



Biosafety Assessment of Probiotics “Probiotics”

Ebru Demir^{1,a}, Gülden Başyigit Kılıç^{2,b,*} Demircan Özbaler^{3,c}

¹Department of Food Engineering Department, Institute of Science and Technology, Mehmet Akif Ersoy University, 15030 Burdur, Turkey

²Department of Food Engineering Department, Faculty of Engineering and Architecture, Mehmet Akif Ersoy University, 15030 Burdur, Turkey

³Department of Internal Medicine Department, Süleyman Demirel University, 32260 Isparta, Turkey

*Corresponding author

ARTICLE INFO	ABSTRACT
<p><i>Review Article</i></p> <p>Received : 02/11/2018 Accepted : 13/02/2019</p> <p>Keywords: Probiotics Lactic acid bacteria Biosafety Virulence gene Starter/Support culture</p>	<p>Probiotics are defined as live microorganisms that provide many health benefits when consumed in sufficient quantities. Lactic acid bacteria (LAB) are found in the natural flora of foods such as milk, meat, fruits and vegetables and are used as culture in the production of fermented foods. These bacteria are also found in the microbiota of the intestines, mouth, skin, urinary systems, both humans and animals and may have a beneficial influence on these ecosystems. Some <i>Lactobacillus</i> species, <i>Bifidobacterium</i> spp., <i>Saccharomyces boulardii</i>, and some other microorganisms have been used as probiotic as food supplement in order to benefit health. Even though probiotics have been proven to have beneficial effects for the majority of patients on treatment, the existence of risks for the immunosuppressed patients has been also reported. There are more evidence that the use of probiotics in patients with organ failure, immuno-compromised status and dysfunctional gut barrier can cause infections. Before considering to use probiotics as a treatment option, it should be totally proven that probiotics have no harmful effect on human. First of all, it is important that classical biochemical tests are completed in a competent laboratory by molecular methods in identification of LAB to be used as a probiotic. Several approaches are possible in the assessment of the probiotic safety; studies on the intrinsic properties, the pharmacokinetics of the probiotic strain and the interactions between the probiotic strain and the host. There are no required standards for safety and protocols for usage of probiotics. More information is needed whether the probiotics can be used for the treatment or prevention of disease. The use of probiotics should also be comprehensively updated to determine their probable negative effects.</p>

Türk Tarım – Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi 7(4): 639-645, 2019

Probiyotiklerin Biyogüvenilirlik Özellikleri “Probiyotikler”

MAKALE BİLGİSİ	ÖZ
<p><i>Derleme Makale</i></p> <p>Geliş : 02/11/2018 Kabul : 13/02/2019</p> <p>Anahtar Kelimeler: Probiyotik Laktik asit bakterileri Biyogüvenilirlik Virülans gen Başlatıcı/destek kültür</p>	<p>Probiyotikler yeterli miktarda tüketildiğinde sağlık üzerinde birçok fayda sağlayan canlı mikroorganizmalar olarak tanımlanır. Laktik asit bakterileri (LAB) süt, et, meyve ve sebze gibi gıdaların doğal florasında bulunmakta ve fermente gıdaların üretiminde kültür olarak kullanılmaktadır. Bu bakteriler insan ve hayvanların bağırsak, ağız ve deri, üriner sistemin mikrobiyotalarında da bulunurlar ve bu ekosistemlerde faydalı etki gösterebilirler. Bazı <i>Lactobacillus</i> türleri, <i>Bifidobacterium</i> spp., <i>Saccharomyces boulardii</i> ve diğer bazı mikroorganizmalar sağlıklı yararlı olmak amacıyla, gıda takviyesi şeklinde probiyotik olarak kullanılmaktadır. Probiyotiklerin, tedavi sürecinde olan hastaların çoğunda yarar sağladığı bilirse de, bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda risklerin mevcut olduğu belirtilmektedir. Organ ve immün yetmezliği olan ve gastrointestinal bariyerde bozulmaları bulunan hastalarda probiyotiklerin kullanımının enfeksiyonlara neden olabileceğine dair bulgular giderek artmaktadır. Probiyotiklerin bir tedavi seçeneği olarak kullanılması için olumsuz etkilerinin olmadığını kanıtlarla tespit edilmesi gereklidir. Öncelikle probiyotik olarak kullanılacak LAB'nin tanımlanmasında klasik biyokimyasal testlerin yetkin bir laboratuvarında moleküler yöntemlerle tamamlanması önemlidir. Farklı antibiyotiklere direnç, virülans faktörlerinin varlığı ve biyojenik aminlerin sentezi probiyotik bakterilerin güvenilirliği için öncelikle incelenen parametrelerdir. Probiyotiklerin güvenilirliğinin değerlendirilmesinde; probiyotik suşun farmakokinetiği ve probiyotik suş ile konakçı arasındaki etkileşimler üzerine çalışmalar bulunmaktadır. Probiyotikler için güvenlik ve kullanım protokolleri ile ilgili gerekli standartlar bulunmamaktadır. Probiyotiklerin, bir hastalığın tedavisi veya önlenmesi amacıyla kullanılabilmesi için daha fazla bilgiye ihtiyaç duyulmaktadır. Probiyotiklerin olumsuz etki gösterme olasılığının belirleyebilmek için probiyotik kullanımı hakkındaki bilgilerin revizyonu önemlidir.</p>

^a ebruli.dmr@gmail.com

^b <https://orcid.org/0000-0003-0358-7567>

^c gklic@mehmetakif.edu.tr

<https://orcid.org/0000-0002-9635-3091>

^c demircanozbalci@sdu.edu.tr

<https://orcid.org/0000-0003-1211-0568>



Giriş

Laktik asit bakterileri (LAB) Gram pozitif, sporsuz, insanlar ve hayvanların gastrointestinal (GI) sistemleri ve gıdalar gibi geniş bir ekolojik yelpazede doğal olarak bulunan, heterojen bir mikroorganizma grubunu temsil eder. Gıda üretiminde önemli teknolojik özelliklerine ilave olarak, çeşitli çalışmalar LAB'nin konak için yararlı katkılar sağladığını göstermiştir (Ruiz Rodríguez ve ark., 2017). *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Bifidobacterium*, *Bacillus* cinsleri içerisinde yer alan bakteriler mide-bağırsak florasının önemli popülasyonunu oluşturmaktadır (Gülgör ve Özcelik, 2014). Laktobasillerin belirli üyeleri çoğunlukla probiyotik mikroorganizmalar olarak kullanılmaktadır (LeBlanc ve ark., 2011).

Probiyotikler; insanların veya hayvanların doğal mikroflorasına ait özellikleri geliştiren, belirli dozlarda kullanıldıkları zaman ağızda, GI sistemde, üst solunum yollarında ya da ürogenital kanallarda yararlı etkileri ile konakçının sağlığında iyileşmeye sebep olan tek veya karışık canlı mikroorganizma kültürleridir (Todoroy ve ark., 2017). Probiyotiklerin bulunduğu konakçıdaki diğer mikroorganizmalara karşı güçlü bir etki mekanizması oluşturduğu ve konakçıya yararları olduğu kesin olarak kabul edilmiştir. İnsan bağırsak sisteminin doğal mikrobiyotasından izole edilen probiyotik bakteriler, sahip oldukları çeşitli olumlu ve tedavi edici özellikleri sebebiyle; ayran, ekşi krema, yoğurt gibi fermente süt ürünleri başta olmak üzere bebek mamaları gibi birçok üründe kullanılmaktadır (Kalkan, 2016). Probiyotiklerin laktoz intoleransı olan bireylerde laktoz sindirimine yardımcı olma, gıda alerjilerinin ve bulaşıcı enfeksiyonların önlenmesi, serum kolesterolünün kontrolü, antikarsinojen etki, bağırsak hastalıkları belirtilerinin hafifletilmesi ve iyileştirilmesi, bağırsak mukozal bariyerinin stabilitesi, bağışıklık sistemine destek gibi özellikleri bulunmaktadır (Snydman, 2008; Ceyhan ve Halime, 2012; Angmo ve ark., 2016; Farnworth, 2016).

Probiyotiklerin fonksiyonel özellikleri *in vitro* yöntemlerle belirlenmeli ve bu çalışmaların sonuçları kontrollü insan çalışmaları kapsamında değerlendirilmelidir. Probiyotik suşlar belirlenirken asit ve safra direnci, immünoestimülasyon, antimutajenik ve antikarsinojenik özellikler, insan epitel hücrelerine ve hücre hattına tutunma, potansiyel patojen mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal aktivite, yüzeylerden patojen adezyonunu azaltabilme özelliği, safra tuzu hidrolaz aktivitesi ve vajinal kullanım için spermisitlere direnç gösterebilme özelliği ve ayrıca üretim ve depolama koşullarında canlı kalabilmeleri gibi özellikleri incelenmektedir (Saarela ve ark., 2000; Evivie ve ark., 2017).

Probiyotiklerin GI sistem içinde canlı kalması, translokasyonu, koloni oluşturma özellikleri ve probiyotik türevi aktif bileşenlerin etkileri hakkındaki bilgiler, probiyotik kullanılmasının muhtemel olumlu ve olumsuz etkilerinin değerlendirilmesi için önemlidir. GI sistemin farklı bölgelerinde farklı probiyotik suşlar kolonize olabilir. Başyigit Kılıç ve ark. (2013) tarafından yapılan çalışmada probiyotik potansiyele sahip *L. plantarum* suşlarının Caco-2 hücre hattı ile yapılan ilk ekimden sonra sayım sonuçları yaklaşık 7 log KOB/ml iken, tutunma denemeleri sonrasında bakterilerin çoğunluğunda 2-3 log KOB/ml'lik düşüş gözlemlenmiştir. Araştırmada kontrol amaçlı kullanılan *L. plantarum* LMG 11405 kodlu suşta

yaklaşık 3 log KOB/ml. *L. plantarum* LMG 23521 kodlu suşta ise yaklaşık 2 log KOB/ml'lik düşüş gözlemlenmiştir. Bu açıdan kullanılan referans kültürler ile deneme kültürleri arasında tutunma özellikleri bakımından önemli bir farklılık gözlenmemiştir. Bazı suşlar midede hızla canlılığını kaybederken, diğerleri bağırsaklardan yüksek oranda geçebilir. Yapılan çalışmalarda probiyotiklerin farmakokinetik özellikleri; entübasyon, perfüzyon ve biyopsi teknikleri kullanılarak *in vivo* incelenmiştir (Marteau ve ark., 1997). Ayrıca probiyotik kullanımına bağlı safra tuzlarının aşırı dekonjügasyonu ve mukolitik etki gibi bazı enzimatik özelliklerin potansiyel zararlı bulguları tespit edilmiştir (Ruseler-van Embden ve ark., 1995). Bu derleme çalışmasının amacı, yeni probiyotiklerin güvenilirliğinin araştırılması amacıyla belirlenen kriterler hakkında bilgi vermek, probiyotiklerin güvenilirliğinin belirlenmesi amacıyla yapılan çalışmalardan örnekler sunmaktır.

Probiyotiklerin Güvenilirliğinin Araştırılması Amacıyla Belirlenen Kriterler

Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA) güvenilirlik değerlendirme rehberine bir türün eklenebilmesi için, fermente edilmiş bir gıda ürünüde sadece belirli bir mikroorganizmanın bulunmasının yeterli olmayacağını, aynı zamanda mikroorganizmanın yararlı olup olmadığına dair bulguların belgelendirilmesi gerektiğini bildirmişlerdir (Bourdichon ve ark., 2012). Laktobasillerin ve gıdalla ilişkili bifidobakterilerin insan tüketimi açısından güvenli olduğu düşünülmektedir. Bu bakterilerin memeli florasında doğal olarak bulunmaları ve dünya çapında çeşitli gıda ve ek ürünlerde güvenli kullanılmaları bu sonuca varılmasına destek olmuştur. Güvenilirlikle ilgili genel sonuçlar her zaman belirli bir türün veya cinsin tüm üyeleri için geçerli değildir. LAB her zaman GRAS (Generally Recognized as Safe) statüsünde kabul edilmemekte, türe veya daha spesifik olarak suşa özgü güvenilirlik analizlerinin yapılması gerekmektedir. EFSA, toplam 35 *Lactobacillus* türünü tüketim için güvenli kabul etmekte ve bu grupta *L. sakei*, *L. curvatus*, *L. plantarum*, *L. fermentum*, *L. brevis*, *L. rhamnosus* ve *L. alimentarius* gibi türler bulunmaktadır (EFSA, 2012).

Probiyotik bakterileri karakterize etmek için, özellikle invazyon ve translokasyonu, toksin üretimi gibi belirli patojenik özelliklerin bulunmadığı ve kan damarlarında canlı kalabilme ve çoğalabilme özellikleri ispatlanmalıdır (Bernardeau ve ark., 2006). Bununla birlikte probiyotikler teorik olarak dört komplikasyondan; 1) sistemik enfeksiyonlar, 2) toksik metabolik komplikasyonlar, 3) hipersensitivitesi olan bireylerde alerjik yanıtlar ve 4) antibiyotik direnci ile ilişkili gen transferlerinden sorumlu olabilirler (Marteau, 2002).

Laktobasil enfeksiyonları, sağlıklı nüfusta, yüzyılı aşkın bir sürede yaklaşık 100.000'de bir kişide görülmüştür ki bu oran oldukça düşüktür (Fraquezza, 2015). Bugüne kadar probiyotik tedavisi sonucunda ortaya çıkan komplikasyonlar; bağışıklık sisteminin baskılanması, çoklu organ yetmezliği, şiddetli akut pankreatit ile ortaya çıkan bozulmuş bağırsak bariyer fonksiyonu ve santral venöz kateter enfeksiyonudur (Sanders ve ark., 2010).

Yapılan çalışmalar probiyotik etkinin suşa özgün olduğunu ortaya koymuştur. Suşların tanımlanması ve sağlık üzerindeki etkilerinin belirlenmesi, taramaların ve epidemiyolojik çalışmaların doğru yapılması önemlidir. Probiyotik olarak incelenecek suşların; antibiyotik direnç modellerinin ve metabolik aktivitelerin belirlenmesi, D-laktat üretimi, safra tuzu dekonjugasyonu gibi yan etkilerinin değerlendirilmesi, bilinen bir memeli toksini üreticisi olan bir türe ait ise, toksin üretimi açısından incelenmesi ve bilinen hemolitik potansiyele sahip bir türe ait ise de, hemolitik aktivitesinin belirlenmesi gerekmektedir (Araya ve ark., 2002). Probiyotik potansiyele sahip olan suşların, bilinen lesitinaz aktivitesi, toksin genleri gibi bazı olası virülans genler ve hareketli genetik elementlerin varlığı açısından farklı ortamlarda gelişiminden sonraki sitotoksik ve sitopatolojik özellikleri hücre hattında belirlenmelidir (Huys ve ark., 2013). Ayrıca, probiyotiklerin güvenilirliğinin değerlendirilmesinde ele alınması gereken diğer faktörler; patojenitesi, immünolojik yan etkilerinin değerlendirilmesi ve metabolik aktivite özelliklerini içermektedir. Probiyotiklerin gıdalarda kullanılabilmesi için; bakterilerin fenotipik ve genotipik yöntemlerle cins, tür ve suş düzeyinde tanımlanması ve uluslararası kabul gören bir kültür koleksiyonuna verilmesi ilk önemli basamaktır. Kültürlerin güvenilirliği önce *in vitro* çalışmalar ve daha sonra hayvan ve insan deneyleri ile belirlenmelidir (Report of a Joint FAO/WHO, 2002).

Donohue ve Salminen (1996) LAB'nin güvenilirliğini belirlemek için yaptıkları *in vitro* araştırmalar ve ayrıca hayvan ve klinik insan çalışmalarında bazı metotlar geliştirmişlerdir ve probiyotik suşlar için gereken güvenlik standartlarını rapor etmişlerdir. Probiyotiklerin güvenilirliğinin değerlendirmesi amacı ile konak ve probiyotik arasındaki etkileşimlerin ve toksikokinetik özelliklerin incelenmesini önermişlerdir. Probiyotiklerin metabolik faaliyetlerle zararlı maddeler üretmemesi gerekir. Bakterilerin konakta, gıda bileşenlerini veya biyolojik salgıları zararlı sekonder maddelere dönüştürüp dönüştürmediği belirlenmelidir. Örneğin bazı bağırsak bakterileri protein ve parçalanma ürünlerinden amonyak, indol, fenol ve aminler üretirler. LAB ve bifidobakterilerin çok zararlı bileşikler ürettikleri bugüne kadar rapor edilmemiş olsa da, amonyak üretim ve tüketim verileri ilginçtir.

Senol ve ark. (2005)'nin sıçanlarda amonyak ile uyarılan mide mukoza lezyonlarının önlenmesinde probiyotik bakteri karışımı ile yapılan ön tedavinin etkisini araştırdıkları çalışmada, mukozal sIgA düzeyi probiyotik grubunda kontrol grubuna göre önemli düzeyde yüksek bulunmuştur. Senol ve ark. (2011) tarafından yapılan başka bir çalışmada ise, sıçanlarda etanolla uyarılan gastritte, probiyotik ön tedavisi mide mukozası sIgA konsantrasyonunu arttırmıştır.

İnsan orjinli bifidobakteri suşunun amonyak üretim ve tüketimine bağlı enzim aktivitesi ölçülmüştür. Diğer bağırsak bakteri florası ile karşılaştırıldığında *Bifidobacterium* spp.'nin amino asitlerden amonyum üretiminde düşük deaminaz aktivitesine fakat yüksek amonyak asimilasyonu aktivitesine sahip olduğu belirlenmiştir. Sekonder safra asitleri vücut salgılarında bakteriyel bağırsak faaliyetleri sonucu oluşan önemli zararlı maddelerdir. Bu maddeler, mukus salgılayan hücreler üzerinde poliferasyonu hızlandırarak karsinojen

etki gösterebilir ya da karsinojeniz promotörler olarak hareket edebilirler (Ishibashi ve Yamazaki, 2001).

Probiyotik suşlar patojenik bakterilere aktarılabilen antibiyotik direnç genlerini barındırabilir. Özellikle, antibiyotik direnci konusunda en çok kaygıya neden olan antibiyotik direnci, vankomisin direncidir (Nami ve ark., 2015). Virülans belirleme araştırmalarında, potansiyel patojenite için belirleyici olan virülans faktörlerinin türü ve kombinasyonları hakkındaki bilgilerin sınırlı olması risk değerlendirmeleri açısından sorun oluşturmaktadır. Koloni oluşturmak, translokasyon, immün cevap, patojenik değişikliklerin indüklenmesi gibi çeşitli enfeksiyon aşamalarında görülen çoklu virülans faktörüne sahip suşlar, tek bir virülans faktörüne sahip suşlardan daha yüksek bir risk taşımaktadır. Vancanneyt (2002), insanlardan, hayvanlardan ve gıdalardan izole edilen *Enterococcus faecium* suşlarının genotiplendirilmesi çalışmasında; bu bakterinin insan klinik izolatlarının hepsinin tanımlanmış bir alt gruba girdiğini ve insan hastalıklarıyla ilişkili suşların genetik temelli olduğunu bulmuşlardır.

Enterokokların zeytin, sosis ve peynir gibi fermente gıdaların duyuşsal özelliklerinin iyileştirilmesinde rol oynadığı bilinmesine rağmen, bazı vakalarda insan enfeksiyonuyla olan ilişkileri nedeniyle güvenilirliği konusunda artan bir endişe vardır (Moreno ve ark., 2006; Brando ve ark., 2010). Bazı enterokok suşlarının antiviral aktivite gösterdiği ve kansere karşı koruyucu etkiler göstererek antibiyotik kaynaklı bağırsak flora dengesini sağlayabildiği yönünde araştırmalar bulunsun da (Thirabunyanon ve Hongwittayakorn, 2013; Wang ve ark., 2013) *Enterococcus* cinsi bakterilerin insan hastalıklarıyla olan bağlantısı probiyotik olarak kullanılmalarında endişe yaratmaktadır (Nami ve ark., 2015). Enterokokların gıdalarda veya probiyotik kültürlerde kullanılması gıda güvenliği konusunda zorunluluğu ortaya koymaktadır. Ancak belirli suşlar fırsatçı patojenler olarak kabul edilse de, sağlıklı insanlarda hastalığa sebep olma ihtimallerinin düşük olduğu düşünülmektedir. Gıda kaynaklı, enterokok suşlarının tekli ya da çoklu virülans faktörlerini bulundurduğu bilinse de, enterokok enfeksiyonlarından kaynaklanan sağlıklı insanların morbiditesi çok düşük gibi görünmektedir. Enterokokların, feromon gibi farklı gen aktarım mekanizmalarına duyarlı plazmidler, konjüгатif ve konjüгатif olmayan plazmidler ve transpozonlara sahip olmalarından ve bu determinantların diğer enterokok suşlarına kolaylıkla aktarılabileceğinden endişe edilmektedir. Bu durum, probiyotik veya başlangıç kültürleri olarak enterokokların olası kullanımı ile ilgili risk oluşturmaktadır (Clewell, 1993). Ancak fizyolojik durum, altta yatan rahatsızlık, immunsupresyon gibi durumlar enterokoklar aracılığı ile bir enfeksiyon oluşmasında kilit rol oynamaktadır ve bu risk altındaki kişilerin bu bakterilerle temasları en aza indirilmelidir (Franz ve ark., 2003). Enterokok suşlarının başlangıç kültürü veya probiyotik olarak kullanılabilmesi için virülans faktörleri bulunmamalı ve klinik tedavide kullanılan antibiyotiklere karşı duyarlı olmalıdır. Bu sebeplerle, enterokokların virülans genlerini ve antibiyotik direnç profilini değerlendirmek oldukça önemlidir. Başyigit Kılıç ve Karahan (2010) tarafından yapılan çalışmada araştırılan enterokok suşlarının tamamının kloramfenikol ve tetrasikline duyarlı olduğu, suşların

%93'ünün penisilin G ve %97'sinin vankomisine duyarlı olduğu tespit edilmiştir. Pillai ve ark. (2002) virülant alt popülasyonlarda *Fsr* lokusunu içeren suşların olduğunu ispatlamıştır. *E. faecium*, *E. faecalis*'e göre kadar az sayıda tanımlanmış virülans faktörlere sahip olduğundan gıdalarda daha düşük bir risk oluşturmaktadır (Franz ve ark., 2003). Carlos ve ark. (2010) enterokoklarda birçok virülans faktörleri ve bunların etkilerini, sitolisinin taşınması ve aktivasyonundan sorumlu olan *cylA*'yı araştırmışlardır. *E. faecalis* QSE123'ün, genomunda çok sayıda virülans belirleyicisinin bulunduğu (*cyMBAI* + *agg* + *efaAfs* +), *E. faecalis* QSE123'ün, patojenik potansiyel gösteren yüksek sayıdaki virülans determinantların (*cyMBAI* + *agg* + *efaAfs* +) bulunmasıyla ilişkili olarak, uygun olmayan gelişme koşullarına rağmen virülans gen ekspresyonunu aktive ettiği belirlenmiştir. Bu çalışma, çevresel koşulların değiştirilmesinin gen ekspresyonu ile enterokokların nasıl etkilendiğinin anlaşılmasına katkıda bulunmaktadır. Ancak yapılan çalışmalar incelendiğinde klinik ve gıda izolatları arasındaki ayrıntılı karşılaştırmalı çalışmaların hala yeterli olmadığı görülmektedir.

Probiyotiklerin Güvenilirliğinin Belirlenmesi Amacıyla Yapılan Çalışmalar

Probiyotiklerin çoğu gıda veya sağlık destekleyici olarak pazarlanmaktadır. Bu nedenle probiyotiklerin güvenilirliği büyük önem taşımaktadır. Probiyotiklerde geleneksel olarak kullanılan mikroorganizmaların güvenilirliği uzun süre boyunca araştırılmıştır. *Lactobacillus*, *Leuconostoc* ve *Pediococcus* suşları insanlık tarihi boyunca gıda işlemede yaygın olarak kullanılmıştır (Borriello ve ark., 2003). Anne sütüyle beslenen bebeklerin bağırsağında baskın bakterileri olarak bulunan bifidobakterilerin, bebek sağlığına faydalı olduğu kabul edilmektedir. Şimdiye kadar bu mikroorganizmaların konakçıya zararlı etkisi nadiren rapor edilmiştir. Bununla birlikte son yıllarda *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Enterococcus* ve *Bifidobacterium* türlerinden birçoğu enfektif lezyonlardan sıkça izole edilmiştir. Gasser (1994)'e göre *L. rhamnosus*, *L. acidophilus*, *L. plantarum*, *L. casei*, *L. paracasei*, *L. salivarius*, *L. lactis* ve *Leuconostoc mesenteroides* bakteriyel endokarditten izole edilen laktobasillerdir. *L. rhamnosus*, *L. plantarum*, *Leuc. mesenteroides*, *Pediococcus acidilactici*, *Bifidobacterium adolescentis* ise kan dolaşımı ve birçok lokal enfeksiyonlardan izole edilmişlerdir (Ishibashi ve Yamazaki, 2001).

Laktobasillerin kapsüllü suşları uzun yıllardır bilinmektedir. Sims (1964), damardan enjeksiyon sonrasında farelerde patojen olan kapsüllü mutant *L. rhamnosus* izole etmiştir. Kapsül veya mukusun fonksiyonel ve yapısal özellikleri bilinmektedir. Bu özellikler laktobasil virülansı ile ilgili değildir. Laktobasillerin ciddi enfeksiyonlara neden olma potansiyelini değerlendirmek için 4-6 yıl boyunca Güney Finlandiya'da laktobasil türlerine bağlı sepsis vakaları incelenmiştir. Kan kültürü izolatlarının incelendiği birinci çalışmada, 3317 kan kültür izolatının 8'inin laktobasil olduğu tespit edilmiş (Saxelin ve ark., 1996a), ikinci çalışmada ise 5192 kan kültür izolatının 12'sinin laktobasil olduğu tespit edilmiştir (Saxelin ve ark., 1996b).

Cooper ve ark. (1998) Ocak 1988 ile Haziran 1996 tarihleri arasında Florida'nın Tampa kentinde bulunan H.

Lee Moffitt Kanser Merkezi ve Araştırma Enstitüsüne kabul edilen, yaş ortalamaları 45,2 yıl olan 13 kadın ve 9 erkek toplam 22 hastayı takip etmişlerdir. Tüm hastaların kanından ve bir kişinin idrarından *L. casei* izole edilmiştir. Bakteriler kanlı agarda ve %5 CO₂ varlığında çikolata agar kullanılarak 35°C'de inkübe edilmiş, tür tanımlama işlemi Vitek tanımlama sistemi (bioMe'rieux Vitek, Hazelwood, MO) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Laktobasil sepsisi, 10 değişik tipte malignitesi bulunan 22 hastada görülmüştür. Olası risk faktörlerinin laktobasil sepsisi için dağılımı; nötropeni, hastaların %91'i (20/22); mukozit ve nötropeni, hastaların %36,4 (8/22) ve vankomisin tedavisi, hastaların %95,5 (21/22) olarak belirlenmiştir. Laktobasil sepsisi oluşmadan önce sıklıkla kullanılan antibiyotikler arasında vankomisin (%95,5), seftazadime (%63,8), tobramisin (%63,8), metronidazol (%59,1), aztreonam (%45,5), asiklovir (%45,5) ve flukonazol (%40,9) yer almaktadır. Asiklovir ve flukonazol ilaçlarının kullanımı hastalarda mevcut olan mukozitin boyutunu yansıtmaktadır.

Laktobasil, bifidobakteriler ve diğer LAB'ye bağlı nadir septisemi ve endokardit gibi lokal/sistemik enfeksiyon vakaları bildirilmiş ancak bu sayının diğer sepsis vakalarına kıyasla çok düşük olduğu tespit edilmiştir (Saxelin ve ark., 1996a; Salminen ve ark., 1998). Kirjavainen ve ark. (1999) laktobasillerin virülans faktörlerini tanımlamak için çalışmışlardır. *In vitro* testlerde, bakterilerin canlılığını devam ettirmesi ve kolonize olması için vasküler yüzeyler tasarlanmıştır. Bu yüzeylerde, trombosit agregasyonu, fibronektine bağlanma, fibrojen ve kollajen, insan glikoproteinini parçalayan enzim üretimi ve insan fibrin pıhtıları sentezi yapılabilmektedir. Test edilen *L. delbrueckii* subsp. *lactis* UO 004, *L. paracasei immunitos*, *L. acidophilus* LA-1 ve HN017 suşları ve *L. rhamnosus* HN001 mukozaya güçlü bağlanma yetenekleri olmasına karşın, suşlardan hiçbiri müsini degrade etmemiştir. Patojenik olmayan *L. plantarum* WCFS1 genlerinin çoğu GI sistemden geçiş sırasında canlılıklarını devam ettirmiştir.

Salminen ve ark. (2002)'nin araştırmalarına göre doğal florada bulunan *L. rhamnosus* GG türü Finlandiya'da 1990'da probiyotik olarak kullanılmaya başlanmıştır. Helsinki Üniversitesi Merkez Hastanesinde ve Finlandiya'da tüm kan kültürlerinin sadece %0,02'sinde laktobasil izole edilmiş ve *L. rhamnosus* GG'nin probiyotik olarak kullanılması sonucunda laktobasil sepsisinde bir artış olmadığı sonucuna varılmıştır. Toplam 66 hastada laktobasil sepsisi için tür düzeyinde tanımlama yapılarak 48 izolatın *Lactobacillus* suşları olduğu doğrulanmıştır. Bu izolatların 26'sının *L. rhamnosus* ve 11'inin *L. rhamnosus* GG suşu ile aynı olduğu belirlenmiştir. Ancak sonuçlar *L. rhamnosus* GG'nin probiyotik olarak kullanımının artmasına karşın, laktobasil sepsisinde bir artışın meydana gelmediğini ortaya koymuştur.

Salminen ve ark. (2004) yaptıkları başka bir çalışmada ise, laktobasil sepsisi açısından 89 hasta için risk faktörlerini ve sonuçlarını incelemişlerdir. Türlerin suşlara karakterizasyonu hastaların %53'ünde yapılarak, 25 adet *L. rhamnosus* suşu ve 22 adet laktobasilin diğer türleri tespit edilmiştir. 11 hastada probiyotik olarak kullanılan *L. rhamnosus* GG suşuna rastlanmıştır. Hastaların %82'si sepsis riskini arttıran bağışıklık sistemi

baskılanmış ve önceden cerrahi müdahaleler görmüş vakalardan oluşmaktadır. Ölüm oranı 1 ayda %26 ve 1 yılda %48 olarak gözlenmiştir. Kan kültürlerinde laktobasil varlığı klinik öneme sahiptir ve laktobasillerin antimikrobiyal duyarlılığının tespit edilmesi tedavi yöntemlerinin belirlenmesinde önemlidir.

Cannon ve ark. (2005) 1950 ve Temmuz 2003 arasında rapor edilen laktobasiller ile ilişkili 241 vakada endokardit, sepsis, lokal enfeksiyon ve diğer enfeksiyon çeşitlerinde bu türler ile ilgili şüpheleri ayrıntılı olarak incelemişler ve tartışmışlardır. Santral venöz kateter enfeksiyonlarında, *L. casei* (%35,7) ve *L. rhamnosus* (%22,9) en çok izole edilen türlerdir. Laktobasiller ile ilişkili beş enfeksiyondan üçü endokardit, biri karaciğer absesi ve biri de idrar yolu enfeksiyonudur. Fazla süt tüketimi ve *L. rhamnosus* GG içeren süt içeceklerinin risk faktörü olabileceği bildirilmiştir. Nadir görülen *Lactobacillus* enfeksiyonlarının çoğunun altında yatan sebep, genellikle bağışıklık sistemi baskılanmış olan hastaların, fırsatçı enfeksiyonlara yakalanma riskinin daha yüksek oranda olması olarak açıklanmıştır (Bernardeau ve ark., 2008).

Probiyotiklerin Sağlıklı ve Hasta Bireylerde Kullanılması

Probiyotiklerin, endokarditte ağız ve diş sağlığında, sindirim sistemi bozukluklarında, ürogenital hastalıkların tedavisinde kullanılmaları her geçen gün artmakta ve probiyotikler ile ilgili çalışmalar hız kazanarak, hastanelerde probiyotiklerin tedaviyi desteklemek amacı ile kullanılmaları yaygınlaşmaktadır. Rautio ve ark. (1999) 74 yaşında insüline bağımlı olmayan diyabetli kadın bir hastada *L. rhamnosus* suşuna bağlı karaciğer absesi tespit etmişlerdir. Karaciğer apsesinin belirgin bir nedeni bulunamamış, hepatik apsenin bir aspiratının *L. rhamnosus*'un varlığını gösterdiği bilgisinin üzerinde durulmuştur. Hasta, semptomlarının meydana gelmesinde 4 ay önce günde yaklaşık 0,5 L *L. rhamnosus* GG suşunu içeren süt tükettiğini belirtmiştir. Farklı *L. rhamnosus* suşları ile kıyaslanan klinik suşun *L. rhamnosus* GG suşundan ayırt edilemediği görülmüştür.

Presterl ve ark. (2001) tarafından yapılan çalışmada her gün 1,5 litre yoğurt ve ekşi süt tüketen 23 yaşında Türk kökenli erkek bir hastada, *L. rhamnosus*'un neden olduğu endokardit ve septik artrit gelişmiştir. Yoğurt tüketimi ve endokardit arasında bir ilişki olduğundan şüphelenilerek patojen izolatlar klinik mikrobiyoloji laboratuvarında rutin olarak kullanılan yöntemlerle tanımlanmış; patojen izolat yoğurt mikroorganizmalarından ayırt edilememiştir.

Kalliomaki ve ark. (2001) bebeklerde dermatitin önlenmesini değerlendirmek için, doğumu izleyen altı aylık dönemde *L. rhamnosus* GG almış bir grup anne ve bebeği izlemişlerdir. Yedi yıllık takip sonunda probiyotik uygulanan bebeklerde atopik dermatit için düşük kümülatif risk, alerjik rinitle ve astım oluşumu için daha ciddi risk bildirilmiştir.

Borriello ve ark. (2003) tarafından literatürde belirtilen 58 endokardit olgusunun incelendiği çalışmada, hastaların %5'inin bir takım diş hastalıkları ve endokardit başlangıcından önce diş tedavisi gördükleri bildirilmiştir. Laktobasillerin β -laktam antibiyotiklere dirençli olabileceğine dair önemli kanıtlar vardır. Bu vakalarda diş tedavisinden önce verilen oral profilaksinin, başarısız olma sebebinin, bu direnç olabileceği bildirilmiştir. 67 yaşında

erkek hastada, probiyotik kapsül içeriğini çiğnediği için diş tedavisini takiben endokardit riskinin arttığı belirlenmiştir. Çeşitli kan kültürlerinden *L. rhamnosus* izole edilerek bir dizi analiz yapılmıştır. Kültür görünümüne, hassaslık modeline ve API50 testinin ve piroliz kütle spektrometrisinin bulgularına dayanarak probiyotik kapsülün kültürlenen organizmalardan birinin kan kültüründen izole edilenlerle aynı olduğu sonucuna varılmıştır. İmmünesupresif olan veya önceden endokardit olan hastaların, *L. rhamnosus* içeren probiyotik preparatları kullanmaması ve buna ilişkin uyarıları dikkate almaları gerektiği vurgulanmıştır. Laktobasil enfeksiyon vakalarının çoğunluğu ağır rahatsızlığı bulunan hastalarda görülmektedir. Bu hastaların çoğu bir yıl içerisinde enfeksiyonun artmasıyla hayatlarını kaybetmişlerdir. Sepsisin, ciddi ya da ölümcül hastalığı bulunan bireylerde belirleyici olduğu belirtilmektedir.

Taylor ve ark. (2007) tarafından yapılan çalışmada *L. acidophilus* LAVRI-A1 yeni doğanlara altı ay uygulanmıştır. Probiyotiklerin atopik dermatitin önlenmesinde hiçbir etkisi olmadığı ama alerjik reaksiyonlara duyarlılıkta bir artış olduğu gözlenmiştir. Prescott ve ark. (2008) tarafından yapılan, Taylor ve ark. (2007)'nin çalışmasının devamı niteliğindeki çalışmada, duyarlılık özellikle birinci yaşta görülmüştür. Üç yıllık takip sonunda alerjik reaksiyonlarda uzun vadeli bir etki görülmemiştir. Kopp ve ark. (2008)'nin yaptığı çalışmada, bebeklerini üç aylık oluncaya kadar emziren annelere doğrudan *L. rhamnosus* GG, anne sütü almayan beş bebeğe ise doğrudan *L. rhamnosus* GG verilmiştir. Bu çalışmada doğrudan *L. rhamnosus* GG alan grupta diğer gruba kıyasla artan hırıltı ve bronşit gözlenmiştir. Cariolato ve ark. (2008) tarafından yapılan bir çalışmada, *E. faecalis*'in süt ve insan kaynaklı izolatlarının virülans faktörleri incelenmiş ve süt kaynaklıların insan kaynaklılarla aynı düzeyde veya bazı izolatlarda daha yüksek düzeyde virülans faktörlere sahip oldukları ortaya konmuştur.

Sanders ve ark. (2010) 296 şiddetli akut pankreatit hastası olan ve semptomların başlangıcından 72 saat sonra başlanarak 28 gün boyunca, 4'ü laktobasil ve 2'si bifidobakteri olmak üzere 6 suşu içeren %30 probiyotik karışımı ve %28 plasebo almaları sağlanan iki ayrı gruptaki bireylerde, enfeksiyon komplikasyonlarının gruplar arasındaki etkisini incelemişlerdir. Probiyotiklerle tedavi, plasebo ile tedavi edilen hastalara kıyasla bakteriyel translokasyonda genel bir azalma sağlamıştır. Ancak, alt grup analizi, organ yetmezliği olan hastalarda bakteriyel translokasyonun probiyotik tedaviden sonra arttığını, probiyotiklerin orta derecede hastalarda faydalı etkileri olduğunu ve kritik hastalarda zararlı etkilerinin olabileceği belirtilmiştir. Hastalarda probiyotik kullanımıyla ilgili en belirgin risk, alınan probiyotik nedeniyle sepsis riskidir. Hollanda Akut Pankreatit Çalışma Grubu tarafından yürütülen çalışmada, probiyotik bakterilerin lümeniden sistemik dolaşıma translokasyonu saptanmamıştır (Besselink ve ark., 2008).

Kanser ve diyabet hastalarında cerrahi müdahale ve transplantasyondan sonra GI mukozada oluşan yapısal bozukluklara laktobasil enfeksiyonlarının sebep olduğu bildirilmiştir. Laktobasil sepsisi, kalp ve akciğer transplant alıcıları arasında zatürre, endokardit ve mediastinit ile ilişkilendirilmiştir. Bu rapor, laktobasil kaynaklı plöritin, akciğer nakli öncesi ve sonrası, patojen olarak önemini ve belirgin morbiditeye neden olma potansiyelini

vurgulamaktadır. Ayrıca, bu vaka organ nakli yapılan alıcılarda, probiyotik kullanımı ile laktobasil kaynaklı enfeksiyonların gelişimi arasında bir bağlantı olma ihtimali endişesi yaratmıştır (Luong ve ark., 2010).

Kochan ve ark. (2011) ise 24 yaşındaki kadın bir hastada, aort kapak değişimi sonrasında karışık probiyotik uygulamasından kaynaklanan sepsis tespit etmişlerdir. Kan kültürlerinden izole edilen *L. rhamnosus* son zamanlarda probiyotik kullananların enfeksiyon sebebi olarak belirtilmiştir. Fransa’da uzun yıllar probiyotik kullanımı sonucunda ortaya çıkan laktobasil enfeksiyonu sıklığının yaklaşık 10 milyon kişide 1 olduğu tahmin edilmektedir (Bernardeau ve ark., 2006). Bazı probiyotiklerin kullanıldığı klinik araştırmalarda HIV enfeksiyonu olan immün sistemi baskılanmış hastalara, prematüre bebeklere, yaşlılara ve Crohn hastalığı bulunan kişiler üzerinde yan etkiler göstererek fırsatçı patojen olabileceğine dair bulgular tespit edilmiştir (Sanders ve ark., 2010).

Sonuç

Probiyotik tedavisi, tedavi sürecinde olan hastaların çoğunda yararlı etkiler göstermelerine rağmen, riskler de barındırmaktadır. Organ yetmezliği, immün yetmezliği ve çeşitli hastalıklara bağlı bağırsak bozuklukları bulunan hastalarda probiyotik kullanımının enfeksiyonlara neden olabileceğine dair bulgular giderek artmaktadır. Özellikle bağırsaklık sistemi zayıf, yaşlı ve çocuk hastalarda gerçekleşebilecek risk faktörlerinin daha fazla olduğu yapılan araştırmalarda ortaya konmuştur. Yapılan çalışmalar genel olarak kabul edilmiş güvenilirlik talimatlarının oluşturulmasının önemini ortaya koymaktadır. Bu nedenle probiyotiklerin güvenilirliği üzerine daha geniş kapsamlı çalışmaların yapılması, bu bilgilerin tüketicilerle paylaşılması son derece önemlidir.

Kaynaklar

- Angmo K, Kumari A, Bhalla TC. 2016. Probiotic characterization of lactic acid bacteria isolated from fermented foods and beverage of Ladakh. *LWT-Food Sci Technol.*, 66: 428-435.
- Araya M, Morelli L, Reid G, Sanders ME, Stanton C, Pineiro M, Ben Embarek P. 2002. Guidelines for the evaluation of probiotics in food. Joint FAO/WHO working group report on drafting guidelines for the evaluation of probiotics in food. London (ON, Canada), April 30 and May 1. [ftp. fao. org/es/esn/food/wgreport2. pdf](http://ftp.fao.org/es/esn/food/wgreport2.pdf)-(pp. 1e11).
- Başıyigit Kılıç G, Karahan AG. 2010. Identification of lactic acid bacteria isolated from the fecal samples of healthy humans and patients with dyspepsia and determination of their pH, bile and antibiotic tolerance properties. *J Mol Microbiol Biotechnol.*, 18: 220-229.
- Başıyigit Kılıç G, Kuleaşan H, Sömer VF, Akpınar D. 2013. Determination of potential probiotic properties of human originated *Lactobacillus plantarum* strains. *Biotechnol Bioprocess Eng.*, 18: 479-485.
- Besselink MG, van Santvoort HC, Buskens E, Boermeester MA, van Goor H, Timmerman HM, Nieuwenhuijs VB, Bollen TL, van Ramshorst B, Witteman BJ, Rosman C, Ploeg RJ, Brink MA, Schaapherder AF, Dejong CH, Wahab PJ, van Laarhoven CJ, van der Harst E, van Eijck CH, Cuesta MA, Akkermans LM, Gooszen HG. 2008. Probiotic prophylaxis in predicted severe acute pancreatitis: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet*, 371: 651-9.
- Bernardeau M, Gueguen M, Vernoux JP. 2006. Beneficial lactobacilli in food and feed: long-term use, biodiversity and proposals for specific and realistic safety assessments. *FEMS Microbiol Rev.*, 30: 487-513.
- Bernardeau M, Vernoux JP, Dubernet SH, Guéguen M. 2008. Safety assessment of dairy microorganisms: The *Lactobacillus* genus. *Int J Food Microbiol.*, 126: 278-285.
- Borriello SP, Hammes WP, Holzapfel W, Marteau P, Schrezenmeier J, Vaara M, Valtonen V. 2003. Safety of probiotics that contain lactobacilli or bifidobacteria. *Clin Infect Dis.*, 36: 775-780.
- Bourdichon F, Casaregola S, Farrokh C, Frisvad JC, Gerds ML, Hammes WP, Harnett J, Huysh G, Laulund S, Ouwehand A, Powel B, Prajapati JB, Seto Y, Schure ET, Boven AV, Vankerckhoven V, Zgoda A, Tuijelaars S, Hansen EB. 2012. Food fermentations: microorganisms with technological beneficial use. *Int J Food Microbiol.*, 154: 87-97.
- Brando A, Almeida T, Atienza EM, Torres C, Igrejas G, Hernández PE, Cintas LM, Poeta P, Herranz C. 2010. Antimicrobial activity and occurrence of bacteriocin structural genes in *Enterococcus* spp. of human and animal origin isolated in Portugal. *Arch Microbiol.*, 192: 927-936.
- Cannon JP, Lee TA, Bolanos, JT, Danziger LH. 2005. Pathogenic relevance of *Lactobacillus*: a retrospective review of over 200 cases. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.*, 24: 31-40.
- Cariolato D, Andrighetto C, Lombardi A. 2008. Occurrence of virulence factors and antibiotic resistances in *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* collected from dairy and human samples in North Italy. *Food Control.*, 19: 886-892.
- Carlos A, Semedo-Lemsaddek T, Barreto-Crespo M, Tenreiro R. 2010. Transcriptional analysis of virulence-related genes in enterococci from distinct origins. *J Appl Microbiol.*, 108: 1563-1575.
- Ceyhan N, Halime I.Ç. 2012. Bağırsak mikroflorası ve probiyotikler. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 1: 107-113.
- Clewell DB. 1993. Bacterial sex pheromone-induced plasmid transfer. *Cell.*, 73: 9-12.
- Cooper C, Vincent A, Greene J, Sandin R, Cobian L. 1998. *Lactobacillus bacteremia* in febrile neutropenic patients in a cancer hospital. *Clin Infect Dis.*, 26: 1247-8.
- Donohue DC, Salminen S. 1996. Safety of probiotic bacteria. *Asia Pac J Clin Nutr.*, 5: 25-8.
- EFSA. 2012. Scientific opinion on the maintenance of the list of QPS biological agents intentionally added to food and feed. *EFSA J.*, 10:3020.
- Eviie SE, Huo GC, Igene JO, Bian X. 2017. Some current applications, limitations and future perspectives of lactic acid bacteria as probiotics. *Food Nutr Res.*, 61(1): 1318034.
- Farnworth ER. 2016. Probiotics and prebiotics. In *Handbook of nutraceuticals and functional foods* (pp. 338-355). CRC Press.
- Franz C, Stiles M, Schleifer K, Holzapfel W. 2003. Enterococci in foods a conundrum for food safety. *Int J Food Microbiol.*, 88: 105-122.
- Fraqueza MJ. 2015. Antibiotic resistance of lactic acid bacteria isolated from dry-fermented sausages. *Int J Food Microbiol.*, 212: 76-88.
- Gasser F. 1994. Safety of lactic acid bacteria and their occurrence in human clinical infections. *Bull Inst Pasteur.*, 92: 45-67.
- Gülgör G, Özçelik F. 2014. Bakteriyosin üreten laktik asit bakterilerinin probiyotik amaçlı kullanımı. *Akademik Gıda*, 12(1): 63-68.
- Huys G, Botteldoorn N, Delvigne F, De Vuyst L, Heyndrickx M, Pot B, Dubois JJ, Daube G. 2013. Microbial characterization of probiotics-Advisory report of the Working Group “8651 Probiotics” of the Belgian Superior Health Council (SHC). *Mol. Nutr. Food Res.*, 57(8), 1479-1504.
- Ishibashi N, Yamazaki S. 2001. Probiotics and safety. *Am J Clin Nutr.*, 73: 465-70.
- Joint, FAO. 2002. WHO working group report on drafting guidelines for the evaluation of probiotics in food. London, Ontario, Canada, 30.
- Kalkan S. 2016. Probiyotik laktik asit bakterilerinin *Staphylococcus aureus*'a karşı antimikrobiyel etkilerinin farklı matematiksel modeller ile analizi. *Sinop Ü Fen Bil Derg.*, 1(2): 150-159.

- Kalliomaki M, Salminen S, Arvilommi H, Kero P, Koskinen P, Isolauri E. 2001. Probiotics in primary prevention of atopic disease: a randomised placebo controlled trial. *Lancet.*, 357: 1076-9.
- Kirjavainen PV, Tuomola EM, Crittenden RG, Ouwehand AC, Harty DWS, Morris LF, Rautelin H, Playne MJ, Donohue DC, Salminen SJ. 1999. *In vitro* adhesion and platelet aggregation properties of bacteremia-associated lactobacilli. *Infect Immun.*, 67: 2653-2655.
- Kochan P, Chmielarczyk A, Szymaniak L, Brykczynski M, Galant K, Zych A, Pakosz K, Kalemba SG, Lenouve E, Heczko PB. 2011. *Lactobacillus rhamnosus* administration causes sepsis in a cardiac surgical patient—is the time right to revise probiotic safety guidelines. *ESCMID.*, 17: 1587–1592.
- Kopp MV, Henneinuth I, Heinzmann A, Urbanek R. 2008. Randomized, double-blind, placebo-controlled trial of probiotics for primary prevention: no clinical effects of *Lactobacillus* GG supplementation. *Pediatrics.*, 121(4): 850-856.
- LeBlanc JG, Lain JE, del Valle MJ, Vannini V, Sinderen D, Taranto MP, Valdez GF, Savoy GG, Sesma F. 2011. B Group vitamin production by lactic acid bacteria—current knowledge and potential applications. *Appl Microbiol.*, 111(6): 1297-1309.
- Luong ML, Sareyyupoglu B, Nguyen MH, Silveira FP, Shields RK, Potoski BA, Toyoda Y. 2010. *Lactobacillus* probiotic use in cardiothoracic transplant recipients: a link to invasive *Lactobacillus* infection. *Transpl Infect Dis*, 12(6): 561-564.
- Marteau P, Vaerman JP, Dehennin JP, Bord S, Brassart D, Pochart P, Desjeux JF, Rambaud JC. 1997. Effects of intrajejunal perfusion and chronic ingestion of *Lactobacillus johnsonii* strain La1 on serum concentrations and jejunal secretions of immunoglobulins and serum proteins in healthy humans. *Gastroenterol Clin Biol.*, 21: 293-298.
- Marteau PR. 2002. Probiotics in clinical conditions. *Clin Rev Allergy Immunol.*, 22(3): 255-73.
- Moreno MF, Sarantinopoulos P, Tsakalidou E, De Vuyst L. 2006. The role and application of enterococci in food and health. *Int J Food Microbiol.*, 106: 1–24.
- Nami Y, Haghshenas B, Haghshenas M, Khosroushah AY. 2015. Antimicrobial activity and the presence of virulence factors and bacteriocin structural genes in *Enterococcus faecium* CM33 isolated from ewe colostrum. *Front Microbiol.*, 6: 782.
- Pillai SK, Sakoulas G, Gold HS, Wennersten C, Eliopoulos GM, Moellering RC, Inouye RT. 2002. Prevalence of the *fsr* locus in *Enterococcus faecalis* infections. *J Clin Microbiol.*, 40: 2651-2652.
- Prescott SL, Wiltschut J, Taylor A, Westcott L, Jung W, Currie H, Dunstan JA. 2008. Early markers of allergic disease in a primary prevention study using probiotics: 2.5-year follow-up phase. *Allergy.*, 63(11), 1481-1490.
- Presterl E, Kneifel W, Mayer HK, Zehetgruber M, Makristathis A, Graninger W. 2001. Endocarditis by *Lactobacillus rhamnosus* due to yogurt ingestion. *Scand J Infect Dis.*, 33(9): 710-714.
- Rautio M, Jousimies-Somer H, Kauma H, Pietarinen I, Saxelin M, Tynkkynen S, Koskela M. 1999. Liver abscess due to a *Lactobacillus rhamnosus* strain indistinguishable from *L. rhamnosus* strain GG. *Clin Infect Dis.*, 28: 1159–1160.
- Ruiz Rodríguez L, Bleckwedel J, Ortiz ME, Pescuma M, Mozzi F. 2017. Lactic acid bacteria. *Int Biotech Microbiol.*, 1: 395-451.
- Ruseler-van Embden JGH, Van Lieshout LMC, Gosselink MJ, Marteau P. 1995. Inability of *Lactobacillus casei* strain GG, *L. acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* to degrade intestinal mucus glycoproteins. *Scand J Gastroenterol.*, 30(7): 675-680.
- Saarela M, Mogensen G, Fonden R, Matto J, Sandholm TM. 2000. Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties. *J Biotech.*, 84: 197-215.
- Salminen S, Marteau P. 1997. Safety of probiotic lactic acid bacteria and other probiotics. *Lactic (Proceedings)*. Adria Normandie Caen., 97: 71–2.
- Salminen S, Wright A, Morelli L, Marteau P, Brassart D, de Vos WM, Fonden R, Saxelin M, Collins K, Mogensen G, Birkeland ST, Sandholm TM. 1998. Demonstration of safety of probiotics — a review. *Int J Food Microbiol.*, 44: 93–106.
- Salminen MK, Tynkkynen S, Rautelin H, Saxelin M, Vaara M, Ruutu P, Sarna S, Valtonen V, Asko J. 2002. *Lactobacillus bacteremia* during a rapid increase in probiotic use of *Lactobacillus rhamnosus* GG in Finland. *Clin Infect Dis.*, 35: 1155-60.
- Salminen MK, Rautelin H, Tynkkynen S, Poussa T, Saxelin M, Valtonen V, Jarvinen A. 2004. *Lactobacillus bacteremia*, clinical significance, and patient outcome, with special focus on probiotic *L. rhamnosus* GG. *Clin Infect Dis.*, 38(1): 62-69.
- Sanders ME, Akkermans LMA, Haller D, Hammerman C, Heimbach JT, Hörmannspurger G, Huys G. 2010. Safety assessment of probiotics for human use. *Gut microbes.*, 1(3): 164-185.
- Saxelin M, Chuang NH, Chassy B, Rautelin H, Makela PH, Salminen S, Gorbach SL. 1996a. Lactobacilli and bacteremia in Southern Finland, 1989–1992. *Clin Infect Dis.*, 22: 564–566.
- Saxelin M, Rautelin H, Salminen S, Makela PH. 1996b. Safety of commercial products with viable *Lactobacillus* strains. *Inf Dis Clin Pract.*, 5: 331–335.
- Sims W. 1964. A pathogenic lactobacillus. *J Path Bact.*, 87-99.
- Senol A., Isler M, Karahan AG, Kilic GB, Kuleasan H, Kaya S, Keskin M, Goren İ, Saritas U, Aridogan CB, Delibas N. 2011. Preventive effect of probiotics and alpha-tocopherol on the ethanol-induced gastric mucosal injury in rats. *J Med Food.*, 14(1-2): 173-179.
- Snydman DR. 2008. The safety of probiotics. *Clin Infect Dis*, 46(Supplement_2), S104-S111.
- Şenol A, İşler M, Karahan AG, Gören İ, Sarıtaş Ü, Kiriş M, Akdeniz Y, Kaya S, Başıyigit G, Aktürk O, Cicioğlu-Aridoğan B, Delibaş N, Çakmakçı ML. 2005. Probiyotiklerin sıçanlarda amonyak ile uyarılan mide mukoza lezyonlarına koruyucu etkisi. 22. Ulusal Gastroenteroloji Haftası, 30 Ağustos-4 Eylül; Malatya.
- Taylor AL, Dunstan JA, Prescott SL. 2007. Probiotic supplementation for the first 6 months of life fails to reduce the risk of atopic dermatitis and increases the risk of allergen sensitization in high-risk children: a random-ized controlled trial. *J Allergy Clin Immunol.*, 119: 184-91.
- Thirabunyanon M, Hongwittayakorn P. 2013. Potential probiotic lactic acid bacteria of human origin induce antiproliferation of colon cancer cells via synergic actions in adhesion to cancer cells and short-chain fatty acid bioproduction. *Appl Biochem Biotechnol.*, 169: 511–525.
- Todorov SD, Stojanovski S, Iliev I, Moncheva P, Nero LA, Ivanova IV. 2017. Technology and safety assessment for lactic acid bacteria isolated from traditional Bulgarian fermented meat product “lukanka”. *Brazilian J Microbiol.*, 48(3): 576-586.
- Wang Z, Chai W, Burwinkel M, Twardziok S, Wrede P, Palissa C, Esch B, Schmidt MFG. 2013. Inhibitory influence of *Enterococcus faecium* on the propagation of swine influenza A virus *in vitro*. *PLoS one.*, 8(1): 53043.
- Vancanneyt M, Lombardi A, Andrighetto C, Knijff E, Torriani S, Bjorkroth KJ, Franz CMAP, Moreno MRF, Revets H, De Vuyst L, Swings J, Kersters K, Dellaglio F, Holzapfel WH. 2002. Intraspecies genomic groups in *Enterococcus faecium* and their correlation with origin and pathogenicity. *Appl Environ Microbiol.*, 68: 1381-1391.