±1	15±1	10±1	8±1
		***Staphylococcus aureus* ATCC 29213**	15±1	15±1	15±1	15±1	16±1	13±1
		***Staphylococcus aureus* ATCC 43300**	13±1	13±1	15±1	8±1	15±1	13±1
		***Salmonella typhi* ATCC 15373**	13±1	13±1	13±1	15±1	15±1	15±1
	Klinik suşlar	***Enterococcus faecalis***	15±1	15±1	15±1	18±1	18±1	13±1
		Escherichia coli	17±1	15±1	13±1	10±1	15±1	10±1
		MSSA	15±1	18±1	10±1	15±1	18±1	13±1
		MRSA	15±1	15±1	15±1	13±1	13±1	13±1
		***Salmonella* spp.**	13±1	13±1	15±1	15±1	15±1	13±1

Sonuçları istatistiksel karşılaştırılması Tablo 5' te yer alan veriler ile yapılmıştır.
Tüm değerler istatistiksel olarak anlamsız olarak bulunmuştur.

7. TARTIŞMA

Günümüzde enfeksiyon meydana getiren patojen bakterilerin antibiyotiklere karşı geliştirdikleri direnç, enfeksiyon hastalıklarının tedavilerini güçleştirmekte, hatta bazı durumlarda tedaviler imkansız hale gelmektedir. Direnç nedeni ile tedavi maliyetlerinin ciddi düzeylerde artması önemli derecede ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Bunların yanı sıra, geliştirilen yeni antibiyotiklere çok kısa sürede direnç gösterilmesi nedeni ile yeni antibiyotik geliştirme çalışmalarının azalması, bilim insanlarını enfeksiyon hastalıklarının önlenmesi, tedavisi yada tedavi süresince olumlu etkiler oluşturabilecek yeni yollar ve yaklaşımlar aramaya yöneltmiştir (Sümerkan, 2005).

Probiyotik mikroorganizmalar, insan sağlığı üzerinde olumlu etkiler oluşturan mikroorganizmalardır. Bu mikroorganizmaların insan vücudunda bağışıklık, sindirim, psikolojik v.b. bir çok sistemi olumlu yönde etkilediği ve sağlıklı kalmasında ciddi faydaları olduğu gösterilmiştir. Bunun yanında probiyotik mikroorganizmaların, patojen bakterilere karşı, ürettikleri çeşitli maddeler vasıtası ile onları öldürdüğü veya üremelerini engellediği, patojenler ile besin rekabetine girerek, veya kapladıkları fiziksel alan ile patojen mikroorganizmaların yerleşmelerine engel olduğu gözlenmiştir (Çakır, 2003; Langlands ve ark., 2004; Kim ve ark., 2006; Lee ve ark., 2015; Galland, 2014). Bu özellikleri nedeni ile probiyotik mikroorganizmalar, enfeksiyon hastalıklarının, önlenmesi, tedavisinin kolaylaştırılması açışından yardımcı olabilecek gibi görünmektedir. Bu nedenle bu konu güncel ve yoğun bir araştırma konusu haline gelmiştir.

Prebiyotik maddeler probiyotik mikroorganizmaların, çoğalmalarına ve aktivitelerine olumlu katkılar sağlayan bileşiklerdir. Probiyotikler ile prebiyotikler bir arada kullanıldıklarında sinbiyotik olarak adlandırılmaktadır. Bazı sinbiyotiklerin, insanda, kilo kontrolü, insülin üretimi, kan şeker düzeyi ve *Helicobacter pylori* enfeksiyonunun eradikasyonunu sağlaması gibi bir çok aktivitesi gösterilmiştir. Dolayısıyla probiyotik mikroorganizmaların sayısını yada aktivitesini artıran prebiyotiklerin tespit edilmesi, probiyotik mikroorganizmalardan en üst seviyede

faydalanmayı sağlayabilir (Harman ve Knol, 2006; Coşkun, 2006; Crittenden, 2001; Taşdemir, 2017; Usta, 2015; Mumcu ve Temiz, 2014; Ender, 2009; Markowiak ve Śliżewska, 2017).

Enfeksiyon hastalıkları ile yapılan deneysel çalışmalarda guinea pig kobay (*Cavia porcellus*), fare (*Mus musculus*), sıçan (*Rattus norvegicus*) ve zebra balığı, *Saccharomyces cerevisiae, Drosophila melanogaster* ve *Caenorhabditis elegans* gibi modeller kullanılmaktadır. Bu modellerden *D. melanogaster*, Zebra balığı ve *C. elegans* ön çalışmalarda kullanılmaktadır. Çalışmanın amacı ve kapsamı doğrultusunda en uygun olan model organizmanın seçimi yapılmaktadır. Yapılan çalışmalarda *C. elegans*' ın insanda hastalık meydana getiren mikroorganizmaların birçoğundan etkilendiği ve enfeksiyonun gelişimi açısından insanla benzerlik gösterdiği ortaya çıkmıştır. Bu sebeple *C. elegans* bakteriyel ve bazı fungal patojenlerin neden olduğu enfeksiyonların araştırılması, konak mikrooganizma ilişkisinin aydınlatılması için bir model teşkil etmektedir (Diogo ve Bratanich, 2014). Çalışmamızda model organizma olarak, çalışma kolaylığı, daha önce sınırlı olsa da benzer çalışmalarda kullanılarak olumlu sonuçlar alınmış olması ve insan patojenlerinden etkilenmesi sebepleri ile bir nematod olan *C. elegans* kullanılmıştır (Hau, 2008; Shane ve ark., 2010). *C. elegans* ile daha önceki çalışmalarda *Enterococcus facecalis, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Salmonella enterica, Salmonella Typhimurium, Serratia marcescens, Staphylococcus aureus, Vibrio cholerae* ve *Burkholderia pseudomallei* gibi birçok mikroorganizmalar için enfeksiyon modeli olarak kullaılmıştır (Kurz ve Ewbank, 2003; Labrousse ve ark. , 2000).

Probiyotik mikroorganizmaların canlı modellerde, spesifik olarak patojenlere karşı etkinliğini araştıran sınırlı sayıda çalışma vardır. Ayrıca literatürde çalışmamıza benzer olarak spesifik patojenlere yönelik probiyotik ve prebiyotik kullanımını kapsayan çalışmaya rastlanılmamıştır. Probiyotik mikroorganizmaların ve prebiyotik maddelerin enfeksiyon gelişimi üzerine etkinliğini spesifik olarak tespit etmek amacı ile; çalışmamızda bazı probiyotik mikroorganizmaların ve prebiyotik maddelerin, çeşitli patojen mikroorganizmaların enfeksiyon geliştirme yeteneği üzerine etkisi,

model organizmamız *C. elegans*' ın yaşam süresi üzerinde meydana gelen değişikliklerin tespit edilmesi yolu ile belirlenmiştir.

Probiyotik mikroorganizmalarla beslenme sonucu ömür uzunluğunda meydana gelen değişimlerin değerlendirilmesiyle yapılan *C. elegans* ile ilgili literatürde yer alan çalışmalara bakıldığında;

Sharma K. ve ark (2019), *Lactobacillus paracasei* CD4, *Lactobacillus gastricus* BTM7, *Brevibacillus aydinogluensis* BTM9, *Brevibacillus thermoruber* CD13, *Enterococcus* sp. GTM14, *Brevibacillus thermoruber* HM29, *Brevibacillus thermoruber* HM34, *Weissella confuse* CD1, *Lactobacillus rhamunosus* GG, *Lactobacillus fermentum* K75, *Lactobacillus fermentum* K78, *Lactobacillus plantarum* K84, *Lactobacillus plantarum* K90, *Pediococci acidilactici* K94, *Pediococci acidilactici* K98 probiyotik mikrooragizmalarının *C. elegans* N2' nin çeşitli fonksiyonları üzerine etkinlikleri üzerine yaptıkları çalışmada; sıvı kültürde başlıca *Lactobacillus plantarum* K90, *L. paracasei* CD4, *Pediococci acidilactici* K94, *Lactobacillus rhamunosus* GG ve *Lactobacillus gastricus* BTM7' nin *C. elegans*' ın yaşam süresini uzattığını tespit etmiştir. Bu sonuçlara dayanarak probiyotik mikroorganizmalarla beslenmenin *C. elegans*' ın ömrünün uzatılmasında etkili olduğu sonucuna varılmıştır (Sharma ve ark. , 2019).

Lee ve ark. (2015), ısı ile öldürülen *Lactobacillus plantarum* 133 (LP133) ve *Lactobacillus fermentum* 21 (LP21) ile *C. elegans*' ı beslemişlerdir. Sonrasında bu *C. elegans*' ları *Salmonella Typhimurium ve Yersinia enterocolitica* ile enfekte ettiklerinde, katı kültürde *C. elegans*' ın yaşam süresinin önemli ölçüde arttığını göstermişlerdir (Lee ve ark. , 2015).

Kim ve Mylonakis (2012), sıvı ve katı kültürlerde *L. acidophilus* NCFM bakterisi ile beslenen *C. elegans* N2 suşunun, probiyotik mikroorganizma ile beslenmeyen nematodlara oranla vankomisine dirençli *E. faecalis* (VRE) ve metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA) enfeksiyonuna karşı yaşam süresinin artmasına karşın *Pseudomonas aeruginosa* ve *Salmonella enterica* serovar Typhimurium' akarşı yaşam süresşnde bir

değişiklik olmadığını tespit etmiştir. Yine aynı çalışmada *Bacillus subtilis* ATCC 6633 ile beslenmiş ve *E. coli* ile enfekte edilmiş *C. elegans*' ın yaşam süresinde anlamlı bir değişiklik oluşturmadığı saptanmıştır (Kim ve Mylonakis, 2012).

Ikeda ve ark. (2007), *Bifidobacterium infantis* ATCC 15697, *Bifidobacterium longum* ATCC 15707, *Lactobacillus helveticus* NBRC15019, *Lactobacillus plantarum* NBRC15891, ve *Lactobacillus rhamnosus* NBRC14710 ile beslenen *C. elegans* N2' nin ortalama yaşam süresinin *E. coli* OP50 suşu ile beslenenlerin yaşam sürelerine kıyasla daha uzun olarak saptandığı bildirmiştir. Çalışma sonuçlarına bakıldığında, probiyotik bakterilerin, *Salmonella enterica serovar Enteritidis*'in etkinliğini azaltabildiği ve *C. elegans*' ın yaşam süresini uzattığı görülmektedir (Ikeda ve ark. , 2007).

Literatür bilgilerine bakıldığında, bu konudaki çalışmalar genellikle *Lactobacillus* türleri üzerine yoğunlaşmmıştır. Yöntemsel farklılıklar ve kullanılan mikroorganizma türleri farklı olsa da, çalışmalar sonucunda çeşitli patojenlere karşı, *L. plantarum, L. paracasei, L. acidophilus, L. helveticus, L. fermentum, Bifidobacterium longum, Bifidobacterium infantis*' in *C. elegans*' ın yaşam süresini uzattığı ve bazılarının *C. elegans*' ın enfeksiyona olan dayanımını artırdığını göstermektedir (Sharma ve ark. , 2019; Lee J. ve ark., 2015; Kim ve Mylonakis, 2012; Ikeda ve ark. , 2007).

Çalışmamızda, probiyotik mikrooganizmalar ile beslenen *C. elegans*' ta, kullandığımız tüm probiyotiklerde, tüm patojenlere karşı *C. elegans*' ın yaşam süresinde anlamlı artışlar gözlenmiştir. En çok etkinlik *E. faecalis* ATCC 29212, klinik MRSA ve klinik *Salmonella* spp.' ile enfekte edilen *C. elegans*' ın yaşam süresinde gözlenmiştir. Klinik *Salmonella* spp. ile enfekte edilen *C. elegans*' ın yaşam süresini tüm probiyotik mikroorganizmalar anlamlı olarak artırırken, ilginç olarak *S. typhi* ATCC 15373 ile enfekte edilen *C. elegans*' ın yaşam süresinide tüm probiyotik mikroorganizmalar artışa sebep olsa da bu artış istatistiksel olarak anlamsız olmuştur. Bu durum klinik *Salmonella* spp.' nin tür düzeyinde tanısını yapamamamızdan dolayı suşun farklı bir tür olma olasılığı, yada mikroorganizma

farklılıklarından kaynaklanabilir. Burada elde ettiğimiz veriler, literatürdeki verilere genel olarak uymaktadır (Tablo 5).

En etkili sonuçları gösteren probiyotik mikroorganizmalara bakıldığında, *B. longum* ATCC 15707 ve *S. thermophilus* ATCC 19258 olarak görünmektedir. Literatüre yeni bir bilgi olarak *S. thermophilus* ATCC 19258' de özelikle klinik suşlar (*E.coli*, MSSA, MRSA, *Salmonella* spp.) ile enfekte edilen *C. elegans*' ın yaşam süresinde anlamlı artışlar gözlendiği eklenebilir. *S. thermophilus*' ta probiyotik özellikleri olan bir mikroorganizmadır. Fakat literatürde bu alanda yeterli veri bulunmamaktadır. Aynı şekilde *B. longum* ATCC 15707' de klinik bakterilerle (MSSA, MRSA, *Salmonella* spp.) ile enfekte edilen *C. elegans*' ın yaşam süresinde anlamlı artışlar gözlenmiştir (Tablo 5). Ikeda ve ark., (2007) çalışmasında *B. longum C. elegans*' ın yaşam süresini artırmıştır. Çalışmada patojen bir mikroorganizma yer almasa da *B. longum*' un bu konuda olumlu etkileri olduğunu göstermektedir. Kanımızca enfeksiyon etkeni olarak izole edilen mikroorganizmalar ile enfekte edilen *C. elegans*' ın yaşam süresinin artırılmasının daha önemli ve bu yönde elde edilen verilerin klinik suşların enfeksiyonlarını daha iyi yansıtmasından dolayı daha değerli olduğunu düşünmekteyiz.

Prebiyotikler, probiyotik mikroorganizmaların etkinliklerini ve çoğalmalarını artırabilen maddelerdir. Prebiyotiklerin, probiyotik mikrooganizmaların etkinlikleri üzerine yarattığı değişimlere örnek olan çalışmalara bakıldığında;

Usta ve ark. (2015), frukto-oligosakkarit (FOS), galakto-oligosakkarit (GOS), inülin ve salep; *Bifidobacterium* türü bakterilerinin gelişmesi ve metabolik aktiviteleri üzerinde anlamlı etki yarattığı gözlemlemişlerdir (Usta, 2015).

Mumcu ve Temiz (2014), FOS, GOS, inülin, soya fasulyesi oligosakkariti, ksilo-oligosakkarit ve laktuloz gibi prebiyotik maddelerin *L. acidophilus* ve *Bifidobacterium* spp. bakterilerinin gelişme ve asitleştirme yeteneklerini artırırken, *L. acidophilus* türündeki önemli bir etkinlik meydana getirmediğini tespit etmişlerdir. Bu çalışmanın sonucunda genel olarak çeşitli tür ve konsantrasyonlardaki

prebiyotiklerle beslenmenin probiyotikler üzerindeki canlı hücre sayılarını artırarak destekleyici etki gösterdiği gözlenmiştir (Mumcu ve Temiz, 2014).

Ender (2009), kefirin, *S. typhimurium ve P. auruginosa* gibi patojen mikroorganizmalara karşı antibakteriyel etkilerinin var olduğunu ve kefir içerisine FOS ilave edilmesinin bu etkiyi arttırdığını tespit etmiştir. Prebiyotik madde ilavelerinin probiyotik mikroorganizmaların metabolik aktivitelerini arttırarak bu tip ürünlerin kalite ve verimini arttırarak desteklediği sonuçlarına ulaşmıştır (Ender, 2009).

Bu çalışmalara genel olarak bakıldığında, prebiyotik maddelerin, kullanılan prebiyotiğe ve mikroorganizmaya bağlı olarak bazı probiyotik mikroorganizmaların etkinliklerini değiştirebildiği görülmektedir.

Çalışmamızda prebiyotikler varlığında geliştirilen probiyotik mikroorganizmalarla beslenen *C. elegans*' ın patojen bakterilere karşı yaşam süresinde önemli değişikliklerin oluştuğu görülmektedir (Tablo 6-9).

İnülin ve laktuloz varlığında geliştirilmiş olan probiyotik mikrooganizmalar ile beslenen *C. elegans*' ın patojenlere karşı yaşam süresinde istatistiksel olarak, artış yönünde olumlu etkiler gözlenmiştir. Bu etkiler tüm probiyotik mikrooganizmalarda gözlense de inülin ile özellikle *L. fermentum* ATCC 14931 ve *B. clausii*' de, laktuloz ile özellikle *B. longum* ATCC 15707 ve *B. clausii*' de mevcut olan etkinlikler artmıştır (Tablo 5-7).

FOS ile inkübe edilmiş probiyotik mikrooganizmalar ile beslenen *C. elegans*' ın patojenlere karşı yaşam süresinde istatistiksel olarak, artış yönünde olumlu etkiler gözlenmiştir. Bu etkiler *L. fermentum* ATCC 14931 ve *S. thermophilus* ATCC 19258 haricindeki tüm probiyotik mikrooganizmalarda gözlense de FOS özellikle *B. longum* ATCC 15707 ve *B. bifidum* ATCC 29521' de mevcut olan etkinliklerini arttırmıştır (Tablo 5 ve 8).

4-o-metil-D-glucurona-D-xylan' ın probiyotik özellikleri olduğu belirtilse de (Acuna-Gutierrez ve ark., 2019), bu madde ile ilgili yeterince çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamızda bu madde ile inkübe edilmiş probiyotik mikrooganizmalar ile beslenen *C. elegans*' ın patojenlere karşı yaşam süresinde anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir (Tablo 5 ve 9).

Çalışmamızda prebiyotikler ile geliştirilen probiyotik mikrooganizmalar ile beslenen *C. elegans*' ın patojenlere karşı yaşam süresinde, anlamlı değişiklikler elde edilmiştir. Bu değişiklikler, kullanılan prebiyotiğe, probiyotik mikroorganizmaya ve patojen mikrooganizmaya göre farklılıklar göstermektedir. Bu nedenle ve doğal olarak, her bir probiyotik mikroorganizmanın etkinliğinin farklı bir prebiyotikten etkilenmesi normal karşılanabilecek bir sonuçtur. Prebiyotikler ile ilgili yapılan çalışmalarda elde edilen verilerde de prebiyotiklerin, belirli türler üzerinde etkinlik artırıcı faktör olduğu görülmektedir. Bunun örneği olarak Mumcu ve ark. (2014) çalışmasından elde edilen sonuçlar gösterilebilir.

Genel olarak çalışma sonuçlarına baktığımızda, 4 farklı prebiyotik madde ile inkübe edilen ve edilmeyen 6 farklı probiyotik mikroorganizma ile beslenen *C. elegans*' ın patojen mikroorganizmalarla enfekte edildiğinde, yaşam süresinde istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar elde edildiği gözlenmiştir. Bu sonuçlarda, çalışmamızda kullanılan tüm probiyotik mikroorganizmaların, farklı türdeki patojenler üzerine etkinlikleri olduğu görülmüştür. Aynı şekilde prebiyotiklerin etkisinde de prebiyotiğe, probiyotiğe ve patojene bağlı olarak değişen etkinlikler saptanmıştır. Sonuç olarak, probiyotik ve prebiyotik maddelerin kullanımının, patojen mikroorganizmaların meydana getirdiği enfeksiyonların tedavi sürecinde yardımcı olarak kullanılabileceğini düşündürmektedir. Çalışma sonuçlarımız bize, daha detaylı çalışmalar yapılarak, enfeksiyonların önlenmesi veya daha hafif seyretmesini sağlayabilecek farmasötik preparatlar hazırlanabileceğini düşündürmektedir.

8. KAYNAKÇA

Aider M, De Halleux D. Isomerization of lactose and lactulose production: review. *Trends Food Sci. Technol.* 2007; 18: 356–64.

Acuña-Gutiérrez C, Campos-Boza S, HernándezPridybailo A, Jiménez VM. Nutritional and industrial relevance of particular neotropical pseudo-cereals. In: Piatti C, Graeff-Hönninger S, Khajehei F, eds. Food Tech Transitions. Springer Nature Switzerland. 2019, p:72.

Anderson A, Jonas D, Huber I, Karygianni L , Wölber J ,Hellwig E , Arweiler N, Vach K, Wittmer A, El-Ahmad A. Enterococcus faecalis from Food, Clinical Specimens, and Oral Sites: Prevalence of Virulence Factors in Association with Biofilm Formation. Front Microbiol. 2016; 6: 1534.

Aşan M, Özcan N. Kanatlı beslemede inülinin prebiyotik olarak önemi. Hayv Üretim. 2006; 47 (2): 48-53.

Avery L, Shtonda BB. Food transport in the *C. elegans* pharynx. *Journal Of Experimental Biology*. 2003; 206, 2441-2457.

Avery L, You YJ. *C. elegans* feeding. *WormBook.* 2012; 21, 1-23.

Aytaç SA, Taban BM. Food-Borne Microbial Diseases and Control: Food-Borne Infections and Intoxications. Food Processing: Strategies for Quality Assessment (Editorler: Malik, Z., Erginkaya, S., Erten, A.H.). Springer, NY. 2014; s. 191–224.

Bag B. Ruh Sağlığı ve Psikiyatri Hemşireliğinde Salutogenez Modeli. Current Approaches in Psychiatry/Psikiyatride Guncel Yaklasimlar. 2017; 9, 3.

Bhunia A. General Mechanism of Pathogenesis for Foodborne Pathogens. Foodborne Microbial Pathogens Mechanisms and Pathogenesis. Springer-Verlag. ISBN 978- 0-387-74537-4, NY. 2008; 276s.

Biavati B, Mattarelli P. The family Bifidobacteriaceae. The Prokaryotes. Edited by M. Dworkin, S. Falkow, E. Rosenberg, K. H. Schleifer & E. Stackebrandt. New York: Springer Science. 2006; 322–382.

Boler B.M.V, Fahey G.C. Prebiotics of plant and microbial origin. Direct-fed Microbials and Prebiotics for Animals: Science and mechanisms of action. Edited by Callaway, T.R. and Ricke, S.C. 2012; 13-26.

Bottacini F, Ventura M, Sinderen D, Motherway M. Diversity, ecology and intestinal function of bifidobacteria. Microbial Cell Factories. 2014; 13 Suppl 1, S4.

Brands DA. *Salmonella*, Printed and Bound in The United States of America: Chelsea House Publishers. 2006; 102s.

Brigidi P, Swemen E, Vitali B, Rossi M, Matteuzzi D. PCR Detection of Bifidobacterium Strains and Streptococcus thermophilus in feçes on human subjects after oral bacteriotherapy and yoğurt concumption. İnternational Journal of Microbiology. 2003. 81, 203-209.

Byrd A, Segre J. Koch'un postülalarını uyarlamak. Bilim. 2016; 351; 6270, 224-226.

Castelijn GAA. *Salmonella* Biofilms. Wageningen University. Wageningen, NL, PhD thesis. 2013; 171 s.

Chandan R. American Association of Cereal Chemists. Dairy-Based ingredients. St. Paul, MN. 1997; pp.96-99.

Chaudhury A, Nath G, Tikoo A, Sanyal SC. Enteropathogenicity and antimicrobial susceptibility of new Escherichia spp. J Diarrhoeal Dis Res. 1999; 17 (2): 85-87.

Corsi A, Lin J, Opoku AR, Geheeb KM, Hutchings AD, Terblanche SE, Jager AK, Staden JV. Life cycle of the *C. elegans* hermaphrodite. *Analytical Biochemistry* 2006.

Coşkun T. Pro-, Pre- ve Sinbiyotikler. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi. 2006; 49: 128-148.

Crittenden R, Laıtıla A, Forssell P, Mattö J, Saarela M, Sandholm MT, Myllarınen P. Adhesion of Bifidobacteria to Granular Strach and Its Implications in Probiotic Technologies. Applied and Envıronmental Microbiology. 2001; 67(8): 3469-3475.

Cutting SM. Bacillus probiotics. Food Microbiology. 2011; 28:214-220.

Çakır İ. *Lactobacillus* ve Bifidobacterlerde Bazı Probiyotik Özelliklerin İncelenmesi. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 2003, Ankara.

Dellaglio F, Dicks L.M.T, Du Toit M. Int J.Syst. Bacteriol. 1991; 41: 340.

De Leenheer L, Hoebregs H. Progress in the elucidation of the composition of chicory inulin. Starch, 1994; 46: 193-196.

De Vos P, Garrity GM, Jones D, Krieg NR, Ludwig W, Rainey FA, Schleifer KH, Whitman WB. Bergey‟s Manual of Systematic Bacteriology (2 nd ed), Springer, New York, 2009: 392-421.

Diogo J, Bratanich A. The nematode Caenorhabditis elegans as a model to study viruses. Arch. viriol. 2014; 159(11): 2843-51

Edelman J, Jefford TG. The metabilism of fructose polymers in plants. 4. Beta fructofuranosidases of tubers of *Helianthus tuberosus*. L. Biochem. J. 1964; 93: 148-161.

Elal Muş T, Çetinkaya F. Probiyotik Olarak Bifidobakteriler. Bağırsak Mikrobiyotası ve Probiyotikler. Ankara: Türkiye Klinikleri. 2018; p.21-27.

Ender G. Oligofruktozla Zenginleştirilmiş Sütten Üretilen Kefirlerin Kalitesi Üzerine Tane ve Kültür Kullanımının Etkileri. Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi. 2009, İzmir (Prof. Dr. Necati AKBULUT)

Ergen N. Türk Halk İlaçlarının *Caenorhabditis elegans* Ömür Uzunluğu Üzerine Etkisinin Araştırılması. Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2012, Ankara (Yrd.Doç.Dr. Arzu ATALAY).

Erol G. Gıda Hijyeni ve Mikrobiyolojisi, Pozitif Matbaacılık, Ankara. 2007; 135-144.

Evren M, Apan M, Tutkun E, Evren S. Geleneksel Fermente Gıdalarda Bulunan Laktik Asit Bakterileri. Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi. 2011; 09: 11-17.

Fielenbach N, Antebi A. *C. elegans* dauer formation and the molecular basis of plasticity. Genes Dev. 2008; 22(16): 2149-2165.

Forbes BA, Sham DF, Weissfeld AS. Catalase-nagative, Gram-positive cocci, Streptococcus, enterococcus and smilar organisms. Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology, Missouri, Mosby. 2008; 298-315.

Fricker SP. Medicinal chemistry and pharmocology of compounds. Transit. Metal chem. 1996; 21, 377- 383.

Galland L. The gut microbiome and the brain. J Med Food. 2014; 17(12):1261-72.

Garsin DA, Sifri CD, Mylonakis E, Qin X, Singh KV, Murray BE, Calderwood SB, Ausubel FM. *A simple model host for identifying grampositive virulence factors.* Proc Natl Acad Sci U S A. 2001; 98(19):10892-10897.

Gibson GR, Roberfroid MB. Dietary modulasyon of human colonic microbiota: Introducing the concept of prebiotics. J Nutr. 1995; 125:1401-1412.

Gönülalan Z, Arslan A, Köse A. Farkli Starter Kültür Kombinasyonlarinin Fermente Sucuklardaki Etkileri. Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences . 2004; Vol. 28 Issue 1, p 7-16.

Görak G, Savaşer S. Epidemiyolojiye Giriş ve Enfeksiyon Hastalıkları. T.C Anadolu Üniversitesi Yayınları. 1992. Eskişehir.

Gültekin M. Enterokoklar: Ed: Ulusoy, S., Usluer, G., Ünal S. Mikrobiyoloji, epidemiyoloji ve patogenez. Gram Pozitif Bakteri İnfeksiyonları. 2004; 121-140. Ankara.

Harman M, Knol J. Quantitative Real-Time PCR Analysis of Fecal *Lactobacillus* Species in Infants Receiving a Prebiotic Infant Formula. Applied and Environmental Microbiology. 2006; 72(4): 2359-2365.

Hau J. Animal Models for Human Disease in Sourcebook of Models for Biomedical Research. Conn PM Eds, Humana Press. 2008.

Hensel M. Evolution of pathogenicity islands of *Salmonella enterica*. International Journal of Medical Microbiology. 2004; 294: 95-102.

Hong HA, Duc LH, Cutting SM. The use of bacterial spore formers as probiotics. FEMS Microbiology Reviews. 2005; 29:813-835.

Ignatova V. Influence of Gut Microbiota on Behavior and Its Disturbances. In Behavioral Neuroscience. Intech Open. 2019.

Ikeda T, Yasui C, Hoshino K, Arikawa K, Nishikawa Y. Influence of lactic acid bacteria on longevity of *Caenorhabditis elegans* and host defense against *Salmonella enterica serovar enteritidis*. Appl Environ Microbiol. 2007; 73(20):6404-6409.

Ishwarya SP, Prabhasankar P. Fructooligosaccharide – Retention during baking and its influence on biscuit quality. *Food Bioscience*. 2014; 4: 68–80.

Iyer R, Tomar SK, Kapila S, Mani J, Singh R. Probiotic Properties of Folate Producing Streptococcus Thermophilus Strains. Food Research International. 2010; (43); 1,103-110.

İnanç N, Sahin H, Çiçek B. Probiyotik ve prebiyotiklerin saglık üzerine etkileri. Erciyes Tıp Dergisi. 2005; 27(3), 122-127.

Jakobsen H, Bojer MS, Marinus MG, Xu T, Struve C, Krogfelt KA, Løbner-Olesen A. The alkaloid compound harmane increases the lifespan of *Caenorhabditis elegans* during bacterial infection, by modulating the nematode's innate immune response. PLoS One. 2013;8(3):e60519.

Janda J.M., Abbott S.L. The Salmonellae. The Enterobacteria, Philadelphia, PA: Lippincott – Raven. 1998; 80-109.

Jamet E, Akary E, Poisson MA, Chamba JF, Bertrand X, Serror P. Prevalence and characterization of antibiotic resistant Enterococcus faecalis in French cheeses. Food Microbiology. 2012. 31 (2): 191-198.

Jenkins DJA, Kendall CWC, Vuksan V. Inulin, oligofructose and intestinal function. J. Nutr. 1999; 129: 1431-1433.

Kadariya J, Smith TC, Thapaliya D. Staphylococcus aureus and staphylococcal food-borne disease: An ongoing challenge in public health. BioMed Res Int, 2014; 1-9.

Karlı S, Ceran N, Genc I, Inan A, Ozturk D, Taşdemir C. Toplum ve hastane kaynaklı infeksiyonlardan izole edilen GSBL pozitif Escherichia coli suşlarında tigesiklin duyarlılığının araştırılması. Ankem Derg. 2010; 24: 209-214.

Kılıç GB, Kuleşan H, Eralp İ, Karahan A. Manufacture of Turkish Beyaz cheese added with probiotic strains. LWT-Food Science and Technology. 2009; 42(5): 1003-1008.

Kılıç S. Süt Endüstrisinde Laktik Asit Bakterileri. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları. 2001; 542, 37-55. İzmir.

Kim H, Park S, Cho H, Paik I. Y. Dietary supplementation of probiotic Bacillus polyfermenticus, Bispan strain, modulates natıral killer cell and Tcell subset populations and immunoglobulin g levels in human subjects. Journal of Medicinal Food. 2006; (9), 321-327.

Kim Y , Mylonakis E. *Caenorhabditis elegans* Immune Conditioning with the Probiotic Bacterium Lactobacillus acidophilus Strain NCFM Enhances Gram-Positive Immune Responses. Infection and Immunity. 2012 July; (80) Number 7; p. 2500–2508.

Klein G. Taxonomy, ecology and antibiotic resistance of enterococci from food and gastro-intestinal tract. International Journal of Food Microbiology. 2003; 88, 123-131.

Kolida S, Tuohy K, Gibson GR. Prebiotic effects of inulin and oligofructose. British Journal of Nutrition. 2002; 87(2): 193-197.

Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC, Procop G, Woods G. Color Atlas and Textbook of Diagnostik Microbiology. Sixth edition. Philadelphia: Lippincott Co. 2005: 700-711

Kurt Ş, Zorba Ö. Bakteriyosinler ve Gıdalarda Kullanım Olanakları. YYÜ Vet Fak Dergisi. 2005; 16 (1):77-83

Kurz CL, Ewbank JJ. *Caenorhabditis elegans*: an emerging genetic model for the study of innate immunity. Nat Rev Genet 2003; 4(5): 380-90.

Labrousse A, Chauvet S, Couillault C, Kurz CL, Ewbank JJ. *Caenorhabditis elegans* is a model host for *Salmonella typhimurium*. Curr Biol 2000; 10(23): 1543-1545.

Langlands SJ, Hopkins MJ, Coleman N, and Cummings JH. Prebiotic carbohydrates modify the mucosa associated microflora of the human large bowel. 2004; 53(11), 1610-1616.

Lee J, Choe J, Kim J, Oh S, Park S, Kim Y. Heat- killed *Lactobacillus* spp. cells enhance survivals of *Caenorhabditis elegans* against *Salmonella* and *Yersinia* infections. Lett Uygulaması Microbiol. 2015; 61 (6): 523-530.

Liong MT. Probiotics: a critical review of their potential role as antihypertensives, immune modulators, hypocholesterolemics, and perimenopausal treatments. Nutrition reviews. 2007; 65(7): 316-328.

Logan NA, Berkeley RCW. Identification of *Bacillus* Strains Using the API System. Journal of General Microbiology. 1984; 130, 1871-1882.

López FE, María de las MP, Roberto M, Mónica AD. Salmonella Typhimurium general virulence factors: A Battle of David against Goliath Food Research International. 2012; 45, 842–851.

Maceková D , Farkas V , Kişida E , Takeo K. *Cryptococcus neoformans*'ta ekto-glikanazlar ve kapsülün metabolik stabilitesi. J Basic Microbiol. 2006; 46 (6): 470-479.

Mumcu AŞ, Temiz A. Effects of Prebiotics on Growth and Acidifying Activity of Probiotic Bacteria. Gıda. 2014; 39 (2): 71-77.

Markowiak P, Śliżewska K. Effects of Probiotics, Prebiotics, and Synbiotics on Human Health. Nutrients. 2017; 9(9):1021.

Marseglia LG, Tosca M, Cirillo I, Licari A, Leone M , Marseglia A, Castellazzi A, Ciprandi G. Efficacy of Bacillus clausii spores in the prevention of recurrent respiratory infections in children: a pilot study. Therapeutics and Clinical Risk Management. 2007; 3(1) 13–17.

Mumcu AŞ, Temiz A. Effects of Prebiotics on Growth and Acidifying Activity of Probiotic Bacteria. Gıda. 2014; 39 (2): 71-77

Murray BE. The life and times enterococcus. Clinical Microbiology Reviews. 1990; 3, 45–65.

Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Yolken RH. Manuel of Clinical Microbiology. American Society for Microbiology, Washington, 1999, 78-86.

Murray PR, Rosenthal KS, Kobayashi GS, Pfaller MA. Staphylococcus and Related Organisms. Medical Microbiology. 5th Ed. USA: Mosby. 2005. p.: 175-189.

Nelson I, Higuita A, Huycke M. Enterococcal Disease, Epidemiology, and Implications for Treatment. Enterococci: From Commensals to Leading Causes of Drug Resistant Infection [Internet]. Editors: Gilmore MS, Clewell DB, Ike Y. Boston: Massachusetts Eye and Ear Infirmary. 2014; 65-71.

Ouwehand AC, Derrien M, de Vos W, Tiihonen K, Rautonen N. Prebiotics and other microbial substrates for gut functionality. Curr Opin Biotechnol. 2005; 16(2): 212-217.

Özbaş Y. Bifidobakteriler ve Laktobacillus acidophilus: Özellikleri, kullanımları, yararlı etkileri ve ürün uygulamaları. Gıda Teknol. Derg. 1995; 18, 247-251.

Panesar PS, Kumari S. Lactulose: Production, purification and potential application. *Biotechnol. Adv.* 2011; 29: 940-948.

Peacock S. Staphylococcus aureus. Principles and Practice of Clinical Bacteriology, Ed; Gillespie SH, Hawkey PM, John Wiley&Sons Ltd., England. 2006; 73-98.

Pearce L, Flint S. Streptococcus thermophilus. In: Encyclopedia of Dairy Science. Roginski, H.J. and Fuquay, P. (eds). Academic Press. 2002; 2577-2582. London, UK.

Reuter G, Klein G, Goldberg M. Identification of Prebiotic Cultures in Food Samples. Food Reearch International. 2002; 35: 117-124.

Roberfroid, M.B. Prebiotics and probiotics: are they functional foods? American Journal of Clinical Nutrition, 2000; 71: 1682-1687.

Sağdıç O, Küçüköner E, Özçelik S. Probiyotik ve Prebiyotiklerin Fonksiyonel Özellikleri, Atatürk Üniv. Ziraat Fak. Derg. 2004: 35 (3-4), 221-228.

Scorzoni L, de Lucas MP, Singulani JL, de Oliveira HC, Assato PA, Fusco-Almeida AM, Mendes-Giannini M. Evaluation of *Caenorhabditis elegans* as a host model for *Paracoccidioides brasiliensis* and *Paracoccidioides lutzii*. Pathog Dis. 2018: 76(1), 10.1093/femspd/fty004.

Shane LR, Brett HG, Eiko N, Adwitiya K, Marni JF. Bacteria, Yeast, Worms, and Flies: Exploiting simple model organisms to investigate human mitochondrial diseases. Dev Disabil Res Rev.1010. 2010; 16 (2): 200-218.

Sharma K, Pooranachithra M, Balamurugan K, Goel G. Multivariate analysis of ıncrease in life span of *Caenorhabditis elegans* through ıntestinal colonization by ındigenous probiotic strains. Probiotics Antimicrob Proteins. 2019; 11(3):865-873.

Simpson PJ, Ross RP, Fitzgerald GF, Stanton C. Bifidobacterium psychraerophilum sp. nov. and Aeriscardovia aeriphila gen. nov., sp. nov., isolated from a porcine caecum. Int J Syst Evol Microbiol 2004; 54, 401–406.

Sneath PHA, Mair NS, Sharpe ME, Holt JG. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Williams&Wilkins, U.S.A. 1986; 2: 1043-1223.

Sümerkan B. Streptococcus pneumoniae ve enterokoklarda antibiyotik direnci: 2003-2004 Türkiye haritası. ANKEM Derg. 2005;19(Ek 2): 61-65.

Taşbakan MI, Pullukçu H, Yamazhan T, Arda B, Ulusoy S. Toplum kökenli üriner sistem infeksiyonlarından soyutlanan Escherichia coli suşlarına fosfomisinin in vitro etkinliğinin diğer antibiyotiklerle karşılaştırılması, Ankem Derg. 2004; 18: 216.

Taşdemir A. Probiyotikler, Prebiyotikler ve Sinbiyotikler. Kastamonu Sağlık Akademisi. 2017; (2), 71-88.

Thielman NM, Guerrant RL. Akut bulaşıcı ishal. New England Journal of Medicine. 2004; 350,s. 38–47.

Tohidpour A, Sattari M, Omidbaigi R, Yadegar A, Nazemi J. Antibacterial Effect of Essential Oils From Two Medicinal Plants Against Methicillin-resistant Staphylococcus Aureus (MRSA). Phytomedicine. 2010; 17(2), 142-145.

Työppönen S, Petäjä E, Mattila-Sandholm T. Bioprotectives and probiotics for dry sausages. International Journal of Food Microbiology. 2003; 83:233-244.

Uğur M, Nazlı B, Bostan K. Gıda Hijyeni. Teknik Yayınevi. 2003. Türkiye.
Urdaci MC, Bressollier P, Pinchuk I. *Bacillus clausii* probiotic strains: Antimicrobial and immunomodulatory activities. Journal of Clinical Gastroenterology. 2004;38: 86–90.

Usta B. Bazı *Bifidobacterium* Türlerinin Gelişmesi Üzerine Salep Tozunun Etkisinin İncelenmesi. Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi. 2015, Bursa (Doç. Dr. Lütfiye Yılmaz ERSAN)

Vazgeçer B, Temiz A. Salmonella izolasyonu ve tanımlanması. Orlab On-Line Mikrobiyoloji Derg. 2005; 3(4):1-27.

Vega NM, Gore J. Stochastic assembly produces heterogeneous communities in the *Caenorhabditis elegans* intestine. PLoS Biol. 2017;15(3):e2000633.

Velusamy V, Arshak K, Korostynska O, Oliwa K, Adley C. An overview of foodborne pathogen detection: in the perspective of biosensors. Biotechnology advances. 2010 Mar-Apr; 28 (2): 232-254.

Waldvogel FA. Staphylococcus aureus (Including Staphylococcal Toxic Shock). In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds). Mandell, Douglas and Bennet's Principles and Practice of Infectious Diseases. New York: Churchill Livingstone. 2000: 2069-2092.

Wang D, Wang Z, Yan Z, Wu J, Ali T, Li J. Bovine mastitis *Staphylococcus aureus*: antibiotic susceptibility profile, resistance genes and molecular typing of methicillin-resistant and methicillin-sensitive strains in China. Infect. Genet. Evol. 2015;31, 9-16.

Willke Topçu A, Söyletir G, Doğanay M. Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi Sistemlere Göre Enfeksiyonlar 3. Baskı, İstanbul: Nobet Tıp Kitabevleri. 2008.

Yang L, Lin W, Lu T. Characterization and prebiotic activity of aqueus extract and indigestible polysaccharide from Anoectochilus formosanus. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2012; 60: 8590-8599.

Zacchino SA, Estefanía Butassi E, Cordisco E, Svetaz LA. Hybrid combinations containing natural products and antimicrobial drugs that ınterfere with bacterial and fungal biofilms. Phytomedicine, 2017;15;37:14-26.

Zboromyrska Y, Vila J. Gastrointestinal enfeksiyonların ileri PCR tabanlı moleküler tanısı: zorluklar ve fırsatlar. Moleküler Diagnostik Uzman Derlemesi. 2016; 16 s. 631–640.

EK 1

T.C.
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Etik Kurulu

PROJENİN ADI : Çeşitli Mikroorganizmaların ve Maddelerin Enfeksiyon Önleyici Etkilerinin Caenorhabditis Elegans Modelinde Araştırılması
PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ: Dr.Öğr. Üyesi Erkan RAYAMAN
PROJEDEKİ ARAŞTIRICILAR : Biyolog Sinem SEZEN
ONAY TARİHİ VE ONAY SAYISI: 17.12.2018-238

Sayın; Dr.Öğr. Üyesi Erkan RAYAMAN

238 protokol nolu "Çeşitli Mikroorganizmaların ve Maddelerin Enfeksiyon Önleyici Etkilerinin Caenorhabditis Elegans Modelinde Araştırılması" isimli projeniz Enstitümüz Etik Kurulu tarafından incelenmiş ve etik yönden uygunluğuna karar verilmiştir.

Prof. Dr. Feyza ARICIOĞLU
Komisyon Başkanı

Doç.Dr. İlkşan DEMİRBÜKEN

Prof. Dr. Dilşad SAVE

Prof.Dr. Hülya AŞÇI

Prof.Dr.Tuğba TUNALI AKBAY

Prof.Dr. Nefise BAHÇECİK

Prof.Dr. Hakkı ARIKAN

Doç.Dr. M. Ümit UĞURLU

Doç.Dr. Betül OKUYAN

Av. Funda IŞIK

Av. Öncel Onur AKBAŞ

Marmara Üniversitesi Göztepe Kampus Sağlık Bilimleri Enstitüsü 1988 Kadıköy İSTANBUL
0 (216) 414 44 23 / 0 (216) 414 44 23
Ayrıntılı bilgi için Süleyman TÜRKMENOĞLU
saglik.ogrenci@marmara.edu.tr
http://saglik.marmara.edu.tr

EK 2

Sinem Sezen, Erkan Rayaman, Rıza Adaleti. Probiyotik mikroorganizmaların enfeksiyon önleyici etkilerinin *Caenorhabditis elegans* modelinde araştırılması. (Poster sunumu, PP-002). Gastroenteroloji Günleri, 28-29 Şubat 2020, Ankara.

ÖZGEÇMİŞ

Adı	Sinem	**Soyadı**	SEZEN
Doğum Yeri	Kadıköy/ İstanbul	**Doğum Tarihi**	22.09.1995
Uyruğu	T.C	**Tel**	05352228384
E-mail	sinemsezen95@gmail.com		

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	**Mezuniyet Yılı**
Lisans	İstanbul Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü	2017

İş Deneyimi

Görevi	**Kurum**	**Süre (Yıl - Yıl)**
Mikrobiyoloji Birim Sorumlusu	Redo Analyzer Gıda Laboratuvarı	Şubat 2020- Halen çalışmakta

Yabancı Dilleri	**Okuduğunu Anlama***	**Konuşma***	**Yazma***
İngilizce	İyi	İyi	İyi

Yabancı Dil Sınav Notu #								
YDS	ÜDS	IELTS	TOEFL IBT	TOEFL PBT	TOEFL CBT	FCE	CAE	CPE
-	-	-	-	-	-	-	-	-

	Sayısal	**Eşit Ağırlık**	**Sözel**
ALES Puanı	71, 08	73, 09	66, 87

Bilgisayar Bilgisi

Program	**Kullanma becerisi**
Ms Office (Worl, Excel, PowerPoint)	İyi

*****Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendiriniz.