

Fermente sütte inülin ve *Lactobacillus acidophilus* La-5'in *Escherichia coli* O157, *Staphylococcus aureus* ve *Enterococcus faecalis* üzerindeki antimikrobiyal etkileri

Bahar Onaran Acar^{1*}, Nazlı Kanca², Rabia Albayrak Delialioğlu³

¹ Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı, Türkiye

² Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Süt Teknolojisi Anabilim Dalı, Türkiye

³ Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Zootekni Bölümü, Biyometri ve Genetik Anabilim Dalı, Türkiye

Geliş Tarihi / Received: 27.08.2024, Kabul Tarihi / Accepted: 16.01.2025

Özet: Mikroorganizmalarda antimikrobiyal direncini azaltmak için kullanılan yöntemlerden biri probiyotik ve prebiyotiklerin kullanımıdır. Bu çalışma, yaygın olarak gıda kaynaklı enfeksiyonlara neden olan patojen mikroorganizmalar ile probiyotikler ve prebiyotikler arasındaki etkileşimin fermente süt özelinde araştırılmasını amaçlamıştır. Bu bağlamda çalışmada *Lactobacillus acidophilus* La-5 ve inülin kullanılmıştır. Çalışmada değerlendirilen patojen mikroorganizmalar, sıklıkla gıda kaynaklı enfeksiyonlarla ilişkilendirilen *Escherichia coli* O157:H7, *Enterococcus faecalis* ve Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* suşlarıdır. Çalışmada elde edilen sonuçlar, fermentasyon sırasında tüm numune gruplarında 3., 6. ve 9. saatlerdeki *S. aureus* sayılarındaki artışın, *E. coli* O157:H7 ve *E. faecalis* artışına göre istatistik olarak daha düşük olduğunu göstermiştir. Probiyotik eklenen grupların ortalama değerleri incelendiğinde, inkübasyon süresi sonunda titrasyon asitliği değerlerinin istatistik olarak arttığı ve aynı saatte tüm patojen grupları için titrasyon asitlikleri arasında anlamlı farklılıklar olduğu görülmektedir. Çalışma sonuçları, probiyotikler ve inülin eklenmesinin, çalışmada değerlendirilen patojenlere karşı istatistiksel olarak anlamlı bir inhibisyon etkisi sağlamadığını göstermektedir.

Anahtar kelimeler: Metisiline dirençli *S. aureus*, Probiyotik, Prebiyotik, Vankomisine dirençli Enterokok

Antimicrobial effects of inulin and *Lactobacillus acidophilus* La-5 on *Escherichia coli* O157, *Staphylococcus aureus* and *Enterococcus faecalis* in fermented milk

Abstract: One of the methods used to reduce antimicrobial resistance in microorganisms is the use of probiotics and prebiotics. This study aimed to investigate the interaction between pathogenic microorganisms that commonly cause foodborne infections and probiotics and prebiotics, specifically in fermented milk. In this context, *L. acidophilus* La-5 and inulin were used in the study. Pathogenic microorganisms evaluated in the study were *Escherichia coli* O157:H7, *Enterococcus faecalis* and Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains, which are frequently associated with foodborne infections. The results obtained in the study showed that the increase in *S. aureus* counts at the 3rd, 6th and 9th hours of fermentation was statistically lower than the increase in *E. coli* O157:H7 and *E. faecalis* in all sample groups. When the average values of the probiotic added groups were examined, it was seen that the titratable acidity values increased statistically at the end of the incubation period and there were significant differences between the titratable acidities for all pathogen groups at the same fermentation time. The study results show that the addition of probiotics and inulin does not provide a statistically significant inhibitory effect against the pathogens evaluated in the study.

Key words: Methicillin-resistant *S. aureus*, Probiotic, Prebiotic, Vancomycin-resistant enterococcus

Giriş

Gıda kaynaklı enfeksiyonlar dünya çapında halk sağlığı tehdidi oluşturmaya devam etmektedir. Dünya Sağlık Örgütü'ne (WHO) göre, her yıl dünya nüfusunun yaklaşık %10'u kontamine gıda tüketimi nedeniyle hastalanmakta ve bu enfeksiyonlar yılda yaklaşık 420000 ölümle sonuçlanmaktadır (Anonim, 2022). Bu kapsamda gıdaların patojen mikroorganizmalarla kontaminasyonunun önlenmesi ve

kontamine gıdaların tüketilmesi durumunda tüketici sağlığı üzerindeki olumsuz etkilerin en aza indirilmesi günümüzde büyük önem taşımaktadır. Öte yandan gıda kaynaklı enfeksiyonlara neden olan patojenlerin antimikrobiyal direnci, insan sağlığına yönelik en büyük risklerden biri olarak kabul edilmekte ve mevcut tedavi seçeneklerini sınırlandırmaktadır (Helmy ve ark. 2023).

Özellikle *Escherichia coli* O157:H7 gibi gıda kaynaklı patojenlerin, mevcut tedavi yöntemlerine karşı geliştirdiği direnç, antibiyotik seçeneklerini kısıtlamakta ve bu patojenle mücadelede yeni yaklaşımların önemini artırmaktadır (Singha ve ark., 2023). Amerika Birleşik Devletleri'nde her yıl 97000 *E. coli* O157 enfeksiyonu vakası görülmekte ve bu durum 3270 hastaneye yatış ve 30 ölümle sonuçlanmaktadır (Anonim, 2024). Ek olarak, *Staphylococcus aureus* ve *Enterococcus faecalis* gibi diğer patojenler de gıda kaynaklı hastalıklara neden olmakta ve antibiyotik direnci kazanmaları nedeniyle halk sağlığını tehdit eden ciddi birer risk olarak öne çıkmaktadır (Anonim, 2019). Metisilin dirençli *S. aureus* (MRSA) suşları, yalnızca Amerika Birleşik Devletleri'nde yılda 323700 vakaya ve 10600 ölüme neden olan önemli bir halk sağlığı tehdidi olarak kabul edilirken, Vankomisine dirençli enterokok (VRE) izolatları ise yılda 54500 vaka ve 5400 ölüme yol açmaktadır (Anonim, 2019). Hem MRSA hem de VRE, Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezleri (CDC) tarafından hazırlanan en son antibiyotik direnci tehdidi raporunda 'ciddi tehlikeler' olarak listelenmiştir (Anonim, 2019). Bu nedenle gıdalara *S. aureus* ve *E. faecalis* izolatlarının bulaşmasını önlemeye yönelik çabalar hayati önem taşımaktadır.

Mikroorganizmalarda antimikrobiyal direnci ve etkilerini azaltmak için kullanılan yöntemlerden biri, bağırsak mikrobiyotasını doğrudan etkileyen ve insan sağlığına birçok olumlu etkisi olduğu tespit edilen probiyotik ve prebiyotiklerin kullanımıdır. Hem probiyotiklerin (Hill ve ark. 2014) hem de prebiyotiklerin (Gibson ve ark. 2017) tanımları, Uluslararası Probiyotikler ve Prebiyotikler Bilimsel Birliği (ISAPP) tarafından yayınlanan paneller aracılığıyla oluşturulmuştur. Probiyotik ve prebiyotiklerin tüketici sağlığı üzerindeki faydalı etkilerinin yanı sıra gıdalardaki patojenlerin yok edilmesinde ve dolayısıyla gıda güvenliğinin sağlanmasında da etkili rol oynadığı bildirilmektedir (Nyathi ve ark. 2024). Gıda kaynaklı patojen mikroorganizmalarla probiyotikler ve prebiyotikler arasındaki bağlantılara dair yapılan çalışmalar, ileride bunların rutin klinik uygulamada tedavi veya enfeksiyon önleme aracı olarak kullanım sıklığında artış sağlayacağı izlenimi yaratmaktadır (Urrutia-Baca ve ark. 2024).

Dünya genelinde, özellikle de fermente süt ürünlerinin küresel olarak büyük gıda pazarlarından biri haline geldiği Avrupa'da, prebiyotik ve probiyotiklere yönelik talepte önemli bir artış olduğu bildirilmektedir (Guarner ve ark. 2024). Fermente süt ürünlerinin, yalnızca sütün temel besin değerini artırmakla kalmayıp, aynı zamanda çeşitli sağlık

yararları sunan zengin bir probiyotik mikroorganizma kaynağı olduğu bilinmektedir (Urrutia-Baca ve ark. 2024).

Lactobacillus acidophilus ile zenginleştirilmiş sütün, bağışıklık sistemini destekleyen bir ürün olmasının yanı sıra anti-hiperkolesterolemik, anti-inflamatuar veya kemopreventif özelliklere sahip olduğu ve aynı zamanda laktoz intoleransının tedavisinde de etkili olduğu belirtilmektedir (Frag ve ark. 2020). Prebiyotikler ise probiyotik bakterilerin büyümesini teşvik etmek, daha kısa fermentasyon süreleri ile depolama sırasında canlı hücre sayısını artırmak, besin değerini zenginleştirmek ve duyuşsal özellikleri geliştirmek için kullanılmaktadır (Li ve ark. 2016). Sık kullanılan bir prebiyotik olan inülin, bitkilerden elde edilen doğal bir polisakkarit olup, Birleşmiş Milletler Gıda ve İlaç İdaresi (United States Food and Drug Administration) onaylıdır. İnülin, biyolojik olarak parçalanabilirliği, güvenliği ve maliyet etkinliği nedeniyle, sindirim sistemi sağlığını destekleyen önemli bir bileşen olarak kabul edilmektedir (Ghali ve ark. 2024). Yapılan çalışmalar, probiyotiklerin tek başına veya inülin ile birlikte kullanıldığında antibakteriyel etki sağladığını göstermiştir (Huang ve ark. 2015; Menezes ve ark. 2023).

Bu çalışma, yaygın olarak gıda kaynaklı enfeksiyonlara neden olan patojen mikroorganizmalar ile probiyotikler ve prebiyotikler arasındaki etkileşimin fermente süt içeceği özelinde araştırılmasını amaçlamıştır. Bu bağlamda, gıda tedarikinde yaygın olarak kullanılan probiyotiklerden biri olan *L. acidophilus* La-5 (Liu ve ark. 2024) ve probiyotiklerin gelişimini teşvik edebilmek amacıyla kullanılan inülin (Walsh ve ark. 2023) çalışmaya dahil edilmiştir. Çalışmada değerlendirilen patojen mikroorganizmalar ise *E. coli* O157:H7, *E. faecalis* ve MRSA izolatlarıdır.

Gereç ve Yöntem

Bakteri kültürleri

Çalışmada Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı'ndan elde edilen patojen bakteri izolatları (*E. coli* O157:H7 ATCC 43895, *E. faecalis* ATCC 29212, *S. aureus* ATCC 43300) kültürleri kullanılmıştır.

Probiyotik kültürün ve prebiyotığın hazırlanması

Çalışmada, *Lactobacillus acidophilus* La-5 (Chr. Hansen, Hørsholm, Danimarka) DVS kültürü, %10'luk (w/w) rekonstitüe süt içerisinde 37°C'de 24 saat boyunca aktive edilerek kullanılmıştır. Rekonstitüe süt hazırlığında %95 kurumadde içeren yağsız süttozu (Bakkalbaşıoğlu Süt Ürünleri San. ve Tic. A.Ş., Niğde,

Türkiye) kullanılmıştır. Hazırlanan *Lactobacillus acidophilus* La-5 bulk kültüründen 2.5 ml alınarak 400 ml'lik sültere ilave edilmiştir. Ayrıca, Beneo™ (Orafti Active Food Ingredients, Oreye, Belçika) firmasından sağlanan inülin %1 oranında kullanılmış ve her bir 400 ml örnek grubuna 4 gram inülin eklenmiştir.

Patojen inokulasyonlarının hazırlanması

E. coli O157:H7, enterokok ve stafilokok bakteri kültürleri, Brain Heart Infusion Broth'ta (BHI, Oxoid CM1135B) 37°C'de 18 saat boyunca canlandırılmıştır. İnkübasyonun ardından kültürlerin absorban-sı ND-1000 Nanodrop Spektrofotometre (Thermo Scientific 2353-30-0010) ile 600 nm dalga boyunda ölçülerek belirlenmiş ve 0.100 ile 0.300 arasındaki değerler 9 log kob/mL olarak kabul edilerek çalışmada kullanılmıştır (Onaran Acar ve Gülendağ, 2023).

Hazırlanan rekonstitüe süt, her biri 400 ml olacak şekilde 9 gruba ayrılmıştır. Son üründe 5 log kob/ml'lik nihai bakteri kültürü konsantrasyonuna ulaşmak amacıyla, öncelikle bakteri kültürleri Tamponlu Peptonlu Su (BPW, Oxoid CM0509) ile seyreltilerek 8 log kob/ml içeren bakteriyel dilüsyon elde edilmiş, daha sonra her süt örneğine bu dilüsyondan 2.5 ml eklenmiştir. Çalışma iki tekerrürlü olarak yürütülmüş olup, hazırlanan fermente süt örneklerinin içerikleri Tablo 1'de gösterilmiştir.

Tablo 1. Örneklerin patojen mikroorganizma, probiyotik ve prebiyotik içerikleri

Patojen mikroorganizma	<i>L. acidophilus</i> La-5	İnülin
<i>E. coli</i> O157:H7	-	-
<i>E. coli</i> O157:H7	+	-
<i>E. coli</i> O157:H7	+	+
<i>E. faecalis</i>	-	-
<i>E. faecalis</i>	+	-
<i>E. faecalis</i>	+	+
<i>S. aureus</i>	-	-
<i>S. aureus</i>	+	-
<i>S. aureus</i>	+	+

(+):Var, (-):Yok

pH analizi

Süt örneklerinin pH değerleri Hanna HI 2221 pH/ORP Meter (Woonsocket, RI/USA) marka pH-metre ile ölçülmüştür.

Titrasyon asitliği analizi

Örneklerin titrasyon asitliği değerleri titrasyon yöntemi ile belirlenmiş ve sonuçlar % laktik asit

cinsinden ifade edilmiştir (Sadler, 2017). Ürünlerin fermentasyonu süresince (~4,6 pH değerine ulaşılıncaya kadar), 0, 3, 6 ve 9. saatlerde titrasyon asitliği analizi değerleri ile mikrobiyolojik analizler gerçekleştirilmiştir.

Mikrobiyolojik analizler

Örneklerin mikrobiyolojik analizi için, öncelikle içerisinde 9 ml Ringer (Merck, Darmstadt, Almanya) çözeltilisi bulunan tüplerde dilüsyon serileri hazırlanmış ve seçilen dilüsyonlardan ilgili besiyerlerine yüzeye yayma yöntemi ile iki paralel olacak şekilde ekim yapılmıştır. *E. coli* sayımı için Violet Red Bile Glucose Agar (VRBG, Thermo Scientific CM1082), *E. faecalis* sayımı için Slanetz ve Bartley Agar (SB, Merck 105289), *S. aureus* sayımı için Baird-Parker Agar (BP, Thermo Scientific CM0275) ve *L. acidophilus* La-5 sayımı için Man Rogosa Sharpe Agar (MRS, Thermo Scientific CM1153) kullanılmıştır. Patojen bakteriler için ekim yapılan petriler aerobik koşullarda, *L. acidophilus* La-5 için ekim yapılan petriler ise anaerobik koşullarda 37°C'de 24-48 saat süresince inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda besiyerleri üzerinde gelişen kolonilerin sayımları yapılmış ve paralel ekimlerinin ortalamaları alınarak sonuçlar log kob/ml olarak hesaplanmıştır.

Ürünlerin fermentasyonu süresince, 0., 3., 6. ve 9. saatlerde titrasyon asitliği analizi ile birlikte mikrobiyolojik analizler de yapılmıştır. Bulgular ve ilgili bölümlerde *Escherichia coli* O157:H7 (EC), *Enterococcus faecalis* (EF), Metisilin dirençli *Staphylococcus aureus* (SA) olarak ifade edilmiştir.

İstatistiksel analizler

Üzerinde çalışılan özellikler bakımından elde edilen veriler faktöriyel düzende tekrarlanan ölçümlü varyans analizi tekniği (repeated measures ANOVA) ile değerlendirilmiştir (Gürbüz ve ark. 2003). Deneme iki tekerrürlü olarak yürütülmüş olup tekrarlanan ölçümler Fermentasyon süresi faktörünün seviyelerinde gerçekleştirilmiştir. İstatistik analizler IBM SPSS Statistics 23 paket programında yapılmış ve farklı ortalamaların belirlenmesinde Duncan testi kullanılmıştır.

Bulgular

Probiyotik ilave edilen fermente süt gruplarındaki *L. acidophilus* La-5 sayıları bakımından elde edilen tanıttıcı istatistikler Tablo 2'de verilmiştir. Bu özellik bakımından yapılan varyans analizi sonucunda sadece fermentasyon süresi faktörünün seviyelerinin ortalamaları arasındaki farklar istatistik olarak önemli

bulunmuş olup ($p < 0.05$) farklı sürelerin belirlenmesine yönelik yapılan Duncan testi sonuçları ortalamalarının yanında verilmiştir. Tablo 2 incelendiğinde patojen türü veya inülin varlığının *L. acidophilus* La-5

sayısına istatistik olarak önemli bir etkisi olmadığı ve fermantasyon süresinin ilerlemesiyle birlikte tüm örneklerde *L. acidophilus* La-5 sayısının arttığı gözlenmiştir ($p < 0.05$).

Tablo 2. Probiyotik içeren fermente sütlerde *L. acidophilus* La-5 sayıları (log kob/ml)

Patojen	İnülin	Fermantasyon süresi (saat)			
		0	3	6	9
EC	+	6.39 ± 0.090	6.74 ± 0.040	7.96 ± 0.100	8.62 ± 0.160
	-	6.37 ± 0.110	6.71 ± 0.010	7.95 ± 0.035	8.44 ± 0.095
EF	+	6.62 ± 0.080	6.86 ± 0.145	7.96 ± 0.155	8.51 ± 0.345
	-	6.53 ± 0.075	6.69 ± 0.090	7.87 ± 0.140	8.35 ± 0.295
SA	+	6.38 ± 0.020	6.88 ± 0.155	7.99 ± 0.140	8.60 ± 0.285
	-	6.40 ± 0.080	6.73 ± 0.030	7.93 ± 0.120	8.48 ± 0.240
Ort ± SH		6.45 ± 0.037 ^d	6.77 ± 0.036 ^c	7.94 ± 0.038 ^b	8.50 ± 0.081 ^a

EC: *Escherichia coli* O157:H7; EF: *Enterococcus faecalis*; SA: Methicillin-resistent *Staphylococcus aureus*; (+):Var, (-):Yok
Küçük harfler her bir patojen grubunda fermantasyon sürelerinin ortalamalarının karşılaştırılmasında kullanılmıştır.

Probiyotik içermeyen örneklerde patojen mikroorganizma sayısında patojen türü, inülin varlığı/ yokluğu ve fermantasyon süresince meydana gelen değişimler Tablo 3'te verilmiştir. Yapılan varyans analizi sonuçlarına göre patojen sayısı bakımından sadece patojen türü ve fermantasyon süresi faktörleri arasındaki interaksiyon istatistik olarak anlamlı

bulunmuştur ($p < 0.05$). Bu durum, *L. acidophilus* La-5 sayıları bakımından patojen türlerinin ortalamaları arasındaki farkların fermantasyon sürelerine göre, fermantasyon sürelerinin ortalamaları arasındaki farkların ise patojen türlerine göre değiştiğini göstermektedir.

Tablo 3. Probiyotik içermeyen fermente sütlerde patojen sayıları (log kob/ml)

Patojen	İnülin	Fermantasyon süresi (saat)			
		0	3	6	9
EC	+	5.93 ± 0.020	6.20 ± 0.070	7.77 ± 0.120	8.40 ± 0.095
	-	5.80 ± 0.115	6.26 ± 0.065	7.75 ± 0.125	8.39 ± 0.130
	Ort ± SH	5.86 ± 0.062 ^{Ad}	6.23 ± 0.042 ^{Ac}	7.76 ± 0.071 ^{Ab}	8.39 ± 0.066 ^{Aa}
EF	+	5.82 ± 0.100	6.32 ± 0.070	7.54 ± 0.215	8.62 ± 0.130
	-	5.82 ± 0.025	6.31 ± 0.160	7.49 ± 0.280	8.60 ± 0.125
	Ort ± SH	5.82 ± 0.042 ^{Ad}	6.32 ± 0.071 ^{Ac}	7.51 ± 0.145 ^{Ab}	8.61 ± 0.074 ^{Aa}
SA	+	5.68 ± 0.070	5.85 ± 0.055	6.57 ± 0.085	7.47 ± 0.055
	-	5.69 ± 0.035	5.82 ± 0.040	6.65 ± 0.140	7.54 ± 0.060
	Ort ± SH	5.68 ± 0.032 ^{Ac}	5.83 ± 0.029 ^{Bc}	6.61 ± 0.071 ^{Bb}	7.50 ± 0.040 ^{Ba}

EC: *Escherichia coli* O157:H7; EF: *Enterococcus faecalis*; SA: Methicillin-resistent *Staphylococcus aureus*; (+):Var, (-):Yok

Büyük harfler her bir fermantasyon süresinde patojen türlerinin ortalamalarının karşılaştırılmasında küçük harfler ise her bir patojen türünde fermantasyon sürelerinin ortalamalarının karşılaştırılmasında kullanılmıştır.

Örneklerde *L. acidophilus* La-5 varlığı veya yokluğunda patojen mikroorganizma sayısında fermantasyon süresi boyunca meydana gelen değişiklikler Tablo 4'te verilmiştir. Yapılan varyans analizi sonuçları denemede sadece patojen türü faktörü ile fermantasyon süresi faktörleri arasındaki etkileşimin istatistik olarak önemli olduğunu ($p < 0.05$), diğer terimlerin ise önemli bulunmadığını ($p > 0.05$)

göstermiştir. Bu etkileşim, patojen sayısına etki bakımından fermantasyon sürelerinin ortalamaları arasındaki farkların patojen türlerine göre değişkenlik gösterdiğini, benzer şekilde patojen sayısı yoğunluğu bakımından patojen türlerinin ortalamaları arasındaki farkların fermantasyon süresi boyunca aynı kalmayıp değiştiğini işaret etmektedir.

Tablo 4. İnülin içermeyen fermente içeceklerde patojen sayıları (log kob/ml)

Patojen	Probiyotik	Fermentasyon süresi (saat)			
		0	3	6	9
EC	+	5.80 ± 0.115	6.26 ± 0.065	7.75 ± 0.125	8.39 ± 0.130
	-	5.89 ± 0.095	6.30 ± 0.085	7.76 ± 0.065	8.40 ± 0.170
	Ort ± SH	5.84 ± 0.066 ^{Ad}	6.28 ± 0.045 ^{Ac}	7.75 ± 0.058 ^{Ab}	8.40 ± 0.087 ^{Aa}
EF	+	5.82 ± 0.025	6.31 ± 0.160	7.49 ± 0.280	8.60 ± 0.125
	-	5.81 ± 0.050	6.22 ± 0.110	7.51 ± 0.215	8.77 ± 0.215
	Ort ± SH	5.81 ± 0.023 ^{Ad}	6.27 ± 0.083 ^{Ac}	7.50 ± 0.144 ^{Ab}	8.68 ± 0.113 ^{Aa}
SA	+	5.69 ± 0.035	5.82 ± 0.040	6.65 ± 0.140	7.54 ± 0.060
	-	5.71 ± 0.070	5.99 ± 0.030	6.88 ± 0.070	7.86 ± 0.045
	Ort ± SH	5.70 ± 0.033 ^{Ac}	5.91 ± 0.053 ^{Bc}	6.77 ± 0.092 ^{Bb}	7.70 ± 0.096 ^{Ba}

EC: *Escherichia coli* O157:H7; EF: *Enterococcus faecalis*; SA: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*; (+):Var, (-):Yok

Büyük harfler her bir fermentasyon süresinde Patojenlerin ortalamalarının karşılaştırılmasında küçük harfler ise her bir patojen grubunda fermentasyon sürelerinin ortalamalarının karşılaştırılmasında kullanılmıştır.

Probiyotik varlığından bağımsız olarak, inülin eklenen ve eklenmeyen numunelerin inkübasyon süresi boyunca titre edilebilir asitlik düzeyleri Tablo 5 'te verilmiştir. Yapılan istatistik analizler, fermente süt örnekleri arasında titre edilebilir asitlik açısından sadece fermentasyon süresi ile patojen türü arasındaki interaksyonun önemli olup ($p < 0.05$) diğer etkilerin ise önemli olmadığını ($p > 0.05$) göstermiştir. Fermentasyon süresine göre patojen türlerinin titre edilebilir asitlik değerlerinin ortalamalarındaki

değişim ve yine patojen türlerinin her birinde fermentasyon sürelerinin titre edilebilir asitlik bakımından ortalamalarındaki değişimi gösteren Duncan testi sonuçları ortalamaların yanında verilmiştir. Tablo incelendiğinde patojenlerin titre edilebilir asitlik bakımından ortalamaları 0., 3. ve 6. saatlerde aynı olmasına rağmen 9. saatte EC ve EF patojenlerinde SA'ya nazaran titre edilebilir asitlik değerinde istatistik olarak önemli bir düşüş gözlenmiştir.

Tablo 5. Probiyotik içeren fermente sütlerin titrasyon asitliği değerleri (%LA)

Patojen	İnülin	Fermentasyon süresi (saat)			
		0	3	6	9
EC	+	0.18 ± 0.010	0.35 ± 0.010	0.51 ± 0.010	0.83 ± 0.015
	-	0.18 ± 0.005	0.36 ± 0.010	0.51 ± 0.015	0.84 ± 0.010
	Ort ± SH	0.18 ± 0.005 ^{Ad}	0.36 ± 0.006 ^{Ac}	0.51 ± 0.008 ^{Ab}	0.83 ± 0.009 ^{Ba}
EF	+	0.19 ± 0.005	0.36 ± 0.010	0.49 ± 0.025	0.82 ± 0.015
	-	0.19 ± 0.005	0.36 ± 0.005	0.49 ± 0.015	0.82 ± 0.025
	Ort ± SH	0.19 ± 0.003 ^{Ad}	0.36 ± 0.005 ^{Ac}	0.49 ± 0.012 ^{Ab}	0.82 ± 0.012 ^{Ba}
SA	+	0.18 ± 0.005	0.37 ± 0.015	0.50 ± 0.030	0.91 ± 0.010
	-	0.18 ± 0.010	0.37 ± 0.005	0.49 ± 0.030	0.89 ± 0.015
	Ort ± SH	0.18 ± 0.005 ^{Ad}	0.37 ± 0.006 ^{Ac}	0.50 ± 0.018 ^{Ab}	0.90 ± 0.010 ^{Aa}

EC: *Escherichia coli* O157:H7; EF: *Enterococcus faecalis*; SA: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*; (+):Var, (-):Yok

Büyük harfler her bir fermentasyon süresinde Patojenlerin ortalamalarının karşılaştırılmasında küçük harfler ise her bir patojen grubunda fermentasyon sürelerinin ortalamalarının karşılaştırılmasında kullanılmıştır.

Diğer yandan, *L. acidophilus* La-5 eklenen ve eklenmeyen numunelerde fermentasyon süreci boyunca kaydedilen titrasyon asitliği değerleri Tablo 6'de verilmiştir. Burada ise fermentasyon süresi

faktörünün hem probiyotik faktörü ile hem de patojen türü ile ikili interaksyonları interaksyonu istatistik olarak önemli bulunmuştur ($p < 0.05$).

Tablo 6. İnülin içermeyen fermente sütlerin titrasyon asitliği değerleri (%LA)

Fermantasyon süresi (saat)	Probiyotik	EC	EF	SA	Ort ± SH
0	+	0.18 ± 0.005	0.19 ± 0.005	0.18 ± 0.010	0.18 ± 0.004 ^{Da}
	-	0.18 ± 0.005	0.18 ± 0.005	0.18 ± 0.005	0.18 ± 0.002 ^{Da}
	Ort ± SH	0.18 ± 0.003^{Da}	0.18 ± 0.023^{Da}	0.18 ± 0.005^{Da}	
3	+	0.36 ± 0.010	0.36 ± 0.005	0.37 ± 0.005	0.36 ± 0.004 ^{Ca}
	-	0.37 ± 0.005	0.35 ± 0.005	0.37 ± 0.010	0.36 ± 0.006 ^{Ca}
	Ort ± SH	0.36 ± 0.005^{Ca}	0.35 ± 0.083^{Ca}	0.37 ± 0.005^{Ca}	
6	+	0.51 ± 0.015	0.49 ± 0.015	0.49 ± 0.030	0.49 ± 0.010 ^{Ba}
	-	0.50 ± 0.010	0.48 ± 0.010	0.48 ± 0.025	0.49 ± 0.009 ^{Ba}
	Ort ± SH	0.50 ± 0.008^{Ba}	0.48 ± 0.144^{Ba}	0.48 ± 0.017^{Ba}	
9	+	0.84 ± 0.010	0.82 ± 0.025	0.89 ± 0.015	0.85 ± 0.015 ^{Aa}
	-	0.82 ± 0.005	0.75 ± 0.020	0.87 ± 0.015	0.81 ± 0.022 ^{Ab}
	Ort ± SH	0.83 ± 0.009^{Ab}	0.78 ± 0.023^{Ac}	0.88 ± 0.010^{Aa}	

EC: *Escherichia coli* O157:H7; EF: *Enterococcus faecalis*; SA: Methicillin-resistent *Staphylococcus aureus*; (+):Var, (-):Yok

Ürünlerde fermentasyon süresi ve probiyotik varlığı (var/yok) interaksyonuna ilişkin alt grup ortalamaları en sağdaki sütunda verilmiştir. Burada aynı probiyotik seviyesinde farklı fermentasyon süreleri büyük, aynı fermentasyon süresinde farklı patojen ilaveleri ise küçük harfle verilmiştir.

Fermantasyon süresi ile Patojen türü alt gruplarına ilişkin ortalamalar koyu renkle gösterilmiş olup fermentasyon sürelerinde Patojenlerin ortalamalarının karşılaştırılmasında büyük, her bir patojen türünde fermentasyon sürelerinin ortalamalarının karşılaştırılmasında küçük harfler kullanılmıştır.

Tablo 6 incelendiğinde, ilk 6 saat boyunca titre edilebilir asitlik bakımından patojen türlerinin ortalamaları arasında fark yokken 9. saatte patojen türlerinin titre edilebilir asitlik bakımından ortalamaları arasında EF<EC<SA şeklinde bir ilişki gözlenmiştir ($p<0.05$).

Tartışma ve Sonuç

Çalışmada inülin varlığının veya yokluğunun, fermentasyon süresi boyunca *L. acidophilus* La-5 ve seçilen patojen mikroorganizmalar üzerindeki etkileri incelenmiştir. Çalışmanın bulguları, kullanılan inülin miktarının *L. acidophilus* La-5 gelişimi üzerinde anlamlı bir etki göstermediğini; ancak farklı doz ve koşullarda yapılacak çalışmaların potansiyel faydaları ortaya koyabileceğini düşündürmektedir. İnülin varlığı veya yokluğunun fermentasyon süresi boyunca tüm numune gruplarında *L. acidophilus* La-5 sayılarındaki artışı etkilememesinin (Tablo 2) birkaç nedeninin olabileceği düşünülmektedir. *L. acidophilus*, inülin dışında da çeşitli karbonhidrat kaynaklarını kullanarak gelişimini sürdürebilmektedir. Dolayısıyla sütte doğal olarak bulunan laktoz ve diğer besin maddeleri, bu bakterinin gelişimi için yeterli olabilmektedir. Benzer şekilde, Oliveira ve ark. (2011) tarafından gerçekleştirilen çalışmada, yağsız fermente sütte inülin ilavesinin, depolamanın 1. ve 7. günlerinde *L. acidophilus* sayısına herhangi bir

etkisinin olmadığı bildirilmiştir. Bedani ve ark. (2013) tarafından yapılan bir çalışmada ise, *L. acidophilus* ve *B. animalis* ilavesiyle üretilen fermente soya sütünde, inülin ilavesinin depolama süresi boyunca probiyotik bakteri sayısı üzerinde bir etkisi olmadığı belirtilmiştir. Dolayısıyla, inülinin *L. acidophilus* üzerinde spesifik bir büyüme etkisi yaratmadığını ve gelişimi üzerinde sınırlı bir rol oynadığını söylemek mümkündür.

Probiyotiklerin farklı türleri, inülin gibi prebiyotiklerin varlığına farklı tepkiler verebilmektedir. Nitekim Varga ve ark. (2006), fermente süte %1 ile %5 arasında ilave edilen inülinin, *Streptococcus thermophilus* CHCC 742/2130 ve *L. acidophilus* La-5 sayısını etkilemediğini, ancak %5 oranındaki inülinin *Bifidobacterium lactis* Bb-12 sayısını önemli ölçüde artırdığını bildirmiştir. İnülin ile birlikte *S. thermophilus* TA040 (St)'ın, *L. rhamnosus* LBA (Lr) ve *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* BL 04 (Bl) probiyotik mikroorganizmaları ile kombinasyonlarının değerlendirildiği bir başka çalışmada (Oliveira ve ark. 2009) ise, 24 saatlik fermentasyon süresi sonunda St-Bl ve St-Lr sayıları arasında istatistik olarak anlamlı bir fark olmadığı, ancak 7 günlük depolama süresi sonunda belirgin bir farklılığın ortaya çıktığı bildirilmiştir. Probiyotik suşların farklı tepkilerini belirlemek amacıyla farklı çalışmaların gerçekleştirilmesi ile, inülin ve benzeri prebiyotiklerin farklı ürünlerde

nasıl kullanılması gerektiğinin daha net belirlenebileceği düşünülmektedir.

İnkübasyonun başlangıcında mikroorganizma yoğunluğuna bağlı olarak patojenler baskılanamamış, dolayısıyla fermentasyon süresi boyunca patojen mikroorganizmalar üremeye devam etmiştir. Tablo 3 ve 4'te görüldüğü üzere, patojen mikroorganizma sayılarında fermentasyon süresi boyunca bir artış olduğu tespit edilmiştir. Bu durumun, patojenlerin ortam asitliğine dayanıklı olması ile de ilişkili olduğu düşünülmektedir. Çalışmada, inülin ve probiyotik ilaveli ve ilavesiz tüm numune gruplarında 3., 6. ve 9. saatlerde SA sayılarındaki artış, EC ve EF'deki artışa göre istatistiksel olarak daha düşük bulunmuştur. Dolayısıyla; SA'nın metabolik ihtiyaçları ve atık ürünlerinin, çalışmada kullanılan EC ve EF suşlarına kıyasla inülinle daha az uyum sağlayabildiğini; ayrıca EC ve EF suşlarının SA'ya göre daha rekabetçi olabileceğini ve sınırlı besin kaynaklarını daha etkili bir şekilde kullanabileceğini belirtmek mümkündür (Balasubramanian ve ark. 2017). Bu çalışmadan farklı olarak, ilave edilen inülin ve probiyotik bakterilerin, patojenler üzerine inhibe edici etkisinin olduğunu gösteren çalışmalar da mevcuttur. Örneğin, Iraporda ve ark. (2022), *Lactiplantibacillus plantarum* CIDCA 8327 ve *Lactocaseibacillus paracasei* BGP1 suşları ile birlikte inülin kullanarak soya bazlı fermente içecek üretimi gerçekleştirmiş ve inülin ile probiyotik ilavesinin *E. coli*, *Salmonella* spp. ve *S. aureus* üzerinde önemli derecede inhibisyon etkisi gösterdiğini bildirmiştir. Çalışmalarda elde edilen sonuçların değişken olmasını, ürün farklılığının yanı sıra, inülin ile mikroorganizmaların konsantrasyonu ve farklı suşların kullanımı ile ilişkilendirmek mümkündür. Ayrıca, Iraporda ve ark. (2022) tarafından kullanılan bakterilerin referans suş olmamasının da farklı sonuç elde edilmesinde etkili olduğu düşünülmektedir. Nitekim, her patojen bakteri kendi içerisinde farklı etkiler gösterebilmekle birlikte, bizim çalışmamızda kullanılan referans suşlar genellikle daha dirençli kabul edilmektedir. Öte yandan söz konusu çalışmada, inülinin fermentasyon sonlandırıldıktan sonra ürüne ilave edilmesinin de patojen inhibisyonu açısından ortaya çıkan farklılığın sebeplerinden biri olduğu düşünülmektedir. Nitekim, yine Iraporda ve ark. (2022) tarafından, inülinin fermentasyon işleminden sonra ilave edilmesiyle birlikte hidrolizin önlenmesi ve polimerizasyon derecesinin ve dolayısıyla potansiyel prebiyotik aktivitenin korunduğu, böylece probiyotiklerin hayatta kalma oranının arttığı belirtilmiştir.

Çalışma kapsamında seçilen patojen mikroorganizmalar, asit toleranslarının yüksek olması nedeniyle, probiyotik mikroorganizmanın yarattığı laktik

asit kaynaklı asitlik artışına direnç göstermiş ve fermentasyon süresi boyunca üremeye devam etmişlerdir (Nakajo ve ark. 2006; Ma ve ark. 2019; Donkor ve ark. 2023). Titrasyon asitliği değerleri incelendiğinde, tüm gruplar içerisinde SA'da, EC ve EF'ye göre 9. saatte daha fazla bir artış olduğu tespit edilmiştir (Tablo 5; Tablo 6, $P < 0,05$). *S. aureus*'un daha az üremesine rağmen titrasyon asitliği değerlerinin daha yüksek olmasının; *S. aureus*'un, diğer patojenlerden daha yüksek oranda asit üreten metabolik yolları aktive etmesi; suş spesifik olarak besin maddelerini daha verimli bir şekilde fermente ederek daha fazla asit üretmesinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir (Balasubramanian ve ark. 2017). Diğer yandan, çalışmada kullanılan *L. acidophilus*'un, *S. aureus* üzerine etkili bir bakteriyosin üretimi yapmış olabileceği ve *L. acidophilus*'un ortamda baskın hale gelmesiyle asitliğin daha fazla artmış olabileceği de göz önünde bulundurulmalıdır (Charlier ve ark. 2009).

Probiyotik ilave edilen grupların ortalama değerleri incelendiğinde, inkübasyon süresi sonunda (9. saatte) titrasyon asitliği değerlerinin istatistik olarak önemli düzeyde arttığı ve aynı saatte tüm patojen grupları için titrasyon asitlikleri arasında anlamlı farklılıklar olduğu görülmektedir (Tablo 8). Bu durum, probiyotiklerin fermentasyon süresince metabolik aktivitelerinin artırmasından kaynaklanmaktadır. *L. acidophilus* varlığı 0, 3 ve 6. saatlerde asitliği değiştirmemiş, ancak 9. saatte beklediği gibi belirgin bir artışa neden olmuş ve bu saatte fermentasyon tamamlanmıştır. Bu durum, *L. acidophilus*'un, esas olarak fermentasyonun sonlarına doğru asitlik artışı sağlamasından kaynaklanmaktadır. Nitekim, Solval ve ark. (2019) tarafından gerçekleştirilen çalışmada da, farklı besiyeri ortamlarındaki gelişimi incelenen *L. acidophilus*'un, fermentasyonun 8. saatinden sonra daha fazla asitlik artışı sağladığı belirlenmiştir.

Bu çalışma, kullanılan probiyotik ve patojen mikroorganizmaların, inülin varlığında veya yokluğundaki etkileşimlerinin incelendiği bildiğimiz kadarıyla ilk çalışmadır. Fermente sütte kullanılan *L. acidophilus* La-5, gıda kaynaklı enfeksiyonlara neden olan *E. coli* O157:H7, *E. faecalis* ve MRSA izolatları üzerinde etkili bir inhibisyon sağlayamamıştır. Ayrıca bu durumun inülin varlığında da değişmediği tespit edilmiştir. Çalışma sonuçları dikkate alındığında, fermente süte ilave edilen inülinin ve *L. acidophilus* La-5 suşunun daha yüksek konsantrasyonlarının, incelenen patojen mikroorganizmalar üzerinde daha etkili olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca farklı gıdalarda farklı sonuçlar elde edilebileceği ihtimali de göz önünde bulundurulmalıdır.

Deney hayvanları kullanımı etik kurulu ve diğer etik kurul kararları ve izinler: Hayvan kullanımı olmaması nedeniyle etik kurul kararı yoktur.

Maddi destek ve çıkar ilişkisi: Çalışmayı maddi olarak destekleyen kişi/kuruluş yoktur ve yazarların herhangi bir çıkara dayalı ilişkisi yoktur.

Kaynaklar

- Anonim. (2019) Centers for Disease Control and Prevention. Antibiotic resistance threats in the United States, Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services. Erişim adresi: <https://www.cdc.gov/drugresistance/biggest-threats.html>, Erişim tarihi: 10.07.2024
- Anonim. (2022) World Health Organization. Food safety. Key facts. Erişim adresi: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/food-safety>, Erişim tarihi: 10.07.2024
- Anonim. (2024) Centers for Disease Control and Prevention. *E. coli* Infection (*Escherichia coli*). Technical Information. Erişim adresi: <https://www.cdc.gov/ecoli/php/technical-info/index.html>, Erişim tarihi: 05.11.2024
- Balasubramanian D, Harper L, Shopsis B, Torres VJ. (2017) *Staphylococcus aureus* pathogenesis in diverse host environments. *Pathog Dis*. 75(1), ftx005. doi: 10.1093/femspd/ftx005
- Bedani R, Rossi EA, Saad SMI. (2013) Impact of inulin and okara on *Lactobacillus acidophilus* La-5 and *Bifidobacterium animalis* Bb-12 viability in a fermented soy product and probiotic survival under in vitro simulated gastrointestinal conditions. *Food Microbiol*. 34(2), 382-389. doi: 10.1016/j.fm.2013.01.012
- Charlier C, Cretenet M, Even S, Le Loir Y. (2009) Interactions between *Staphylococcus aureus* and lactic acid bacteria: an old story with new perspectives. *Int J Food Microbiol*. 131(1), 30-39. doi: 10.1016/j.jifoodmicro.2008.06.032
- Donkor, L., Affrifah, N. S., Kunadu, A. P. H., Kwofie, S., Yeboah, S., Kuditchar, B. (2023) Modelling the survival of acid-adapted and nonadapted *Escherichia coli* O157: H7 in Burkina: A Western African traditional fermented milk product. *Int J Food Sci*. 2023(1), 1011319. doi: 10.1155/2023/1011319
- Farag MA, El Hawary EA, Elmassry MM. (2020) Rediscovering acidophilus milk, its quality characteristics, manufacturing methods, flavor chemistry and nutritional value. *Critical Rev in Food Sci Nutr*. 60(18), 3024-3041. doi: 10.1080/10408398.2019.1675584
- Ghali ENHK, Chauhan SC, Yallapu MM. (2024) Inulin-based formulations as an emerging therapeutic strategy for cancer: A comprehensive review. *Int J Biol Macromol*. 129216. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2024.129216
- Gibson GR, Hutkins R, Sanders ME, Prescott SL, Reimer RA, Salminen SJ, Scott K, Stanton C, Swanson KS, Cani PD, Verbeke K, Reid, G. (2017) Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 14(8), 491-502. doi: 10.1038/nrgastro.2017.75
- Guarner F, Sanders ME, Szajewska H, Cohen H, Eliakim R, Herrera-deGuise C, Tarkan K, Dan M, Alejandro P, Balakrishnan R, Seppo S, Melberg J. (2024) World Gastroenterology Organisation Global Guidelines: Probiotics and prebiotics. *J Clin Gastroenterol*. 58(6), 533-553. doi: 10.1097/MCG.0000000000002002
- Gürbüz F, Baspınar E, Çamdeviren, H., Keskin S. (2003) Tekrarlanan Ölçümlü Deneme Düzenlerinin Analizi. 2. Baskı. Van: Yüzüncü Yıl Üniversitesi Matbaası.
- Helmy YA, Taha-Abdelaziz K, Hawwas HAEH, Ghosh S, AlKafaas SS, Moawad MM, Saied EM, Kassem II, Mawad AM. (2023) Antimicrobial resistance and recent alternatives to antibiotics for the control of bacterial pathogens with an emphasis on foodborne pathogens. *Antibiot*, 12(2), 274. doi: 10.3390/antibiotics12020274
- Hill C, Guarner F, Reid G, Gibson GR, Merenstein DJ, Pot B, Morelli L, Canani RB, Flint HJ, Salminen S, Calder PC, Sanders ME. (2014) Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 11, 506-514. doi: 10.1038/nrgastro.2014.66
- Huang IF, Lin IC, Liu PF, Cheng MF, Liu YC, Hsieh YD, Chen JJ, Chen CL, Chang HW, Shu CW. (2015) *Lactobacillus acidophilus* attenuates *Salmonella*-induced intestinal inflammation via TGF- β signaling. *BMC Microbiol*. 15, 1-9. doi: 10.1186/s12866-015-0546-x
- Iraporda C, Rubel IA, Managó N, Manrique GD, Garrote GL, Abraham AG. (2022) Inulin addition improved probiotic survival in soy-based fermented beverage. *World J Microbiol Biotechnol*. 38(8), 133. doi: 10.1007/s11274-022-03322-4
- Li S, Ma C, Gong G, Liu Z, Chang C, Xu Z. (2016) The impact of onion juice on milk fermentation by *Lactobacillus acidophilus*. *LWT-Food Sci Technol*. 65, 543-548. doi: 10.1016/j.lwt.2015.08.042
- Liu X, Wang M, Hu T, Lin X, Liang H, Li W, Zhao S, Zhong Y, Zhang H, Ge L, Jin X, Xiao L, Zou Y. (2024) Safety assessment of potential probiotic *Lactobacillus acidophilus* AM13-1 with high cholesterol-lowering capability isolated from human gut. *Lett Appl Microbiol*. 77(1), ovad143. doi: 10.1093/lambio/ovad143
- Ma Y, Lan G, Li C, Cambaza EM, Liu D, Ye X, Chen S, Ding T. (2019) Stress tolerance of *Staphylococcus aureus* with different antibiotic resistance profiles. *Microb Pathogen*. 133, 103549. doi: 10.1016/j.micpath.2019.103549
- Menezes MUFO, Bevilacqua GC, da Silva Nascimento IR, da Cruz Ximenes GN, Andrade SAC, dos Santos Cortez Barbosa NM. (2023) Antagonist action of *Lactobacillus acidophilus* against pathogenic strains in goat milk yogurt. *J Food Sci Technol*. 60(1), 353-360. doi: 10.1007/s13197-022-05622-x
- Nakajo K, Komori R, Ishikawa S, Ueno T, Suzuki Y, Iwami Y, Takahashi N. (2006) Resistance to acidic and alkaline environments in the endodontic pathogen *Enterococcus faecalis*. *Oral Microbiol Immunol*. 21(5), 283-288. doi: 10.1111/j.1399-302X.2006.00289.x
- Nyathi N, Ndhlovu D, Rabvukwa E, Ndudzo A. (2024) Improving antimicrobial stewardship in human health using probiotics and their derivatives. Ghulam M. eds. Antimicrobial Stewardship - New Insights. doi: 10.5772/intechopen.112497
- Oliveira RPDS, Perego P, De Oliveira MN, Converti A. (2011) Effect of inulin as a prebiotic to improve growth and counts of a probiotic cocktail in fermented skim milk. *LWT-Food Sci Technol*. 44(2), 520-523. doi: 10.1016/j.lwt.2010.08.024
- Oliveira, RPDS, Perego, P, Converti, A., De Oliveira, M. N. (2009). The effect of inulin as a prebiotic on the production of probiotic fibre-enriched fermented milk. *Int J Dairy Technol*. 62(2), 195-203. doi: 10.1111/j.1471-0307.2009.00471.x
- Onaran Acar B, Gülendağ E. (2023). Comparison of Antimicrobial Activities of Ethanol-and Water-Based Propolis Extracts

- on Various Foodborne Pathogens by Agar-Well Diffusion Method. *Res Agri Sci*, 54(3), 130-136.
- Sadler GD. (2017) Chapter 22: pH and Titratable acidity. Nielsen SS. ed. *Food Analysis, Food Science Text Series*, 389. Springer International Publishing, USA. p. 396-399. doi: 10.1007/978-3-319-45776-5
- Singha S, Thomas R, Viswakarma JN, Gupta VK. (2023) Foodborne Illnesses of *Escherichia coli* O157 origin and Its Control Measures. *J Food Sci Technol*. 60, 1274-1283. doi: 10.1007/s13197-022-05381-9ef
- Solval KM, Chouljenko A, Chotiko A, Sathivel S. (2019) Growth kinetics and lactic acid production of *Lactobacillus plantarum* NRRL B-4496, *L. acidophilus* NRRL B-4495, and *L. reuteri* B-14171 in media containing egg white hydrolysates. *LWT* 105, 393-399. doi: 10.1016/j.lwt.2019.01.058
- Urrutia-Baca VH, Hernandez-Hernandez SN, Martinez LM, Davila-Vega JP, Chuck-Hernández C. (2024) The role of probiotics in dairy foods and strategies to evaluate their functional modifications. *Food Rev Int*. 40(1), 434-456. doi: 10.1080/87559129.2023.2172426
- Varga L, Szigeti J, Gyenis B. (2006) Influence of chicory inulin on the survival of microbiota of a probiotic fermented milk during refrigerated storage. *Ann Microbiol*. 56, 139-141. doi: 10.1007/BF03174995
- Walsh LH, Walsh AM, Garcia-Perez I, Crispie F, Costabile A, Ellis R, Finlayson J, Finnegan LA, Claesson MJ, Holmes E, Cotter, PD. (2023) Comparison of the relative impacts of acute consumption of an inulin-enriched diet, milk kefir or a commercial probiotic product on the human gut microbiome and metabolome. *npj Sci Food*. 7(1), 41. doi: 10.1038/s41538-023-00216-z