

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BACİLLUS CLAUSİİ'NİN DERİ SAĞLIĞI ÜZERİNE ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

GÜLBEYAZ ÖZKAN

FARMASÖTİK MİKROBİYOLOJİ ANA BİLİM DALI

MAYIS 2026


GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Gazi
1926

BACİLLUS CLAUSİİ'NİN DERİ SAĞLIĞI ÜZERİNE ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

Gülbeyaz ÖZKAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ
FARMASÖTİK MİKROBİYOLOJİ ANA BİLİM DALI

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

MAYIS 2026

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmasında yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Gülbeyaz ÖZKAN

07/05/2026

BACİLLUS CLAUSİİ'NİN DERİ SAĞLIĞI ÜZERİNE ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

(Yüksek Lisans Tezi)

Gülbeyaz ÖZKAN

GAZİ ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Mayıs 2026

ÖZET

Deri, organizmayı çeşitli zararlı dış etkenlere karşı koruyan ilk savunma hattıdır. Deri-bağırsak mikrobiyotası arasındaki etkileşim nedeniyle gastrointestinal mikrobiyotadaki bozulmalar deriye yansıyabilmekte ve çeşitli deri hastalıklarına yol açabilmektedir. Probiyotiklerin oral veya topikal kullanımının akne, egzema, sedef, rosacea, mantar enfeksiyonları gibi hastalıkların semptomlarını azaltmada etkili olduğu gösterilmiştir. Ayrıca probiyotiklerin yara iyileşmesini hızlandırma, cilt bariyer fonksiyonunu güçlendirme gibi etkilerinin olduğu; kırışıklık, elastikiyet kaybı gibi yaşlanma belirtilerini azalttığı bilinmektedir. Piyasada yaygın olarak kullanılan bir probiyotik olan *Bacillus clausii*, salgıladığı lanbiyotikler başta olmak üzere çeşitli etken maddeler sayesinde patojen mikroorganizmaların üreme ve gelişmelerini engelleyebilmektedir. Bu tez çalışmasının amacı, *B. clausii*'nin hücre içermeyen süpernatantının seçilmiş dermatolojik patojenlere karşı antimikrobiyal etkinliğini sıvı mikrodilüsyon, disk difüzyon ve zamana bağlı öldürme yöntemleri ile incelemek; melanom hücre hattı üzerindeki olası sitotoksik etkilerini MTT analizi ile araştırmak ve keratinosit hücrelerinde UVB kaynaklı hasara karşı koruyucu ve tedavi edici etkisini *in vitro* olarak değerlendirmek oluşturmaktadır. Bu amaçla *B. clausii*'nin TSB ve MHB besiyerlerinde üretimi sonrası salgıladığı maddeleri içeren süpernatantı toplanmış ve liyofilizasyon ile konsantre edilmiştir. Difüzyon deneylerinde aktivite saptanamamakla birlikte, sıvı mikrodilüsyon sonuçlarına göre *Enterococcus faecalis* ve *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı konsantrasyon bağımlı antimikrobiyal aktivite saptanmış ve minimum inhibitör etkinin 1/2 (v/v) konsantrasyonda ortaya çıktığı gözlenmiştir. Zamana bağlı öldürme yönteminde ise *E. faecalis* ve *P. aeruginosa* üzerinde bakteriyostatik etki tespit edilmiştir. Süpernatantların protein içerikleri analiz edilmiş ve TSB'de üretilen *B. clausii*'nin ortama daha yüksek miktarda protein içeriği salgıladığı belirlenmiştir. A375 hücreleri üzerinde gerçekleştirilen MTT deneylerinde, besiyeri kontrolü ile kıyaslandığında anlamlı bir sitotoksisite ve antikanser aktivite gözlenmemiştir. *B. clausii* süpernatantının UVB hasardan koruyucu etkinliği istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Elde edilen veriler, *B. clausii* süpernatantının dermatolojik enfeksiyonlarda ve UVB kaynaklı hücresel hasara karşı destekleyici bir ajan olarak potansiyelini ortaya koymaktadır.

Bilim Kodu	:	10103,12
Anahtar Kelimeler	:	*Bacillus clausii*, Probiyotik, Akne, MİK, Melanom
Sayfa Adedi	:	89
Danışman	:	Doç. Dr. Özlem OYARDI
İkinci Danışman	:	Dr. Öğr. Üyesi Taylan TURAN

INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF *BACILLUS CLAUSII* ON SKIN HEALTH

(M. Sc. Thesis)

Gülbeyaz ÖZKAN

GAZİ UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF HEALTH SCIENCES

May 2026

ABSTRACT

The skin is the first barrier that protects the body against various harmful external factors. The interaction between the skin and gut microbiota may cause any damage in the gastrointestinal microbiota to be reflected on the skin, leading to various skin diseases. Studies have shown that probiotics, when used orally or topically, are effective in reducing the symptoms of diseases such as acne, eczema, psoriasis, rosacea, and fungal infections. Probiotics are known to accelerate wound healing, strengthen the skin barrier function, and reduce signs of aging such as wrinkles and loss of elasticity. *Bacillus clausii*, an important probiotic available on the market, can inhibit the growth and proliferation of pathogenic bacteria through the active secretomes such as lantibiotics, which are antimicrobial peptides it secretes. The aim of this thesis is to evaluate the antimicrobial activity of *B. clausii* against selected dermatological pathogens using broth microdilution, disk diffusion, and time-kill methods; to assess its possible cytotoxic effects on a melanoma cell line by MTT assay; and to investigate its protective and therapeutic effects against UVB-induced damage in keratinocyte cells *in vitro*. For this purpose, the supernatants containing substances secreted by *B. clausii* following cultivation in TSB and MHB media were collected and concentrated by lyophilization. Although no activity was detected in diffusion assays, broth microdilution results detected concentration-dependent antimicrobial activity against *Enterococcus faecalis* and *Pseudomonas aeruginosa*, with the minimum inhibitory effect observed at a concentration of 1/2 (v/v). In the time-kill assay, a bacteriostatic effect was detected against *E. faecalis* and *P. aeruginosa*. Protein contents of the supernatants were analyzed, and *B. clausii* grown in TSB medium was found to secrete higher amounts of protein into the medium. In MTT assays performed on A375 cells, no significant cytotoxicity or anticancer activity was observed compared with the medium control. The protective effect of *B. clausii* against UVB-induced damage was found to be statistically significant ($p<0.05$). The obtained data reveal the potential of *B. clausii* as a supportive agent in dermatological infections and UVB-induced damage.

Science Code	:	10103,12
Key Words	:	*Bacillus clausii*, Probiotic, Acne, MIC, Melanoma
Page Number	:	89
Supervisor	:	Assoc. Prof. Dr. Özlem OYARDI
Co-Supervisor	:	Asst. Prof. Dr. Taylan TURAN

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitim sürecimde benden vaktini, sabrını, yardımlarını ve emeğini esirgemeyen, akademik hayatım boyunca her an yanımda olacağına gönülden inandığım sevgili danışmanım Doç. Dr. Özlem OYARDI'ya, lisans ve yüksek lisans dönemim boyunca bilgi ve deneyimi ile bana her zaman destek olan sevgili hocam Prof. Dr. Berrin ÖZÇELİK'e, tez çalışmamdaki biyokimyasal süreçlerle ilgili her türlü soruma sabırla cevap veren sevgili ikinci danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Taylan TURAN'a, tez çalışmamızın önemli ve ilk adımı olan liyofilizasyon işleminde bilgi ve yardımını esirgemeyen Doç. Dr. Ayşenur OKTAY'a, akademideki iş hayatımın ilk yılında destekleriyle bu süreci daha verimli geçirmemi sağlayan Doç. Dr. Pınar MURSALOĞLU KAYNAR'a, eczane eczacılığı yaptığım ve aynı zamanda yüksek lisans eğitimimi devam ettirmeye çalıştığım süreçte manevi desteğini her zaman yanımda hissettiğim değerli eczacım Ecz. Sevim YALÇIN'a, son olarak başarılı bir eczacı ve akademisyen olabilmem için her türlü zorlu ve sıkıntılı sürecimi kolaylıkla atlatmamı sağlayan varlıkları ile en büyük destekçilerim sevgili anne ve babama teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET iv

ABSTRACT v

TEŞEKKÜR vi

İÇİNDEKİLER vii

1. GİRİŞ 1

2. GENEL BİLGİLER 3

2.1. Deri Anatomisi ve Fizyolojisi 3

2.2. Deri Mikrobiyotası 4

2.3. Deride Hastalık Meydana Getiren Bazı Patojenler 6

2.4. Probiyotiklerin Genel Tanımı ve Özellikleri, Etki Mekanizmaları 13

2.5. Probiyotikler ve Deri Sağlığı Üzerindeki Etkileri 18

2.6. *Bacillus clausii* ve Özellikleri 22

2.7. *Bacillus clausii*'nin Deri Sağlığı Üzerinde Antimikrobiyal Etkileri 24

2.8. *Bacillus clausii*'nin Deri Sağlığı Üzerinde Antikanser Etkileri 27

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER 31

3.1. Kullanılan Mikroorganizmalar ve Hücre Hatları 31

3.2. Kullanılan Kimyasallar ve Besiyerleri 31

3.3. Kullanılan Cihazlar 32

3.4. Bakterilerin Üretilmesi 32

3.5. Liyofilizasyon 33

3.6. Antimikrobiyal Etkinliğin Belirlenmesi 34

3.6.1. Disk difüzyon yöntemi 34

3.6.2. Kuyu difüzyon yöntemi 34

3.6.3. Sıvı mikrodilüsyon deneyi 35

Sayfa

3.6.4. Time-kill (zamana bağlı öldürme) analizi 35
3.7. Protein Konsantrasyonunun Belirlenmesi (Bradford Yöntemi) 36
3.8. Hücre Kültürü Deneyleri 36
3.8.1. A375 hücre hattı kullanılarak antikanser etkinliğin değerlendirilmesi 36
3.8.2. İnsan keratinosit hücre hattı (HaCaT) kullanılarak sitotoksik etkinin belirlenmesi 38
3.8.3. UV ile hasarlandırılmış deri hücreleri üzerine etkinin incelenmesi 38
3.9. İstatistiksel Analiz 42
4. BULGULAR 43
4.1. Antimikrobiyal Etkinin Değerlendirilmesi 43
4.1.1. Disk difüzyon deneyi sonuçları 43
4.1.2. Kuyu difüzyon deneyi sonuçları 44
4.1.3. Sıvı mikrodilüsyon deneyi sonuçları 44
4.1.4. Zamana bağlı öldürme analizi (Time-Kill) deneyi sonuçları 46
4.2. Protein Tayini Deneyi 50
4.3. Hücre Kültürü Deneyleri Sonuçları 52
4.3.1. A375 hücre hattı kullanılarak antikanser etkinliğin belirlenmesi 52
4.3.2. İnsan keratinosit hücre hattı (HaCaT) kullanılarak sitotoksik etkinin belirlenmesi 55
4.3.3. UV ile hasarlandırılmış deri hücreleri üzerine etkisinin incelenmesi 57
5. TARTIŞMA 65
6. SONUÇ 73
KAYNAKLAR 75
ÖZGEÇMİŞ 89

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge **Sayfa**

Çizelge 2.1. Probiyotik Mikroorganizmalar 15

Çizelge 4.1. Mikroorganizmalara göre belirlenen MİK değerleri tablosu 45

Çizelge 4.2. Standart çözeltilerin absorbans değerleri 50

Çizelge 4.3. Protein Tayini deneyinde spektrofotometrik ölçüm sonrası elde edilen absorbans değerleri, bu değerlerin ortalamaları ve hesaplanan protein konsantrasyonları 51

Çizelge 4.4. Besiyeri ve süpernatanta ait kör düzeltmeli absorbans ve % canlılık değerleri 53

Çizelge 4.5. Grafiklerin istatistiksel açıdan değerlendirilmesi amacıyla istatistiksel semboller ve anlamları 54

Çizelge 4.6. Besiyeri ve süpernatanta ait kör düzeltmeli absorbans ve % canlılık değerleri 56

Çizelge 4.7. MTT sonuçlarına göre % canlılığın grafiksel gösterimi 59

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil **Sayfa**

Şekil 2.1. İnsan derisinin yapısal detayları 3

Şekil 2.2. Deri mikrobiyotasını oluşturan bazı mikroorganizmalar 5

Şekil 2.3. Probiyotiklerin bağırsak bağışıklığı üzerindeki etkileri ve immün hücre etkileşimleri 17

Şekil 3.1. Hücre kültürü deneylerinin şematik gösterimi 41

Şekil 3.2. B. clausii'nin deri sağlığı üzerine etkilerinin incelenmesi ile ilgili yapılan tüm deneylerin görsel özeti. 41

Şekil 4.1. B. clausii süpernatantının farklı mikroorganizmalar üzerindeki time–kill etkisinin toplu gösterimi 46

Şekil 4.2. P. aeruginosa üzerinde B. clausii süpernatantının zamana bağlı antimikrobiyal etkisi 48

Şekil 4.3. E. faecalis üzerinde B. clausii süpernatantının zamana bağlı antimikrobiyal etkisi 48

Şekil 4.4. S. aureus üzerinde B. clausii süpernatantının zamana bağlı antimikrobiyal etkisi 49

Şekil 4.5. Candida albicans üzerinde B. clausii süpernatantının zamana bağlı antimikrobiyal etkisi 49

Şekil 4.6. Protein tayini sonucu elde edilen konsantrasyona bağlı absorbans grafiği 51

Şekil 4.7. B. clausii'nin farklı besiyerlerinden hareketle ölçülmüş olan protein konsantrasyonları 52

Şekil 4.8. Besiyerine ait konsantrasyon bağımlı % canlılık değerleri. 53

Şekil 4.9. B. clausii süpernatantına ait konsantrasyon bağımlı % canlılık değerleri 54

Şekil 4.10. B. clausii süpernatantı ve besiyerine ait konsantrasyon bağımlı % canlılık değerlerinin toplu grafik ile şematize edilmesi 54

Şekil 4.11. HaCaT hücreleri üzerinde besiyeri ve B. clausii süpernatantının hücre canlılığına etkisinin bar grafiği üzerinde şematize edilerek karşılaştırılması 56

Şekil 4.12. MTT testi sonrası hücre canlılığının grafiksel gösterimi 61

Şekil **Sayfa**

Şekil 4.13. Seramid-kompleks ölçüm deneyi sonucunda elde edilen seramid-kompleks miktarlarının karşılaştırmalı grafiği 62

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim **Sayfa**

Resim 4.1. Disk difüzyon testine ait antimikrobiyal aktivite sonuçları 43

Resim 4.2. Kuyu difüzyon testine ait antimikrobiyal aktivite sonuçları..... 44

Resim 4.3. Sıvı mikrodilüsyon deneyine ait antimikrobiyal aktivite sonuçları. 45

Resim 4.4. Time-Kill deneyinde 24. saat sonunda test ve besiyeri tüplerinin görünümü 50

Resim 4.5. Gruplarda UVB hasar oluşturulması için kurulmuş düzenek 57

Resim 4.6. Grup 1'e ait mikroskop görüntüleri 57

Resim 4.7. Grup 2'ye ait mikroskop görüntüleri 58

Resim 4.8. Grup 3'e ait B. clausii süpernatantı ve TSB uygulanan mikroskop görüntüleri 58

Resim 4.9. Grup 3'e ait hücrelere UVB hasar sonrası askorbik asit uygulanan hücrelere ait mikroskop görüntüleri..... 58

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	**Açıklamalar**
mL	Mililitre
mm	Milimetre
mm^2	Milimetre kare
µL	Mikrolitre
nm	Nanometre

Kısaltmalar	**Açıklamalar**
AD	Atopik Dermatit
ATCC	American Type Culture Collection
BAX	Bcl-2 Associated X Protein
BSA	Bovine Serum Albumin
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
DLQI	Dermatology Life Quality Index
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle Medium
DMSO	Dimetil sülfoksid
EUCAST	European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
KOB	Koloni oluşturan birim
IgA	İmmunoglobulin A
IL	Interleukin
MAPK	Mitojenle Aktive Edilen Protein Kinaz
MHA	Mueller-Hinton Agar
MHB	Mueller-Hinton Broth
MİK	Minimum İnhibitör Konsantrasyon
MRSA	Metisiline dirençli *Stapyloccoccus aureus*
NF-κB	Nükleer faktör kappa B
PARP	Poly (ADP-ribose) Polymerase

Kısaltmalar	Açıklamalar
PASI	Psoriasis Area and Severity Index
RANKL	Nükleer faktör-kappa B ligandının reseptör aktivatörü
SCORAD	Scoring Atopic Dermatitis Index
SF	Serum fizyolojik
TESK	Transepidermal su kaybı
TNF	Tümör nekroz faktörü
Treg	Bağışıklık dengesini koruyan T düzenleyici hücre
TSA	Tryptic Soy Agar
TSB	Tryptic Soy Broth
UVR	Ultraviyole radyasyon

1. GİRİŞ

Deri, zararlı dış etkenlere karşı ilk savunma hattını oluşturan en büyük organdır. Deri ve bağırsak mikrobiyotası arasındaki etkileşim nedeniyle gastrointestinal mikrobiyota dengesinin bozulması sistemik inflamasyona ve çeşitli cilt hastalıklarına yol açabilmektedir. Probiyotikler, yeterli miktarlarda vücuda alındıklarında bağırsak fonksiyonlarını düzenleyen, gastrointestinal sistemin homeostazının sağlanmasında ve bu dengenin korunmasında etkili olan canlı, faydalı mikroorganizmalardır. Bu mikroorganimaların üreme ve gelişmelerini teşvik edici maddeler prebiyotik; probiyotiklerden elde edilen süpernatant, enzim gibi bileşenler postbiyotik; canlı bir probiyotiğin inaktive edilmesi sonucu oluşan türev ise parabiyotik olarak adlandırılmaktadır. Gastrointestinal sistem sağlığının sürdürülmesinde birincil görevli olan probiyotikler bu özelliklerinin yanı sıra antidiyabetik, antikanser, immünomodülatör, antihipertansif gibi etkilerinin olduğu konusunda da araştırılmaktadır. Güncel çalışmalar probiyotik ve türevlerinin bu etkiler dışında deri sağlığı ve deri mikrobiyotası üzerinde de önemli etkileri olabileceğini, bu etkilerin topikal uygulamada veya bağırsak-deri ekseni üzerinden gerçekleşebileceğini araştırmaktadır.

Bacillus clausii (*B. clausii*) günümüzde yaygın olarak özellikle antibiyotik kaynaklı diyarede tercih edilen, bununla beraber konstipasyon, hazımsızlık gibi gastrointestinal problemlerde yetişkin ve çocuklarda güvenle kullanılabilen bir probiyotik türüdür. Antimikrobiyal etkinliğinin yanı sıra antiviral, antioksidatif ve immünomodülatör etkinliği de literatürde yaygın bir araştırma konusu olmuştur. *B. clausii*'nin deri sağlığı üzerine etkilerini inceleyen çalışmalar literatürde sınırlıdır. Bu sebeple tez konusu belirleme döneminde literatürdeki bu boşluk ilham kaynağı olmuştur. Tez çalışmasının ilerleyen süreçlerde literatüre katkı sağlaması amaçlanmıştır.

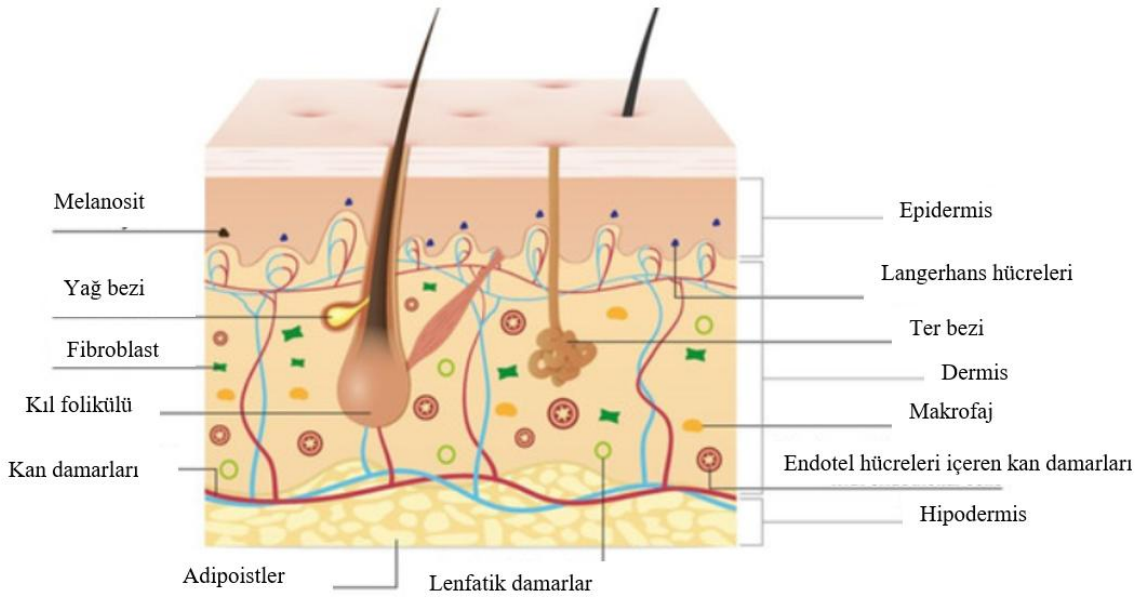
Probiyotiklerin antimikrobiyal etkilerinin bakteriyosin adı verilen protein yapılı bileşikler aracılığıyla olduğu bilinmektedir. Bakteriyosinlerin translasyon sonrası modifikasyona uğramış bileşenleri lanbiyotik olarak adlandırılır. *Bacillus* türleri, lanbiyotik üretimi açısından önemli bir mikroorganizma sınıfı olarak bilinmektedir. Piyasada yaygın olarak satışı olan *B. clausii*, önemli bir lanbiyotik olan clausin sentezlemektedir. Mevcut çalışmalar clausinin *B. clausii*'nin antimikrobiyal etkinliğinden sorumlu olduğunu belirtmektedir. Clausin özellikle Gram pozitif bakteriler üzerinde inhibe edici etkinliğe sahiptir.

Tez çalışmasında *B. clausii*'nin deri sağlığı üzerine etkilerinin bütüncül olarak değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Bu amaca istinaden, *B. clausii*'nin deri hastalıklarında yaygın olarak karşılaşılan patojenlere karşı antimikrobiyal etkisi disk difüzyon, kuyu difüzyon, sıvı mikrodilüsyon (MİK), zamana bağlı öldürme analizi (Time-Kill) gibi farklı metodlar üzerinden değerlendirilmiştir. *B. clausii*'nin deri üzerindeki antikanser etkinliğini test etmek amacıyla melanom hücre hattı A375 kullanılarak MTT testi yapılmıştır. *B. clausii*'nin UVB hasara karşı deri hücrelerini koruyucu etkisini incelemek amacıyla insan keratinosit hücre hattı olan HaCaT kullanılmış, UVB hasarlandırma sonrası MTT ve seramid-kompleks ölçümü analizleri ile koruyucu ve tedavi edici etkisi değerlendirilmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Deri Anatomisi ve Fizyolojisi

Deri, vücut ile çevre arasındaki etkileşimi sağlayan, vücudu fiziksel ve kimyasal etkenlerden koruyan en büyük organdır. Yetişkin bir bireyde toplam vücut ağırlığının %15'ini oluşturan deri, insan vücudunda özelleşmiş işlevlere ve konumuna göre çeşitli kalınlıklara sahiptir (Mohamed ve Hargest, 2022). Deri sistemi epidermis, dermis, hipodermis, keratinositler, melanositler, fibroblastlar gibi hücreler ile saç ve tırnaklardan oluşmaktadır. Deri sadece bir bariyer görevi görmekle kalmaz, aynı zamanda vücut ısısının düzenlenmesi, hücre sıvısının korunması, D vitamini sentezi, uyaranların algılanması, periferik kan akışı ve terleme derecesinin belirlenmesi, patojen ve alerjenlere karşı koruma gibi pek çok işlevi yerine getirmektedir (Slominski ve diğerleri, 2025). İnsan derisi Şekil 2.1'de gösterildiği gibi epidermis, dermis ve hipodermis olmak üzere üç ayrı katmandan oluşmaktadır.



Şekil 2.1.İnsan derisinin yapısal detayları (Hoffman ve diğerleri, 2023)

Epidermis yapısında keratinositler, melanositler, Langerhans hücreleri bulunan; toksin, patojen ve dehidrasyona karşı bariyer görevi gören cildin en üst tabakasıdır (Hoffman ve diğerleri, 2023). Çok sayıda keratinosit katmanından oluşan çok katlı skuamöz epitel olarak bilinmektedir. Kalınlığı yaklaşık olarak 0,1-0,3 mm'dir. Bu tabakada kan damarları bulunmadığından besin ihtiyacını dermis tabakasından karşılamaktadır. Epidermis dıştan içe doğru sırasıyla *stratum corneum* (boynuzsu tabaka), *stratum granülosum* (granüler tabaka),

stratum spinosum (sivri katman), *stratum basale* (bazal katman) katmanlarından oluşmaktadır (Koşar ve diğerleri, 2022). Sfingolipid metabolizmasında önemli bir rol oynayan seramidler, epidermisin *stratum corneum* tabakasında sentezlenmektedir. Seramidler deri bariyer bütünlüğünün korunmasında ve sürdürülmesinde önemli bir bileşendir (Rabionet ve diğerleri, 2014).

Derinin diğer bir katmanı olan dermisin temel görevi, epidermise oksijence zengin kan ulaştırmak ve epidermal atık ürünlerini uzaklaştırmaktır. Kalınlığı 2 mm ila 6 mm arası olmakla beraber bulunduğu konuma göre değişebilmektedir. Dermis, vücuttaki suyun bir kısmını depolayarak vücudu yaralanmalara karşı korumaktadır. Fibroblastlar, dermisi oluşturan temel hücrelerdir ve kolajen, elastin, hyaluronik asit gibi proteoglikanları sentezlerler. Derinin bağışıklık sistemi ile ilgili hücrelerden olan dendritik hücreler, makrofajlar, mast hücreleri, eozinofiller, nötrofiller, B ve T lenfositleri dermiste bulunmakta ve deri bağışıklığında önemli rol oynamaktadır (Cruz ve diğerleri, 2018; Nguyen ve Soulika, 2019).

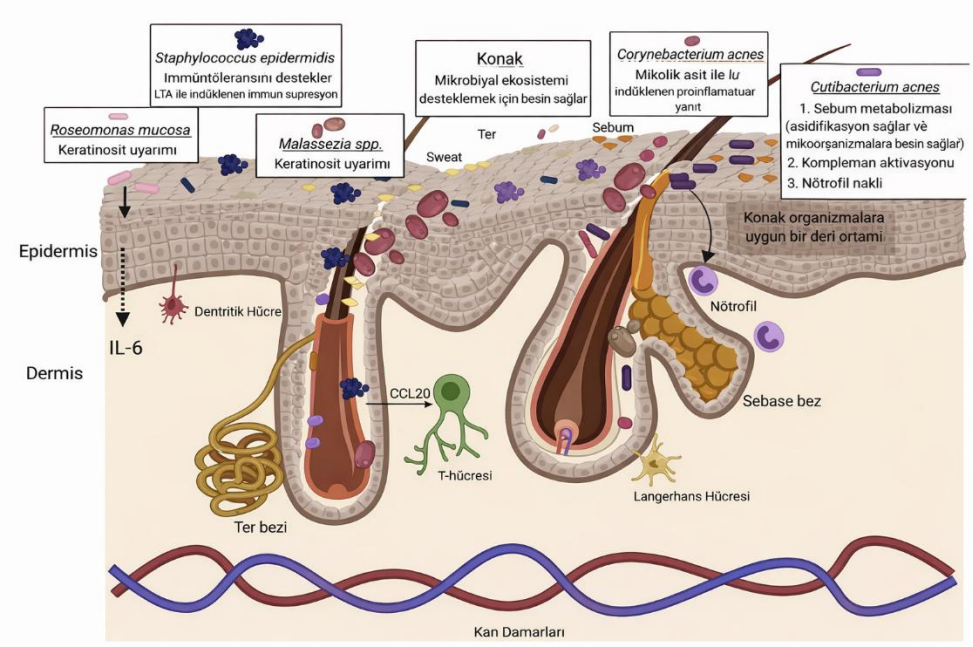
Dermisin altında yer alan hipodermisin temel işlevi yağ asitleri formunda enerji depolamak, glikoz homeostazı ve lipid metabolizması için önemli bir endokrin organ olarak görev yapmaktır. Ayrıca vücut ısısını düzenlemekle de görevlidir. Hipodermis fibroblast ve adipositlerden oluşmaktadır. Bunun yanı sıra büyüme faktörleri, sitokinler gibi çeşitli aracılar ve bağışıklık hücreleri içermektedir. Bu tabakanın kalınlığı kişiye özgüdür ve bireyin beslenme düzeyinden etkilenmektedir (Nguyen ve Soulika, 2019; Koşar ve diğerleri, 2022) .

2.2. Deri Mikrobiyotası

Deri, milyonlarca yararlı mikroorganizmayı bünyesinde barındıran vücudun en geniş organıdır. Deri mikrobiyotası, çeşitli yararlı bakteriler, bağışıklık hücreleri, epitel hücreleri içeren ve bu hücrelerin çevreleriyle etkileşim halinde olduğu kommensal bir ekosistem bütünüdür (Flowers ve Grice, 2020). Deri mikrobiyotasının, intestinal sisteme benzer şekilde bağışıklık sisteminin düzenlenmesinde ve fırsatçı patojenlere karşı korunmada temel görevleri vardır. Deride bulunan simbiyotik mikroorganizmalar patojen mikroorganizmaların üremesini engellemekte ve T hücrelerinin bu mikroorganizmaları tanımalarına olanak sağlamaktadır. Deri sağlığı, deri bariyer fonksiyonu ve immün sistemin

sağlıklı olmasına bağlıdır. Deri bariyerinin, yani fırsatçı patojenler ile kommensal mikroorganizmaların dengesinin bozulduğu durumlarda, faydalı bakterilerin oluşturduğu fiziksel bariyer fonksiyonu da zarar görmekte ve çeşitli deri hastalıkları meydana gelebilmektedir (Byrd ve diğerleri, 2018; Haykal ve diğerleri, 2024). Mikrobiyotada meydana gelen bu dengesizlik disbiyozis olarak adlandırılır. Bu durum alerjiler, otoimmün hastalıklar, enfeksiyonlar gibi çeşitli deri hastalıklarına yol açabilmektedir.

Deri bölgelerinin farklı kısımları farklı özelliklere sahip olduğundan, buralarda bulunan mikroorganizma florası da çeşitlilik gösterebilmektedir. Derinin kuruluk durumu, yüzeyinde kıl bulundurması, katlantılı veya pürüzlü bölge olması gibi durumlar mikroorganizma çeşitliliğini etkilemektedir. Deri mikrobiyotasını kalıcı-uzun süreli mikroorganizmalarla geçici-kısa süreli mikroorganizmalar oluşturmaktadır. Deri mikrobiyotasını oluşturan bazı mikroorganizmalar Şekil 2.2.'de verilmiştir. Deri mikrobiyotasında en sık bulunan mikroorganizma grupları; *Bacteroidetes* (%6), *Proteobacteria* (%16), *Actinobacteria* (%52) ve *Firmicutes* (%24),'tir. Bunun yanı sıra *Cutibacterium, Staphylococcus, Corynebacterium* cinsleri genel mikrobiyomun toplam %45 ila %80'ini oluşturmaktadır. Bu mikroorganizmalar antimikrobiyal peptitler üreterek inflamatuvar yanıtın düzenlenmesinde de rol oynamaktadır (Lee ve diğerleri, 2025).



Şekil 2.2. Deri mikrobiyotasını oluşturan bazı mikroorganizmalar (Flowers ve Grice, 2020)

2.3. Deride Hastalık Meydana Getiren Bazı Patojenler

Dermatolojik rahatsızlıklarda en sık karşılaşılan patojenler arasında *Pseudomonas aeruginosa, Klebsiella pneumoniae, Escherichia coli, Enterococcus faecalis, Cutibacterium acnes, Micrococcus luteus, Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis, Streptococcus pyogenes*; ve bazı mantar enfeksiyonlarında *Candida albicans* sayılabilmektedir (Fijan ve diğerleri, 2019).

Pseudomonas aeruginosa

P. aeruginosa su, toprak, nemli yüzeyler gibi alanlarda sıklıkla bulunabilen, Gram negatif, non-fermentatif, hareketli bir basil olup; çoğu deri enfeksiyonlarından sorumlu fırsatçı bir patojendir. Biyofilm, piyosiyanin, elastaz, ekzotoksin A ve çeşitli virülans faktörlerinin üretimi sayesinde konak dokuya tutunarak kronik yaraların oluşmasına sebep olabilmektedir. Bu özellikleri nedeniyle antimikrobiyal direnç açısından önem taşımakta ve klinik tedavide zorluklara sebep olmaktadır (Sırıken ve Öz, 2017; Tuon ve diğerleri, 2022; Yamberla ve diğerleri, 2025). Dermatolojik olarak *P. aeruginosa* enfeksiyonları geniş bir spektrumda görünür. Yeşil tırnak sendromu, folikülit ve parmak arası enfeksiyonları gibi yüzeyel, lokalize bulgular genellikle nemli ortamlarda gelişirken; immün baskılanmış veya deri bariyer bozukluğu olan konakçılarda ektima gangrenozum, pseudomonal folikülit, otitis externa ve malign otitis externa gibi daha ciddi enfeksiyonlar ortaya çıkabilmektedir. Özellikle ektima gangrenozum klasik olarak sistemik *P. aeruginosa* bakteriyemisi ile ilişkilidir ve yüksek morbidite riski taşımaktadır. Bu klinik tablolar, bakterinin fırsatçı bir mikroorganizma olması ve virülans faktörlerinin deri dokusuna verdiği hasarın bir sonucu olarak değerlendirilmektedir (Baddal ve diğerleri, 2021; Spernovasilis ve diğerleri, 2021; Hartmann ve diğerleri, 2025).

Yapılan çalışmalar, *Lactobasil* ve *Bacillus* suşlarının *Pseudomonas* quorum sensing sistemini baskıladığını ve biyofilm yoğunluğunu anlamlı şekilde azalttığını göstermektedir (Diaz ve diğerleri, 2020). Ayrıca probiyotik süpernatantlarının elastaz ve piyosiyanin üretimini düşürdüğü ve epitel hücrelerinde sıkı bağlantı proteinlerini koruduğu bildirilmiştir (Sharma ve diğerleri, 2019). Bu bulgular probiyotiklerin hem doğrudan antimikrobiyal hem de bariyer destekleyici etki gösterdiğini düşündürmektedir.

Klebsiella pneumoniae

K. pneumoniae, bazı deri enfeksiyonlarında rol oynayan Gram negatif fırsatçı patojenlerden biridir. Deri ve yumuşak doku enfeksiyonları (SSTI), püstül, apse ve deri ülserlerine sebep olmasının yanı sıra, sekonder olarak karaciğer, akciğer gibi organlara metastatik yayılım ile seyreden invaziv enfeksiyon sendromlarına da neden olduğu bilinmektedir. Bu olgular genellikle immün supresif durumlar ve komorbitelerle ilişkili olmaktadır (Numan ve diğerleri, 2024; Xie ve diğerleri, 2024). Hipervirulan veya çoklu ilaç direncine sahip olan *K. pneumoniae* suşları, klasik SSTI etkenlerinden farklı olarak yağlı doku invazyonu ve nekroz gibi şiddetli patolojilere sebep olabilmektedir. Bu durum genellikle diyabet gibi risk faktörleri bulunan hastalarda kritik seyredebilmekte ve cerrahi debridmanla beraber antibiyotik tedavisini gerektirebilmektedir (Wang ve diğerleri, 2026).

Bazı *Lactobacillus* süpernatantlarının *Klebsiella* biyofilm oluşumunu azalttığı gösterilmiştir (Kheiri ve diğerleri, 2020). Probiyotiklerin ayrıca LPS kaynaklı inflamatuar yanıtı baskılayarak interlökin-6 (IL-6) ve tümör nekroz faktörü-α (TNF-α) düzeylerini azalttığı rapor edilmiştir (Wang ve diğerleri, 2024).

Escherichia coli

E. coli normal bağırsak florasında bulunan Gram negatif bir bakteri olmakla beraber bağırsak haricinde bulunabilen patojenik suşları özellikle immünsuprese bireylerde deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarında önemli bir etken olarak tanımlanmıştır. Nekrotizan fasiit ve benzeri vakalar; özellikle Gram negatif enfeksiyonlar kapsamında ciddi seyredebilmektedir (Cheng ve diğerleri, 2023). Deri ve yumuşak dokuya yerleşen *E. coli* suşlarının, geniş spektrumlu beta-laktamaz (ESBL) gibi direnç genleri taşıması durumunda enfeksiyonun seyrini ağırlaştırdığı ve tedavi zorluklarını artırdığı bildirilmektedir; örneğin immün supresyon ile seyreden bir olguda ESBL üreten *E. coli*'nin nekrotizan fasiit tablosu ortaya çıkmış ve ilerleyici doku hasarı ile ciddi klinik seyir gözlenmiştir (Pérez-Valdez ve diğerleri, 2025). Bu durum, klasik olarak Gram pozitif etkenlerin baskın olduğu SSTI'lara kıyasla daha atipik ancak yüksek morbiditeli bir Gram negatif klinik tablo olarak kabul edilebilmektedir (Suleman ve diğerleri, 2024).

Lactobacillus suşlarının adezyon mekanizması ile *E. coli* tutunmasını azalttığı ve bakteriyosin üretimiyle çoğalmayı inhibe ettiği Tenea ve Ortega (2021)'nın yaptığı bir çalışmada gösterilmiştir (Tenea ve Ortega, 2021).

Enterococcus faecalis

E. faecalis, Gram pozitif, fakültatif anaerop, çevresel koşullara yüksek tolerans gösterebilen bir bakteri olup esas olarak gastrointestinal mikrobiyotanın üyesidir; ancak bariyer bütünlüğünün bozulduğu durumlarda fırsatçı patojen olarak davranabilmektedir (Arias ve Murray, 2021). Deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarında *E. faecalis* genellikle sekonder patojen olarak izole edilmekle birlikte, özellikle kronik yaralar, diyabetik ayak ülserleri ve bası yaralarında biyofilm oluşturarak enfeksiyonun yayılmasına katkı sağlayabilmektedir (Mariani ve diğerleri, 2023). Bakterinin adezinleri, jelatinaz ve sitolizin gibi virülans faktörleri doku invazyonunu kolaylaştırmakta ve lokal inflamatuar yanıtın şiddetlenmesine neden olmaktadır (Arias ve Murray, 2021).

Kronik yara ortamında *E. faecalis*'in diğer mikroorganizmalarla birlikte polimikrobiyal biyofilm yapıları oluşturduğu ve bu yapıların hem konak immün yanıtından kaçışı hem de antibiyotik toleransını artırdığı gösterilmiştir (Ciofu ve diğerleri, 2022). Bunun yanı sıra nadir de olsa postoperatif yara enfeksiyonları ve yanık yaralarında *E. faecalis* izolasyonu rapor edilmiş, bu durum bakterinin yalnızca intestinal kökenli bir kommensal değil, uygun koşullarda dermatolojik enfeksiyon etkeni olabileceğini göstermiştir (Mariani ve diğerleri, 2023; Celik ve diğerleri, 2024).

Son yıllarda artan vankomisin direnci (VRE) oranları, özellikle hastane kökenli deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarında tedavi seçeneklerini kısıtlamakta ve enfeksiyon kontrol stratejilerinin önemini artırmaktadır (Arias ve Murray, 2021). Bu doğrultuda *E. faecalis*, dermatolojik açıdan primer bir patojen olmamakla birlikte, kronik yara patofizyolojisinde biyofilm aracılı inflamasyonu sürdürebilen ve iyileşmeyi geciktirebilen önemli bir fırsatçı ajan olarak değerlendirilmektedir.

Bacillus ve *Lactobacillus* suşlarının *E. faecalis* biyofilmini anlamlı şekilde azalttığı gösterilmiştir (Lin ve diğerleri, 2021; Safadi ve diğerleri, 2022). Ayrıca probiyotiklerin yara

modellerinde inflamasyonu baskılayarak iyileşmeyi hızlandırdığı rapor edilmiştir (Tagliari ve diğerleri, 2022).

Cutibacterium acnes (Propionibacterium acnes)

C. acnes Gram pozitif aerotoleran anaerob bir bakteri olup, normal deri mikrobiyotasının sebumdan zengin bölgelerinde bulunmaktadır (Dessinioti ve Katsambas, 2024). Sebumdan zengin mikroortamlarda çoğalma özelliği bakterinin lokal ve inflamatuvar yanıtı tetikleyebilecek moleküler etkileşimlere sahip olmasına ve akne gibi deri patogenezlerine yol açmasına sebep olabilmektedir (Cavallo ve diğerleri, 2022). Özellikle akne vulgaris patogenezinde, sebum üretiminin artması ve foliküler hiperkeratinizasyon ile birlikte *C. acnes*'in aşırı çoğalması, pilosebase ünitede mikrobiyal dengenin bozulmasına yol açmakta ve inflamatuar yanıtı başlatmaktadır (Weng ve Chen, 2022). Bakterinin hücre duvarı bileşenleri ve salgıladığı enzimler, konak bağışıklık sisteminde Toll-like reseptör-2 aracılığıyla sinyal iletimini aktive ederek IL-1β, IL-6 ve IL-8 gibi proinflamatuar sitokinlerin üretimini arttırarak papül ve püstül oluşmasına sebep olmaktadır (O'Neill ve Gallo, 2020). Bunun yanında bazı *C. acnes* suşlarının diğerlerine kıyasla daha yüksek inflamatuar potansiyele sahip olduğu ve özellikle tip IA1 suşlarının inflamatuar akne lezyonlarında daha sık izole edildiği bildirilmiştir (Dréno ve diğerleri, 2018). Güncel çalışmalar ayrıca *C. acnes*'in biyofilm oluşturma kapasitesinin, bakterinin foliküler yapılar içinde persiste olmasına ve antibiyotik toleransının artmasına katkı sağladığını; bunun da kronik inflamasyon ve tedaviye direnç gelişiminde rol oynayabileceğini göstermektedir (Platsidaki ve Dessinioti, 2018). Akne dışında *C. acnes*'in postinflamatuar hiperpigmentasyon, folikülit ve nadiren implant ilişkili deri enfeksiyonlarında da patojenik rol oynayabileceği belirtilmiş, bu durum bakterinin yalnızca kommensal değil, uygun koşullarda fırsatçı bir patojen olduğunu ortaya koymuştur (Dagnelie ve diğerleri, 2019).

Lactobacillus kökenli postbiyotiklerin *C. acnes* çoğalmasını baskıladığı ve inflamatuar sitokin ekspresyonunu azalttığı gösterilmiştir (Chung ve diğerleri, 2022). Ayrıca topikal probiyotiklerin sebum dengesi ve deri mikrobiyota kompozisyonunu düzenlediği bildirilmiştir (O'Neill ve diğerleri, 2022). Bu etkiler akne şiddetinde klinik iyileşme ile ilişkilendirilmiştir.

Micrococcus luteus

M. luteus Gram pozitif, aerob, katalaz pozitif kok formunda bir bakteridir ve insan derisinin normal mikrobiyotasında yer almaktadır (Becker ve diğerleri, 2020). Genel olarak klinik bağlamda primer bir dermatolojik patojen olarak kabul edilmese de immünsupresyon, invaziv girişimler veya bariyer bütünlüğünün zarar gördüğü durumlarda fırsatçı patojen olarak davranabilmektedir (Lee ve diğerleri, 2020). Literatürde cerrahi alan enfeksiyonları, kateter ilişkili deri enfeksiyonları ve kronik yara yüzeylerinden izolasyonu rapor edilmiştir. Bu durum bakterinin uygun konak koşullarında inflamatuar süreci artırabileceğini göstermektedir (Zhu ve diğerleri, 2021).

Deneysel açıdan ise *M. luteus*, düşük patojenitesi ve iyi karakterize edilmiş hücresel yapısı nedeniyle mikrobiyolojik araştırmalarda sıklıkla tercih edilen bir bakteridir (Shi ve diğerleri, 2023). Deri araştırmalarında *M. luteus*'un sınırlı inflamatuar yanıt oluşturması, daha virülan türlerle karşılaştırmalı deneysel tasarımlara olanak tanımakta ve kolonizasyon modellerinde kontrol bakterisi işlevi görmesini sağlamaktadır. Bu nedenle *M. luteus*, dermatolojik açıdan yüksek virülanslı bir ajan olmamakla birlikte, deri bariyer bütünlüğü, biyofilm dinamikleri ve antimikrobiyal ajanların değerlendirilmesi gibi konularda deneysel araştırmalar için güvenli ve öğretici bir mikroorganizma olarak kabul edilmektedir (Banfi ve diğerleri, 2024).

Staphylococcus aureus

S. aureus, sağlıklı bireylerin deri, burun ve mukoz zarlarında bulunan kommensal, fırsatçı, Gram pozitif kok şekilli bir patojendir. Deri enfeksiyonlarının küresel boyutta yaygın bir sebebidir. 1960'lı yıllardan beri metisiline dirençli *Stapyloccoccus aureus* (MRSA) hastanede yatan hastalarda sıklıkla gözlenmektedir (Linz ve diğerleri, 2023). Klinik tabloları çok çeşitli olup özellikle çocuklarda yüzeyel püstüler lezyonlara sebep olan impetigo, foliküllit, fronkül, karbonkül, selülit, deri apseleri ve cerrahi yara enfeksiyonları olmak üzere pek çok enfeksiyondan sorumludur (Del Giudice, 2020). Bunlara ek olarak *S. aureus*, toksin-aracılı dermatolojik sendromlara da yol açabilmektedir. Bunların klasik örnekleri arasında büllöz impetigo ve stafilokoksik haşlanmış deri sendromu yer almaktadır. Bu tablolar, bakterinin eksfoliatif toksinleri aracılığıyla epidermal hücreler arasındaki bağlantıları hedef almasıyla karakterizedir ve özellikle pediatrik popülasyonda ciddi klinik bulgularla seyredebilmektedir. Ayrıca atopik dermatit (AD) gibi kronik inflamatuar

dermatozlarda *S. aureus* kolonizasyonu hem deri bariyerini bozarak hem de inflamatuar yanıtı artırarak hastalık şiddetini olumsuz etkileyebilmektedir. Bu sebeple AD'li bireylerin yaklaşık üçte birinden fazlasında *S. aureus* kolonizasyonu bildirilmiştir. Tedavi ve yönetimde antibiyotik duyarlılık profillerinin bilinmesi, dirençli suşların artan prevalansı göz önünde bulundurulduğunda, stratejik antibiyotik seçimi açısından önemli olmaktadır (Elizalde-Jimenez, 2024; Koumaki ve diğerleri, 2025).

L. rhamnosus ve *L. plantarum* suşlarının *S. aureus* adezyonunu ve α-toksin ekspresyonunu azalttığı gösterilmiştir (Nakatsuji ve diğerleri, 2017). Ayrıca probiyotik uygulamasının β-defensin üretimini artırarak konak savunmasını güçlendirdiği ve T yardımcı hücreleri-2 (Th-2) inflamasyonunu dengelediği bildirilmiştir (Mazziotta ve diğerleri, 2023). Bu mekanizmalar, probiyotiklerin *S. aureus* ilişkili dermatolojik tabloların kontrolünde potansiyel rolünü desteklemektedir.

Staphylococcus epidermidis

S. epidermidis, Gram pozitif, koagülaz negatif, fakültatif anaerob kok şekilli bir bakteri olup insan derisinin en yaygın kommensal bakterilerinden biri olarak bilinmektedir. Genellikle *stratum korneum* ile kıl foliküllerinde kolonize olmaktadır (Qi ve diğerleri, 2025). Deri mikrobiyotasının dengesinin korunmasında ve bağışıklık sisteminin modülasyonunda önemli rolleri vardır. Normal koşullarda *S. epidermidis* deri bariyer fonksiyonuna katkı sağlayan moleküler etkileşimler ile konak sağlığını desteklemektedir. Bazı çalışmalarda bu bakterinin ürettiği enzimlerin epidermal seramid sentezini arttırdığı ve transepidermal su kaybını (TESK) engellediği gözlenmiştir (Zheng ve diğerleri, 2022). Deri üzerinde yararlı etkilerinin olmasının yanı sıra uygun konak koşullarında özellikle immünsuprese bireylerde fırsatçı patojen olarak davranarak yara yüzeylerinde ve kronik yaralarda biyofilm oluşturmaktadır. Bu etkisi sebebiyle hastalığın seyrini kötüleştirebilmekte ve iyileşmeyi geciktirebilmektedir (Dinic ve diğerleri, 2024). *S. epidermidis'in* deri üzerine etkisi aynı zamanda konak bağışıklık sistemi ile çift yönlü bir etkileşim içermektedir. Bazı suşlar inflamasyonu sınırlandırarak bağışıklık toleransını arttırabilirken, diğer suşlar inflamatuar sinyalleri tetikleyebilmekte ve bu durum özellikle AD gibi mikrobiyota dengesizliği ile seyreden deri hastalıklarında daha belirgin hale gelebilmektedir (Qi ve diğerleri, 2025).

Probiyotik mikroorganizmalardan olan deri kommensal *S. epidermidis*'in antimikrobiyal peptid üretimini artırarak *S. aureus* kolonizasyonunu azalttığı gösterilmiştir (Nakatsuji ve diğerleri, 2017). Bu durum probiyotiklerin mikrobiyota kompozisyonunu faydalı yönde modüle ettiğini düşündürmektedir.

Streptococcus pyogenes

S. pyogenes insanlarda özellikle deri ve üst solunum yolu enfeksiyonlarına yol açan, *β*-hemolitik, Gram pozitif bir patojendir. Deri enfeksiyonları açısından bakıldığında, en sık impetigo, erizipel, selülit ve daha ağır vakalarda nekrotizan fasiit gibi invaziv yumuşak doku enfeksiyonlarından sorumludur. Bakterinin patojenitesi büyük ölçüde yüzey M proteini, streptolizin O ve S, streptokinaz, hiyalüronidaz ve süperantijen özellikli ekzotoksinler gibi virülans faktörlerine dayanmaktadır. M proteini fagositozu inhibe ederek kompleman aracılı eliminasyonu engellerken, streptolizinler konak hücre membranında porlar oluşturarak hücre lizisine neden olmaktadır. Süperantijen toksinleri ise aşırı sitokin salınımını tetikleyerek şiddetli inflamasyona ve bazı durumlarda streptokokal toksik şok sendromuna zemin hazırlamaktadır (Walker ve diğerleri, 2014; Nelson ve diğerleri, 2016).

Son yıllarda yapılan çalışmalar, *S. pyogenes*'in sadece akut enfeksiyon etkeni değil, aynı zamanda deri bariyer bütünlüğü bozulduğunda hızla invazyon kapasitesi kazanan bir patojen olduğunu göstermektedir. Özellikle AD'li bireylerde veya travmatik deri hasarında bakterinin adezyon ve invazyon yeteneği artarak epitel hücreleri ile etkileşimi sonucunda IL-1β, IL-6 ve TNF-α gibi proinflamatuar sitokinlerin üretimi belirgin şekilde yükselmektedir (Wang ve diğerleri, 2021).

L. plantarum ve *L. rhamnosus*'un sentezlediği glikolipid yapılı bileşiklerin *S. pyogenes* biyofilmlerinde bakterinin canlılığını azalttığı görülmüştür (Gomez-Meija ve diğerleri, 2024).

Candida albicans

C. albicans, insan mikrobiyotasının bir üyesi olan ancak uygun koşullarda fırsatçı patojen özelliği gösteren dimorfik bir maya mantarıdır. Normal şartlarda deri ve mukozal yüzeylerde kommensal olarak bulunabilmekle birlikte, konak bağışıklığının zayıflaması, antibiyotik

kullanımı veya bariyer bütünlüğünün bozulması gibi durumlarda patojenik forma geçebilmektedir. *C. albicans*'ın en önemli virülans özelliklerinden biri, maya formundan hif ve psödohif formuna geçebilme yeteneğidir; bu morfolojik dönüşüm doku invazyonunu ve epitel hasarını kolaylaştırmaktadır (Noble ve diğerleri, 2017).

Deri enfeksiyonları açısından değerlendirildiğinde *C. albicans*; intertrigo, paronişi, diyaper dermatiti ve özellikle immün sistemi baskılanmış bireylerde yaygın kutanöz kandidiyazis tablolarına yol açabilmektedir. Bakteriyel patojenlerden farklı olarak, bu mantar hem adezin proteinleri aracılığıyla epitel yüzeye tutunmakta, hem de salgıladığı enzimler sayesinde doku bütünlüğünü bozabilmektedir. Ayrıca biyofilm oluşturma kapasitesi, antifungal ajanlara karşı toleransı artırmakta ve kronikleşen enfeksiyonlarda tedavi başarısını azaltmaktadır (Richardson ve Lass-Flörl, 2008).

Son yıllarda yapılan çalışmalar, *C. albicans*'ın yalnızca enfeksiyon etkeni olmadığını, aynı zamanda konak immün yanıtını güçlü biçimde modüle ettiğini göstermektedir. Epitel hücreleriyle etkileşimi sonucunda IL-1β, IL-6 ve IL-17 ekseninde inflamatuar yanıt tetiklenmekte; özellikle bariyer hasarı bulunan deri modellerinde inflamasyon belirgin şekilde artmaktadır (Sawada ve diğerleri 2021; Iwasava ve diğerleri, 2022). Bu özellikleri nedeniyle *C. albicans*, hem bariyer fonksiyon bozukluklarının incelenmesinde hem de antifungal veya immünomodülatör ajanların etkinliğinin değerlendirilmesinde yaygın olarak kullanılan önemli bir deneysel model mikroorganizmadır.

C. albicans'a karşı probiyotikler laktik asit ve H_2O_2 üretimi ile *C. albicans*'ın hif oluşumunu baskılamakta ve biyofilm gelişimini azaltmaktadır (Parolin ve diğerleri, 2021).

2.4. Probiyotiklerin Genel Tanımı ve Özellikleri, Etki Mekanizmaları

Takviye edici gıda ürünleri formunda piyasada yer alan probiyotikler, 1953 yılında Werner Kollath tarafından tanımlanmış ve Latince 'pro' ve 'bios' kelimelerinin birleşiminden türetilmiştir. Tarihte farklı medeniyetlerde de kullanımı bulunan probiyotikler, Dünya Sağlık Örgütü'nün tanımına göre, yeterli miktarda uygulandıklarında konak organizmaya sağlık yararları sağlayan mikroorganizmalar olarak tanımlamıştır (Latif ve diğerleri, 2023). Günümüzde Probiyotik ve Prebiyotikler Uluslararası Bilimsel Derneği (ISAPP) tarafından prebiyotik teriminin tanımı da yapılmıştır. Bu dernek prebiyotikleri "Gastrointestinal

mikrobiyotanın bileşiminde ve/veya aktivitesinde belirli değişikliklere yol açan ve böylece konakçı sağlığına fayda sağlayan seçici olarak fermente edilmiş bir bileşen" olarak tanımlamıştır (Horasan ve diğerleri, 2024). Probiyotik terimi canlı mikroorganizmaları temsil ederken, prebiyotikler ise konakta bulunan yararlı mikroorganizmalar için besin görevi gören canlı olmayan maddeler olarak tanımlanmaktadır (Gibson ve diğerleri, 2017).

Deri, ağız boşluğu, gastrointestinal sistem, ürogenital sistem gibi vücut bölümlerinin kendilerine özgü mikroflorası bulunmaktadırlar. Yararlı ve mikroflorayı oluşturan mikroorganizmaların vücuda ilk kolonizasyonu doğum sırasında gerçekleşmekte ve doğumla beraber vajinada yaygın olarak bulunan ve yavruya geçen *Lactobacillus* bakterileriyle beraber bağırsak florası oluşmaya başlamaktadır. Sonrasında anne tarafından emzirilen yavrularda süt emme sırasında annenin derisinden geçen bakteriler de floranın gelişmesine katkı sağlamaktadır. Ayrıca, yapılan bir çalışmaya göre annenin bağırsaklarında yaşayan bir grup mikroorganizmanın hamileliğin son döneminde annenin bağırsaklarından meme bezlerine geçtiği öne sürülmektedir (Fernandez ve diğerleri, 2013).

Yeterli miktarda verildiğinde bağırsaktaki mikrobiyal homeostazı sağlayan, canlı, patojenik olmayan mikroorganizmalar probiyotik olarak adlandırılmaktadır. Bir mikroorganizmanın probiyotik olarak nitelendirilebilmesi için asidik pH ile deforme olmayan, safra ve pankreas sıvılarına toleransı olan, bağırsak epitel hücrelerine yapışarak burada tutunan, konak hücreye zarar vermeyen özellikte olmalıdır. Bu özellikler probiyotiklerin gastrointestinal sistemde hayatta kalarak bağırsak dengesini düzenlemesini sağlamaktadır (Stavropoulou ve Bezirtzoglou, 2020). Probiyotik mikroorganizmalar konağa zarar vermemesi açısından genellikle insan kökenli olmalı, bunun yanı sıra hem gıdanın geçirdiği teknolojik süreçlerden hem de gastrointestinal sistemden geçişleri sırasında canlılıklarını korumalıdırlar. Aynı zamanda probiyotiklerin patojenik mikroorganizmalara karşı rekabetçi olmaları, antibiyotik maddelere karşı dirençli olmaları da aranan önemli özellikleri arasındadır. Probiyotik mikroorganizmalar liyofilizasyon ve fermente ürünler aracılığıyla canlılıklarını ve özelliklerini koruyabilmektedirler (Ballini ve diğerleri, 2023).

Başlıca probiyotik suşları arasında *Lactobacillaceae* familyasından (*L. acidophilus, L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus, L. gasseri, L. crispatus, Lacticaseibacillus rhamnosus, L. casei, Lactiplantibacillus plantarum, Limosilactobacillus reuteri, Levilactobacillus brevis, Ligilactobacillus salivarius*), *Bifidobacteria* spp.'den (*Bifidobacterium*

animalis subsp. *infantis, B. longum, B. bifidum* ve maya mantarlarından *Saccharomyces boulardii* sayılabilir. Çizelge 2.1'de sık kullanılan bazı probiyotik mikroorganizmalar verilmiştir. Ayrıca diğer bakteri türlerinden bazı suşlar örneğin, *Lactococcus lactis, Pediococcus mesenteroides, Enterococcus faecium, Streptococcus thermophilus, Bacillus subtilis, Bacillus coagulans, Clostridium butyricum, Escherichia coli, Bacillus clausii)* probiyotik olarak kullanılmaktadır (Fijan ve diğerleri, 2019).

Çizelge 2.1. Probiyotik Mikroorganizmalar (Keskin ve diğerleri, 2021)

***Lactobacillus* türleri**	*L. cellobiosus, L. delbruecki, L. brevis, L. acidophilus, L. reuteri, L. curvatus, L. fermantum, L. plantarum, L. jonhsonii, L. rhamnosus, L. helveticus, L. salivarius, L. gasseri, L. casei, L. lactis, L. paracasaei*
***Bifidobacterium* türleri**	*B. adolescentis, B. bifidum, B. breve, B. infantis, B. longum, B. thermophilum, B. lactis, B. angulatum, B. catenulatum, B. dentium, B. gallicum, B. pseudocatenulatum, B. scardovii*
***Bacillus* türleri**	*B. subtilis, B. clausii, B. pumilus, B. lentus, B. licheniformis, B. coagulans*
***Bacteriodes* türleri**	*B. capillus, B. suis, B. ruminicula, B. amylophilus*
***Pediococcus* türleri**	*P. cerevisiae, P. acidilactici, P. pentosaceus*
***Propionibacterium* türleri**	*P. shermanii, P. freudenreichii*
***Leuconostoc* türleri**	*L. mesenteroide sssp. mesenteroides*
***Aspergillus* türleri**	*A. niger, A. oryzae*
***Saccharomyces* türleri**	*S. cerevisiae*
***Candida* türleri**	*C. torulopsis*

Yapılan çalışmalarda probiyotiklerin başlıca özellikleri arasında antimikrobiyal etki göstermesi, bağırsak ve sindirim fonksiyonlarını düzenlemesi, deri, sindirim ve ürogenital sistemde bulunan mikrobiyal florayı düzenlemesi, bazı vitaminlerin emilimini arttırması ve serbest radikallerle mücadele etmesi yer almaktadır (Saadat ve diğerleri, 2019; Rizzoli ve Biver, 2020; Kalfazade ve Özdemir, 2023). Probiyotikler gastrointestinal sistemde patojen mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal bileşikler sentezleyerek bağırsak mikrobiyotasını stabilize eder ve kolonu patojen mikroorganizmalara karşı korurlar. Probiyotikler tarafından sentezlenen ve 30-60 aminoasitten oluşan bu antimikrobiyal bileşikler bakteriyosin olarak adlandırılmaktadır. Bakteriyosinlerin, bakteriyel sitoplazmik membranlara etki ederek *Clostridium difficile, Shigella, Helicobacter pylori* gibi türlerin büyümesini engellediği gösterilmiştir. Bununla beraber antibiyotik kullanımı sonrası oluşan diyare, konstipasyon, spazm gibi bağırsak problemlerini önlemeye yardımcı olmaktadırlar (Diaz ve diğerleri, 2019; Kalfazade ve Özdemir, 2023).

Probiyotikler, bazı vitaminlerin yararlı etkilerine benzer etkiler gösterebilmektedir. Rizzoli ve Biver (2020) tarafından yapılan bir çalışmada, hayvan modellerinde probiyotiklerin osteoklastlar tarafından kemik rezorbsiyonunu ve osteoblastlar tarafından meydana gelen kemik oluşumunu düzenlediği gözlemlenmiştir. Buna bağlı olarak östrojen eksikliği, diyabet veya glukokortikoid tedavileri sonucu gözlenen kemik kaybını önlemektedirler. Probiyotiklerin bu etkileri, pro-enflamatuar sitokinleri (TNFα, IL-1β) ve Nükleer faktör-kappa B ligandının reseptör aktivatörü (RANKL) ekspresyonunu azaltmasıyla ilişkilendirilmektedir (Rizzoli ve Biver, 2020).

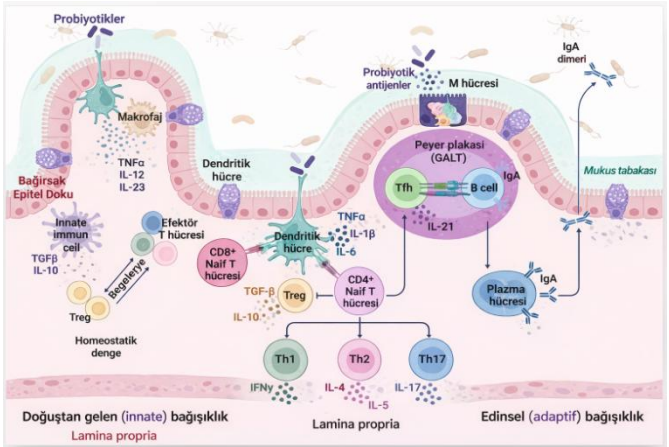
Probiyotiklerin diğer bir etki mekanizması olarak, bağırsak lümeninde safra asitleriyle etkileşime girerek ve safra asidi metabolizmasını değiştirerek kolesterol emilimini azaltması sayılabilmektedir (Plaza-Diaz ve diğerleri, 2019). Probiyotiklerin hipokolesterolemik etkisi türe özgüdür ve farklı şekillerde etki göstermektedir. Probiyotikler, kolesterolün bir kısmına bağlanarak ve hücresel membranlarına entegre ederek kolesterolün bağırsaktan uzaklaştırılmasını sağlayabilir. Başka bir mekanizma olarak, probiyotiklerin kolesterolü koprostanole indirgeyerek dışkıyla atılmasını sağladığı ve potansiyel olarak bağırsakta kolesterol emilimini azalttığı öne sürülmüştür. Micheal ve diğerlerinin (2017) yaptığı bir çalışmada, yüksek yağlı bir diyetle beslenen vahşi tip C57BL/6J fareleri ile yapılan bir çalışmada *L. plantarum* ile 2 haftalık takviyenin, plazma toplam kolesterol seviyelerinde önemli düşüşlerle sonuçlandığı görülmüştür (Michael ve diğerleri, 2017).

Probiyotiklerin, diyabet hastalarında bozulmuş metabolizmayı düzenlemede etkili olduğu görülmüştür. Yapılan çalışmalarda açlık glukozunu düşürdükleri gözlemlenmiştir. Probiyotikle desteklenen diyetlerin hiperglisemi, glikoz intoleransı gibi durumları baskılayabileceği ve oksidatif stresi önemli ölçüde azaltarak diyabet ve diyabetle gelişen komplikasyonları azaltmada önemli olabileceği belirlenmiştir (Li ve diğerleri, 2023; Li ve diğerleri, 2024).

Probiyotiklerin diğer bir önemli etki mekanizmaları arasında immünomodülatör aktiviteleri sayılmaktadır. Çalışmalarda probiyotiklerin bağışıklık ile ilgili genlerin ekspresyonu ile nükleer faktör kappa B (NF-κB), mitojenle aktive edilen protein kinaz (MAPK), IL-6, IL-8, IL-10, TNF-α gibi biyobelirteçlerin sinyal yolaklarına etki ederek bağışıklık cevabının oluşmasında rol oynadığı bulunmuştur (Peters ve diğerleri, 2019). Probiyotiklerin bu etkilerini dendritik hücreleri özgün bir şekilde uyararak ve T hücrelerini farklı şekilde

polarize ederek gösteriyor olabileceği düşünülmektedir. Birkaç *L. rhamnosus* suşunun T hücrelerini indükleyerek irritabl bağırsak sendromu ve multiple skleroz gibi bazı kronik inflamatuvar hastalıkların klinik semptomlarını iyileştirebildiği gösterilmiştir (Peters ve diğerleri, 2019). Ayrıca probiyotikler T hücrelerini indüklemesinin yanı sıra B hücrelerini İmmunoglobulin A (IgA) üretmeye teşvik ederek de bağırsak bağışıklık fonksiyonunu iyileştirebilmektedirler. Bu türler arasında *L. casei, L. acidophilus, L. rhamnosus, L. plantarum* ve *L. lactis*'in oral yolla uygulanmasının bağırsak IgA üreten hücre sayılarını, uygulanan doza bağımlı olarak arttırdığı gözlemlenmiştir (Mazziotta ve diğerleri, 2023). Yapılan ek çalışmalar da probiyotik mikroorganizmaların IgA salınımını tetikleyebileceğini bildirmiştir (Gao ve diğerleri, 2023).

Probiyotikler, bağırsak yüzeyinde bağışıklık hücreleriyle etkileşerek bağışıklık sistemini düzenler. Probiyotiklerin bağırsak yüzeyinde bulunan bağışıklık hücreleri ile etkileşimleri, Şekil 2.3'de gösterilen bağırsak epitel hücreleri ve onların altında yer alan *lamina propria*'da gerçekleşir. Probiyotikler epitel hücrelerine bağlanır ve bu hücreleri patern tanıma reseptörleri aracılığıyla uyarır. Bunun sonucunda bağışıklık dengesini koruyan T düzenleyici (Treg) hücreler aktive olur. Bağırsak antijenleri, Peyer plakları üzerindeki M hücreleri aracılığıyla dendritik hücrelere taşınır. Dendritik hücreler, T hücrelerini farklı bağışıklık yanıtlarına (Th1, Th2, Th17 veya Treg) yönlendirir. Ayrıca probiyotikler, B hücrelerinin IgA üreten plazma hücrelerine dönüşmesini destekler. Üretilen IgA antikorları mukus tabakasına geçerek bakterilerin bağırsak yüzeyine tutunmasını engeller ve bağırsak bağışıklık dengesinin korunmasına yardımcı olur (Mazziotta ve diğerleri, 2023; Liu ve diğerleri, 2022).



Şekil 2.3. Probiyotiklerin bağırsak bağışıklığı üzerindeki etkileri ve immün hücre etkileşimleri (Maziotta ve diğerleri, 2023)

İmmun sistem mekanizmalarındaki bazı aksaklıklar alerji oluşumuna neden olmaktadırlar. Gıda alerjisi, egzama, astım, rinit, alerjik konjonktivit gibi hastalıklarda bozulan immun sistem, bağırsak mikrobiyatası tarafından iyileştirilebilmektedir. Bu konuda yapılan bazı çalışmalarda *Lactobacillus* ve *Bifidiobacterium* türleri kullanıldığında özellikle gıda alerjisi ve egzamada önemli iyileşmeler olduğu bildirilmiştir (Berni Canani ve diğerleri, 2019; Schmidt ve diğerleri, 2019).

Probiyotiklerin kolonda kanser oluşumunu ve kimyasal olarak indüklenen tümörleri azaltabileceğini gösteren çalışmalar da mevcuttur. Probiyotiklerin bu etkilerinin, bağırsaklar üzerindeki düzenleyici etkisinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Probiyotiklerin apoptotik yolları indükleyerek tümör hücrelerinin büyümesini engelleyebileceği öne sürülmektedir. Probiyotiklerin oral yoldan verilmesi, mutajen ve karsinojen üretiminde rol oynayan genleri baskılayıp *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* gibi probiyotik bakteri konsantrasyonlarını artırarak bağırsak mikroflorasını normalleştirmektedirler. Bunun yanı sıra DNA'nın oksidatif hasardan korunmasına sebep olan lokal ve sistemik immün ve anti inflamatuar aktiviteleri geliştirmektedirler (Aydın ve Konuşkan, 2022).

2.5. Probiyotikler ve Deri Sağlığı Üzerindeki Etkileri

Probiyotik ve prebiyotik takviye edici gıdalar, sadece sindirim sisteminin düzenlenmesi için değil deri sağlığı için de kullanılmaktadırlar. Cildin nem kaybının önlenmesi ve nemlendirilmesinde önemli rol oynaması, en belirgin katkılarının başında gelmektedir. Cildin sebum seviyesinin dengeye ulaşmasında, deri pH seviyesinde iyileşme sağlanmasında ayrıca ultraviyole radyasyon (UVR) kaynaklı oluşan deri hasarının iyileştirilmesi ve oluşacak hasarın engellemesi bakımından da dikkat çekici özelliklere sahip oldukları bilinmektedir (Kıroğlu ve Güllü, 2023).

Probiyotik ve türevleri, derinin TESK seviyesini azaltarak cildin nem kaybının önlenmesine katkı sağlamaktadır. Cildin bariyer fonksiyonunu da düzenleyerek deri bütünlüğünü ve sağlıklı görünümü sağlamaktadırlar. Jwo ve diğerleri (2023), tarafından gerçekleştirilen sistematik derleme ve meta-analiz çalışmasında, oral probiyotik takviyesinin deri foto-yaşlanması ve deri bariyer fonksiyonu üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir. Çalışmaya yalnızca randomize kontrollü klinik araştırmalar dahil edilmiş olup, sağlıklı yetişkin bireylerde probiyotik kullanımının deri hidrasyonu, TESK, elastikiyet, kırışıklık derinliği ve

kolajen düzeyleri üzerindeki etkileri analiz edilmiştir. Meta-analiz sonuçlarına göre probiyotik takviyesi, deri nem oranında anlamlı artış ve TESK değerlerinde azalma ile ilişkilendirilmiş; bu durum deri bariyer fonksiyonunun iyileştiğini göstermiştir. Ayrıca bazı çalışmalarda deri elastikiyetinde artış ve kırışıklık derinliğinde azalma bildirilmiştir. Bu etkilerin, probiyotiklerin bağırsak mikrobiyotasını modüle ederek sistemik inflamasyonu ve oksidatif stresi azaltması, matriks metalloproteinaz aktivitesini baskılaması ve kolajen yıkımını sınırlandırması ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir (Jwo ve diğerleri, 20223).

Deri sağlığı için kullanılan probiyotikler, oral yoldan alınabildiği gibi, topikal olarak da uygulanabilmektedir. Oral alınan probiyotik takviyeleri, bağırsak-deri eksenini düzenleyerek deri hastalıklarının tedavisine iyi gelebilmektedir. Bağırsak mikrobiyotası ile deri mikrobiyotasının birbiriyle bağlantılı olduğu çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir. Bağırsak mikrobiyotasındaki bozukluklar akne, AD, sedef hastalığı ve rozasea gibi deri hastalıklarının etiyolojisinde etkili olabilmektedir (Gao ve diğerleri, 2023; Shirkan ve diğerleri, 2024).

Rozasea hastalığına sahip bireylerde, inflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunu arttıran Toll benzeri reseptör-2 normalden fazla regüle olarak bağışıklık sisteminin aşırı duyarlı hale gelmesine; bunun sonucu olarak inflamasyon artışı, kızarıklık, yanma ve hassasiyete neden olmaktadır. Yapılan bir çalışmada kombine probiyotik ve doksisiklin tedavisinin inflamasyonu hafiflettiği, hastalık seyrini iyileştirdiği, derideki sebum seviyesini azalttığı; bunun yanı sıra dışkı mikrobiyotasındaki antibiyotik direnç genlerinin azalmasına sebep olduğu gösterilmiştir (Yu ve diğerleri, 2024).

AD ve seboreik dermatit gibi deri hastalıklarında probiyotikler, deri seramid düzeylerini arttırarak eritem, pullanma, kaşıntı gibi semptomların azalmasına yardımcı olmaktadırlar (Knackstedt ve diğerleri, 2020). *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* türlerinin çocuk ve bebeklerdeki AD tedavisine olan etkilerinin incelendiği bir çalışmada, probiyotik kullanan gruplarda, hastalık seyrinde anlamlı bir iyileşme tespit edilmiştir. Bu etkilerin probiyotiklerin bağırsak-deri eksenini modüle etmesi, Th1/Th2 immün dengesini sağlaması, bağırsak bariyer fonksiyonunu güçlendirmesi etkileriyle olabileceği düşünülmektedir (Gaikwad ve diğerleri, 2025). Axt-Gadermann ve diğerleri (2021) gerçekleştirdiği çift kör randomize başka bir çalışmada 22 hastaya 14 gün boyunca günlük olarak $9x10^9$ koloni oluşturan birim (KOB) canlı laktik asit bakterisi içeren 10 dakikalık banyo uygulanmıştır.

Sonuçlar SCORAD (AD değerlendirme parametresi) ile değerlendirilmiştir. Değerlendirme sonuçlarına göre AD yaygın semptomlarından olan kuruluk, kaşıntı, kızarıklık belirtilerinin anlamlı olarak azaldığı, bununla beraber deri mikrobiyomunda yararlı bakteri çeşitliliğinde artış olduğu gözlemlenmiştir (Axt-Gadermann ve diğerleri, 2021).

Bacillus indicus (HU36), *B. subtilis* (HU58), *B. coagulans* (SC208), *B. licheniformis* (SL307) ve *B. clausii* (SC109) probiyotik suşlarının kullanıldığı psöriazisli hastalar üzerinde yapılan bir çalışmada probiyotik/prebiyotik kombinasyonu takviye edilen grupta, kontrol grubuna göre PASI (Psoriazis Area and Severity Index) ve DLQI (Dermatology Life Quality Index) değerlerinde azalma gözlenmiştir. Bununla beraber 12 haftalık destek sonrası müdahale grubundaki 15 hastada dışkı analizi yapılmış ve bağırsak mikrobiyota çeşitliliğinin yararlı bakteriler açısından zenginleştiği tespit edilmiştir. Çalışma sonuçlarına göre probiyotik takviyesi sitokin seviyelerini düzenleyerek anti-inflamatuvar yanıtı iyileştirmiş ve hastalık semptomlarını hafifletmiştir (Buhaş ve diğerleri, 2023).

Probiyotikler, deri mikrobiyotasının dengelenmesi, deri bariyer lipidlerinin regülasyonu, oksidatif stresin baskılanması gibi mekanizmalarla deri üzerinde yaşlanma belirtilerinin yavaşlatılmasını hedeflemektedir. Laktik asit bakterilerinin deri yaşlanması üzerine etkilerini inceleyen başka bir çalışmada *L. plantarum* suşunu içeren topikal probiyotik bir merhemin etkileri incelenmiştir. 56 gün boyunca günde 2 kez 21 gönüllü kişiye merhem uygulanmış, çalışma sonunda deri hidrasyonunun arttığı, TESK'in azaldığı, deri elastikiyetinin artarak kırışıklıkların azaldığı tespit edilmiştir (Falholt Elvebakken ve diğerleri, 2023). Başka bir çalışmada ise *Nitromonas eutropha*'nın topikal uygulanması sonucunda, deri kırışıklıkları ve pigmentasyon üzerinde kozmetik iyileşme durumu değerlendirilmiştir. Prospektif olarak değerlendirilen bu klinik çalışmada 7 gün başında ve sonunda deneklerden fotoğraf alınarak deri pigmentasyonu, kırışıklık derinliği ve şiddeti değerlendirilmiştir. Değerlendirme sonucunda pigmentasyon ve kırışıklık parametrelerinin kısa süreli uygulamaya rağmen anlamlı şekilde azaldığı tespit edilmiştir (Notay ve diğerleri, 2019).

Probiyotiklerin akne lezyonlarına etkisinin incelendiği bir çalışmada *L. paracasei* kaynaklı probiyotik türev içeren bir losyonun, hafif-orta şiddetteki akne vulgaris hastalarına olan etkileri incelemiştir. 104 akne vulgaris hastasının dört haftalık tedavisinden sonra, hem probiyotik içerikli losyon grubunda hem de %2,5 benzoil peroksit grubunda eritem indeksi

ve inflamatuvar akne lezyon sayısı başlangıç değerlerine göre anlamlı ölçüde azalmıştır. Sonuçlara göre bu etkilerin, *L. paracasei* türevlerinin *C. acnes*'e karşı antimikrobiyal etkisi, proinflamatuvar sitokinlerin baskılanması, sebum üretiminin azalması, deri bariyer fonksiyonunun desteklenmesi gibi mekanizmalarla sağlandığı düşünülmektedir (Sathikulpakdee ve diğerleri, 2022). Başka bir çalışmada oral probiyotik kullanımının etkinliğini incelemek amacıyla, 12 haftalık, randomize, çift-kör, plasebo kontrollü klinik bir araştırma yapılmıştır. Çalışma sonucunda akne seyri ve lezyon sayısında plasebo gruba göre anlamlı ölçüde azalma gözlenmiştir (Eguren ve diğerleri, 2024).

Probiyotikler, vajinal *Candida* enfeksiyonlarında da iyileştirici rol almaktadır. Yapılan bir çalışmada topikal klotrimazol tedavisine ek olarak *L. accidophilus, L. rhamnosus* ve sığır laktoferrini içeren oral bir formülasyonun vajinal kandidiyazis semptomları ve tekrarlaması üzerine etkinliği değerlendirilmiştir. Tedavi sonrasında her iki grupta da semptomlarda belirgin bir iyileşme görülmüştür. Bunun yanı sıra yalnızca probiyotik ve laktoferrin uygulanan kadınlarda hastalık seyrinde belirgin bir iyileşme gözlendiği; 3 ve 6 aylık periyotlarda meydana gelen kaşıntı ve akıntıda da belirgin bir iyileşme görüldüğü tespit edilmiştir (Russo ve diğerleri, 2019).

Probiyotiklerin saç derisine de önemli etkilerinin olduğu bilinmektedir. Kafa derisindeki mikrobiyom dengesinin bozulması sonucu deride pullanma, kaşıntı gibi semptomlarla kendini gösteren kepek, probiyotik türevleri ile hafifletilebilmektedir. Bu bağlamda yapılan bir çalışmada, kepek şikayeti olan bireyler *Bifidobacterium lactis* parabiyotiği içeren şampuanı belirli haftalarda uygulamış; kepek şiddeti skoru, eritem derecesi, kaşıntı şiddeti gibi parametreler değerlendirilmiştir. Parabiyotik içeren şampuan kullanan grupta plasebo grubuna göre kepek şiddetinde anlamlı azalma gözlenmiştir (de Jesus ve diğerleri, 2023). Bu çalışma, probiyotik ve postbiyotik kavramları haricinde inaktive probiyotik olarak değerlendirilen parabiyotiklerin de bazı deri hastalıklarında etkili olabileceğini vurgulamaktadır.

Literatürde probiyotiklerin yara enfeksiyonları ve bu enfeksiyonları oluşturan patojen mikroorganizmalar üzerinde etkili olabileceği araştırılmıştır. Yara enfeksiyonlarını tedavide geleneksel antibiyotik tedavisine adjuvan olarak bakteriyofajlar, antimikrobiyal peptidler, oral-topikal probiyotikler, antikor tedavisi kullanılabilmektedir. Kronik yaralar, cerrahi yaralar, diyabetik ayak ülserleri, ağız yaraları, basınç yaraları gibi yaralarda probiyotikler

kullanılabilmektedir. Probiyotik ve türevlerinin yara iyileşmesine katkıları; patojen mikroorganizmalarla rekabet ederek biyofilm oluşumunu engellemeleri, bakteriyosinler gibi antimikrobiyal peptitler üretmeleri, ortam pH'ını düşürmek amacıyla laktik asit, hidrojen peroksit ve reuterin gibi maddeleri sentezlemeleri ve bu yolla patojenlerin quorum sensing mekanizmalarını inhibe etmeleri gibi çeşitli mekanizmalarla açıklanmaktadır (Badatula ve diğerleri, 2024; Fijan ve diğerleri, 2019; Knackstedt ve diğerleri, 2020).

2.6. *Bacillus clausii* ve Özellikleri

B. clausii, ya da bir diğer adıyla *Alkalihalobacillus clausii* olarak bilinen, Gram pozitif, çubuk şekilli, hareketli ve spor oluşturan bir bakteridir. Yaygın olarak toprakta bulunmakla beraber hem aerobik hem de anaerobik ortamlar dahil olmak üzere çeşitli çevresel koşullarda gelişebilmektedir (Garcia ve diğerleri, 2024). Sporlu yapısı sayesinde yüksek ısı, ışık, UV radyasyon, mide asidi ve safra tuzlarına maruz kalma gibi koşullara karşı dayanıklıdır. *Bacillus* suşları, gıda veya farmasötik preperatların bileşenleri olarak kullanıldıklarında işleme ve depolama sırasında stabil kalabilmektedir (Khoklova ve diğerleri, 2023). Geniş spektrumlu antibiyotik direnci sayesinde tetrasiklin, siprofloksasin gibi antibiyotiklerin kullanımı sonrası gelişen diyare semptomlarını önlemede önemli bir bakteridir. *B. clausii*'nin önemli bir diğer özelliği ise sahip olduğu antibiyotik direncini patojen mikroorganizmalara aktarmamasıdır (Ghelardi ve diğerleri, 2022).

B. clausii'nin probiyotik etkileri arasında gastrointestinal sistemde patojen mikroorganizmaların sayılarını azaltarak mikrobiyotayı düzenlemesi sayılmaktadır. Kolit fareler üzerinde yapılan bir çalışmada plaseboya kıyasla *S. aureus, Clostridium innocuum, P. aeruginosa* ve çeşitli *Enterobacteriaceae* sayılarında önemli azalmalar gözlenmiştir (Khoklova ve diğerleri, 2023; Pirozzi ve diğerleri, 2023). Bunun yanı sıra *B. clausii,* akut diyare, antibiyotik kaynaklı diyare, Rotavirüs kaynaklı diyare, nekrotizan enterokolit gibi hastalıkların önlenmesinde; *H. pylori* enfeksiyonu olan hastalarda bulantı ve epigastrik ağrının azaltılmasında; çocuklarda görülen irritabl bağırsak sendromu semptomlarının hafifletilmesinde ve sebebi bilinemeyen gastrointestinal rahatsızlıkların giderilmesinde probiyotik olarak önemli etki göstermektedir (Wong-Chew ve diğerleri, 2022). Diyarede gözlenen bağırsak hareketliliğini azaltma, ortalama dışkılama sayısını, sulu dışkılama sıklığını azaltma ve buna bağlı olarak hastalık seyrini iyileştirmede etkili olduğu görülmüştür (Acosta-Rodriguez-Bueno ve diğerleri, 2022). Rotavirüs enfeksiyonlu

çocuklarda *B. clausii* kullanımının etkinliğini inceleyen bir çalışmada 1-5 yaş arası 42 çocuk incelenmiştir. Standart tedavi alan 20 çocuk yanında kalan 22 kişi *B. clausii* içeren probiyotik tedavisi almıştır. Hastalar değerlendirilirken diyare, ateş, kusma, deri turgorunda azalma, umblikal ve epigastrik bölgede gözlenen hassasiyet semptomları dikkate alınmış ve test grubunda kontrol grubuna göre bu semptomlarda anlamlı azalmalar gözlenmiştir (Smiian ve diğerleri, 2020). Yapılan çalışmalardan elde edilen kanıtlar, *B. clausii*'nin bağışıklık hücreleri, sitokin salgılanması ve immünoglobulin düzeyleri üzerinde immünomodülatör etki gösterdiğini ortaya koymaktadır (Acosta-Rodríguez-Bueno ve diğerleri, 2022; Pirozzi ve diğerleri, 2023). İmmünomodülatör ve antioksidatif aktivite fonksiyonuyla ilgili fareler üzerinde yapılan bir çalışmada, kolitli farelerde sulfasalazin tedavisine destek olarak kullanılan probiyotiğin kolon dokusunda IL-1β, TNF-α ve NFkB gibi proinflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunu azalttığı gözlenmiştir. Ayrıca, kolon dokusunda glutatyon, glutatyon-S-transferaz, malondialdehit, katalaz, nitrik oksit gibi antioksidan seviyeleri de incelenmiş olup, *B. clausii* uygulamasından sonra katalaz ve glutatyon-S-transferaz seviyelerinin önemli ölçüde arttığı tespit edilmiştir (Zainab ve diğerleri, 2024). *B. clausii*'nin probiyotik olarak sınıflandırılmasını sağlayan etki mekanizmaları arasında, mukozal bariyer fonksiyonunu sağlaması, mukus üretimi sayesinde bağırsak çeperine yapışarak burada kolonize olması, safra tuzları ve mide asidi gibi salgılara dirençli olması gibi özellikleri sayılabilmektedir. Bununla beraber *B. clausii*, aminoglikozidler, makrolidler, linkozamidler, kloramfenikol, streptogramin B, rifampisin ve streptomisine karşı dirençlidir; bu antibiyotiklere dirençli olmasını sağlayan genleri diğer bakteri türlerine aktarmadığı görülmüştür (Acosta-Rodriguez-Bueno ve diğerleri, 2022; Khoklava ve diğerleri, 2023). Bu özelliği sayesinde antibiyotik tedavisi sonrası gözlenen gastrointestinal yan etkilerin önlenmesinde *B. clausii* antibiyotiklerle beraber kullanılabilmektedir. Pirozzi ve diğerleri (2023) yaptığı bir çalışmada, C57/Bl6J farelerine beş gün boyunca oral yoldan yüksek doz seftriakson uygulanmış ve antibiyotiğe bağlı bağırsak hasarı modeli oluşturularak *B. clausii*'nin bu hasara etkileri incelenmiştir. Tedavi sonunda probiyotiğin kolon bütünlüğünü korumak amacıyla bağırsaktaki sıkı bağlantı proteinlerinin ekspresyonunu arttırdığı gözlenmiş, bağırsak epitel onarımı için ise mukus sentezinden sorumlu salgı ürünlerinin gen transkripsiyonunu arttırdığı tespit edilmiştir (Pirozzi ve diğerleri, 2023).

Çocuklarda viral diyare vakalarında ve yetişkinlerde *H. pylori* oral rehidratasyon tedavisine destek olarak kullanılabilmektedir (Wong-Chew, 2022). Çocuklarda rotavirüs kaynaklı

diyare vakalarında mukozal bariyer fonksiyonunu iyileştirmek amacıyla mukin-5AC ve sıkı bağlantı proteinlerinden olan okludin ve zonula occludens-1'in ekspresyonunu artırmaktadır (Paparo ve diğerleri, 2020).

2.7. *Bacillus clausii*'nin Deri Sağlığı Üzerinde Antimikrobiyal Etkileri

Probiyotik mikroorganizmaların antimikrobiyal etkilerine ilişkin son yıllarda yapılan çalışmalar, bu etkinin büyük ölçüde salgıladıkları antimikrobiyal peptitler aracılığıyla gerçekleştiğini ortaya koymaktadır. Antimikrobiyal peptitler genel olarak ribozomlar tarafından sentezlenen peptitler ve ribozomal olmayan mekanizmalarla sentezlenen bileşikler olmak üzere iki ana grupta değerlendirilmektedir. Ribozomal olarak sentezlenen antimikrobiyal peptitlerin en önemli grubunu bakteriyosinler oluşturmaktadır. Bakteriyosinler, bazı bakteri ve arkeler tarafından ribozomal mekanizma ile sentezlenen ve belirli konsantrasyonlarda antimikrobiyal aktivite gösterebilen protein yapılı toksinlerdir (Negash ve Tsehai, 2020). Bu bileşiklerin genetik olarak kodlanabilir olması, hedef mikroorganizmalara karşı seçici etki göstermeleri ve genel olarak düşük toksisiteye sahip olmaları, onları hem biyoteknolojik uygulamalar hem de tıbbi araştırmalar açısından önemli biyolojik ajanlar haline getirmektedir. Moleküler yapılarına ve biyokimyasal özelliklerine göre bakteriyosinler üç ana sınıfa ayrılmaktadır. Translasyon sonrası modifikasyonlara uğramış ve genellikle lanbiyotik olarak adlandırılan küçük peptitler Sınıf 1'i oluştururken, modifikasyona uğramamış ancak ısıya dayanıklı küçük peptitler Sınıf 2 grubunda yer almaktadır. Daha yüksek moleküler ağırlığa sahip ve genellikle ısıya duyarlı protein yapılı bakteriyosinler ise Sınıf 3 olarak sınıflandırılmaktadır (Caulier ve diğerleri, 2019; Nicolas, 2025).

Bakteriyosinlerin antimikrobiyal etkileri farklı biyolojik mekanizmalar aracılığıyla ortaya çıkabilmektedir. En sık gözlenen etki biçimi, hedef mikroorganizmanın hücre zarına bağlanarak membranda por oluşumuna yol açmasıdır. Bu süreç sonucunda hücre içi metabolitler dış ortama sızmakta, iyon dengesi bozulmakta ve membran depolarizasyonu meydana gelmektedir. Bu fizyolojik bozulmalar nihayetinde hücre ölümüne neden olmaktadır. Bunun yanı sıra bazı bakteriyosinlerin hücre duvarı biyosentezinde önemli bir ara molekül olan lipid II'ye bağlanarak peptidoglikan sentezini engellediği bildirilmektedir. Diğer bazı bakteriyosinler ise hedef hücre içerisine girerek DNA, RNA ve protein sentezini inhibe edebilmekte ve böylece mikrobiyal çoğalmayı baskılayabilmektedir (Ahire ve

diğerleri, 2020; Negash ve Tsehai, 2020; Simons ve diğerleri, 2020). Antimikrobiyal direnç oranlarının giderek artması nedeniyle bu tür mekanizmalar, bakteriyosinleri alternatif antimikrobiyal stratejiler açısından önemli aday moleküller haline getirmiştir.

Bakteriyosin üretimi özellikle *Bacillus* cinsi gibi spor oluşturabilen bakterilerde yaygın olarak gözlenen bir özelliktir. Spor oluşturan probiyotiklerde sentezlenen biyoaktif ikincil metabolitler genel olarak ribozomal olarak sentezlenen peptitler, ribozomal olmayan peptitler, poliketidler ve uçucu organik bileşikler olmak üzere dört temel grupta incelenmektedir. Bu metabolitler arasında ribozomal olarak sentezlenen antimikrobiyal peptitler (bakteriyosinler) *Bacillus* türleri için önemli bir yer tutmaktadır. *Bacillus* türlerinden elde edilen bakteriyosinlerin önemli bir kısmının geniş bir pH aralığında stabil kaldığı ve yüksek sıcaklıklara karşı dirençli olduğu bildirilmektedir. Söz konusu ikincil metabolitlerin üretimi çoğunlukla bakteri büyüme döngüsünün durağan fazının son aşamalarında gerçekleşmekte ve birçok durumda spor oluşum süreciyle eş zamanlı olarak artış göstermektedir. Bu metabolitler doğrudan hücresel büyüme veya çoğalma süreçlerinde görev almasa da mikroorganizmaların çevresel rekabet gücünü artırarak diğer mikroorganizmalar üzerinde baskı kurmalarını sağlamaktadır (Acosta-Rodriguez-Bueno ve diğerleri, 2022). *Bacillus* spp. ve özellikle *B. clausii* tarafından üretilen bu peptitler, kısa aminoasit öncüllerinden sentezlenmekte ve translasyon sonrasında çeşitli biyokimyasal modifikasyonlara uğrayarak biyolojik olarak aktif hale gelmektedir. Genellikle 10 kDa'dan daha düşük moleküler ağırlığa sahip olan bu bileşikler belirli patojen mikroorganizmalara karşı bakteriyostatik veya bakterisidal özellik gösterebilmektedir. Bunun yanı sıra bakteriyosinlerin yalnızca antimikrobiyal aktivite göstermediği, aynı zamanda mikroorganizmalar arası iletişimde rol oynayan quorum sensing mekanizmaları ve hücre lizisi gibi bazı metabolik süreçlerde de görev alabildiği bildirilmektedir (Caulier ve diğerleri, 2019; Nicolas, 2025).

Etki mekanizmaları incelendiğinde *Bacillus* kökenli bakteriyosinlerin de diğer bakteriyosinlerde olduğu gibi çoğunlukla hedef mikroorganizmanın hücre zarına bağlanarak membranda por oluşturduğu ve böylece hücre içeriğinin dış ortama sızmasına neden olduğu görülmektedir. Bazı *Bacillus* türlerinin hücre duvarı biyosentezinde rol oynayan metabolik süreçleri inhibe ettiği ve özellikle peptidoglikan sentezinde kritik öneme sahip lipid II ara molekülünün oluşumunu baskıladığı bildirilmektedir (Bouhss ve diğerleri, 2009; Simons ve diğerleri, 2020). Bu mekanizmalar sayesinde *Bacillus* kaynaklı bakteriyosinler yalnızca

klinik alanda değil, aynı zamanda gıda güvenliği ve tarımsal biyoteknoloji alanlarında da önemli uygulama potansiyeline sahiptir. Nitekim *Bacillus* kökenli bakteriyosinlerin gıda ürünlerinde koruyucu ajan olarak kullanılması, tıbbi uygulamalarda antibiyotiklere alternatif antimikrobiyal bileşiklerin geliştirilmesi ve tarım sektöründe bitki patojenlerinin kontrol altına alınması gibi çeşitli alanlarda değerlendirildiği bildirilmektedir (Basi-Chipalou ve diğerleri, 2022; Mercado ve Olmos, 2022).

B. clausii tarafından üretilen bakteriyosinler arasında en dikkat çeken bileşiklerden biri clausin olarak adlandırılan lanbiyotiktir. Clausin düşük moleküler ağırlığa sahip bir Sınıf I bakteriyosin olup yapısal olarak epidermin benzeri bir lanbiyotik olarak tanımlanmaktadır. Bu peptidin antimikrobiyal etkisinin temel mekanizmasının bakteriyel hücre duvarı biyosentezinde rol oynayan lipid ara maddesi C55-PP-GlcNAc'a bağlanarak peptidoglikan sentezini inhibe etmesi olduğu bildirilmektedir (Bouhss ve diğerleri, 2009; Dixit ve diğerleri, 2023). Çeşitli araştırmalar *B. clausii*'nin özellikle durağan büyüme fazında bakteriyosin üretiminin arttığını ve bu üretimin çoğu zaman spor oluşumu ile paralel olarak gerçekleştiğini göstermiştir (Acosta-Rodriguez-Bueno ve diğerleri, 2022). Bununla birlikte yapılan çalışmalar, *B. clausii* tarafından sentezlenen antimikrobiyal bileşiklerin bazı önemli patojen mikroorganizmalar üzerinde inhibitör etki gösterebildiğini ortaya koymuştur. Özellikle *S. aureus* gibi klinik açıdan önemli patojenlerin *B. clausii* kaynaklı antimikrobiyal bileşiklere duyarlı olabildiği bildirilmektedir (Fateminasab ve diğerleri, 2023).

Ahire ve diğerleri (2020) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada *B. clausii* UBBCc-07 suşundan elde edilen clausinin çeşitli Gram pozitif bakteriler üzerindeki antimikrobiyal etkileri araştırılmıştır. Bu çalışmada clausinin *M. luteus, Enterococcus faecium, Streptococcus faecalis, C. difficile, S. aureus* ve MRSA suşlarına karşı 10 mm'den büyük inhibisyon zonları oluşturduğu gözlenmiştir. Buna karşın Gram negatif bakteriler olan *E. coli* ve *P. aeruginosa* üzerinde belirgin bir antimikrobiyal aktivite saptanmadığı bildirilmiştir (Ahire ve diğerleri, 2020). Bu bulgular, *B. clausii* kaynaklı bakteriyosinlerin özellikle Gram pozitif patojenlere karşı etkili olabileceğini ve probiyotik bakteriler tarafından üretilen antimikrobiyal peptitlerin alternatif terapötik stratejiler geliştirilmesinde önemli bir potansiyele sahip olduğunu göstermektedir.

Bu özellikleri göz önünde bulundurulduğunda *B. clausii* ve diğer *Bacillus* türleri tarafından üretilen bakteriyosinlerin, artan antibiyotik direnci problemi karşısında yeni antimikrobiyal

ajanların geliştirilmesi açısından dikkat çekici biyolojik moleküller olduğu değerlendirilmektedir. Probiyotik özellikleri ile birlikte ele alındığında bu mikroorganizmaların hem insan sağlığı hem de endüstriyel uygulamalar açısından önemli biyoteknolojik potansiyel taşıdığı görülmektedir (Basi-Chipalou ve diğerleri, 2022; Mercado ve Olmos, 2022).

2.8. *Bacillus clausii*'nin Deri Sağlığı Üzerinde Antikanser Etkileri

Probiyotik mikroorganizmalar ve türevleri, yalnızca gastrointestinal sistem sağlığı üzerinde değil, bununla beraber kanser gelişimi ve tümör oluşumu üzerinde de çeşitli biyolojik etkiler gösterebilmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalar, probiyotiklerin immün sistem modülasyonu, inflamasyonun azaltılması ve önlenmesi, oksidatif stresin baskılanması, apoptotik mekanizmaların aktive edilmesi gibi çok yönlü mekanizmalarla antikanser aktivite gösterebildiğini ortaya koymuştur (Slizewska ve diğerleri, 2020; Ahmad ve diğerleri, 2025). Bu bağlamda, *B. clausii*, spor oluşturan ve olumsuz koşullara karşı dayanıklı bir probiyotik suşu olarak, bağışıklık sistemi üzerindeki düzenleyici etkileri ve metabolik aktivitesi sayesinde potansiyel bir antikanser ajan olabileceğini düşündürmektedir.

Probiyotiklerin kanser hücreleri üzerindeki etkilerini inceleyen çalışmalar farklı probiyotik suşlarının tümör hücrelerinin proliferasyonunu baskılayabildiğini ve apoptozu indükleyebildiğini göstermiştir (Tambe ve diğerleri, 2025). İnsan kolerektal hücre hattı üzerinde gerçekleştirilen bir çalışmada *B. clausii* ve diğer bazı probiyotik suşlarının sitotoksik etkileri incelenmiş, özellikle *B. clausii* suşunun kanser hücreleri üzerinde belirgin antiproliferatif etki gösterdiği bulunmuştur. Yine aynı çalışmada probiyotik uygulamasının transkripsiyon faktörü Jun (CJUN) ve kaspaz-9 (CASP-9) gibi apoptotik yolaklarla ilişkili genlerin ekspresyonunu artırdığı ve Bcl-6 gibi anti-apoptotik genlerin salgılanmasını azalttığı bildirilmiştir. Elde edilmiş olan bu sonuçlar probiyotiklerin kanser hücreleri üzerinde apoptotik sinyal yolaklarını aktive ederek hücre ölümünü gerçekleştirebileceğini düşündürmektedir (Yenuganti ve diğerleri, 2021).

Probiyotiklerin son yıllarda neoplastik patolojilerin tedavisine destek olarak yardımcı maddeler şeklinde eklenebileceği araştırılmaktadır (Sankarapandian ve diğerleri, 2022). Probiyotiklerin antikanser etkileri yalnızca canlı hücreleri aracılığıyla meydana gelmemekle beraber, aynı zamanda bu bakterilerin ürettikleri metabolitler ve hücre dışı bileşenler

aracılığıyla da ortaya çıkabilmektedir. İlgili metabolitler arasında kısa zincirli yağ asitleri, antimikrobiyal peptidler, çeşitli enzimatik yan ürünler yer almaktadır. Bu moleküllerin tümör hücrelerinin çoğalmasını baskılayabileceği ve inflamatuar yanıtı azaltabileceği düşünülmektedir. Probiyotik süpernatantlarının kanser hücreleri üzerinde antiproliferatif etki gösterdiğini inceleyen çalışmalar bu bakterilerin ürettiği biyolojik moleküllerin potansiyel terapötik ajanlar olabileceğini düşündürmektedir (Dolati ve diğerleri, 2021).

B. clausii'nin antikanser potansiyeli, immün sistem üzerindeki düzenleyici etkileri ile de ilişkilendirilebilmektedir. Probiyotiklerin makrofaj aktivasyonu, sitokin üretimi ve T hücreleri üzerinde immün cevabı düzenleyici etkileri bilinmektedir. Bu tür immünomodülatör etkiler tümör gelişimi esnasında önemli rol oynayan inflamatuar süreçlerin düzenlenmesine katkıda bulunabilmektedir. Bu gibi etkilerinin yanı sıra *B. clausii*'nin gastrointestinal sistemde patojen mikroorganizmalarla rekabet ederek mikrobiyota dengesini koruduğu ve inflamatuar süreçleri baskıladığı bilinmektedir. Bu özelliklerin kronik inflamasyonla ilişkili kanser gelişimi açısından önemli bir koruyucu mekanizma olarak değerlendirilebileceği düşünülmektedir (Lima ve diğerleri, 2024).

Sıklıkla görülen deri kanserlerinden biri olan malign melanom yüksek metastaz potansiyeline sahip maligniteler arasındadır (Vitali ve diğerleri, 2022). Son yıllarda probiyotiklerin melanom hücreleri üzerindeki etkileri araştırılmaktadır. Probiyotiklerin melanom üzerindeki etkileri birkaç temel mekanizma ile açıklanmaktadır. Bunlar arasında; apoptotik sinyal yolaklarının aktive edilmesi, oksidatif stresin azaltılması ve immün yanıtın düzenlenmesi yer almaktadır. Bunun yanı sıra probiyotiklerin ürettiği metabolitler antioksidan özelliktedir ve inflamatuar sitokin üretimini azaltmakta ve bu şekilde tümör gelişimini destekleyen inflamatuar süreçleri baskılayabilmektedirler. Bununla beraber, probiyotiklerin bağışıklık sistemini aktive ederek tümör hücrelerinin immün sistem tarafından tanınmasını ve elimine edilmesini kolaylaştırabilecekleri düşünülmektedir. Melanom hücreleri üzerinde yapılan çalışmalar bazı probiyotiklerin tümör hücrelerinin oluşum ve artışını baskılayabildiğini ve apoptoz hücrelerini indükleyebildiğini göstermektedir (Alexander ve diğerleri, 2017). Budu ve diğerlerinin (2024) A375 melanom hücre hattı üzerinde gerçekleştirdiği bir çalışmada, *L. plantarum* uygulamasının hücre canlılığını belirgin şekilde azalttığı ve apoptotik mekanizmaları aktive ettiği belirlenmiştir. Çalışmada probiyotik uygulamasının pro-apoptotik Bcl-2 ilişkili X proteini (BAX) ekspresyonunu artırdığı ve anti-apoptotik Bcl-2 protein düzeyini azalttığı, ayrıca Poli (ADP-

riboz) polimeraz (PARP) aktivasyonu ile ilişkili apoptotik süreçleri tetiklediği bildirilmiştir. Bu sonuçlar probiyotik bakterilerin melanom hücrelerinde programlanmış hücre ölümünü indükleyebileceğini göstermektedir (Budu ve diğerleri, 2024).

Yapılan bazı çalışmalar melanom ve deri mikrobiyomu arasında önemli bir ilişki olduğunu vurgulamaktadır. Deri mikrobiyotasının hasar görmesi, çeşitli deri hastalıklarını tetikleyebilmektedir (Jiminez ve Nabiha, 2023). Bu sebeple oral veya topikal olarak probiyotiklerin kullanımının, deri kanserlerinin önlenmesi ve tedavisinde önemli olduğu düşünülmektedir (Makaranka ve diğerleri, 2022). Bunun yanı sıra, tedavi açısından probiyotik ve prebiyotikler, ultraviyole radyasyon kaynaklı deri hasarından korunmada yeni bir potansiyel olarak araştırılmaktadır (Patra ve diğerleri, 2020). Yapılan bir çalışmada *L. reuteri*'nin ultraviyole kaynaklı radyasyon sonucu oluşan deri hasar ve inflamasyonda anti-inflamatuar etkilerinin olduğu tespit edilmiştir. Fareler üzerinde yapılan başka bir çalışmada ise *L. plantarum*'un oral yolla alınmasının farelerde ultraviyole kaynaklı kalınlaşmış olan epidermal tabakanın incelmesinde etkili olduğu görülmüştür (Makaranka ve diğerleri, 2022). Bununla beraber bazı probiyotik suşlarının deriyi UV hasardan koruyabilecek maddeler sentezlediği tespit edilmiştir. Örneğin *B. thuringiensis* ve *P. putida*'nın rekombinant suşlarının UV maruziyete karşı daha dirençli oldukları fark edilmiştir. Bu etkilerinin melaninin yanı sıra çeşitli antioksidan bileşenler sentezleyerek yaptıkları düşünülmektedir (Peyrat ve diğerleri, 2019). Başka bir çalışmada deri mikrobiyotasında da yer alan *Malassezia furfur* kolonilerinin UV emici bir alkaloid olan pityriacitrin üretebildiği gözlenmiştir (Patra ve diğerleri, 2020). Daha yaygın olarak kullanılan bir probiyotik olan *L. helveticus* süpernatantının deriye topikal uygulanmasının HaCaT hücrelerinde antioksidan etkileri tespit edilmiştir, bunun yanı sıra SKH-1 tüysüz farelerde topikal uygulama sonucunda TESK'i azalttığı ve UV maruziyet kaynaklı epidermal kalınlaşmayı iyileştirdiği tespit edilmiştir (Rong ve diğerleri, 2017)

Literatürde *B. clausii*'nin doğrudan deri kanser hücreleri üzerindeki etkileyen çalışmalar sınırlı olmakla beraber probiyotiklerin genel antikanser mekanizmaları ve *Bacillus* türlerinin antikanser etkilerini ortaya koyan çalışmalar, *B. clausii'*nin de benzer mekanizmalarla potansiyel antikanser aktivite gösterebileceğini düşündürmektedir.

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. Kullanılan Mikroorganizmalar ve Hücre Hatları

Mikroorganizmalar

- *Bacillus clausii* (O/C (CNCM I-276), N/R (CNCM I-274), SIN (CNCM I-275) ve T (CNCM I-273))
- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853
- *Klebsiella pneumoniae ATCC* 700603
- *Enterococcus faecalis ATCC* 29212
- *Cutibacterium acnes ATCC* 11828
- *Micrococcus luteus ATCC* 10240
- *Staphylococcus aureus ATCC* 25223
- *Staphylococcus epidermidis ATCC* 12228
- *Streptococcus pyogenes ATCC* 196151
- *Candida albicans* ATCC 10231

Hücre Hatları

- İnsan malign melanom hücre hattı (A375)
- Human adult low calcium high temperature keratinocytes (HaCaT: insan derisi, ölümsüzleştirilmiş keratinosit hücre hattı)

3.2. Kullanılan Kimyasallar ve Besiyerleri

- Müller Hinton Broth (MHB)
- Triptik Soy Broth (TSB)
- Triptik Soy Agar (TSA)
- Fetal Bovine Serum (FBS)
- Kalp Beyin İnfüzyon (KBI)
- Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM)
- Antibiyotik/Antimikotik çözelti
- Kanlı Agar
- RPMI besiyeri için RPMI ve MOPS; pH ayarı için NaOH ve HCl

- Tetrasiklin
- Flukonazol
- Dimetil sülfoksit (DMSO)
- Brucella Broth Besiyeri
- Glikoz
- Hemin
- Vitamin K

3.3. Kullanılan Cihazlar

- Steril Mikrobiyolojik Güvenlik Kabini (Chemocell LRCCX-UV, ClassII)
- Ultrasonik Banyo (Kotterman, 3165)
- Otoklav (Nüve, OT4060)
- Hassas terazi (Shimadzu, AW320)
- Su banyosu (Kotterman, 3165)
- Pastör fırını (NEL, Heraeus, NR900)
- Kurutma fırını (Heraeus, FB420)
- Vortex (Firlabo, V3000F)
- İnkübatör (Jouan, EB115)
- Karbondioksitli inkübatör (Nüve, EC160)
- Isıtıcılı manyetik karıştırıcı (Biosan, MSH300)
- pH metre (Hanna, HI5522-02)
- Derin dondurucu (Uğur, UDD 200 BKYS)
- Buzdolabı (İndesit No Frost)
- Spektrofotometre (SpectraMax i3x)
- McFarland densitometre cihazı (Biosan)
- Floresan Ataçmanlı İnverted Mikroskop (Leica, DMI 4000 B)
- Liyofilizatör (CHRIST Alpha 2-4 LSCplus)

3.4. Bakterilerin Üretilmesi

B. clausii sporları (O/C (CNCM I-276), N/R (CNCM I-274), SIN (CNCM I-275) ve T (CNCM I-273)) ticari probiyotik (Enterogermina^{TM}) olarak eczanelerden temin edildi. Bir

kapsül bakteri TSB sıvı besiyerine eklenerek 37 ℃'de 48 saat aerobik ortamda döndürülerek inkübe edildi ve sporların vejetatif hale dönmesi sağlandı. Elde edilen sıvı kültürden TSA yüzeyine tek koloni ekim yapılarak saf koloniler elde edildi. Elde edilen koloniler Gram boyama ve biyokimyasal testler aracılığıyla doğrulandı. Mikroorganizmalar, American Type Culture Collection (ATCC)'dan temin edilmiş standart suşlar olarak kullanıldı. Bu amaçla, Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Kültür Koleksiyonunda bulunan *P. aeruginosa* ATCC 27853, *K. pneumoniae* ATCC 700603, *E. faecalis* ATCC 29212, *C. acnes* ATCC 11828, *M. luteus* ATCC 10240, *S. aureus* ATCC 25223, *S. epidermidis* 12228, *S. pyogenes* ATCC 19615 ve *C. albicans* ATCC 10231 kullanıldı.

C. acnes katı besiyeri için Brucella Agar otoklavda steril edildi, 45°C sıcaklığa geldiğinde içerisine %5 v/v koyun kanı, 0,5 µg/mL hemin ve 0,1 µg/mL vitamin K ilave edildikten sonra katı besiyeri hazırlandı. Sıvı besiyeri olarak ise Kan Beyin Infüzyon (KBI) kullanıldı. *C. albicans* için katı besiyeri olarak TSA, sıvı besiyeri olarak MOPS tamponu eklenmiş RPMI besiyeri hazırlandı, 1M NaOH ile pH 7'ye ayarlandı ve membran filtre ile steril edildi. *S. pyogenes* için ise kanlı agar hazırlanarak kullanıldı. Diğer mikroorganizmalar için katı besiyeri olarak TSA, sıvı besiyeri olarak ise katyon ilaveli Müller Hinton Broth (KİMHB) tercih edildi.

Aerobik bakteriler -80°C'de %10 gliserinli TSB içerisinde; anaerobik *C. acnes* ise %20 skim milk içerisinde saklandı.

3.5. Liyofilizasyon

TSA'da elde edilen *B. clausii* kolonileri 10 mL TSB ve 10 mL MHB içerisinde bakteri yoğunluğu 10^8 KOB/mL'ye ayarlanarak 48 saat boyunca dönerek inkübe edildi. İki farklı besiyeri (TSB ve MHB) kullanılarak, besiyeri kompozisyonunun probiyotiğin ortama salgıladığı metabolitler üzerindeki etkisi değerlendirildi. İnkübasyon sonunda süpernatant elde etmek amacıyla 4100 rpm'de 20 dakika santrifüj edilerek, elde edilen üst sıvı 0,22 mikrometre por çaplı membran filtrelerden filtre edildi. Elde edilen 10 mL filtrat üzerine 500 mg kriyoprotektan trehaloz ilave edilerek karıştırıldı. Liyofilizasyon işlemi Christ marka laboratuar ölçekli liyofilizatör cihazı kullanılarak gerçekleştirildi. Liyofilizasyon işlemi öncesinde yaklaşık 10 mL alınan örnekler 3 saat boyunca -80°C'de bekletilerek kurutuldu. Liyofilizasyon işlemi -75°C'de 0,0012 mbar basınç altında 72 saat uygulandı. Daha sonra

elde edilen toz 1 mL distile su içerisinde çözülerek antimikrobiyal aktivite testleri (disk difüzyon, kuyu difüzyon, sıvı mikrodilüsyon (MİK) ve MTT (metil tiyazol tetrazolyum) deneylerinde kullanıldı.

3.6. Antimikrobiyal Etkinliğin Belirlenmesi

3.6.1. Disk difüzyon yöntemi

Mikroorganizmalar (*P. aeruginosa, K. pneumoniae, E. faecalis, C. acnes, M. luteus, S. aureus, S. epidermidis, S. pyogenes* ve *C. albicans*) uygun besiyerlerine tek koloni yöntemi ile ekilerek uygun koşullarda inkübe edildi. İnkübasyon sonucunda elde edilen kolonilerden 10^8 KOB/mL mikroorganizma inokulumu ayarlaması yapıldı. Bunun için McFarland densitometre cihazı kullanıldı. Elde edilen mikroorganizma inokulumlarına steril bir eküvyon daldırılarak uygun besiyeri yüzeyine yaygın ekim yapıldı. Besiyeri olarak aerobik bakteriler için MHA, *C. albicans* için %2 dekstroz ve 0,5 µg/ml metilen mavisi içeren MHA, *C. acnes* için özel kanlı agar ve *S. pyogenes* için kanlı agar kullanıldı. 10 dakika kadar ekilen bakterinin besiyeri yüzeyinde kuruması beklenildi. 3 adet boş disk üzerine 10'ar µL *B. clausii*'nin süpernatantı, pozitif kontrol olarak uygun bir antibiyotik (bakteriler için tetrasiklin 3 µg/mL, mantar için 2,5 µg/mL flukonazol çözeltilerinden 10'ar µL diske emdirildi) ve negatif kontrol olarak liyofilize edilip 1 mL distile suda çözülen besiyeri içeren çözeltiden eklendi. Disklere emdirilen maddelerin kuruması beklendikten sonra steril pens yardımı ile birbirlerinden ve katı besiyeri kenarlarından uygun uzaklıklarda yerleştirildi. Bir gün boyunca etüvde 37°C'de *C. acnes* 48 saat boyunca anaerobik, diğer mikroorganizmalar ve *C. albicans* ise 24 saat boyunca aerobik koşullarda inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonucunda elde edilen inkübasyon zon çapları kumpas ile ölçülerek kaydedildi.

3.6.2. Kuyu difüzyon yöntemi

Mikroorganizmalar uygun besiyeri üzerine tek koloni yöntemi ile ekilerek inkübe edildi. İnkübasyon sonucunda elde edilen kolonilerden SF içerisinde 10^8 KOB/mL bakteri ayarlaması yapıldı. Bunun için McFarland densitometre cihazı kullanıldı. Elde edilen bakteri inokuluma steril bir eküvyon daldırılarak ve kuyu difüzyon testi için kullanılan uygun besiyerleri yüzeyine yaygın ekim yapıldı. 10 dakika kadar ekilen mikroorganizmanın besiyeri yüzeyinde kuruması beklendikten sonra; kuyular açılarak içerisine 100 µL *B. clausii*

süpernatantların liyofilizatı, negatif kontrol olması açısından 100 µL TSB veya MHB liyofilizatı ve pozitif kontrol amacıyla 100 µL tetrasiklin (0.3 µg/ml) (*C. albicans* için 0.25 µg/ml flukonazol) kuyulara eklendi ve 24 saat inkübasyon sonucunda sonuçlar kaydedildi.

3.6.3. Sıvı mikrodilüsyon deneyi

ATCC'den temin edilmiş ve Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Kültür Koleksiyonu'nda bulunan mikrooganizma suşları uygun besiyerine tek koloni yöntemi ile ekildi ve uygun büyüme şartlarında inkübe edildi. İnkübasyon işleminden sonra, Serum Fizyolojik (SF) içerisinde McFarland cihazı ile bakteri yoğunluğu 0,5'e ($\approx 10^8$ KOB/mL) ayarlandı. *C. albicans* için McFarland 0,7-0,8 ($\approx 10^6$ KOB/mL) yoğunluğa ayarlama yapıldı. MİK deneyi için 96 kuyulu U-tabanlı mikroplaklar kullanıldı. *C. acnes* için KBI, *C. albicans* için RPMI besiyeri kullanıldı. Hazırlanan besiyerleri birinci kuyu hariç her kuyuya 50 µL hacminde konuldu, ardından *B. clausii* süpernatantı ve pozitif kontrol olarak antibiyotikler (*C. albicans* için flukonazol, bakteriler için tetrasiklin), ilk kuyulara 100 µL hacminde konularak KİMHB içerisinde çift katlı seri dilüsyonları yapıldı. Son aşamada, 10^6 KOB/mL'ye seyreltilen bakteri veya 10^3 KOB/mL'ye seyreltilen *C. albicans* inokulumları her kuyuya 50 µL olacak şekilde ilave edildi. Birkaç kuyu ise sterilite ve üreme kontrolü olarak çalışmaya dahil edildi. *C. acnes* içeren mikroplaklar anaerob jar içerisinde 48 saat, diğer mikroorganizmalar 37 °C'de 18–20 saat inkübasyona bırakıldı. Üremenin gözlenmediği en düşük konsantrasyon MİK olarak kaydedildi. Deneyler üç kez tekrar edildi.

3.6.4. Time-kill (zamana bağlı öldürme) analizi

Zamana bağlı öldürme analizi ile bakterisidal veya bakteriyostatik etkinin tespiti amacıyla, sıvı mikrodilüsyon deneyinde pozitif sonuç veren *P.aeruginosa, E. faecalis*; Gram pozitif bir bakteri olan *S. aureus* ve bir maya türü olan *C. albicans* mikroorganizmaları seçildi. *P. aeruginosa* ATCC 27853, *E. faecalis* ATCC 29212, *S. aureus* ATCC 25223 ve *C. albicans ATCC* 10231 1 gün önceden tek koloni ekim yöntemiyle ekilip inkübe edildi. 24 saat inkübasyon sonucunda elde edilen kolonilerden SF içerisinde 10^8 KOB/ml bakteri ayarlaması yapıldı. Bunun için McFarland densitometre cihazı kullanıldı. Ardından 10^8 KOB/mL'ye ayarlanan bakteriler, zamana bağlı öldürme metodu için $2x10^6$ KOB/mL'ye ayarlandı. Bunun için 10^8 KOB/mL bakteri yoğunluğundaki inokulumdan 200 µL alınıp 9.8 mL KİMHB içerisine ilave edilerek 10 mL'ye tamamlandı. *C. albicans* ise $2x10^3$ KOB/mL

yoğunluğa ayarlandı. Hazırlanan bu bakteri çözeltisinden 500 µL alınarak eppendorf tüpüne aktarıldı; üzerine 1 mL SF ile çözündürülmüş *B. clauisii* süpernatantından 500 µL ilave edildi. Kontrol amacıyla sadece besiyeri ve patojen mikroorganizma içeren eppendorf tüpleri de aynı metodla hazırlandı. Patojen mikroorganizmaları ve *B. clausii* süpernatantını içeren bu tüpler 37°C'de rotatör ile döndürülerek 24 saat inkübe edildi. İnkübasyon süresince tüplerden 0, 2, 4, 6 ve 24. saatlerde örnekler alındı ve on katlı seri dilüsyonları SF içerisinde yapılarak dilüe edildi. Süpernatant ve kontrol tüpleri için seyreltmelerden 10 µl alındı ve TSA yüzeyine damlatma yöntemi ile tatbik edildi. 37 ℃ 24 saat inkübasyonun ardından koloniler sayılarak kaydedildi. Deneyler üç kez tekrar edildi.

3.7. Protein Konsantrasyonunun Belirlenmesi (Bradford Yöntemi)

B. clausii süpernatantı toplam protein konsantrasyonu, Bradford protein tayin yöntemi kullanılarak mikroplak içerisinde belirlendi. Bu yöntemde, Coomassie Brilliant Blue G-250 boyasının proteinlere bağlanması sonucu meydana gelen renk değişimi spektrofotometrik olarak ölçüldü. Standart protein olarak Bovine Serum Albumin (BSA) kullanıldı ve 100–1500 µg/mL konsantrasyon aralığında standart çözeltiler hazırlandı. Her bir standart ve bilinmeyen örnekten 5 µL, 96 kuyucuklu mikroplağın ilgili kuyularına pipetlendi. Ardından her kuyucuğa 200 µL Bradford reaktifi eklendi ve plaka 30 saniye süreyle plaka çalkalayıcıda homojen şekilde karıştırıldı. Karışım, oda sıcaklığında 5 dakika inkübe edildikten sonra, mikroplaka okuyucuda 595 nm dalga boyunda absorbans ölçümleri gerçekleştirildi. Kör kuyucuklarına ait ortalama absorbans değerleri, tüm standart ve örnek kuyucuklarının absorbans değerlerinden çıkarılarak kör-düzeltmeli ölçümler elde edildi. BSA standartlarına ait kör-düzeltmeli absorbans değerleri, konsantrasyonlarına (µg/mL) karşı grafiğe geçirilerek standart eğri oluşturuldu. Elde edilen standart eğri kullanılarak *B. clausii* süpernatantlarının protein konsantrasyonları hesaplandı.

3.8. Hücre Kültürü Deneyleri

3.8.1. A375 hücre hattı kullanılarak antikanser etkinliğin değerlendirilmesi

İnsan melanoma hücre hattı olan A375 kullanıldı. Hücre hattı DMEM, 10%FBS ve %1 antibiyotik/antimikotik solüsyonu ile hazırlanmış besiyerinde üretildi ve kontaminasyon

kontrolleri düzenli olarak yapıldı. Hücreler -80°C'de dondurma sıvısı (DMEM+%10 DMSO) içerisinde saklandı.

Hücrelerin canlandırma işleminde hücreler, hazırlanan hücre besiyeri içerisinde CO_2'li etüvde 37 ℃'de inkübe edildi. 24 saat sonunda üst sıvı atılarak hücreler PBS ile yıkandı, daha sonra tripsin EDTA ilave edilerek hücrelerin yüzeye kalkması sağlandı. Kaldırılan hücreler 5 ml hücre besiyeri ile santrifüj edilerek tripsin EDTA'nın uzaklaştırılması ve hücrelerin çökmesi sağlandı. Tripsin EDTA içeren üst sıvı tekrar uzaklaştırılarak hücre üzerine besiyeri eklendi ve flaska alınarak 37 ℃'de inkübasyona bırakıldı. 2 gün sonucunda üreyen hücrelere aynı işlemler yapılarak sayım için hazırlandı.

Hücreler thoma lamı kullanılarak sayıldı. Sayım işlemi için 10 µL hücre 10 µL Tripan mavisi ile seyreltilerek Thoma lamı üzerine ilave edildi ve inverted mikoskopta 40X'te sayıldı. Sayım işlemi sonrası hücre sayısını hesaplamak ve 96 kuyulu mikroplaklara eşit oranda ilave edebilmek için aşağıdaki formül kullanıldı:

Hücre/mL= Ortalama Hücre Sayısı x 2 x 10^4

Sayılan hücreler 96 kuyulu düz taban mikroplakların kuyularına 10^4 hücre/mL olarak eklendi. Bir gün boyunca 37 ℃'de CO_2'li etüvde inkübasyona bırakılan hücrelerin üst sıvısı uzaklaştırıldı ve hücrelerin üzerine *B. clausii* süpernatantı ya da kontrol olarak besiyeri ilave edilerek 24 saat tekrar inkübasyona bırakıldı. Ertesi gün hücre canlılığı MTT testi ile belirlendi. Bunun için PBS içerisinde 0,5 mg/mL MTT solüsyonu hazırlanarak tüm kuyulara 90 µL fenol red içermeyen DMEM ve 10 µL MTT solüsyonu eklendi. 3 saat CO_2'li etüvde inkübasyon sonucunda üst sıvılar uzaklaştırıldı ve boyanın çözünmesi için ortama 100 µL DMSO eklendi. 20 dakika boyunca mikroplak çalkalayıcıda bekletildikten sonra boyanın çözündündüğünden emin olunup mikroplak okuyucuda 570 nm'de okutuldu. Sadece MTT solüsyonu içeren kuyular kör olarak alındı. Besiyeri ve hücre içeren kuyulardaki canlılık %100 olarak değerlendirilerek diğer kuyulardaki yüzde canlılık belirlendi. Deneyler 3 tekrar şeklinde yapıldı.

3.8.2. İnsan keratinosit hücre hattı (HaCaT) kullanılarak sitotoksik etkinin belirlenmesi

İnsan keratinosit hücre hattı (HaCaT) DMEM, %10 FBS ve %1 penisilin/streptomisin kullanılarak üretildi ve kontaminasyon kontrolleri düzenli olarak tekrarlandı. Hücrelerin canlandırma işleminde hazırlanan hücre besiyeri içerisinde CO_2'li etüvde 37 °C'de inkübe edildi. 24 saat sonunda üst sıvılar atılarak hücreler PBS ile yıkandı ve hücrelerin toplanabilmesi adına 2 mL Tripsin EDTA ilave edildi. Toplanan hücreler üzerine 5 mL hücre besiyeri ilave edilerek santrifüj edildi ve Tripsin EDTA'nın uzaklaşması sağlandı. Üst sıvı uzaklaştırıldı, hücreler üzerine besiyeri ilave edilerek karıştırıldı, T75 flaska alınarak inkübasyona bırakıldı. 2 gün sonucunda üreyen hücrelere aynı işlemler yapılarak sayım için hazırlandı.

Hücreler thoma lamı kullanılarak sayıldı. Sayım işleminden sonra 96 kuyulu düz taban mikroplakların kuyularına 10^4 hücre/mL olarak eklendi. Bu işlemde Thoma lamı aracılığıyla sayılan ve $8x10^5$ yoğunlukta olan hücreler; her kuyuya 12,5 µL hücre ve 87,5 µL besiyeri ilave edilerek her kuyucukta 10^4 hücre/mL olması sağlandı. Bir gün boyunca inkübasyona bırakılan hücrelerin üzerine *B. clausii* süpernatantı ya da kontrol olarak besiyeri ilave edilerek 24 saat inkübasyona bırakıldı. Ertesi gün hücre canlılığı MTT testi ile belirlendi. Bunun için PBS içerisinde 0,5 mg/mL MTT solüsyonu hazırlanarak tüm kuyulara 90 µL fenol red içermeyen DMEM ve 10 µL MTT solüsyonu eklendi. 3 saat CO_2'li etüvde inkübasyon sonucunda üst sıvılar uzaklaştırıldı ve boyanın çözünmesi için ortama 100 µL DMSO eklendi. 20 dakika boyunca mikroplak çalkalayıcıda bekletildikten sonra boyanın çözündüğünden emin olunup mikroplak okuyucuda 570 nm'de okutuldu. Sadece MTT solüsyonu içeren kuyular kör olarak alındı. Besiyeri ve hücre içeren kuyulardaki canlılık %100 olarak değerlendirilerek diğer kuyulardaki yüzde canlılık belirlendi. Deneyler 3 tekrar şeklinde yapıldı.

3.8.3. UV ile hasarlandırılmış deri hücreleri üzerine etkinin incelenmesi

B. clausii'nin normal deri hücreleri (HaCaT) üzerine koruyucu etkilerinin incelenmesi amacıyla, hücreler standart kültür koşullarında (DMEM, %10 FBS, %1 penisilin/streptomisin, %5 CO_2, 37°C) çoğaltıldı, hücre sayımı işleminden sonra her kuyuda $2,5x10^5$ hücre olacak şekilde 6'lık plakalara ekim yapıldı. Bu işlem için, Thoma lamı

aracılığıyla sayılan ve $8x10^5$ yoğunlukta olan hücreler; her kuyuya 312,5 µL hücre ilave edilerek toplam hacim her kuyu için 2 mL'ye tamamlandı. Hücreler %80 konfluense ulaştıktan sonra, üst besiyeri atılarak hücreler PBS ile 1 kez yıkandı, ardından hücre yüzeyini kaplayacak şekilde PBS eklendi. Negatif kontrol grubu hariç, hücreler plak kapakları çıkarılarak UVB (280–320 nm) ışınına 120 mJ/cm² dozunda, 10 cm uzaklıktan 15 dakika maruz bırakıldı. Bu amaçla Philips PL-S 9W/01/2P UVB lamba kullanıldı. Negatif kontrol grubu UVB maruziyeti olmadan, pozitif hasar kontrolü ise yalnızca UVB'ye maruz bırakılarak oluşturuldu. Hücreler 3 gruba ayrıldı.

Grup 1; Kontroller: Negatif ve pozitif kontrol gruplarından oluşmaktadır. Bu grupta:

- UVB veya herhangi bir madde uygulanmayan HaCaT hücreleri,
- UVB uygulanan ve herhangi bir madde uygulanmayan HaCaT hücreleri bulunmaktadır.

Grup 2; UVB öncesi uygulama: UVB uygulaması *B. clausii* süpernatantı ilave edildikten sonra yapıldı. Süpernatantın UVB'ye karşı koruyucu etkisini ölçmek amacıyla planlandı.

- HaCaT hücreleri + MHB 1/16 (v/v)
- HaCaT hücreleri + MHB-*B. clausii* süpernatantı 1/16 (v/v)

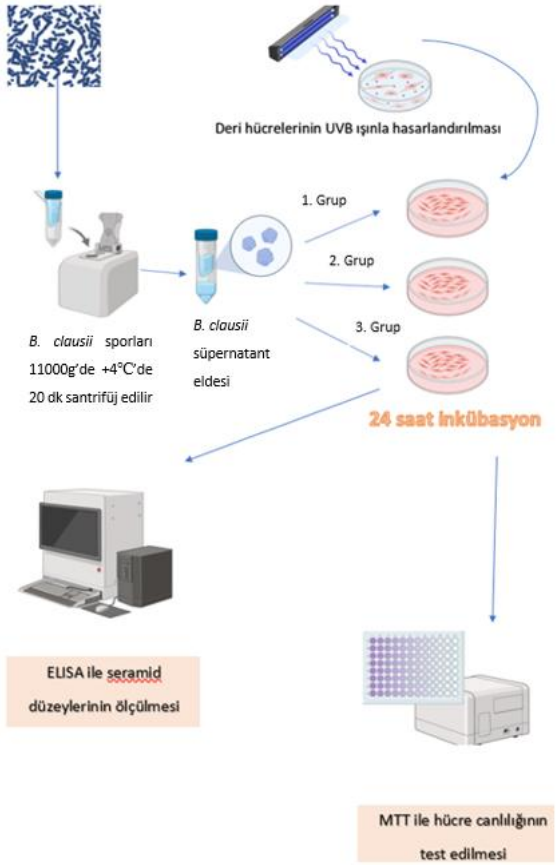
Grup 3; UVB sonrası uygulama: HaCaT hücreleri üzerine UVB hasar sonrası *B. clausii* süpernatantı veya kontrol olarak askorbik asit uygulamasının yapıldığı gruptur.

- HaCaT hücreleri + TSB 1/16 (v/v)
- HaCaT hücreleri + TSB + *B. clausii* süpernatantı 1/16 (v/v)
- HaCaT hücreleri + Askorbik asit (25, 50, 100, 150 µg/mL)

Işınlama sonrası hücreler 24 saat inkübasyona bırakıldı ve hücre canlılığı MTT ile spektrofotometrik olarak belirlendi. *B. clausii*'nin UV kaynaklı hücre hasarını azaltıcı ve deri bariyerini güçlendirici potansiyelini ölçmek amacıyla ticari ELISA kiti ile seramid-kompleks düzeyleri kantitatif olarak ölçüldü.

Seramid-Kompleks Tayini

B. clausii süpernatantının UVB ile hasarlandırılmış deri hücrelerinde seramid-kompleks üretimine etkisini incelemek amacıyla, Bioassay Technology Laboratory (BT Lab) tarafından üretilmiş olan İnsan Seramid ELISA kiti kullanıldı. Bu kit Sandwich ELISA metoduna dayanmaktadır ve serum, plazma, hücre kültürü süpernatantları, asit sıvısı, doku homojenatları veya diğer biyolojik sıvılardaki insan seramidi komplekslerinin kantitatif tespiti için kullanılmaktadır. Test prensibi önceden seramid (CER) antikoru ile kaplanmış plakanın numuneye eklenmesiyle numunedeki var olan seramid-komplekslerin bu antikora bağlanması esasına dayanmaktadır. UVB uygulanan ve uygulanmayan tüm hücrelerin üst sıvıları steril falkonlarda toplandı. 3000 rpm'de 20 dk santrifüj edildi ve süpernatantları toplandı. Kit içeriğinde bulunan tüm solüsyon ve kimyasallar oda sıcaklığına getirildi. Standart solüsyonlar kit içeriğinde verilen konsantrasyonlara göre hazırlandı. Standart kuyucuklarına 50 µL standart; örnek kuyucuklarına ise 40 µL hücre süpernatantları, 10 µL CER antikoru ve 50 µL Streptavidin-HRP eklendi. Mikroplak kapatılarak 37 ℃' de 60 dakika inkübe edildi. İnkübasyon sonrası mikroplak, her seferinde 30 saniye bekleyecek şekilde, yıkama solüsyonu ile 5 defa yıkandı. Yıkama işleminden sonra her kuyucuğa 50 µL substrat A ve 50 µL substrat B ilave edilerek karanlıkta 37 ℃'de 10 dakika inkübe edildi. Ardından 50 µL durdurma çözeltisi ilave edilerek renk değişimi gözlendi. Plaka spektrofotometrede 450 nm dalga boyunda okutuldu ve sonuçlar kaydedildi. Şekil 3.1'de bu deney şematik olarak ifade edilmiştir. Ayrıca tüm deneyler Şekil 3.2'de görsel olarak özetlenmiştir.



Şekil 3.1. Hücre kültürü deneylerinin şematik gösterimi



Şekil 3.2. *B. clausii*'nin deri sağlığı üzerine etkilerinin incelenmesi ile ilgili yapılan tüm deneylerin görsel özeti

3.9. İstatistiksel Analiz

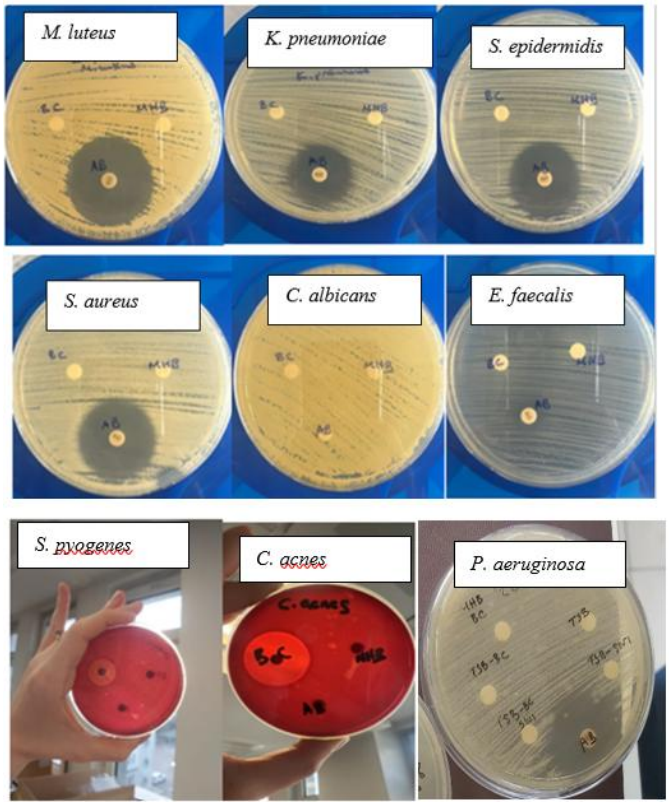
Çalışmada elde edilen verilerin istatistiksel analizleri GraphPad Prism 9 yazılımı kullanılarak gerçekleştirildi. Tüm deneyler en az üç bağımsız tekrar halinde yapılarak, sonuçlar ortalama ± standart sapma (SD) olarak raporlandı. Sitotoksisite ve ELISA deneylerinde gruplar arasındaki karşılaştırmalar tek yönlü ANOVA + Tukey post-hoc testi ile yapıldı. Tüm analizlerde $p < 0,05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Antimikrobiyal Etkinin Değerlendirilmesi

4.1.1. Disk difüzyon deneyi sonuçları

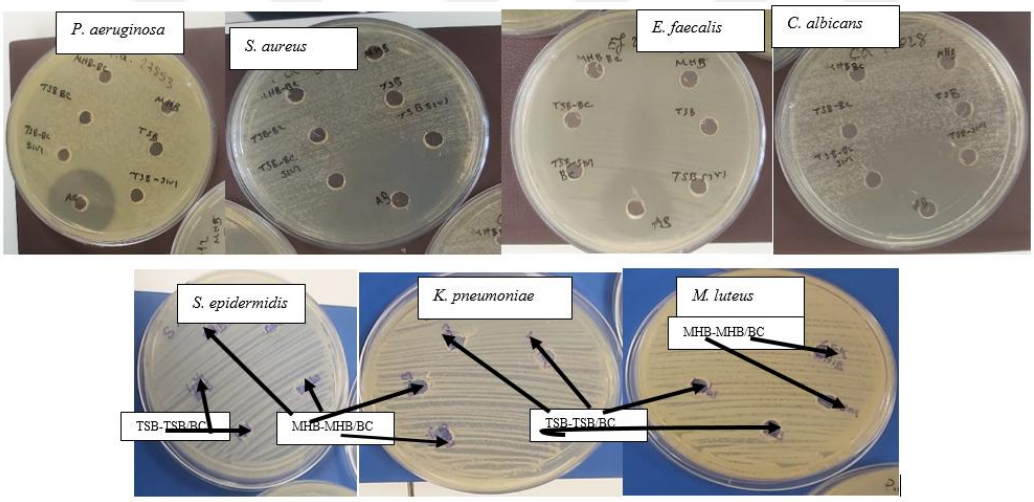
Negatif kontrol olarak daha öncesinde liyofilize hale getirilip 1 mL SF'te çözülmüş MHB ve TSB, pozitif kontrol amacıyla 3 µg/mL tetrasiklin (*C. albicans* için flukonazol (2,5 µg/mL)) kullanılmıştır. İki farklı besiyerinin deneyde kullanılmasının sebebi farklı besiyerlerinin *B. clausii*'nin antimikrobiyal etkisine katkısını test etmek amacıyla yapılmıştır. Disklerde zon oluşumu gözlenmemiştir bu sebeple; *B. clausii*'nin *P. aeruginosa, K. pneumoniae, E. faecalis, C. acnes, M. luteus, S. aureus, S. epidermidis, S. pyogenes, C. albicans* mikroorganizmaları üzerinde disk difüzyon deneyinde antimikrobiyal etki göstermediği sonucuna varılmıştır. *C. acnes* ve *S. pyogenes* içeren petrilerde gözlemlenen zonların, *B. clausii* süpernatantının kanlı agarda oluşturduğu hemoliz zonlarından kaynaklandığı belirlenmiş ve bu durum deneysel olarak doğrulanmıştır. Resim 4.1`de bu deneye ait sonuçların fotoğrafları görülmektedir.



Resim 4.1. Disk difüzyon testine ait antimikrobiyal aktivite sonuçları

4.1.2. Kuyu difüzyon deneyi sonuçları

Disk difüzyon yöntemiyle benzer olarak negatif kontrol olarak daha öncesinde liyofilize hale getirilip 1 mL SF'te çözülmüş MHB ve TSB, pozitif kontrol amacıyla 3 µg/mL tetrasiklin (*C. albicans* için 2.5 µg/mL flukonazol) 100 µL olarak kuyulara ilave edilmiştir. Kuyu difüzyon deneyi sonuçlarında *P. aeruginosa, K. pneumoniae E. faecalis, M. luteus, S. aureus, S. epidermidis* ve *C. albicans* mikroorganizmaları üzerinde herhangi bir inhibisyon zonu gözlenmemiş olup, *B. clausii*'nin incelenen mikroorganizmalara karşı bu deneyde antimikrobiyal etkinliği olmadığı gözlenmiştir. Farklı besiyeri kullanılması *B. clausii*'nin antimikrobiyal etkisi üzerinde anlamlı bir fark oluşturmamıştır. Resim 4.2 bu deneye ait sonuçların fotoğraflarını içermektedir.



Resim 4.2. Kuyu difüzyon testine ait antimikrobiyal aktivite sonuçları

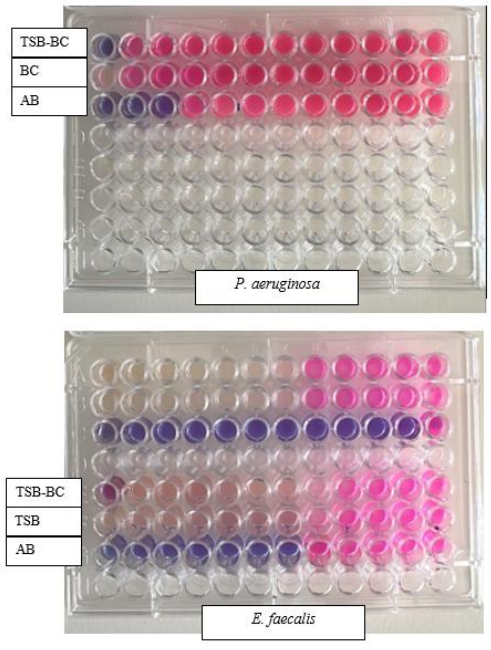
4.1.3. Sıvı mikrodilüsyon deneyi sonuçları

Mikrodilüsyon yöntemi ile *B. clausii* süpernatantının antimikrobiyal etkisi değerlendirilmiş ve *P. aeruginosa* ve *E. faecalis* üzerinde antimikrobiyal etkinlik tespit edilmiştir. Deney sonuçlarına göre *P. aeruginosa* için yalnızca 1. kuyuda üreme gözlenmemiş olup MİK değeri 1/2 (v/v) olarak tespit edilmiştir. *E. faecalis* için ise bu değer aynı şekilde üreme 2. kuyudan itibaren gözlenmiş olup MİK değeri olarak 1. kuyuya karşılık gelen konsantrasyon olan 1/2 (v/v) olarak belirlenmiştir. Farklı besiyeri kullanımının *B. clausii*'nin antimikrobiyal aktivitesine katkısı da incelenmiş olup, TSB besiyerinde üretilen süpernatantın MHB'de üretilen süpernatanta göre daha etkili olduğu tespit edilmiştir. Sonuçlar Çizelge 4.1'de gösterilmiştir. Resim 4.3 bu deneye ait pozitif sonuçlanan mikroplak fotoğraflarını

içermektedir. Pozitif kontrol amacıyla kullanılan antibiyotik sonuçları Avrupa Antimikrobiyal Duyarlılık Testi Komitesi (EUCAST) ve Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü (CLSI) standartlarıyla karşılaştırılıp doğrulanmıştır.

Çizelge 4.1. Mikroorganizmalara göre belirlenen MİK değerleri tablosu

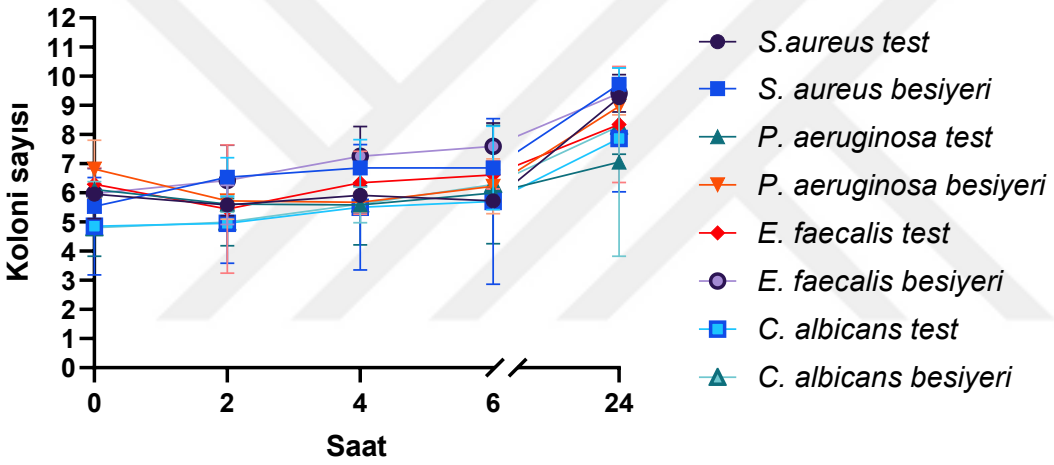
Mikroorganizmalar	**TSB'de elde edilen *B. clausii* süpernatantı MiK değeri**	**MHB'de elde edilen *B. clausii* süpernatantı MiK değeri**	**Antimikrobiyal MİK (*C. albicans* için flukonazol, diğer mikroorganizmalar için tetrasiklin kullanılmıştır.)**
Pseudomonas aeruginosa	1/2 (v/v)	-	16 µg/mL
Klebsiella pneumoniae	-	-	0,0312 µg/mL
Enterococcus faecalis	1/2 (v/v)	-	1 µg/mL
Cutibacterium acnes	-	-	4 µg/mL
Micrococcus luteus	-	-	4 µg/mL
Staphylococcus aureus	-	-	1 µg/mL
Candida albicans	-	-	2 µg/mL



Resim 4.3. Sıvı mikrodilüsyon deneyine ait antimikrobiyal aktivite sonuçları

4.1.4. Zamana bağlı öldürme analizi (Time-Kill) deneyi sonuçları

Patojen mikroorganizmalar ve *B. clausii* süpernatantı içeren, rotatörde döndürülerek 37 °C'de inkübe edilen tüplerden 0, 2, 4, 6 ve 24. saatlerde örnekler alınarak SF içerisinde 10 katlı seri dilüsyonları yapılmış, dilüsyonlardan 10'ar µL alınarak ve TSA yüzeyine damlatma yöntemi ile tatbik edilmiştir. 24 saat sonunda elde edilen koloniler sayılarak değerler logaritmik olarak kaydedilmiş sonuçlar değerlendirilerek zamana bağlı koloni sayıları grafiklere geçirilmiştir. Şekil 4.1'de *P. aeruginosa, E. faecalis, S. aureus* ve *C. albicans* için test maddesi olan *B. clausii* süpernatantı ve kontrole ait time–kill eğrileri gösterilmektedir.



Şekil 4.1. *B. clausii* süpernatantının farklı mikroorganizmalar üzerindeki time–kill etkisinin toplu gösterimi

P. aeruginosa ve *E. faecalis* hariç, diğer mikroorganizmalar için 0–6. saatler arasında test gruplarında koloni sayılarında belirgin bir azalma gözlenmemiş, eğriler büyük ölçüde kontrol ile paralel seyretmiştir. Bu durum, *B. clausii* süpernatantının *S. aureus* ve *C. albicans* için erken zaman diliminde akut bakterisidal veya fungisidal bir etki göstermediğini düşündürmektedir.

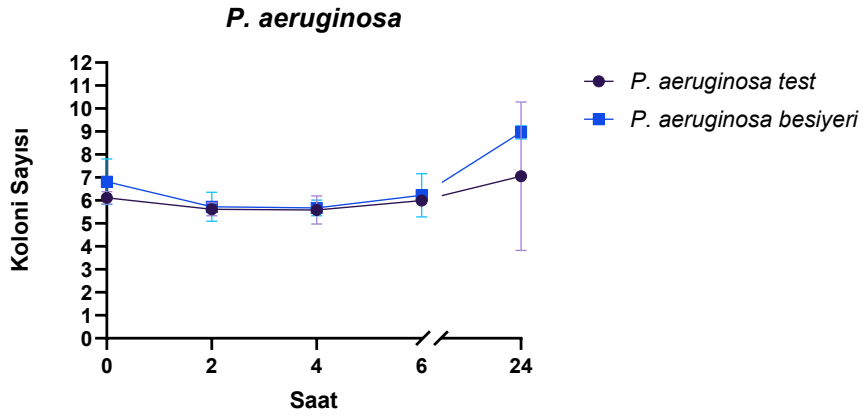
Ancak 24. saatte tüm test gruplarında koloni sayılarında artış görülmesine rağmen, bu artışın besiyeri kontrollerine kıyasla daha sınırlı düzeyde kaldığı gözlenmektedir. Özellikle *S. aureus* ve *E. faecalis* için test ve kontrol grupları arasındaki eğim farkı, *B. clausii* süpernatantının çoğalmayı baskılayıcı bir etki oluşturduğunu göstermektedir. Benzer şekilde

P. aeruginosa ve *C. albicans*'ta da test grubunda büyümenin kontrol grubuna kıyasla daha düşük olduğu izlenmektedir.

Elde edilen veriler, *B. clausii* süpernatantının klasik anlamda ≥3 log KOB/mL düşüşü ile tanımlanan bakterisidal/fungisidal bir ajan olmadığını, ancak zamana bağlı olarak mikroorganizma çoğalmasını sınırlandıran bakteriyostatik/fungistatik bir etki ortaya koyduğunu göstermektedir. Bu etkinin, özellikle 24. saatte daha belirgin hale geldiği gözlenmektedir ve *B. clausii'*nin mikrobiyal büyümeyi tamamen elimine edemese de adaptasyonu ve hızlı çoğalmayı baskılayan bir mekanizmaya sahip olabileceğini düşündürmektedir. Sonuçlar *B. clausii*'nin tek başına güçlü bir antimikrobiyal etkinlik göstermese de patojen mikroorganizma büyümesini kontrol edici bir ajan olarak değerlendirilebileceğini düşündürmektedir. Özellikle dermokozmetikte topikal uygulamalar gibi uzun süreli maruziyetin söz konusu olduğu durumlarda, mikrobiyal yük artışını sınırlayıcı bu etkinin klinik ve endüstriyel açıdan anlamlı olabileceği düşünülmektedir.

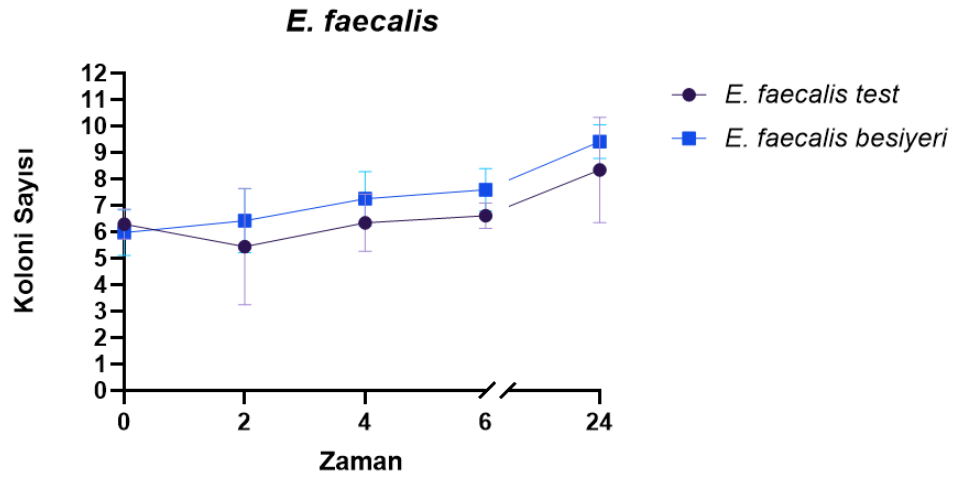
Şekil 4.2 incelendiğinde, *P. aeruginosa* koloni sayılarının (log KOB/mL) zamana bağlı değişimi gösterilmektedir. *P. aeruginosa*'ya ait time–kill eğrileri değerlendirildiğinde, *B. clausii* içeren tüpler ve kontrol grupları arasında özellikle erken zaman noktalarında belirgin bir fark oluşmadığı görülmektedir. Bu duruma sebep olabilecek mekanizmalara ilişkin doğrudan yorum yapılabilmesi için ek çalışmalara ihtiyaç vardır.

Ancak Şekil 4.2 için 24. saat verileri incelendiğinde, *B. clausii* içeren tüplerde koloni artışının kontrol grubuna kıyasla daha sınırlı olduğu izlenmektedir. Bu sonuç, *B. clausii* süpernatantının *P. aeruginosa* üzerinde öldürücü bir etki göstermemekle birlikte, mikroorganizma üremesini yavaşlatıcı/baskılayıcı bir etkiye sahip olabileceğini düşündürmektedir.



Şekil 4.2. *P. aeruginosa* üzerinde *B. clausii* süpernatantının zamana bağlı antimikrobiyal etkisi (time–kill analizi)

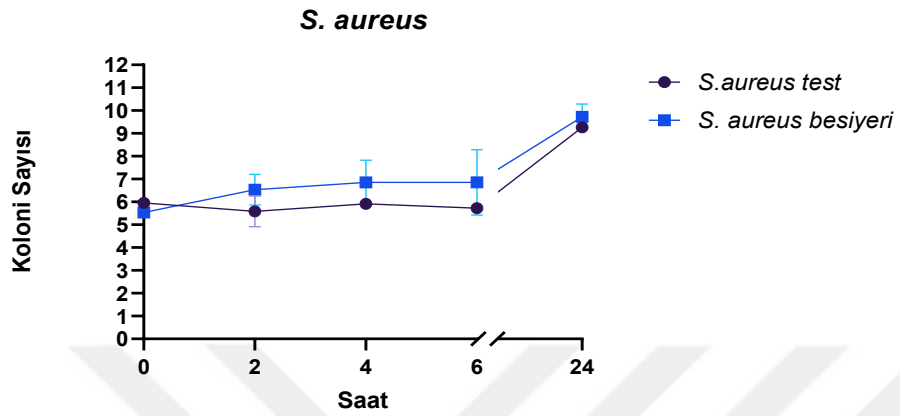
E. faecalis için elde edilen sonuçlar, Şekil 4.3'de verilmiştir. Sonuçlar *B. clausii* süpernatantının ikinci saatte koloni sayısını 1 logluk düzeyde azalttığını göstermektedir. Bununla birlikte, 24. saat sonunda *B. clausii* süpernatantı içeren tüpte gözlenen koloni sayısının kontrole kıyasla daha düşük seviyede kalması önemli bir bulgudur; bu bulgular, *B. clausii* süpernatantının *E. faecalis* üzerinde zamana bağlı olarak çoğalmayı sınırlayan bakteriyostatik bir etki oluşturduğunu düşündürmektedir



Şekil 4.3. *E. faecalis* üzerinde *B. clausii* süpernatantının zamana bağlı antimikrobiyal etkisi (time–kill analizi)

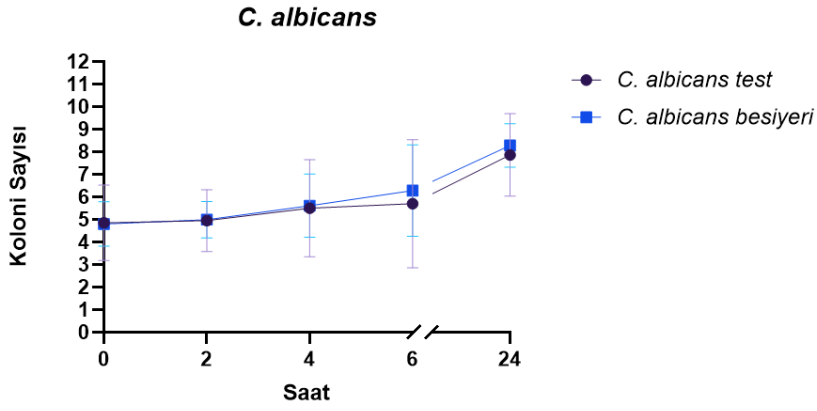
Şekil 4.4'de *B. clausii* süpernatantı ve kontrol grubunda *S. aureus* koloni sayılarının (log KOB/mL) 0, 2, 4, 6 ve 24. saatlerdeki zamana bağlı değişimi gösterilmektedir. *S. aureus* için elde edilen time–kill eğrileri incelendiğinde, test edilen süpernatantın ilk 2 saatte kontrole kıyasla bir azalma oluşturduğu ancak 2-6. saat aralığında koloni sayısında belirgin bir

azalma oluşturmadığı, eğrinin besiyeri kontrolü ile büyük ölçüde paralel seyrettiği görülmektedir. Bu bulgu, *B. clausii* süpernatantının *S. aureus*'a karşı sınırlı bakteriyostatik etki gösterdiğini düşündürmektedir.

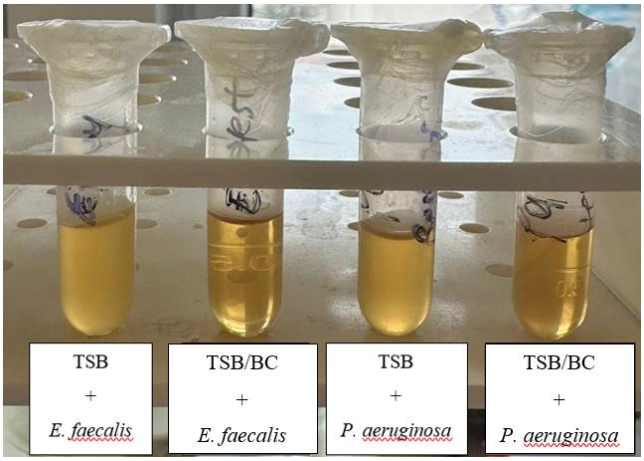


Şekil 4.4. *S. aureus* üzerinde *B. clausii* süpernatantının zamana bağlı antimikrobiyal etkisi (time–kill analizi)

C. albicans'a ait time–kill eğrileri Şekil 4.5'de verilmiştir. Şekil 4.5 incelendiğinde *B. clausii*'nin fungisidal bir etki göstermediği, test grubunda koloni artış hızının kontrole kıyasla hemen hemen aynı olduğu görülmektedir. Bu sonuçlar *B. clausii* süpernatantının *C. albicans* üzerinde fungistatik bir etki ortaya koymadığını, özellikle uzun süreli maruziyet koşullarında fungal çoğalmayı sınırlandıramadığını göstermektedir.



Şekil 4.5. *Candida albicans* üzerinde *B. clausii* süpernatantının zamana bağlı antimikrobiyal etkisi (time–kill analizi)



Resim 4.4. Time-Kill deneyinde 24. saat sonunda test ve besiyeri tüplerinin görünümü

Resim 4.4'de 24. saat sonunda *B. clausii*'nin *P. aeruginosa* ve *E. faecalis* üzerindeki zamana bağlı öldürme etkisi görüntü olarak da değerlendirilmiştir. Eppendorf tüplerindeki bulanıklıktan anlaşılacağı üzere, *B. clausii*'nin bulunmadığı tüplerde mikroorganizma üremesinin fazla olduğu tespit edilmektedir. *B. clausii* süpernatantının bulunduğu test tüplerinde ise bulanıklık ve üreme daha azdır ve bu nedenle *B. clausii* süpernatantının bakteriyostatik etkili olduğu düşünülmektedir.

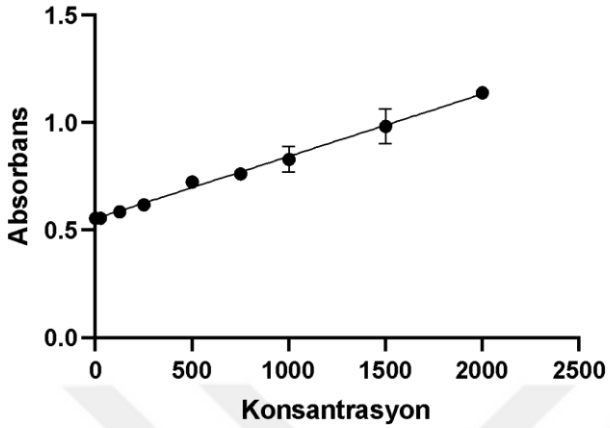
4.2. Protein Tayini Deneyi

B. clausii'den salgılanan protein konsantrasyonunu hesaplamak amacıyla Bradforf Protein Tayin Kiti kullanılmıştır. Bradford Protein Tayin Kitine göre hazırlanan standart çözeltilerin spektrofotometrik sonuçlarıyla ilgili konsantrasyon, absorbans, ortalama absorbans ve kör düzeltilmiş ortalama absorbans değerleri Çizelge 4.2'deki gibidir.

Çizelge 4.2. Standart çözeltilerin absorbans değerleri

Konsantrasyon (µg/mL)	**Absorbans 1**	**Absorbans 2**	**Ortalama Absorbans**	**Kör düzeltilmiş ortalama absorbans**
2000	1,119	1,161	1,140	0,583
1500	1,041	0,927	0,984	0,427
1000	0,789	0,872	0,831	0,274
750	0,778	0,747	0,763	0,206
500	0,717	0,733	0,725	0,168
250	0,612	0,626	0,619	0,062
125	0,597	0,578	0,588	0,031
25	0,547	0,566	0,557	0
0 (Kör)	0,558	0,556	0,557	0

Çizelge 4.2'deki verilerden hareketle oluşturulan konsantrasyona bağlı absorbans grafiği Şekil 4.6'da verildiği gibidir:



Şekil 4.6. Protein tayini sonucu elde edilen konsantrasyona bağlı absorbans grafiği (R^2 = 0,9792; Y = 0,0002900*X + 0,5532)

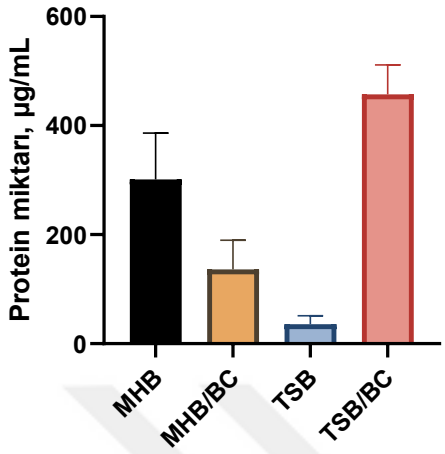
Deneyde hazırlanan standartların ardından, *B. clausii* süpernatantının farklı besiyerlerine göre protein tayininin değerlendirilmesi amacıyla bulunan spektrofotometrik ölçüm sonuçları Çizelge 4.3'te verilmiştir. Çizelge 4.3'teki protein konsantrasyonları standartlardan elde edilen Y = 0,0002900*X + 0,5532 denkleminden hareketle hesaplanmıştır.

Çizelge 4.3. Protein Tayini deneyinde spektrofotometrik ölçüm sonrası elde edilen absorbans değerleri, bu değerlerin ortalamaları ve hesaplanan protein konsantrasyonları

	Abs 1	**Abs 2**	**Abs 3**	**Abs 4**	**Ortalama**	**Protein miktarı (µg/mL)**
MHB	0,650	0,619	0,671	0,622	0,647	301,034
MHB+*B. clausii*	0,584	0,612	0,577	0,598	0,591	136,379
TSB	0,563	0,561	0,560	0,570	0,563	36,091
TSB+*B. clausii*	0,665	0,685	0,703	0,690	0,684	457,06

Bradford yöntemi ile elde edilen standart eğri kullanılarak yapılan hesaplamalar sonucunda farklı besiyerlerinde elde edilen süpernatantların protein konsantrasyonlarının değişkenlik gösterdiği belirlenmiştir. Elde edilen veriler Şekil 4.7'de bar grafiği şeklinde belirtilmiştir. En yüksek protein konsantrasyonu TSB/BC ortamında (~457 µg/mL) saptanmıştır. *B. clausii* antimikrobiyal ve antikanser etkinliğinin besiyerine bağlı olarak değişebileceği öngörülerek

ilerleyen deneylerde TSB kullanılmış, *B. clausii*'nin HaCaT hücrelerini UVB'den koruyucu etkisini değerlendirmek için ise her iki besiyeri de deneye dahil edilmiştir.



Şekil 4.7. *B. clausii*'nin farklı besiyerlerinden hareketle ölçülmüş olan protein konsantrasyonları (µg/mL)

4.3. Hücre Kültürü Deneyleri Sonuçları

4.3.1. A375 hücre hattı kullanılarak antikanser etkinliğin belirlenmesi

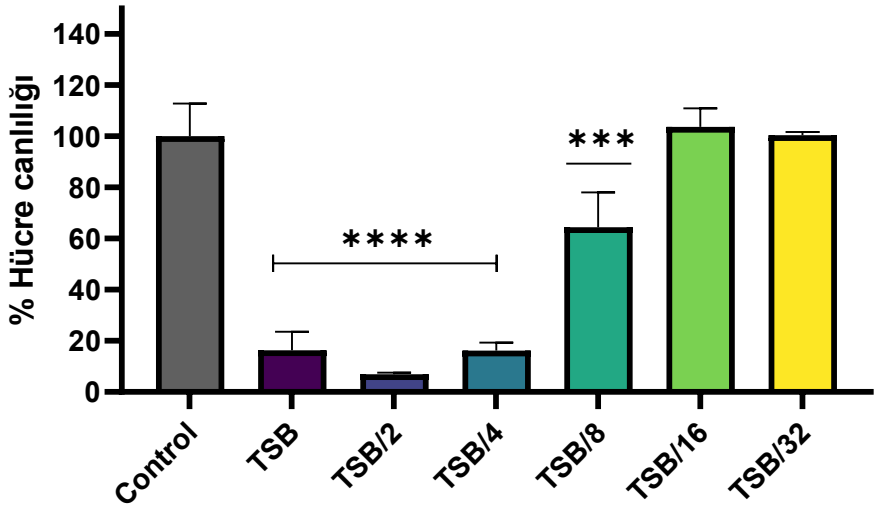
MTT hücre canlılığı analizi kullanılarak *B. clausii* süpernatantının A375 insan melanoma hücre hattı üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir. Hücreler farklı konsantrasyonlarda hazırlanan besiyeri (TSB) ve *B. clausii* süpernatantı ile muamele edilmiş ve 24 saatlik inkübasyon süresinin ardından hücre canlılığı yüzdesel olarak değerlendirilmiştir. Elde edilen absorbans değerleri 570 nm dalga boyunda mikroplak okuyucuda ölçülmüştür. Deneyde yalnızca besiyeri içeren kuyular kör (blank) olarak kabul edilmiş ve tüm değerler buna göre düzenlenmiştir. Yalnızca besiyeri içeren ve kör olarak kabul edilen kuyulardaki ortalama absorbans değeri 0,089; yalnızca A375 hücresi içeren ve %100 canlılık kabul edilerek hesaplama işlemlerinin referans alındığı kuyuların ortalama absorbans değeri 0,570 olarak tespit edilmiştir. Hücre canlılığı yüzdeleri, yalnızca hücre içeren kontrol gruplarının absorbans değeri % 100 canlılık kabul edilerek hesaplanmıştır. Farklı konsantrasyonlarda uygulanan besiyeri (TSB) ve *B. clausii* süpernatantının A375 hücre hattı üzerindeki etkilerine ait ortalama absorbans değerleri ve hesaplanan hücre canlılık yüzdeleri Çizelge 4.4'te açıklanmıştır. Yüzde canlılık hesaplanırken % Canlılık = (Deney absorbansı – Kör) /

(Kontrol – Kör) x 100 formülünden yararlanılmıştır. Formülden hareketle hesaplanan değerler Çizelge 4.4'de belirtilmiştir.

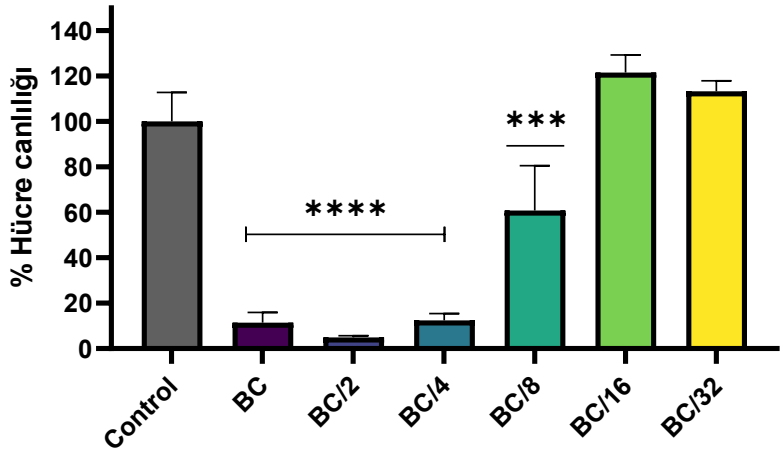
Çizelge 4.4. Besiyeri ve süpernatanta ait kör düzeltmeli absorbans ve % canlılık değerleri

Konsantrasyon (v/v) Besiyeri (TSB)	**Absorbans - Kör**	**% Canlılık**	**Konsantrasyon (v/v) *B. clausii* süpernatant**	**Absorbans-Kör**	**% Canlılık**
1	0,217	16,29 %	**1**	0,153	11,48 %
1/2	0,092	6,93 %	**1/2**	0,066	4,92 %
1/4	0,216	16,21 %	**1/4**	0,165	12,41 %
1/8	0,859	64,49 %	**1/8**	0,811	60,86 %
1/16	1,381	103,71 %	**1/16**	1,620	121,62 %
1/32	1,338	100,485 %	**1/32**	1,510	113,36 %
0	1,332	100,02 %	**0**	1,332	100,02 %

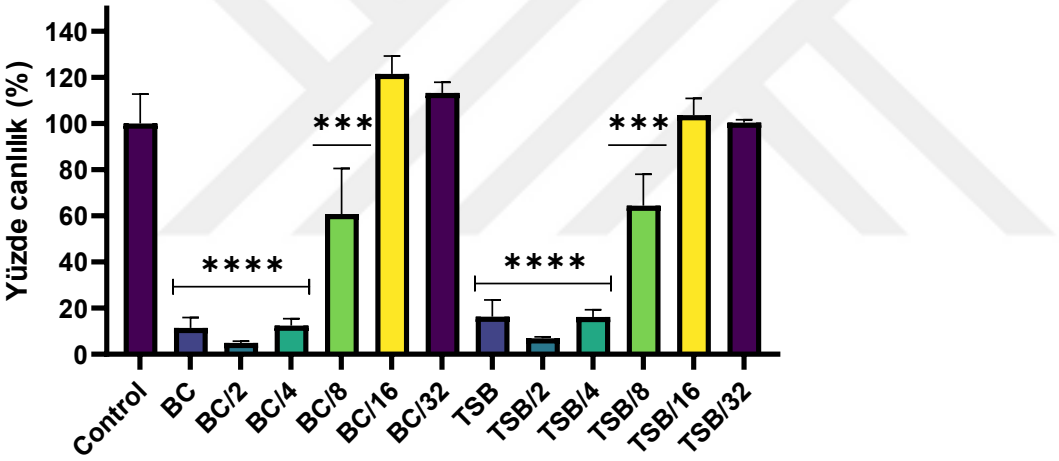
Çizelge 4.4. verilerinden hareketle besiyeri ve *B. clausii*'nin farklı dozlarda uygulanan konsantrasyonlarının A375 melanom hücre hattı üzerindeki hücre canlılığı üzerine etkisi Şekil 4.8 ve Şekil 4.9'da bar grafiği ile şematize edilmiştir. Her iki maddenin beraber değerlendirilebilmesi amacıyla Şekil 4.10'da besiyeri ve *B. clausii* süpernatantının hücre canlılığı %'sine etkisine ait bar grafiği oluşturulmuştur.



Şekil 4.8. Besiyerine ait konsantrasyon bağımlı % canlılık değerleri



Şekil 4.9. *B. clausii* süpernatantına ait konsantrasyon bağımlı % canlılık değerleri



Şekil 4.10. *B. clausii* süpernatantı ve besiyerine ait konsantrasyon bağımlı % canlılık değerlerinin toplu grafik ile şematize edilmesi

Çizelge 4.5. Grafiklerin istatistiksel açıdan değerlendirilmesi amacıyla istatistiksel semboller ve anlamları

Sembol	**Anlamı**
ns	p>0,05
*	p≤0,05
**	p≤0,01
***	p≤0,001
****	p≤0,0001

Bulgulara bakıldığında, *B. clausii* süpernatantının 1/1, 1/2, 1/4 konsantrasyonlarında kontrol grubuna kıyasla hücre canlılığında anlamlı düşüşler gözlenmiş olsa da ($p \leq 0,0001$;****) benzer eğilimin besiyeri kontrolünde de gözlenmesi sitotoksisitenin besiyerinin kendisine, ortam pH, osmolarite değişimi, hücre kültür ortamının seyreltme etkisi gibi faktörlere bağlı olabileceğini düşündürmektedir. Özellikle bakteriyel süpernatant çalışmalarında, bakterinin üretildiği besiyerinin bileşen veya metabolitlerinin hücreler üzerinde etkili olabileceği bilinmektedir (Knysh ve diğerleri, 2024). *B. clausii* süpernatantının 1/16 ve 1/32 (v/v) konsantrasyonlarda uygulandığı gruplarda fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p > 0,05$ ve $p > 0,05$; ns). Bu durum ilgili konsantrasyonlarda melanom hücreleri üzerinde sitotoksik bir etki oluşturamadığını göstermektedir.

Bulgular Çizelge 4.5'te verilen değerlendirme kriterlerine göre Şekil 4.10 üzerinden yorumlanmıştır. Sonuçlar, kontrol amaçlı uygulanan TSB ile *B. clausii* süpernatantı arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark olmadığını belirtmektedir ve kullanılan koşullar altında *B. clausii*'nin A375 melanom hücre hattı üzerinde belirgin ve spesifik bir sitotoksik etki göstermediğini düşündürmektedir.

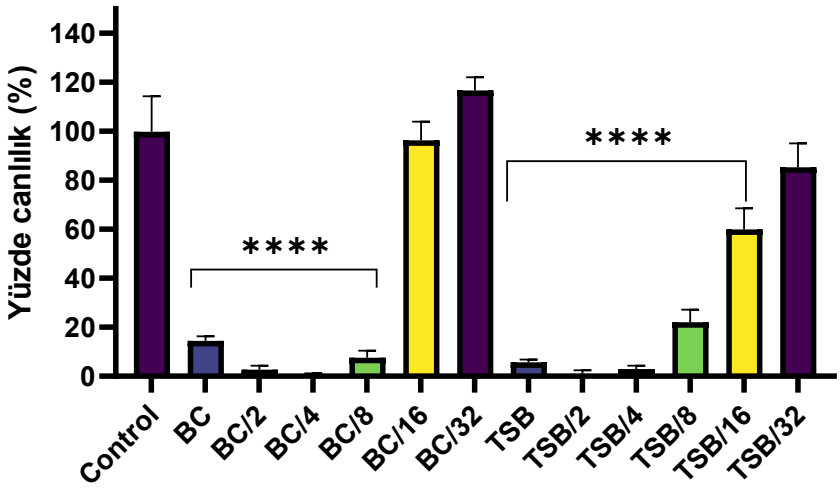
4.3.2. İnsan keratinosit hücre hattı (HaCaT) kullanılarak sitotoksik etkinin belirlenmesi

İnsan keratinosit hücre hattı (HaCaT) üzerinde yapılan MTT testi, *B. clausii*'nin keratinositler üzerindeki sitotoksik etkisini değerlendirmek ve bu etkiye göre diğer HaCaT hücre deneylerinde de güvenli olarak kullanılabilecek dozu hesaplayabilmek amacıyla yapılmıştır. Kontrol olarak yalnızca hücre içeren kuyuların canlılığı % 100 kabul edilmiş, süpernatant uygulanan farklı konsantrasyonlarda hücre canlılığı hesaplanmıştır. Düşük seyreltme ile hazırlanmış konsantrasyonlarda (1/1, 1/2, 1/4 v/v) başlangıçta düşük absorbans değerleri gösterdiği görülmüştür. 1/8, 1/16 ve 1/32 v/v konsantrasyonlarında ise hücre canlılığı korunmuştur. Uygulanan *B. clausii* süpernatantının konsantrasyonu azaldıkça hücre canlılığının anlamlı şekilde arttığı belirlenmiştir. Özellikle 1/1 (v/v) süpernatantı uygulaması ile 1/16 ve 1/32 konsantrasyonları arasında anlamlı fark görülmektedir ($p < 0,0001$). Bulgular 1/16 ve 1/32 konsantrasyonlarında hazırlanan *B. clausii* süpernatantının HaCaT hücreleri üzerinde öldürücü etkisinin kısmen olmadığını ve güvenli konsantrasyonlar olarak belirlenebileceğini göstermektedir ($p<0,05$). Bunun yanı sıra *B. clausii* süpernatantının 1/16 (v/v) konsantrasyonda uygulanması kontrol amacıyla uygulanan TSB 1/16 (v/v)

konsantrasyonuna göre hücre canlılığını belirgin bir farkla arttırdığı gözlenmiştir ve istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir ($p < 0,05$). Hesaplamalar yapılırken besiyeri içeren kuyular kör kabul edilmiş ve diğer okunan absorbans değerlerinden kör değeri çıkarılmıştır. Yüzde canlılık değeri % Canlılık = (absorbans – Kör) / (Sadece hücre içeren kuyuların absorbansı – kör) x 100 formülüne göre hesaplanmıştır. Elde edilen veriler Çizelge 4.6'de raporlanmıştır. Şekil 4.11, Çizelge 4.6'daki verilerden hareketle oluşturulmuştur ve değerlendirilmesi Çizelge 4.5'teki değerlendirme kriterlerine göre yapılmıştır.

Çizelge 4.6. Besiyeri ve süpernatanta ait kör düzeltmeli absorbans ve % canlılık değerleri

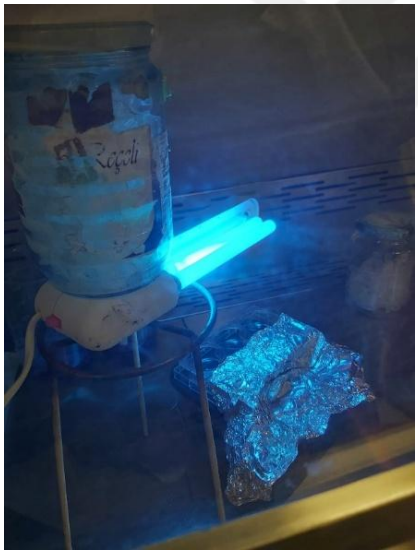
Konsantrasyon (v/v) TSB	**Absorbans - kör**	**% Canlılık**	**Konsantrasyon (v/v) *B. clausii* süpernatant**	**Absorbans - kör**	**% Canlılık**
1	0,027	4,22	**1**	0,069	14,38
1/2	0,002	0,51	**1/2**	0,012	2,62
1/4	0,014	2,93	**1/4**	0,033	0,51
1/8	0,106	22,01	**1/8**	0,036	7,57
1/16	0,290	59,89	**1/16**	0,467	96,28
1/32	0,413	85,25	**1/32**	0,565	116,63
0	0,485	100	**0**	0,485	100



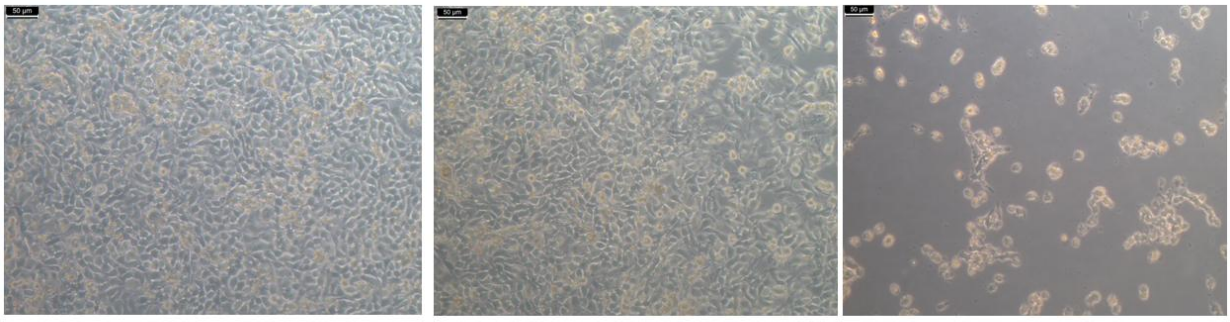
Şekil 4.11. HaCaT hücreleri üzerinde besiyeri ve *B. clausii* süpernatantının hücre canlılığına etkisinin bar grafiği üzerinde şematize edilerek karşılaştırılması

4.3.3. UV ile hasarlandırılmış deri hücreleri üzerine etkisinin incelenmesi

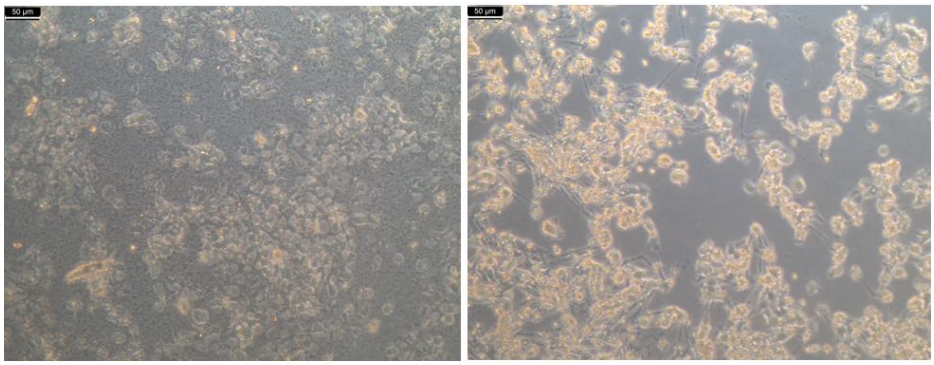
B. clausii'nin HaCaT üzerine koruyucu ya da tedavi edici etkilerinin incelenmesi amacıyla uygun şartlarda üretilen hücreler 3 gruba ayrılmıştır. 1. Grup kontrol amacıyla oluşturulmuş olup, pozitif kontrol olarak UVB hasarlandırılmış HaCaT hücreleri ve negatif kontrol olarak UVB hasar veya madde uygulanmayan HaCaT hücrelerinden oluşmaktadır. Koruyucu etkinin incelenmesi amacıyla oluşturulan Grup 2 için, UVB hasarı oluşturulmadan önce *B. clausii* süpernatantı uygulanmış ve ardından UVB'ye maruz bırakılmıştır. Tedavi edici etkinin belirlenmesi amacıyla oluşturulan Grup 3, test maddelerini içeren, UVB hasarlandırılan ve çeşitli konsantrasyonlarda maddeler uygulanan hücreleri ifade etmektedir. Şekil 4.12, Şekil 4.13, Şekil 4.14 ve Şekil 4.15'te gruplara ait mikroskop görüntüleri verilmiştir. Resim 4.2 UVB hasarın oluşturulması için kurulan düzeneği göstermektedir.



Resim 4.5. Gruplarda UVB hasar oluşturulması için kurulmuş düzenek



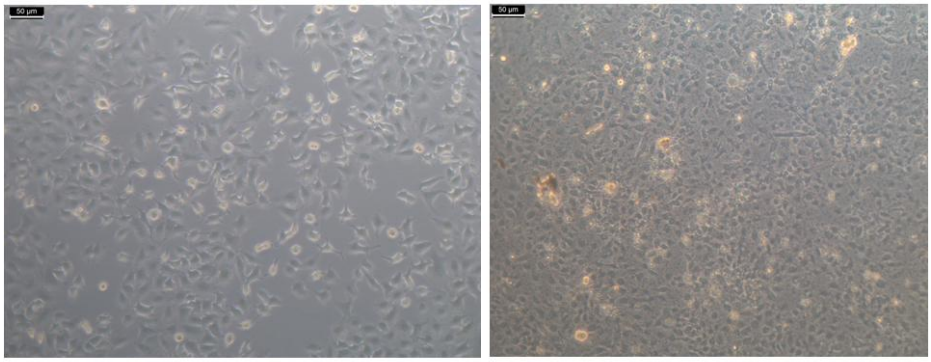
Resim 4.6. Grup 1'e ait mikroskop görüntüleri



UVB hasarı verilmeden önce 1/16 (v/v) MHB uygulanmış HaCaT hücreleri

UVB hasarı verilmeden önce 1/16 (v/v) *B. clausii* süpernatantı uygulanmış HaCaT hücreleri

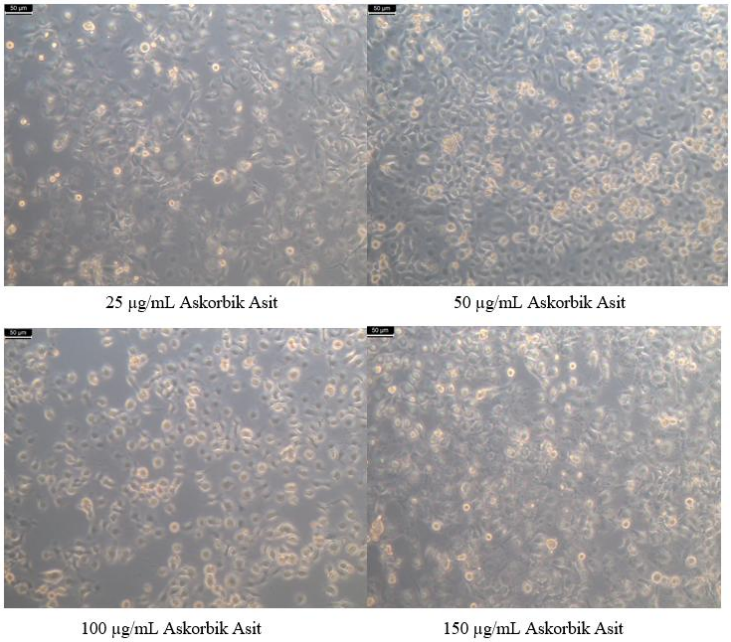
Resim 4.7. Grup 2'ye ait mikroskop görüntüleri



UVB hasarlandırılan ve 1/16 (v/v) TSB ile inkübe edilen HaCaT hücreleri

UVB hasarlandırılan ve 1/16 (v/v) *B. clausii* süpernatantı ile inkübe edilen HaCaT hücreleri

Resim 4.8. Grup 3'e ait *B. clausii* süpernatantı ve TSB uygulanan mikroskop görüntüleri



25 µg/mL Askorbik Asit

50 µg/mL Askorbik Asit

100 µg/mL Askorbik Asit

150 µg/mL Askorbik Asit

Resim 4.9. Grup 3'e ait hücrelere UVB hasar sonrası askorbik asit uygulanan hücrelere ait mikroskop görüntüleri

UVB hasar sonrası hücre canlılığını değerlendirmek ve *B. clausii* süpernatantının UVB hasara karşı koruyucu ve tedavi edici etkisini belirlemek amacıyla MTT testi yapılmıştır. Bu deneyde *B. clausii* süpernatantının elde edildiği TSB ve MHB besiyerinin her ikisi de kullanılmış ve hücre canlılıkları arasında belirgin farklar tespit edilmiştir. Bu sebeple gözlenen etkinin yalnızca *B. clausii* süpernatantına bağlı olarak değil, besiyeri bileşimine de bağlı olabileceği düşünülmektedir. MTT testi sonrası hücre canlılığı Çizelge 4.7 ve Şekil 4.16'da belirtilmiştir.

Çizelge 4.7. MTT sonuçlarına göre % canlılığın grafiksel gösterimi

Gruplar	Uygulanan madde	Absorbans - Kör	% Canlılık
1. Grup (Kontrol grubu)	Negatif Kontrol	2,425	100
	Pozitif Kontrol	0,430	17,74
2. grup (UVB hasar verilmeden önce madde uygulandı)	1/16 (v/v) MHB	0,881	36,34
	1/16 (v/v) MHB-BC	0,976	40,27
3. Grup (UVB ve madde uygulandı)	1/16 (v/v) TSB	0,441	10,47
	1/16 (v/v) TSB-BC	0.254	18,8
	25 µg/mL Askorbik Asit	0,357	14,72
	50 µg/mL Askorbik Asit	0,517	21,31
	100 µg/mL Askorbik Asit	0,741	30,55
	125 µg/mL Askorbik Asit	0,467	19,25

MTT analizi sonucunda elde edilen hücre canlılık yüzdeleri ve hücrelere ait mikroskobik görüntüler değerlendirildiğinde gruplar arasında hücresel morfoloji, yoğunluk ve yüzeye yapışma özellikleri bakımından belirgin farklar tespit edilmektedir. UVB hasarlandırılan ve herhangi bir madde uygulaması yapılmayan hücrelerde hücrelerin büyük bir kısmının normal yapısını koruyamamış, yuvarlaklaşmış, yüzeye yapışma özelliklerini kaybetmiş, dağınık şekilde kümelenmiş oldukları, bazı hücrelerin ise canlılıklarını kaybettikleri gözlenmiştir. Hücreler arası bağlantılar belirgin şekilde azalmış, yer yer kümelenmeler görülmüş ve hücresel kalıntıların var olduğu tespit edilmiştir.

UVB hasarlandırma sonrası 1/16 (v/v) oranında *B. clausii* süpernatantı uygulanan hücrelerde UVB hasar grubuna kıyasla hücre yoğunluğunun daha fazla olduğu, hücrelerin bir kısmının morfolojik yapısını kaybetmediği ancak yüzeye yapışma durumlarının sınırlı olduğu fark edilmiştir. Bununla beraber hücreler arası bağlantıların madde uygulanmayan gruba göre daha belirgin olduğu ancak sağlıklı epitel morfolojisinin azaldığı gözlenmektedir. MTT

sonuçlarına bakıldığında yüzde canlılığın TSB uygulanan gruba göre daha yüksek olduğu gözlenmektedir. Bu sonuçlar süpernatantın hücreler üzerinde UVB hasara karşı tedavi edici etkisinin olabileceğini düşündürmektedir. UVB sonrası besiyerinin olası etkisini tespit etmek ve *B. clausii* süpernatantının olası etkisini kontrol amacıyla TSB uygulanan grupta konfluens seviyesinin düşük kaldığı ve hücre popülasyonunun eşit şekilde dağılmadığı gözlenmektedir. Hücre morfolojisinin süpernatant uygulanan gruba göre daha çok deforme olduğu düşünülmektedir.

UVB hasar öncesi farklı bir besiyeri olan MHB içerisinde üretilmiş *B. clausii* süpernatantının uygulandığı grupta hücre canlılığının % 40,27 seviyesine ulaştığı ve kontrol amacıyla sadece MHB uygulanan gruba göre hücre canlılığının fazla olduğu fark edilmektedir. Bu durum TSB besiyerinin hücreler üzerinde daha belirgin bir sitotoksik etkisinin olduğunu düşündürmektedir. Ayrıca UVB öncesi uygulama grupları MTT ve mikroskobik görüntü sonuçları genel olarak değerlendirildiğinde hücre canlılığının UVB sonrası uygulamalara kıyasla nispeten daha yüksek eğilim gösterdiği dikkat çekmektedir. Sonuçlar gözlenen etkinin yalnızca bakteriyel süpernatanta değil kullanılan besiyeri bileşenine de bağlı olabileceğini düşündürmektedir.

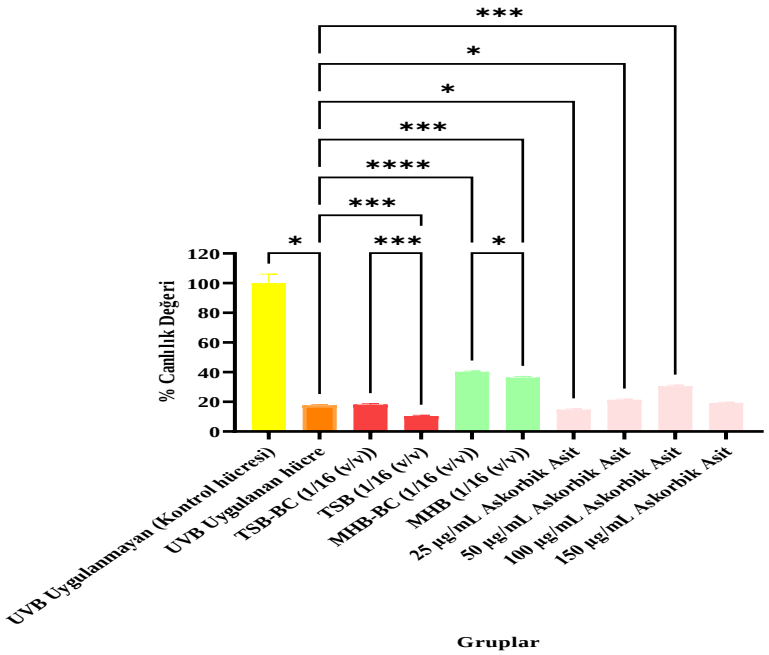
Sonuçların istatistiksel olarak değerlendirilmesi amacıyla oluşturulan Şekil 4.16'daki grafikte gruplar arasında anlamlı farklar görülmektedir. Çizelge 4.5'teki değerlendirme kriterleri esas alınarak, UVB uygulamasının, UVB uygulanmayan gruba göre hücre canlılığı üzerinde belirgin bir negatif etki oluşturduğu gözlenmektedir ($p = 0,0113$). Özellikle MHB - *B. clausii* grubunda yüzde canlılık değerlerinin daha yüksek olduğu ve bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edilmiştir ($p < 0,05$). UVB uygulanıp tedavi edici etkinin incelendiği Grup 3'te TSB 1/16 (v/v) ve *B. clausii* süpernatantı 1/16 (v/v) arasında anlamlı fark gözlenmiştir ($p \leq 0,001$). Ancak UVB uygulanmış grup ile TSB-*B. clausii* süpernatantı arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p > 0,05$; ns). Bunun yanı sıra *B. clausii*'nin UVB hasara karşı koruyucu etkisini değerlendirmek amacıyla oluşturulan Grup 2'de MHB ve *B. clausii* süpernatantı arasında belirgin bir fark gözlenmiştir ($p \leq 0,05$). Ek olarak MHB, MHB - *B.clausii* süpernatantı ve UVB uygulanan gruplar arasındaki farkların önemli ölçüde anlamlı olduğu tespit edilmiştir ($p < 0,0001$).

UVB uygulanmamış grup ile süpernatant uygulanan gruplar değerlendirildiğinde tüm süpernatant gruplarında canlılık değerlerinin daha düşük ve farkın anlamlı olduğu

görülmektedir ($p < 0,05$). Bu durum *B. clausii*'nin UVB uygulanmamış sağlıklı hücrelerdeki gibi fizyolojik durumu tamamen geri getiremediğini ancak hücresel hasarı kısmen azaltabildiğini düşündürmektedir.

Gruplar arası çoklu karşılaştırmalar incelendiğinde MHB ve MHB-*B. clausii* süpernatantı gruplarının özellikle düşük ve orta doz askorbik asit uygulamalarına kıyasla daha yüksek canlılık değerleri oluşturduğu görülmektedir. Bu farkların büyük bir kısmı istatistiksel açıdan anlamlı olarak tespit edilmiştir. Bu durum askorbik aside kıyasla *B. clausii*'nin daha iyi bir biyolojik etki gösterebileceğine işaret etmektedir. Askorbik asit grupları kendi içinde değerlendirildiğinde ise özellikle 100 µg/mL konsantrasyonunda canlılık değerinin diğer dozlara göre daha yüksek olduğu, ancak 150 µg/mL'de hücresel canlılıkta tekrar düşüş olduğu gözlenmektedir. Bulgular askorbik asit etkisinin doza bağımlı ancak optimal bir aralıkta maksimum olduğunu göstermektedir.

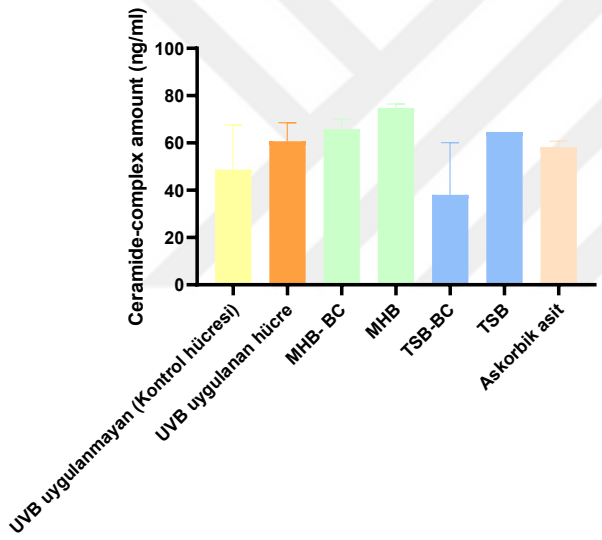
Tüm bulgular genel olarak değerlendirildiğinde *B. clausii* süpernatantının UVB kaynaklı hücresel hasarı azaltmada etkili olduğu, bazı durumlarda ise askorbik asit uygulamasına kıyasla daha belirgin olarak koruyucu etki gösterdiği sonucuna ulaşılmaktadır. Ancak bulgular incelendiğinde bu etkinin sınırlı olduğu; UVB hasarlandırılmamış sağlıklı hücre özelliklerine tam olarak erişilemediği tespit edilmektedir.



Şekil 4.12. MTT testi sonrası hücre canlılığının grafiksel gösterimi

Seramid-kompleks Tayini

Bu tez çalışmasında keratinositlerin UVB hasarlandırılması öncesi ve sonrası aşamalarında probiyotik uygulamasının seramid ve kompleksleri düzeyine etkileri incelenmiştir. UVB epidermal fonksiyonları bozarak hücrede oksidatif stres, inflamasyon ve lipid metabolizması değişikliklerine sebep olmaktadır. Bu sebeple UV maruziyetin seramid metabolizmasını doğrudan etkilediği ve deri bariyeri yapısında ve fonksiyonunda değişimlere neden olduğu literatürde bahsedilmektedir (Cao ve diğerleri, 2024; Lei ve diğerleri, 2024). Seramidler stres koşulları altında hücre içi stres yanıtlarını aktive ederek seramid ve ilgili komplekslerin üretimini arttırmaktadır. Şekil 4.17'de gözlenen artışın oluşturulan UVB stresine istinaden olduğu düşünülmektedir.



Şekil 4.13. Seramid-kompleks ölçüm deneyi sonucunda elde edilen seramid-kompleks miktarlarının karşılaştırmalı grafiği

Şekil 4.13 incelendiğinde, *B. clausii* süpernatantı içeren gruplar, özellikle TSB içerisinde üretilen süpernatantın diğer gruplara göre seramid kompleks düzeyini belirgin şekilde azalttığı görülmektedir. Bu bulgu, *B. clausii* süpernatantının hücresel stres yanıtını modüle ederek stres altındaki hücreyi normal hücre fonksiyonlarına getirebileceğini düşündürmektedir. Ancak gruplar arasında oluşan farkların istatistiksel açıdan anlamlı olmadığı tespit edilmiştir ($p > 0,05$). Çalışmada kullanılan tayin yöntemi Sandwich ELISA metoduna dayanmaktadır. Bu sebeple ölçülen değerlerin doğrudan seramidin serbest formunu değil proteinlere bağlı veya kompleks halde bulunan seramid benzeri yapıları yansıtıyor olabileceği düşünülmektedir. TSB-BC grubunda gözlenen düşüş, *B. clausii*

süpernatantının UVB kaynaklı hücresel stres yanıtını düzenleyebileceğini düşündürmektedir. Gelecek çalışmalarda ileri düzey analiz yöntemleri ile bulguların pekiştirilmesi amaçlanmaktadır.

5. TARTIŞMA

Probiyotikler, yeterli miktarda vücuda alındığında faydalı etkiler gösteren canlı mikroorganizmalar olarak bilinmektedir. Probiyotiklerin, yalnızca gastrontestinal mikrobiyota sağlığını koruma ve iyileştirmede değil, deri sağlığı üzerinde de önemli etkilerinin olabileceği son yıllarda araştırma konusu olmuştur. Bu nedenle, probiyotik ve türevleri, dermokozmetikte deri sağlığının iyileştirilmesi amacıyla çeşitli nemlendirici losyon ve kremler, güneş kremleri, deri bariyeri onarıcı kremler ve topikal uygulanan bebek ürünlerinde yerini almıştır. Özellikle *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* türlerinin bu ürünlerde son yıllarda sıklıkla yer aldığı gözlenmektedir. Bu tezde, piyasada önemli bir probiyotik olan, bağırsak mikrobiyotasını düzenlemede ve diyare, konstipasyon gibi çeşitli gastrointestinal rahatsızlıkların tedavisinde kullanılan *B. clausii*'nin deri sağlığı üzerine etkilerinin bütüncül olarak değerlendirilmesi ve sonuçların literatüre katkı sağlaması amaçlanmıştır. Bu amaçla *B. clausii*'nin çeşitli deri patojenleri üzerinde antimikrobiyal etkinliği disk difüzyon, kuyu difüzyon, sıvı mikrodilüsyon ve zamana bağlı öldürme analizi (Time-Kill) yöntemleriyle karşılaştırmalı olarak ele alınmıştır. Bununla beraber A375 melanom hücre hattı üzerindeki olası antikanser etkinliği ve insan keratinosit hücre hattı olan HaCaT üzerindeki UVB maruziyetine karşı koruyucu potansiyeli test edilmiştir.

B. clausii'nin antimikrobiyal etkinliğini test etmek amacıyla yapılan disk ve kuyu difüzyon deneylerinde *P. aeruginosa, K. pneumoniae, E. faecalis, C. acnes M. luteus, S. aureus, S. epidermidis, S. pyogenes* ve *C. albicans* mikroorganizmaları üzerinde herhangi bir antimikrobiyal inhibisyon zonu gözlenmemiş olup, *B. clausii*'nin ilgili mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal etkisi bu deneylerde tespit edilememiştir. Sıvı mikrodilüsyon sonuçlarına bakıldığında *P. aeruginosa* ve *E. faecalis* üzerinde antimikrobiyal etkinlik gözlenmiştir. Literatürde yer alan bazı kaynaklar *B. clausii*'nin bazı suşlarının lantipeptid yapısında antimikrobiyal bir bileşik olan clausin üretebildiğini göstermiştir (Ripert ve diğerleri, 2016; Ahire ve diğerleri, 2020). Clausin bazı Gram pozitif bakterilere karşı inhibisyon gösterebilmektedir, ancak bu etkinlik kültür koşullarına ve Gram pozitif suş türüne göre değişiklik gösterebilmektedir (Dixit ve diğerleri, 2023). Bu değişikliğin sebebi, *Bacillus* türlerinde antimikrobiyal bileşik üretimi besiyeri kompozisyonu, pH, inkübasyon süresi, hücresel yoğunluk gibi faktörlerden olabilmektedir (Mercado ve Olmos, 2022). Ahire ve diğerleri tarafından yapılan in vitro gastrointestinal simülasyon çalışmasında *B. clausii*'den izole edilen lanbiyotiklerin *M. luteus, L. monocytogenes, E. faecium, S.*

faecalis, C. difficile, S. aureus ve MRSA bakterilerinin büyümesini engellediği kuyu difüzyon ve sıvı mikrodilüsyon testleriyle belirlenmiştir. Bu çalışmada *B. clausii* UBBC07 sporları mide ve bağırsak koşullarında hayatta kalarak clausin sentezleyebilmiştir. Bulgular *B. clausii*'nin antimikrobiyal aktivitesinin bazı uygun çevresel ve gastrointestinal şartlar sağlandığında etkin olduğunu, disk ve kuyu difüzyon gibi standart testlerde antimikrobiyal aktivitenin her zaman tespit edilemeyeceğini düşündürmektedir (Ahire ve diğerleri, 2020). Benzer şekilde Ghelardi ve diğerlerinin (2022) yürütmüş olduğu çalışma *B. clausii*'nin gastrointestinal koşullarda antimikrobiyal ve sitoprotektif mekanizmalarını desteklemektedir (Ghelardi ve diğerleri, 2022; Ostad ve diğerleri, 2024). Bu durum *B. clausii*'nin antimikrobiyal etkinliğinin laboratuvar koşullarına bağlı olarak değişebileceğini göstermektedir. Yapılan tez çalışmasında disk ve kuyu difüzyon metodlarında herhangi bir inhibisyon zonu tespit edilememesinin nedeninin, incelenen literatürlere istinaden, çevresel koşullara bağlı olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca sadece çevresel koşullara bağlı olarak değil; besin azlığı ve kültür koşullarının bazı probiyotik bakterilerde antimikrobiyal bileşik üretimini artırabildiği, zengin besiyerlerinde ise bu durumun baskılanabileceği bildirilmektedir (Knysh ve diğerleri, 2024). *B. clausii, Heyndrickxia coagulans, B. subtilis*'in inhibitör potansiyelinin birlikte kültürleme veya besin eksikliği koşulları altında artıp artmadığını inceleyen bir çalışmada, inhibitör aktivitenin özellikle ko-kültür koşullarında ve besin kısıtlılığı altında belirgin şekilde arttığı gösterilmiştir. Aynı çalışmada, zengin besiyerinde yetiştirilen monokültürlerin daha düşük inhibitör aktivite sergilediği vurgulanmıştır. Bu durum, tez deneylerinde inhibisyon zonu gözlenmemesinin, kullanılan kültürün monokültür olması ve besiyeri koşullarının antimikrobiyal metabolit üretimini yeterince indüklememiş olmasından kaynaklanabileceğini düşündürmektedir (Knysh ve diğerleri, 2024). Dolayısıyla, *B. clausii*'nin potansiyel antimikrobiyal etkisinin ortaya konulabilmesi için farklı besiyeri koşulları ve ko-kültür sistemlerinin değerlendirilmesi gerekebileceği anlaşılmaktadır.

B. clausii O/C suşunun salgıladığı bileşiklerin, *Clostridium difficile* ve *Bacillus cereus* toksinlerinin neden olduğu sitotoksisite üzerindeki etkilerinin incelendiği bir çalışmada, bu probiyotiğin yalnızca bakterilere karşı değil, aynı zamanda toksinlere karşı da koruyucu olabileceği gösterilmiştir (Ripert ve diğerleri, 2016). Fateminasab ve diğerlerinin (2023) yapmış olduğu bir çalışmada ise *B. clausii* süpernatantının antibakteriyel, antiviral ve apoptoz indükleyici aktiviteleri rapor edilmiş ve antimikrobiyal aktivitenin yalnızca canlı hücrelere bağlı olmadığını doğrulamıştır (Fateminasab ve diğerleri, 2023). Bu sebeple, ilgili

makale de referans alınarak deneylerde *B. clausii*'nin süpernatantının patojen bakterilere etkisi araştırılmak istenmiştir.

B. clausii'nin mono ve karışık kültürlerde ve farklı besiyeri koşullarına bağlı olarak patojen bakterilere karşı inhibisyon etkinliklerinin değişebildiği Knysh ve diğerlerinin (2024) yaptığı çalışmada raporlanmıştır (Knysh ve diğerleri, 2024). Bu sebeple deneylerin başlangıç aşamasında *B. clausii* MHB ve TSB besiyerleri içerisinde ayrı ayrı inokule edilmiş ve deneylerde her ikisi kullanılarak sonuçlar karşılaştırılmalı olarak incelenmiştir.

Bacillus türlerinin ikincil metabolitleri çoklu direnç gösteren patojenlere karşı potansiyel tedavi yöntemi olarak kullanılabilmektedir. *B. clausii*'nin antimikrobiyal etki mekanizmaları genetik ve metabolik olarak çeşitlilik gösterebilmektedir. Değerlendirilen ve incelenen tüm makaleler çerçevesinde, deneylerde gözlenen sınırlı antimikrobiyal aktivite *B. clausii*'nin çevresel koşullar, suş farklılıkları ve metabolit üretimine bağlı olarak değişebilmektedir (Urdaci ve diğerleri, 2004; Alkhalili ve Canback, 2018; Nicolas ve diğerleri, 2025).

B. clausii CSI08 suşunun antimikrobiyal aktivitesinin test edildiği bir çalışmada, *P. aeriginosa* ve *S. aureus* bakterilerinin sayısını azalttığı tespit edilmiştir (Khokhlova ve diğerleri, 2023). Tez çalışmasında yapılan antimikrobiyal aktivite deneylerinde inhibisyon zonu gözlenmemiş olsa da probiyotik mikroorganizmaların biyolojik aktivitelerinin yalnızca doğrudan antibakteriyel etki ile sınırlı olmadığı Barzoki ve diğerlerinin (2022) yapmış olduğu çalışmada incelenmiştir. Çalışmada *B. clausii*'nin kendisi ve süpernatantının *Herpes simplex* virüs tip 1 üzerinde antiviral etki gösterdiği tespit edilmiştir. Özellikle süpernatant aracılığıyla antimikrobiyal etkinin gözlendiği bu çalışma, *B. clausii* antimikrobiyal etkilerinin doğrudan inhibisyon zonu oluşturmak yerine salgıladığı metabolitler aracılığıyla veya farklı biyolojik mekanizmalar üzerinden ortaya çıkabileceğini açıklamaktadır (Barzoki ve diğerleri, 2022).

B. clausii'nin melanom hücreleri üzerinde etkisinin incelenmesi amacıyla A375 melanom hücre hattı kullanılmış, hücreler farklı konsantrasyonlarda hazırlanan *B. clausii* süpernatantı ile muamele edilmiştir. A375 hücre hattı ile MTT deneyinde gözlenen sonuçlar süpernatantın tam olarak bir sitotoksik ajan gibi davranmadığını belirtmektedir. Yüksek konsantrasyonlarda hücre canlılığında azalma gözlenmiş olsa da bu durum kontrol amacıyla uygulanan besiyeri ile paraleldir ve besiyerinin de hücrelerin ölmesine sebep olabileceğini

düşündürmektedir. Ayrıca gözlenen bu etkinin tüm doz aralığı boyunca devam etmediği görülmektedir.

Deney sonuçlarında negatif kontrol amacıyla kullanılan besiyeri ve *B. clausii* süpernatantının melanom üzerinde benzer hücresel yanıtlar oluşturduğu görülmüş, kullanılan süpernatantın melanom hücreleri üzerinde spesifik sitotoksik ve antiproliferatif etkisinin olmadığı tespit edilmiştir. Bu bulgular, *B. clausii*'nin melanom hücreleri üzerindeki olası etkilerinin hücre dışına salgılanan metabolitlerden kaynaklanmadığını düşündürmekte olup, bu etkilerin probiyotik hücresinin kendisi, konak–mikrobiyota etkileşimleri veya immün yanıtlar aracılığıyla oluşup oluşmadığının ileri çalışmalarla araştırılması gerekmektedir.

Literatürde oral ve topikal probiyotiklerin melonom ve deri kanserleri üzerindeki etkilerini inceleyen çalışmaların sınırlı olduğu görülmektedir. Probiyotiklerin deri kanserlerinin önlenmesindeki potansiyel rollerini araştıran güncel bir derlemede, bu mikroorganizma ve türevlerinin immün yanıtı düzenleme, inflamasyonu baskılama ve azaltma, karsinogenez sürecinde görevli olan hücresel mekanizmaları modüle etme yoluyla dolaylı olarak antikanser etkiler gösterebileceği vurgulanmıştır (Torabi ve diğerleri, 2025). Bunun yanı sıra probiyotik türevli metabolitlerin apoptotik yolları aktive ederek tümör progresyonunu baskılayabileceği düşünülmektedir (Isozaki ve diğerleri, 2022).

Probiyotik ve türevlerinin lokal etkilerinin yanında sistemik düzeyde de bağırsak-deri ekseni üzerinden etkilerinin olduğu araştırılmaktadır. Bağırsak-deri mikrobiyotası arasındaki çift yönlü etkileşimin inflamasyon ve tümör gelişimini baskıladığı belirtilmektedir. Araştırmalar deri ve bağırsak mikrobiyotası çeşitliliğinin deri kanserlerinin tedavisinde ve immün cevabın kontrol edilmesinde önemli bir rol oynadığını göstermektedir (Friedrich ve diğerleri, 2017; Makaranka ve diğerleri, 2022; Woo ve diğerleri 2022; Bouferraa ve diğerleri, 2023; Ziogas ve diğerleri, 2026). Sivan ve diğerlerinin (2015) melanom modeli oluşturulan farelerde gerçekleştirdiği bir çalışmada, *Bifidobacterium* oral uygulamasının tümör büyümesini engellediği üzerine bulgular tespit edilmiştir (Sivan ve diğerleri, 2015).

İncelenen makaleler doğrultusunda tez çalışmasında kullanılan *B. clausii* süpernatantının *in vitro* koşullarda uygulanması ve immün sistem bileşenlerinin bulunmaması antikanser etkinin ortaya çıkmamasının temel sebebi olabileceğini düşündürmektedir. Probiyotiklerin,

özellikle canlı bakteri formunda, konakla etkileşim halinde ve immün yanıtın mevcut olduğu durumlarda daha belirgin etkiler gösterdiği dikkate alındığında, *B. clausii*'nin potansiyel antikanser etkilerinin ortaya konulabilemesi için *in vivo* modeller, immünolojik parametreler ve kanser mikroçevresini içeren daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç duyulduğu düşünülmektedir.

UVR, deri kanserlerinin etiyolojisinde önemli bir faktör olarak bilinmektedir. Bu ışınlara tekrarlayan süreçlerde maruz kalma deride kırışıklık, elastikiyet kaybı, renk değişiklikleri, kuruluk gibi fotoyaşlanma belirtilerinin erken yaşlarda ortaya çıkmasına sebep olmaktadır (Teng ve diğerleri, 2022). Bununla beraber, kronik UVR maruziyetinin melanom oluşma riskini tetikleyebileceği düşünülmektedir. UVR reaktif oksijen türlerinin üretimini arttırarak DNA hasarında ilerleyici mutasyona sebep olabilmektedir. Aynı zamanda, bağışıklığın baskılanmasına sebep olarak kanser hücrelerinin klonal genişlemesini arttırmaktadır (Woo ve diğerleri, 2022). Literatürde probiyotiklerden salgılanan metabolitlerin UVR'a karşı koruyucu etkiler gösterdiğine dair çalışmalar mevcuttur. Mevcut çalışmalardan biri olan Friedrich ve diğerlerinin (2017) yaptığı bir çalışmada, *L. rhamnosus*'tan izole edilmiş lipoteikoik asidin oral uygulamasının kronik UV ışını verilen farelerde UV kaynaklı oluşan deri skuamöz hücreli karsinomları geciktirdiği ve azalttığı gözlenmiştir (Friedrich ve diğerleri, 2017).

UVB ışınlarının keratinositler üzerinde oluşturduğu sitotoksik etki; reaktif oksijen türlerinin artışı, DNA hasarı ve hücresel apoptoz mekanizmalarının aktivasyonu ile açıklanmaktadır. UVB maruziyetin HaCaT hücrelerinin morfolojisi üzerinde ciddi bozulmalar meydana getirdiği, hücre canlılığını azalttığı literatürde belirtilmektedir (Shahen ve diğerleri 2023; Mondadori ve diğerleri, 2025). Tez çalışmasında elde edilen düşük hücre canlılığı ve morfolojik bozulmalar UVB hasarın bu etkileriyle uyumlu bulunmaktadır. Son yıllarda probiyotikler ve türevlerinin UV hasara karşı koruyucu veya tedavi edici etkileri araştırılmaktadır. HaCaT hücreleri üzerinde yapılan çalışmalarda bazı probiyotik veya süpernatantlarının UVB'ye bağlı olarak oluşan hücre hasarını azalttığı, hücre canlılığı üzerinde olumlu etkilerinin olduğu ve hücre bileşenlerini koruduğu tespit edilmiştir. *Limosilactobacillus fermentum* ve *L. plantarum* kullanılarak yapılan bir çalışmada, probiyotik uygulaması ile UVB maruziyet sonrası hücrelerde meydana gelen kolajen yıkımının inhibe edildiği ve hücre fonksiyonlarının korunduğu gösterilmiştir (Park ve diğerleri, 2024). Benzer sonuçları olan bir diğer çalışmada UVB hasarlandırılmış

keratinositlerde probiyotik kaynaklı bileşenlerin hücre canlılığını %90'ın üzerine çıkarabildiği analiz edilmiştir (Shahen ve diğerleri, 2023). Bu göstergelerin yanı sıra literatürde bahsi geçen tüm probiyotik uygulamalarının güçlü bir sitoprotektif etki gösteremediği de belirtilmektedir. Bazı çalışmalarda probiyotiklerden elde edilen süpernatantların hücre canlılıkları üzerinde sınırlı etki gösterebildiği bunun yanı sıra antioksidan sistemler, kolajen ve seramid metabolizması üzerinden düzenleyici etkiler oluşturduğu bulunmuştur (Park ve diğerleri, 2024). Bu durum probiyotik etkisinin yalnızca hücre canlılığı üzerinden değil aynı zamanda hücresel sinyal yolları ve biyokimyasal parametreler üzerinden de değerlendirilmesi gerektiğini ortaya çıkarmaktadır.

Tez çalışmasında elde edilen bulguların literatürdeki değişken sonuçlarla paralel olduğu görünmektedir. *B. clausii* süpernatantının tedavi edici etkisini incelemek amacıyla oluşturulan UVB sonrası süpernatant uygulamasında hücre canlılığını belirgin olarak arttırmadığı gözlenmiştir. Bu durum kullanılan besiyerinin içeriği, probiyotik suşunun türü veya deneysel koşulların etkisiyle açıklanabilmektedir. Literatürde de probiyotiklerin olası olumlu etkilerinin suş spesifik olduğu ve kültür koşullarına bağlı olarak değişebildiği bildirilmektedir (Souak ve diğerleri, 2021).

UVB öncesi süpernatant uygulanan gruplarda gözlenen kısmi sınırlı iyileşme eğilimi, UVB öncesi uygulamaların antioksidan enzimleri arttırmasına bağlı olarak hücreleri hasara karşı daha dirençli hale getirdiğini düşündürmektedir. Bu amaçla değerlendirilen Shin ve diğerlerinin (2018) yapmış olduğu bir çalışmada, *L. rhamnosus* ile zenginleştirilen bir bitki özütünün UVB hasarlandırılmış HaCaT keratinositlerinde azalan glutatyon ve süperoksit dismutaz seviyelerini arttırdığı ve hücreleri UVB hasara karşı dirençli hale getirdiği tespit edilmiştir (Shin ve diğerleri, 2018).

Bu çalışmada elde edilen bulgular *B. clausii* süpernatantının hücre canlılığı üzerindeki etkisinin hücre hattı ve uygulanan konsantrasyona bağlı olarak değişebildiğini göstermektedir. Bu tez çalışması, probiyotik süpernatantların UVB kaynaklı hücre hasarı üzerindeki etkisinin suş, besiyeri ve uygulama zamanına bağlı olarak değiştiğini ortaya koymaktadır. Elde edilen veriler *B. clausii* süpernatantının bu deney koşullarında güçlü bir sitoprotektif ajan olmadığını ancak UVB öncesi uygulamalarda sınırlı bir koruyucu potansiyel gösterebileceğini düşündürmektedir. Bulgular, probiyotiklerin UV karşıtı

etkilerini optimize edebilmek amacıyla doz, uygulama süresi ve aktif bileşenlerinin detaylı olarak araştırılması gerektiğini göstermektedir.

UV ışınları, epidermiste anormal seviyelerde reaktif oksijen türevleri üretimine sebep olmaktadır. Bu türevlerin aşırı miktarda salgılanması çeşitli deri hastalıklarının tetiklenmesine ve pro-enflamatuar moleküllerin üretimine, erken yaşlanma, kırışıklık oluşumu gibi durumlara sebep olmaktadır. Seramidler, deri bariyer fonksiyonunu koruma ve nem kaybını önlemede önemli bir rol oynayan lipid yapılı doğal deri bileşenleridir. Epidermal seramidler ve metabolitleri deri bariyeri homeostazının sağlanmasında kritik anlam ifade etmektedirler (Park ve diğerleri, 2023). Probiyotik türevlerinin UVB maruziyetine bırakılarak hasarlandırılmış keratinosit hücrelerinde hücre canlılığını arttırdığı ve oksidatif stres yanıtını azalttığı; bununla beraber deri bariyer fonksiyonunu güçlendirerek inflamatuar süreçleri baskıladığı bilinmektedir (Shaheen ve diğerleri, 2023; Mondadori ve diğerleri, 2025). Probiyotiklerin deri bariyer fonksiyonunu güçlendirmede önemli bir lipit olan seramid düzeylerini arttırdığı araştırılmaktadır. Güncel çalışmalardan biri olan Ma ve diğerleri (2026)'nın yaptığı çalışma, deri mikrobiyotasına ait bir bakteri olan *C. acnes*'in UVB kaynaklı hasarlanmayı seramid metabolizması üzerinden azaltabildiğini bildirmiştir (Ma ve diğerleri, 2026). Buna istinaden, *B. clausii* süpernatantının seramid kompleks düzeylerini azaltma eğilimi göstermesi, probiyotiklerin hücrelerde oluşan stres yanıtlarıyla ve lipid metabolizmasıyla ilgili olabileceği şeklinde yorumlanmaktadır.

6. SONUÇ

B. clausii'nin deri sağlığı üzerine potansiyel antimikrobiyal, antikanser ve UVB hasardan koruyucu ve tedavi edici etkinliği çeşitli deneysel yöntemlerle test edilmiştir. Antimikrobiyal etkinin test edilmesi amacıyla sıvı mikrodilüsyon, disk difüzyon, kuyu difüzyon ve zamana bağlı öldürme analizleri yapılmıştır. Antikanser etkinlik A375 melanom hücre hattı üzerinden MTT analizi ile test edilmiştir. UVB hasara karşı potansiyel koruyucu ve tedavi edici etkinliğin değerlendirilmesi MTT analizi ve seramid kompleks tayini yöntemleriyle gerçekleştirilmiştir.

Tüm sonuçlar incelendiğinde antimikrobiyal aktivite testlerinden olan disk ve kuyu difüzyon testlerinde *P. aeruginosa, K. pneumoniae, E. faecalis, C. acnes, M. luteus, S. aureus, S. epidermidis, S. pyogenes, C. albicans* mikroorganizmalarına karşı *B. clausii* süpernatantının herhangi bir antimikrobiyal etkinliği tespit edilememiştir. Ancak yapılan sıvı mikrodilüsyon deneyinde *P. aeruginosa, E. faecalis* için MİK 1/2 (v/v) olarak tespit edilmiştir. Zamana bağlı öldürme analizinde *B. clausii*'nin *P. aeruginosa* ve *E. faecalis* bakterileri üzerinde bakteriyostatik etkisinin olduğu gözlemlenmiştir.

Antikanser etkinliğin belirlenmesi amacıyla A375 melanom hücreleri üzerinde yapılan MTT testinde anlamlı bir antikanser etkinlik saptanamamıştır. HaCaT hücreleri üzerinde UVB hasarlandırma öncesi koruyucu etkinin belirlenmesi amacıyla uygulanan *B. clausii* süpernatantının (MHB içerisinde üretilen süpernatantı) istatistiksel açıdan anlamlı seviyede UVB koruyucu etkisi saptanmıştır. UVB hasarlandırma sonrası 1/16 (v/v) hacimde uygulanan süpernatantın besiyeri kontrol grubuna kıyasla anlamlı olduğu tespit edilmiştir. UVB hasarlandırma sonrası hücre üst sıvıları seramid kompleks tayini ile ölçülmüş, *B. clausii* süpernatantı verilen hücrelerdeki seramid kompleks seviyelerinin UVB uygulanmayan kontrol grubuna göre daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Sonuçlar *B. clausii* süpernatantının deri sağlığı üzerinde etkilerinin olduğunu ancak ileri ve kapsamlı çalışmalara ihtiyaç bulunduğunu göstermektedir.

KAYNAKLAR

Acosta-Rodriguez-Bueno, C. P., Abreu y Abreu, A. T., Guarner, F., Guno, M. J. V., Pehlivanoğlu, E. and Perez III, M. (2022). Bacillus clausii for gastrointestinal disorders: a narrative literature review. *Advances in Therapy*, *39*(11), 4854-4874.

Ahire, J. J., Kashikar, M. S. and Madempudi, R. S. (2020). Survival and germination of Bacillus clausii UBBC07 spores in in vitro human gastrointestinal tract simulation model and evaluation of clausin production. *Frontiers in Microbiology*, *11*, 1010.

Ahmad, M. F., Ahmad, F. A., Alsayegh, A. A., Zeyaullah, M., Babalghith, A. O., Faidah, H., Ahmed, F., Khanam A., Mozaffar, B. and Bantun, F. (2025). Probiotics and cancer: mechanistic insights and organ-specific impact. *Biomolecules*, *15*(6), 879.

Alexander, J. L., Wilson, I. D., Teare, J., Marchesi, J. R., Nicholson, J. K. and Kinross, J. M. (2017). Gut microbiota modulation of chemotherapy efficacy and toxicity. *Nature Reviews Gastroenterology and hepatology*, *14*(6), 356-365.

Alkhalili, R. N. and Canbäck, B. (2018). Identification of putative novel class-I lanthipeptides in Firmicutes: a combinatorial in silico analysis approach performed on genome sequenced bacteria and a close inspection of Z-geobacillin lanthipeptide biosynthesis gene cluster of the thermophilic Geobacillus sp. strain ZGt-1. *International Journal of Molecular Sciences*, *19*(9), 2650.

Arias, C. A. and Murray, B. E. (2021). The rise of the Enterococcus: Beyond vancomycin resistance. *Clinical Microbiology Reviews*, *34*(2), e00040-19.

Axt-Gadermann, M., Chudomirova, K., and Noll, M. (2021). Probiotic baths for atopic dermatitis. *Der Hautarzt; Zeitschrift fur Dermatologie, Venerologie, und Verwandte Gebiete*, *72*(6), 549.

Aydın, İ. ve Konuşkan, Z. G. (2022). Probiyotik Mikroorganizmaların Sağlık Üzerine Etkisi. *Karya Journal of Health Science*, *3*(2), 161-166.

Bădăluță, V. A., Curuțiu, C., Dițu, L. M., Holban, A. M. and Lazăr, V. (2024). Probiotics in Wound Healing. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(11), 5723.

Baddal, B., Guler, E. and Suer, K. (2021). Antibiotic Resistance in Pseudomonas aeruginosa Isolated from Hospital and Community-Acquired Infections: Current Status in Northern Cyprus/Hastane ve Toplum Kokenli Infeksiyonlardan Izole Edilen Pseudomonas aeruginosa Suslarinda Antibiyotik Direnci: Kuzey Kibris' ta Guncel Durum. *Klımık Journal*, *34*(S1), 31-37.

Ballini, A., Charitos, I. A., Cantore, S., Topi, S., Bottalico, L. and Santacroce, L. (2023). About functional foods: The probiotics and prebiotics state of art. *Antibiotics*, *12*(4), 635.

Banfi, D., Senatore, A., Manfredini, A. and Tiberi, M. (2024). Optimization of Experimental Infection of the Animal Model Galleria mellonella with the Gram-Positive Bacterium *Micrococcus luteus*. *Insects*, *15*(8), 618.

Barzoki, M. G., Malekshahi, S. S. and Shayestehpour, M. (2022). In vitro evaluation of antiviral activity of Shouchella clausii probiotic strain and bacterial supernatant against herpes simplex virus type 1. *Archives of Microbiology*, *204*(8), 522.

Basi-Chipalu, S., Sthapit, P. and Dhital, S. (2022). A review on characterization, applications and structure-activity relationships of Bacillus species-produced bacteriocins. *Drug Discoveries & Therapeutics*, *16*(2), 55-62.

Berni Canani, R., Paparo, L., Nocerino, R., Di Scala, C., Della Gatta, G., Maddalena, Y., Buono, A., Bruno, C., Voto, L. and Ercolini, D. (2019). Gut microbiome as target for innovative strategies against food allergy. *Frontiers in Immunology*, *10*, 191.v

Bouferraa, Y., Fares, C., Bou Zerdan, M. and Boyce Kennedy, L. (2023). Microbial influences on immune checkpoint inhibitor response in melanoma: the interplay between skin and gut microbiota. *International Journal of Molecular Sciences*, *24*(11), 9702.

Bouhss, A., Al-Dabbagh, B., Vincent, M., Odaert, B., Aumont-Nicaise, M., Bressolier, P., Desmadril M. Mengin-Lecreulx, D., Urdaci, Mm. C. and Gallay, J. (2009). Specific interactions of clausin, a new lantibiotic, with lipid precursors of the bacterial cell wall. *Biophysical Journal*, *97*(5), 1390-1397.

Budu, O., Mioc, A., Soica, C., Caruntu, F., Milan, A., Oprean, C., Lighezan, D., Ivan, V. and Banciu, C. (2024). Lactiplantibacillus plantarum induces apoptosis in melanoma and breast cancer cells. *Microorganisms*, *12*(1), 182.

Buhaș, M. C., Candrea, R., Gavrilaș, L. I., Miere, D., Tătaru, A., Boca, A. and Cătinean, A. (2023). Transforming psoriasis care: probiotics and prebiotics as novel therapeutic approaches. *International Journal of Molecular Sciences*, *24*(13), 11225.

Byrd, A. L., Belkaid, Y. and Segre, J. A. (2018). The human skin microbiome. *Nature Reviews Microbiology*, *16*(3), 143-155.

Cao, Y., Zhang, X., He, X., Wang, W., Yi, Y. and Ai, Y. (2024). Efficacy of ceramide-containing sunscreen on skin barrier. *Journal of Cosmetic Dermatology*, *23*(2), 525-528.

Caulier, S., Nannan, C., Gillis, A., Licciardi, F., Bragard, C. and Mahillon, J. (2019). Overview of the antimicrobial compounds produced by members of the Bacillus subtilis group. *Frontiers in Microbiology*, *10*, 302.

Cavallo, I., Sivori, F., Truglio, M., De Maio, F., Lucantoni, F., Cardinali, G., Pontone, M, erardi,T., Sanguinetti, M., Capitano, B.., Cristaudo, A., Ascenzioni, F., Morrone, A., Pimpinelli, F. and Di Domenico, E. G. (2022). Skin dysbiosis and Cutibacterium acnes biofilm in inflammatory acne lesions of adolescents. *Scientific Reports*, *12*(1), 21104.

Celik, C., Lee, S. T. T., Tanoto, F. R., Veleba, M., Kline, K. and Thibault, G. (2024). Decoding the complexity of delayed wound healing following Enterococcus faecalis infection. *Elife*, *13*, RP95113.

Cheng, N. C., Cheng, Y., Tai, H. C., Chien, K. L., Wang, S. H., Chen, Y. H., Fang, C. T. and Hsueh, P. R. (2023). High mortality risk of type III monomicrobial gram-negative necrotizing fasciitis: the role of extraintestinal pathogenic Escherichia coli (ExPEC) and Klebsiella pneumoniae. *International Journal of Infectious Diseases*, *132*, 64-71.

Chung, H. J., Lee, H., Kim, M., Lee, J. W., Saeed, M., Lee, H., Jung, S. H., Shim, J. J., Lee, J. L., Heo, K. and Choi, H. K. (2022). Development and metabolic profiling of a postbiotic complex exhibiting antibacterial activity against skin microorganisms and anti-inflammatory effect on human keratinocytes. *Food Science and Biotechnology*, *31*(10), 1325-1334.

Ciofu, O., Moser, C., Jensen, P. O. and Høiby, N. (2022). Tolerance and resistance of microbial biofilms. *Nature Reviews Microbiology*, *20*(10), 621-635.

Clinical and Laboratory Standards Institute. (2023). *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing* (33rd ed., CLSI supplement M100). CLSI.

Cruz, M. S., Diamond, A., Russell, A. and Jameson, J. M. (2018). Human αβ and γδ T cells in skin immunity and disease. *Frontiers in Immunology*, *9*, 1304.

Dagnelie, M. A., Corvec, S., Saint-Jean, M., Nguyen, J. M., Khammari, A. and Dréno, B. (2019). Cutibacterium acnes phylotypes diversity loss: a trigger for skin inflammatory process. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, *33*(12), 2340-2348.

de Jesus, G. F. A., Rossetto, M. P., Voytena, A., Feder, B., Borges, H., da Costa Borges, G., Feuser Z. P., Dal-Bo, S. and Michels, M. (2023). Clinical evaluation of paraprobiotic-associated Bifidobacterium lactis CCT 7858 anti-dandruff shampoo efficacy: A randomized placebo-controlled clinical trial. *International Journal of Cosmetic Science*, *45*(5), 572-580.

Del Giudice, P. (2020). Skin infections caused by Staphylococcus aureus. *Acta Dermato-Venereologica*, *100*(9), 5725.

Dessinioti, C. and Katsambas, A. (2024). The microbiome and acne: perspectives for treatment. *Dermatology and Therapy*, *14*(1), 31-44.

Díaz, M. A., González, S. N., Alberto, M. R. and Arena, M. E. (2020). Human probiotic bacteria attenuate Pseudomonas aeruginosa biofilm and virulence by quorum-sensing inhibition. *Biofouling***,** 36(5), 597–609.

Dinić, M., Verpile, R., Burgess, J. L., Ming, J., Marjanovic, J., Beliz, C. N., Plano, L., Hower, S., Thaller, S., Banerjee, S., Lev-Tov, H., Tomic-Canic, M. and Pastar, I. (2024). Multi-drug resistant Staphylococcus epidermidis from chronic wounds impair healing in human wound model. *Wound Repair and Regeneration*, *32*(6), 799-810.

Dixit, Y., Kanojiya, K., Bhingardeve, N., Ahire, J. J. and Saroj, D. (2023). Identification and characterisation of antimicrobial compound produced by probiotic Alkalihalobacillus clausii 088AE. *Brazilian Journal of Microbiology*, *54*(3), 1737-1743.

Dolati, M., Tafvizi, F., Salehipour, M., Movahed, T. K. and Jafari, P. (2021). Inhibitory effects of probiotic Bacillus coagulans against MCF7 breast cancer cells. *Iranian Journal of Microbiology*, *13*(6), 839.

Dréno, B., Pécastaings, S., Corvec, S., Veraldi, S., Khammari, A. and Roques, C. (2018). Cutibacterium acnes (Propionibacterium acnes) and acne vulgaris: a brief look at the latest updates. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, *32*, 5-14.

Eguren, C., Navarro-Blasco, A., Corral-Forteza, M., Reolid-Perez, A., Seto-Torrent, N., Garcia-Navarro, A., Prieto-Merino, D., Nunez-Delegıdo, E., Sanchez-Pellicer, P. and Navarro-Lopez, V. (2024). A randomized clinical trial to evaluate the efficacy of an oral probiotic in acne vulgaris. *Acta Dermato-Venereologica*, *104*, 33206.

Elizalde-Jiménez, I. G., Ruiz-Hernández, F. G., Carmona-Cruz, S. A., Pastrana-Arellano, E., Aquino-Andrade, A., Romo-González, C., la Garza E. A., Alvarez-Villalobos, N. A. and García-Romero, M. T. (2024). Global antimicrobial susceptibility patterns of Staphylococcus aureus in atopic dermatitis: a systematic review and meta-analysis. *Jama Dermatology*, *160*(11), 1171-1181.

European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. (2024). *Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters* (Version 14.0). https://www.eucast.org.

Falholt Elvebakken, H., Bruntse, A. B., Vedel, C. and Kjærulff, S. (2023). Topical Lactiplantibacillus plantarum LB244R® ointment alleviates skin aging: An exploratory trial. *Journal of Cosmetic Dermatology*, *22*(6), 1911-1918.

Fateminasab, Z. S., Shayestehpour, M. and Zolfaghari, M. R. (2023). Evaluation of Anti-bacterial, Anti-adenoviral, and Apoptosis-inducing Activity of Bacillus clausii Supernatant. *Jundishapur Journal of Microbiology*, *16*(16).

Fernández, L., Langa, S., Martín, V., Maldonado, A., Jiménez, E., Martín, R. and Rodríguez, J. M. (2013). The human milk microbiota: origin and potential roles in health and disease. *Pharmacological Research*, *69*(1), 1-10.

Fijan, S., Frauwallner, A., Langerholc, T., Krebs, B., ter Haar, J. A., Heschl, A., Turk, D. M. and Rogelj, I. (2019). Efficacy of using probiotics with antagonistic activity against pathogens of wound infections: an integrative review of literature. *BioMed Research international*, *2019*(1), 7585486.

Flowers, L. and Grice, E. A. (2020). The skin microbiota: balancing risk and reward. *Cell Host & Microbe*, *28*(2), 190-200.

Friedrich, A. D., Paz, M. L., Leoni, J. and González Maglio, D. H. (2017). Message in a bottle: dialog between intestine and skin modulated by probiotics. *International Journal of Molecular Sciences*, *18*(6), 1067.

Gaikwad, R., Kondle, S., Chang, S., Barnes, C., Kubba, R., Lane, C., Uppu, S. and Frezza, E. (2025). Impact of Probiotics on Atopic Dermatitis in Pediatric Patients: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Medicina*, *61*(12), 2090.

Gao, T., Wang, X., Li, Y. and Ren, F. (2023). The role of probiotics in skin health and related gut–skin axis: A review. *Nutrients*, *15*(14), 3123.

García, G., Soto, J., Díaz, A., Barreto, J., Soto, C., Pérez, A. B., Boffill, S. and Cano, R. D. J. (2024). Randomized clinical trials demonstrate the safety assessment of *Alkalihalobacillus clausii* AO1125 for use as a probiotic in humans. *Microorganisms*, *12*(11), 2299.

Ghelardi, E., Abreu y Abreu, A. T., Marzet, C. B., Álvarez Calatayud, G., Perez III, M. and Moschione Castro, A. P. (2022). Current progress and future perspectives on the use of *Bacillus clausii*. *Microorganisms*, *10*(6), 1246.

Gibson, G. R., Hutkins, R., Sanders, M. E., Prescott, S. L., Reimer, R. A., Salminen, S. J., Scott, K., Stanton, C., Swanson, K. S., Cani, P. D., Verbeke, K. and Reid, G. (2017). Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 14(8), 491–502.

Gomez-Mejia, A., Orlietti, M., Tarnutzer, A., Mairpady Shambat, S. and Zinkernagel, A. S. (2024). Inhibition of Streptococcus pyogenes biofilm by Lactiplantibacillus plantarum and Lacticaseibacillus rhamnosus. *Msphere*, *9*(10), e00430-24.

Hartmann, D., Ayala, J. I. and Morgado-Carrasco, D. (2025). Cutaneous infections caused by Pseudomonas aeruginosa. Clinical presentation, diagnosis and treatment. *Actas Dermo-Sifiliográficas*, 104590.

Haykal, D., Cartier, H. and Dréno, B. (2024). Dermatological health in the light of skin microbiome evolution. *Journal of Cosmetic Dermatology*, *23*(12), 3836-3846.

Hofmann, E., Schwarz, A., Fink, J., Kamolz, L. P. and Kotzbeck, P. (2023). Modelling the complexity of human skin in vitro. *Biomedicines*, *11*(3), 794.

Horasan, B. and Çelikyürek, N. A. (2024). Probiyotiklerin genel özellikleri ve sağlık üzerine etkileri. *Health Academy Kastamonu*, *9*(2), 345-365.

Isozaki, S., Konishi, H., Tanaka, H., Yamamura, C., Moriichi, K., Ogawa, N. and Fujiya, M. (2022). Probiotic-derived heptelidic acid exerts antitumor effects on extraintestinal melanoma through glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase activity control. *BMC Microbiology*, *22*(1), 110.

Iwasawa, M. T., Miyachi, H., Wakabayashi, S., Sugihira, T., Aoyama, R., Nakagawa, S., katayama, Y., Yoneyama, M., Hara, H., Iwakura, Y., Matsumoto, M., Inohara, N., Koguchi-Yoshioka, H., Fujimoto, M., Matsue, H., Nakamura, Y. and Saijo, S. (2022). Epidermal clearance of Candida albicans is mediated by IL-17 but independent of fungal innate immune receptors. *International Immunology*, *34*(8), 409-420.

Jiminez, V. and Yusuf, N. (2023). Role of the Microbiome in Immunotherapy of Melanoma. *The Cancer Journal*, *29*(2), 70-74.

Jwo, J. Y., Chang, Y. T. and Huang, Y. C. (2023). Effects of probiotics supplementation on skin photoaging and skin barrier function: a systematic review and meta-analysis. *Photodermatology, Photoimmunology & Photomedicine*, *39*(2), 122-131.

Kalfazade, M. ve Özdemir, K. S. (2023). Probiyotiklerin Mikroenkapsülasyonunda Kullanılan Yöntemler Ve Gıda Teknolojisinde Uygulamaları. *Gıda*, *48*(6), 1143-1159.

Keskin, Z., Tanyıldızı, S. ve Dağoğlu, G. (2021). Probiyotiklerin Tipleri, Kaynakları ve Etkileri. *Turkiye Klinikleri Veterinary Sciences-Pharmacology and Toxicology-Special Topics*, *7*(1), 70-74.

Kheiri, F., Kermanshahi, R. K. and Feizabadi, M. M. (2020). The inhibitory effects of Lactobacillus supernatants and their metabolites on the growth and biofilm formation of Klebsiella pneumoniae. *Infectious Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Infectious Disorders)*, *20*(6), 902-912.

Khokhlova, E., Colom, J., Simon, A., Mazhar, S., García-Lainez, G., Llopis, S., Gonzalez, N., Enrique-López, M., Álvarez, B., Martorell, P., Tortajada, M., Deaton, J. and Rea, K. (2023). Immunomodulatory and Antioxidant Properties of a Novel Potential Probiotic *Bacillus clausii* CSI08. *Microorganisms*, 11(2), 240.

Kıroğlu, O. ve Güllü, H. (2023). Cilt Yaşlanmasında Prebiyotik ve Probiyotiklerin Rolü. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, *32*(3), 130-136.

Knackstedt, R., Knackstedt, T. and Gatherwright, J. (2020). The role of topical probiotics in skin conditions: a systematic review of animal and human studies and implications for future therapies. *Experimental Dermatology*, *29*(1), 15-21.

Knysh, O. V., Martynov, A. V. and Osolodchenko, T. P. (2024). Inhibitory potential of probiotic spore formers grown as mono-and mix-cultures under conditions of different nutrient availability. *Modern Medical Technology*, *16*(4), 310-317.

Koşar, Ş., Ekinci, M. ve Öztürk, A. A. (2022). Cilt tipleri ve ihtiyaçlara göre dermakozmetik ürün önerilmesinde eczacının rolü ve nanokozmetikler: geleneksel derleme. *Journal of Literature Pharmacy Sciences*, *11*(2), 119-135.

Koumaki, D., Maraki, S., Evangelou, G., Koumaki, V., Gregoriou, S., Kouloumvakou, S., Petrou, D., Rovithi,E., Zografaki, K. and Krasagakis, K. (2025). Clinical features and Antibiotic Susceptibility of Staphylococcus aureus-infected dermatoses. *Journal of Clinical Medicine*, *14*(4), 1084.

Latif, A., Shehzad, A., Niazi, S., Zahid, A., Ashraf, W., Iqbal, M. W., Rehman, A., Riaz, R., Aadil, R. M., Khan, I. M., Özogul, F., Rocha, J. M. Esatbeyoğlu, T. and Korma, S. A. (2023). Probiotics: mechanism of action, health benefits and their application in food industries. *Frontiers in microbiology*, *14*, 1216674.

Lee, S., An, Y. W., Choi, C. H., Yun, M. R., Kim, S., Cheong, H., Choı, Y. S. and Kim, D. W. (2020). Complete genome sequences of Micrococcus luteus strains NCCP 15687 and NCCP 16831, isolated in South Korea. *Microbiology Resource Announcements*, *9*(9), 10-1128.

Lee, C. H., Min, M., Jin, S. S. and Sivamani, R. K. (2025). Skin Microbiome Shifts in Various Dermatological Conditions. *Journal of Clinical Medicine*, *14*(17), 6137.

Lei, D., Ye, L., Wen, S., Zhang, J., Zhang, L. and Man, M. Q. (2024). Preventive and therapeutic benefits of natural ingredients in photo-induced epidermal dysfunction. *Skin Pharmacology and Physiology*, *37*(1-3), 1-18.

Li, G., Feng, H., Mao, X. L., Deng, Y. J., Wang, X. B., Zhang, Q. and Xiao, S. M. (2023). The effects of probiotics supplementation on glycaemic control among adults with type 2 diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis of randomised clinical trials. *Journal of Translational Medicine*, *21*(1), 442.

Li, S., Liu, Z., Zhang, Q., Su, D., Wang, P., Li, Y., shi, W. and Zhang, Q. (2024). The antidiabetic potential of probiotics: a review. *Nutrients*, *16*(15), 2494.

Lima, F. R. F., Monteiro, C. E. D. S., Damasceno, S. R. B., Pantoja, P. D. S., Franco, Á. X., Silva, R. O., Sousa, J. A. O., Mendes, T. S., Lima, M. A. and Soares, P. M. G. (2024). *Bacillus clausii* attenuates 5-fluorouracil-induced intestinal mucositis in Mice. *Pharmaceuticals*, *17*(12), 1676.

Lin, Y. C., Wu, C. Y., Huang, H. T., Lu, M. K., Hu, W. S. and Lee, K. T. (2021). Bacillus subtilis natto derivatives inhibit enterococcal biofilm formation via restructuring of the cell envelope. *Frontiers in Microbiology*, *12*, 785351.

Linz, M. S., Mattappallil, A., Finkel, D. and Parker, D. (2023). Clinical impact of Staphylococcus aureus skin and soft tissue infections. *Antibiotics*, *12*(3), 557.

Liu, Y., Wang, J. and Wu, C. (2022). Modulation of Gut Microbiota and Immune System by Probiotics, Pre-biotics, and Post-biotics. *Frontiers in Nutrition*, 8, 634897. DOI:10.3389/fnut.2021.634897.

Ma, Y., Ni, Z., Zhu, L., Yang, J., Zhang, Y., Liu, W., Wang, R., Sun, Y., Liu, J., Zhang, P., Yu, L., Huangfu, C., Gao, Y. and Zhou, W. (2026). Skin commensal Cutibacterium acnes alleviates UVB-induced solar dermatitis via ceramide-mediated TLR4–MyD88–NF-κB. *Free Radical Biology and Medicine*.

Makaranka, S., Scutt, F., Frixou, M., Wensley, K. E., Sharma, R. and Greenhowe, J. (2022). The gut microbiome and melanoma: A review. *Experimental Dermatology*, *31*(9), 1292-1301.

Mariani, F., Juarez, G. E., Barberis, C., Veiga, F., Vay, C. and Galvan, E. M. (2023). Interspecies interactions in mixed-species biofilms formed by Enterococcus faecalis and gram-negative bacteria isolated from polymicrobial diabetic foot ulcers. *Biofouling*, *39*(5), 579-590.

Mazziotta, C., Tognon, M., Martini, F., Torreggiani, E. and Rotondo, J. C. (2023). *Probiotics Mechanism of Action on Immune Cells and Beneficial Effects on Human Health*. Cells, 12(1), 184**.**

Mercado, V. and Olmos, J. (2022). Bacteriocin production by Bacillus species: Isolation, characterization, and application. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, *14*(6), 1151-1169.

Michael, D. R., Davies, T. S., Moss, J. W. E., Calvente, D. L., Ramji, D. P., Marchesi, J. R., Pechlivanis, A., Plummer, S. F. and Hughes, T. R. (2017). The anti-cholesterolaemic effect of a consortium of probiotics: An acute study in C57BL/6J mice. *Scientific reports*, *7*(1), 2883.

Mohamed, S. A., and Hargest, R. (2022). Surgical anatomy of the skin. *Surgery (Oxford)*, *40*(1), 1-7.

Mondadori, G., Amoruso, A., Visciglia, A., Deusebio, G., Pinto, D., Pane, M. and Rinaldi, F. (2025). Heat-Treated Probiotics' Role in Counteraction of Skin UVs-Induced Damage In Vitro. *Cosmetics*, *12*(3), 121.

Nakatsuji, T., Chen, T. H., Narala, S., Chun, K. A., Two, A. M., Yun, T., Lockhart, A., Artis, K., David, G., Taylor, P., Streib, J., Dorrestein, P. C., Grier, A., Gill, S. R., Zengler, K., Hata, T., R., Leung, D. Y. M. and Gallo, R. L. (2017). Antimicrobials from human skin commensal bacteria protect against Staphylococcus aureus and are deficient in atopic dermatitis. *Science Translational Medicine*, *9*(378), eaah4680.

Negash, A. W. and Tsehai, B. A. (2020). Current applications of bacteriocin. *International Journal of Microbiology*, *2020*(1), 4374891.

Nelson, G. E., Pondo, T., Toews, K. A., Farley, M. M., Lindegren, M. L., Lynfield, R., Aragon, D., Zansky, S. M., Patt, J. P., Cieslak, P. R., Angeles, K., Harrison l. H., Petit, S., Beall, B., Beneden, C. A. V. and Van Beneden, C. A. (2016). Epidemiology of invasive group A streptococcal infections in the United States, 2005–2012. *Reviews of Infectious Diseases*, *63*(4), 478-486.

Nguyen, A. V. and Soulika, A. M. (2019). The dynamics of the skin's immune system. *International Journal of Molecular Sciences*, *20*(8), 1811.

Nicolas, G. M. (2025). Secondary metabolites from Bacillus spp. probiotics as potential treatments for multidrug-resistant pathogens: a comprehensive review. *Current Research in Microbial Sciences*, *8*, 100392.

Noble, S. M., Gianetti, B. A. and Witchley, J. N. (2017). Candida albicans cell-type switching and functional plasticity in the mammalian host. *Nature Reviews Microbiology*, *15*(2), 96-108.

Notay, M., Saric-Bosanac, S., Vaughn, A. R., Dhaliwal, S., Trivedi, M., Reiter, P. N., Rybak, I., Li, C., Larry, B., Weiss, M. D., Ambrogio, L., Burney W. and Sivamani, R. K. (2020). The use of topical Nitrosomonas eutropha for cosmetic improvement of facial wrinkles. *Journal of Cosmetic Dermatology*, *19*(3), 689-693.

Numan, M., Mathew, J., Hamad, W., Abuhmaira, M., Werah, H., and Khamkham, A. (2024). Metastatic community acquired Klebsiella pneumonia infection, secondary to skin and soft tissue infection: A case report. *IDCases*, *38*, e02074.

O'Neill, A. M. and Gallo, R. L. (2018). Host-microbiome interactions and recent progress into understanding the biology of acne vulgaris. *Microbiome*, *6*(1), 177.

Ostad, E., Ataee, N. and Shokouhfard, M. (2024). Antimicrobial activity of *Bacillus coagulans* supernatant against human enteric pathogens. *Shiraz E-Medical Journal*, *25*(10), e140293.

Paparo, L., Tripodi, L., Bruno, C., Pisapia, L., Damiano, C., Pastore, L. and Berni Canani, R. (2020). Protective action of *Bacillus clausii* probiotic strains in an in vitro model of Rotavirus infection. *Scientific Reports*, *10*(1), 12636.

Park, S. H., Park, J., Lee, M., Jun, W., Kim, J., Geum, J., Kim, O. K. and Lee, J. (2023). Wheat ceramide powder mitigates ultraviolet B-induced oxidative stress and photoaging by inhibiting collagen proteolysis and promoting collagen synthesis in hairless mice. *Preventive Nutrition and Food Science*, *28*(4), 418.

Park, J. Y., Lee, J. Y., Hong, S., Heo, H., Lee, H., Kim, Y. G., Kim, B. K., Choi, S. I. and Lee, J. (2024). Limosilactobacillus fermentum MG5368 and Lactiplantibacillus plantarum MG989 regulates skin health in UVB-induced HaCaT Cells and hairless mice model. *Nutrients*, *16*(23), 4083.

Parolin, C., Croatti, V., Laghi, L., Giordani, B., Tondi, M. R., De Gregorio, P. R., Foschi, C. and Vitali, B. (2021). Lactobacillus biofilms influence anti-Candida activity. *Frontiers in microbiology*, *12*, 750368.

Patra, V., Gallais Sérézal, I. and Wolf, P. (2020). Potential of skin microbiome, pro-and/or pre-biotics to affect local cutaneous responses to UV exposure. *Nutrients*, *12*(6), 1795.

Pérez-Valdez, D., Sánchez-Rosado, R. R., Ortiz-Pacheco, L. J., Villarreal-Zavala, R. and Samuel, H. A. (2025). Necrotizing Fasciitis by Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing Escherichia coli as the Initial Presentation of Hairy Cell Leukemia: A Case Report. *Cureus*, *17*(7).

Peters, V. B. M., Van De Steeg, E., Van Bilsen, J. and Meijerink, M. (2019). Mechanisms and immunomodulatory properties of pre-and probiotics. *Beneficial Microbes*, *10*(3), 225-236.

Peyrat, L. A., Tsafantakis, N., Georgousaki, K., Ouazzani, J., Genilloud, O., Trougakos, I. P. and Fokialakis, N. (2019). Terrestrial microorganisms: cell factories of bioactive molecules with skin protecting applications. *Molecules*, *24*(9), 1836.

Pirozzi, C., Opallo, N., Coretti, L., Lama, A., Annunziata, C., Comella, F., Melini, S., Buommino, E., Mollica, M. P., Aviello, G., Mattace Raso, G., Lembo, F. and Meli, R. (2023). Alkalihalobacillus clausii (formerly Bacillus clausii) spores lessen antibiotic-induced intestinal injury and reshape gut microbiota composition in mice. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 163, 114860.

Platsidaki, E. and Dessinioti, C. (2018). Recent advances in understanding *Propionibacterium acnes (Cutibacterium acnes)* in acne. *F1000Research*, *7*, F1000-Faculty.

Plaza-Diaz, J., Ruiz-Ojeda, F. J., Gil-Campos, M. and Gil, A. (2019). Mechanisms of action of probiotics. *Advances in Nutrition*, *10*(suppl_1), S49-S66.

Qi, P., Gong, F., Leng, M. and Wei, Z. (2025). Beneficial perspective on Staphylococcus epidermidis: a crucial species for skin homeostasis and pathogen defense. *Frontiers in Immunology*, *16*, 1674392.

Rabionet, M., Gorgas, K. and Sandhoff, R. (2014). Ceramide synthesis in the epidermis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1841(3), 422–434.

Richardson, M. and Lass-Flörl, C. (2008). Changing epidemiology of systemic fungal infections. *Clinical Microbiology and Infection*, *14*, 5-24.

Ripert, G., Racedo, S. M., Elie, A. M., Jacquot, C., Bressollier, P. and Urdaci, M. C. (2016). Secreted compounds of the probiotic Bacillus clausii strain O/C inhibit the cytotoxic effects induced by Clostridium difficile and Bacillus cereus toxins. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *60*(6), 3445-3454.

Rizzoli, R. and Biver, E. (2020). Are probiotics the new calcium and vitamin D for bone health. *Current Osteoporosis Reports*, *18*(3), 273-284.

Rong, J., Shan, C., Liu, S., Zheng, H., Liu, C., Liu, M. and Wang, L. (2017). Skin resistance to UVB-induced oxidative stress and hyperpigmentation by the topical use of Lactobacillus helveticus NS8-fermented milk supernatant. *Journal of Applied Microbiology*, *123*(2), 511-523.

Russo, R., Superti, F., Karadja, E. and De Seta, F. (2019). Randomised clinical trial in women with Recurrent Vulvovaginal Candidiasis: Efficacy of probiotics and lactoferrin as maintenance treatment. *Mycoses*, *62*(4), 328-335.

Saadat, Y. R., Khosroushahi, A. Y. and Gargari, B. P. (2019). A comprehensive review of anticancer, immunomodulatory and health beneficial effects of the lactic acid bacteria exopolysaccharides. *Carbohydrate Polymers*, *217*, 79-89.

Safadi, S., Maan, H., Kolodkin-Gal, I., Tsesis, I. and Rosen, E. (2022). The products of probiotic bacteria effectively treat persistent Enterococcus faecalis biofilms. *Pharmaceutics*, *14*(4), 751.

Sankarapandian, V., Venmathi Maran, B. A., Rajendran, R. L., Jogalekar, M. P., Gurunagarajan, S., Krishnamoorthy, R., Gangadaran, P. and Ahn, B. C. (2022). An update on the effectiveness of probiotics in the prevention and treatment of cancer. *Life*, *12*(1), 59.

Sathikulpakdee, S., Kanokrungsee, S., Vitheejongjaroen, P., Kamanamool, N., Udompataikul, M. and Taweechotipatr, M. (2022). Efficacy of probiotic-derived lotion from Lactobacillus paracasei MSMC 39-1 in mild to moderate acne vulgaris, randomized controlled trial. *Journal of CosmeticDdermatology*, *21*(10), 5092-5097.

Sawada, Y., Setoyama, A., Sakuragi, Y., Saito-Sasaki, N., Yoshioka, H. and Nakamura, M. (2021). The role of IL-17-producing cells in cutaneous fungal infections. *International Journal of Molecular Sciences*, *22*(11), 5794.

Schmidt, R. M., Pilmann Laursen, R., Bruun, S., Larnkjær, A., Mølgaard, C., Michaelsen, K. F. and Høst, A. (2019). Probiotics in late infancy reduce the incidence of eczema: a randomized controlled trial. *Pediatric Allergy and Immunology*, *30*(3), 335-340.

Shaheen, A. E., Gebreel, H. M., Moussa, L. A., Zakaria, A. E. and Nemr, W. A. (2023). Photoprotection Against UV-Induced Skin Damage Using Hyaluronic Acid Produced by Lactiplantibacillus plantarum and Enterococcus durans: AE Shaheen et al. *Current Microbiology*, *80*(8), 262.

Sharma, S. and Tripathi, P. (2019). Gut microbiome and type 2 diabetes: where we are and where to go?. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, *63*, 101-108.

Shi, X., Qiu, S., Ji, L., Lu, H., Wu, S., Chen, Q. and Liu, P. (2023). Pathogenetic characterization of a Micrococcus luteus strain isolated from an infant. *Frontiers in Pediatrics*, *11*, 1303040.

Shin, D., Lee, Y., Huang, Y. H., Lim, H. W., Jang, K., Kim, D. D. and Lim, C. J. (2018). Probiotic fermentation augments the skin anti-photoaging properties of Agastache rugosa through up-regulating antioxidant components in UV-B-irradiated HaCaT keratinocytes. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, *18*(1), 196.

Shirkhan, F., Safaei, F., Mirdamadi, S. and Zandi, M. (2024). The role of probiotics in skin care: advances, challenges, and future needs. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, *16*(6), 2132-2149.

Sırıken, B. and Öz, V. (2017). Pseudomonas aeruginosa: özellikleri ve quorum sensing mekanizması. *Gıda ve Yem Bilimi Teknolojisi Dergisi*, (18), 42-52.

Simons, A., Alhanout, K. and Duval, R. E. (2020). Bacteriocins, antimicrobial peptides from bacterial origin: overview of their biology and their impact against multidrug-resistant bacteria. *Microorganisms*, *8*(5), 639.

Sivan, A., Corrales, L., Hubert, N., Williams, J. B., Aquino-Michaels, K., Earley, Z. M., Benyamin, F. W., Lei, M. Y., Jabri, B., Alegre, M. L., Chang, E. B. and Gajewski, T. F. (2015). Commensal Bifidobacterium promotes antitumor immunity and facilitates anti–PD-L1 efficacy. *Science*, *350*(6264), 1084-1089.

Śliżewska, K., Markowiak-Kopeć, P. and Śliżewska, W. (2020). The role of probiotics in cancer prevention. *Cancers*, *13*(1), 20. Śliżewska, K., Markowiak-Kopeć, P. and Śliżewska, W. (2020). The role of probiotics in cancer prevention. *Cancers*, *13*(1), 20.

Slominski, R. M., Raman, C., Jetten, A. M. and Slominski, A. T. (2025). Neuro–immuno–endocrinology of the skin: How environment regulates body homeostasis. *Nature Reviews Endocrinology*, *21*(8), 495-509.

Smiian, K. O., Smiian, O. I., Bynda, T. P., & Loboda, A. M. (2020). Bacillus clausii in treatment of rotavirus infection in children. *Medicina*, *56*(1 Suppl.), 225..

Souak, D., Barreau, M., Courtois, A., André, V., Duclairoir Poc, C., Feuilloley, M. G. and Gault, M. (2021). Challenging cosmetic innovation: the skin microbiota and probiotics protect the skin from UV-induced damage. *Microorganisms, 9*(5), 936.

Spernovasilis, N., Psichogiou, M. and Poulakou, G. (2021). Skin manifestations of Pseudomonas aeruginosa infections. *Current Opinion in Infectious Diseases*, *34*(2), 72-79.

Stavropoulou, E. and Bezirtzoglou, E. (2020). Probiotics in medicine: a long debate. *Front Immunol 11: 2192*.

Suleman, S., Youree, B. and Gautam, S. (2024). Monomicrobial Gram-Negative Necrotizing Fasciitis of the Lower Extremity. *Cureus*, *16*(12).

Tagliari, E., Campos, L. F., Casagrande, T. A. C., Fuchs, T., de Noronha, L. and Campos, A. C. L. (2022). Effects of oral probiotics administration on the expression of transforming growth factor β and the proinflammatory cytokines interleukin 6, interleukin 17, and tumor necrosis factor α in skin wounds in rats. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*, *46*(3), 721-729.

ambe, P. S., Chavan, R. S., Tambe, S. P., & Mali, G. V. (2025). Invitro studies on colon cancer cell inhibition by cell free extracts of natural probiotics and Bacillus clausii. *IP International Journal of Medical Microbiology and Tropical Diseases, 11*(2), 135–141.

Tenea, G. N. and Ortega, C. (2021). Bacteriocin-producing Lactobacillus against pathogenic *Escherichia coli*. *Microorganisms, 9*(3), 449.

Teng, Y., Huang, Y., Danfeng, X., Tao, X. and Fan, Y. (2022). The role of probiotics in skin photoaging and related mechanisms: A review. *Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology*, 2455-2464.

Torabi, S., Nahidi, Y., Ghasemi, S. Z., Reihani, A., Samadi, A., Ramezanghorbani, N., Nazari, E. and Davoudi, S. (2025). Evaluation of skin cancer prevention properties of probiotics. *Genes & Nutrition*, *20*(1), 12.v

Tuon, F. F., Dantas, L. R., Suss, P. H. and Tasca Ribeiro, V. S. (2022). Pathogenesis of the *Pseudomonas aeruginosa* biofilm: a review. *Pathogens*, *11*(3), 300.

Urdaci, M. C., Bressollier, P. and Pinchuk, I. (2004). Bacillus clausii probiotic strains: antimicrobial and immunomodulatory activities. *Journal of Clinical Gastroenterology*, *38*, S86-S90.

Vitali, F., Colucci, R., Di Paola, M., Pindo, M., De Filippo, C., Moretti, S. and Cavalieri, D. (2022). Early melanoma invasivity correlates with gut fungal and bacterial profiles. *British Journal of Dermatology*, *186*(1), 106-116.

Walker, M. J., Barnett, T. C., McArthur, J. D., Cole, J. N., Gillen, C. M., Henningham, A., Sriprakash, K. S.,Sanderson-Smith, M. L. and Nizet, V. (2014). Disease manifestations and pathogenic mechanisms of group A Streptococcus. *Clinical Microbiology Reviews*, *27*(2), 264-301.

Wang, S., Nie, Z., Zhu, L., Wu, Y., Wen, Y., Deng, F. and Zhao, L. (2024). Probiotic characteristics and the anti-inflammatory effects of Lactiplantibacillus plantarum Z22 isolated from naturally fermented vegetables. *Microorganisms*, *12*(11), 2159.

Wang, V., Boguniewicz, J., Boguniewicz, M. and Ong, P. Y. (2021). The infectious complications of atopic dermatitis. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*, *126*(1), 3-12.

Wang, X., Chen, J., Gui, S., Zhang, X., Qian, J., Xu, X. and Fan, Z. (2026). Necrotizing Soft Tissue Infection Caused by Klebsiella pneumoniae After Intra-Articular Injection: A Case Report and Literature Review. *Infection and Drug Resistance*, 1-12.

Weng, Y. C. and Chen, Y. J. (2022). Skin microbiome in acne vulgaris, skin aging, and rosacea: An evidence-based review. *Dermatologica Sinica*, *40*(3), 129-142.

Wong-Chew, R. M., de Castro, J. A. A., Morelli, L., Perez, M. and Ozen, M. (2022). Gut immune homeostasis: the immunomodulatory role of *Bacillus clausii*, from basic to clinical evidence. *Expert Review of Clinical Immunology*, *18*(7), 717-729.

Woo, Y. R., Cho, S. H., Lee, J. D. and Kim, H. S. (2022). The human microbiota and skin cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, *23*(3), 1813.

Xie, C., Li, N., Chen, Y., Liang, Y., Huang, L., Xie, X., Wang, D. and Huang, G. (2024). Skin and soft tissue infection suspiciously caused by Klebsiella pneumoniae in an aquaculture worker: A case report. *Medicine International*, *4*(4), 34.

Yamberla, I., Pupiales, C., Chiliquinga, A. J., Sulca-Villamarín, T., Plasencia, A., Cabrera Aulestia, F., Diaz, R. F., Caicedo, A. and Barba, P. M. (2025). *Pseudomonas aeruginosa* Pathogenicity and Its Interaction with Other Microorganisms During the Skin Wound Healing Process. *International Journal of Molecular Sciences*, *26*(19), 9677.

Yenuganti, V. R., Yadala, R., Azad, R., Singh, S., Chiluka, V., Ahire, J. and Reddanna, P. (2021). In vitro evaluation of anticancer effects of different probiotic strains on HCT-116 cell line. *Journal of applied microbiology*, *131*(4), 1958-1969.

Yu, J., Duan, Y., Zhang, M., Li, Q., Cao, M., Song, W., Zhao, F., Kwok, L. Y., Zhang, H., Li, R. and Sun, Z. (2024). Effect of combined probiotics and doxycycline therapy on the gut–skin axis in rosacea. *Msystems*, *9*(11), e01201-24.

Zainab, S. R., Khan, J. Z., Rehman, M. U., Shah, F. A. and Tipu, M. K. (2024). Effect of *Bacillus clausii* in attenuating symptoms of DSS-induced ulcerative colitis by modulating NFkB pathway and oxidative stress in mice. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, *51*(12), e70004.

Zheng, Y., Hunt, R. L., Villaruz, A. E., Fisher, E. L., Liu, R., Liu, Q., Cheung, G. Y. C., Li, M. and Otto, M. (2022). Commensal Staphylococcus epidermidis contributes to skin barrier homeostasis by generating protective ceramides. *Cell Host & Microbe*, *30*(3), 301-313.

Zhu, M., Zhu, Q., Yang, Z. and Liang, Z. (2021). Clinical characteristics of patients with Micrococcus luteus bloodstream infection in a Chinese tertiary-care hospital. *Polish journal of microbiology*, *70*(3), 321.

Ziogas, D. C., Theocharopoulos, C., Martinos, A., Lyrarakis, G., Stefanou, D., Anastasopoulou, A. and Gogas, H. (2026). Toward Microbiome-Informed Melanoma Care: The Gut Microbiota in Melanoma Evolution, Immunotherapy Response and Immune-Related Toxicity. *Current Oncology Reports*, *28*(1), 10.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : ÖZKAN, Gülbeyaz

Uyruğu : T.C.

Doğum tarihi ve yeri :

Medeni hali

Telefon

e-mail

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Yüksek lisans	Gazi Üniversitesi / Farmasötik Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı	2026
Lisans	Gazi Üniversitesi / Eczacılık Fakültesi	2024

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2025-Halen	Ankara Medipol Üniversitesi	Araştırma Görevlisi
2024-2025	Lalahan Eczanesi	Eczacı

Yabancı Dil

İngilizce

Yayınlar

Özkan, G., Demir, D., Taner, İ., Bal, N. B. ve Demirel, M. (2025). Deneysel sıçan kolit modelinde alfa lipoik asit tedavisinin SOD ve NLRP3 seviyesi üzerine etkisi. *Laboratuvar Hayvanları Bilimi ve Uygulamaları Dergisi*, 5(1), 38-48.

Hobiler

Film izlemek, kitap okumak, yürüyüş yapmak



GAZİLİ OLMAK AYRICALIKTIR…

