

**Bazı Probiyotik Laktik Asit Bakterilerinin *Escherichia coli* O157:H7 üzerine İnhibisyon Etkisi**

Elçin Taş\*, Zerrin Erginkaya

Çukurova Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü, Adana  
\*yenielcin80@hotmail.com

**Özet**

Bu çalışmada Probiyotik özellikteki *Lactobacillus acidophilus* NCC68, *Lactobacillus rhamnosus* (Ezal, Ticari), *Lactobacillus casei* Shirota suşlarının *E. coli* O157:H7 ATCC 35150 üzerine antibakteriyel etkileri araştırılmıştır. Antibakteriyel etkinin belirlenmesi için agar kuyu difüzyon yöntemi kullanılmıştır. Test edilen tüm probiyotik laktik asit bakterileri *E. coli* O157:H7 üzerine antibakteriyel etki göstermiştir. En etkili laktik asit bakteri suşu *Lactobacillus casei* ve *Lactobacillus acidophilus* olarak belirlenmiş, *Lactobacillus rhamnosus* ise zayıf etkili olmuştur. Karışık kültürlerde (*E. coli* O157:H7 ve Probiyotik laktik asit bakteri hücreleri ve süpernatantları), *E. coli* O157:H7 canlı hücre sayısında 24 saatlik inkübasyon sonunda azalma görülürken, kontrolde hücre sayısında herhangi bir azalma gözlenmemiştir.

**Anahtar kelimeler:** Laktik Asit Bakterileri, *E. coli* O157:H7, İnhibitör etki

**Giriş**

Mikroorganizmaların neden olduğu gıda kaynaklı hastalıklar büyük önem taşımakta ve gıda güvenliği açısından problem oluşturmaya devam etmektedir. Gıda kaynaklı hastalıkların son 10-20 yıldır artan bir şekilde devam ettiği görülmektedir (1).

*Escherichia coli* O157:H7 son yıllarda en tehlikeli gıda patojenleri arasında yer almaktadır. *Escherichia coli* O157:H7 'nin önemli bir gıda kaynaklı patojen bakteri olarak tanımlanması ilk kez 1982 yılında Amerika Birleşik Devletleri ve Kanada' da aynı zincire bağlı fast food restoranlarında yeterince pişirilmemiş hamburgerlerin yenmesi sonucu ortaya çıkan iki ishal salgını sonunda gerçekleşmiştir (2). Dünya çapındaki infeksiyonların çok büyük bir bölümü başta yetersiz pişirilmiş et ve pastörize edilmemiş süt olmak üzere sığır kıyması, beefburger, roastbeef, sandviç, çiğ süt, yoğurt, çiğ süttten üretilen peynir, mayonez, elma suyu gibi gıda maddelerinden kaynaklanmıştır (3). Patojenlerin inhibisyonunda kullanılan ısı işlem uygulaması, katkı maddelerinin kullanımı gibi klasik yöntemlerin yanı sıra doğal besin maddelerine dönüşün hızla yaygınlaştığı günümüzde biyolojik dayandırma yönteminin önemi her geçen gün artmaktadır. Bu amaçla kullanılan bio-koruyucular arasında probiotik özellikteki laktik asit bakterileri ve ürettiği metabolitleri de kullanım alanı bulmaktadır

laktik asit bakterileri gıdanın bozulmasına neden olan mikroorganizmalar ve insanlarda hastalıklara neden olan patojen mikroorganizmalar üzerinde ürettikleri organik asitler, hidrojen peroksit, laktoperoksidaz, diasetil ve bakteriyosinler gibi maddeler nedeniyle antagonistik etkiye sahiptir. Bu nedenle, bu mikroorganizmaların kullanılarak üretildiği gıdalar insan sağlığı açısından güvenilir gıdalar olarak kabul edilmektedirler (4,5).

Yapılacak olan bu çalışmada probiotik özelliğe sahip bazı laktik asit bakterilerinin (*Lactobacillus acidophilus* NCC68, *Lactobacillus casei* YAKULT Shirota, *Lactobacillus rhamnosus*) gıda patojeni olarak bilinen *Escherichia coli* O157:H7 üzerine antibakteriyel etkileri araştırılarak, gıda güvenliği açısından değerlendirilmesi amaçlanmaktadır.

### **Materyal ve Yöntem**

#### **Bakteri kültürleri**

Araştırmada patojen bakteri kültürü *E. coli* O157:H7 ATCC 35150 ve laktik asit bakteri kültürleri olarak *Lactobacillus acidophilus* NCC68, *Lactobacillus casei* YAKULT Shirota, *Lactobacillus rhamnosus* Çukurova Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü Mikrobiyoloji Laboratuvarından temin edilmiştir.

#### **LAB suşlarının Antibakteriyel Etkilerinin Belirlenmesi**

MRS Broth' ta çoğaltılan laktik asit kültürleri 5000devir/d 10 dakika santrüfuj edilerek elde edilen süpernatant 0.22µm'lik membran filtrede süzümüştür (6). Hücreler ise 1 ml steril saf su ile sulandırılmıştır.

#### **Agar Kuyu Difüzyon Yöntemi**

Agar Kuyu Difüzyon yöntemi ile LAB hücre süspansiyonu ve süpernatantın antimikrobiyel etkilerinin belirlenmesinde; patojen bakteri süspansiyonlarının her birinden bir petriye 1'er ml dökme ekim yöntemiyle ekim yapılarak, daha sonra katılaştıran besiyerinin belirli yerlerinde 3mm çapında kuyucuklar açılmıştır, bu kuyucuklara 100µl süpernatant ve 100µl hücre süspansiyonu ilave edilerek zon oluşumu değerlendirilmiştir (7).

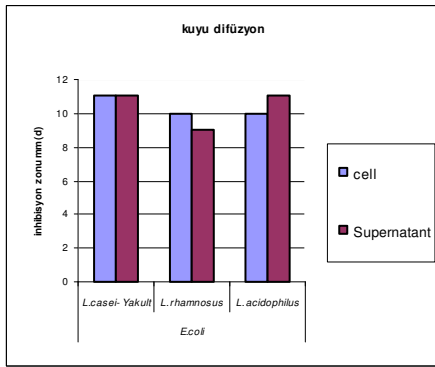
#### **Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu**

İn vitro ortamda yaklaşık olarak  $10^7$  hücre/ml patojen bakteri 9ml BHI Broth'a ekilerek 1ml laktik asit bakteri hücre süspansiyonu ve süpernatantı ilave edilmiştir. 37°C'de 24 saat inkübasyon süresi sonunda peptonlu suda uygun dilisyon yapılarak yayma ekim yapılmıştır. 37°C'de 24 saatlik inkübasyondan sonra koloni sayımı gerçekleştirilmiştir (Modified Nieto-Lozano ve ark, 2002).

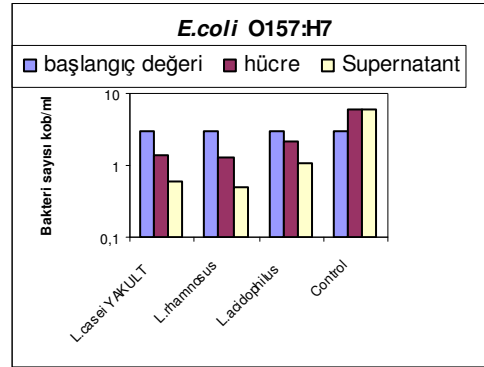
### **Bulgular ve Tartışma**

Laktik asit bakterilerinin *E. coli* O157:H7 üzerine antibakteriyel etkilerini belirlemek için kuyu difüzyon yöntemi kullanılmıştır. Kullanılan tüm laktik asit bakteri suşları *E. coli* O157:H7 üzerine antibakteriyel etki göstermiştir. En etkili LAB suşları sırasıyla *L. casei* ve *L. acidophilus* (11mm zon çapıyla) bulunmuştur

(Şekil 1). Kültürel sayım yönteminde ise *E.coli* O157:H7 kontrolde  $2,9 \times 10^8$  kob/ml iken 24 saatlik inkübasyondan sonra canlı hücre sayısında artış gözlenmiştir ( $6,1 \times 10^8$  kob/ml). *L. rhamnosus* hücre ve süpernatantı inoküle edildiğinde ise canlı hücre sayısında azalma görülmüştür ( $1,29 \times 10^8$  kob/ml). En etkili suşlar sırasıyla *L. rhamnosus*, *L. casei* ve *L. acidophilus*' tur (Şekil 2).



Şekil.1: *E.coli* O157:H7 inhibisyon zonları (mm)



Şekil 2:LAB hücre ve süpernatantlarının *E. coli* O157:H7 canlı hücre sayısı üzerine etkileri

LAB suşlarının gösterdiği antibakteriyel etki birçok faktöre bağlı olabilir. Bu faktörler; pH' nın azalması, substrat rekabeti, bakteriyosinler gibi üretilen metabolik maddeler olabilir. Kullanılan tüm lakitik asit bakteri suşları *E. coli* O157:H7 üzerine antibakteriyel etki göstermiştir. *L. rhamnosus* ve *L. casei* 'nin *E. coli* üzerine inhibisyon etkisinin belirlendiği çalışmalarda da benzer sonuçlar elde edilmiştir (8,9,10). İbrahim ve ark.,(2003), *Bifidobacterium longum* NCFB 2259'un *E. coli* O157:H7 üzerine güçlü inhibitör etki gösterdiğini rapor etmişlerdir (11).

Agar kuyu difüzyon yönteminde en etkili suş *L. casei* iken minimum inhibisyon konsantrasyonunda ise en etkili suş *L. rhamnosus* bulunmuştur.

Antibakteriyel etkiye sahip olduklarını bilinen probiyotiklerin bu etkileri asetik asit ve laktik asit üretimine bağlı olarak pH' nın azalmasından (12), laktik asit bakterilerinin ürettiği hidrojen peroksit ve bakteriyosin gibi metabolitlerden kaynaklanmış olabilir(13).

## Sonuç

Yapılan bu çalışma ile probiyotik özelliğe sahip LAB kültürlerinin gıdalarda oldukça sık karşılaşılan bazı patojenlerin üzerine inhibisyon etkileri in vitro olarak belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar doğrultusunda bundan sonraki çalışmanın et ve et ürünlerinde denenmesi amaçlanmaktadır. Araştırmanın devamında, antibakteriyel etkisi saptanan probiyotik kültürler, et ve et ürünleri katkısı olarak kullanılan

baharatlar ile birlikte kullanılarak duyarlı patojenler üzerine antibakteriyel etkileri invitro koşullarda araştırılacaktır

### **Teşekkür**

Bu çalışma ZF2007YL33 nolu BAP tarafından desteklenmektedir. Ayrıca *E.coli* 0157:H7 ATCC 35150 temin edilmesinde yardımcı olan Erzurum Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü Prof. Dr. Mukerrem Kaya'ya teşekkür ederiz.

### **Kaynaklar**

1. Anonymous. 2006a., <http://www.zmo.org.tr/etkinlikler/6tk05/051nihatakin>
2. Öz F, Kaya M, Aksu Mİ. 2002. Sucuk üretiminde farklı nitrit dozlarının ve starter kültür kullanımının *Escherichia coli* O157:H7 'nin gelişimi üzerine etkisi. Türk J Vet. Anim. Sci., 26, 651-657.
3. Halkman AK, Noveir MR, Doğan HB. 2001. *Escherichia coli* O157:H7 serotipi. Sim Matbaacılık Ltd. Şti., ANKARA
4. Hayaloğlu AA, Erginkaya Z. 2001. Gıda endüstrisinde kullanılan laktik asit bakterileri. Gıda Teknolojileri Derneği Yayın No:23
5. Vescovo M, Torriani S, Orsi C, Macchiarolo F, Scolari G. 1997. Application of antimicrobial-producing lactic acid bacteria to control pathogens in ready-to-use vegetables. Journal of Applied Bacteriology, 81, 113-119.
6. Nieto-Lozano JC, Raguera-Useros JI, Pelaez-Martinez MC, De La Torre AH. 2002. Bacteriocinogenic activity from starter cultures used in Spanish meat industry. Meat Science, 62, 237-243
7. Bonade A, Murelli F, Vescovo M, Scolari G. 2001. Partial characterization of a bacteriocin produced by *Lactobacillus helveticus*. Letters in Applied Microbiol., 33, 153-158.
8. Sameshima T, Magome C, Takeshita K, Arihara K, Itoh M, Kondo Y. 1998. Effect of intestinal lactobacillus starter cultures on the behaviour of *Staphylococcus aureus* in fermented sausages. Int. Journal of Food Microbiol., 41,1-7.
9. Çon AH, Gökalp HY. 2000. Production of bacteriocin-like metabolites by lactic acid cultures isolated from sucuk samples. Meat Science, 55, 89-96.
10. Chuayana JREL, Ponce CV, Rivera MRB, Cabrera EC. 2003. Antimicrobial activity of probiotics from milk products. Phil. J. Microbiol. Dis., 32(2); 71-74.
11. Ibrahim SA, Dharmavaram S., Se, .., Shahbaz, G. 2003. Antimicrobial activity of *Bifidobacterium longum* (NCFB 2259) as influenced by spices. Internet J. Food Safety. 2, 6-8.
12. Bezkorovain, A, 2001. Probiotics: Determinants of survival and growth in the gut. Am J Clin. Nutr.,73,399-405.
13. Wolfso, D. 1999. A probiotics primer. Nutrition Science News. At <http://www.Healthwellexchange.com/nutritionsciencenews/nsnbacks/Jun99/natremedies.cfm>.