

**İNSAN VAJİNASINDAN İZOLE EDİLEN *LACTOBACILLUS* CİNSİ
BAKTERİLERİN BAZI PROBİYOTİK ÖZELLİKLERİNİN
İNCELENMESİ**

133410

Emine KILIÇ

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
(BİYOLOJİ)**

**T.C. YÜKSEK ÖĞRETİM
BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

13340

Haziran 2003

ANKARA

Emine KILIÇ tarafından hazırlanan İNSAN VAJİNASINDAN İZOLE EDİLEN *LACTOBACILLUS* CİNSİ BAKTERİLERİN BAZI PROBİYOTİK ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ adlı bu tezin Yüksek Lisans tezi olarak uygun olduğunu onaylarım.



Doç. Dr. Belma ASLIM

Tez Yöneticisi

Bu çalışma, jürimiz tarafından Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan: : Prof. Dr. Yavuz Beyatlı

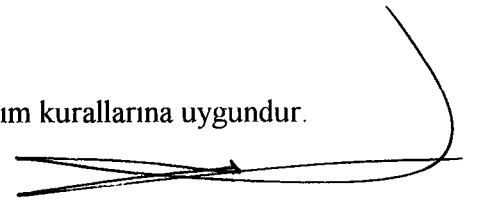
Üye : Doç. Dr. Belma Aslım (Danışman)

Üye : Doç. Dr. Zeki Taner

Üye : _____

Üye : _____

Bu tez, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygundur.



İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	iii
TEŞEKKÜR.....	v
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	vi
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	vii
RESİMLERİN LİSTESİ.....	viii
SİMGE VE KISALTMALAR.....	ix
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI.....	4
2.1. <i>Lactobacillus</i> Cinsi Bakterilerin Genel Özellikleri.....	4
2.2. Vajinanın Fizyolojisi.....	6
2.3. Vajinal Flora.....	7
2.4. <i>Laçtobacillus</i> Cinsi Bakterilerin Vajen Florasındaki Önemi.....	9
2.4.1. Antimikrobiyal madde üretimleri.....	10
2.4.2. Agregasyon ve koagregasyon özellikleri.....	14
2.4.3. Bakteri yüzey uzantıları.....	14
2.5. Kadın Genital ve Ürogenital Sistemlerinde Bazı Enfeksiyonlar ve Seksüel Yolla Bulaşan Hastalıklar (STD _s).....	15
2.5.1. Kandida vajiniti.....	15
2.5.2. Bakteriyel vajinozis.....	16
2.5.3. Toksik şok sendromu.....	16
2.5.4. Trikomoniyazis.....	16
2.5.5. Servisit.....	17

2.5.6.	İnsan immün yetmezlik virüsü ve AIDS.....	17
2.5.7.	Genital siğiller (kandiloma aküminata).....	18
2.5.8.	Üretrit.....	18
2.6.	Laktik Asit Bakterilerinin Probiyotik Kullanımında Önemi.....	18
3.	MATERYAL VE METOD.....	22
3.1.	Materyal örnekleri.....	22
3.2.	Metod.....	22
3.2.1.	Bakterilerin izolasyonu.....	22
3.2.2.	İzole edilen suşların muhafazası.....	24
3.2.3.	Teşhis testleri.....	25
3.2.4.	Metabolik ürünlerin tespiti.....	28
3.2.5.	<i>Lactobacillus</i> suşlarının antimikrobiyal aktiviteleri.....	32
3.2.6.	<i>Lactobacillus</i> spp. suşlarının antibiyotik duyarlılık testi.....	35
3.2.7.	Antifungal ilaçların MIC sınırlarının belirlenmesi.....	36
3.2.8.	<i>Lactobacillus</i> suşlarının antifungal duyarlılık testi.....	37
4.	ARAŞTIRMA BULGULARI.....	39
4.1.	<i>Lactobacillus</i> Suşlarının İzolasyonu ve Teşhisi.....	39
4.2.	<i>Lactobacillus</i> Cinsine Ait Türlerin Metabolik Aktivite Sonuçları.....	46
4.2.1.	Asit üretimleri.....	46
4.2.2.	Hidrojen peroksit üretimleri.....	49
4.3.	<i>Lactobacillus</i> spp. Suşlarının Bazı Patojen Mikroorganizmalar Üzerine İnhibisyon Etkisi.....	53
4.4.	Bakteriyosin Üretimi.....	59
4.5.	<i>Lactobacillus</i> spp. Suşlarının Antibiyotik Duyarlılık Testi.....	59

4.6.	Antifungal İlaçların MIC Sınırlarının Belirlenmesi.....	64
4.7.	<i>Lactobacillus</i> spp. Suşlarının Antifungal Duyarlılık Testi.....	64
5.	TARTIŞMA VE SONUÇ	69
	KAYNAKLAR.....	82
	EKLER.....	89
	ÖZGEÇMİŞ.....	91



**İNSAN VAJİNASINDAN İZOLE EDİLEN *LACTOBACILLUS* CİNSİ
BAKTERİLERİN BAZI PROBİYOTİK ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ
(Yüksek Lisans Tezi)**

Emine KILIÇ

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Haziran 2003**

ÖZET

Bu çalışmada, sağlıklı, hamile, HPV (+), menapoz, enfeksiyon varlığı, doğum sonrası ve adet düzensizliği özelliklerine sahip 19 kadının 10' un dan 58 adet *Lactobacillus* cinsi bakteri izole edilmiştir. Bakterilerin identifikasyon testleri sonucunda 12 adet *Lactobacillus gasseri*, 9 adet *Lactobacillus acidophilus*, 9 adet *Lactobacillus vaginalis*, 8 adet *Lactobacillus crispatus*, 8 adet *Lactobacillus delbrueckii* spp. *lactis*, 3 adet *Lactobacillus plantarum*, 2 adet *Lactobacillus jensenii*, 2 adet *Lactobacillus salivarius*, 2 adet *Lactobacillus cellobiosus*, 1 adet *Lactobacillus brevis*, 1 adet *Lactobacillus curvatus* ve 1 adet *Lactobacillus oris* olarak tanımlanmıştır. *Lactobacillus* cinsi bakterilerinin asit ve hidrojen peroksit üretimleri belirlenmiştir. Asit üretimi % 0,27-1,33 olarak bulunmuştur. Hidrojen peroksit üretimleri spektrofotometrik olarak 1,01-15,50 µg/ml arasında, tetrametil benzidin agarda nitel olarak % 41' i 2+, % 19' u 1+, % 40' ı – bulunmuştur. *Lactobacillus* cinsi izolatlarının antimikrobiyal etkisi, agar difüzyon tekniği kullanılarak araştırılmıştır. *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 29212 suşu üzerine izolatların %85' i, *Staphylococcus aureus* ATCC 2392 suşu üzerine izolatların %48' i, *Salmonella enteritidis* RSKK 171 üzerine izolatların %71' i, *Escherichia coli* ATCC 11230 üzerine izolatların %43' ü inhibisyon etkisi göstermiştir. *Candida albicans* AJD 180 ve *C. albicans* ATCC 10239 üzerine izolatların antimikrobiyal etkisi gözlenmemiştir. *Lactobacillus* cinsi izolatlarının test mikroorganizmaları üzerinde bakteriyosin etkileri

belirlenememiştir. *Lactobacillus* cinsi izolatlarının amoksisilin (25 µg), azitromisin (15 µg), kloramfenikol (30 µg), teikoplanin (30 µg), siprofloksasin (5 µg), klaritromisin (15 µg), streptomisin (10 µg) ve tetrasiklin (30 µg) antibiyotiklerine duyarlılık testleri disk difüzyon yöntemine göre yapılmış, sonuçlar NCCLS kriterlerine göre değerlendirilmiştir. Araştırmalar sonucunda, *Lactobacillus* cinsi izolatların siprofloksasin (%98) ve streptomisin (%93) antibiyotiklerine yüksek oranda dirençli olduğu belirlenirken, en yüksek duyarlılığın ise, klaritromisin (%95) ve tetrasiklin (%88) antibiyotiklerine gösterdikleri tespit edilmiştir. Ayrıca izokonazol ve oksikonazol antifungal ilaçların vajinadan izole edilen *C. albicans* AJD 180 üzerine inhibitörük konsantrasyonları belirlenmiştir. *Lactobacillus* cinsi izolatları üzerinde de her iki antifungal ilacın 0,2; 0,1 ve 0,05 µg/ml konsantrasyonlarındaki inhibisyon etkisi agar difüzyon yöntemi kullanılarak araştırılmıştır. Araştırma sonucunda her iki antifungal ilacın *C. albicans* AJD 180 üzerinde yüksek inhibisyon etkisi göstermesine rağmen, *Lactobacillus* cinsi izolatlarında oksikonazol' un çok düşük inhibisyon etkisine sahip olduğu belirlenmiştir.

Bilim Kodu : 910
Anahtar Kelimeler : Vajinal laktobasiller, antifungal, antibiyotik, antimikrobiyal aktivite, hidrojen peroksit, laktik asit, probiyotik
Sayfa Adeti : 91
Tez Yöneticisi : Doç. Dr. Belma ASLİM

RESEARCH ON PROBIOTICS CHARACTERIZATION SOME OF *LACTOBACILLUS* SPECIES BACTERIA ISOLATED FROM HUMAN VAGINA

(M. Sc. Thesis)

Emine KILIÇ

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
İNŞAAT FAKÜLTESİ
İNŞAAT MÜHÜRAT BÖLÜMÜ

.JUNE 2003

ABSTRACT

In this study, 58 strains of *Lactobacillus* species bacteria were isolated from 10 patients out of 19 women who were known to be healthy and/or in pregnant, HPV(+), in menopause, having an infection, in post delivery period or having irregular menstruation. As a result of the identification tests the bacteria isolated were identified as 12 *L. gasseri*, 9 *L. acidophilus*, 9 *L. vaginalis*, 8 *L. crispatus*, 8 *L. delbrueckii* spp. *lactis*, 3 *L. plantarum*, 2 *L. jensenii*, 2 *L. salivarius*, 2 *L. cellobiosus*, 1 *L. brevis*, 1 *L. curvatus* and 1 *L. oris*. Amount of acid and hydrogen peroxide production of *Lactobacillus* species was estimated. The amount of acid produced was found to be between 0.27-1.33 %. The amount of hydrogen peroxide produced was found to be between 1.01-15.50 µg/ml with the spectrophotometric method, where as qualitatively 41% of it was estimated to be double positive, 19% of single positive and 40% of it was negative in agar with tetramethylbenzidine. The antimicrobial effect of *Lactobacillus* was studied by using the agar diffusion technique. *Lactobacillus* had an inhibitory effect on the 85% of *P. aeruginosa* ATTC 29212 strains, on the 48% of *S. aureus* ATTC 2392 strains, on the 71% of *S. enteritidis* RSKK 171 strains and on the 43% of *E. coli* ATTC 11230 strains. An antimicrobial effect on the *C. albicans* AJD 180 ve *C. albicans* ATCC 10239 strains could not be observed. None of the *Lactobacillus* were found to have a bacteriocin effect on the test bacteria. Antibiotic

ne of the *Lactobacillus*
t bacteria. Antibiotic

susceptibility tests of isolated *Lactobacillus* species to amoxycillin (25 µg), azithromycin (15 µg), chloramphenicol (30 µg), teicoplanin (30 µg), ciprofloxacin (5 µg), clarithromycin (15 µg), streptomycin (10 µg) and tetracycline (30 µg) were determined using the disk diffusion method following NCCLS standards. In the results of the research, most of the *Lactobacillus* species were found to be highly resistant to ciprofloxacin (98%) and streptomycin (93%) and most sensitive to clarithromycin (95%) and tetracycline (88%). In addition, the inhibitory concentrations of isoconazole and oxyconazole that were used as antifungal drugs were determined on *C. albicans* AJD 180. The inhibitory effect of both antifungal drugs at 0.2; 0.1 and 0.05 µg/ml concentrations on *Lactobacillus* isolates were investigated by using the agar diffusion method. At the end of the study, although both antifungal drugs showed a highly inhibitory effect on *C. albicans* AJD 180, it was determined that oxyconazole had a very low inhibitory effect on *Lactobacillus* isolates.

Science Code : 910
Key Words : Vaginal lactobacilli, antifungal, antibiotic, antimicrobial activity, hydrogen peroxide, lactic acid, probiotic.
Page Number : 91
Advisor : Doç. Dr. Belma ASLIM

TEŞEKKÜR

2000-2003 yılları arasında Gazi Üniversitesi, Biyoloji Bölümünde Doç. Dr. Belma ASLİM' in danışmanlığı altında yürütülen bu çalışma yüksek lisans tezi olarak hazırlanmıştır. Tez çalışmamın başından sonuna kadar ilgi ve yardımlarını esirgemeyen, tecrübe ve eşsiz bilgilerinden yararlandığım hocalarım Sn. Doç. Dr. Belma ASLİM' a ve Prof. Dr. Yavuz BEYATLI' ya, hasta örneklerini temin etmemde ve tıbbi bilgilerinden faydalandığım Kadın Hastalıkları ve Doğum Uzmanı, Doç. Dr. M. Zeki TANER ve asistanı Uzm. Dr. Ubeyd AKÇİN' e, laboratuvar çalışmalarında desteklerini, dostluklarını ve yardımlarını esirgemeyen Araş. Gör. Zehra Nur YÜKSEKDAĞ' a ve laboratuvarında çalışan tüm arkadaşlarıma, yüksek lisans eğitimim ve tez yazımı süresince bana yardımcı olan eşim Dr. Cenk KILIÇ' a ve aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Bu tez, Bilimsel Araştırma Projeleri Müdürlüğünce desteklenen 05/2002-54 kodlu proje ve Devlet Planlama Teşkilatı tarafından desteklenen 2003K120470-06 kodlu proje içerisindedir.

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. İnsan vajinasının normal mikroflorası.....	8
Çizelge 2.2. Probiyotik olarak kullanılan laktik asit bakterileri.....	21
Çizelge 4.1. Hasta özelliklerine göre izole edilebilen <i>Lactobacillus</i> tür ve sayıları.....	40
Çizelge 4.2. <i>Lactobacillus</i> spp. suşlarının teşhis test sonuçları.....	42
Çizelge 4.3. <i>Lactobacillus</i> spp. suşlarının teşhis testleri sonuçlarına göre adlandırılması.....	45
Çizelge 4.4. <i>Lactobacillus</i> spp. suşlarının oluşturduğu pH ve % asit miktarları.....	47
Çizelge 4.5. <i>Lactobacillus</i> spp. izolatlarının hidrojen peroksit (H ₂ O ₂) miktarları.....	51
Çizelge 4.6. <i>Lactobacillus</i> spp. suşlarının test bakterileri üzerinde oluşturduğu inhibisyon zonunun çap değerleri (mm).....	54
Çizelge 4.7. Vajinadan izole edilen <i>Lactobacillus</i> spp. suşlarının antibiyotiklere gösterdiği duyarlılık test sonuçları.....	61
Çizelge 4.8. <i>Lactobacillus</i> spp. suşlarının antibiyotiklere gösterdiği % duyarlılık oranları.....	63
Çizelge 4.9. Antifungal ilaçların <i>C. albicans</i> AJD 180 ve <i>Lactobacillus</i> spp. suşları üzerinde gösterdiği inhibisyonik etki.....	66

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 4.1. Vajinadan izole edilen <i>Lactobacillus</i> spp. suşlarının teşhis edilen türlerinin % dağılımı.....	46



RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 4.1. <i>L. vaginalis</i> H1 suşunun koloni morfolojisi.....	41
Resim 4.2. <i>L. oris</i> A2 suşunun mikroskopik görüntüsü.....	41
Resim 4.3. <i>L. vaginalis</i> H5 suşunun mikroskopik görüntüsü	41
Resim 4.4. <i>L. acidophilus</i> G8 suşunun TMB Agar üzerinde H ₂ O ₂ üretimi nedeniyle oluşturduğu renk değişimi (++).....	50
Resim 4.5. <i>P. aeruginosa</i> ATCC 29212 suşu üzerine <i>L. gasseri</i> R5 suşunun oluşturduğu inhibisyonlar.....	56
Resim 4.6. <i>S. aureus</i> ATCC 2392 suşu üzerine <i>L. gasseri</i> H15 ve <i>L. acidophilus</i> I4 suşlarının oluşturduğu inhibisyon zonları	67
Resim 4.7. <i>S. enteritidis</i> RSKK 171 suşu üzerine <i>L. vaginalis</i> H5 suşunun oluşturduğu inhibisyon zonları.....	58
Resim 4.8. <i>E. coli</i> ATCC 11230 suşu üzerine <i>L. vaginalis</i> H3 ve <i>L. vaginalis</i> H7 suşlarının inhibisyon zonları.....	59
Resim 4.9. <i>L. vaginalis</i> H5 suşunu antibiyotiklere duyarlılık test sonucu.....	63
Resim 4.10. <i>C. albicans</i> AJD 180' e izokonazol antifungal ilacının farklı konsantrasyonlardaki inhibisyonik etkisi.....	64
Resim 4.11. Oksikonazol antifungal ilacının <i>L. cellobiosus</i> L2 izolatı üzerindeki en düşük ve en yüksek konsantrasyonlarının inhibisyonik etkisi.....	68

SİMGELER VE KISALTMALAR

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

Simgeler

Açıklama

°C

Santigratderece

cm

Santimetre

g

Gram

kDa

Kilodalton

mm

Milimetre

ml

Mililitre

nm

Nonometre

µg

Mikrogram

µl

Mikrolitre

Kısaltmalar

ATCC

American Type Culture Collection

Cfu

Coloni forming unit

Bkz.

Bakınız

HIV

Human Immunodeficiency Virüs

HPV

Human Papilloma Virüs

MIC

Minimal İnhibibör Konsantrasyonu

NCCL

National Committee for Clinical
Laboratory Standards

RSK

Refik Saydam Hıfzısıhha Kültür
Kolleksiyonu

1. GİRİŞ

Lactobacillus türleri insanda, gastrointestinal sistemde ve kadın ürogenital sistemlerinde bulunmaktadır (1). Sağlıklı kadının vajinasında % 100 oranında *Lactobacillus* izolasyonu rapor edilmiştir. İnsan vajinasının normal florasında dominant mikroorganizmalar *Lactobacillus*’ lar olduğu bildirilmiştir (2).

Vajendeki *Lactobacillus*’ ların, vajinal enfeksiyon ajanlarından koruyucu rolü olduğu düşünülmektedir. Normal bir kadın vajinasında pH 4,0-4,5 arasındadır. Vajinanın asidik pH’ sı *Lactobacillus* bakterilerince sağlanmaktadır. Vajinanın bu asitliğe sahip olmasıyla patojenlerin gelişmesini engellediği, vajenin patojen enfeksiyonlara karşı korunmasına yardımcı olduğu düşünülmektedir. Herhangi bir nedenle floranın değişmesiyle asiditenin değiştiği, bu değişimin vajen florasının koruyucu özelliğinin kaybolmasına neden olduğu tespit edilmiştir (3, 4, 5). Floranın korunması ve uzun süren antibiyotik tedavilerine alternatif olması bakımından Laktik Asit bakterileri probiyotik olarak önerilmektedir (6).

Sigara, antibiyotik, antifungal kullanımı, gebelik, yaş ve menopoza bağlı olarak vajinanın mikroflora içeriğinin değişmesi, *Lactobacillus*’ un vajinadaki oranının düşmesine ve bunun da vajinal enfeksiyonların oluşmasına neden olduğu bildirilmektedir (7, 8). Enfeksiyon görülen hastalarda yapılan bir çalışmada tedavi amaçlı *L. acidophilus*’ un tek başına ve antibiyotikle birlikte kullanılması sonucunda tedavide olumlu sonuçlar elde edilmiştir (8). Probiyotiklerin insan hastalıklarında tek başına veya kombine olarak koruyucu ve tedavi amaçlı uygulanması teşvik edilmektedir (9).

Son yıllarda biyolojik sistemlerden tıp, eczacılık, endüstri, tarım ve hayvancılıkta faydalanılmaktadır. Günümüzde hem daha güvenilir, hem de daha ekonomik olması nedeniyle her dalda biyoteknolojik çalışmalara ağırlık verilmiştir. Laktik Asit bakterilerinin vajen florasında ve doğal insan florasındaki olumlu etkilerinden dolayı, üstün özelliklere sahip bazı suşların kullanılarak, hastalıkların tedavisinde

Laktik asit bakterilerinin yukarıda saymış olduğumuz ve probiyotik açıdan çok önemli olan özelliklerine rağmen, yapılan kaynak araştırmasında laktik asit bakterilerinin vajen florasında probiyotik olarak kullanımının çok yaygın olmadığı, probiyotik olarak kullanılsa bile, probiyotik kriterlerine uygun olacak suşların seçimine yönelik çalışmaların çok fazla yapılmadığı belirlenmiştir. Ayrıca bazı araştırmacılar insan kaynaklı izolatların probiyotik olarak kullanılmasından daha iyi sonuç alınabileceğini bildirmişlerdir (10). Bu konudan yola çıkarak özellikle günümüzde çok önemli viral ve bakteriyel hastalıkların tedavisinde veya bu hastalıklardan koruma amaçlı bu bakterilerin kullanılabileceği düşünülmüştür. Bu çalışma sonucunda seçilen bazı üstün özelliklerdeki suşların probiyotik olarak kullanımının önerilmesi söz konusu olabilir.

Yapılan bu çalışmada amaç:

Vajen mikroflorasının korunmasında rol alan ve vajende lokalize olabilecek patojen bakterilere karşı bir bariyer görevine sahip, *Lactobacillus* cinsi bakterilerinin hasta özelliklerine (sağlıklı, hamile, HPV(+), menapoz, enfeksiyon varlığı, doğum sonrası ve adet düzensizliği olan hastalarda) göre dağılımın ve *Lactobacillus* cinsi bakterilerinin teşhislerinin yapılması. İzole edilen türlerin laktik asit ve hidrojen peroksit üretimlerinin belirlenerek, vajen patojenleri üzerine antagonistik etkisi ile ilişkilerinin araştırılması.

Vajinadan izole edilen *Lactobacillus* cinsi izolatların amoksisilin (25 µg), azitromisin (15 µg), kloramfenikol (30 µg), teikoplanin (30 µg), siprofloksasin (5 µg), klaritromisin (15 µg), streptomisin (10 µg) ve tetrasiklin (30 µg) antibiyotiklerinin kullanılarak antibiyotik duyarlılık testlerinin yapılması. Antibiyotikle birlikte probiyotiklerin tedavi amaçlı kullanılabilmesi için antibiyotiklere dirençli suşların belirlenmesi, ayrıca klinikte antibiyotik uygulamalarında mikroflorayı ve probiyotiklerin etkilemeyeceği düşünülen antibiyotiklerin belirlenmesi.

C. albicans enfeksiyonlarında antifungal ilaç olarak kullanılan izokonazol ve oksikonazol ilaçlarının vajen izolatı olan *C. albicans* AJD 180 üzerinde MİK sınır değerleri belirlenerek bu konsantrasyonlarda, *Lactobacillus* cinsi izolatlarına inhibisyonik etkilerinin tespit edilmesi. Bu şekilde probiyotik kullanım için seçilebilecek antifungal ilaçlara dirençli suşların belirlenmesi, ayrıca klinikte izokonazol ve oksikonazol antifungal ilaçların kullanımında florayı etkilemeyeceği düşünülen dozların belirlenmesi amaçlanmıştır.



2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. *Lactobacillus* Cinsi Bakterilerin Genel Özellikleri

Lactobacillus cinsi bakteriler *Lactobacillaceae* familyasına ait olup Laktik asit bakterileri grubundandır (11, 12, 13).

Lactobacillus cinsi bakteriler anaerobik, gram pozitif, katalaz negatif, spor oluşturmeyen bakterilerdir ve genelde hareketsiz olsalar da bazı türleri flagellalara sahiptirler. Çoğu *Lactobacillus* cinsi bakteriler çubuk (basil) şekillidirler ancak bazı türleri farklı uzunlukta ve zincir şeklindedirler (koko-basil) (12, 14, 15).

Elektron mikroskopuyla yapılan incelemelerde *Lactobacillus* cinsi bakteriler 5 ana kısımdan oluştuğu gösterilmiştir. Bunlar hücre çeperi, sitoplazmik membran, ribozomlar ve nükleer (kromozomlar ve plazmidler) elementlerdir (16).

Hücre çeperi; *Lactobacillus* cinsi bakterilerde 20 – 40 nm kalınlığında, mineral maddeler (tuz vb.), su ve metabolitleri geçirebilen peptidoglikan (murein) bir tabakaya sahiptirler. Peptidoglikan, N-asetilglukozamin ve N-asetilmurminik asit monomerlerinden oluşurlar. Hücre çeperinde bu monomerlerin dışında teikoik asit, şekerler, proteinler ve nötr polisakkaritler de bulunur. Teikoik asit hücre çeperinin negatif yükünden ve antijenik karakterinden sorumludur. Teikoik asit, ribitol fosfat veya gliserol fosfat polimerlerinden oluşurlar. Bakterilerin hücre çeperi, çoğalma ve azotlu maddelerin parçalanmasında rol alan proteaz enzimlerine sahiptirler (16).

Sitoplazmik membran; Laktik asit bakterilerinin proteinleri kullanabileceği büyüklüğe getirilmesi burada bulunan enzimler yardımıyla sitoplazmik membranda gerçekleştirilmektedir. Bunun yanında sitoplazmik membranda fosfotransferaz

enzimleriyle aktif taşımada yapılmaktadır. Peptidoglikanların ekstrasellüler polimerizasyonu için gereken enzimler de sitoplazmik membranda bulunmaktadır (16).

Ribozomlar; Laktik asit bakterilerinde ribozomlar 70S tipindedir, 70S, 50S büyük ve 30S küçük olmak üzere iki alt üniteden oluşur. 50S' lik büyük alt birim 50S rRNA ve 23S rRNA ile yaklaşık 35 çeşit protein; 30S' lik küçük alt birim ise 16S rRNA ve 23S rRNA ile yaklaşık 25 farklı protein içerir. Laktik asit bakterilerinin birbirlerinden ayrımında 16S rRNA' nın özelliklerinden yararlanılmaktadır ve 16S rRNA' nın değişen ve değişmeyen kısımlar bulunur. Değişen kısımlar yakın akrabaları, değişmeyen kısımlar ise uzak akrabalıkların tespitinde kullanılmaktadır (16).

Plazmid: Laktik asit bakterilerinin çoğu en az bir adet plazmid içerir. Plazmidler, ekzopolisakkarit ve antimikrobiyal madde sentezi gibi koruma görevi üstlenmiştir (16).

Laktik asit bakterileri laktik asit fermentasyonu ile oluşturdukları ürünlerin cins ve miktarına göre de sınıflandırılır. Homofermentatif laktik asit bakterileri glukozu, Fruktöz Di Fosfat (FDP) yolu ile parçalayarak fermentasyon sonucu % 99 oranında laktik asit, %1 oranında diğer bileşikler meydana getirirler. Heterofermentatif laktik asit bakterileri, glukozu Heksos Mono Fosfat (HMF) yolu ile parçalayarak fermentasyon sonucu % 70 laktik asit üretilir. %30 oranında da diğer bileşikler, özellikle asetik asit, etil alkol ve karbondioksiti, oluştururlar (17, 18, 14, 15, 13).

Homofermentatif yol:



Heterofermentatif yol:



Laktik asit bakterilerinin bir başka karakteristik özelliği de karmaşık büyüme ve gelişme sistemleridir. Grubun hiçbir üyesi, içinde yalnız glukoz ve amonyum bulunan bir mineral besi ortamında gelişmez. Pek çoğu vitaminlerden bir yada birden fazlasına gerek duyarlar. Ayrıca amino asit istekleri de çok fazladır. Laktik asit bakterileri genellikle, vitamince zengin, maya ekstraktı, domates suyu, peynir altı suyu, süt serumu veya kan içeren karmaşık besi yerlerinde iyi gelişirler (12, 14).

Su ve toprakta hemen hemen hiç rastlanılmayan bu bakterilere, cins ve türe göre değişim göstererek süt ve süt ürünleri çalışma yerlerinde, bitki ve bitki atıklarında, insan ve diğer canlıların bağırsak sistemlerinde rastlanır (13, 12). Ayrıca sağlıklı kadınların vajen florasında dominant olarak bulunmaktadır (7).

2.2. Vajinanın Fizyolojisi

Kadın genital sistemi, alt genital sistem ve üst genital sistem olarak iki kısımda incelenir. Vajina alt genital sistem içerisinde ve üç tabakadan oluşur (19):

Tunika mukoza

Tunika muskularis

Tunika adventisya

Vajina epiteli keratinize olmayan, yassı epiteldir. Ovaryan hormonların etkisi altındadır (20). Epitelin yüzeysel hücreleri çok miktarda glikojen içerir. Glikojen miktarı östrojenin etkisiyle fazlalaşır. Ayrıca glikojenin parçalanmasından meydana gelen laktik asit vajinanın asitliğini sağlar (19). Bu asitlik vajinanın pH' sınırın düşmesine neden olur. Vajinadaki bu asitlik ve diğer bazı etmenler patojen bakteriler için bir engel oluşturmaktadır. Vajinadaki glikojen miktarının artması sonucu

mikroflora değişime uğramaktadır ve genellikle de fungal gelişimin arttığı tespit edilmiştir (3, 4).

2.3. Vajinal Flora

Serviksin mikroflorası, vajinal mikroflora kadar iyi bilinmemektedir. Bunun nedeni; oral kontraseptif, gebelik ve doğum sırasında serviks kanalının bez yapısının değişmesi ve serviksin yapısından kaynaklanmaktadır. Serviksin mikrobiyolojisi, hem aerobik hem de anaerobik bakterilerden oluştuğu bildirilmiştir. Anaeroblardan, gram-pozitif koklar, en yaygın olarak izole edilenlerdir, gram-pozitif çubuklar (*Lactobacillus* türleri dahil), gram-negatif çubuklar ve koklar da izole edilmiştir. Gram-pozitif koklar, en yaygın izole edilen aerobik mikroorganizmalardır (8).

Sağlıklı bir insanın vajinal mikroflorası, mukozadaki bir biyofilm tabakasının şekillenmesiyle oluşan *Lactobacillus* cinsi bakterilerden oluşmaktadır. Bu bakteriler vajen epiteline yapışarak, diğer mikroorganizmaların vajen içinde yayılıp, burada gelişmelerini engeller. Bunu farklı mekanizmalarla gerçekleştirirler. Bunlar; laktik asitlerin salgılanması, antimikrobiyal maddeler (bakteriyosin ve hidrojen peroksit gibi.) üretmek, besin maddeleri için rekabet, vajinal epitele tutunmada reseptörler için rekabet ve koagregasyondur (21, 22). Sağlıklı bir vajinanın pH' sı 4,0-4,5 arasındadır. Vajinanın bu asitliğe sahip olması patojenlerin gelişmesini engeller ve vajenin patojen enfeksiyonlara karşı korunmasına yardımcı olur (5). Düzenli antibiyotik tedavisi gören vulvovajinal kandidiasis' li hastalarda, normal floranın bozulmasına bağlı vajinal mikrofloranın koruyuculuğunda düşüşün olduğu bildirilmektedir (3, 4).

Sigara kullanımı, gebelik, yaşı, menopoz, antibiyotik ve antifungal kullanımına bağlı olarak vajinal mikrofloranın içeriği değişmekte, *Lactobacillus*' un vajinadaki oramının düşmekte ve buna bağlı vajinal enfeksiyonların oluşumunun arttığı bildirilmektedir (23, 8, 2).

Lactobacillus cinsi bakteri sayısının azalmasının genital organ ve mesane enfeksiyonlarının artmasına neden olduğu düşünülmektedir (24). *Lactobacillus* suşlarının vajende azalmasıyla vajen enfeksiyonlarından sorumlu olan *Gardnerella vaginalis*' de artış olduğu bildirilmiştir (6). Gebelik önleyici uygulamalardan sperm öldürücü ajanların kullanımı ile normal vajinal mikroflora bozulmakta ve tekrar eden ürogenital sistem enfeksiyonları oluşmaktadır (25).

Vajinal enfeksiyonu olan hastalarda, haftalık vajina içi *Lactobacillus* sp. tedavi uygulaması ile üriner bölge enfeksiyonlarının oluşumlarında ve komplikasyonlarında azalmalar gözlenmiştir (26).

Çizelge 2.1.' de görüldüğü gibi, insan vajinasının normal florasında dominant mikroorganizmalar *Lactobacillus*' lardır (2).

Çizelge 2.1. İnsan vajinasının normal mikroflorası

Mikroorganizmalar	52 Sağlıklı İnsan Vajinasında Belirlenen Mikroorganizmaların Dağılımı	
	Sayı	% Dağılım
<i>Lactobacillus</i>	45	87
<i>Staphylococcus</i>	32	62
<i>Ureaplasma</i>	28	54
<i>Corynebacterium</i>	19	37
<i>Streptococcus</i>	16	32
<i>Gardnerella</i>	9	17
<i>Bacteroides</i>	7	13
<i>Mycoplasma</i>	7	13
<i>Candida</i>	7	13
<i>Eubacterium</i>	4	8
<i>Bifidobacterium</i>	3	6
<i>Propionibacterium</i>	2	4
<i>Escherichia</i>	1	2
<i>Sarcina</i>	1	2
<i>Klebsiella</i>	1	2

2.4. *Lactobacillus* Cinsi Bakterilerin Vajen Florasındaki Önemi

Lactobacillus cinsi bakteriler sağlıklı kişilerin gerek barsak, gerekse vajen florasında bulunarak patojen mikroorganizmalara karşı mikrobiyolojik bir bariyer görevi görmektedir. Bu nedenle, özellikle *Lactobacillus*’ ların tedavi ve koruyucu olarak kadın ürogenital ve genital sisteminde kullanılabileceği düşünülmektedir (8). Menopoz sonrası vajinal mikroflorada *Lactobacillus* spp.’ lerin miktarının azaldığı hatta ileri yaştaki hastalarda tamamen bulunmadığı tespit edilmiştir. Ancak östrojen hormonunun takviyesi yapılan hastalarda menopoz sonrasında dahi vajinal mikroflorada *Lactobacillus* spp.’ lerin egemen olabildiği bildirilmiştir (8).

Lactobacillus cinsi bakterilerinin oluşturduğu laktik asitin yanında, hidrojen peroksit (H_2O_2) ve bakteriyosin gibi antimikrobiyal maddelerinde florayı korumada önemli etkileri mevcuttur (11).

Yapılan bir çalışmada hidrojen peroksit konsantrasyonu yüksek olan ortamdaki hücrelerin kanser hücrelerine dönüşümünün engellendiği, hatta hidrojen peroksitin kanserli hücreleri tekrar eski haline döndürdüğü düşünülmektedir (27).

Martin ve arkadaşlarının, yaptığı bir çalışma da da HIV-1’ le oluşan viral enfeksiyon ile vajinal florada bulunan *Lactobacillus*’ lar arasında bir ilişkinin olup-olmadığı belirlenmeye çalışılmıştır. Altıyüzelliye hayatta kadınıyla yapılan bir araştırma sonucunda kadınların %26’ sını da *Lactobacillus* cinsi bakteri türleri gözlenmiştir. Geri kalan kadınlarda *Lactobacillus* cinsi bakteri bulunmamasıyla HIV-1 enfeksiyonunu kazanma riskinin artmasıyla bir ilişki olduğu belirlenmiştir. Bu çalışmadaki sonuçlara göre vajen florasında *Lactobacillus* cinsi bakteri türlerine sahip kişilerde HIV-1 virusuna rastlanmazken, florada *Lactobacillus* cinsi bakteri belirlenmeyen kadınlarda HIV-1 virusuna rastlanmıştır (28).

Yapılan bir başka çalışmada da, in vitro koşullarda yüksek hidrojen peroksit üreten *Lactobacillus* cinsi bakterilerin HIV’ e antiviral etki gösterdiği saptanmıştır (29).

Lactobacillus cinsi bakterilerin tümör hücrelerini inhibe edebilmesi, β -glikozidaz, β -glikuronidaz ve azoredüktaz gibi enzim üretimleriyle kanserojeniklerden zararsız kompleksler ortaya çıkarabilmesi ve nitrozaminler gibi kanserojenleri yıkarak nitroredüktazı durdurması nedeniyle de antikanserojen olduğu düşünülmektedir (30). Ayrıca laktik asit bakterilerinin immün sistemi teşvik ederek organizmayı sağlıklı tutmaya yardımcı olduğu belirlenmiştir (31). *Lactobacillus* cinsi bakterilerinin vajinal mikroflorada makrofaj ve lenfosit aktivitesini uyarak immün cevaba neden olduğu tespit edilmiştir (23).

Lactobacillus' ların vajinal ekosistemi korumada etkili olan ve onu ekosistemdeki diğer bakterilerden üstün kılan özellikleri aşağıdaki gibidir (32);

1- Antimikrobiyal madde oluşumları

Bakteriyosin

Laktik asit

Hidrojen peroksit (H_2O_2)

2-Agregasyon ve koagregasyon özelliği

3-Bakteri yüzey uzantıları

Flagella

Fimbria

2.4.1. Antimikrobiyal madde üretimleri

2.4.1.1. Bakteriyosin

Bakteriyosinler, protein veya protein kompleksleri olup, bazı bakteri türleri tarafından üretilen potansiyel antimikrobiyal maddelerdir (33, 34, 11, 35).

Klaenhammer, şimdiye kadar karakterize edilmiş olan *Lactobacillus* bakteriyosinlerinin protein yapısında, bakteriyosidal etki mekanizması sergileyen ve

kendisine çok yakın cinsleri etkileyen bir etki mekanizmasına sahip olduğunu bildirmiştir (34).

Tagg ve arkadaşları, bakteriyosin için 6 karakteristik özellik belirlemişlerdir ve bakteriyosinin, biyolojik olarak aktif protein ve plazmid kaynaklı oldukları üzerinde durmuşlardır (36).

Protein veya peptitlerden oluşan bakteriyosinin antagonistik etkisi olduğu ve bakteriyosinin proteolitik enzimlerle inhibe olabileceği açıklanmıştır (37).

Yapılan bir araştırmada insan vajeninin arka forniksinden izole edilen *Lactobacillus pentosus* TV35b suşundan izole edilen bakteriyosinle *Candida albicans* üzerine çalışma yapılmış, çalışma sonucunda bakteriyosinin bakterisidal etki göstererek, *C.albicans*'ın gelişimini inhibe ettiğini belirlemişlerdir. Yine aynı çalışmada bu bakteriyosinin 2,35-3,4 kDa arasında değişen molekül ağırlığına sahip, peptit yapısında olduğu tespit edilmiştir (38).

2.4.1.2. Laktik asit

Laktik asit bakterilerinin, Laktat Dehidrogenaz (LDH) enzimleri aracılığıyla, metabolizmaları sırasında laktozu parçalayarak oluşturdukları maddedir ve mikroorganizmalar üzerinde olumsuz etki yapmaktadır. Ekşi tatla, kokusuz bir organik asittir (39, 13, 40). Laktik asit bakterileri laktozu, çoğunlukla %0,5–1,5' luk laktik asit konsantrasyonuna kadar parçalarlar, ancak %3 konsantrasyona kadar fermentasyon yapan türleri de vardır (15).

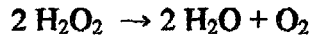
Savay- de- Giori ve arkadaşları, *L. plantarum* suşlarının asit üretim yeteneklerinin inkübasyon ısısına bağlı olduğunu ve *L. plantarum* CRL60 ve *L. plantarum* CRL83 suşlarının 30-37 °C' de asit üretirken, 15 °C' de asit üretmediğini bildirmişlerdir (42).

Lactobacillus cinsi bakteriler pH' ı 3,5-3,2' ye kadar düşürebildiklerinden dolayı asitliğe karşı daha dayanıklıdır (41).

Reid ve Bruce, düşük vajinal pH ile ürogenital enfeksiyon arasındaki ilişkiyi araştırmışlar. Vajinada *L. casei* subsp *rhamnosus* GR-1 suşunun kolonize olduğunu bildirmişler. 1 yıl süresince haftada 1 kez menopoz öncesi dönemde bulunan 10 kadına (ortalama 33 yaş civarında ve gebelik önleyici olarak uygulanan sperm öldürücü ajanlarından kullanmayan) *L. casei* subsp *rhamnosus* GR-1 ve *L. fermentum* B-54 suşları vajina içine konulmuş. Her hafta vajina içi pH $4,8 \pm 0,5$ olarak ölçülmüş. Sürekli tekrarlanan üriner sistem enfeksiyonu (etkenler; *E. coli*, *Streptococcus* sp., *Staphyococcus* sp.) olan 4 hastada araştırma sonucunda üriner sistem enfeksiyonlarında düşüş görülmüştür. Vajinal pH' nın düşüklüğü, vajinada kolonize olan *Lactobacillus* cinsi bakterilerin laktik asit üretimiyle gerçekleştiği ve üriner sistem enfeksiyonlarında düşüşe neden olduğu rapor edilmiştir (43).

2.4.1.3. Hidrojen peroksit (H₂O₂)

Laktik asit bakterilerinin üremeleri sonucu hidrojen peroksit oluştururlar. Oluşturulan hidrojen peroksit miktarı, laktik asit bakterilerinin cins, tür ve hatta suşlarına göre farklılık göstermektedir. Hidrojen peroksit termodinamik bakımdan kararsız bir bileşiktir, su ve oksijene ayrışır (11, 44).



Bu reaksiyon ısı, ışık ve katalizör olmadıkça gerçekleşmediğinden hidrojen peroksit uzun süre saklanabilir.

L. plantarum, glikozlu substratta ve oksijenli ortamda üretildiği zaman bakterinin NADH oksidaz, pruvat oksidaz ve NADH peroksidaz aktivitelerinde artış olduğu bildirilmiştir. Enzimlerin aktivitesi sonucu ortamda belirli miktarda hidrojen peroksit oluştuğu gösterilmiştir. NADH oksidaz, piruvat oksidaz enzimlerinin *invivo*

koşullarda, NADH peroksidaz enziminin invitro koşullarda hidrojen peroksit ürettikleri açıklanmıştır (45).

Fernandes ve arkadaşları, bazı bakterilerin patojen mikroorganizmaların üremesini kontrol eden çeşitli antimikrobiyal maddeler oluşturduğunu saptamışlardır. Örneğin, *Lactobacillus lactis*' in hidrojen peroksit üretilen *E. coli*' nin in vivo olarak üremesini durdurduğunu gözlemişlerdir. Ayrıca laktik asit bakterileri tarafından antimikrobiyal maddelerin intestinal ve üriner sistem enfeksiyonlarında koruyucu rol aldığını tespit etmişlerdir (46).

Hidrojen peroksit, ortamda yüksek konsantrasyonlara vardığı zaman, gerçek antibiyotik olmadığı halde *Staphylococcus*, *Streptococcus* ve *Clostridium* gibi bir çok bakterilerin gelişimini engelleyebilmektedir (47).

Hidrojen peroksit, mikroorganizmaların enzim aktivitelerinin bozulmasına, enzimlerin kimyasal yapısının, biyokimyasal karakterinin ve aktivitelerinin değişikliğe uğramasına ve böylece enzimlerin inaktive olmasına neden olmaktadır.

Hidrojen peroksiti yüksek oranda üreten *Lactobacillus* türleri sağlıklı kadının vajinasında bakteriyel vajinosis' li kadınlarda bulunan türlere göre daha fazla bulunduğu tespit edilmiştir (48). Hidrojen peroksit üretimi yüksek olan türlerin bulunduğu vajinada *Neisseria gonorrhoeae* ve *Gardnerella vaginalis* gibi patojenlere öldürücü etki yaptığı düşünülmektedir (49).

Ocana ve arkadaşları, laktik asit bakterilerinin, laktik asit, bakteriyosin ve H_2O_2 gibi antagonistik madde üretimleriyle vajinal mukozanın kontrolünde rol aldıklarını düşünmüşlerdir. Bu nedenle insan vajinasında H_2O_2 üretimi yüksek olan izolatlar elde etmişler. En yüksek H_2O_2 üreten izolatın *Lactobacillus crispatus* F117 suşu olduğunu belirlemişlerdir. Bu suşun *Candida* sp., *E. coli*, *Enterococcus* sp., *Klebsiella* sp., *S. aureus*, *Streptococcus agalactiae* ATCC 1022 ve *Streptococcus* sp. patojenlere karşı inhibitör etkisi araştırılmış ve bu araştırma sonucunda inhibitör etki

bakımından üstün bir suş olduğu belirlenmiştir. *Lactobacillus crispatus* F117'nin vajinal sistemde probiyotik olarak kullanılabileceği düşünülmüştür (6).

Yapılan bir çalışmada hidrojen peroksit konsantrasyonu yüksek olan ortamda ki hücrelerin kanser hücrelerine dönüşümünün engellendiği, hatta laktik asit bakterilerinin oluşturduğu hidrojen-peroksitin kanserli hücreleri tekrar eski haline dönüştürdüğü düşünülmektedir (27).

2.4.2. Agregasyon ve koagregasyon özellikleri

Bakterilerin agregasyon özelliğine sahip olması bulunduğu hücrelere tutunma ve dominant olarak kolonize olmasını sağlayacağından özellikle probiyotik açıdan önemli bir kriterdir.

Agregasyon kelime manası olarak toplanma, bir araya gelme, kümeleşme olarak tanımlanır (50). Laktik asit bakterilerinin bu özelliği nedeniyle bulunduğu yüzeye ve birbirlerine yapışarak biyolojik bir bariyer oluştururlar (51).

Koagregasyon özelliğinden dolayı da laktik asit bakterilerinin bulunduğu ekosisteme giren patojen bakterilere yapışarak onları etkisiz hale getirmekte, böylece olası bir enfeksiyonu ve bakterinin toksik etkisini engelleyebilmektedir. Laktik asit bakterilerinin bu özelliği nedeniyle bulunduğu hücrede diğer bakterilerle rekabet haline girerek dominant bir şekilde kolonize olması sağlanır (51).

2.4.3. Bakteri yüzey uzantıları

2.4.3.1. Flagella

Bazı mikroorganizmalar, ince, uzun, dalgalı, sarmal yapıda olan bu organellere sahiptir. Bakteri türleri arasında, hatta aynı tür içinde bile, üreme koşullarına bağlı olarak flagellumların çapı, uzunluğu, sayısı, kimyasal yapısı, ve yerleşme düzeni

bakımından oldukça farklar gösterdiği bilinmektedir. Flagellumunu kaybetmiş bakteriler hareket edemezlerken, yaşama, üreme ve diğer fizyolojik aktivitelerine normal olarak devam ederler ve kısa bir süre sonra flagellumları tekrar oluşmaya başlar (52). Vajendeki *Lactobacillus* cinsi bakterileri genelde hareketsiz ise de, bazı türleri flagellalara sahiptir ve bu nedenle hareket edebilmektedir. Hareketliliğin mikroorganizmaya toksik maddelerden sakınma ve daha müsait yere taşınma imkanı verdiği düşünülmektedir ve böylece *Lactobacillus* cinsi bakterilerin ekosistemdeki diğer bakterilere nazaran üstünlük sağladığı belirlenmiştir (7).

2.4.3.2. Fimbria

Gram negatif veya gram pozitif, hareketli veya hareketsiz mikroorganizmalarda flagellumlardan ayrı olarak sitoplazmik membrandan orjin alan, kısa, düz, bazılarının ortası boş ince ve çok sayıda oluşumlara rastlanılmaktadır ki bunlara fimbria (pilus) adı verilmektedir. Fimbrialar sindirim ve ürogenital sistemde yerleşen mikroorganizmalar için hücrelere tutunma, yerleşme ve yapışmasına (adhezyon) yardımcı olduğu bildirilmektedir (52).

Lactobacillus' ların iki türü hariç diğer bütün türlerinde fimbria gözlenmiştir. *Lactobacillus* türlerinin geliştiği ortama göre fimbriaların sayısı değişmektedir ve bu sayı 25-1000 arasındadır. Fimbriaların bakterinin yüzeye tutunma özelliği sağladığından dolayı, vajinanın normal florasının düzenlenmesinde önemli faktörlerden biri olduğu düşünülmektedir (7).

2.5. Kadın Genital ve Ürogenital Sistemlerinde Bazı Enfeksiyonlar ve Seksüel Yolla Bulaşan Hastalıklar (STD,)

2.5.1. Kandida vajiniti

Etkeni *Candida albicans*' dır. Vajinada en sık görülen maya türüdür ve vajinal enfeksiyonlar içinde en yaygın etken olarak görülmektedir. Vajinada kandidiyasiz

denilen iltihaplı enfeksiyona neden olur. Yapılan araştırmalarda vajinal floranın değişmesine bağlı *C. albicans*' ın vajinadaki sayısının arttığı belirlenmiştir. Kandidiyosizde vajinal akıntı, vulvada ödem, yanma ve kaşıntı ilk bulgulardır (53, 54). Kandidiyosiz genellikle; diyabetli kişilerde, oral kontraseptif ve enjekte edilen kontraseptif kullananlarda, gebe kadınlarda, antibiyotik kullanımı sırasında (özellikle tetrasiklin ve ampisilin), daha sık gözlemlenmiştir (53).

2.5.2. Bakteriyel vajinozis

Sağlıklı bir kadının vajinal bölgesinde baskın ve yüksek oranda bulunan *Lactobacillus* cinsi bakteri popülasyonunun, diğer fakültatif ve anaerobik hastalık yapıcı mikroorganizmalarla yer değiştirmesiyle oluşmaktadır (26). Herhangi bir belirti göstermez. Vajina iltihabıdır. Normal vajinal florada dominant durumda bulunan *Lactobacillus* cinsi bakterilerin yerini çeşitli nedenler (sabun, deterjan, yağ kullanımı, deodorantlar, tampon, oral ve vajinal kontraseptiflerin kullanımı gibi benzer etkenler) sonucu *G. vaginalis* bakterisi olarak vajinanın iltihabına neden olmaktadır (53).

2.5.3. Toksik şok sendromu

Etkeni *Staphylococcus aureus* bakterisidir. Vajinal enfeksiyonlarda yaygın olarak görülmektedir. Bayanların kullandığı tamponlar veya hijyenik kurallara uymama nedeniyle vajinaya yerleşmektedir. Yüksek ateş ve tansiyonun düşüklüğü görülmektedir (54, 6).

2.5.4. Trikomoniyazis

Etkeni *Trichomonas vaginalis*' dir. Kamçılı bir parazit olup, genellikle bazik ve hafif asidik ortamlarda gelişme göstermektedir. Vajen ve servikte enfeksiyona neden olur. Kadınlarda vajinal akıntı, vajen ve vulvada kaşıntı şikayeti olabilir, fakat genelde belirti göstermez. Trikomoniyazis, cinsel ilişki sırasında enfekte olan kişinin vajen veya üretra salgılarına maruz kalmak veya bu salgılarla kontamine olmuş eşya

aracılığı ile geçebilir. 16-35 yaş arasında daha yaygın olarak görülmektedir. Hastalık tanısı konulduktan sonra her iki eşte tedavi görmelidir (50, 53, 54).

2.5.5. Servisit

En sık görülen servisit nedenleri *Chlamydia trachomatis* ve *Neisseria gonorrhoeae*' dir. Enfeksiyöz servistte servikal kanal epitelinde enfeksiyon vardır ve epitel serviksin dış ağzından vajene doğru dışa dönmüştür. Eğer tedavi edilmezse uterusu tutarak pelvik enflamatuvar hastalığa (PID) neden olur (53).

Chlamydia trachomatis: Üretranın, serviks ve fallop tüplerinin iltihabına neden olmaktadır ve cinsel yolla bulaşmaktadır (54). Tedavi edilmediği takdirde doğum sırasında bebeğin gözünde ve akciğerlerinde enfeksiyona neden olabildiği ve doğumların %50-70' inin düşükle sonlandığı bildirilmiştir (53).

Neisseria gonorrhoeae: Gonorenin etkenidir ve halk arasında erkeklerde bel soğukluğu olarak bilinmektedir. Cinsel yolla bulaşmaktadır. Bazı kaynaklar vajenin pH'sının değişimine bağlı olarak vajenin gonoreya karşı direnç kazandığını bildirmişlerdir (54). Tedavi edilmediği takdirde kısırlık ve dış gebeliğe neden olabildiği bildirilmiştir (53).

2.5.6. İnsan immün yetmezlik virüsü ve AIDS

Etkeni *Human Immunodeficiency Virus* tür (HIV). Türkiye'de ve dünyada hızla yayılmakta olan viral kaynaklı bir hastalıktır. İmmün sistemin baskılanması sonucu oluşur ve AIDS etkenidir (28). Cinsel ilişki, ortak kullanılan iğneler ve kan transfüzyonu sırasında bulaşabilir. ELISA testi ile anti-HIV antikorları saptanabilir. Günümüzde tanıda kullanılan en güvenilir yoldur (53).

2.5.7. Genital siğiller (kandiloma aküminata)

Genital ve anal siğillerin nedeni papovavirüs grubundan *Human papilloma virus* tür (HPV). Zarf içermeyenler. Virüsün 57 genotipi belirlenmiştir. Vulva, penis, serviks ve perianal bölgede HPV 16 tipi daha yaygın görülmektedir. Son yıllarda serviks kanserlerinin en büyük nedeninin HPV olduğu bildirilmektedir. Deri ve muköz membranı infekte etmekte ve HPV enfeksiyonları iyi ve kötü huylu servikal lezyonlara neden olmaktadır (53, 55).

2.5.8. Üretrit

Üriner yolların enfeksiyonudur. Genellikle temizliğe dikkat edilmediğinde meydana gelmektedir. Hastalığın *Salmonella enteritidis*, *Escherichia coli* ve *Pseudomonas aeruginosa* etkenleri arasındadır (54).

Salmonella enteritidis: Sağlıklı kişiler tarafından kirli su ve yiyeceklerle alınarak mideye ve buradanda ince bağırsağa geçerek burada üreyerek diyareye neden olduğu bildirilmiştir (54).

Escherichia coli: Önemli bir fırsatçı patojendir. Bağırsakların normal flora üyesi olan *E. coli*, vücutta başka bir organ veya dokuya geçtiğinde enfeksiyona neden olur. Üriner enfeksiyon bunlardan birisidir (54).

Pseudomonas aeruginosa: Fırsatçı bir patojen olarak kabul edilen *P. aeruginosa* insanlarda birçok enfeksiyona neden olmaktadır. Bu enfeksiyonların son yıllarda hastane ortamında çok kolay barındığı ve dirençli suşların bir hayli arttığı gözlenmektedir (54).

2.6. Laktik Asit Bakterilerinin Probiyotik Kullanımında Önemi

Probiyotikler, insan ve hayvanların doğal mikroflorasında, kullanımları sonucunda, ağızda, sindirim sisteminde, üst solunum yollarında yada ürogenital kanallarda

yararlı etkileri ile konakçının sağlığını koruyan, buralarda oluşan enfeksiyonların iyileşmesine katkıda bulunan, tek veya karışık mikroorganizma kültürleridir (56).

Laktik asit bakterileri üzerinde yapılan çalışmalar 1974 yılında probiyotik teriminin kullanılmasıyla yeni bir boyut kazanmıştır. Probiyotik kelimesi latince “canlı için”, antibiyotik terimi ise “canlıya karşı” anlamına gelmektedir (57). Son yıllarda artan geçim sıkıntısı, olumsuz çevre şartları kontrolsüz ve sağlıklı gıdaların kullanılmasıyla insan hayatı risk altındadır. Özellikle kontrolsüz kullanılan bir çok antibiyotik ve ilaçlar organizmada mevcut mikrofloradaki dengeyi bozduğu gibi, onarılması güç hastalıklara neden olmaktadır. Örneğin, patojen bakteriler florada dominant duruma geçerek böbrek, barsak ve vajinada enfeksiyonlara neden olmaktadır.

Probiyotikler özellikle organizmada, gerek sağlıklı bir gelişme gerekse hastalıkların tedavisinde antibiyotiklerin yerine, doğal biyolojik ürünleri destekleyici alternatif ürünler olarak kullanılabilir. Bu sayede mikroflorada stabilite sağlandığı gibi dışarıdan alınan diğer maddelerin (ilaç, antibiyotik vb.) olumsuz etkilerinin de önüne geçilmiş olur. Son yıllarda biyolojik sistemlerden tıp, eczacılık, endüstri, tarım ve hayvancılıkta faydalanılmaktadır. Günümüzde hem daha güvenilir, hem de daha ekonomik olması nedeniyle her dalda biyoteknolojik çalışmalara ağırlık verilmiştir. Laktik Asit bakterilerinin vajen florasında ve doğal insan florasındaki olumlu etkileri düşünülerek probiyotik teknolojisinde, üstün özelliklere sahip bazı suşların kullanılarak, hastalıkların tedavisinde antibiyotiklere alternatif olması düşünülmektedir. Araştırmacılar, probiyotiklerin sadece tedavi amaçlı olmayıp, tıpta koruyucu amaçlı da kullanılabileceğini, ancak bunun için seçilecek suşların antibiyotiklere ve antifungal ilaçlara dirençli olmasının önemli bir kriter olduğunu bildirmişlerdir (8, 6).

İnsanlarda floranın korunması, uzun süren antibiyotik ve antifungal tedavilerine alternatif olması bakımından laktik asit bakterileri probiyotik olarak kullanımı

önerilmektedir (6). Laktik asit bakterilerinin probiyotik olarak önerilmelerinin bir nedeni de laktik asit bakterilerince antitümör özellik gösteren bileşiklerin sentezlenmesi ve immün sistemi aktive ederek, antikansorejenik etki göstermeleridir (58, 59).

Ayrıca probiyotik bakteriler organizmanın immün sisteminde uyarıcı bir etki yaparlar. Laktik asit bakterilerinden *L. casei*, *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* suşlarının makrofaj aktivasyonunu arttırdıkları belirlenmiştir. Probiyotik olarak kullanılabilecek laktik asit bakterilerinin hücre duvarında bulunan peptidoglikan ve polisakkaritlerin, nitrozamin gibi kanserojen etkili maddelerle kimyasal bağlar oluşturarak, onları etkisiz hale getirdikleri bildirilmektedir (60, 61, 62).

Ürogenital enfeksiyon, bütün dünyada kadınlar arasında yaygın olan bir sağlık problemidir. Günümüzde tedavi alanında çok sayıda ilkel uygulamalar mevcuttur. Yine tedavide antimikrobiyal ajan kullanımı da oldukça yaygındır. Son zamanlarda seçici laktik asit bakterilerini içeren probiyotik yaklaşımlar geliştirilmiştir (8).

Kadın ürogenital bölge enfeksiyonlarının kontrolünde probiyotiklerin kullanılmasıyla, son yıllarda probiyotik biyoteknolojisine yönelik, bilimsel ve teknolojik çalışmalara ağırlık verilmiştir. Böylece üriner enfeksiyon yada benzeri hastalıkları olan çok sayıda kadının klinik ve klinik dışı desteklenmesine geçerli bir zemin hazırlanmıştır. Bu enfeksiyonlar sonucu kadın ölümlerinin artması ile, korumaya yönelik akademik çalışmaların endüstriyel alana taşınması hedeflenmektedir (8).

Potansiyel probiyotik olarak kullanılabilecek *Lactobacillus* türlerinde olması gereken özellikler (8).

- Antimikrobiyal madde üretimi olmalıdır.
- Antibiyotiklere karşı direnci olmalıdır; antibiyotiğe bağlı diyare ile ortaya çıkan hastalarda bağırsak florasını düzeltmek amacıyla kullanılabileceğinden,

antibiyotiklerden etkilenmemelidir. Antibiyotiklerle birlikte mikroflorayı korumak amacıyla kullanılabilir.

- Bulunduğu hücrelere tutunma özelliği olmalı.
- Diğer mikroorganizmalarla rekabete girebilmeli dominant olarak kolonize olabilmelidir (koagregasyon ve agregasyon).
- Bakteri morfolojik olarak büyük olmalı
- Spermisitlerden etkilenmemeli.
- Stabil olmalıdır, düşük pH gibi çeşitli olumsuz dış etmenlere karşı yerini muhafaza edebilmelidir.
- Güvenilir olmalıdır, insanda ve hayvanda bulunduğu yerde yan etki göstermemelidir.

Probiyotik olarak kullanılan bazı laktik asit bakterileri Çizelge 2.2' de verilmiştir (63).

Çizelge 2.2. Probiyotik olarak kullanılan laktik asit bakterileri

<i>Lactobacillus</i>	<i>Lactobacillus bulgaricus</i> <i>Lactobacillus cellobiosus</i> <i>Lactobacillus delbrueckii</i> <i>Lactobacillus lactis</i> <i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Lactobacillus reuteri</i> <i>Lactobacillus brevis</i> <i>Lactobacillus casei</i> <i>Lactobacillus curvatus</i> <i>Lactobacillus fermentum</i> <i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Lactobacillus johnsonii</i> <i>Lactobacillus rhamnosus</i> <i>Lactobacillus helveticus</i> <i>Lactobacillus crispatus</i> <i>Lactobacillus salivarius</i> <i>Lactobacillus gasseri</i> <i>Lactobacillus spp. rhamnosus</i> <i>Lactobacillus delbrueckii spp. bulgaricus</i>
<i>Pediococcus</i>	<i>Pediococcus cerevisiae</i> <i>Pediococcus acidilactici</i> <i>Pediococcus pentosaceus</i>
<i>Streptococcus</i>	<i>Streptococcus cremoris</i> <i>Streptococcus thermophilus</i> <i>Streptococcus intermedius</i> <i>Streptococcus lactis</i> <i>Streptococcus diacetylactis</i>
<i>Leuconostoc</i>	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Materyal Örnekleri

Araştırma HPV (+)' li (1 hasta), gebe (2 hasta), sağlıklı (4 hasta), menopozlu (2 hasta), adet düzensizliği (5 hasta) ve enfeksiyon (2 hasta) şikayetiyle kliniğe başvuran 19 kadının vajinasının yan duvarından alınan örneklerle yapılmıştır. Bu çalışma 19 kadının 10' un dan izole edilen 58 *Lactobacillus* spp. suşlarıyla yürütülmüştür.

Belirgin vajinal kandidiyasizi, bakteriyal vajinosizi ve aktif vajinal kanaması olan hastalar çalışmaya dahil edilmemiştir.

Araştırmada kullanılan patojen test bakterileri *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 29212, *Staphylococcus aureus* ATCC 2392, *Salmonella enteritidis* RSKK 171, *Escherichia coli* ATCC 11230 ve *Candida albicans* ATCC 10239 Gazi Üniversitesi Biyoteknoloji Laboratuvarından temin edilmiştir.

Denemelerde kullanılan *C. albicans* AJD 180 vajen izolatu olup, Anıttepe Jandarma Dispanserinden temin edilmiştir.

3.2. Metod

3.2.1. Bakterilerin izolasyonu

Araştırma HPV (+)' li, gebe, sağlıklı, menopozlu, adet düzensizliği ve enfeksiyon şikayeti özelliklerine sahip 19 kadının vajinasının yan duvarına değdirilen iki pamuklu çubukla alınan örneklerden birinci pamuklu çubuk steril şartlar altında direkt olarak MRS Agar ve Laktik Agarlı katı besiyerine inoküle edilmiştir. İkinci pamuklu çubuk steril şartlar altında 1 ml steril fizyolojik suya ilave edilerek iyice karıştırılmış ve 10^{-1} - 10^{-5} şeklinde seri dilüsyonlar gerçekleştirilmiştir. Her bir dilüsyondan 0,1 ml alınarak, MRS Agar ve Laktik Agarlı katı besiyerine inoküle

edilmiştir. Örnekler steril drigalski spatülü ile besiortamı üzerine homojen bir şekilde yayılmıştır. Petriler %5 CO₂’ li ve 37±1 °C’ lik ortamda 24-48 saat inkübasyona bırakılmıştır (64, 25).

İnkübasyon bitiminde besiortamı üzerinde gelişen bakteri kolonileri ve Laktik Agarda sarı renkli zon oluşturan koloniler incelenip, total *Lactobacillus* cinsi bakteri sayımı yapılmıştır (65).

Koloni sayısı×Seyreltme faktörü

Kob/ml (cfu/ml) = _____

Dilüsyon tüpünden petri kabına aktarılan hacim (ml)

1

Seyreltme faktörü = _____

Seyreltme oranı

Kolonilerden kirli beyaz renkli koloniler seçilerek preparat hazırlanmıştır. Hazırlanan preparatlar gram boyama (66) yapıp mikroskop altında incelenmiştir. Gram (+) ve çubuk şekilli olan bakteriler MRS Broth besiortamına inoküle edilip, 37 °C’ de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır (64).

Laktik Agar (67)

<u>Maddeler</u>	<u>g/l</u>
Tripton	20
Yeast Ekstrakt	5
Dekstroz	5
Laktoz	5
Sakkaroz	5
Sodyum Klorid	4
Sodyum Asetat	1,5
Askorbik Asid	0,5

Brom Krosol Purple 0,04

Maddeler 1000 ml distile edilmiş suya ilave edilip, pH $6,8 \pm 0,2$ ' ye ayarlanıp, 0,5 atm basınçta 15 dakika otoklavda steril edilmiştir. Amaca uygun olacak şekilde besiyerine %2 oranında agar ilave edilip katı besiyeri hazırlanmıştır.

MRS Broth (68)

<u>Maddeler</u>	<u>g/l</u>
Pepton	10,0
Beef Ekstrakt	10,0
Yeast Ekstrakt	5,0
Dekstroz	20,0
K ₂ HPO ₄	2,0
Na-Asetat . 3H ₂ O	5,0
Tri Amonyum Sitrat	2,0
MgSO ₄ . 7H ₂ O	0,2
MnSO ₄ . 4H ₂ O	0,05
Tween 80	1ml

Maddeler 1000 ml distile edilmiş su içerisine ilave edilmiştir. Besi ortamının pH' sı 0,01 N H₂ SO₄ ve 0,01 N NaOH' le $6,2 \pm 0,2$ ' ye ayarlanmıştır. Amaca uygun olacak şekilde besiyerine %2 oranında agar ilave edilip katı besiyeri hazırlanmıştır. Besiortamı 121 °C' de 15 dakika otoklavda steril edilmiştir.

3.2.2. İzole edilen suşların muhafazası

İzole edilen suşlar, MRS Broth'da iki kez ard arda aktifleştirilmiştir. 0,3 ml gliserol içeren eppendorf tüplerine konularak 121 °C' de 15 dakika otoklavda steril edilmiştir. Steril koşullar da iki kez ard arda aktifleştirilen kültürlerden 0,6 ml konularak -20 °C' de saklanmıştır (39).

3.2.3. Teşhis testleri

Çeşitli hastalardan izole edilen izolatların ayırt edilmesi amacıyla çeşitli fizyolojik ve biyokimyasal testlerden yararlanılmıştır. Bakterilerin morfolojileri, hareket durumları, spor oluşturma durumları, gram boyamaya karşı reaksiyonu ve katalaz reaksiyonları incelenmiştir. Bunlara ilave olarak bakterilerin sıvı besiyerindeki üreme durumu, katı besiyerindeki koloni şekli ve yapıları da incelenmiştir. Mikroskop altında yapılan incelemelere göre *Lactobacillus* spp. olarak teşhis edilen bakterilerin identifikasyon testleri gerçekleştirilmiştir. Öncelikle izolatların çeşitli karbon kaynaklarında üreme durumları, bakterilerin homofermantatif ve heterofermantatif durumları, 15 °C, 45 °C ve 50 °C’ de gelişmeleri, %2 NaCl, %4 NaCl, %6,5 NaCl içeren besi ortamında üreyebilme yetenekleri, katalaz reaksiyonu, eskulin, nişasta, arjinin hidrolizi reaksiyonları ve izolatların glikozdan gaz oluşturma durumları incelenmiştir.

3.2.3.1. Biyokimyasal test kitleri

Bakteri suşlarının tür düzeyindeki teşhisleri *Lactobacillaceae* familyası için spesifik olan minyatürize edilmiş biyokimyasal test kitleri (API 50 CHL bioMERİEUX) kullanılmıştır. API 50 CHL sistemi 49 minyatürize edilmiş biyokimyasal test ve verilerin kullanıldığı teşhis düzenidir. API 50 CHL, şeritleri dehidrate edilmiş maddeleri içeren 49 mikrotüp içerir.

Bakteri süspansiyonu hazırlamak için, izolasyon plaklarından öze ile tek koloni alınmış ve 2 ml süspansiyon içeren besi ortamında emülsiyon haline getirilmiştir. Bu süspansiyondan bir başka 5 ml’ lik süspansiyon içerisine 2 Mc Farland bulanıklığında olacak şekilde damlatılarak homojen bakteri süspansiyonları hazırlanmıştır. Damlatılan miktarın 2 katı kadar API 50 CHL medium besi ortamına konulur. Besi ortamından API test mikrotüplerinin tüp kısımlarına içinde hava

kalmayacak şekilde steril uçlu mikropipet kullanılarak ekimleri yapılmıştır. Ekim yapılan tüpler üzerine mineral oil damlatılarak hava ile teması kesilmiştir.

Mikrotüplerden oluşan striplerin kapakları kapatılmıştır. Suş numaraları inkübasyon kutularına yazılarak suşların karışması önlenmiş ve 37 °C' de 48 saat inkübe edilmiştir. Elde edilen sonuçlar bir bilgisayar programı kullanılarak tür teşhisi yapılmıştır.

3.2.3.2. Şeker testleri

Vajinal izolatların fruktoz, galaktoz, glukoz, dekstroz, sukroz, laktoz, maltoz, arabinoz, rafinoz, riboz, amigdalin, ksiloz, salisin, melezitoz, mannitol, mannoz, sorbitol, trehaloz gibi şekerleri içeren besiortamlarında şeker kullanımları test edilmiştir.

Şeker testleri için MRS Broth besiortamından karbon kaynağı olan dekstroz çıkarılmıştır. 1000 ml' lik besiortamına 0,02 gr. brom krosol purple ilave edilmiştir. Besiortamından 2 ml alınarak tüplere konulmuştur ve 0,5 atm basınçta 15 dakika steril edilmiştir. Aktif kültürden %1 oranında ekim yapılarak, 37 °C' de 24-48 saat bekletilmiştir. Sonuçlar renk değişimine göre değerlendirilmiştir (16, 66, 69, 70, 71).

3.2.3.3. Eskulin hidrolizi

Eskulin hidrolizi için öncelikle;

Eskulin	1g
Ferrik Sitrat	0,5 g
Peptonlu Su	1000 ml

Peptonlu Su

Pepton	10 g
NaCl	5 g

1000 ml saf su ilave edilerek hazırlanmıştır. Besiortamı 121 °C' de 15 dakika otoklavda steril edilmiştir. Aktif *Lactobacillus* izolatları %1 oranında ortama inoküle edilmiştir. Kültür 37 °C' de 24 saat bekletilmiştir. Eskulin hidrolizi ile buyyonda kömür renginin oluşup oluşmadığı kontrol edilmiştir (52).

3.2.3.4, Nişasta hidrolizi

MRS Agar besiortamına %1 oranında nişasta ilave edilmiştir. Besiortamı 121 °C' de 10 dakika otoklavda steril edilmiştir. İki kez aktifleştirilen kültürlerden besiortamına çizgi şeklinde ekim yapılmıştır. Kültür 37 °C' de 24 saat bekletilmiştir. İnkübasyon sonunda koloni üzerine lugol çözeltisi damlatılarak renksiz zonlar kontrol edilmiştir (52).

3.2.3.5, Katalaz testi

Katalaz enziminin ortamdaki hidrojen peroksiti su ve oksijene ayrıştırdığı bilindiğinden bakteriler iki kez ard arda 5 ml' lik steril MRS Broth besiortamında uygun koşullarda aktifleştirilmiştir. İnkübasyon sonrasında aktif kültürlerden 1 ml alınarak tüp içerisine konulmuştur ve üzerine de %30' luk H₂O₂ ilave edilmiştir. Kabarcık oluşumuna göre değerlendirilmiştir (66).

3.2.3.6. Arjinin hidrolizi

Maddeler g/l

Pepton	1
NaCl	5
K ₂ HPO ₄	0,3
Fenol Red	0,01
Arginin	10

Maddeler 1000 ml distile edilmiş su içerisine ilave edilmiştir. Amaca uygun olacak şekilde besiyerine %0,6 oranında agar ilave edilip katı besiyeri hazırlanmıştır. Besiortamı tüplere 2 ml dağıtılarak 121 °C’ de 15 dakika otoklavda steril edilmiştir. İki kez aktifleştirilen kültürlerden iğne öze ile ekim yapılmıştır. Kültür 37 °C’ de 24 saat bekletilmiştir. İnkübasyon sonunda renk değişimine göre değerlendirilmiştir (52).

3.2.3.7. Glukozdan gaz çıkışı

Bu test için, hazırlanan MRS Broth, durhaym tüpü içeren test tüplerine 5 ml olarak dağıtılmıştır ve 121 °C’ de 15 dakika otoklavda steril edilmiştir. Daha önceden aktifleştirilmiş olan kültürden %1 oranında besiortamına inoküle edilmiştir ve 37 °C’ de 24 saat bekletilmiştir. İnkübasyon sonunda deney tüpleri incelenmiş ve oluşturmuş olabilecekleri gazlar (H₂ ve CO₂) durhaym tüplerinde incelenmiştir (66).

3.2.4. Metabolik ürünlerin tespiti

Suşların metabolik ürünlerinden asit, hidrojen peroksit ve bakteriyosin üretimi tespit edilmiştir.

3.2.4.1. Asit üretiminin tespiti

Vajinal *Lactobacillus* spp. aktif suşlarından 10 ml’ lik MRS Broth besiortamına %2 oranında inoküle edilerek 37 °C’ de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda cam erlenlere aktararak 90 ml distile su ile 100 ml tamamlanmıştır. Üzerine 2-3 damla fenol ftalein indikatörü damlatılarak, 0,1 N NaOH çözeltisi ile titre edilmiştir. Bakterilerin ürettiği asit titre edilebilir yüzde asitlik olarak hesaplanmıştır (72).

$$\% \text{ Asitlik} = \frac{\text{Harcanan } 0,1 \text{ N NaOH (ml)} \times 0,9}{\text{ml örnek}}$$

3.2.4.2. Hidrojen peroksit üretiminin tespiti

Vajinal *Lactobacillus* spp. suşlarının hidrojen peroksit üretimi hem spektrofotometrik olarak hem de tetrametilbenzidin agarlı petriler de nitel olarak belirlenmiştir.

3.2.4.2.1. Tetrametilbenzidin agarlı plaklarda hidrojen peroksit üretiminin tespiti

Tetrametilbenzidin agarlı petrilerde hidrojen peroksitin varlığı Song (73)' un metoduna göre belirlenmiştir;

1. *Lactobacillus* spp. suşları 5 ml' lik MRS Broth besiyerinde iki kez ard arda aktive edilir.
2. Aktif kültürlerden 0,02 ml alınarak, tetrametilbenzidin agarlı plaklar üzerine inoküle edilmiştir, örnekler steril drigalski spatülü ile besiyortamı üzerine homojen bir şekilde yayılmıştır.
3. Petriler %5 CO₂' li ve 37 °C'lik ortamda 48 saat inkübasyona bırakılmıştır.
4. Inkübasyon sonunda petrilerde kolonilerin çevresinde mavi renk oluşumuna göre hidrojen peroksitin varlığı değerlendirilmiştir.

Tetrametilbenzidin Agar

Maddeler	g/l
Pepton	10,0
Beef Ekstrakt	10,0
Yeast Ekstrakt	5,0

Dekstroz	20,0
K ₂ HPO ₄	2,0
Na-Asetat . 3H ₂ O	5,0
Tri Amonyum Sitrat	2,0
MgSO ₄ . 7H ₂ O	0,2
MnSO ₄ . 4H ₂ O	0,05
Tetrametilbenzidin	0,35
Horseradish Peroksidaz	0,2
Tween 80	1ml

Maddeler 1000 ml distile edilmiş su içerisine ilave edilmiştir. Amaca uygun olacak şekilde besiyerine %2 oranında agar ilave edilip katı besiyeri hazırlanmıştır. Besiortamı 121 °C' de 15 dakika otoklavda steril edilmiştir.

3.2.4.2.2. Spektrofotometrik olarak hidrojen peroksit üretiminin tespiti

Spektrofotometrik olarak hidrojen peroksit miktarı Gilliland (74) ' ın metoduna göre belirlenmiştir;

1. *Lactobacillus* spp. aktif suşların dan 10 ml' lik MRS Broth besiortamına %2 oranında inoküle edilerek 37 °C' de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır.
2. Inkübasyon sonunda örneklerin pH' sı 0,01 N H₂ SO₄ ve 0,01 N NaOH' la 4,5 ± 0,2' ye ayarlanmıştır.
3. 0,1 M Asetat tamponundan 2 ml eklenir ve 20 ml distile su ile seyreltilerek, karıştırılmıştır.
4. Örnekler 5000 rpm' de 10 dakika santrifüj edilmiştir.
5. Santrifüj edilen örnekler Whatman 42 no' lu filtre kağıdı ile süzölmüştür.

6. Süzülen sıvıdan 5 ml alınarak 1 ml distile su içeren tüpe konulmuştur ve 0,1 ml o-dianisidin ilave edilmiştir.

7. Bir başka tüpe de süzülen sıvıdan 5 ml alınmıştır. Tüpe 1 ml horseradish peroksidaz, 0,1 ml o-dianisidin solüsyonları konulmuştur.

8. Tüpler iyice karıştırılır ve oda sıcaklığında 10 dakika inkübasyona bırakılır.

9. İnkübasyon sonrasında 0,2 ml 4 N HCl ile reaksiyon durdurularak renk sabitlenmiştir.

10. HCl eklenmesinden 5 dakika sonra her bir standardın 400 nm de dalga boyunda spektrofotometrede ölçümleri gerçekleştirilmiştir.

Sonuçlar standart eğri ile karşılaştırılarak, hidrojen peroksit miktarları $\mu\text{g/ml}$ olarak saptanmıştır.

Standardın hazırlanması;

1. 0,01 M asetat tamponun (pH 4,5) içinde ml' de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ve 10 ml H_2O_2 içeren standartlar hazırlanmıştır.

2. Her bir standart 10 ml' dir.

3. Analiz için her bir test tüpünde 1 ml horseradish peroksidaz, 0,1 ml o-dianisidin solüsyonu içeren tüplerde seyreltilen 5 ml standartlardan konulmuştur.

Blank; 5 ml 0,01 M asetat tamponu , 1 ml horseradish peroksidaz, 0,1 ml o-dianisidin solüsyonları ile hazırlanmıştır

4. Tüpler iyice karıştırılır ve oda sıcaklığında 10 dakika inkübasyona bırakılır.

5. İnkübasyon sonrasında 0,2 ml 4 N HCl ile reaksiyon durdurularak renk sabitlenmiştir.

6. HCl eklenmesinden 5 dakika sonra her bir standardın 400 nm de dalga boyunda spektrofotometrede ölçümleri gerçekleştirilmiştir.

7. Hidrojen peroksit standart kurve çıkarılmıştır. Standart kurve den 1 µg/ml hidrojen peroksit tekabül eden hidrojen peroksit hesaplanmıştır.

Çözeltiler;

Horseradish Peroksidas Solusyonu

Distile Su	1 ml
Horseradish Peroksidas	1 mg

Analizlerde 1: 100 oranında distile suda seyreltilerek kullanılmıştır.

O-dianisidin Solüsyon

Distile su içinde 1: 100 seyreltilerek kullanılmıştır.

0,01 N Asetat Tamponu

Sodyum Asetat	1,3608 gr
Distile Su	1000 ml

3.2.5. *Lactobacillus* spp. suşlarının antimikrobiyal aktiviteleri

3.2.5.1. *Lactobacillus* suşlarının bazı patojen mikroorganizmalar üzerine inhibisyon etkisi (genel inhibisyon)

İzole edilen *Lactobacillus* suşları 37 °C' de iki kez ard arda aktifleştirilmiştir. Aktif kültürler 5000 dev/dk.' da 15 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonunda oluşan berrak kısım (süpernatant) steril şartlar altında 0,45 µm' lik disposable filtre ile mikrofiltrasyon yolu ile sterilize edilmiştir.

İnhibisyon zonunun tespiti için test bakterileri olarak *P. aeruginosa* ATCC 29212, *S. aureus* ATCC 2392, *S. enteritidis* RSKK 171, *E. coli* ATCC 11230 ve maya olarakda *C. albicans* AJD 180 ve *C. albicans* ATCC 10239 kullanılmıştır.

Test bakterileri Nutrient sıvı besiortamında aktifleştirilmiştir. 37 °C' de 24 saatlik aktif kültürlerden steril petri kabı üzerine 50 µl aktarılmıştır. Bu işlemten sonra daha önceden hazırlanıp 121 °C' de 15 dakika otoklavda steril edilmiş olan ve yaklaşık olarak 50 °C' ye kadar soğutulmuş olan Nutrient Agar' dan her petri kabına 20 ml ilave edilip, besiortamı ve petri kabı zeminine inoküle edilen test bakterilerinin homojen bir şekilde karışması sağlanmıştır. Homojenlik sağlandıktan sonra petri kabı içerisindeki Nutrient Agar' ın donması için oda sıcaklığında bekletilmiştir. Donan agar üzerinde 1 cm çapındaki steril çubukla kuyular açılmıştır. Kuyuların tabanları steril agarla tekrar sıvanmıştır. Daha sonra bu kuyulara izole edilen *Lactobacillus* spp. suşlarının süpernatantından 100 µl ilave edilmiş ve 37 °C' de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda kuyu çevresinde oluşan zonların çapı kumpas ile ölçülmüştür ve çap ölçümleri milimetrik olarak verilmiştir (75).

Maya ise YEPD sıvı ortamında 35 °C' de 24 saatlik aktif kültürlerden YEPD Agar içeren petri kabı üzerine 10 µl aktarılmıştır ve steril drigalski spatülü ile besiortamı üzerine homojen bir şekilde yayılmıştır. YEPD Agar üzerinde 1 cm çapındaki steril çubukla kuyular açılmıştır. Kuyuların tabanları steril agarla sıvanmıştır. Daha sonra bu kuyulara izole edilen *Lactobacillus* spp. suşlarının süpernatantından 150 µl ilave edilmiş ve 35 °C' de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda kuyu çevresinde oluşan zonların çapı kumpas ile ölçülmüştür (75).

YERİNDEN KAYIT ALINMIŞTIR

Nutrient Broth (76)

<u>Maddeler</u>	<u>g/l</u>
Lab-lemco Powder	1
Yeast Ekstrakt	2
Pepton	5
Sodyum Klorit	5

Maddeler 1000 ml distile edilmiş su içerisinde ilave edilmiştir. Besi ortamının pH' sı 0,01 N H₂ SO₄ ve 0,01 N NaOH' le 6,8±0,2' ye ayarlanmıştır. Amaca uygun olacak şekilde besiyerine %2 oranında agar ilave edilip katı besiyeri hazırlanmıştır. Besiortamı 121°C' de 15 dakika otoklavda steril edilmiştir.

YEPD Broth (77)

<u>Maddeler</u>	<u>g/l</u>
Yeast Ekstrakt	10
Dekstroz	20
Pepton	20

Maddeler 1000 ml distile edilmiş su içerisinde ilave edilmiştir. Amaca uygun olacak şekilde besiyerine %2 oranında agar ilave edilip katı besiyeri hazırlanmıştır. Besiortamı 121°C' de 15 dakika otoklavda steril edilmiştir.

3.2.5.2. Bakteriyosin etkisinin belirlenmesi

Vajinadan izole edilen *Lactobacillus* spp. suşlarının bakteriyosin üretimi Giraffa et. al., (78)' ın metoduna göre belirlenmiştir.

Vajinadan izole edilen *Lactobacillus* spp. suşlarının aktif kültürlerinden 10 ml' lik MRS Broth besiyerine %2 oranında inoküle edilmiştir. Bakteriler 37 °C' de anaerobik jarda O₂' siz ortamda 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Böylece hidrojen

peroksit oluşumu engellenmiştir. İnkübasyon bitiminde örneklerin pH' sı 6,2-6,5 arasında ayarlanarak, asitlik nötralize edilmiştir ve asitlikten oluşabilecek inhibitörük etki giderilmiştir. Daha sonraki işlemler genel inhibisyondaki gibi agar difüzyon tekniğine göre yapılmıştır. Bu denemelerde test bakterileri olarak *P. aeruginosa* ATCC 29212, *S. aureus* ATCC 2392, *S. enteritidis* RSKK 171, *E. coli* ATCC 11230 ve maya olarak ta *C. albicans* AJD 180 ve *C. albicans* ATCC 10239 suşları kullanılmıştır.

3.2.6. *Lactobacillus* spp. suşlarının antibiyotik duyarlılık testi

Vajinadan izole edilen *Lactobacillus* spp. suşlarının amoksisilin (25 µg) , azitromisin (15 µg), kloramfenikol (30 µg), teikoplanin (30 µg), siprofloksasin (5 µg), klaritromisin (15 µg), streptomisin (10 µg) ve tetrasiklin (30 µg) antibiyotiklerine duyarlılıkları test edilmiştir.

İzole edilen *Lactobacillus* spp. suşları 37 °C' de iki kez ard arda aktifleştirilmiştir. 121 °C' de 15 dakika otoklavda steril edilmiş olan Sisteinli-MRS Agar' dan steril petri kaplarına konulmuştur ve donması için oda sıcaklığında bekletilmiştir. Donan besiortamı üzerine aktif kültürlerden 100 µl aktarılmıştır ve steril drigalski spatülü ile besiortamı üzerine homojen bir şekilde yayılmıştır. Besiyeri ve bakteri içeren petri üzerine denenecek olan antibiyotik diskleri steril koşullarda yerleştirilmiştir ve 37 °C' de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda antibiyotik disk çevresinde oluşan zonların çapı kumpas ile milimetrik olarak ölçülmüştür (79). Sonuçlar NCCLS kriterlerine göre değerlendirilmiştir (80, 1).

Sisteinli-MRS (77)

<u>Maddeler</u>	<u>g/l</u>
Pepton	10,0
Beef Ekstrakt	10,0
Yeast Ekstrakt	5,0

Glukoz	20,0
Na-Asetat . 3H ₂ O	5,0
Tri Amonyum Sitrata	2,0
MgSO ₄ . 7H ₂ O	0,2
MnSO ₄ . 4H ₂ O	0,05
L- Sistein	2,0
Na ₂ HPO ₄	2,0
Tween 80	1ml

3.2.7. Antifungal ilaçların MIC sınırlarının belirlenmesi

Bu testte ilk olarak izokonazol ve oksikonazol antifungal ilaçlarının *C. albicans* (AJD 180) üzerinde minimal inhibitör konsantrasyonu (MIC) belirlenmiştir (79).

1. *C. albicans* (AJD 180) YEPD Agar besiyerinde 35 °C, 24 saatte geliştirilmiştir.
2. Üreyen ≥ 1 mm çapındaki kolonilerden 5 koloni alınarak 5 ml steril serum fizyolojik (%0,875) içinde süspansiyonu yapılmıştır.
3. Hücre yoğunluğu 0,5 Mc Farland standartına göre ayarlanmıştır.
4. 1:2000 oranında serum fizyolojikle seyreltilmiştir.
5. İçerisinde 5 ml YEPD sıvı besiyeri bulunan steril tüplere 100' er μ l dağıtılmıştır.
6. Tüplere sırasıyla 0,02; 0,05; 0,075; 0,1; 0,125; 0,15 ve 0,2 μ g/ml konsantrasyonlarında ilaç dağıtılmıştır.
7. Kontaminasyonu kontrol etmek amacıyla besiyeri içeren bir tüpe maya diğer bir tüpe ise antifungal ilaç konularak kontrol tüpleri hazırlanmıştır.

8. Tüpler 35 °C, 24 saat inkübasyona bırakılmıştır.

9. Inkübasyon sonunda gözle yapılan değerlendirmenin ardında 121 °C' de 15 dakika otoklavda steril edilmiş olan YEPD Agar' dan steril petri kaplarına konulmuştur ve donması için oda sıcaklığında bekletilmiştir.

10. Donan besiortamı üzerine tüplerden 100 µl aktarılmıştır ve steril drigalski spatülü ile besiortamı üzerine homojen bir şekilde yayılmıştır.

11. 35 °C' de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır.

12. Inkübasyon sonunda maya kolonileri sayılmıştır. Sonuçlar cfu/ml olarak hesaplanmıştır.

13. Antifungal ilaçların maya hücrelerinin üremesini inhibe ettiği minimal inhibitör konsantrasyonu (MIC) olarak belirlenmiştir.

3.2.8. *Lactobacillus* spp. suşlarının antifungal duyarlılık testi

Candida albicans AJD 180 suşu üzerinde izokonazol ve oksikonazol ilaçların belirlenen MIC değerleride dikkate alınarak vajinadan izole edilen *Lactobacillus* spp. suşları üzerine izokonazol ve oksikonazolun inhibitörük etkisi agar difüzyon tekniğine göre belirlenmiştir.

121 °C' de 15 dakika otoklavda steril edilmiş olan Sisteinli-MRS Agar' dan steril petri kaplarına konulmuştur ve donması için oda sıcaklığında bekletilmiştir. Donan besiortamı üzerine aktif kültürlerden 100 µl aktarılmıştır ve steril drigalski spatülü ile besiortamı üzerine homojen bir şekilde yayılmıştır. Sisteinli-MRS Agar üzerinde 8 mm çapındaki steril çubukla kuyular açılmıştır. Kuyuların tabanları steril agarla tekrar sıvanmıştır. Daha sonra bu kuyulara izokonazol ve oksikonazol'un *Candida albicans* AJD 180 suşu için belirlenen MIC değerleri esas alınarak en düşük ve en

yüksek konsantrasyonları (0,2; 0,1 ve 0,05 µg/ml) çalışılmıştır ve 37 °C’ de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda kuyu çevresinde oluşan zonların çapı kumpas ile milimetrik olarak ölçülmüştür (75).



4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. *Lactobacillus* spp. Suşlarının İzolasyonu ve Teşhisi

Kliniğe çeşitli nedenlerle başvuran 19 hastanın ancak 10' un dan *Lactobacillus* spp. izolasyonu yapılabilmektedir (Çizelge 4.1.). *Lactobacillus*' ların izolasyon prosedürü 3.2.1.' de anlatıldığı gibi yapılmıştır. *Lactobacillus* spp. suşlarının izolasyonu daha önceden belirtildiği gibi Laktik Agar ve MRS Agar besiortamından yapılmıştır. MRS Agar besiortamında üreme durumu ve koloni morfolojisi *L. vaginalis* H1 suşu için Resim 4.1., *L. oris* A2 ve *L. vaginalis* H5 suşlarının mikroskopik görüntüleri Resim 4.2. ve Resim 4.3.' de verilmiştir. Suşların teşhis test sonuçları Çizelge 4.2.' de verilmiştir.

Teşhis test sonuçları ve API 50 CHL biyokimyasal test kitlerinin değerlendirilmesi sonucunda 58 adet *Lactobacillus* cinsi bakteri izolatu, 12 adet *L. gasseri*, 9 adet *L. acidophilus*, 9 adet *L. vaginalis*, 8 adet *L. crispatus*, 8 adet *L. delbrueckii* spp. *lactis*, 3 adet *L. plantarum*, 2 adet *L. jensenii*, 2 adet *L. salivarius*, 2 adet *L. cellobiosus*, 1 adet *L. brevis*, 1 adet *L. curvatus* ve 1 adet *L. oris* olarak adlandırılmıştır. Suşların tür adlandırılması, kodları ve yüzde dağılımları Çizelge 4.3. ve Şekil 4.1.' de verilmiştir.

Çizelge 4.1. Hasta özelliklerine göre izole edilebilen *Lactobacillus* tür ve sayıları

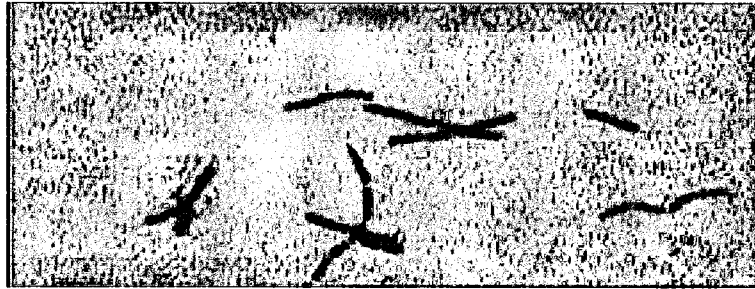
Hasta Kodları	Hasta Özellikleri			İzolasyon Yapılabilen Hasta	İzole Edilen <i>Lactobacillus</i> Türleri(Sayı)
	Yaş	Sigara Kullanımı	Şikayeti		
D	31	-	Sağlıklı	L	<i>L. gasseri</i> (1), <i>L. cellobiosus</i> (1), <i>L. curvatus</i> (1)
J	40	-			
L	50	+			
P	42	+			
A	28	-	Adet Düzensizliği	A	<i>L. acidophilus</i> (1), <i>L. oris</i> (1)
B	40	-		S	<i>L. acidophilus</i> (1), <i>L. salivarius</i> (1)
E	23	+		T	<i>L. plantarum</i> (1)
S	20	+			
T	47	-			
I	32	-	Doğum Sonrası	I	<i>L. gasseri</i> (1), <i>L. acidophilus</i> (1), <i>L. salivarius</i> (1), <i>L. cellobiosus</i> (1)
K	33	-			
N	30	-			
O	45	-	Menopoz	O	<i>L. gasseri</i> (1), <i>L. crispatus</i> (1)
F	42	-		F	<i>L. gasseri</i> (1)
R	28	+	Gebe	R	<i>L. gasseri</i> (5), <i>L. acidophilus</i> (3), <i>L. delbrueckii</i> spp. <i>lactis</i> (1), <i>L. jensenii</i> (2), <i>L. brevis</i> (1)
C	27	-			
H	35	-	Kanama ve Enfeksiyon	H	<i>L. gasseri</i> (3), <i>L. delbrueckii</i> spp. <i>lactis</i> (4), <i>L. vaginalis</i> (8), <i>L. plantarum</i> (2)
M	38	-			
G	45	-	HPV	G	<i>L. acidophilus</i> (4), <i>L. crispatus</i> (7), <i>L. delbrueckii</i> spp. <i>lactis</i> (3)
Toplam		19		10	58



Resim 4.1. *L. vaginalis* H1 suşunun koloni morfolojisi



Resim 4.2. *L. oris* A2 suşunun mikroskopik görüntüsü (10x100 büyütme)



Resim 4.3. *L. vaginalis* H5 suşunun mikroskopik görüntüsü(10x100 büyütme)

Çizelge 4.2. Devamı

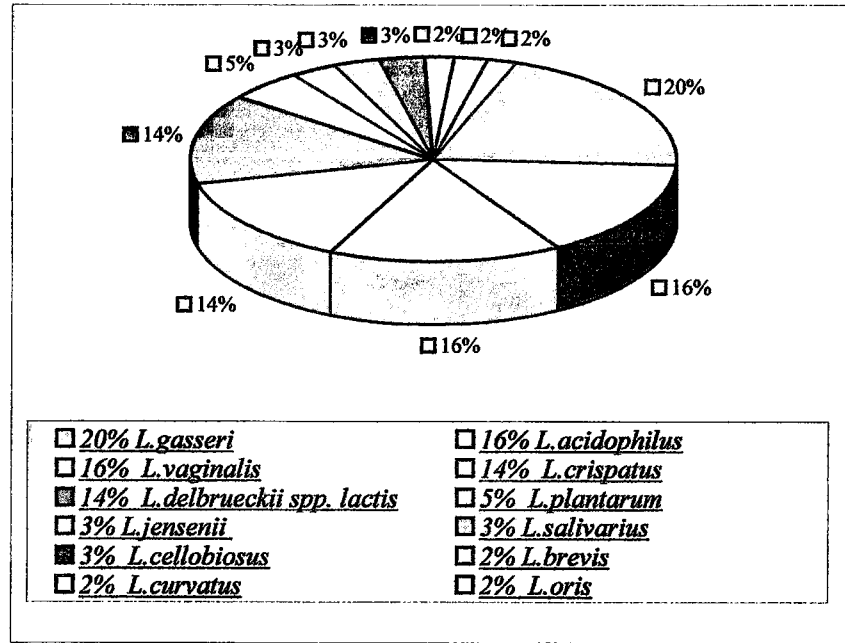
Gaz Oluşumu	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Arjinin Hidrolizi	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Nişasta Hidrolizi	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Eskulin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Trehaloz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Sorbitol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Mannoz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Mannitol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Melezitoz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Salisin	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Ksiloz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Amigdalın	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Riboz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Rafinoz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Arabinoz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Maltoz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Laktoz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Sukroz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Dextroz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Glukoz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Galaktoz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Fruktoz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
50 °C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
45 °C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
15 °C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
% 6,5 NaCl	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
% 4 NaCl	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
% 2 NaCl	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Katalaz	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Gram Boyama	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	R9	R10	R11	R12	L1	L2	L3	S1	S2	T1

+, Üreme var,
-, Üreme yok,
*, Üreme zayıf

Çizelge 4.3. *Lactobacillus* spp. suşlarının teşhis testleri sonuçlarına göre adlandırılması

Suş Numarası	Bakteri Adı
H14	<i>L. gasseri</i>
H15	<i>L. gasseri</i>
H16	<i>L. gasseri</i>
I2	<i>L. gasseri</i>
F1	<i>L. gasseri</i>
O2	<i>L. gasseri</i>
R3	<i>L. gasseri</i>
R4	<i>L. gasseri</i>
R5	<i>L. gasseri</i>
R7	<i>L. gasseri</i>
R10	<i>L. gasseri</i>
L1	<i>L. gasseri</i>
A1	<i>L. acidophilus</i>
G6	<i>L. acidophilus</i>
G7	<i>L. acidophilus</i>
G8	<i>L. acidophilus</i>
R1	<i>L. acidophilus</i>
R6	<i>L. acidophilus</i>
I4	<i>L. acidophilus</i>
R9	<i>L. acidophilus</i>
G11	<i>L. acidophilus</i>
H1	<i>L. vaginalis</i>
H2	<i>L. vaginalis</i>
H3	<i>L. vaginalis</i>
H4	<i>L. vaginalis</i>
H5	<i>L. vaginalis</i>
H6	<i>L. vaginalis</i>
H7	<i>L. vaginalis</i>
H8	<i>L. vaginalis</i>

Suş Numarası	Bakteri Adı
S1	<i>L. vaginalis</i>
G1	<i>L. crispatus</i>
G2	<i>L. crispatus</i>
G3	<i>L. crispatus</i>
G5	<i>L. crispatus</i>
G9	<i>L. crispatus</i>
G10	<i>L. crispatus</i>
G14	<i>L. crispatus</i>
O3	<i>L. crispatus</i>
G4	<i>L. delbrueckii</i> spp. <i>lactis</i>
G12	<i>L. delbrueckii</i> spp. <i>lactis</i>
G13	<i>L. delbrueckii</i> spp. <i>lactis</i>
H9	<i>L. delbrueckii</i> spp. <i>lactis</i>
H11	<i>L. delbrueckii</i> spp. <i>lactis</i>
H12	<i>L. delbrueckii</i> spp. <i>lactis</i>
H13	<i>L. delbrueckii</i> spp. <i>lactis</i>
R8	<i>L. delbrueckii</i> spp. <i>lactis</i>
H17	<i>L. plantarum</i>
T1	<i>L. plantarum</i>
H10	<i>L. plantarum</i>
R11	<i>L. jensenii</i>
R12	<i>L. jensenii</i>
I1	<i>L. salivarius</i>
S2	<i>L. salivarius</i>
L2	<i>L. cellobiosus</i>
I3	<i>L. cellobiosus</i>
R2	<i>L. brevis</i>
L3	<i>L. curvatus</i>
A2	<i>L. oris</i>



Şekil 4.1. Vajinadan izole edilen *Lactobacillus* spp. suşlarının teşhis edilen türlerinin % dağılımı

4.2. *Lactobacillus* Cinsine Ait Türlerin Metabolik Aktivite Sonuçları

İzolasyon ve teşhisleri yapılan *Lactobacillus* spp. suşlarının asit, hidrojen peroksit üretimleri tespit edilmiştir.

4.2.1. Asit üretimleri

Lactobacillus spp. suşlarının oluşturduğu pH ve yüzde asit miktarı 3.2.4.1' de anlatıldığı gibi tespit edilmiş, sonuçlar Çizelge 4.4' de verilmiştir.

İzole edilen 58 adet *Lactobacillus* spp. suşlarının 24 saatlik kültürlerinin titre edilebilir asitlik yüzde olarak en düşük %0,27 (*L. plantarum* T1) ve en yüksek %1,33 (*L. gasseri* R4) olarak belirlenmiştir. Genellikle, *L. gasseri*, *L. acidophilus* ve *L. brevis* suşlarının yüzde asitliklerinin yüksek olduğu dikkati çekmiştir. 24 saatlik kültürlerin son kültür pH' sı da 1,00 (*L. gasseri* R10, *L. acidophilus* R9, *L. jensenii* R11, *L. jensenii* R12 ve *L. plantarum* T1) ile 2,15 (*L. gasseri* I2) arasında olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 4.4. *Lactobacillus* spp. suşlarının oluşturduğu pH ve % asit miktarları

Suş Adı	pH	% Asitlik
<i>L. gasseri</i> H14	1,45 ± 0,15	0,50 ± 0,04
<i>L. gasseri</i> H15	1,89 ± 0,06	0,66 ± 0,04
<i>L. gasseri</i> H16	1,89 ± 0,01	0,73 ± 0,07
<i>L. gasseri</i> I2	2,15 ± 0,00	0,94 ± 0,00
<i>L. gasseri</i> F1	1,83 ± 0,08	0,85 ± 0,01
<i>L. gasseri</i> O2	1,59 ± 0,01	0,83 ± 0,02
<i>L. gasseri</i> R3	1,77 ± 0,00	1,06 ± 0,01
<i>L. gasseri</i> R4	1,66 ± 0,01	1,33 ± 0,00
<i>L. gasseri</i> R5	1,23 ± 0,14	1,18 ± 0,00
<i>L. gasseri</i> R7	1,78 ± 0,00	1,04 ± 0,00
<i>L. gasseri</i> R10	1,00 ± 0,07	0,49 ± 0,00
<i>L. gasseri</i> L1	1,71 ± 0,00	0,95 ± 0,01
<i>L. acidophilus</i> A1	1,65 ± 0,00	0,75 ± 0,06
<i>L. acidophilus</i> G6	1,85 ± 0,02	0,48 ± 0,09
<i>L. acidophilus</i> G7	1,89 ± 0,00	0,58 ± 0,01
<i>L. acidophilus</i> G8	1,99 ± 0,02	0,86 ± 0,01
<i>L. acidophilus</i> R1	1,34 ± 0,05	1,17 ± 0,11
<i>L. acidophilus</i> R6	1,59 ± 0,00	1,12 ± 0,06
<i>L. acidophilus</i> I4	2,10 ± 0,02	1,02 ± 0,01
<i>L. acidophilus</i> R9	1,00 ± 0,10	0,78 ± 0,04
<i>L. acidophilus</i> G11	1,85 ± 0,00	0,45 ± 0,05
<i>L. vaginalis</i> H1	1,74 ± 0,00	0,39 ± 0,04
<i>L. vaginalis</i> H2	1,79 ± 0,00	0,41 ± 0,03
<i>L. vaginalis</i> H3	2,02 ± 0,03	0,80 ± 0,01
<i>L. vaginalis</i> H4	1,66 ± 0,04	0,60 ± 0,02

Çizelge 4.4. Devamı

Suş Adı	pH	% Asitlik
<i>L. vaginalis</i> H5	1,64 ± 0,02	0,52 ± 0,05
<i>L. vaginalis</i> H6	1,65 ± 0,11	0,93 ± 0,01
<i>L. vaginalis</i> H7	1,56 ± 0,05	0,54 ± 0,09
<i>L. vaginalis</i> H8	1,93 ± 0,18	0,61 ± 0,08
<i>L. vaginalis</i> S1	1,07 ± 0,07	0,29 ± 0,01
<i>L. crispatus</i> G1	2,01 ± 0,02	0,77 ± 0,00
<i>L. crispatus</i> G2	1,96 ± 0,00	0,85 ± 0,05
<i>L. crispatus</i> G3	1,97 ± 0,00	0,72 ± 0,07
<i>L. crispatus</i> G5	1,90 ± 0,00	0,67 ± 0,00
<i>L. crispatus</i> G9	1,83 ± 0,04	0,48 ± 0,06
<i>L. crispatus</i> G10	1,87 ± 0,00	0,50 ± 0,04
<i>L. crispatus</i> G14	1,95 ± 0,00	0,76 ± 0,00
<i>L. crispatus</i> O3	1,36 ± 0,07	0,65 ± 0,06
<i>L. delbrueckii</i> spp. <i>lactis</i> G4	1,94 ± 0,01	0,68 ± 0,00
<i>L. delbrueckii</i> spp. <i>lactis</i> G12	1,90 ± 0,00	0,47 ± 0,07
<i>L. delbrueckii</i> spp. <i>lactis</i> G13	1,74 ± 0,05	0,55 ± 0,05
<i>L. delbrueckii</i> spp. <i>lactis</i> H9	1,76 ± 0,00	0,65 ± 0,02
<i>L. delbrueckii</i> spp. <i>lactis</i> H11	1,48 ± 0,03	0,32 ± 0,04
<i>L. delbrueckii</i> spp. <i>lactis</i> H12	2,02 ± 0,03	0,90 ± 0,09
<i>L. delbrueckii</i> spp. <i>lactis</i> H13	1,99 ± 0,02	0,80 ± 0,03
<i>L. delbrueckii</i> spp. <i>lactis</i> R8	1,74 ± 0,03	0,96 ± 0,02
<i>L. plantarum</i> H17	1,85 ± 0,05	0,74 ± 0,08
<i>L. plantarum</i> T1	1,00 ± 0,05	0,27 ± 0,00
<i>L. plantarum</i> H10	1,98 ± 0,16	0,80 ± 0,06
<i>L. jensenii</i> R11	1,00 ± 0,04	0,78 ± 0,02

Çizelge 4.4. Devamı

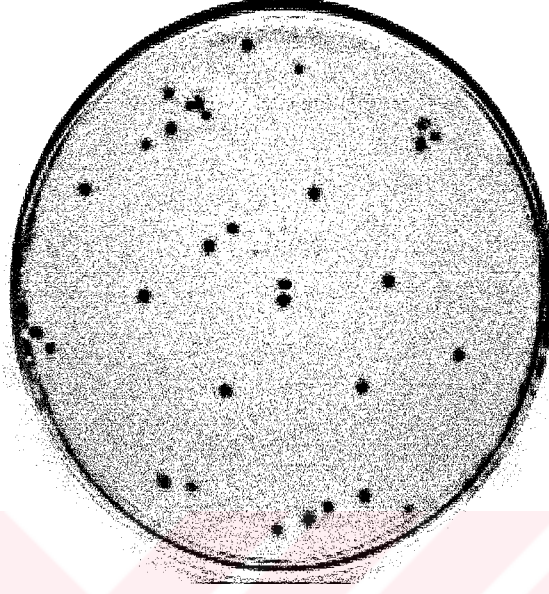
Suş Adı	pH	% Asitlik
<i>L. jensenii</i> R12	1,00 ± 0,02	0,87 ± 0,02
<i>L. salivarius</i> I1	1,84 ± 0,01	0,75 ± 0,01
<i>L. salivarius</i> S2	2,06 ± 0,04	0,81 ± 0,00
<i>L. cellobiosus</i> L2	1,08 ± 0,07	0,72 ± 0,06
<i>L. cellobiosus</i> I3	2,06 ± 0,00	0,91 ± 0,00
<i>L. brevis</i> R2	1,75 ± 0,01	1,04 ± 0,01
<i>L. curvatus</i> L3	1,62 ± 0,03	0,89 ± 0,00
<i>L. oris</i> A2	1,80 ± 0,00	0,78 ± 0,60

4.2.2. Hidrojen peroksit üretimleri

Lactobacillus spp. suşlarının oluşturduğu hidrojen peroksit miktarı 3.2.4.2.1. ve 3.2.4.2.2.' de anlatıldığı gibi iki farklı yöntemle belirlenmiştir. Spektrofotometrik metoda göre belirlenen sonuçlar Çizelge 4.5.' de verilmiştir. Nitel olarak hidrojen peroksit üretimi de 3.2.4.2.1.' deki metoda göre, Resim 4.4.' de gösterildiği gibi tetrametilbenzidin agar (TMB) üzerinde kolonilerin oluşturduğu renk değişimi esas alınarak belirlenmiştir.

Hidrojen peroksit üretimleri spektrofotometrik olarak 1,01-15,50 µg/ml (*L. curvatus* L3 - *L. vaginalis* H5) arasında, nitel olarak % 41' i ++ (yüksek H₂O₂), % 19' u + (orta seviyede H₂O₂), % 40' ı – (H₂O₂ üretimi belirlenemedi) bulunmuştur.

Her iki metodun sonuçları paralellik göstermiştir.



Resim 4.4. *L. acidophilus* G8 suşunun TMB Agar üzerinde H₂O₂ üretimi nedeniyle oluşturduğu renk değişimi (++)

Çizelge 4.5. *Lactobacillus* spp. suşlarının hidrojen peroksit (H₂O₂) miktarları

Suş Adı	TMB'li Ortamda H ₂ O ₂ Tespiti	Spektrofotometrik Metotla H ₂ O ₂ Tespiti (µg/ml)
<i>L. gasseri</i> H14	++	12,30
<i>L. gasseri</i> H15	++	11,72
<i>L. gasseri</i> H16	++	11,00
<i>L. gasseri</i> I2	++	4,52
<i>L. gasseri</i> F1	+	1,39
<i>L. gasseri</i> O2	+	1,06
<i>L. gasseri</i> R3	++	3,91
<i>L. gasseri</i> R4	-	-
<i>L. gasseri</i> R5	-	-
<i>L. gasseri</i> R7	-	-
<i>L. gasseri</i> R10	++	3,98
<i>L. gasseri</i> L1	-	-
<i>L. acidophilus</i> A1	-	-
<i>L. acidophilus</i> G6	-	-
<i>L. acidophilus</i> G7	+	1,86
<i>L. acidophilus</i> G8	++	5,00
<i>L. acidophilus</i> R1	-	-
<i>L. acidophilus</i> R6	+	1,03
<i>L. acidophilus</i> I4	++	5,14
<i>L. acidophilus</i> R9	-	-
<i>L. acidophilus</i> G11	-	-
<i>L. vaginalis</i> H1	++	3,51
<i>L. vaginalis</i> H2	-	-
<i>L. vaginalis</i> H3	++	4,35
<i>L. vaginalis</i> H4	-	-
<i>L. vaginalis</i> H5	++	15,50
<i>L. vaginalis</i> H6	+	1,22

Çizelge 4.5. Devamı

Suş Adı	TMB'li Ortamda H ₂ O ₂ Tespiti	Spektrofotometrik Metotla H ₂ O ₂ Tespiti (µg/ml)
<i>L. vaginalis</i> H7	++	2,33
<i>L. vaginalis</i> H8	++	5,36
<i>L. vaginalis</i> S1	++	4,79
<i>L. crispatus</i> G1	-	-
<i>L. crispatus</i> G2	++	3,84
<i>L. crispatus</i> G3	-	-
<i>L. crispatus</i> G5	-	-
<i>L. crispatus</i> G9	++	2,33
<i>L. crispatus</i> G10	-	-
<i>L. crispatus</i> G14	+	1,24
<i>L. crispatus</i> O3	-	-
<i>L. delbrueckii</i> spp. <i>lactis</i> G4	-	-
<i>L. delbrueckii</i> spp. <i>lactis</i> G12	-	-
<i>L. delbrueckii</i> spp. <i>lactis</i> G13	-	-
<i>L. delbrueckii</i> spp. <i>lactis</i> H9	-	-
<i>L. delbrueckii</i> spp. <i>lactis</i> H11	++	5,34
<i>L. delbrueckii</i> spp. <i>lactis</i> H12	++	11,99
<i>L. delbrueckii</i> spp. <i>lactis</i> H13	++	7,92
<i>L. delbrueckii</i> spp. <i>lactis</i> R8	++	3,00
<i>L. plantarum</i> H17	++	11,26
<i>L. plantarum</i> T1	-	-
<i>L. plantarum</i> H10	+	1,02
<i>L. jensenii</i> R11	++	4,55
<i>L. jensenii</i> R12	++	2,57
<i>L. salivarius</i> I1	-	-
<i>L. salivarius</i> S2	+	1,59

Çizelge 4.5. Devamı

Suşı Adı	TMB'li Ortamda H ₂ O ₂ Tespiti	Spektrofotometrik Metotla H ₂ O ₂ Tespiti (µg/ml)
<i>L. cellobiosus</i> L2	+	1,69
<i>L. cellobiosus</i> I3	++	7,65
<i>L. brevis</i> R2	+	3,00
<i>L. curvatus</i> L3	+	1,01
<i>L. oris</i> A2	-	-

++; Koyu mavi (H₂O₂ üretimi çok) + ; Açık mavi (H₂O₂ üretimi az) - ; Renk yok (H₂O₂ üretimi yok)

4.3. *Lactobacillus* spp. Suşlarının Bazı Patojen Mikroorganizmalar Üzerine İnhibisyon Etkisi

Vajinadan izole edilen *Lactobacillus* spp. suşlarının *P. aeruginosa* ATCC 29212, *S. aureus* ATCC 2392, *S. enteritidis* RSKK 171, *E. coli* ATCC 11230, *C. albicans* AJD 180 ve *C. albicans* ATCC 10239 üzerine genel inhibisyon etkileri belirlenmiş, suşların hiçbirinin *C. albicans* AJD 180 ve *C. albicans* ATCC 10239' a inhibisyon etkisi tespit edilmemiştir. Suşların diğer test bakterileri üzerindeki inhibisyon etkisi Çizelge 4.6.' da verilmiştir.

Çizelge 4.6. *Lactobacillus* spp. suşlarının test bakterileri üzerinde oluşturduğu inhibisyon zonunun çap değerleri (mm)

SUŞ ADI	TEST ORGANİZMALARI			
	<i>P.aeruginosa</i> ATCC 29212	<i>S.aureus</i> ATCC 2392	<i>S.enteritidis</i> RSKK 171	<i>E.coli</i> ATCC 11230
<i>L. gasseri</i> H14	7,50 ± 0,35	3,40 ± 0,40	6,80 ± 0,00	-
<i>L. gasseri</i> H15	6,60 ± 0,00	10,20 ± 0,00	5,90 ± 0,05	-
<i>L. gasseri</i> H16	-	4,20 ± 0,00	-	1,90 ± 0,80
<i>L. gasseri</i> I2	4,20 ± 0,00	6,90 ± 0,30	2,10 ± 0,00	-
<i>L. gasseri</i> F1	3,10 ± 0,55	-	4,00 ± 0,00	-
<i>L. gasseri</i> O2	-	-	-	-
<i>L. gasseri</i> R3	9,40 ± 0,70	4,90 ± 0,40	4,50 ± 0,20	1,60 ± 0,40
<i>L. gasseri</i> R4	4,80 ± 0,00	5,80 ± 0,40	6,70 ± 0,15	8,70 ± 0,50
<i>L. gasseri</i> R5	4,00 ± 0,00	6,00 ± 0,00	6,90 ± 0,05	6,60 ± 0,30
<i>L. gasseri</i> R7	4,70 ± 0,05	6,60 ± 0,50	3,50 ± 0,15	5,30 ± 0,10
<i>L. gasseri</i> R10	7,70 ± 0,25	-	5,10 ± 0,85	1,30 ± 0,00
<i>L. gasseri</i> L1	10,00 ± 0,00	-	6,50 ± 0,05	-
<i>L. acidophilus</i> A1	6,20 ± 0,05	3,90 ± 0,70	6,40 ± 0,00	-
<i>L. acidophilus</i> G6	8,80 ± 0,10	-	4,50 ± 0,45	1,60 ± 0,10
<i>L. acidophilus</i> G7	5,80 ± 0,30	-	3,20 ± 0,00	-
<i>L. acidophilus</i> G8	5,70 ± 0,35	-	4,40 ± 0,00	1,80 ± 0,20
<i>L. acidophilus</i> R1	10,90 ± 0,25	7,50 ± 0,10	4,70 ± 0,45	5,40 ± 0,30
<i>L. acidophilus</i> R6	4,30 ± 0,35	4,10 ± 0,10	2,60 ± 0,00	-
<i>L. acidophilus</i> I4	4,70 ± 0,55	10,00 ± 0,00	3,90 ± 0,35	4,40 ± 0,00
<i>L. acidophilus</i> R9	7,50 ± 0,45	-	5,20 ± 0,10	-
<i>L. acidophilus</i> G11	6,10 ± 0,35	-	5,20 ± 0,00	-
<i>L. vaginalis</i> H1	4,10 ± 0,45	6,10 ± 0,50	4,20 ± 0,10	-
<i>L. vaginalis</i> H2	3,10 ± 0,25	6,70 ± 0,30	-	2,00 ± 0,00
<i>L. vaginalis</i> H3	3,40 ± 0,00	4,90 ± 0,50	7,20 ± 0,40	-
<i>L. vaginalis</i> H4	4,00 ± 0,50	7,70 ± 0,70	5,70 ± 0,35	-

Çizelge 4.6. Devamı

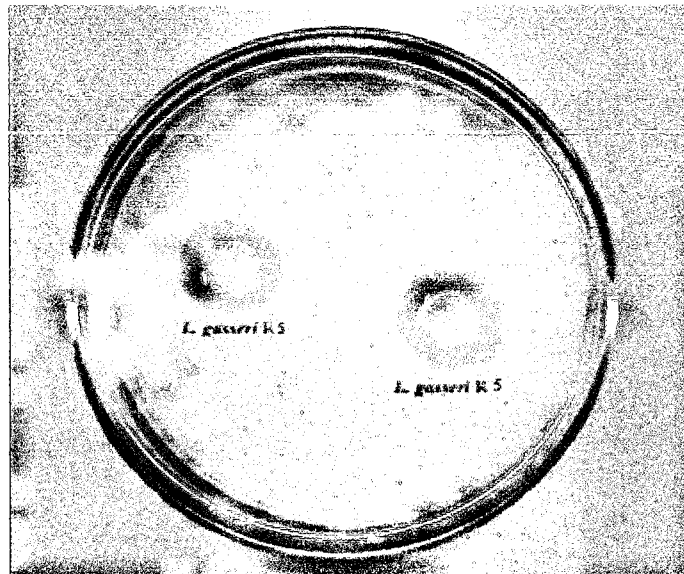
SUŞ ADI	TEST ORGANİZMALARI			
	<i>P.aeruginosa</i> ATCC 29212 (mm)	<i>S.aureus</i> ATCC 2392 (mm)	<i>S.enteritidis</i> RSKK 171 (mm)	<i>E.coli</i> ATCC 11230 (mm)
<i>L. vaginalis</i> H5	5,40 ± 0,00	5,30 ± 0,90	5,00 ± 0,00	2,50 ± 0,90
<i>L. vaginalis</i> H6	-	-	3,00 ± 0,00	-
<i>L. vaginalis</i> H7	4,20 ± 0,00	-	3,70 ± 0,15	1,60 ± 0,00
<i>L. vaginalis</i> H8	6,10 ± 0,25	4,10 ± 0,50	4,30 ± 0,15	-
<i>L. vaginalis</i> S1	-	-	-	-
<i>L. crispatus</i> G1	4,60 ± 0,20	6,90 ± 0,50	-	1,90 ± 0,40
<i>L. crispatus</i> G2	6,20 ± 0,10	5,00 ± 0,00	-	1,40 ± 0,20
<i>L. crispatus</i> G3	6,00 ± 0,20	-	-	1,50 ± 0,2
<i>L. crispatus</i> G5	8,30 ± 0,45	-	-	-
<i>L. crispatus</i> G9	4,50 ± 0,25	-	4,30 ± 0,05	2,90 ± 0,85
<i>L. crispatus</i> G10	4,30 ± 0,05	-	-	1,50 ± 0,10
<i>L. crispatus</i> G14	6,40 ± 0,00	7,20 ± 0,10	6,00 ± 0,00	2,30 ± 0,30
<i>L. crispatus</i> O3	4,20 ± 0,00	-	-	-
<i>L. delbrueckii</i> spp. <i>lactis</i> G4	7,10 ± 0,45	-	4,20 ± 0,00	2,30 ± 0,10
<i>L. delbrueckii</i> spp. <i>lactis</i> G12	5,40 ± 0,00	-	4,70 ± 0,25	-
<i>L. delbrueckii</i> spp. <i>lactis</i> G13	5,60 ± 0,30	5,30 ± 0,90	-	-
<i>L. delbrueckii</i> spp. <i>lactis</i> H9	-	5,40 ± 0,20	3,20 ± 0,00	1,70 ± 0,00
<i>L. delbrueckii</i> spp. <i>lactis</i> H11	7,10 ± 0,35	-	4,10 ± 0,15	-
<i>L. delbrueckii</i> spp. <i>lactis</i> H12	2,40 ± 0,00	-	-	-
<i>L. delbrueckii</i> spp. <i>lactis</i> H13	-	3,50 ± 0,30	-	-
<i>L. delbrueckii</i> spp. <i>lactis</i> R8	7,80 ± 0,30	-	6,10 ± 0,45	1,60 ± 0,10
<i>L. plantarum</i> H17	-	-	-	2,10 ± 0,10
<i>L. plantarum</i> T1	-	-	-	-
<i>L. plantarum</i> H10	4,10 ± 0,05	3,70 ± 0,10	3,80 ± 0,30	1,50 ± 0,00
<i>L. jensenii</i> R11	7,90 ± 0,35	-	4,80 ± 0,00	-
<i>L. jensenii</i> R12	10,20 ± 0,40	-	7,20 ± 0,00	-

Çizelge 4.6. Devamı

SUŞ ADI	TEST ORGANİZMALARI			
	<i>P.aeruginosa</i> ATCC 29212 (mm)	<i>S.aureus</i> ATCC 2392 (mm)	<i>S.enteritidis</i> RSKK 171 (mm)	<i>E.coli</i> ATCC 11230 (mm)
<i>L. salivarius</i> I1	4,60 ± 0,00	4,20 ± 0,00	-	-
<i>L. salivarius</i> S2	-	-	-	-
<i>L. cellobiosus</i> L2	6,00 ± 0,00	-	9,50 ± 0,55	-
<i>L. cellobiosus</i> I3	4,60 ± 0,00	8,90 ± 0,30	2,60 ± 0,00	-
<i>L. brevis</i> R2	11,30 ± 0,45	5,80 ± 0,00	3,50 ± 0,15	4,10 ± 0,10
<i>L. curvatus</i> L3	5,00 ± 0,00	-	8,80 ± 0,00	-
<i>L.oris</i> A2	4,60 ± 0,30	-	6,40 ± 0,00	-

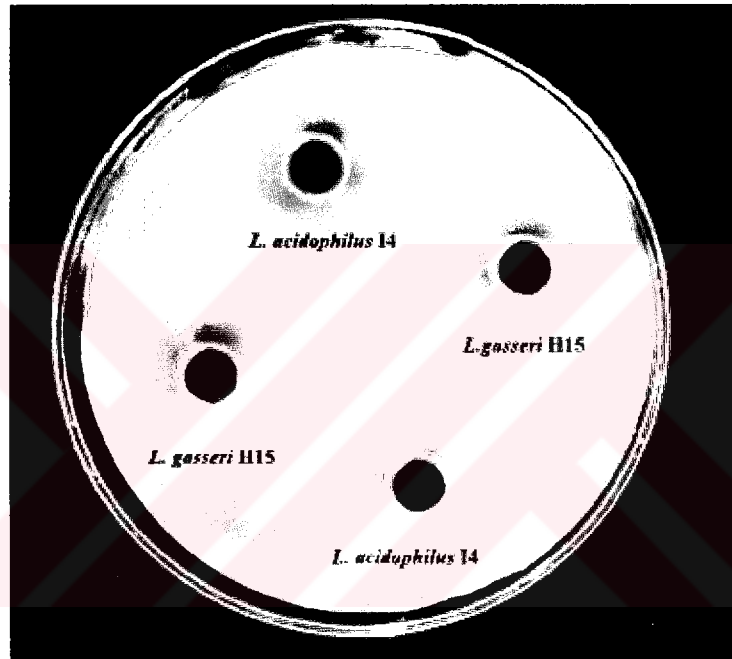
-; İnhibisyon yoktur

Lactobacillus spp. suşlarının %85' i *P. aeruginosa* ATCC 29212 suşu üzerine inhibisyon etkisi gösterdiği belirlenmiştir. *Lactobacillus* spp. suşlarından en yüksek inhibisyon etkisini, 11,30 mm zon çapı oluşturan *L. brevis* R2 suşunda gözlenmiştir (Çizelge 4.6.). Resim 4.5.' de *L. gasseri* R5 suşunun *P. aeruginosa* ATCC 29212 suşu üzerine oluşturduğu inhibisyon zonları görülmektedir (4,00 mm).



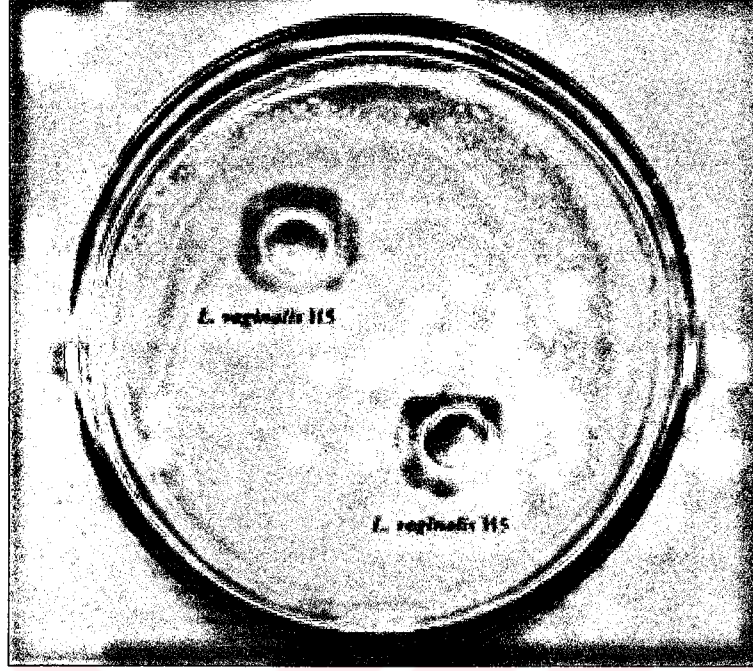
Resim 4.5. *P. aeruginosa* ATCC 29212 suşu üzerine *L. gasseri* R5 suşunun oluşturduğu inhibisyonlar

Lactobacillus spp. suşlarının %48' inin *S. aureus* ATCC 2392 suşu üzerine inhibisyon etkisi gözlenmiştir. *S. aureus* ATCC 2392 test bakterisi üzerine *Lactobacillus* spp. suşlarından en yüksek inhibisyon etkisini *L. gasseri* H15 (10,20 mm) ve *L. acidophilus* I4 (10,00 mm) suşları olduğu gözlenmiştir (Çizelge 4.6.). Resim 4.6.' da *S. aureus* ATCC 2392 suşu üzerine en yüksek inhibisyon etkisi gösteren *L. gasseri* H15 ve *L. acidophilus* I4 suşlarının oluşturduğu zonlar verilmiştir (10.20 –10.00 mm).



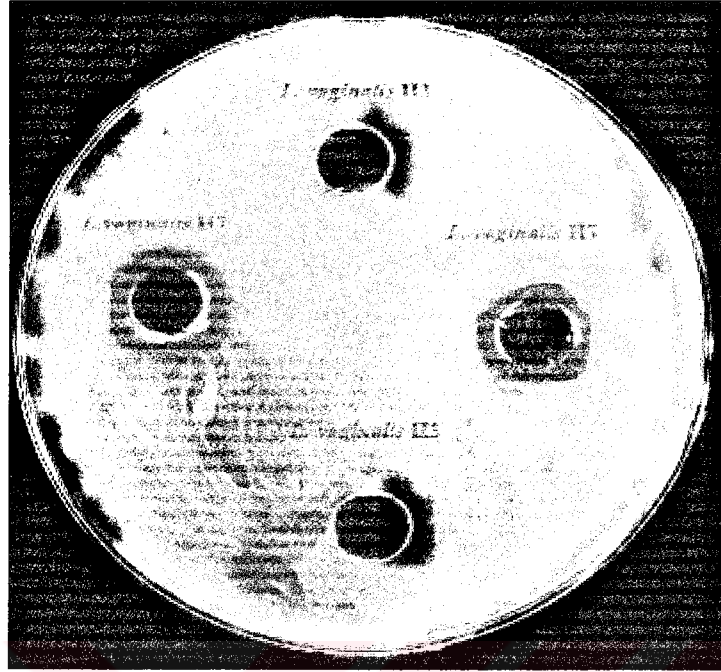
Resim 4.6. *S. aureus* ATCC 2392 suşu üzerine *L. gasseri* H15 ve *L. acidophilus* I4 suşlarının oluşturduğu inhibisyon zonları

Lactobacillus spp. suşlarının %71' inin *S. enteritidis* RSKK 171 suşu üzerine inhibisyon etkisi gözlenmiştir. *S. enteritidis* RSKK 171 test bakterisi üzerine *Lactobacillus* spp. suşlarından en yüksek inhibisyon etkisini *L. cellobiosus* L2 (9,50 mm) ve *L. curvatus* L3 (8,80 mm) suşlarında gözlenmiştir (Çizelge 4.6.). Resim 4.7.' da *S. enteritidis* RSKK 171 suşu üzerine *L. vaginalis* H5 suşunun oluşturduğu inhibisyon zonları verilmiştir (5,00 mm).



Resim 4.7. *S. enteritidis* RSKK 171 suşu üzerine *L. vaginalis* H5 suşunun oluşturduğu inhibisyon zonları

Lactobacillus spp. suşlarının %43' ü *E. coli* ATCC 11230 suşu üzerine inhibisyon etkisi göstermiştir. *E. coli* ATCC 11230 test bakterisi üzerine *Lactobacillus* spp. suşlarından en yüksek inhibisyon etkisi *L. gasseri* R4 (8,70 mm) ve *L. gasseri* R5 (6,60 mm) suşlarında gözlenmiştir (Çizelge 4.6.). Resim 4.8.' de *E. coli* ATCC 11230 suşu üzerine *L. vaginalis* H3 suşunun inhibisyon etkisi gösterememesi ve *L. vaginalis* H7 suşunun oluşturduğu inhibisyon etkisi görülmektedir (1,60 mm).



Resim 4.8. *E. coli* ATCC 11230 suşu üzerine *L. vaginalis* H3 ve *L. vaginalis* H7 suşlarının inhibisyon zonları

4.4. Bakteriyosin Üretimi

Vajinadan izole edilen *Lactobacillus* spp. suşlarının bakteriyosin etkileri *P. aeruginosa* ATCC 29212, *S. aureus* ATCC 2392, *S. enteritidis* RSKK 171, *E. coli* ATCC 11230, *C. albicans* AJD 180 ve *C. albicans* ATCC 10239 mikroorganizmaları üzerinde denenmiş, suşların bakteriyosin etkisi göstermediği tespit edilmiştir.

4.5. *Lactobacillus* spp. Suşlarının Antibiyotik Duyarlılık Testi

Vajinadan izole edilen *Lactobacillus* türlerinin amoksisilin (25 µg), azitromisin (15 µg), kloramfenikol (30 µg), teikoplanin (30 µg), siprofloksasin (5 µg), klaritromisin (15 µg), streptomisin (10 µg) ve tetrasiklin (30 µg) antibiyotiklerine duyarlılıkları, NCCLS kriterlerine göre değerlendirilmiştir. Duyarlılık sonuçları ve % duyarlılık oranları Çizelge 4.7. ve Çizelge 4.8.' de verilmiştir. *L. acidophilus* G11, *L. vaginalis* S1, *L. plantarum* T1 ve *L. salivarius* S2 suşlarının genelde kullandığımız

antibiyotiklere dirençli olduğu görölmüştür. *L. gasseri* R5 suşunu antibiyotiklere duyarlılık test sonucu Resim 4.9' da verilmiştir.

Araştırmalar sonucunda tüm *Lactobacillus* türlerinin siprofloksasin (%98) ve streptomisin (%93) antibiyotiklerine dirençli olduğu, en en yüksek duyarlılığı ise, klaritromisin (%95) ve tetrasiklin (%88) antibiyotiklerine olduğu tespit edilmiştir.



Çizelge 4.7. Vajinadan izole edilen *Lactobacillus* spp. suşlarının antibiyotiklere gösterdiği duyarlılık test sonuçları

SUŞ ADI	AX	AZM	C	TEC	CIP	CLR	S	TE
<i>L. gasseri</i> H14	+	+	++	++	-	++	+	++
<i>L. gasseri</i> H15	+	+	++	+	-	++	-	++
<i>L. gasseri</i> H16	-	+	-	+	-	++	-	++
<i>L. gasseri</i> I2	+	++	++	++	-	++	+	++
<i>L. gasseri</i> F1	+	++	++	++	-	++	-	++
<i>L. gasseri</i> O2	-	++	+	++	-	++	-	++
<i>L. gasseri</i> R3	+	++	++	++	-	++	-	++
<i>L. gasseri</i> R4	-	-	++	-	-	++	-	+
<i>L. gasseri</i> R5	+	++	++	+	-	++	-	++
<i>L. gasseri</i> R7	+	+	++	++	-	++	-	++
<i>L. gasseri</i> R10	-	++	++	++	-	++	-	++
<i>L. gasseri</i> L1	+	++	++	++	-	++	-	++
<i>L. acidophilus</i> A1	-	++	++	++	-	++	-	++
<i>L. acidophilus</i> G6	++	+	++	++	-	++	-	++
<i>L. acidophilus</i> G7	+	++	++	++	-	++	-	++
<i>L. acidophilus</i> G8	+	+	-	+	-	++	+	++
<i>L. acidophilus</i> R1	-	++	++	+	-	++	-	++
<i>L. acidophilus</i> R6	-	++	++	+	-	++	-	++
<i>L. acidophilus</i> I4	-	-	++	-	-	++	-	++
<i>L. acidophilus</i> R9	-	++	++	++	-	++	-	++
<i>L. acidophilus</i> G11	+	-	+	-	-	+	-	-
<i>L. vaginalis</i> H1	-	+	+	+	-	++	-	++
<i>L. vaginalis</i> H2	-	++	+	++	-	++	-	+
<i>L. vaginalis</i> H3	+	++	++	++	-	++	-	+
<i>L. vaginalis</i> H4	++	+	++	++	-	++	-	++
<i>L. vaginalis</i> H5	+	++	++	-	-	++	-	++
<i>L. vaginalis</i> H6	-	++	+	++	-	++	-	++

Çizelge 4.7. Devamı

SUŞ ADI	AX	AZM	C	TEC	CIP	CLR	S	TE
<i>L. vaginalis</i> H7	-	++	++	+	++	++	-	++
<i>L. vaginalis</i> H8	+	-	+	++	-	++	-	++
<i>L. vaginalis</i> S1	-	-	+	+	-	+	-	+
<i>L. crispatus</i> G1	++	++	++	++	-	++	-	++
<i>L. crispatus</i> G2	+	++	++	++	-	++	-	++
<i>L. crispatus</i> G3	-	++	+	+	-	++	-	++
<i>L. crispatus</i> G5	++	++	++	++	-	++	-	++
<i>L. crispatus</i> G9	+	++	+	+	-	++	-	++
<i>L. crispatus</i> G10	++	+	++	++	-	++	-	++
<i>L. crispatus</i> G14	+	++	++	+	-	++	-	++
<i>L. crispatus</i> O3	+	++	++	++	-	++	-	++
<i>L. delbrueckii</i> spp. <i>lactis</i> G4	++	++	++	++	-	++	-	++
<i>L. delbrueckii</i> spp. <i>lactis</i> G12	+	++	++	++	-	++	-	++
<i>L. delbrueckii</i> spp. <i>lactis</i> G13	-	++	++	+	-	++	-	++
<i>L. delbrueckii</i> spp. <i>lactis</i> H9	++	++	++	+	-	++	-	++
<i>L. delbrueckii</i> spp. <i>lactis</i> H11	+	++	++	+	-	++	-	++
<i>L. delbrueckii</i> spp. <i>lactis</i> H12	-	+	+	-	-	++	-	-
<i>L. delbrueckii</i> spp. <i>lactis</i> H13	-	++	++	+	-	++	-	++
<i>L. delbrueckii</i> spp. <i>lactis</i> R8	++	++	++	++	-	++	-	++
<i>L. plantarum</i> H17	-	+	++	+	-	++	-	++
<i>L. plantarum</i> T1	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>L. plantarum</i> H10	-	++	++	+	-	++	-	++
<i>L. jensenii</i> R11	-	+	+	++	-	++	-	++
<i>L. jensenii</i> R12	-	++	++	++	-	++	-	++
<i>L. salivarius</i> I1	++	++	++	+	-	++	-	++
<i>L. salivarius</i> S2	-	-	+	+	-	-	-	-
<i>L. cellobiosus</i> L2	-	+	++	-	-	++	-	++
<i>L. cellobiosus</i> I3	+	++	++	+	-	++	-	++

Çizelge 4.7. Devamı

SUŞ ADI	AX	AZM	C	TEC	CIP	CLR	S	TE
<i>L. brevis</i> R2	+	++	++	++	-	++	-	++
<i>L. curvatus</i> L3	+	++	++	++	-	++	-	++
<i>L. oris</i> A2	-	+	++	++	-	++	-	++

AX : Amoksisilin

CIP : Siprofloksasin

+ : Orta Derecede Duyarlı

CLR : Klaritromisin

AZM : Azitromisin

++ : Duyarlı

S : Streptomisin

C : Kloramfenikol

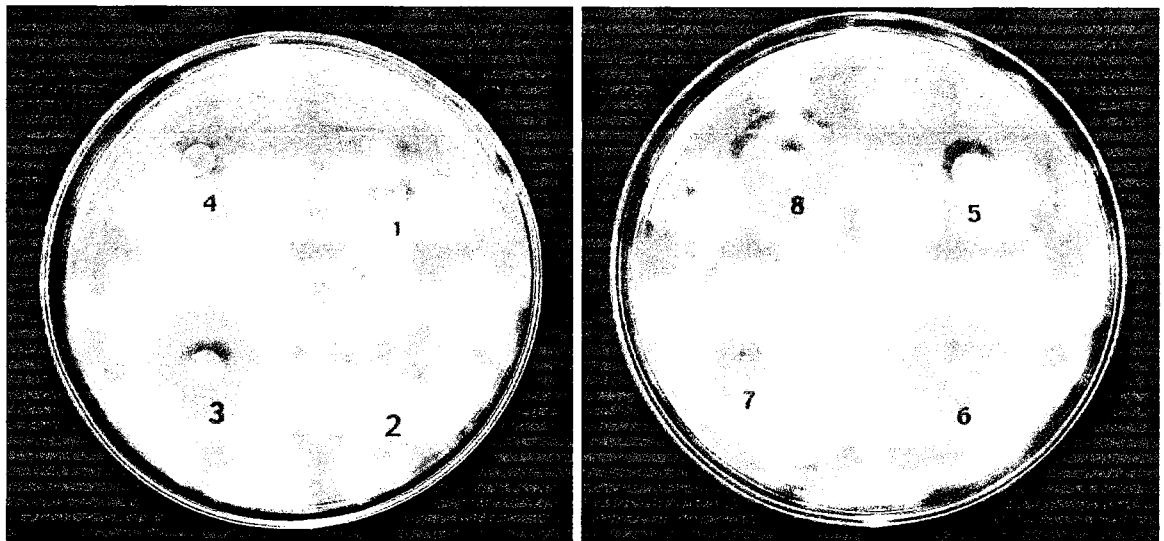
- : Dirençli

TEC : Teikoplanin

TE : Tetrasiklin

Çizelge 4.8. *Lactobacillus* spp. suşlarının antibiyotiklere gösterdiği % duyarlılık oranları

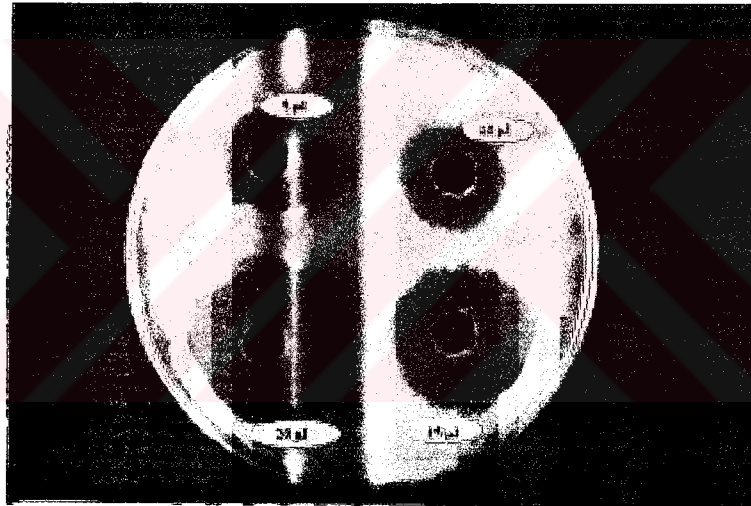
Antibiyotik Adı	Duyarlı	Dirençli	Orta Derecede Duyarlı duyarlı
Amoksisilin	17	45	38
Azitromisin	66	10	24
Kloramfenikol	76	5	19
Teikoplanin	52	10	38
Siprofloksasin	2	98	0
Klaritromisin	95	3	2
Streptomisin	0	93	7
Tetrasiklin	88	5	7

Resim 4.9. *L. vaginalis* H5 suşunu antibiyotiklere duyarlılık test sonucu

1: Amoksisilin, 2: Azitromisin, 3. Kloramfenikol, 4: Teikoplanin,
5. Siprofloksasin, 6: Klaritromisin, 7: Streptomisin, 8: Tetrasiklin

4.6. Antifungal İlaçların MIC Sınırlarının Belirlenmesi

C. albicans AJD 180 için izokonazol ve oksikonazol'un 0,02; 0,05; 0,075; 0,1; 0,125; 0,15 ve 0,2 µg/ml konsantrasyonlarında makrodilüsyon test metoduna göre izokonazol ve oksikonazol antifungalleri için MİK sınır değeri tespit edilmiştir. Buna göre, her iki antifungal ilacın da inhibisyon etkisinin olduğu tespit edilmiştir. Bu antifungal ilaçların MİK sınır değeri izokonazol için 0,1µg/ml, oksikonazol için 0,075 µg/ml olarak tespit edilmiştir. Resim 4.10.' da izokonazol'un farklı konsantrasyonlarının (0,2; 0,15; 0,1 ve 0,05µg/ml) *C. albicans* AJD 180 suşu üzerindeki etkisi görülmektedir.



Resim 4.10. *C. albicans* AJD 180' e izokonazol antifungal ilacının farklı konsantrasyonlardaki (5µ: 0,05µg/ml, 10µ: 0,1µg/ml, 15µ: 0,15µg/ml ve 20µ: 0,2µg/ml) inhibisyonik etkisi

4.7. *Lactobacillus* spp. Suşlarının Antifungal Duyarlılık Testi

C. albicans AJD 180 mikroorganizması üzerinde oksikonazol ve izokonazol antifungal ilaçlarının belirlenen MİK sınırları ve bu sınırların üzerindeki konsantrasyonları (0,2; 0,1 ve 0,05 µg/ml) *Lactobacillus* spp. izolatları üzerindeki inhibisyon etkisi belirlenmiştir (Çizelge 4.9.). *L. gasseri* H14 ve *L. delbrueckii* spp. *lactis* H13 suşlarının her iki antifungal ilaçtan çok fazla etkilenmediği belirlenmiştir.

Oksikonazol antifungal ilacının *L. cellobiosus* L2 izolatı üzerindeki en düşük ve en yüksek konsantrasyonlarının (5: 0,05µg/ml, 10: 0,1µg/ml ve 20: 0,2µg/ml) inhibisyonik etkisi Resim 4.11.' de görülmektedir.



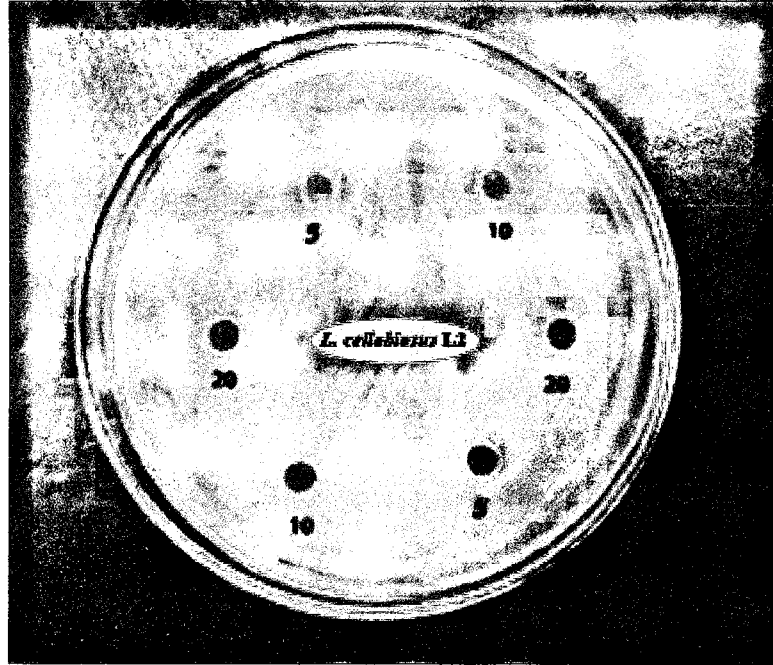
Çizelge 4.9. Antifungal ilaçların *C. albicans* AJD 180 ve *Lactobacillus* spp. suşları üzerinde gösterdiği inhibisyonik etki

Suş Adı	Kullanılan Antifungal İlaçlar					
	İzokonazol			Oksikonazol		
	0,2 µg/ml	0,1 µg/ml	0,05 µg/ml	0,2 µg/ml	0,1 µg/ml	0,05 µg/ml
<i>C. albicans</i> (AJD180)	++++	+++	+++	++++	++++	+++
<i>L. gasseri</i> H14	+	+	-	-	-	-
<i>L. gasseri</i> H15	+	+	+	-	-	-
<i>L. gasseri</i> H16	++	+	+	-	-	-
<i>L. gasseri</i> I2	++	+	+	-	-	-
<i>L. gasseri</i> F1	++	+	+	+	+	+
<i>L. gasseri</i> O2	+	+	+	-	-	-
<i>L. gasseri</i> R3	++	++	+	+	-	-
<i>L. gasseri</i> R4	+	+	+	-	-	-
<i>L. gasseri</i> R5	+	+	+	-	-	-
<i>L. gasseri</i> R7	++	++	+	-	-	-
<i>L. gasseri</i> R10	+	+	+	-	-	-
<i>L. gasseri</i> L1	+	+	+	-	-	-
<i>L. acidophilus</i> A1	++	+	-	-	-	-
<i>L. acidophilus</i> G6	+	+	+	-	-	-
<i>L. acidophilus</i> G7	+	+	+	+	+	+
<i>L. acidophilus</i> G8	+	++	+	-	-	-
<i>L. acidophilus</i> R1	+	+	+	+	-	-
<i>L. acidophilus</i> R6	+	+	+	-	-	-
<i>L. acidophilus</i> I4	++	+	+	-	-	-
<i>L. acidophilus</i> R9	+	+	+	+	+	+
<i>L. acidophilus</i> G11	++	++	+	+	+	-
<i>L. vaginalis</i> H1	+++	++	++	-	-	-
<i>L. vaginalis</i> H2	++	++	+	-	-	-
<i>L. vaginalis</i> H3	++	++	++	-	-	-
<i>L. vaginalis</i> H4	++	++	+	-	-	-
<i>L. vaginalis</i> H5	++	++	+	-	-	-
<i>L. vaginalis</i> H6	+	+	+	-	-	-
<i>L. vaginalis</i> H7	++	++	+	++	++	-

Çizelge 4.9. Devamı

Suş Adı	Kullanılan Antifungal İlaçlar					
	İzokonazol			Oksikonazol		
	0,2 µg/ml	0,1 µg/ml	0,05 µg/ml	0,2 µg/ml	0,1 µg/ml	0,05 µg/ml
<i>L. vaginalis</i> H8	+	+	+	+	+	-
<i>L. vaginalis</i> S1	++	+	-	-	-	-
<i>L. crispatus</i> G1	+++	++	++	-	-	-
<i>L. crispatus</i> G2	++	++	+	-	-	-
<i>L. crispatus</i> G3	++	++	++	-	-	-
<i>L. crispatus</i> G5	+++	++	++	-	-	-
<i>L. crispatus</i> G9	++	+	+	-	-	-
<i>L. crispatus</i> G10	++	+	+	+	+	+
<i>L. crispatus</i> G14	++	++	+	+	+	+
<i>L. crispatus</i> O3	++	++	+	-	-	-
<i>L. delbrueckii</i> spp.lactis G4	++	++	++	-	-	-
<i>L. delbrueckii</i> spp.lactis G12	++	++	++	+	+	+
<i>L. delbrueckii</i> spp.lactis G13	+	+	+	+	-	-
<i>L. delbrueckii</i> spp.lactis H9	+	+	+	-	-	-
<i>L. delbrueckii</i> spp.lactis H11	+	+	+	+	+	-
<i>L. delbrueckii</i> spp.lactis H12	++	+	+	-	-	-
<i>L. delbrueckii</i> spp.lactis H13	+	+	-	-	-	-
<i>L. delbrueckii</i> spp.lactis R8	+	+	+	+	+	+
<i>L. plantarum</i> H17	+	+	+	-	-	-
<i>L. plantarum</i> T1	++	++	++	-	-	-
<i>L. plantarum</i> H10	++	++	-	-	-	-
<i>L. jensenii</i> R11	++	+	+	-	-	-
<i>L. jensenii</i> R12	++	+	+	-	-	-
<i>L. salivarius</i> I1	++	+	+	+	-	-
<i>L. salivarius</i> S2	++	++	+	-	-	-
<i>L. cellobiosus</i> L2	++	+	+	+	+	+
<i>L. cellobiosus</i> I3	+	+	+	-	-	-
<i>L. brevis</i> R2	++	++	++	-	-	-
<i>L. curvatus</i> L3	+	+	+	-	-	-
<i>L.oris</i> A2	++	+	+	+	+	+

++++:17mm ve üzeri zon çapı ++ :6-10 mm zon çapı - : Zon görülmedi
 +++ :11-16mm zon çapı + :1-5mm zon çapı



Resim 4.11. Oksikonazol antifungal ilacının *L. cellobiosus* L2 suşu üzerindeki en düşük ve en yüksek konsantrasyonlarının (5: 0,05 µg/ml, 10: 0,1 µg/ml ve 20: 0,2 µg/ml) inhibisyonik etkisi

Hem izokonazol, hem de oksikonazol'un üç farklı konsantrasyonu da (0,2; 0,1 ve 0,05 µg/ml) *C. albicans* AJD 180 üzerinde benzer ve yüksek inhibisyon etkisi göstermesine karşın, oksikonazol'ün *Lactobacillus* cinsi bakteri türlerini daha az etkilediği hatta bazı suşları etkilemediği bulunmuştur.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Laktik asit bakterilerinin gastrointestinal sistemde yararlı etkileri ile ilgili bir çok kaynak bulunmaktadır. Laktik asit bakterilerinin kadın ürogenital sisteminde probiyotik olarak kullanımı ile ilgili çok fazla kaynağa rastlanmamıştır. Günümüzde kadın ürogenital sistem enfeksiyonlarında koruyucu ve tedavi amaçlı olarak antimikrobiyal ilaçlar kullanılmaktadır. Son zamanlarda, kadın ürogenital sistem enfeksiyonlarında, koruyucu ve tedavi amaçlı olarak, insan kaynaklı seçilen laktik asit bakterilerinin probiyotik amaçlı kullanımı ile ilgili çalışmalara ağırlık verilmektedir (8).

Dünyada, *L. acidophilus* cinsi bakteri içeren ilaçlar vajina içine uygulanarak kullanılmaktadır. Ancak, bu ilaçların içerisindeki bakterinin insan kaynaklı olup-olmadığına ve bu ilaç içerisindeki bakterinin probiyotik olması gereken özelliklerin araştırıldığına dair bilgilere ulaşamamıştır. Bu nedenlerden dolayı vajina içerisine uygulanan bu ilaçların ne kadar faydalı olabilecekleri bilinmemektedir.

Yaptığımız çalışma sonucunda; 58 adet *Lactobacillus* spp. suşu izole edilmiş ve 12 farklı *Lactobacillus* spp. tanımlanmıştır. Vajinadan izole edilen suşların türlere göre dağılımı 12 adet *L. gasseri* (%20), 9 adet *L. acidophilus* (%16), 9 adet *L. vaginalis* (%16), 8 adet *L. crispatus* (%14), 8 adet *L. delbrueckii* spp. *lactis* (%14), 3 adet *L. plantarum* (%5), 2 adet *L. jensenii* (%3), 2 adet *L. salivarius* (%3), 2 adet *L. cellobiosus* (%3), 1 adet *L. brevis* (%2), 1 adet *L. curvatus* (%2) ve 1 adet *L. oris* (%2) olarak tespit edilmiştir (Bkz. Çizelge 4.2 ve Şekil 4.1). Hasta özelliklerine göre izole edilen tür sayısı Çizelge 4.1.' de verilmiştir.

Sonuçlarımızda vajinal florada en yaygın *Lactobacillus* türleri, *L. gasseri* (%20), *L. acidophilus* (%16), *L. vaginalis* (%16) olarak belirlenmiştir. 1960 ve 1969 yılında yapılan vajinada ilk izolasyon çalışmalarında en yaygın türler olarak *L. acidophilus*, *L. fermentum* ve *L. plantarum*' un sıklıkla vajinada bulunduğu bildirilmiştir (81, 82). Vajinadan izolasyon ve identifikasyon ile ilgili yapılan bir başka çalışmada da; *L. acidophilus* ve *L. jensenii*, türleri en yaygın olarak belirlenmiştir (83). Reid ve

arkadaşları, 100 sağlıklı kadın vajinasında yaptıkları izolasyonlarda *L. jensenii* (%35) *L. acidophilus* (%24), *L. casei* (%18) ve *L. gasseri* (%13), türlerini tanımlamıştır (25). Araştırmacılar 1999 yılında, 215 seksüel açıdan aktif olan kadınların vajinasından izole ettikleri *Lactobacillus* suşlarının identifikasyon testleri sonucunda, *L. crispatus* (%32) ve *L. jensenii* (%23) türlerinin baskın olduğunu belirlerken, Charteris ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada da *L. acidophilus*, *L. fermentum*, *L. plantarum*, türleri başta egemen olarak bulunmakla birlikte *L. vaginalis*, *L. leichmanii*, *L. rhamnosus*, *L. minutus*, *L. cateniformis*, *L. gasseri*, *L. salivarius* spp. *salivarius* ve *L. salivarius* spp. *salicinius* gibi farklı türlerde *Lactobacillus* izole etmişlerdir. *L. vaginalis* yeni bir tür olarak vajinadan izole edilmiştir (64, 8).

Bir çok araştırmacının sonucun da vajinal florada birinci derecede baskın olan türün *L. acidophilus* olduğu belirlenmiştir. Çalışmamızda birinci derecede baskın olan tür *L. gasseri* belirlenirken, ikinci dereceden de *L. acidophilus* ve *L. vaginalis* türleri tanımlanmıştır. Araştırmacıların sonuçlarında da *L. gasseri*'nin birinci veya ikinci dereceden vajen florasına hakim olduğu bildirilmekle birlikte *L. vaginalis*'e çok yaygın olarak rastlanılmamıştır (73, 2, 8). Bu tür fenotipik olarak *L. fermentum* ve *L. reuteri*'ye benzerken genotipik olarak *L. oris* ve *L. reuteri* ile yakından ilişkili olduğu belirlenmiştir (8). Çalışmamızda vajen florasında tanımlanan *Lactobacillus* türleri kaynaklarda belirtilen türlerle benzerlik göstermekle birlikte, bu türlerin oranlarında farklılık gözlenmektedir. Bunun nedeninin de, vajinal flora üyelerinin yaşa, ırka, coğrafik konuma, kullanılan ilaçlara, kişinin sağlık durumuna ve hatta kişiden kişiye farklılık göstermesinin sebep olduğunu düşünmekteyiz (73).

Menopoz öncesi dönemde bulunan hastalarda yaptığımız çalışmada; *L. gasseri*, *L. acidophilus*, *L. vaginalis*, *L. crispatus*, *L. delbrueckii* spp. *lactis*, *L. plantarum*, *L. jensenii*, *L. salivarius*, *L. cellobiosus*, *L. brevis*, *L. curvatus* ve *L. oris* olmak üzere 12 farklı tür izole edilmiştir. Menopoz öncesi dönemde vajinanın asidik özellikte olması *Lactobacillus* spp. daha iyi gelişmesini sağladığından bu durum bir çok farklı türün izolasyonuna imkan sağlamaktadır. Charteris ve arkadaşları, menopoz öncesi dönemdeki hastaların genital bölgelerinden yaptıkları izolasyonda, *L. acidophilus*, *L. fermentum*, *L. plantarum*, *L. brevis*, *L. jensenii*, *L. casei*, *L. cellobiosus*, *L. crispatus*,

L. vaginalis, *L. leichmanii*, *L. rhamnosus*, *L. mirutus*, *L. catenaformis*, *L. gasseri*, *L. salivarius* spp. *salivarius* ve *L. salivarius* spp. *salicinius* olmak üzere 15 farklı *Lactobacillus* spp. izole etmişlerdir (8).

Gebelik döneminde bulunan iki hastanın (R ve C kodlu) yalnızca birinden (R kodlu) izolasyon yapılabilmektedir. Bu hastadan *L. gasseri* (5), *L. acidophilus* (3), *L. delbrueckii* spp. *lactis* (1), *L. jensenii* (2), *L. brevis* (1) olmak üzere 5 farklı tür izole edilmiştir. Gebelik esnasında vajinanın glikojen içeriği ve laktik asit konsantrasyonu aside toleransı olan mikroorganizmalar için seçici olmaktadır. Bu nedenle *Lactobacillus*' ların, gebelik esnasında vajinadan daha sık ve yüksek sayılarda izole edildiği bildirilmiştir (8).

Menopoz döneminde bulunan iki hastadan (O ve F kodlu) yalnızca iki farklı tür *L. crispatus* (1) ve *L. gasseri* (2) izole edilebilmiştir. Menopoz döneminde *Lactobacillus*' ların sayılarının azaldığı ve hatta ileriki zamanlarda tamamen kaybolabildiği bilinmektedir. Hormon tedavisiyle yapılan östrojen takviyesi nedeniyle menopoz sonrasında da *Lactobacillus*' ların egemen olabildiği bildirilmektedir (8). Bu nedenle sonucumuz bu fikirle uyum göstermektedir.

Sağlıklı bir kadının vajinasının pH' sı 4,0-4,5 olarak bulunmuştur bu asitlik sayesinde patojen mikroorganizmalara ve seksüel yolla bulaşan hastalıklara bir engel oluşturduğu hatta AIDS hastalığı etkeni olan HIV virüsünü dahi inhibe edebildiği düşünülmektedir (4). Vajinanın bu asitliğinin laktik asit bakterilerinin metabolizmaları sırasında östrojen varlığında depolanan, glikojenin parçalanmasıyla açığa çıkan laktik asitten kaynaklandığı görüşleri vardır. (19, 2, 4).

Çalışmamızda *Lactobacillus* spp.' lerin 24 saatlik gelişme süresi sonunda belirlenen son kültür pH' sı da 1,00-2,15 arasında değiştiği belirlenmiştir. Bu sonuçlara göre 24 saatlik gelişme süresi sonunda kuvvetli asit ürettikleri görülmektedir.

Vajinadan izole edilen *Lactobacillus* spp. suşlarının 24 saatlik kültürlerinin titre edilebilir yüzde asitlik miktarları %0,27, %1,17, %1,33 (sırasıyla, *L. plantarum* T1

L. gasseri R4 ve *L. gasseri* R1 suşları) arasında değerler bulunmuştur. Genellikle, *L. gasseri*, *L. acidophilus* ve *L. brevis* suşlarının yüzde asitliklerinin yüksek olduğu dikkatimizi çekmiştir. Hastalar arasında değerlendirme yaptığımızda ise genellikle R kodlu hastadan izole edilmiş *Lactobacillus* izolatlarının daha yüksek asit üretimine sahip oldukları belirlenmiştir. R kodlu hastanın gebe olduğu bilinmektedir. Gebelik döneminde östrojen düzeyinin artmasıyla birlikte *Lactobacillus* cinsi bakterilerin de aktivitelerinin arttığı bildirilmiştir (8, 84). Bu nedenle asit üretimlerinin yüksek olması literatür bilgileri ile paralellik göstermektedir.

1997 yılında kefirde izole edilen *Lactobacillus* suşlarının 24 saatlik kültürlerinin titre edilebilir yüzde asitlik miktarı %0,17-1,14 arasında belirlenirken, 2001 yılında vajinal izolat olan 22 *Lactobacillus* türünde yapılmış bir çalışma sonucunda da laktik asit düzeyleri 0,68-2,518 mg/ml olarak bulunmuştur (85, 5). Kefirden izole edilen *Lactobacillus* suşlarının yüzde asit üretimleri bizim sonuçlarımıza göre düşük bulunmuştur. Vajinal izolat olan 22 *Lactobacillus* türünde tespit edilen asit düzeylerinin bizim sonuçlarımızdan daha yüksek olduğu görülmektedir. Bunun nedeninin de; *Lactobacillus* suşlarının asit üretimlerinin farklı kaynaklardan ve ortamlardan etkilenmesi olduğu düşüncesindeyiz.

Vajinadan izole edilen *Lactobacillus* spp. suşlarının hidrojen peroksit üretim miktarları hem spektrofotometrik hem de TMB agar üzerinde nitel olarak belirlenmiştir. Spektrofotometrik olarak 58 adet *Lactobacillus* spp. suşlarının 23 adetinde hidrojen peroksit üretimi tespit edilememiştir. 35 adetinde hidrojen peroksit üretim miktarları 1,01 (*L. curvatus* L3) -15,50 µg/ml (*L. vaginalis* H5) arasında bulunmuştur. TMB agar üzerinde nitel olarak suşların hidrojen peroksit üretimleri mavi renk oluşumuna göre değerlendirilmiş olup suşların % 41' i ++ (H_2O_2 üretimi yüksek), % 19' u + (H_2O_2 üretimi orta düzeyde), % 40' ı – (H_2O_2 üretimi tespit edilemedi), bulunmuştur (Çizelge 4.5.). Song ve arkadaşları, vajinal izolatların %60' ının H_2O_2 üretiminin yüksek olduğunu, %8' inin ise H_2O_2 üretmediğini tespit ederken, başka araştırmacılar da, vajinadan izole ettikleri suşların %50' sinin H_2O_2 üretiminin yüksek olduğunu, %30' unun H_2O_2 üretmediğini tespit etmişlerdir (73, 86). Çalışmamızda *Lactobacillus* spp. suşlarının H_2O_2 üretim oranlarının, diğer

araştırmacıların belirledikleri H_2O_2 üretim oranlarından daha düşük olduğu dikkatimizi çekmiştir. *Lactobacillus* spp. suşlarının H_2O_2 üretim miktarlarındaki farklılıkların sebebi olarak iki etkenin varlığı düşünülmüştür. Yapılan bir çalışmada; bakteri enfeksiyonu görülen kadınların vajinasından izole edilen *Lactobacillus* suşlarının H_2O_2 üretim miktarlarının düşük, bakteri enfeksiyonu görülmeyen kadınlarda ise yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu nedenle bakteri enfeksiyonunun H_2O_2 üretimini etkilediği düşünülmektedir (73). İkinci bir etkenin de, *Lactobacillus* spp. suşlarının hidrojen peroksit üretimleri sırasında, oksijen oksidoredüktaz aktivitelerinin farklılığı olduğu bildirilmiştir. Bu enzimin aktivitesinin de bakterinin bulunduğu ortamdan etkilendiği bilinmektedir (75).

Farklı iki metotla belirlenen *Lactobacillus* spp. izolatlarının hidrojen peroksit üretim sonuçlarının benzerlik gösterdikleri tespit edilmiştir. Bu sonuca göre her iki metodun güvenilirliği test edilmiş olduğu gibi daha pratik, maliyetinin düşük olması ve spektrofotometrik yöntemle aynı sonucu vermesi nedeni ile TMB agarlı ortamda nitel olarak H_2O_2 üretimlerinin belirlenmesi bundan sonraki çalışmalar için önerilebilir.

Lactobacillus bakterilerinin kadınlarda genital ve ürogenital sistemde enfeksiyon yapan bazı patojen bakteriler *P. aeruginosa* ATCC 29212, *S. aureus* ATCC 2392, *S. enteritidis* RSKK 171, *E. coli* ATCC 11230 ve maya olarak ta *C. albicans* AJD 180 ve *C. albicans* ATCC 10239 mikroorganizmaları üzerine inhibisyon etkileri araştırılmıştır. Kültürlerin bazılarının test bakterileri üzerinde değişik oranlarda inhibisyon etkisi gösterdikleri tespit edilmiştir (Çizelge 4.5.).

Vajinadan izole edilen *Lactobacillus* spp. suşlarının %85' inin *P. aeruginosa* ATCC 29212 suşu üzerine inhibisyon etkisi gösterdikleri belirlenmiştir. *Lactobacillus* spp. suşlarından *L. brevis* R2 suşunun 11,30 mm zon çapı ile en yüksek oranda *P. aeruginosa* ATCC 29212 suşu üzerine inhibisyon etkisi gösterdiği belirlenirken, 9 suşun hiçbir inhibisyon etkisi göstermediği tespit edilmiştir. Colins ve Aramaki' nin, *Pseudomonas* türleri ile yaptıkları çalışma sonucunda, *L. acidophilus*' un hidrojen

peroksit üretim etkisiyle *Pseudomonas* türlerinin gelişimini engelleyebildiğini düşünmüşlerdir (88).

Vajinadan izole edilen *Lactobacillus* spp. suşlarının %48' inin *S. aureus* ATCC 2392 suşu üzerine inhibisyon etkisi gösterdiği belirlenmiştir. *Lactobacillus* suşlarından *L. gasseri* H15 suşunun 10,20 mm zon çapı ile en yüksek oranda *S. aureus* ATCC 2392 suşu üzerine inhibisyon etkisi gösterdiği saptanmıştır. Ocana ve arkadaşlarının, "Toxic Şok Sendromu" hastalığı etkeni olan *S. aureus* bakterisi üzerine yaptıkları çalışma sonucunda hidrojen peroksit üretimi yüksek olan *L. crispatus* F117 suşunun *S. aureus* bakterisi üzerine inhibisyon etkisi gösterdiği bulunmuş ve 10 mm çapında bir inhibisyon zonu belirlenmiştir. Aynı araştırmacılar yaptıkları farklı bir çalışmada da , *L. paracasei* F2 ve F28 suşlarının süpernatant sıvılarını karıştırmışlar ve bu karışımın *S. aureus* bakterisi üzerine inhibisyon etkisini araştırmışlardır. Bu çalışmanın sonuçları ile *L. crispatus* F117 bakterisinin *S. aureus* bakterisi üzerine inhibisyon çalışmasının sonuçlarının aynı olduğu belirlenmiştir. (6).

Vajinadan izole edilen *Lactobacillus* spp. suşlarının %71' inin *S. enteritidis* RSKK 171 üzerine inhibisyon etkisi gösterdiği belirlenmiştir. *Lactobacillus* spp. suşlarından *L. cellobiosus* L2 suşunun *S. enteritidis* RSKK 171 suşu üzerine 9,50 mm zon çapı ile en yüksek oranda inhibisyon etkisi gösterdiği saptanmıştır. Bu konuda yapılmış bir çalışmada, tavuk vajinasından izole edilen *Lactobacillus* türlerinin *S. enteritidis* bakterisi üzerine etkisi araştırılmıştır. Bu izolatların 9-11 mm zon çapları arasında inhibisyon etkisi gösterdiği belirlenmiştir (89).

Vajinadan izole edilen *Lactobacillus* spp. suşlarının %43' ünün çalıştığımız diğer bir patojen bakteri olan *E. coli* ATCC 11230 üzerine inhibisyon etkisi gösterdiği belirlenmiştir. *Lactobacillus* spp. suşlarından *L. gasseri* R4 suşunun *E. coli* ATCC 11230 suşu üzerine 8,70 mm zon çapı ile en yüksek oranda inhibisyon etkisi gösterdiği saptanmıştır. Bazı araştırmacılar da, in vitro ortamda *Lactobacillus* spp. suşlarının *E. coli* bakterisi üzerine inhibisyon etkisini araştırmışlar ve *Lactobacillus* spp. suşlarının inhibisyon etkisi gösterdiğini belirlemişlerdir (83).

Lactobacillus spp. suşları 4 test bakterisi içinde en çok inhibisyon etkisini %85 oranı ile *P. aeruginosa* ATCC 29212 suşu üzerine göstermektedirler. Ayrıca suşlardan, *I. gasseri* R3, R4, R5, R7, *I. acidophilus* R1, I4, *I. vaginalis* H5, *I. crispatus* G14, *I. plantarum* H10 ve *I. brevis* R2 suşları 4 test bakterisinin tümüne inhibisyon etkisi gösterdiği, *I. gasseri* O2, *I. vaginalis* S1, *I. plantarum* T1 ve *I. salivarius* S2 suşlarının ise 4 test bakterisine inhibisyon etkisi göstermediği tespit edilmiştir.

Vajinadan izole edilen *Lactobacillus* spp. suşlarının *E. coli*, *S. enteritidis*, *S. aureus* ve *Pseudomonas* türleri üzerine yapılan inhibisyon çalışmalarında oluşan inhibisyon zonlarının *Lactobacillus* spp. suşlarının metabolik ürünlerinden olan hidrojen peroksitten kaynaklandığını düşünmüşlerdir (29, 46, 6, 89, 88). Vajinada izole edilen örneklerin patojenler üzerine yaptığımız inhibisyon çalışmasında genel olarak *I. gasseri* suşlarının patojenlere etkili olduğu gözlenmektedir. Bu suşların metabolik ürünleri incelendiğinde asit ve hidrojen peroksit üretimlerinin bazı suşlar dışında yüksek oldukları gözlenmiştir. Hasta kaynakları arasında bir değerlendirme yaptığımızda, R kodlu hasta kaynağının test bakterileri üzerinde genelde tüm suşlarında inhibisyon etkisi gözlenmektedir. Bu hasta kaynağının asit ve hidrojen peroksit üretimlerinin bazı suşlar hariç genelde yüksek olduğu bulunmuştur. Bu nedenle patojen mikroorganizmalar üzerinde oluşan inhibisyon zonlarının *Lactobacillus* spp. suşlarının metabolik ürünlerinden olan asit ve hidrojen peroksitten kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Diyabetli kişilerde, oral kontraseptif ve enjekte edilen kontraseptif kullananlarda, gebe kadınlarda, antibiyotik kullanımı sonrasında (özellikle tetrasiklin ve ampisilin), *Candida albicans*' ın etken olduğu enfeksiyonlar daha sık gözlenmiştir (53). Bu nedenlerden dolayı vajinadan izole edilen *Lactobacillus* spp. suşlarının *C. albicans* AJD 180 ve *C. albicans* ATCC 10239 üzerine inhibisyon etkisi in vitro ortamda araştırılmıştır. Araştırma sonucunda *Lactobacillus* cinsi bakterilerin hiçbir suşunun inhibisyon etkisi görülmemiştir. Yapılan birçok çalışmada, patojen mikroorganizmalara inhibisyon etkenlerinden biri olan *Lactobacillus* spp.' lerin ürettiği hidrojen peroksitin *C. albicans* üzerinde inhibisyon etkisi göstermediği belirlenmiştir (6). Tagg ve arkadaşlarının *Candida albicans* ile yaptıkları

çalışmalarda *Lactobacillus* spp. suşlarından izole ettikleri bakteriyosinin, *C. albicans*' ın gelişimini inhibe ettiğini belirlemişlerdir (36). Kaynak araştırmalarında, vajinal izolatların *C. albicans*' ın gelişimini inhibe ettiği bildirilmektedir. Bu kaynaklardaki sonuçlara göre, suşlarımızın hidrojen peroksit üretimi olmasına rağmen, hidrojen peroksitin *C. albicans* üzerinde inhibisyon etkisinin olmadığı, inhibisyon etkisi olan bakteriyosin ise çalıştığımız suşlarda belirlenememiştir. Yaptığımız kaynak araştırmasına göre, vajinal floraya *Lactobacillus* spp.' lerin hakim olmasının *C. albicans* enfeksiyonlarını engelleme etkisinin *Lactobacillus* spp. suşlarının koagregasyon özelliği ile ilgili olabileceği düşünülmektedir (7, 8, 90, 54).

Yapılan bir araştırmada insan vajeninin arka forniksinden izole edilen *Lactobacillus pentosus* TV35b suşundan pentocin TV35b adı ile karakterize edilen 2,35-3,4 kDa arasında değişen molekül ağırlığına sahip, peptit yapısında olan bakteriyosin tespit edilmiştir. Bu bakteriyosin üretiminin vajinadan izole edilen *C.albicans*' a antifungal etkisi olduğu, *Clostridium sporogenes*, *Cl. tyrobutyricum*, *L. curvatus*, *L. fermentum*, *L. sake*, *Listeria innocua*, *Propionibacterium acidipropionici* ve *Propionibacterium* sp. mikroorganizmaları üzerine inhibisyon etkisinin varlığı belirlenmiştir (38). Ancak yaptığımız çalışmada, vajinadan izole edilen *Lactobacillus* spp. suşlarının bakteriyosin etkileri *P. aeruginosa* ATCC 29212, *S. aureus* ATCC 2392, *S. enteritidis* RSKK 171, *E. coli* ATCC 11230, *C. albicans* AJD 180 ve *C. albicans* ATCC 10239 üzerinde uygulanmış, suşların bakteriyosin etkisi göstermediği tespit edilmiştir.

Tagg ve arkadaşları, bakteriyosinin, biyolojik olarak aktif protein ve plazmid orjinli oldukları üzerinde durmuşlardır (36). Plazmidlerin özelliklerine bakıldığında plazmidlerin suştan suşa farklılık gösterdiği ve mevcut plazmidleri bakterilerin kolaylıkla kaybedebildikleri bilinmektedir (87). Bu nedenlerden dolayı bakteriyosin üretimi tespit edilmemiş olabilir.

Eğer probiyotik kullanım için seçilecek suşların antibakteriyal özellikleri esas alınacaksa özellikle bir çok test bakterisi üzerine etkili ve yüksek aktiviteye sahip, *L.*

gasseri R3, R4, R5, R7, *L. acidophilus* R1, I4, *L. vaginalis* H5, *L. crispatus* G14, *L. plantarum* H10 ve *L. brevis* R2 suşları seçilebilir.

Laktik asit bakterilerinin doğal insan florasında özellikle vajen florasında olumlu etkileri esas alınarak, üstün özelliklere sahip bazı suşların, probiyotik olarak kullanılması ile, hastalıkların tedavisinde antibiyotiklere alternatif olması düşünülmektedir. Araştırmacılar probiyotiklerin sadece tedavi amaçlı olmayıp, bazı enfeksiyonlar için koruyucu amaçlı da kullanılabileceğini bildirmişlerdir (8, 6). Normal mikrofloranın antibiyotik tedavilerinden etkilenmemesi için seçilecek suşların antibiyotiklere ve antifungal ilaçlara dirençli olması önemli bir kriterdir. Antibiyotik ve antifungal uygulamalar sırasında probiyotikler kullanılarak mikrofloranın koruyuculuğunun devam edebileceği düşünülmektedir (8).

Vajinadan izole edilen 58 adet *Lactobacillus* suşlarının in vitro olarak 8 adet antibiyotiğe duyarlılık testi sonuçları Çizelge 4.7. ve 4.8.' de verilmiştir.

Hücre duvar sentezini inhibe eden penisilin grubundan amoksisilin (AX)' in antibakteriyel etkisi *Salmonella*, *Shigella*, *Proteus*, *E. coli*, *Haemophilus influenzae* bakterilerini kapsamaktadır (54). Vajinadan izole ettiğimiz *Lactobacillus* spp. suşlarının %17' sinin amoksisiline duyarlı, %38' inin orta derecede duyarlı ve %45' inin ise dirençli olduğu tespit edilmiştir. Charteris ve arkadaşlarının benzer bir çalışmada ise, potansiyel probiyotik özelliğe sahip 46 *Lactobacillus* spp. suşlarının amoksisiline duyarlı olduğu gösterilmiştir (8). Glikopeptid grubundan teikoplanin (TEC) antibiyotiği, aerob ve anaerob gram pozitif bakterilere etkilidir ve bu bakterilerin neden olduğu enfeksiyonlar için klinik uygulamalarda kullanılmaktadır (54). Teikoplanin antibiyotiği ile yaptığımız çalışma sonucunda; vajinal izolatların %52' sinin duyarlı olduğu, %38' inin orta derecede duyarlı olduğu, %10' unun ise dirençli olduğu belirlenmiştir.

Bakterilerde protein sentezini inhibe ederek bakterisidal etki eden aminoglikozid grubundan streptomisin (S), bakteriyostatik etki eden tetrasiklinler grubundan tetrasiklin (TE), makrolidler grubundan klaritromisin (CLR), azitromisin (AZM) ve

bakteriye her iki yönden etki eden kloramfenikol grubundan kloramfenikol (C), antibiyotiklerinin *Lactobacillus* spp. suşlarına etkisi araştırılmıştır. Klinik uygulamalarda streptomisin; tüberküloz, tularemi, brusellozis hastalıklarının, tetrasiklinler; riketsiyal ve klamidyal enfeksiyonlar ve *Mycoplasma pneumoniae* hastalıklarının, klaritromisin ve azitromisin; mycoplasma ve leigonella pnömonileri, penisilin alerjisi olan hastalarda gram pozitif kok enfeksiyonlarının, kloromfenikol; *Haemophilus influenzae*, tifo ateşi ve anaerobik enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılmaktadır (54).

Lactobacillus spp. suşlarının tetrasiklin (%88) ve kloramfenikol (%76), antibiyotiklerine yüksek oranda duyarlılık gösterdikleri belirlenirken, aynı etki mekanizmasına sahip fakat farklı gruptan olan streptomisin (%93) antibiyotiğine *Lactobacillus* spp. suşlarının yüksek oranda dirençli oldukları görülmektedir. Streptomisin bulunduğu aminoglikozid grubunun diğer antibiyotikleri ise; gentamisin, tobramisin, amikasin, neomisin antibiyotikleridir. Vajinal izolatların streptomisine gösterdiği direnci bu antibiyotiklere de göstermesi beklenmektedir. Bu antibiyotiklerin klinikte kullanımları önerilebilir. Charteris ve arkadaşları benzer bir çalışmada da, potansiyel probiyotik özelliğe sahip 46 *Lactobacillus* spp.' lerin streptomisin, tetrasiklin ve kloramfenikol (protein sentezini inhibe ederler)' ün de dahil olduğu 44 antibiyotiğe duyarlılığını disk difüzyon yöntemiyle denemişler ve NCCLS kriterlerine göre değerlendirmişlerdir. Değerlendirme sonucunda tüm türlerin streptomisin' e dirençli olduğu, tetrasiklin ve kloramfenikol' e duyarlı olduğunu tespit etmişlerdir (9). Eritromisin grubundan olan azitromisin ve klaritromisin ile yaptığımız çalışmada; azitromisine *Lactobacillus* spp. suşlarının %10' unun direnç, klaritromisine ise; %3' ünün direnç gösterdiği belirlenmiştir.

Nükleik asit sentezini inhibe eden kinolon grubundan olan siprofloksasin (CIP); klinik uygulamalarda *S. aureus* ve koagülaz negatif stafilokoklar, *H. influenzae*, *N. gonorrhoeae* ve *N. meningitidis* enfeksiyonlarında kullanılmaktadır. Siprofloksasin antibiyotiğine *Lactobacillus* spp. suşların %98' inin dirençli olduğu belirlenmiştir. Özellikle *N. gonorrhoeae* enfeksiyonlarının tedavisinde siprofloksasin antibiyotiginin kullanılması ve bu antibiyotiğe dirençli olarak belirlenen suşların

Dr. Yücel ÖZDEMİR
Doktora Tezi

antibiyotikle birlikte vajinal mikrofloranın yeniden düzenlenmesi için probiyotik olarak kullanımı önerilebilir.

Charteris ve arkadaşları, antibiyotiklere direnç ve patojen mikroorganizmalara inhibisyon etkisi gösterdiği belirlenen *L. rhamnosus* GR-1 ve *L. fermentum* B-54 suşlarını içeren *Lactobacillus* vajinal tablet hazırlamışlardır. 41 akut alt üriner sistem enfeksiyonu olan kadınlara antibiyotik tedavisi sonrasında üriner sistemi koruması amacıyla, norfloksasin veya kotrimaksazol antibiyotikleri ile birlikte 3 gün süreyle belirlemiş oldukları *Lactobacillus* cinsi bakterileri içeren vajinal tabletleri probiyotik olarak kullanmışlardır. Kullanım sonucunda üriner sistem enfeksiyonlarının görülmesinde bir düşüş olduğunu belirlemişlerdir (8).

Genel olarak sonuçlarımıza baktığımızda *L. plantarum* T1 suşunun hiçbir antibiyotikten etkilenmediği *L. acidophilus* G11, *L. vaginalis* S1, *L. salivarius* S2 suşlarının ise diğer suşlara oranla çok fazla etkilenmediği görülmüştür. Bu suşların antibiyotiklere direnç göstermesi dikkate alınarak antibiyotiklerle birlikte verildiği takdirde vajinal floranın koruyuculuğunun devam edebileceğini düşünmekteyiz.

Antifungal ilaçlardan izokonazol ve oksikonazol azollerden imidazol grubundandır (54, 91). *C. albicans* maya enfeksiyonlarında kullanılan bu antifungal ilaçların vajinadan izole edilen 58 adet *Lactobacillus* spp. suşlarının in vitro olarak etkisi araştırılmıştır. İki antifungal ilacın *C. albicans* AJD 180 üzerindeki MİK sınırları belirlenmiştir. İzokonazol için; 0,1µg/ml, oksikonazol için; 0,075µg/ml değerleri tespit edilmiştir. Bu değerler dikkate alınarak izokonazol ve oksikonazol'un üç farklı konsantrasyonunun (0,2; 0,1 ve 0,05 µg/ml) *Lactobacillus* spp. suşları üzerine etkisi çalışılmıştır (Çizelge 4.8.).

Her iki antifungal ilacın *C. albicans* AJD 180 üzerine aynı oranlarda inhibisyon etkisi gösterdiği tespit edilmiştir. Fakat bu antifungal ilaçların *Lactobacillus* spp. suşları üzerine aynı etkiyi göstermediği, izokonazol'un oksikonazol'e göre daha fazla inhibisyonik etki gösterdiği tespit edilmiştir. Vajina mikroflorasındaki *Lactobacillus*

türlerinin oksikonazol antifungal ilacından daha az zarar görmesi, *C. albicans*' a, ise yüksek inhibisyon gösterdiği tespit edilmiştir. Bu nedenle klinikte antifungal tedavisinde oksikonazol ilacının kullanılması özellikle de bu ilacın 0,1 µg/ml dozlarının kullanımı önerilebilir.

Vajinadan izole ettiğimiz *Lactobacillus* spp. suşlarının antifungal ilaçlardan etkileşim çalışmasının sonucunda, *L. gasseri* H14, *L. acidophilus* A1 *L. vaginalis* S1 *L. delbrueckii* spp. *lactis* H13 ve *L. plantarum* H10 suşlarının her iki antifungalden de diğer suşlara göre daha az etkilendiği belirlenmiştir. Seçilen bu suşlar vajinal mikroflorada probiyotik olarak tedavi veya koruyucu amaçlı klinikte antifungal ilaçlarla birlikte kullanımı önerilebilir.

C, D, J, P, N ve K kodlu hastalardan *Lactobacillus* spp. izolasyonu yapılamamasının nedeninin bu bakterilerin vajinada bulunmadığından değil, diğer (hastadan örneğin alınmasında, hastaneden laboratuvar ortamına getirilirken geçen süre, çalışma koşulları gibi yaşanan sorunlar) etkenlerden kaynaklandığını düşünmekteyiz. B, E ve M kodlu hastalarda ise maya enfeksiyonunun çok fazla olması nedeniyle *Lactobacillus* spp. izolasyonu yapılamamıştır.

Bir çok çalışmada sigara kullanan hastalar ile *Lactobacillus* spp. izolasyonu arasında bir ilişkinin olduğu bildirilmiştir. Sigara kullanan hastalardan *Lactobacillus* spp. izolasyonunun daha az olduğu ve izole edilen suşların metabolik aktivitelerinin sigara kullanmayanlara göre oldukça düşük olduğu tespit edilmiştir (90, 92). Bizim çalışmamız sonucunda, L, S ve R kodlu hastaların sigara kullanımı ile *Lactobacillus* spp. suşlarının izolasyonu, teşhisi, metabolik aktiviteleri, antibakteriyel özelliği, antibiyotik ve antifungal ilaçlara dirençliliği arasında bir ilişki görülmemiştir.

Vajinadan *Lactobacillus* cinsi bakteri izolasyonu ve izole edilen türlerin dağılımı, bu türlerin probiyotik özelliklerin araştırılması amacıyla ilgi olarak Türkiye' de kaynaklara ulaşamamıştır. Bu nedenle çalışmamızın, bu konuda çalışacak olan diğer araştırmacılara bir fikir verebileceğini düşünmekteyiz. Antifungallere dirençli; *L. gasseri* H14, *L. acidophilus* A1 *L. vaginalis* S1 *L. delbrueckii* spp. *lactis* H13 ve *L.*

plantarum H10 suşları, antibiyotiklere dirençli; *L. plantarum* T1 suşunun hiçbir antibiyotikten etkilenmediği *L. acidophilus* G11, *L. vaginalis* S1, *L. salivarius* S2 suşları, hidrojen peroksit ve asit üretimi yüksek, antibakteriyal etkisi yüksek; *L. gasseri* R3, *L. acidophilus* I4, *L. vaginalis* H5, *L. crispatus* G14, *L. plantarum* H10 ve *L. brevis* R2 suşlarını belirledik. Bu suşların tek başına veya birkaçının bir arada bulunduğu probiyotik amaca yönelik vajinal tabletler hazırlanmasını ve bu tabletlerin vajinal florayı enfeksiyonlardan koruyucu ve tedavi amaçlı olarak kullanımını önermekteyiz.



KAYNAKLAR

- 1- Charteris, W. P., Kelly, P. M., Morelli, L. and Collins, J. K., "Development of agar overlay disc diffusion method for the antibiotic susceptibility testing of potentially probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* species", *Egyptian J. Dairy Sci.*, 27: 71-82 (1999).
- 2- Lopez, R. V., Cook, L. R. and Sobel D. J., "Emerging role of *Lactobacilli* in the control and maintenance of the vaginal bacterial microflora" *Rev. Infect. Dis.*, 12 (5): 856-872 (1990).
- 3- Hughes, V. L., and Hilier S. L., "Microbiologic characteristics of *Lactobacillus* products used for colonization of the vagina", *Obstet. Gynecol.*, 75 (2): 244-248 (1990).
- 4- Boskey, E. R., Cone, R. A., Whaley, K. J. and Moench, T. R., "Origins of vaginal acidity: high D/L lactate ratio is consistent with bacteria being the primary source", *Hum. Reprod.*, 16 (9): 1809-1813 (2001).
- 5- Aroutcheva, A., Gariti, D., Simon, M., Shott, S., Faro, J., Simoes, J. A., Gurguis, A. and Faro, S., "Defense factors of vaginal *Lactobacilli*", *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 185: 375-379 (2001).
- 6- Ocana, S. V., Holgado, A. P. R. and Macias, M. E. N., "Selection of vaginal H₂O₂ – generating *Lactobacillus* species for probiotic use", *Curr. Microbiol.*, 38: 279-284 (1999).
- 7- Mc Groarty, J. A., "Cel surface appandages of *Lactobacilli*", *FEMS Microbiol. Lett.*, 124: 405-410 (1994).
- 8- Charteris, W. P., Kelly, P. M., Morelli, L. and Collins, J. K., "The role and therapeutic potential of *Lactobacillus* species in female urogenital tract infection", *Microecol. Ther.*, 26: 59-96 (1997).
- 9- Charteris, W. P., Kelly, P. M., Morelli, L. and Collins, J. K., "Antibiotic susceptibility of potantially probiotic *Bifidobacterium* isolates from the human gastrointestinal tract", *Lett. Appl. Microbiol.*, 26: 333-337 (1998).
- 10- Annuk, A., Shchepetova, J., Kullisaar, T., Songisepp, E., Zilmer, M. and Mikelsaar, M., "Characterization of intestinal *Lactobacilli* as putative probiotic candidates", *J. Appl. Microbiol.*, 64: 403-412 (2003).
- 11- Daeschel, M. A., "Antimicrobial substances from lactic acid bacteria for use as food preservatives", *Food Technol.*, 164-167 (1989).

- 12- Tunail, N. ve Köşker, Ö., “Süt Mikrobiyolojisi”, No:1116, *A. Ü. Ziraat Fak. Yayınları*, Ankara, 113 (1989).
- 13- Tekinşen, O. C. ve Atasever, M., “Süt Ürünleri Üretiminde Starter Kültür”, *Selçuk Ü. Vet. Fak. Yayınları*, Konya, 150 (1994).
- 14- Halkman, K., “Tarım Mikrobiyolojisi”, No: 1214, *A. Ü. Ziraat Fak. Yayınları*, Ankara, 82 (1991).
- 15- Yetişmeyen, A., “Süt Teknolojisi”, No: 1420, *A. Ü. Ziraat Fak. Yayınları*, Ankara, 229 (1995).
- 16- Sneath, P. H. A., Mair, N. S. and Holt, J. G., “Bergey’ s Manual of Systemic Bact., Volume 2”, *Willims & Wilkins.*, London, 1208-1304 (1986).
- 17- Drinan, D. F., Tobin, S. and Cogan, T. M., “Citric acid metabolism in hetero and homofermentative lactic acid bacteria”, *Appl. Envir. Microbiol.*, 31 (4): 481-486 (1976).
- 18- Prescott, C. S. and Dunn, G. C., “Industrial Microbiology”, *Puldished on Distributors*, India, 882 (1987).
- 19- Murathanoğlu, O., “Histoloji”, *İ. Ü. Fen Fak. Basımevi*, İstanbul, 277 (1996).
- 20- Schnell, J. D., “Cytology and Microbiology of the Vagina”, *Basel*, Germany, 14 (1973).
- 21- Boris, S., “Role played by *Lactobacilli* in controlling the population of vaginal pathogens”, *Microbes. Infect.*, 2(5): 543-546 (2000).
- 22- Lepargnuer, J. P. and Rousseau, V., “Protective role of doderlien flora”, *J. Gynecol. Obstet. Biol. Reprod.*, 31 (5): 484-485 (2002).
- 23- Mc Groarty, J. A., “Probiotic use of *Lactobacilli* in the human female urogenital tract”, *FEMS Immunol. Med. Mic.*, 6: 251-264 (1993).
- 24- Mc Groarty, J. A., Chong, S., Reid, G. and Bruce, A. W., “Influence of the spermicidal compound nonoxynol-9 on the growth and adhesion of urogenital bacteria in vitro”, *Curr. Microbiol.*, 21: 219-223 (1990).
- 25- Reid, G., Mc Groarty, J. A., Tomeczek, L., Bruce, A. W., “Idendification and plasmid profiles of *Lactobacillus* species from the vagina of 100 healty women”, *FEMS Immun. Med. Mic.*, 15: 23-26 (1996).
- 26- Pybus, V. and Onderdonk, A. B., “Microbial interactions in the vaginal ecosystem with emphasis on pathogenesis of bacterial vaginosis”, *Microbes. Infect.*, 1 (4): 285-292 (1999).

- 27- Bauer, G., "Lactobacilli-mediated control of vaginal cancer through specific reactive oxygen species interaction", *Med. Hypotheses*, 57 (2): 252-257 (2001).
- 28- Martin H. L., Richardson B. A., "Vaginal *Lactobacilli* microbiol flora and risk of human immunodeficiency virus type 1 and sexually transmitted disease acquisition", *J. Infect. Dis.*, 180 (6): 1863-1868 (2000).
- 30- Fuller, R., "Probiotics in man animals", *J. Appl. Bact.*, 66: 365-378 (1989).
- 29- Hillier, S. L., Krohn, M. A., Klebanoff, S. J. and Eschenbach D. A., "The relationship of hydrogen peroxide-producing *Lactobacilli* to bacterial vaginosis and genital microflora in pregnant women", *Obstet. Gynecol.*, 79 (3): 369-373 (1992).
- 31- Perdigon, G., Vintini, E., Alvarez, S., Medina, M. and Medici, M., "Study of the possible mechanisms involved in the mucosal immune system activation by lactic acid bacteria", *J. Dairy Sci.*, 82: 1108-1114 (1999).
- 32- Boris, S., Suarez, J. E. and Barbes, C., "Characterization of the aggregation promoting factor from *Lactobacillus gasseri*, vaginal isolate", *J. Appl. Microbiol.*, 83: 413-420 (1997).
- 33- Gers, A., Singh, J. and Tevber, M., "Potential of lactic streptococci to produce bacteriyocin", *Appl. Environ. Microb.*, 45 (1): 205-211 (1983).
- 34- Klaenhammer, T. R., "Bacteriocin of lactic acid bacteria", *Biochimie*, 70: 337-349 (1988).
- 35- Barefoot, S. F. and Nettles, C. G., "Antibiosis revisited, bacteriocins produced by dairy starter cultures", *J. Dairy Sci.*, 76: 2366-2379 (1993).
- 36- Tagg, J. R., Dajani, A. S. and Wannamaker, L. K., "Bacteriocins of gram-positive bacteria", *Bacteriol. Review.*, 40 (3): 722-756 (1976).
- 37- Carminati, D., Giraffa, G. and Bossi, M. G., "Bactericin-like inhibitors of *S. lactis* against *Listeria monocytogenes*", *J. Food Protect.*, 52 (9): 614-617 (1988).
- 38- Okkers, D. J., "Characterization of pentocin TV35b bacteriocin like peptide isolated from *Lactobacillus pentosus* with a fungistatic effect on *Candida albicans*", *J. Appl. Microbiol.*, 87: 726-734 (1999).
- 39- Çetin, E. T., "Endüstriyel Mikrobiyoloji", *İ. Tıp. Fak. Vakfı Yayınları*, İstanbul, 418 (1983).
- 40- Nessler, S., "Crystallization of D-lactate dehydrogenase from *Lactobacillus bulgaricus*", *J. Mol. Biol.*, 235: 370-371 (1994).

- 41- Rasic, J. L. and Kurman, J. A., "Yoğurt Technology Manufacture and Preparation", D.K.27, *Vanlose*, Copenhagen, 466 (1978).
- 42- Savoy-de-Giori, G., Font-D-Valdez, G., Holgado, A. P. R. and Oliver, G., "Effect of growth temperature on acid production by lactic acid bacteria", *Microbiologie- Aliment. Nutrit.*, 2: 243-246 (1985).
- 43- Reid, G. and Bruce, A. W., "Low vaginal pH and urinary tract infection", *Lancet*, 346 (2): 1704 (1995).
- 44- Juven, B. J., Schved, F. and Lidner, P., "Antagonistic compounds produced by a chicken intestinal strain of *Lactobacillus acidophilus*", *J. Food Protect.*, 55 (3): 157-161 (1992).
- 45- Murphy, M. G. and Condon, S., "Comprasion of aerobic and anarebic growth of *Lactobacillus plantarum* in glucose medium", *Arch. Microbiol.*, 138 (1): 49-53 (1984).
- 46- Fernandes, C. F., Shahani, K. M. and Amer, M. A., "Therapeutic role of dietary *Lactobacilli* and *Lactobacilli* fermented dairy product", *FEMS Microbiol. Rev.*, 46: 343-356 (1987).
- 47- Eralp, M., "Peynir Teknolojisi", No:533, *A. Ü. Ziraat Fak. Yayınları*, Ankara, 331 (1974).
- 48- Klebanoff, S. J., Hillier, S. L., Eschenbach, D. A. and Waltersdorph, A. M., "Control of the microbial flora of the vagina by H₂O₂-generating *Lactobacilli*", *J. Infect. Dis.*, 164: 94-100 (1991).
- 49- Hawes, S. E., Hillier, S. L., Benedetti, J., Stevens, C. E., Koutsky, L. A., Wolner-Hanssen, P. and Holmes, K. K., "Hydrogen peroxide- producing *Lactobacilli* and acguisition of vaginal infections", *J. Infect. Dis.*, 174: 1058-1063 (1996).
- 50- Kocatürk, U., "Açıklamalı Tıp Terimleri Sözlüğü", *A. Ü. Basımevi*, Ankara, 28 (1991).
- 51- Kmet, V. and Lucchini, F., "Aggregation-promoting factor in human vaginal *Lactobacillus* strains", *FEMS Immun. Med. Mic.*, 19: 111-114 (1997).
- 52- Arda, M., "Temel Mikrobiyoloji", No:2, *Kökem Derneği, Bilimsel Yayınlar*, Ankara, 490 (1997).
- 53- Neyzi, O. ve Yolsal N., "Cinsel Yolla Bulaşan Hastalıklar Tanı ve Tedavi Rehberi", *İnsan Kaynağı Geliştirme Vakfı*, İstanbul, 37-120 (1997).

- 54- Ustaçelebi, Ş., "Temel ve Klinik Mikrobiyoloji", *Güneş Kitabevi*, Ankara 1083 (1999).
- 55- Güner, H., "Jinekolojik Onkoloji, 2. Baskı", *Hatiboğlu Yayınevi*, Ankara 1995.
- 56- Klaenhammer, T. R. and Kullen, J. M., "Selection and design of properties", *Int. J. Food Microbiol.*, 50: 45-57 (1999).
- 57- Vural, T., "Probiotikler", *XXVII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi*, İzmir, 33-34 (1998).
- 58- Mital, B.K. and Grag, S.K., "Anticarcinogenic, hypocholesterplemic and antogonistic activities of *Lactobacillus acidophilus*", *Crit. Rev. Microbiol.*, 21: 175-214 (1995).
- 59- Hirayama, K. and Rafler, J., "The role of probiotic bacteria in cancer prevention", *Microbes. Infect.*, 2: 681-686 (2000).
- 60- Prosod, J., "Selection and characterization of *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* strains for use as probiotics", *Int. J. Dairy.*, 8: 993-1002 (1998).
- 61- Kimmert S. A., "Optimization of exopolysaccharide production by *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* RR grown in a semidefined medium", *Appl. Environ. Microb.*, 64 (2): 659-664 (1998).
- 62- Lankaputhra, W. E. V., "Antimutagenic properties of probiotic bacteria and of organic acids", *Mutat. Res.*, 397: 169-182 (1998).
- 63- Çelen, E., Hız, I. ve Vural, T., "Probiyotikler", *Güncel Gastroenteroloji Dergisi*, Ankara, 403-408 (1999).
- 64- Antonio, M. A. D., Hawes, S. E. and Hillier, S. L., "The identification of vaginal *Lactobacillus* species and the demographic and microbiologic characteristics of women colonized by these species", *The J. Infect. Dis.*, 180: 1950-1956 (1999).
- 65- Halkman, K. ve Gürgün, V., "Mikrobiyoloji Sayım Yöntemleri", No.7, *Gıda Mikrobiyolojisi Derneği*, 12 (1990).
- 66- Temiz, A., "Genel Mikrobiyoloji Uygulama Teknikleri", *H. Ü. Gıda Mühendisliği Bölümü*, Ankara, 118-141 (1994).
- 67- Elliker, P. R., Anderson, A. W. and Hanneson, G., "An agar culture medium for lactic acid *Streptococci* and *Lactobacilli*", *J. Dairy. Sci.*, 39: 1611 (1956).
- 68- Man, J. C., Ragosa, M. and Sharpe, M. E., "A medium for the cultivation of *Lactobacilli*", *J. Appl. Bact.*, 23: 130-138 (1960).

- 69- Collins, C. H., Lyne, P. M. And Grange, J. M., "Collins and Lyne' s Microbiological Methods, 8th Edition", *Butterworth Heinemann*, London, 65-107 (1991).
- 70- Charteris, W. P., Kelly, P. M., Morelli, L. and Collins, K., "Quality control *Lactobacillus* strains for use with the API 50 CH and API ZYM systems at 37 °C", *J. Basic. Microb.*, 41 (5): 241-251 (2001).
- 71- Ross, S., Karner, F., Axelsson, L. and Jonsson, H., "Principaux caracteres permettant de differencier *Lactobacillus mucosae* des especes phylogenetiquement roches", <http://www.bacterio.cict.fr/bacdico/ll/mucosae.html> (4.2.2000).
- 72- Demirci, M. ve Gündüz, H., "Süt Teknolojisi El Kitabı", *Hasad Yayıncılık*, Ankara, 184 (1994).
- 73- Song, Y., Kato, N., Matsumiya, Y., Liu, C., Kato, H. and Watanabe, K., "Identification of and hydrogen peroxide production by fecal and vaginal *Lactibacilli* isolated from Japanese women and newborn infants", *J. Clin. Microbiol.*, 37 (9): 3062-3094 (1999).
- 74- Gilliland, S. E., "Enzymatic determination of residual hydrogen peroxide in milk", *J. Dairy. Sci.*, 52 (3): 321-324 (1969).
- 75- Reinheimer, J. A., Demkow, M. R. and Candioti, M. C., "Inhibition of coliform bacteria by lactic cultures", *Aust. J. Dairy Technol.*, 5-9 (1990).
- 76- Cruikshank, R., "Med. Microbiol., 11th Edition", *Livingstone*, London. (1972).
- 77- Ronald, M., Lawrence, A. and Park, C., "Handbook of Microbiology, 2th Edition", *CRC Press*, New York, 966-1573 (1997).
- 78- Graffa, G., Neviani, E. and Veneroni, A., "Use of conductance to detect bacteriocin activity", *J. Food Protect.*, 53 (9): 772-776 (1989).
- 79- Murray, P. R., Baron, E. J., Pfaller, M. A., Tenover, F. C., Tenover, R. H., "Manual of Clinical Microbiology, 6th Edition", *ASM Pres.*, Woods, G.L. and Washington, DC, 1327-1341 (1995).
- 80- NCCLS, "Performance Standarts For Antimicrobial Disk Susceptibility Test, 4th Edition", *National Committee for Clinical Laboratory Standarts*, Philadelphia, 8 (7): Tentative Standart. M2-T7 (1988).
- 81- Rogosa, M. and Sharpe, M. E., "Species differentiation of human vaginal *Lactobacilli*", *J. Gen. Microbiol.*, 23: 197-201 (1960).

- 82- Wylie, J. G. and Henderson, A., "Identify and glycogen-fermenting capability of *Lactobacilli* isolated from the vagina of pregnant women", *J. Med. Microbiol.*, 2: 363-366 (1969).
- 83- Eschenbach, D. A., Davick, P. R., Williams, B. L., Klebanoff, S. J., Young-Smith, K., Critchlow, C. M. and Holmes, K. K., "Prevalence of hydrogen peroxide- producing *Lactobacillus* species in normal women and women with bacterial vaginosis", *J. Clin. Microbiol.*, 27 (2): 251-256 (1989).
- 84- Keklikoğlu, M., Tuzcu, M., "The Merck Manual Tanı ve Tedavi El Kitabı, 16. Baskı", *NobelTıp Kitabevi*, İstanbul, 1853 (1995).
- 85- Mumcu, Z. N., "Kefirden izole edilen bazı laktik asit bakterilerinin metabolik, antimikrobiyal ve plamid DNA' larının incelenmesi". Yüksek Lisans Tezi, *Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Ankara, 95 (1997).
- 86- Mastromarino, P., Brigidi, P., Machia, S., Maggi, L., Pirovano, F., Trinchieri, V., Conte, U. and Matteuzzi, D., "Characterization and selection of vaginal *Lactobacillus* strains for the preparation of vaginal tablets", *J. Appl. Microbiol.*, 93: 884-893 (2002).
- 87- Beyatlı, Y., "Mikrobiyal Genetik", *Ders Notları*, Ankara, 4-8 (2002).
- 88- Collins, E. B. and Aramaki, K., "Production of hydrogen peroxide by *Lactobacillus acidophilus*", *J. Dairy. Sci.*, 63 (3): 353-357 (1980).
- 89- Miyamoto, T., Horie, T., Fujiwara, T., Fukata, T., Sasai, K. and Baba, E., "*Lactobacillus* flora in the cloaca and vagina of hen and its inhibitory activity against *Salmonella enteritidis* in vitro", *Poultry Sci.*, 79: 7-11 (1999).
- 90- Hooton, T. M., Fennell, C. L., Clark, A. M. and Stamm, W. E., "Nonoxynol-9: differential antibacterial activity and enhancement of bacterial adherence to vaginal epithelial cells", *The J. Infect. Dis.*, 164: 1216-1219 (1991).
- 91- Güneş, B., "Farmalast, 1. Edisyon", *Farma Tıp Yayıncılık*, 769 (2001).
- 92- Pavlova, S. I. and Tao, L., "Induction of vaginal *Lactobacillus* phages by the cigarette smoke chemical benzo [a] pyrene diol epoxide", *Mutat. Res.*, 466: 57-62 (2000).



EKLER

Accueil	Index alphabétique des taxons	Index alphabétique des noms de maladies
---------	-------------------------------	---

Mise à jour : 04 février 2000

Principaux caractères permettant de différencier *Lactobacillus mucosae* des espèces phylogénétiquement proches.

D'après : ROOS (S.), KARNER (F.), AXELSSON (L.) and JONSSON (H.): *Lactobacillus mucosae* sp. nov., a new species with in vitro mucus-binding activity isolated from pig intestine. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 2000, **50**, 251- 258.

1 : *Lactobacillus fermentum* (souche type) ; 2 : *Lactobacillus mucosae* (huit souches) ; 3 : *Lactobacillus oris* (souche type) ; 4 : *Lactobacillus panis* (souche type) ; 5 : *Lactobacillus pontis* (souche type) ; 6 : *Lactobacillus reuteri* (souche type) ; 7 : *Lactobacillus vaginalis*.

Caractères	1*	2	3**	4**	5	6*
Hydrolyse de l'arginine	+	+	-	-	+	+
Croissance à 15 °C	-	-	-	-	+	-
Croissance à 45 °C	+	+	+	+	+	+
Hydrolyse de l'esculine		+	+	+	-	
Fermentation du glucose (formation de gaz)	+	+	+	+	-	+
L-arabinose***	-	d	+	+	-	+
D-fructose***	+	-	+	+	+	+
Galactose***	+	d	+		-	+
Gluconate***	+	d	+	+	+	+
Lactose***	+	d	+	+	-	+
Mélibiose***	+	d	+	+	-	+
D-raffinose***	+	d	+	+	+	+
Ribose***	+	+	+	+	+	+
D-xylose***	-	d	+	+	-	-

ÖZGEÇMİŞ

1978 yılında Tokat'ta doğdu. İlk öğrenimini Tokat' ta, orta ve lise öğrenimini İstanbul' da tamamladı. 2000 yılında İstanbul Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Moleküler Biyoloji ve Genetik dalından mezun oldu. 2001 yılında Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans öğrenimine başladı. Dört yıllık evli ve bir çocuk annesi.

