



T.C.  
EGE ÜNİVERSİTESİ  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü



**PROBİYOTİK ÖZELLİKTEKİ *LACTOBACILLUS* VE  
*BIFIDOBACTERIUM* KÖKENLERİ İLE PATOJEN  
BAKTERİLER ARASINDAKİ ETKİLEŞİMİN  
ARAŞTIRILMASI**

**Yüksek Lisans Tezi**

Berna GÜVENÇ

Farmasötik Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı

İzmir  
2019

T.C.  
EGE ÜNİVERSİTESİ  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü

**PROBİYOTİK ÖZELLİKTEKİ *LACTOBACILLUS* VE  
*BIFIDOBACTERIUM* KÖKENLERİ İLE PATOJEN  
BAKTERİLER ARASINDAKİ ETKİLEŞİMİN  
ARAŞTIRILMASI**

Berna GÜVENÇ

Danışman  
PROF. DR. ŞAFAK ERMERTCAN

FARMASÖTİK MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI  
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

İzmir  
2019

## Tez Değerlendirme Kurulu Üyeleri

(Adı Soyadı)

(İmza)

**Başkan** : Prof.Dr. Şafak ERMERTCAN

(Danışman)

**Üye** : Prof.Dr. Mine HOŞGÖR LİMONCU

**Üye** : Prof.Dr. Semra KURUTEPE

Yüksek Lisans Tezinin kabul edildiği tarih: 13/ 12 /2019

## Önsöz

Günümüzde beslenme bozukluğu, stres, hava ve gıda kirliliği, bilinçsiz antibiyotik kullanımı gibi birçok sebep yüzünden alerjik reaksiyonlar, immün sistemin zayıflaması, antibiyotik direnci ve bağırsak mikrobiyotasının bozulması gibi insan sağlığını olumsuz yönde etkileyen durumlar ortaya çıkmaktadır. Bağırsak mikrobiyotasının dengeli olması, insan sağlığı açısından önemli bir role sahiptir. Bağırsak mikrobiyotası beslenme ile doğrudan ilişkili olup, probiyotik ve prebiyotik destekleri insan sağlığını olumlu yönde etkilemektedir.

Biz de bu çalışmada, probiyotik bakterilerin insanlarda patojen olan klinik bakteri izolatları üzerine olan etkilerini belirlemeye çalıştık.

Bu tez çalışması akademik yolculuğumun başlangıcıydı ve bu yolculuk ileride neler yapabileceğimi düşündüren, bakış açımı genişleten, yeni fikirler edinmemi sağlayan eğitici bir süreçti.

İzmir, 25.12.2019

Berna GÜVENÇ

## Özet

### Probiyotik Özellikteki *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* Kökenleri İle Patojen

#### Bakteriler Arasındaki Etkileşimin Araştırılması

Yüzyıllardır insanların diyetlerinde yer alan probiyotiklere ilgi son yıllarda daha çok artmış, probiyotiklerin bağırsak faaliyetlerinin iyileştirmesi, diyare, laktoz intoleransı, alerji, bağışıklığın güçlenmesi ve hatta kanser hücrelerinin yok edilmesi gibi önemli etkileri üzerinde durulmaya başlanmıştır.

Bu çalışmada *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Staphylococcus aureus* klinik izolatları ile probiyotik özellikteki *Lactobacillus acidophilus* ve *Bifidobacterium animalis* subs. *lactis* arasındaki etkileşimin araştırılması amaçlanmıştır. Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Bakterioloji laboratuvarında izole edilen her türden beş adet *E. coli*, *K. pneumoniae* ve *S. aureus* kökeni çalışmaya dahil edildi. Klinik izolatlar ile probiyotik bakteriler arasındaki etkileşimin araştırılması amacıyla, bir klinik izolat ile bir probiyotik bakteri sıvı besiyerinde birlikte kültür edildikten sonra katı besiyerine pasaj yapılarak, inkübasyondan sonra koloni sayılarındaki değişim incelendi. Probiyotik bakterilerin süpernatantlarının inhibisyon etkisini incelemek amacıyla agar difüzyon yöntemi ve optik yoğunluk ölçümüne dayalı yöntem uygulandı. Agar difüzyon yönteminde klinik kökenler katı besiyerine ekildikten sonra besiyerlerinde kuyular açılarak probiyotik bakterilerin kültürlerinden elde edilen süpernatantlar bu kuyulara konuldu. İnkübasyondan sonra kuyular etrafında oluşan inhibisyon zon çapları değerlendirildi. Optik yoğunluk ölçümüne dayalı yöntemde ise, 0.5McFarland bulanıklığındaki klinik kökenler mikropalakalara konulup üzerlerine probiyotik süpernatantları eklenerek inkübasyona bırakıldı ve inkübasyon sonunda optik yoğunlukları ölçüldü. Elde edilen veriler SPSS 22.0 ile yorumlandı.

Klinik izolatlar ile probiyotiklerin birlikte inkübasyonu sonrasında bazı klinik kökenlerin koloni sayılarında anlamlı düzeyde olmasa da azalma gözlenirken, probiyotik bakterilerin son pasajlarında üreme görülmedi. Bu yöntemde yapılan tekrarlar farklı sonuçlar elde edildi. Bu nedenle yöntemin tekrarlanabilirliği ve güvenilirliğinin artırılması için modifiye edilmesi gerektiği düşünüldü. Agar

difüzyon yönteminde, probiyotik bakteriler klinik kökenlerinin tümünün üzerine inhibitör etki gösterdi. Optik yoğunluk ölçümleri sonucunda, *B. animalis* subs. *lactis*'te *L. acidophilus*'a göre daha yüksek olmak üzere, probiyotik bakterilerin klinik kökenler üzerine %39 ile %86 arasında değişen oranlarda inhibisyon gösterdiği saptandı.

Probiyotiklerin olumlu etkilerinin daha geniş kapsamlı araştırılması ve insan sağlığı üzerindeki etkilerinin netleştirilmesi önemlidir. Bu amaç doğrultusunda bu çalışmanın bundan sonra gerçekleştirilecek araştırmalara bir temel oluşturacağını düşünmekteyiz. Kullanılan yöntemler modifiye edilerek, tekrarlanabilir ve güvenilir yöntemler geliştirilmelidir. Probiyotiklerin insan sağlığı üzerindeki etkilerini daha iyi gözlemek ve netleştirmek için in vivo çalışmaların gerçekleştirilmesi de önemli ve gereklidir.

**Anahtar Kelimeler;** probiyotik, patojen, inhibitör etki

## Abstract

### **Investigation of the interaction between probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains and pathogenic bacteria**

Interest in probiotics, which have taken place in people's diets for centuries, has increased more in recent years, and the important effects of probiotics such as recovery of intestinal activities, diarrhea, lactose intolerance, allergies, strengthening of immunity and even destroying cancer cells have been emphasized.

The aim of this study was to investigate the interaction between the clinical isolates of *E. coli*, *K. pneumoniae* and *S. aureus* and probiotic *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium animalis* subs *lactis*. Five *E. coli*, *K. pneumoniae* and *S. aureus* strains of all species isolated in the bacteriology laboratory of Ege University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology were included in the study. In order to investigate the interaction between clinical isolates and probiotic bacteria, a clinical isolate and a probiotic bacterium were cultured together in a liquid medium and then passaged to a solid medium to examine the change in colony counts after incubation. Agar diffusion method and optical density measurements were applied to investigate the effect of inhibition of supernatants of probiotic bacteria. In the agar diffusion method, after the clinical origins were planted on solid media, wells were drilled and the supernatants obtained from the cultures of probiotic bacteria were put into these wells. After incubation, inhibition around wells was evaluated according to zone diameters. In the optical density measurement method, clinical strains with 0.5McFarland turbidity were placed in microplates and probiotic supernatants were added and incubated, then optical densities were measured at the end of incubation. The data obtained were interpreted with SPSS 22.0.

After the co-incubation of clinical isolates and probiotics, the number of colonies of some clinical isolates decreased but it was not found significant, in addition to that, no growth was observed in the last passages of probiotic bacteria. Different results were obtained in this method. Therefore, it was thought that the method should be modified in order to increase its reproducibility and reliability. In agar diffusion method, probiotic bacteria showed inhibitory effect on all of their clinical origins. As a result of optical density measurements, *B. animalis* subs. *lactis* was higher than *L.*

*acidophilus*, probiotic bacteria showed inhibition on clinical strains ranging from 39% to 86%.

It is important to further investigate the positive effects of probiotics and clarify their impact on human health. For this purpose, we believe that this study will provide a basis for further research. Reproducible and reliable methods should be developed by modifying the methods used. It is also important and necessary to carry out in vivo studies to better observe and clarify the effects of probiotics on human health.

**Keywords;** probiotic, pathogen, inhibitory effect



# İçindekiler

Önsöz .....	II
Özet .....	III
Abstarct .....	V
İçindekiler .....	VII
Tablolar Dizini .....	VII
Şekiller Dizini .....	X
Grafikler Dizini .....	XI
Kısaltma Listesi .....	XII
1.Giriş .....	1
2.Genel Bilgiler .....	5
2.1.Probiyotikler.....	5
2.1.1.Probiyotiklerin Tanımı ve Tarihçesi.....	5
2.1.2.Probiyotik Mikroorganizmaların Özellikleri.....	6
2.1.3.Probiyotiklerin Etki Mekanizmaları.....	7
2.1.4.Probiyotiklerin Antagonistik Etkileri.....	8
2.1.5.Probiyotiklerin Sağlık Üzerine Etkileri.....	9
2.2.Prebiyotikler ve Sinbiyotikler.....	10
2.2.1.Prebiyotikler.....	10
2.2.2.Sinbiyotikler.....	11
2.3.Kullanılan Patojen Kökenler ve Özellikleri.....	11
2.3.1. <i>Escherichia coli</i> .....	11
2.3.2. <i>Klebsiella pneumoniae</i> .....	12
2.3.3. <i>Staphylococcus aureus</i> .....	12
3.Gereç ve Yöntem .....	14
3.1.Gereç.....	14
3.1.1.Bakteri Kökenleri.....	14
3.1.2.Kullanılan Besiyerleri.....	14
3.2.Yöntem.....	15
3.2.1.Bakteri Kökenlerinin Canlandırılması.....	15
3.2.2.Kullanılan Mikroorganizmaların Üreme Özelliklerinin Belirlenmesi... ..	15
3.2.3.Probiyotik ve Patojen Kökenlerin Birlikte Kültür Edilmesi.....	17

<b>3.2.4. Agar Difüzyon Yöntemi.....</b>	<b>19</b>
<b>3.2.5. Optik Yoğunluk Ölçümü.....</b>	<b>20</b>
<b>4. Bulgular .....</b>	<b>22</b>
<b>4.1. Kullanılan Mikroorganizmaların Üreme Özellikleri.....</b>	<b>22</b>
<b>4.2. Birlikte İnkübasyon Sonuçları.....</b>	<b>25</b>
<b>4.3. Agar Difüzyon Yöntemi Sonuçları.....</b>	<b>28</b>
<b>4.4. Optik Yoğunluk Değişim Sonuçları.....</b>	<b>32</b>
<b>5. Tartışma .....</b>	<b>39</b>
<b>6. Sonuç ve Öneriler .....</b>	<b>44</b>
<b>7. Kaynaklar .....</b>	<b>46</b>
<b>Ekler .....</b>	<b>54</b>
<b>Teşekkürler .....</b>	<b>58</b>
<b>Özgeçmiş .....</b>	<b>59</b>

## Tablolar Dizini

No.	Tablo Adı	Sayfa
Tablo 1	Deneyde kullanılan bakterilerin TSB ve MRSB besiyerlerindeki üreme özellikleri .....	24
Tablo 2	Deneyde kullanılan bakterilerin EMB ve MRS agar besiyerlerindeki üreme özellikleri .....	24
Tablo 3	<i>E. coli</i> koloni sayısındaki değişim .....	25
Tablo 4	<i>K. pneumoniae</i> koloni sayısındaki değişim .....	25
Tablo 5	<i>S. aureus</i> koloni sayısındaki değişim .....	26
Tablo 6	<i>E. coli</i> suşları üzerine LA-5 ve BB-12'nin inhibisyon zon çapları .....	32
Tablo 7	<i>K. pneumoniae</i> suşları üzerine LA-5 ve BB-12'nin inhibisyon zon çapları.	32
Tablo 8	<i>S. aureus</i> suşları üzerine LA-5 ve BB-12'nin inhibisyon zon çapları ...	33
Tablo 9	LA-5 ve BB-12 süpernatanlarının inhibisyon etkisinin klinik kökenler arasında karşılaştırılması .....	38

## Şekiller Dizini

No.	Şekil Adı	Sayfa
Şekil 1	Gastrointestinal sistemde yer alan mikroorganizmalar .....	2
Şekil 2	LA-5 ve BB-12'nin MRS broth ve TSB besiyerlerinde üreme özellikleri	16
Şekil 3	LA-5 MRS agar besiyerine kantitatif ekilmesi .....	18
Şekil 4	<i>E. coli</i> ve LA-5'nin birlikte kültürden EMB agar ve LSM agara kantitatif ekim .....	18
Şekil 5	<i>Bifidobacterium animalis</i> subs. <i>lactis</i> 'in ışık mikroskopunda 100x10 büyütmede görünümü .....	22
Şekil 6	<i>Lactobacillus acidophilus</i> 'un ışık mikroskopunda 100x10 büyütmede görünümü .....	23
Şekil 7	<i>L. acidophilus</i> (mor renkli basiller) ile <i>K. pneumoniae</i> (pembe renkli koklar) birlikte inkübasyonu sonucunda ışık mikroskopunda 100x10 büyütmede görünümü .....	27
Şekil 8	<i>Bifidobacterium animalis</i> subs. <i>lactis</i> (mor renkli basiller) ve <i>E. coli</i> (pembe renkli basiller) ışık mikroskopunda 100x10 büyütmede görünümü .....	28
Şekil 9	<i>K. pneumoniae</i> izolatları üzerinde <i>L. acidophilus</i> süpernatantlarının inhibisyon etkisi görüntüsü .....	29
Şekil 10	<i>K. pneumoniae</i> izolatları üzerinde <i>B. animalis</i> subs. <i>lactis</i> süpernatantlarının inhibisyon etkisi görüntüsü .....	30

## Grafikler Dizini

No	Adı	Sayfa
Grafik 1	LA-5 ve BB-12'nin <i>E. coli</i> üzerindeki inhibisyon yüzdeleri.....	33
Grafik 2	LA-5 ve BB-12'nin <i>K. pneumoniae</i> üzerindeki inhibisyon yüzdeleri ..	35
Grafik 3	LA-5 ve BB-12'nin <i>S. aureus</i> üzerindeki inhibisyon yüzdeleri .....	36



## Kısaltma Listesi

m <sup>2</sup>	: Metrekare
FOS	: Fruktooligosakkarit
LAB	: Laktik Asit Bakterileri
CO <sub>2</sub>	: Karbondioksit
O <sub>2</sub>	: Oksijen
µm	: Mikrometre
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	: Hidrojen peroksit
ppm	: Toplam madde miktarının milyonda bir birimlik kısmı (Part Per Million)
IgA	: İmmünglobülin A
VSL#3	: Farklı türlerde probiyotik bakterileri içeren tıbbi besin
HIV-1	: Human Immunodeficiency Virus
GOS	: Galaktooligosakkarit
Cfu/gr	: Gramdaki koloni oluşturan birim sayısı (Colony formic unit/gram)
ETEC	: Entereotoksijenik <i>Escherichia coli</i>
LT	: Letal Toksin
Ig	: İmmünglobülin
Fc	: Antikorun biyolojik faaliyetlerini gerçekleştiren kısmı
FAO	: Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü

LA-5	:	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
BB-12	:	<i>Bifidobacterium animalis</i> subs. <i>lactis</i>
MRS	:	Man Ragosa and Sharpe
MRSB	:	Man Ragosa and Sharpe Broth
LSM	:	Lactobacillus Selective Medium
BSM	:	Bifidobacterium Selective Medium
TSB	:	Triptik Soy Broth
EMB	:	Eozin-Metilen Blue
ml	:	Mililitre
rpm	:	Dakikadaki devir sayısı (Revolutions Per Minute)
$\mu$ L	:	Mikrolitre
mm	:	Milimetre
nm	:	Nanometre
L	:	Litre
cfu/ml	:	Mililitrede koloni oluşturan birim sayısı (colony formic unit/mililiter)
SPSS	:	Statistical Package for The Social Science

# 1.Giriş

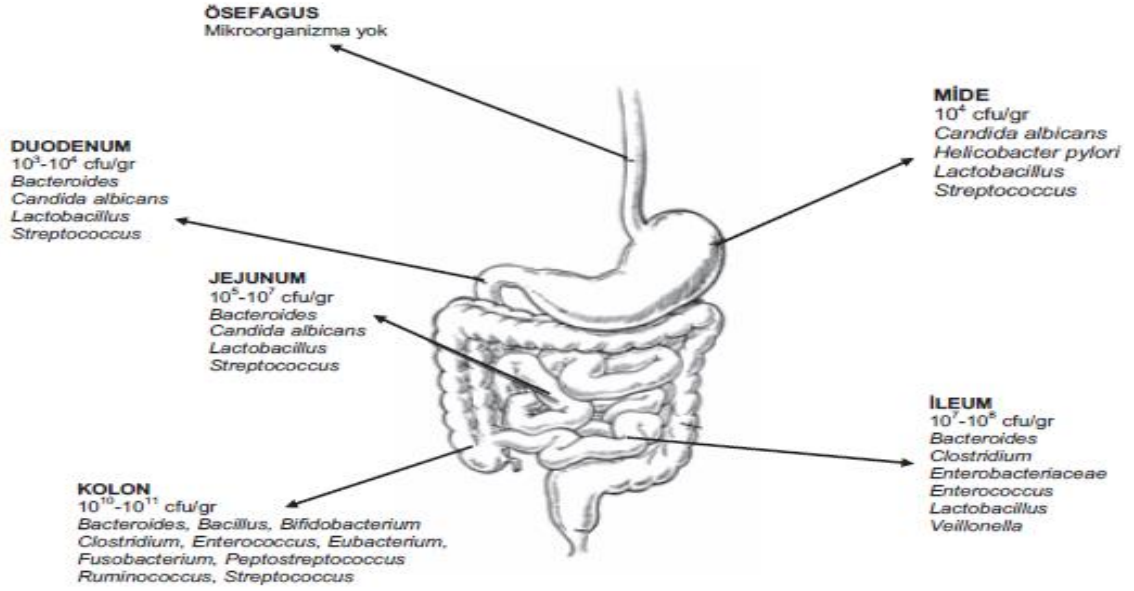
İnsan vücudu mikroorganizmaların yaşaması için uygun besin ve ısıya sahip bir ortam oluşturmakta ve bu ortamda farklı türlere ait olan, insan için yararlı ve zararlı, birbirleriyle rakabet içinde olan bakterilere ev sahipliği yapmaktadır (şekil 1). Sağlıklı bir bireyde yararlı mikroorganizmalar mikrobiyotada baskındır ve vücut hücreleriyle uyum içindedir. İnsan vücudu yaklaşık  $10^{14}$  kadar mikroorganizmaya sahiptir (Tsiouris ve Tsiouri, 2017) (Zoral, 2013) (ALP, 2008) (ÇAKIR & ÇAKMAKÇI, 2004).

İnsan vücudunda bulunan gastrointestinal sistem  $400m^2$ 'lik bir alan kaplarken, bu alanın  $200m^2$ 'sini bağırsak oluşturmaktadır. Sağlıklı bir birey insan vücudunun hücre sayısından 10-20 kat fazla mikroorganizma taşımakta ve bağırsakta yaklaşık 500 farklı mikroorganizma türü bulunmaktadır (Zoral, 2013) (Coşkun, 2006) (DAMAR, 2018) (Alkan, 2017) (Nagpal ve ark., 2018).

Fetüs anne karnında sterilken doğum sırasında ve sonrasında mikroorganizmalar ile kolonize olmaya başlar. Yenidoğanda florayı oluşturan bakteriler anne doğum kanalında bulunan mikroorganizmalar ile bebeğin yakın çevresindeki insanlarda olan mikroorganizmalardır. Bu bakteriler Enterobacteria, Bacteroides, Clostridia, gram pozitif koklar iken, anne sütü ile beslenme başlayıp devam ettikçe *Bifidobacterium*'lar floraya hakim olmaya başlar. İlerleyen zamanlarda flora gelişimini etkileyen çeşitli faktörler bulunmaktadır. Bunlar: annenin aldığı besinler, probiyotik alıp almaması, doğum şekli (vajinal veya cerrahi), bebeğin primer beslenme şekli (anne sütü veya mama), bebeğin sağlık durumu, immünolojik durumu gibi faktörler kolonizasyonu etkiler. Bağırsak florası, iki yaşından sonra yetişkin florasına benzer (DAMAR, 2018) (Coşkun, 2006) (Ceyhan ve ALIÇ, 2012) (Özden, n.d.).

Bağırsak mikroflorasının büyük bölümünü anaerob ve fakültatif anaerob bakteriler oluşturmaktadır. Mikrofloranın %95'e yakını *Bifidobacterium*, *Clostridium*, *Eubacterium*, *Fusobacterium*, *Peptococcus*, *Peptostreptococcus* ve *Bacteroides* oluştururken kalan %1-10'nda ise Laktobasil, *Escherichia coli*, *Klebsiella*,

*Streptococcus*, *Staphylococcus* ve *Bacillus* gibi türler yer almaktadır (DAMAR, 2018).



**Şekil 1.** Gastrointestinal sistemde yer alan mikroorganizmalar (Coşkun, 2006).

Bu kadar geniş bir alan olan gastrointestinal sistemde mikroorganizmalar önemli bir yere sahiptir ve sistemin düzenli çalışmasına katkı sağlamaktadır. Bu mikroorganizmalar genel olarak ‘probiyotik’ denilmektedir (Zoral, 2013) (ALP, 2008) (Nami ve ark., 2015) (Nagpal ve ark., 2018).

Probiyotikler, konak tarafından alındığında konağa yarar sağlayan, safra tuzlarına ve düşük pH’a dayanıklı, epitele tutunabilen mikroorganizmalardır. Mikrobiyotaya destek olmak, patojenlerin sayısını azaltmak, bağıışıklığı desteklemek gibi yararlı etkileri vardır. Probiyotik olarak en sık kullanılan türler *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium*’dur (Nami ve ark., 2015) (ALP, 2008) (ÇAKIR ve ÇAKMAKÇI, 2004) (Ohashi ve Ushida, 2009) (Isolauri, Salminen, ve Ouwehand, 2004).

Probiyotikler tarafından kullanılan kullanılan sindirilemeyen bileşenlere prebiyotik denir. Prebiyotikler, mikrobiyota bakterilerini sınırlı sayıda seçip gelişimini teşvik ederek konağa yarar sağlayan bileşikleridir. Bu bileşikler flora bakterileri tarafından kullanılıp laktik asit, bütirik asit gibi kısa zincirli yağ asitlerini oluştururlar. kısa

zincirli yağ asitleri ortam pH'sını düşürerek minerallerin emilimini sağlar (BAKIR, 2012) (DAMAR, 2018). Dirençli kısa zincirli karbonhidratlar olan prebiyotikler, insan gastrointestinal sistemindeki enzimler tarafından parçalanmadan kolona ulaşırlar. Prebiyotikler bağırsak mikrobiyotasından bağımsız olarak da patojen mikroorganizmaların fimbrialarına bağlanarak kolonizasyonlarını önleyerek tek başına immünomodülatör görevi görürler (Sezen, 2013) (DAMAR, 2018).

Sinbiyotikler, probiyotik ve prebiyotiklerin bir arada bulunmasıdır. Probiyotiklerin, prebiyotik bileşenler ile birlikte verilmesiyle probiyotiklerin canlılık sürelerinin daha uzun olacağı ve etkilerinin daha kuvvetli olacağı düşünülmektedir. Genellikle sinbiyotik olarak bifidobakteri ve fruktooligosakkaritler (FOS), laktobasillus GG ve inülin, bifidobakteri ve laktobasillus ve FOS, laktobasillus ve laktitol gibi birleşimler kullanılmaktadır (Likotrafiti, Tuohy, Gibson, ve Reastall, 2013) (DAMAR, 2018) (BAKIR, 2012).

Probiyotik bakteriler, bağırsak mikrobiyotasını dengede tutarlar ve ürettikleri antimikrobiyaller sayesinde patojen bakteriler üzerine inhibitör etki yaparlar. Bu yüzden insan sağlığı açısından oldukça önemlidir. Yapılan çalışmalarda bağırsak mikrobiyotasının diyare, enflamatuvar bağırsak bozukluğu, laktoz intoleransı, kolon kanseri gibi hastalıkların gelişmesini baskıladığı; immüniteyi arttırdığı ile ilgili olumlu sonuçlara varılmaktadır (Saurabh, Babu, ve Chaubey, n.d.) (İnanç ve ark., 2005) (J Garssen, M Herreilers, H van Loveren, J Vos ve This, 2003) (Fuller, 1991) (Markowiak ve Slizewska, 2017).

Prebiyotiklerin sağlık üzerine olumlu etkileri mevcuttur. Sindirilemediklerinden besin değerleri azdır ve bu sayede obeziteye yardımcı olur. Kısa zincir yağ asitlerinin ve kolon bakterilerinin artışına yol açarak patojen bakteri çoğalmasını inhibe eder. Florayı düzenleyerek ishal gelişme riskini azaltır (DAMAR, 2018) (Coşkun, 2006) (Özden, n.d.) (Demirci ve ark., 2017) (Sezen, 2013).

İntestinal floranın dengesi insanlar için önemlidir. Bu denge hastalık, yaşlılık, stres, antibiyotik kullanımı, çevre faktörleri gibi birçok faktörden etkilenmektedir. Yapılan çalışmalar göstermiştir ki, probiyotik kullanımı floranın dengeli kalmasını, patojen

kolonizasyonuna karşı bariyer olarak, immün sistemi aktive ederek enfeksiyonların azalmasını sağlamıştır (DAMAR, 2018) (ÇAKIR, 2003) (Altuntaş ve Batman, 2017).

Probiyotikler ve prebiyotiklerin insan sağlığına yararlı olması tek başına yeterli değildir. İnsanların sağlıklı bir yaşam için duyarlı olmaları gerekmektedir. Diyetlerine özen göstermeliler ve rafine şekerden uzak durmalı, diyetlerinde probiyotik ve prebiyotik içeren besinler tüketmelidirler. Alkol, stres, gereksiz antibiyotik kullanımı gibi zararlı şeylerden uzak durmalıdırlar (Zoral, 2013).

Starchan, 'hijyen hipotezi'ne göre günümüzde insanların mikrobiyal hijyen kontrolünün artması yeni yetişen bireylerde alerjik rinit insidansının arttığını göstermektedir. İnsanlarda mikrofloranın immün sistemini destekleyici olduğu bilinmektedir. Bu nedenle probiyotiklerin alınması önemlidir (Strachan, 2000).

Bu çalışma, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Bakteriyoloji laboratuvarında izole edilen patojen bakteriler ile probiyotik özellikteki *Lactobacillus acidophilus* ve *Bifidobacterium animalis* subs. *lactis* arasındaki etkileşimin incelenmesi, probiyotik özellikteki mikroorganizmaların klinik kökenler üzerindeki direkt antagonistik etkisi, ayrıca probiyotik mikroorganizmaların kültür filtratlarının klinik kökenleri üzerindeki etkisini araştırmak amacıyla gerçekleştirilmiştir.

## 2.Genel Bilgiler

### 2.1. Probiyotikler

#### 2.1.1. Probiyotiklerin Tanımı ve Tarihçesi

Probiyotik kelimesi, Yunanca'daki 'pro' ve 'biota'dan türemiş olup 'yaşam için', 'yaşamsal' anlamına gelmektedir (Coşkun, 2006) (Ceyhan ve ALIÇ, 2012) (N. T. Williams, 2010). Probiyotik kavram olarak ilk kez 19. Yüzyılda ortaya çıkmıştır ve günümüze kadar birçok bilim insanı için merak ve çalışma konusu olmuştur.

Bu kavram ilk kez 1908 yılında Nobel ödüllü Rus bilim adamı Elie Metchnikoff tarafından ortaya atılmıştır. Metchnikoff, yaptığı araştırmalarda Bulgar köylülerinin daha sağlıklı ve uzun ömürlü olmalarının nedeninin fermente süt ürünlerini fazlaca tüketmelerine bağlamıştır. Bunun nedenin ise bu ürünlerde bulunan bakterilerin bağırsak mikrobiyotasını olumlu yönde etkilemesi olduğunu belirtmiştir (Coşkun, 2006) (ÇAKIR ve ÇAKMAKÇI, 2004) (Nami ve ark., 2015).

Probiyotik terimini tıbbi terminolojide ilk olarak 1954 yılında Ferdinand Vergin'in 'Anti und probiotika' adlı makalesinde kullanılmıştır. Vergin çalışmasında probiyotiklerin antibiyotiklerin olumsuz etkilerini olumlu olarak değiştiren olarak tanımlamış ve yaşam için yararlı olduğunu göstermiştir (Sarowska ve Jama-kmieciak, 2013).

1965 yılında Lilly ve Stillwell yayınladıkları çalışmalarında probiyotikleri bir mikroorganizma tarafından salınıp diğerinin büyümesini teşvik eden maddeler olarak tanımlamışlardır (Salminen, Koletzko, Guarner, Perdigon, ve Morelli, 2005).

1974 yılında Parker probiyotik tanımını bugünkü anlamına en yakın şekilde 'intestinal sistemin mikrobiyal dengesine katkıda bulunan madde ve organizmalar' olarak tanımlamıştır (ÇAKIR ve ÇAKMAKÇI, 2004) (Tirmalar, 2012).

Bugün kabul gören probiyotik tanımı 1989 yılında Roy Fuller tarafından ‘intestinal sistem mikrobiyotasını koruyup geliştirerek, konakçı sağlığına yarar sağlayan canlı mikrobiyal gıda katkıları’ olarak yapılmıştır (ÇAKIR ve ÇAKMAKÇI, 2004) (Zoral, 2013).

Avrupalı bilim insanları probiyotik kelimesinin tanımına son şeklini vermişlerdir. Dünya Sağlık Örgütü’nde çalışan bilim insanları probiyotik tanımını ‘yeterli miktarda alındığında, konakçı sağlığı üzerinde yararlı etkiler yapan canlı mikroorganizmalar’ olarak tanımlamışlardır (ÇAKIR ve ÇAKMAKÇI, 2004) (Salminen ve ark., 2010).

## 2.1.2. Probiyotik Mikroorganizmaların Özellikleri

Probiyotik olarak kullanılan laktik asit bakterileri, Bergey’s of Systematic Bacteriology’de Boone ve Castenholz ‘un yaptığı sınıflandırmaya göre *Firmicutes* şubesinin *Bacilli* sınıfına üyelerdir.

Laktik asit bakterileri gram pozitif, sporsuz, çubuk, kok veya kokobasil formda, oksidaz ve katalaz negatif, nitrat redüksiyonu negatif, jelatinaz negatiftir. *Bifidobacterium*’daki süperoksit dismutaz ve katalaz, süperoksit ve hidrojen peroksitin toksik etkilerine karşı organizmaları korur. *Lactobacillus*’lar, uçları yuvarlak, 0.6-0.9 ile 1.5-6.0 µm uzunluğunda çomak, fakültatif anaerob, hareketsiz, katalaz negatiftirler. pH 3’e kadar canlılıklarını koruyabilirken, optimal pH aralığı 5.5-6’dır. 40-45°C sıcaklıklara kısmen dayanıklı olsalar da üremeleri için optimum sıcaklık 35-38°C’dir. Safra tuzlarına karşı direnç gösterirler ve ince bağırsakta yaşarlar (Koçak, Fındık, ve Çiftçi, 2016) (Murat, 2012) (Duan, Yang, Niu, ve Wang, 2015) (Sezer, 2017) (DAMAR, 2018) (Ceyhan ve ALIÇ, 2012).

*Bifidobacterium*’lar, eğri basil şeklinde, hareketsiz, katalaz negatiftir. Genellikle anaerop özellik göstermelerine rağmen oksijen toleransları değişkendir. Bazıları %10 CO<sub>2</sub>’li ortamda üretilen, bazıları da süperoksit dismutaz sayesinde oksijenin zararlı etkilerini tolere edebilir. Optimum büyüme sıcaklığı 37-43 °C; optimum pH 6,5-7’dir. Ortamın pH değeri 4,5’den az, 8,5’den yüksek olduğundan çoğalmaları yavaşlamaktadır. Glikoz metabolizması sonucu asetik asit ve laktik asit üretirler.

Glukozu, asetat ve laktata fermente ettikleri için bu bakteriler heterofermentatif özellik göstermektedirler ve kalın bağırsakta koloni oluşturmaktadırlar (DAMAR, 2018) (Murat, 2012) (Sezer, 2017) (ALP ve ASLIM, 2009) (Ceyhan ve ALIÇ, 2012). Mikroorganizmaların probiyotik olarak kabul edilebilmesi için belirli özelliklere sahip olması gerekmektedir. Bunlar;

- Probiyotikler çoğunlukla insanların kullanımına yönelik olduğu için mikroorganizmanın adaptasyonunu kolaylaştırmak amacıyla insan kökenli olmalıdır.
- Patojen ve toksik olmamalıdır.
- Sindirim sistemi boyunca canlılığını koruyup bağırsaklara ulaştığında metabolik aktivitesini sürdürebilmelidir.
- Mide asiditesi, safra tuzları ve proteolitik enzimlere karşı dirençli olmalıdır.
- İntestinal mukozaya tutunabilmelidir. Bu sayede immün sistem modülasyonu sağlamalı, patojen mikroorganizmaların tutunmasını engellemeli, kolonizasyonunu kalıcı hale getirmelidir. Tutunma özelliği biyolojik etki gösterebilmesi için olmazsa olmazdır.
- Antimikrobiyal maddeler üretmelidir. Antimikrobiyal madde üretme özelliğini patojen mikroorganizmalara transfer etmemelidir.
- Konağın sağlığına klinik olarak kanıtlanmış yarar sağlamalıdır.
- Gıda içerisinde canlılığını koruyabilmeli, ürettiği antimikrobiyaller sayesinde herhangi bir kontaminasyonda patojenleri ortadan kaldıracaktır.
- Stabil olmalı, endüstriyel olarak üretilmelidir (Zoral, 2013) (ÇAKIR ve ÇAKMAKÇI, 2004) (ALP ve ASLIM, 2009) (GÜRSOY ve KINIK, 2004) (Ceyhan ve ALIÇ, 2012) (Coşkun, 2006) (Özden, n.d.) (DAMAR, 2018)

Probiyotik olarak kullanılan mikroorganizmalar EK 1.'de gösterilmiştir (Zoral, 2013) (ÇAKIR ve ÇAKMAKÇI, 2004) (ALP ve ASLIM, 2009) (Coşkun, 2006) (Ceyhan ve ALIÇ, 2012) (Özden, n.d.) (Özbek, 2010).

### **2.1.3. Probiyotiklerin Etki Mekanizmaları**

Probiyotik özelliğe sahip bakteriler, konak yararına olacak etkiler sağlamaktadır. Bu yararlı etkiler bir takım biyolojik etkileşimler ve etki mekanizmalarıyla gerçekleşir.

Yapılan bazı çalışmalarda *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* gibi probiyotik mikroorganizmaların intestinal sistemde redoks potansiyelini düşürerek etki gösterdikleri açıklanmıştır (Murat, 2012).

Probiyotiklerin etki mekanizmaları şöyle özetlenebilir (Markowiak ve Slizewska, 2017) (Zoral, 2013) (ALP ve ASLIM, 2009) (ÇAKIR, 2003) (ÇAKIR ve ÇAKMAKÇI, 2004) (Ceyhan ve ALIÇ, 2012) (Coşkun, 2006):

- 1) Patojen mikroorganizmaların üremesini baskılamak ve sayılarının azalmasını sağlamak
  - a) İnhibe edici özelliğe sahip antimikrobiyal maddeler üretmek
  - b) Bağırsak pH'sını düşürmek
  - c) Besin maddeleri için rekabete girmek
- 2) Mikrobiyal metabolizmayı değiştirmek
  - a) Sindirim sistemini destekleyen enzimler üretmek (örn; bakteriyel laktaz
  - b) Toksik maddeleri ve toksik reseptörleri yıkmak (örn; *Clostridium difficile* toksininin yıkımı) (Castagliuolo, Riegler, Valenick, LaMont, & Pothoulakis, 1999)
  - c) Bağırsak duvar fonksiyonlarını düzenlemek
- 3) Bağışıklık sistemini düzenlemek
  - a) Spesifik ve spesifik olmayan bağışıklığı uyarmak
  - b) Antikor üretimini arttırmak
  - c) Makrofaj aktivitesini arttırmak

#### **2.1.4. Probiyotiklerin Antagonistik Etkileri**

Probiyotik bakteriler bakteriyosin, laktik asit, asetik asit, hidrojen peroksit gibi antimikrobiyal maddeler üreterek mikrobiyotada istenmeyen diğer bakterilerin sayısını kontrol ederek dengeyi sağlarlar. Bu etki, açığa çıkan son ürünlerin ortamın pH'ını düşürmesinden kaynaklanmaktadır. *Lactobacillus* türleri ince bağırsakta, *Bifidobacterium*'lar kalın bağırsakta bulunmaktadır (DAMAR, 2018) (Murat, 2012).

Probiyotik bakterilerin ürettikleri antimikrobiyaller EK 2.'de gösterilmiştir.

## 2.1.5. Probiyotiklerin Sağlık Üzerine Etkileri

Yapılan çalışmalar probiyotiklerin çeşitli hastalıkları önlediği ve tedavi ettiği; doğrudan ve dolaylı olarak insanlar üzerinde yararlı etkileri olduğu gösterilmiştir. Probiyotiklerin bağırsak epiteline tutunmaları; kolonizasyon, patojenlere karşı antimikrobiyal maddeler üretmek ve immün sistemin aktive edilmesi için gereklidir (Zoral, 2013) (Murat, 2012) (Daliri ve Lee, 2015).

Yapılan çalışmalarla probiyotiklerin sağlık üzerine etkileri şu şekilde sıralanabilir:

- **Diyare** (Zoral, 2013) (ALP ve ASLIM, 2009) (Coşkun, 2006) (Ceyhan ve ALIÇ, 2012) (Inanç, Şahin, ve Çiçek, 2005) (NANCY TOEDTER Williams, 2010).
- **Antibiyotik İlişkili Diyare ve *Clostridium difficile* Enfeksiyonu** (Zoral, 2013) (Coşkun, 2006) (Ceyhan ve ALIÇ, 2012) (J Garssen, M Herreilers, H van Loveren, J Vos ve This, 2003) (Sezen, 2013) (NANCY TOEDTER Williams, 2010).
- **Yolcu İshali** (J Garssen, M Herreilers, H van Loveren, J Vos ve This, 2003) (NANCY TOEDTER Williams, 2010) (Coşkun, 2006).
- **Enflamatuvar Bağırsak Enfeksiyonları** (Inanç ve ark., 2005) (Coşkun, 2006) (NANCY TOEDTER Williams, 2010) (Sezen, 2013).
- **Irritabl Bağırsak Sendromu** (Coşkun, 2006) (Sezen, 2013) (Özbek, 2010).
- **Genitoüriner Sisteme Etkileri** (Coşkun, 2006) (J Garssen, M Herreilers, H van Loveren, J Vos ve This, 2003) (Özbek, 2010) (NANCY TOEDTER Williams, 2010).
- ***Helicobacter pylori* Enfeksiyonları** (Coşkun, 2006) (Zoral, 2013) (Inanç ve ark., 2005) (Sezen, 2013) (Özbek, 2010) (Ceyhan ve ALIÇ, 2012).
- **Laktöz İntoleransı** (J Garssen, M Herreilers, H van Loveren, J Vos ve This, 2003) (Coşkun, 2006) (ALP ve ASLIM, 2009) (Daliri ve Lee, 2015).
- **Kolesterol Üzerine Etkileri** (Tsiouris ve Tsiouri, 2017) (J Garssen, M Herreilers, H van Loveren, J Vos ve This, 2003) (Daliri ve Lee, 2015) (ÇAKIR, 2003)(Zoral, 2013).
- **Atopik Hastalıklar** (Coşkun, 2006) (Ceyhan ve ALIÇ, 2012) (J Garssen, M Herreilers, H van Loveren, J Vos ve This, 2003) (Inanç ve ark., 2005).

- **Kanser ve Tümör Baskılayıcı Etkileri** (Özbek, 2010) (Kahraman ve Karahan, 2018) (Zoral, 2013) (Inanç ve ark., 2005) (Coşkun, 2006) (Zoral, 2013) (Özbek, 2010).
- **Tip 2 Diyabet ve Obezite** (Altuntaş ve Batman, 2017).

## 2.2. Prebiyotikler ve Sinbiyotikler

### 2.2.1. Prebiyotikler

Prebiyotik tanımı, ilk defa 1995 yılında Gibson ve Roberfroid tarafından “kolondaki bir veya sınırlı sayıdaki bakterinin aktivitesini ve/veya büyümesini uyararak konağı faydalı olarak etkileyen ve sonuç olarak konağın sağlığını geliştiren sindirilemeyen gıda katkısı” olarak yapılmıştır (Özyurt ve Ötle, 2014) (DAMAR, 2018) (Demirci ve ark., 2017) (Oliveira, Pinheiro, Oliveira, Perego, ve Converti, 2009).

Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Örgütü (FAO)’nün tanımına göre “prebiyotik, konakçı florasındaki bakterilerin seçici olarak gelişimini sağlayarak konağın sağlığı üzerine fayda sağlayan canlı olmayan gıda bileşenidir”. Buna göre prebiyotikler lif olabilir ancak her lif probiyotik değildir. Sindirilemeyen karbonhidratlar özellikle oligosakkaritlerin yanı sıra lipidler, bazı peptitler, şeker polioller de prebiyotik özelliği göstermektedir (Tsiouris ve Tsiouri, 2017) (Demirci ve ark., 2017) (Özyurt ve Ötle, 2014).

Prebiyotikler kolona ulaştıktan sonra konakçı metabolizmasında çeşitli etkilere yol açarlar. Bu etkiler (DAMAR, 2018) (Demirci ve ark., 2017);

- Bağırsak mikrobiyotasını desteklemek ve bağırsak geçiş mekanizmasını uyarmak
- İshal ve kabızlık durumlarının önlenmesi için mikrobiyotayı değiştirmek
- Glukoz ve kolesterol gibi maddelerin miktarını dengelemek, sadece konağın ihtiyacı olan maddelerin absorpsiyonunu sağlamak
- Bifidobacteria ve laktik asit bakterilerinin gelişimini arttırmak

- B vitaminlerinin (B1, B2, B3, B6, B9, B12 ) üretimini ve absorpsiyon mekanizmasını desteklemek
- Bağışıklık sistemini uyarmak
- Ca ve Mg gibi minerallerin emilimini arttırmak

## 2.2.2. Sinbiyotikler

Prebiyotik ve probiyotiklerin sinerjik etkisinden dolayı bunların birlikte buldukları besin veya katkı maddelerine sinbiyotik adı verilmektedir. En iyi bilinen örnekler; *Bifidobacterium*'lar ile fruktooligosakkaritler (FOS), *Lactobacillus*'lar ile laktitol, *Bifidobacterium*'lar ile galaktooligosakkaritlerdir (GOS). Probiyotiklerin, prebiyotiklerle verilmesinin daha uzun süre canlı kalmalarını sağladığı ve hem probiyotiklerin hem de prebiyotiklerin etkilerinin daha fazla olduğu düşünülmektedir. Yapılan bir çalışmada şişkinlik, karın ağrısı ve gaz sorunu yaşayan 100 kadından 50'sine 30 gün boyunca FOS, *Lactobacillus paracasei*, *L. rhamnosus*, *L. acidophilus* ve *Bb. lactis*, 50'sine de plesebo uygunlamış ve sinbiyotik kullanan hastalarda daha iyi sonuçlar elde edilmiş. Ayrıca sinbiyotiklerin antimikrobiyal, immünomodülatör, antikarsinojenik, diyare önleyici, antialerjik ve hipoglisemik etkileri ispatlanmıştır (Zoral, 2013) (DAMAR, 2018) (Coşkun, 2006) (Sezen, 2013) (İlkgül, 2005) (BAKIR, 2012).

## 2.3.Kullanılan Patojen Kökenler

### 2.3.1 *Escherichia coli*

Enterobacteriaceae ailesinin bir üyesi olan *E. coli* gram negatif, spor oluşturmeyen, çomak şeklinde, fakültatif anaeroplardır. Basit besiyerlerinde ürerler. Katalaz testi

pozitif iken oksidaz testi negatiftir. Karbonhidratları fermente ederek asit ve gaz oluştururlar. *E. coli*'de bulunan polisakkarid yapıdaki K1 kapsülü bakterinin beyin-omurilik sıvısında ve kanda canlı kalmasını sağlamaktadır. Tip I fimbriaları, bakterinin kolon mukozasına bağlanmasını sağlar. Tip II fimbriyalardan olan S fimbria bakteriyemi yapan *E. coli* kökenlerinde bulunurken; P fimbria ve X faktörü üropatojen *E. coli* kökenlerinde bulunur. *Escherichia* cinsi üyeleri insan ve hayvanların kolonlarında yaşamaktadır. Kolondan başka bir alana (örneğin idrar yolları) geçtiklerinde enfeksiyona yol açan fırsatçı patojenlerdir. Bazı *E. coli* suşları bebeklerde ishal; yaşlılar ve bağışıklığı baskılanmış kişilerde idrar yolu enfeksiyonuna; ayrıca sepsis ve menenjitte de neden olabilirler (BROOKS, CARROLL, BUTEL, ve MORSE, 2010) (MADİGAN ve MARTİNKO, 2010).

### **2.3.2 *Klebsiella pneumoniae***

Enterobacteriaceae ailesinin bir üyesi olan *Klebsiella* cinsi gram negatif, hareketsiz, laktozu fermente ederler. Basit besiyerlerinde ürerler. En belirgin özellikleri katı besiyerlerinde büyük mukoid koloniler oluşturmalarıdır. Üreaz enzimleri vardır. *K. pneumoniae*, sağlıklı insanlarda üst solunum yolu ve dışkı florasının % 5-10'unu oluşturur. Kapsüler polisakkaridi, sepsise sebep olan önemli bir virülans faktörüdür. *K. pneumoniae* hastane kaynaklı enfeksiyonlardan sorumlu bakteriler arasında yer alır. Ayrıca akciğerde pnömoni, yumuşak doku enfeksiyonları, idrar yolu enfeksiyonları oluşturabilirler (BROOKS ve ark., 2010) (MADİGAN ve MARTİNKO, 2010).

### **2.3.3 *Staphylococcus aureus***

*Micrococcaceae* familyasından gram pozitif, hareketsiz, sporsuz, yaklaşık 1 µm çapında, sıvı besiyerinde üzüm salkımı gibi düzensiz kümeler yapan küresel

hücrelerdir. Aerop ya da mikroaerofil koşullarda, optimum 37 °C'de ürerler. Pigment oluşturan türlerde en iyi pigment oluşumu 22-25 °C'de gerçekleşir. Katalaz enzimleri bulunur. *Staphylococcus aureus* diğer türlerden koagülaz enzimlerinin varlığı ile ayrılır. Hemoliz özellikleri vardır. Karbonhidratları gaz oluşturmada ferment ederler. Kuruluğa, ısıya (50 °C de 30 dakika dayanırlar) ve %9 sodyum klorüre dirençlidirler. *S. aureus*'un polisakkarid yapıdaki kapsülü, bakterinin dokulara ve yabancı cisimlere (katater gibi) bağlanmasını sağlar. *S. aureus* başlıca insan patojenidir. Kalıcı mikrobiyota elemanıdır ve en sık burunda bulunur. Hastane kaynaklı enfeksiyonların ilk sebebidir. Toksik şok sendromu, besin zehirlenmesi ve haşlanmış deri sendromu gibi toksijenik enfeksiyonlar ile bakteriyemi, sepsis, endokardit, menenjit, pnömoni gibi piyogenik enfeksiyonlara sebep olmaktadır (BROOKS ve ark., 2010).

## 3.Gereç ve Yöntem

### 3.1. Gereç

#### 3.1.1. Bakteri Kökenleri

Bu çalışmada probiyotik olarak liyofilize halde bulunan *Lactobacillus acidophilus* (LA-5) ve *Bifidobacterium animalis* subs. *lactis* (BB-12) bakterileri kullanılmıştır. Patojen köken olarak Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Bakteriyoloji laboratuvarında izole edilmiş olan *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Staphylococcus aureus* kökenlerinden beşer adet çalışmaya dahil edilmiştir.

#### 3.1.2. Kullanılan Besiyerleri

Nutrient Agar (Difco)

Nutrient Broth

Süt Besiyeri

Tryptic Soy Broth

DE MAN, ROGOSA, SHARPE (MRS) Broth (Oxoid)

DE MAN, ROGOSA, SHARPE (MRS) Agar (Oxoid)

Lactobacillus Selection Agar Base (LSM) (Himedia)

Bifidus Selective Agar (BSM) (Sigma)

## 3.2. Yöntem

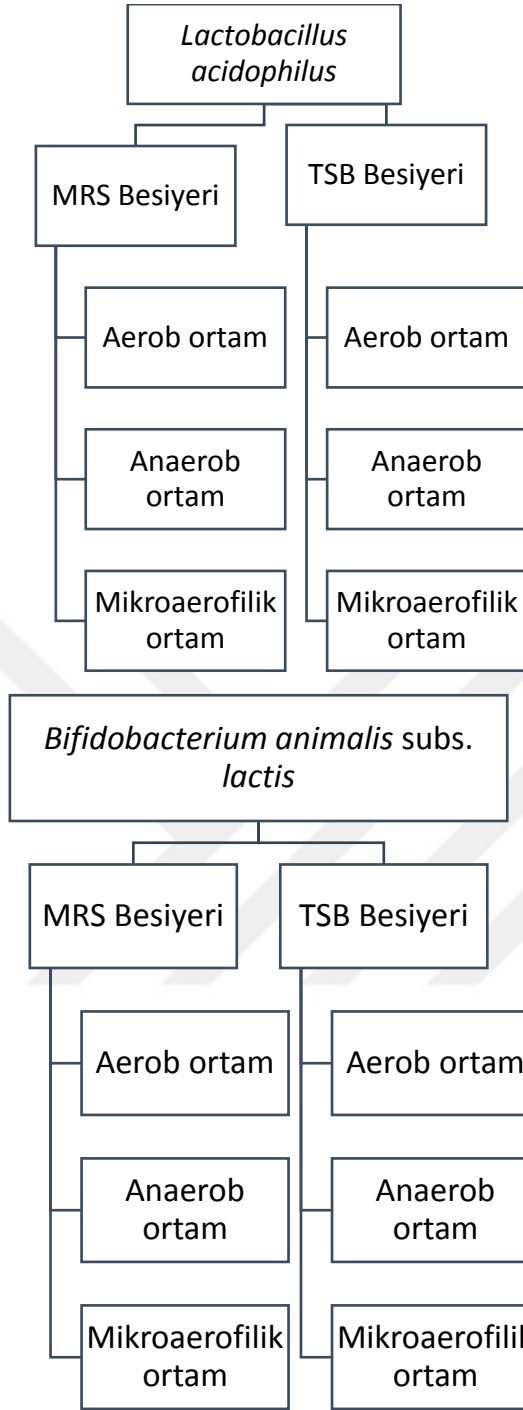
### 3.2.1. Bakteri Kökenlerinin Canlandırılması

Probiyotik olarak kullanılan liyofilize *Lactobacillus acidophilus* (LA-5) ve *Bifidobacterium animalis* subs. *lactis* (BB-12) canlandırılmasında 5 mL %10'luk süt besiyerine (10 gram süt tozu; 100 mL distile su) 10 mg liyofilize bakteri inoküle edilerek 37°C'de 24 saat aerob inkübasyona bırakıldı. 24 saat sonra üreme gözlemlendi.

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji A.D. Bakteriyoloji laboratuvarında izole edilen *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Staphylococcus aureus* klinik izolatlarının -80°C'deki %10 gliserinli beyin-kalp infüzyon broth stoklarından nutrient agar besiyerine ekim yapıldı ve 37°C'de 24 saat aerob inkübasyona bırakıldı. Kökenlerin kontrolü için 24 saatlik kültürlerden EMB besiyerine ekim yapıldı ve plaklar 37°C'de 24 saat aerob inkübasyona bırakıldı.

### 3.2.2. Kullanılan Mikroorganizmaların Üreme Özelliklerinin Belirlenmesi

Canlandırılan *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium animalis* subs. *lactis*, *E. coli*, *K. pneumoniae* ve *S. aureus* suşları için 3'er MRS broth ve 3'er TSB besiyeri hazırlandı. Her bir besiyeri aerob, anaerob ve mikroaerofil olmak üzere üç farklı inkübasyona bırakıldı.



**Şekil 2.** LA-5 ve BB-12'nin MRS broth ve TSB besiyerlerinde üreme özellikleri

Daha sonra LA-5 ve BB-12, EMB agardaki; *E. coli*, *K. pneumoniae* ve *S. aureus* MRS agardaki üreme özelliklerine bakıldı.

Aerob ortamda inkübe edilen kültürden inokulum alınıp plaklara ekildikten sonra aerob ortamda; anaerob ortamda inkübe edilen kültürden inokulum alınıp plaklara ekildikten sonra anaerob ortamda; mikroaerofil ortamda inkübe edilen kültürden

inokulum alınıp plaklara ekildikten sonra mikroaerofil ortamda inkübasyona bırakıldı.

### **3.2.3. Probiyotik ve Klinik Kökenlerin Birlikte Kültür Edilmesi**

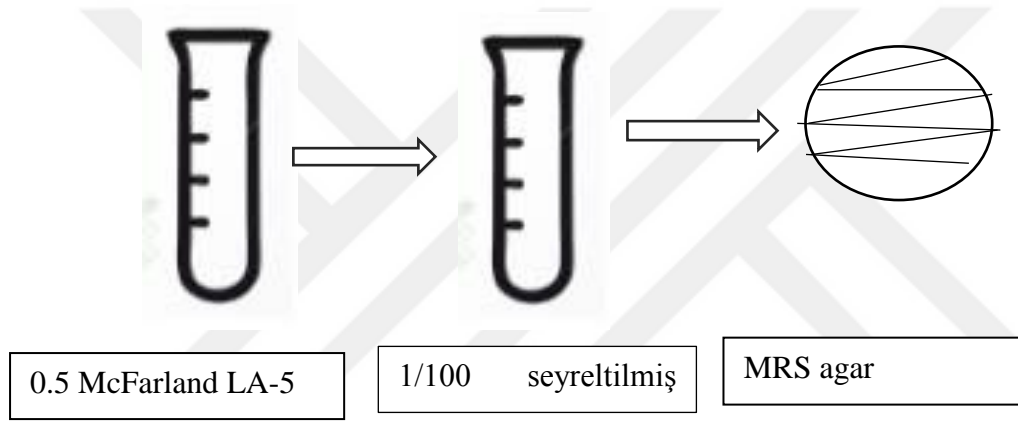
Liyofilize haldeki *Lactobacillus acidophilus* ve *Bifidobacterium animalis* subs. *lactis* kökenleri canlandırılmak üzere MRS broth besiyerine ekildi ve 37 °C'de 24 saat aerob inkübasyona bırakıldı.

Patojen örnekler -80 °C'deki stoklarından nutrient agar besiyerine pasajlandı ve örnekler 37°C'de 24 saat aerob inkübasyona bırakıldı.

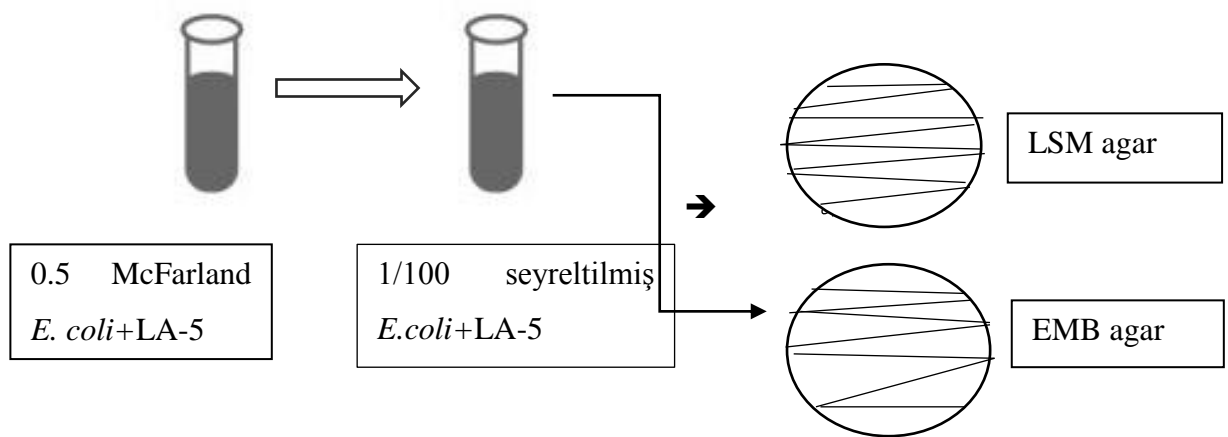
24 saatlik kültürü yapılan her bakteri ayrı ayrı MRS broth besiyeri ile 0.5 McFarland bulanıklığına ayarlandı. 0.5 McFarland ayarlı bakteri süspansiyonları 1/1000 oranında seyreltildi. 5 ml MRS broth besiyerine seyreltilen bakteri süspansiyonları 37 °C'de 24 saat aerob ortamda 100 Rpm'de çalkalamalı etüvde inkübasyona bırakıldı. 24 saatlik kültürlerin her biri 1/100000 oranında steril serum fizyolojik ile seyreltilip 10 µL örnek alındıktan sonra MRS agar besiyerine ekim yapıldı. Agar plaklar 37 °C'de 18 saat aerob inkübasyona bırakıldı. Ertesi gün koloni sayımı yapıldı.

24 saatlik inkübasyondan sonra her bakteri kültürü ayrı ayrı MRS broth besiyeri ile 0.5 McFarland bulanıklığına ayarlandı. Bu bakteri süspansiyonları 1/1000 oranında seyreltildi. Bakteri süspansiyonları LA-5 ile *E. coli*, LA-5 ile *K. pneumoniae*, LA-5 ile *S. aureus*; BB-12 ile *E. coli*, BB-12 ile *K. pneumoniae*, BB-12 ile *S. aureus* son hacim 10 ml olacak şekilde birleştirilerek 37 °C'de 18 saat aerob ortamda 100 Rpm'de çalkalamalı etüvde inkübasyona bırakıldı. Ertesi gün LA-5 ile *E. coli*, LA-5 ile *K. pneumoniae* (şekil 7) ve LA-5 ile *S. aureus* ko-kültürleri 1/1000 oranında steril serum fizyolojik ile seyreltilip 10'ar µL örnek alınıp LA-5 koloni sayısındaki değişimi gözlemek için LSM agar besiyerine; 1/100000 oranında seyreltilip *E. coli* ve *K. pneumoniae* koloni sayısındaki değişimi gözlemek için EMB agara; 1/100000 oranında seyreltilip *S. aureus* koloni sayısındaki değişimi gözlemek için mannitol agar besiyerine ekim yapıldı. BB-12 ile *E. coli* (şekil 8), BB-12 ile *K. pneumoniae* ve

BB-12 ile *S. aureus* ko-kültürleri 1/100000 oranında steril serum fizyolojik ile seyreltilip BB-12 koloni sayısındaki değişimi gözlemek için BSM agar besiyerine; *E. coli* ve *K. pneumoniae* koloni sayısındaki değişimi gözlemek için EMB agara; *S. aureus* koloni sayısındaki değişimi gözlemek için mannitol agar besiyerine kantitatif ekim yapıldı. LSM agar 37 °C’de 70-72 saat %3-5 CO<sub>2</sub> etüvde; BSM agar 37°C’de 48 saat anaerob ortamda; EMB agar ve mannitol agar besiyerleri 37 °C’de 18 saat aerob ortamda inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda koloni sayımları yapıldı. Deney üç kez tekrar edildi. Belirlenen koloni sayılarının ortalaması alındı (Fooks ve Gibson, 2002) (Fijan, Šulc, ve Steyer, 2018) (Kalkan, 2016)



Şekil 3. LA-5 MRS agar besiyerine kantitatif ekilmesi



Şekil 4. *E. coli* ve LA-5'nin birlikte kültürden EMB agar ve LSM agara kantitatif ekim

### 3.2.4. Agar Difüzyon Yöntemi

*Lactobacillus acidophilus* ve *Bifidobacterium animalis* subs. *lactis*'in %10'luk süt besiyerindeki 24 saatlik kültürlerinden MRS broth besiyerine pasaj yapıldı ve 37 °C'de 24 saat aerob inkübasyona bırakıldı. Klinik izolatlar nutrient agar besiyerindeki 24 saatlik kültürlerinden MRS broth besiyerine pasaj yapıldı ve 37 °C'de 24 saat aerob inkübasyona bırakıldı.

*Lactobacillus acidophilus* ve *Bifidobacterium animalis* subs. *lactis*'in MRS broth'daki 24 saatlik kültürleri; LA-5 için McFarland bulanıklığı 8,5 ve BB-12 için McFarland bulanıklığı 11 olacak şekilde 1,5 mL'lik santirüj tüplerine konuldu. Kültürler 100.000 rpm, 4 °C'de, 20 dakika santrifüj edildi. Elde edilen süpernatantlar 0.22 µm filtreden (ISOLAB, Syringe Filter) geçirilerek steril edildi (Coman ve ark., 2014) (Prabhurajeshwar ve Chandrakanth, 2017).

Patojen örneklerin 24 saatlik kültürlerinden inokulum alınıp steril serum fizyolojik ile 0.5 McFarland bulanıklığına ayarlandı. 0.5 McFarland bulanıklığındaki örneklerden nutrient agar besiyerlerine ekim yapıldı. Ekim yapılan agar besiyerlerine steril pipet uçları kullanılarak kuyucuklar açıldı. Açılan bu kuyucuklara filtre edilmiş olan *Lactobacillus acidophilus* ve *Bifidobacterium animalis* subs. *lactis* süpernatantları 100'er µL eklendi. Birçok agar difüzyon yönteminde inkübasyon süresi 24-48 saat; inkübasyon sıcaklığı 37°C olarak belirtilmiş olmasına rağmen, çalışmamızda yaptığımız denemelerde 25°C'de 12-16 saatler arasının antimikrobiyal etkide önemli olduğu, bu saatlerde inhibisyon zonlarının en net gözlemlendiği; ilerleyen saatlerde zonların azaldığı ve 24. saat sonunda çok nadir olsa da sadece birkaç izolatın antimikrobiyal etkisini koruduğu gözlemlendi. Bu nedenle çalışmada 16 saatlik inkübasyon süresi sonunda zon çapları ölçüldü. İnhibisyon zon çapı 5mm'den küçük olanlar zayıf derecede inhibisyon, 5-10mm arası olanlar orta derecede inhibisyon ve 10mm'den büyük olanlar ise güçlü derecede inhibisyon olarak yorumlandı. Bu yöntem üç tekrarlı gerçekleştirildi (Naderi ve ark., 2014) (Shokryazdan ve ark., 2014) (Hütt, Shchepetova, Lõivukene, Kullisaar, ve Mikelsaar, 2006) (Halder, Mandal, Chatterjee, Pal, ve Mandal, 2017) (Ertekin ve Çon, 2014) (Delcaru ve ark., 2016) (Khalid, Siddiqi, ve Mojgani, 1999) (Duan ve ark., 2015) (Quraishi ve ark., 2018) (Zago ve ark., 2011) (Rodriguez-Palacios, Staempfli,

Duffield, ve Weese, 2009) (Dubourg, Elswawi, ve Raoult, 2015) (Abdel-daim ve ark., 2013).

### 3.2.5. Optik Yoğunluk Ölçümü

*Lactobacillus acidophilus* ve *Bifidobacterium animalis* subs. *lactis*'in %10'luk süt besiyerindeki 24 saatlik kültürlerinden MRS broth besiyerine pasaj yapıldı ve 37 °C'de 24 saat aerob inkübasyona bırakıldı. Klinik izolatların nutrient agardaki 24 saatlik kültürlerinden MRS broth besiyerine yapılan pasajlar 37 °C'de 24 saat aerob inkübasyona bırakıldı.

*Lactobacillus acidophilus* ve *Bifidobacterium animalis* subs. *lactis*'in MRS broth'daki 24 saatlik kültürleri; LA-5 için McFarland bulanıklığı 8,5 ve BB-12 için McFarland bulanıklığı 11 olacak şekilde 1,5 mL'lik santirüj tüplerine 1 ml olarak konuldu. Kültürler 100.000 rpm, 4 °C'de, 20 dakika santrifüj edildi. Elde edilen süpernatantlar 0.22 µm filtreden geçirilerek bakteriler uzaklaştırıldı. Steril serum fizyolojik kullanılarak, elde edilen süpernatantların bulanıklıkları 0.5 McFarland olarak ayarlandı (Coman ve ark., 2014) (Prabhurajeshwar ve Chandrakanth, 2017).

Klinik izolatların bakteri yoğunluğu densitometre (DEN-1) ile 0.5 McFarland bulanıklığına ayarlandı. Bu işlem her patojen köken için gerçekleştirildi. Daha sonra her bir bakteri süspansiyonundan 100'er µL alınarak 96 kuyucuklu mikropalakların 3 kuyucuğuna konuldu. Bu kuyucuklara 30'ar µL süpernatant ilave edildi. Süpernatant kontrolü için birer kuyucuğa yalnızca *Lactobacillus acidophilus* ve *Bifidobacterium animalis* subs. *lactis* kültüründen elde edilen 30 µL süpernatant konuldu. Ayrıca bakteri üreme kontrollerine ve besiyeri kontrollerine de yer verildi. Mikropalaklar 37°C'de aerob koşullar altında bir gecelik inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda mikropalaklar 600nm dalga boyunda mikropalaka okuyucuda (Varioskan Flash, Thermo Fisher Scientific, US) okutuldu (Lash, Gourama, ve Mysliwiec, 2002) (Hütt ve ark., 2006) (Jones ve Versalovic, 2009) (Rodriguez-Palacios ve ark., 2009). Elde edilen değerler aşağıdaki formül kullanılarak hesaplandı ve klinik izolatların inhibisyon yüzde değerleri belirlendi.

$$\% \text{ inhibisyon} = 100 \times \{1 - (\text{DOs} / \text{DOc})\}$$

DOs – süpernatant eklemiş kuyucukların optik yoğunluk değeri

DOc – negatif kontrolün optik yoğunluk değeri

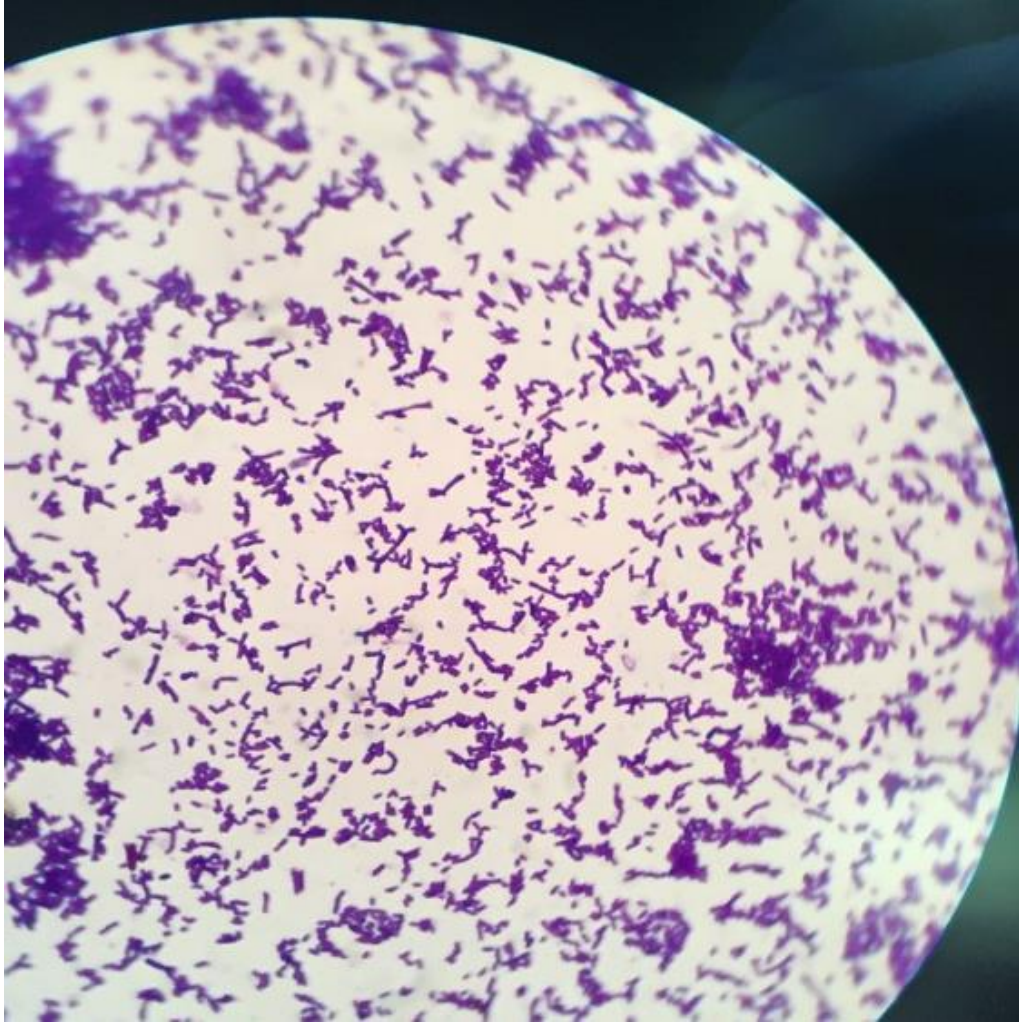
Optik yoğunluklar ölçüldükten sonra elde edilen veriler SPSS 22.0 ile yorumlandı (Pehrson, Mancilha, ve Pereira, 2015).



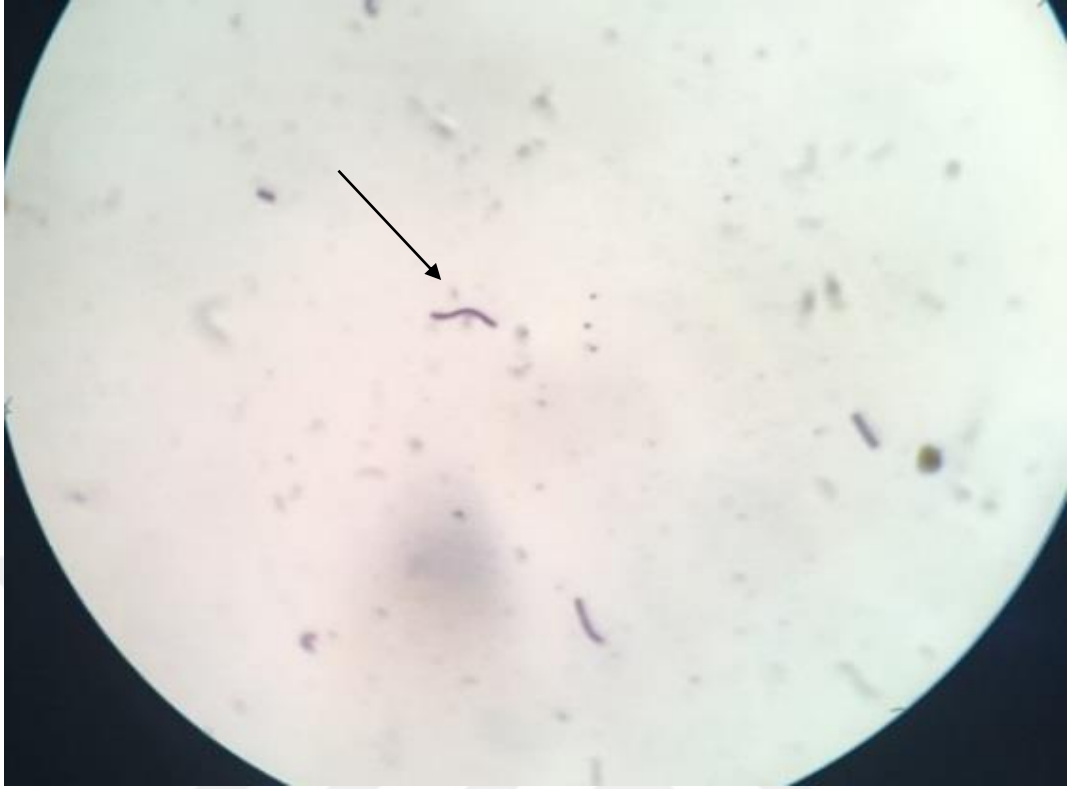
## 4.Bulgular

### 4.1. Mikroorganizmaların Üreme Özellikleri

Böüm 3.1.1.1’de anlatıldığı gibi *Lactobacillus acidophilus* (LA-5) (şekil 6) ve *Bifidobacterium animalis* subs. *lactis* (BB-12) (şekil 5) süt besiyerinde inkübe edilip, daha sonra MRS agarda koloni morfolojilerine bakıldı. Klinik izolatlar nutrient agar ve EMB agar besiyerlerinde üredi.



Şekil 5. *Bifidobacterium animalis* subs. *lactis*'in ışık mikroskopunda 100x10 büyütmede görünümü



**Şekil 6.** *Lactobacillus acidophilus*'un ışık mikroskobunda 100x10 büyütmede görünümü

Canlandırılan *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium animalis* subs. *lactis*, *E. coli*, *K. pneumoniae* ve *S. aureus* suşları MRS broth ve TSB besiyerlerine inoküle edilerek 18-24 saat 37 °C'de üç farklı atmosfer ortamında inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonucu elde edilen sonuçlar tablo 1'de gösterilmiştir:

**Tablo 1.** Deneyde kullanılan bakterilerin TSB ve MRSB besiyerlerindeki üreme

Bakteri kökenleri	LA-5	LA-5	BB-12	BB-12	E. coli	E. coli	K. pneumoniae	K. pneumoniae	S. aureus	S. aureus
O <sub>2</sub> Besiyeri özelliği	<b>TSB</b>	<b>MRSB</b>	<b>TSB</b>	<b>MRSB</b>	<b>TSB</b>	<b>MRSB</b>	<b>TSB</b>	<b>MRSB</b>	<b>TSB</b>	<b>MRSB</b>
<b>AEROB</b>	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<b>ANAEROB</b>	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<b>MİKRO AEROFİL</b>	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+

özellikleri

*Lactobacillus acidophilus* ve *Bifidobacterium animalis subs. lactis*'in EMB agar besiyerinde; *E. coli*, *K. pneumoniae* ve *S. aureus*'un MRS agar besiyerinde farklı atmosferik ortamlarda üreme özelliklerine bakıldı. Hazırlanan agar plaklar 18-24 saat 37°C'de inkübe edildi. Sonuçlar tablo 2'de gösterilmiştir:

**Tablo 2.** Deneyde kullanılan bakterilerin EMB ve MRS agar besiyerlerindeki üreme özellikleri

	<b>LA-5</b>	<b>BB-12</b>	<i>E. coli</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>S. aureus</i>
	EMB	EMB	MRS Agar	MRS Agar	MRS Agar
Aerob	-	-	+	+	+
Anaerob	-	Çok az üreme	Zayıf üreme	Çok az üreme	Zayıf üreme
Mikroaerofil	-	-	Az üreme	Az üreme	+

## 4.2. Birlikte İnkübasyon Sonuçları

Probiyotik özellikteki BB-12 ve LA-5 ile klinik izolatlar birlikte inkübasyona bölüm 3.2.1’de anlatıldığı gibi hazırlandı. Klinik izolatların koloni sayılarındaki değişimler Tablo 3, Tablo 4 ve Tablo 5’da gösterilmiştir:

**Tablo 3.** *E. coli* koloni sayısındaki değişim

	inkübasyondan önce (cfu/ml)	inkübasyondan sonra (cfu/ml)	BB-12 ile inkübasyon sonrası (cfu/ml)	LA-5 ile inkübasyon sonrası (cfu/ml)
E1	70x10 <sup>7</sup>	41x10 <sup>7</sup>	63x10 <sup>7</sup>	45x10 <sup>7</sup>
E2	15x10 <sup>7</sup>	47x10 <sup>7</sup>	71x10 <sup>7</sup>	20x10 <sup>7</sup>
E3	26x10 <sup>7</sup>	47x10 <sup>7</sup>	53x10 <sup>7</sup>	16x10 <sup>7</sup>
E4	74x10 <sup>7</sup>	205x10 <sup>7</sup>	94x10 <sup>7</sup>	116x10 <sup>7</sup>
E5	23x10 <sup>7</sup>	268x10 <sup>7</sup>	85x10 <sup>7</sup>	27x10 <sup>7</sup>

**Tablo 4.** *K. pneumoniae* koloni sayısındaki değişim

	inkübasyondan önce (cfu/ml)	inkübasyondan sonra (cfu/ml)	BB-12 ile inkübasyon sonrası (cfu/ml)	LA-5 ile inkübasyon sonrası (cfu/ml)
K1	145x10 <sup>7</sup>	111x10 <sup>7</sup>	283x10 <sup>7</sup>	>500x10 <sup>7</sup>
K2	100x10 <sup>7</sup>	140x10 <sup>7</sup>	364x10 <sup>7</sup>	452x10 <sup>7</sup>
K3	115x10 <sup>7</sup>	20x10 <sup>7</sup>	49x10 <sup>7</sup>	60x10 <sup>7</sup>
K4	94x10 <sup>7</sup>	38x10 <sup>7</sup>	13x10 <sup>7</sup>	2x10 <sup>7</sup>
K5	304x10 <sup>7</sup>	133x10 <sup>7</sup>	152x10 <sup>7</sup>	121x10 <sup>7</sup>

**Tablo 5.** *S. aureus* koloni sayısındaki değişim

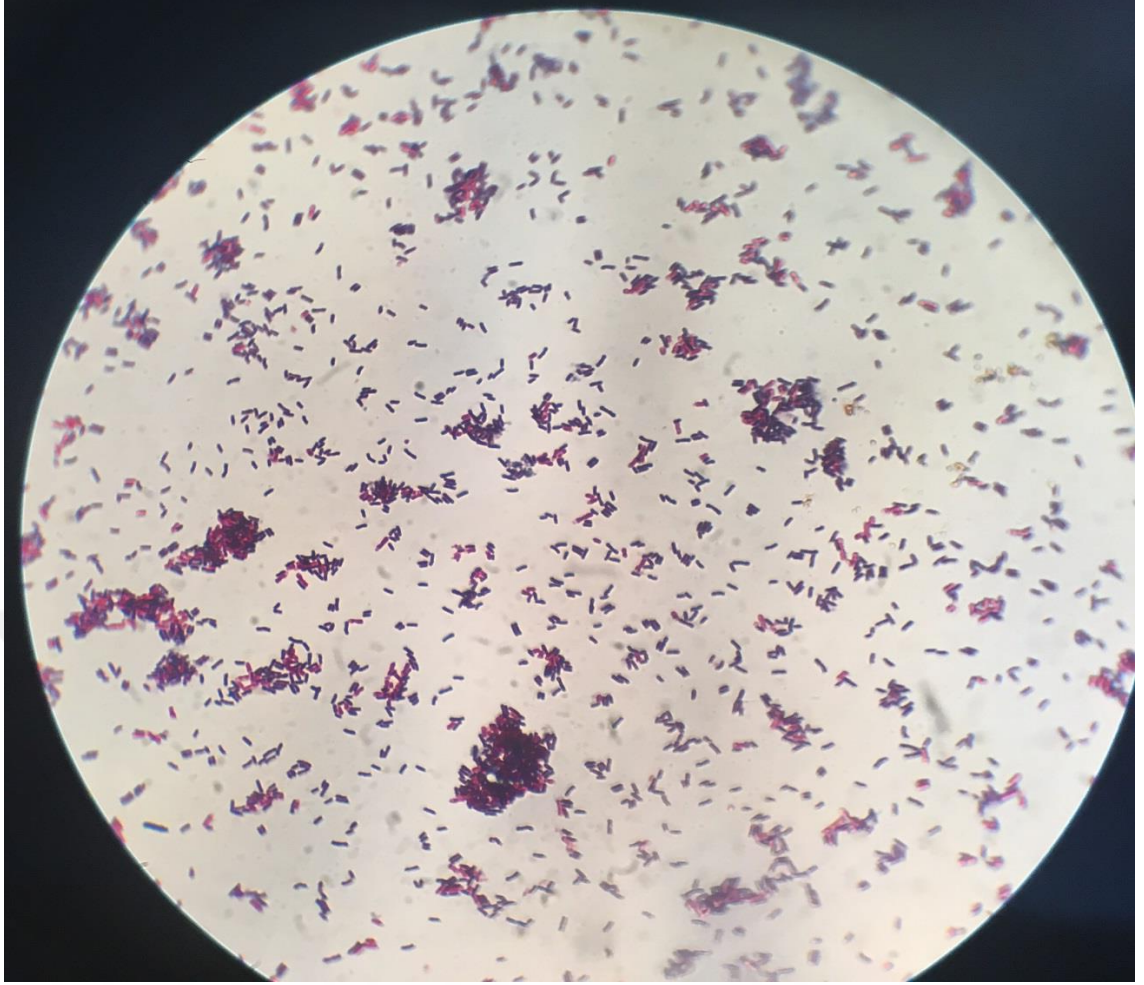
	inkübasyondan önce (cfu/ml)	inkübasyondan sonra (cfu/ml)	BB-12 ile inkübasyon sonrası (cfu/ml)	LA-5 ile inkübasyon sonrası (cfu/ml)
S1	186x10 <sup>6</sup>	1x10 <sup>7</sup>	67x10 <sup>7</sup>	22x10 <sup>7</sup>
S2	165x10 <sup>6</sup>	1x10 <sup>7</sup>	21x10 <sup>7</sup>	11x10 <sup>7</sup>
S3	277x10 <sup>6</sup>	65x10 <sup>7</sup>	88x10 <sup>7</sup>	77x10 <sup>7</sup>
S4	159x10 <sup>6</sup>	60x10 <sup>7</sup>	30x10 <sup>7</sup>	78x10 <sup>7</sup>
S5	234x10 <sup>6</sup>	87x10 <sup>7</sup>	103x10 <sup>7</sup>	63x10 <sup>7</sup>

Üreme kontrolü amacıyla MRS sıvı besiyerinde aerob ortamda inkübasyona bırakılan probiyotik bakterilerde üreme gözlemlendi. Bu besiyerlerinden alınan inokülumlar LA-5 için LSM besiyerine ekim yapılarak CO<sub>2</sub>'li ortamda; BB-12 için BSM besiyerine ekim yapılarak anaerob ortamda inkübasyona bırakıldı. Fakat katı besiyerlerinde üreme saptanmadı. Aynı durum klinik kökenlerle birlikte inkübe edilen probiyotik bakterilerde de gözlemlendi.

Klinik kökenlerin de probiyotiklerle birlikte kültürlerindeki koloni sayılarında anlamlı şekilde azalma olmadı. Fakat klinik kökenlerin koloni sayılarında anlamlı bir şekilde artış da gözlemlenmedi. Yani probiyotikler, klinik kökenlerinin koloni sayılarını sabit tuttuğunu söylebiliriz.



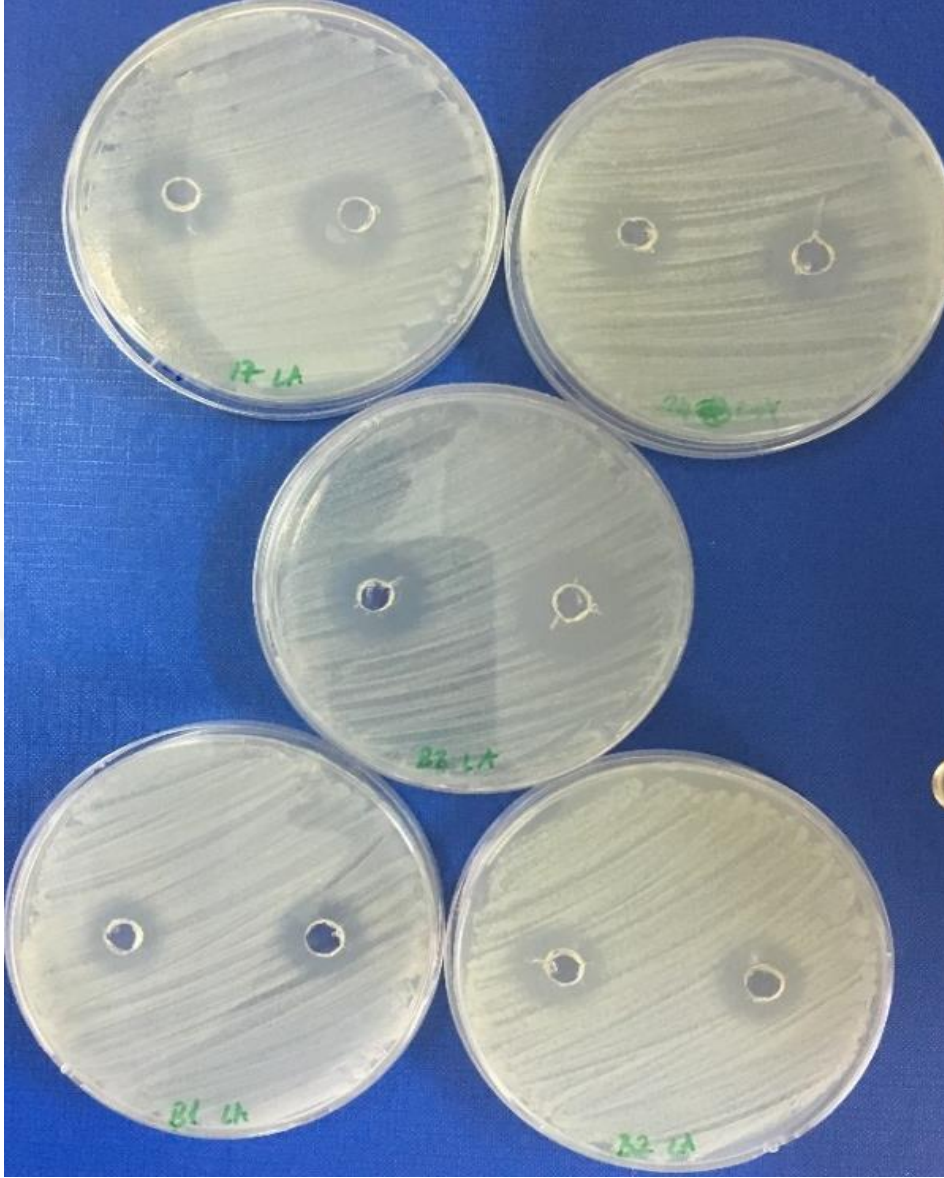
**Şekil 7.** *L. acidophilus* (mor renkli basiller) ile *K. pneumoniae* (pembe renkli koklar) birlikte inkübasyonu sonucunda ışık mikroskobunda 100x10 büyütmede görünümü



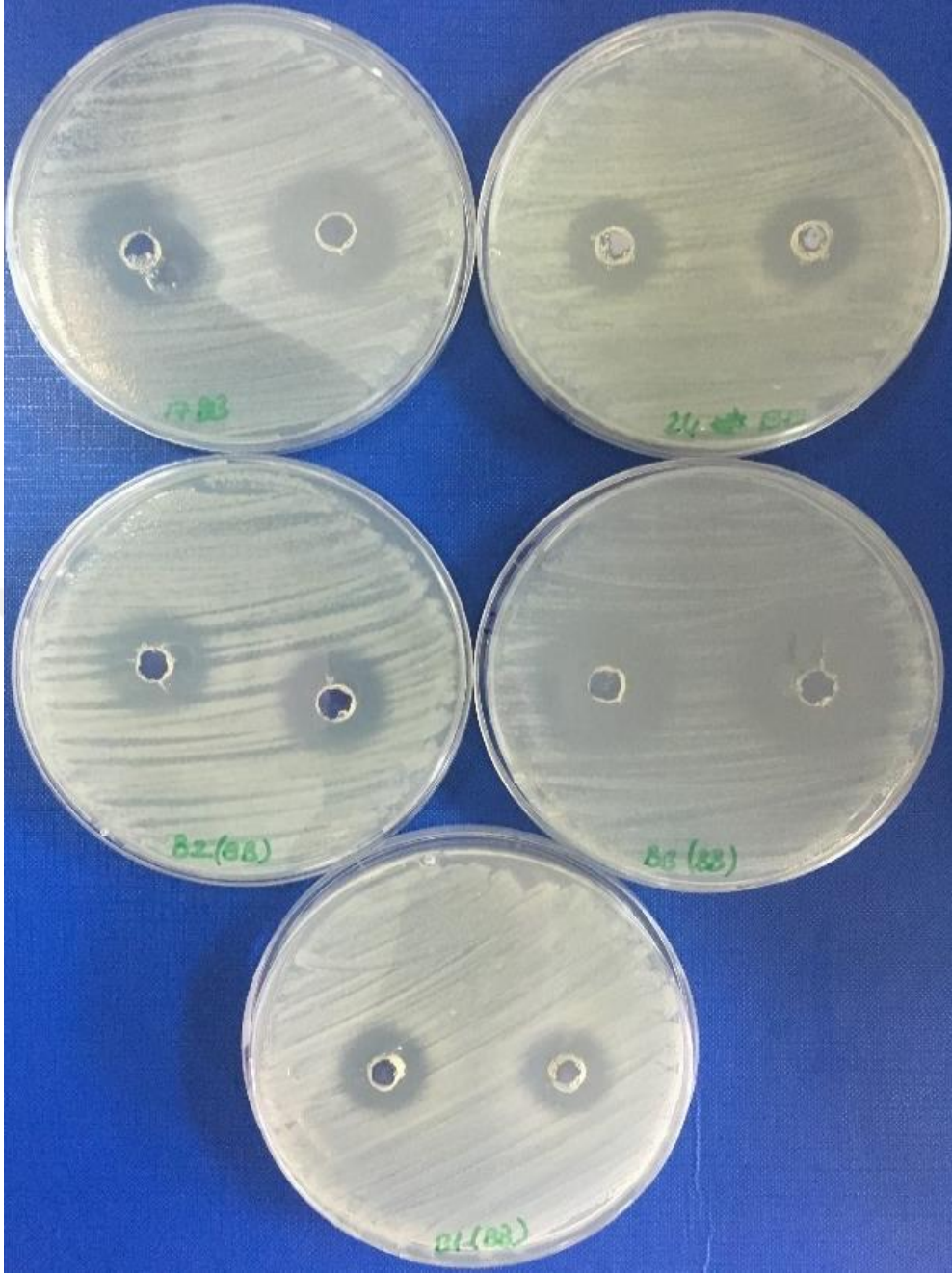
**Şekil 8.** *Bifidobacterium animalis* subs. *lactis* (mor renkli basiller) ve *E. coli* (pembe renkli basiller) ışık mikroskopunda 100x10 büyütmede görünümü

### **4.3. Agar Difüzyon Yöntemi Sonuçları**

Probiyotiklerin antimikrobiyal özelliklerinin belirlenmesinde kullandığımız yöntemlerden biri de agar difüzyon testidir. Bu amaçla probiyotik özellikteki BB-12 ve LA-5 süpernatantlarının klinik izolatlar üzerindeki inhibisyon etkisi değerlendirildi.



**Şekil 9.** *K. pneumoniae* izolatları üzerinde *L. acidophilus* süpernatanlarının inhibisyon etkisi görüntüsü



**Şekil 10.** *K. pneumoniae* izolatları üzerinde *B. animalis* subs *lactis* süpernatantlarının inhibisyon etkisi görüntüsü

*Lactobacillus acidophilus* ve *Bifidobacterium animalis subs. lactis*'in inhibisyon değerleri tablo 6, tablo 7 ve tablo 8'de gsterilmiřtir:

**Tablo 6.** *E. coli* kkenleri uzerine LA-5 ve BB-12'nin inhibisyon zon çapları

<b>Bakteri kkenleri</b>	<b>LA-5 (Zon apı- mm)</b>	<b>BB-12 (Zon apı- mm)</b>
<b>E1</b>	10±1	10±1
<b>E2</b>	11±1	11±1
<b>E3</b>	12±1	16±1
<b>E4</b>	10±1	10±1
<b>E5</b>	12±1	12±1

**Tablo 7.** *K. pneumoniae* kkenleri uzerine LA-5 ve BB-12'nin inhibisyon zon çapları (şekil 9 ve şekil 10)

<b>Bakteri Kkenleri</b>	<b>LA-5 (Zon apı- mm)</b>	<b>BB-12 (Zon apı- mm)</b>
<b>K1</b>	8±1	6±1
<b>K2</b>	8±1	10±1
<b>K3</b>	7±1	12±1
<b>K4</b>	10±1	15±1
<b>K5</b>	8±1	10±1

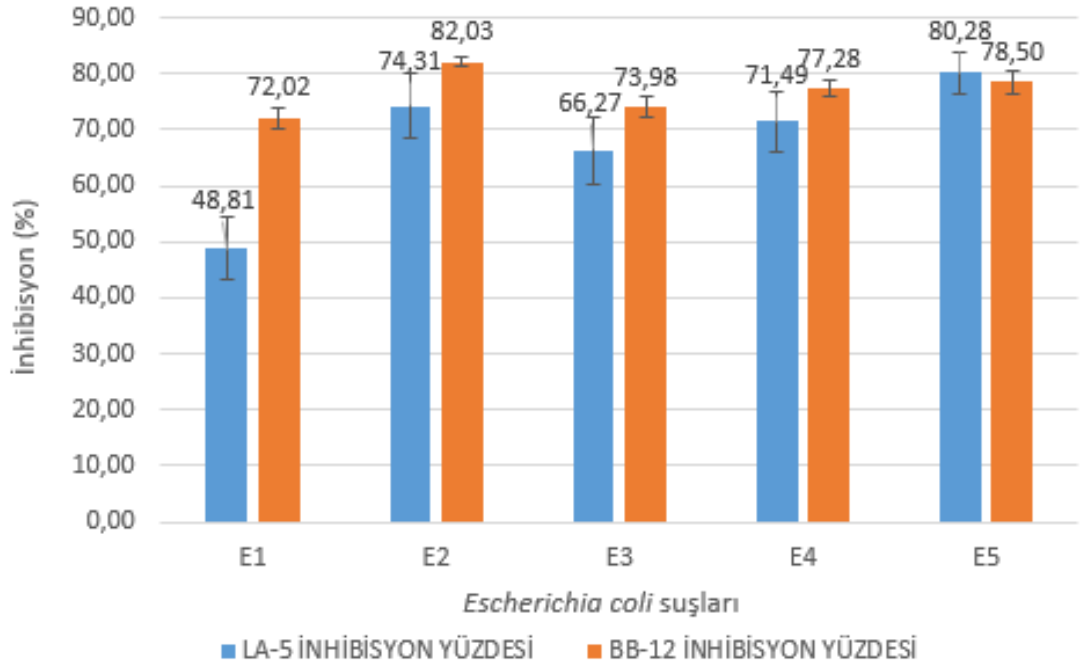
**Tablo 8.** *S. aureus* kökenleri üzerine LA-5 ve BB-12'nin inhibisyon zon çapları

Bakteri Kökenleri	LA-5 (Zon çapı-mm)	BB-12 (Zon çapı-mm)
S1	15±1	16±1
S2	14±1	16±1
S3	10±1	7±1
S4	8±1	7±1
S5	14±1	14±1

Çalışmamızda 5 *E. coli* izolatu, 5 *K. pneumoniae* izolatu; 5 *S. aureus* izolatu ile *L. acidophilus* ve *B. animalis* subs. *lactis* süpernatantları kullanılmıştır. Araştırma sonucunda *L. acidophilus* ve *B. animalis* subs. *lactis* süpernatantlarının *E. coli* izolatları üzerinde güçlü derecede inhibisyon yaptığı; *L. acidophilus* süpernatanı *K. pneumoniae* izolatlarının birinde güçlü derecede, dördünde orta derecede inhibisyon gösterirken, *B. animalis* subs. *lactis* süpernatanı *K. pneumoniae* izolatlarının dördünde güçlü derecede inhibisyon, birinde orta derecede inhibisyon yaptığı; *L. acidophilus* süpernatanı *S. aureus* izolatlarının dördünde güçlü derecede inhibisyon, birinde orta derecede inhibisyon, *B. animalis* subs. *lactis* süpernatanı *S. aureus* izolatlarının üçünde güçlü derecede inhibisyon, ikisinde orta derecede inhibisyon yaptığı görülmektedir.

#### 4.4. Optik Yoğunluk Değişim Sonuçları

Bu yöntem 3.2.4. bölümde belirtildiği şekilde hazırlandı. İlk olarak LA-5 ve BB-12'nin inhibisyon etkisinin klinik izolatların arasında fark olup olmadığına bakıldı.



**Grafik 1.** LA-5 ve BB-12'nin *E. coli* üzerindeki inhibisyon yüzdeleri

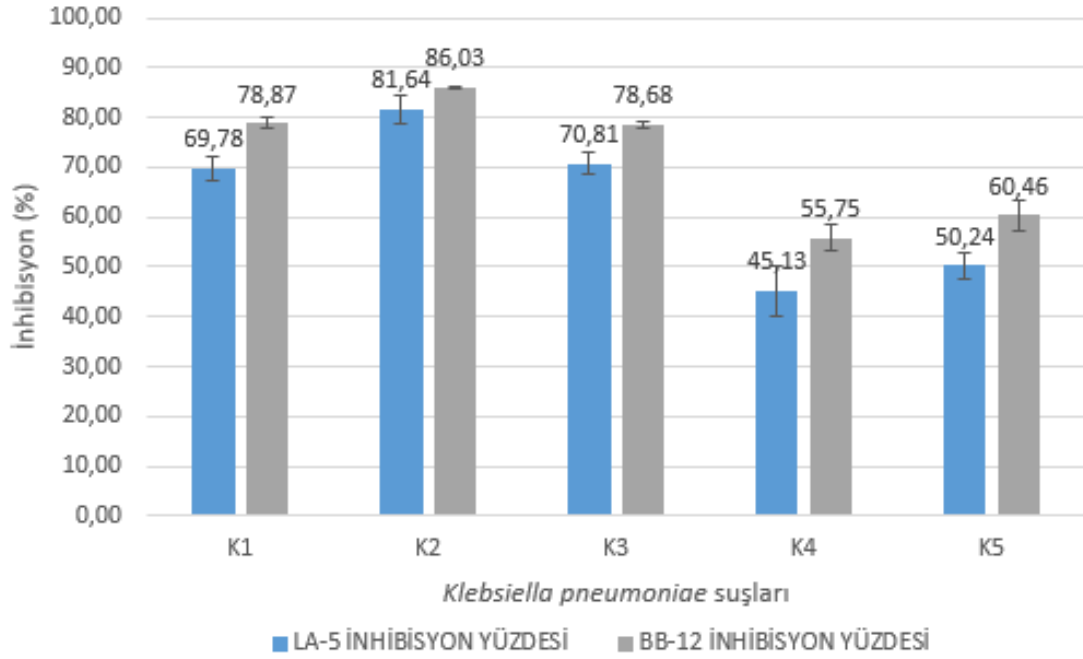
Grafik 1'de LA-5 ve BB-12'nin *E. coli* üzerindeki inhibisyon etkinliğinin yüzdeleri gösterilmiştir. LA-5'nin *E. coli* suşlarının üzerindeki etkisi incelendiğinde suşlar üzerindeki yüzde inhibisyon ortalaması  $48 \pm 5,562$ - $80,28 \pm 3,757$  arasında değişim gösterdi ve inhibisyon etkisi suşlara göre anlamlı düzeyde farklıdır (Kruskal Wallis test,  $X^2=8,340$ ,  $p=0.015$ ).

LA'nın suşlar arasında inhibisyon etkinliğine bakıldığında LA-5'nin E1 suşu üzerindeki etkinliği tüm suşlara kıyasla anlamlı düzeyde azdır ( $p<0.01$ ). LA, E1 suşunda en az inhibisyon sağlamıştır. LA-5'nin E3 ve E5 üzerindeki inhibisyon etkinliğinde önemli ölçüde değişim gösterdi ve LA-5, E3'e göre E5'de ortalama %14 daha fazla inhibisyon sağladı ( $p<0.01$ ) (Post Hoc test, Games-Howell;  $p=0.006$ ).

BB-12'nin *E. coli* suşlarının üzerindeki etkisi incelendiğinde suşlar üzerindeki yüzde inhibisyon ortalaması  $72,02 \pm 1,911$ - $82,03 \pm 0,816$  arasında değişim gösterdi ve BB-12'nin suşlar arasında inhibisyon etkinliğine bakıldığında anlamlı düzeyde farklıdır (Kruskal Wallis test,  $X^2=13,243$ ,  $p=0,010$ ). BB'nin suşlar arasında inhibisyon etkinliğine bakıldığında E2, E1'e göre ortalama %10 daha fazla inhibisyon olurken ( $p=0.013$ ); E3'de E2'ye kıyasla ortalama %8 daha fazla inhibe olmuştur ( $p=0.038$ )(Post Hoc test, Games-Howell).

Ayrıca LA-5 ve BB-12 *E. coli* suşlarının üzerindeki inhibisyon etkiliği kıyaslandı. Grafik 1’de de görüldüğü gibi BB’nin etkinliği LA’nin etkinliğine göre E1 (f =60,099, p=0.000), E2 (f =9,502, p=0.012), E3 (f =6,320, p=0.031) klinik izolatlarında anlamlı düzeyde yüksektir. Ayrıca E4 ve E5 üzerindeki LA-5 ve BB-12 etkileri benzerdi (p>0.05)(One-way ANOVA).



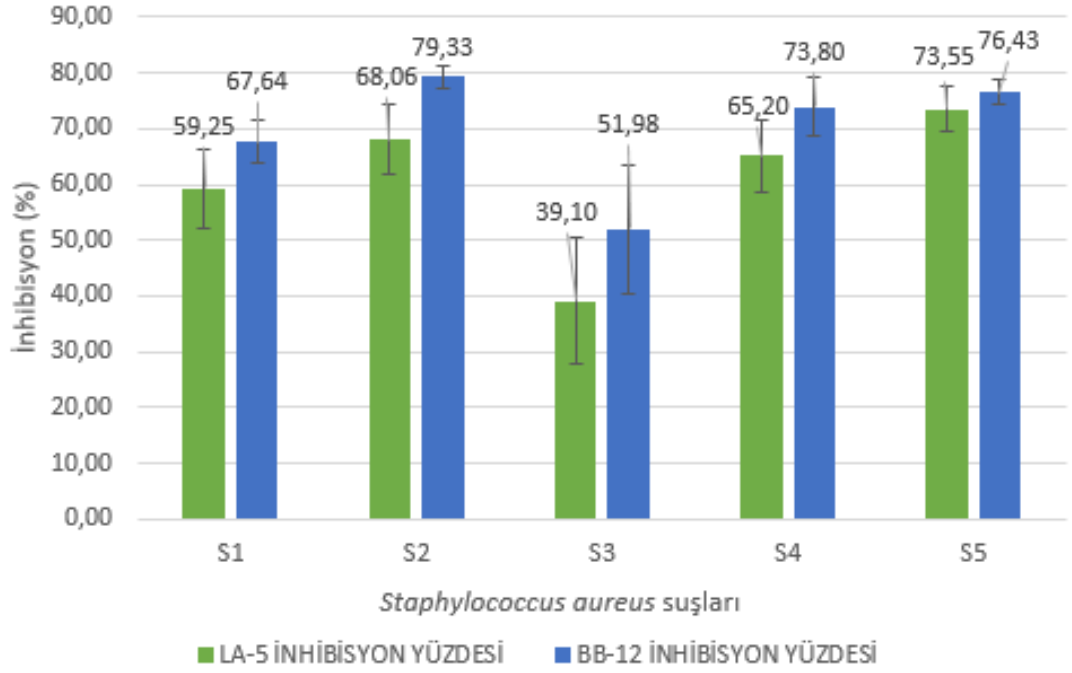


**Grafik 2.** LA-5 ve BB-12'nin *K. pneumoniae* üzerindeki inhibisyon yüzdeleri  
Grafik 2'de LA-5 ve BB-12'nin *K.pneumoniae* üzerindeki inhibisyon etkinliğinin yüzdeleri gösterilmiştir.

LA-5'nin *K. pneumoniae* suşlarının üzerindeki etkisi incelediğinde suşlar üzerindeki yüzde inhibisyon ortalaması  $45,13 \pm 5,033 - 81,64 \pm 2,707$  arasında değişim gösterdi ve inhibisyon etkisi suşlara göre anlamlı düzeyde farklıdır (Kruskal Wallis test,  $X^2=23,733$   $p=0.000$ ). LA-5'nin suşlar üzerindeki etkisine bakıldığında K4 ve K5 anlamlı düzeyde daha az inhibe olmuştur. En etkili olduğu suş ise K2'dir ( $p<0.05$ ) (Post Hoc test, Games-Howell).

BB-12'nin *K. pneumoniae* suşlarının üzerindeki etkisi incelediğinde suşlar üzerindeki yüzde inhibisyon ortalaması  $55,75 \pm 2,617 - 86,03 \pm 0,380$  arasında değişim gösterdi. BB-12'nin suşlar üzerindeki etkilerine bakıldığında LA-5'nin etkileriyle benzer sonuçlar elde edilmiştir. BB'nin etkinliği en az K4 ve K5 suşlarında görünürken; en iyi inhibisyon K2 suşunda görülmüştür ( $p<0.05$ ) (Post Hoc test, Games-Howell).

LA-5 ve BB-12, *K. pneumoniae* suşlarının üzerindeki inhibisyon etkiliği kıyaslandı. Grafik 2'de de görüldüğü gibi BB-12'nin etkinliği LA-5'nin etkinliğine göre K1 ( $f=12,498$ ,  $p=0.005$ ), K3 ( $f=10,259$ ,  $p=0.009$ ) ve K5 ( $f=6,483$ ,  $p=0.029$ ) suşlarında daha yüksekken; LA-5 ve BB-12'nin inhibisyon etkileri K2 ve K4 suşlarında benzerdir ( $p>0.05$ ) (One-way ANOVA).



**Grafik 3.** LA-5 ve BB-12'nin *S. aureus* üzerindeki inhibisyon yüzdeleri

Grafik 3'de LA-5 ve BB-12'nin *S. aureus* üzerindeki inhibisyon etkinliğinin yüzdeleri gösterilmiştir.

LA-5'nin *S. aureus* suşlarının üzerindeki etkisi incelediğinde suşlar üzerindeki yüzde inhibisyon ortalaması  $39.10 \pm 4,664$ - $73.55 \pm 1,613$  arasında değişim gösterd, ve inhibisyon etkisi suşlara göre anlamlı düzeyde farklıdır (Kruskal Wallis test,  $X^2=20,202$   $p=0.000$ ). LA-5'nin suşlar üzerindeki etkisine bakıldığında S3 suşunun en az inhibe olduğu görülmektedir. Ortalama %34 inhibisyon oranıyla LA-5'dan en çok etkilenen suş S5'tir( $p<0.05$ )(Post Hoc test, Games-Howell).

BB-12'nin *S. aureus* suşlarının üzerindeki etkisi incelediğinde suşlar üzerindeki yüzde inhibisyon ortalaması  $51.98 \pm 4,746$ - $79.33 \pm 0,817$  arasında değişim gösterdi. BB-12'nin suşlar üzerindeki inhibisyon etkisine baktığımızda, diğer suşlara kıyasla S3'ün anlamlı düzeyde azdır( $p<0.05$ ). En iyi etkiyi S2 suşu üzerinde göstermiştir. S2 suşu, S3'e göre ortalama %27 anlamlı düzeyinde daha fazla inhibe olmuştur( $p<0.05$ )( Post Hoc test, Games-Howell).

*S. aureus* suşları üzerinde LA-5 ve BB-12 inhibisyon etkilerini kıyaslamak gerekirse grafik 10'da da görüldüğü gibi BB daha etkili görülmüş ve bu etki S1 ( $f=6,632$ ,  $p=0.028$ ), S2 ( $f=17,223$ ,  $p=0.002$ ) ve S4 ( $f=6,341$ ,  $p=0.030$ ) suşları anlamlı düzeyde

daha fazla inhibe olmuşken; S3 ve S5 suşları benzerdir( $p>0.05$ )(One-way ANOVA). Tablo 9'da LA-5 ve BB-12'nin inhibisyon etkisinin *E. coli*, *K. pneumoniae* ve *S. aureus* arasında dağılımın analizi görülmektedir. Klinik örneklerin karşılaştırılmasında Games-Howell (One-way ANOVA, Post Hoc test) kullanılmıştır. *Lactobacillus* inhibisyon etkisine bakıldığında klinikler örnekler arasında anlamlı düzeyde bir fark olmadığı görülmektedir ( $p>0.05$ )(tablo 9.)

*Bifidobacterium* inhibisyon etkisine bakıldığında ise *E. coli*'nin *S. aureus*'a göre %6.9 daha fazla inhibe olduğu ( $p<0.05$ ); *K. pneumoniae*'nin inhibisyonunda anlamlı bir fark olmadığı ( $p>0.05$ ) görülmektedir (tablo 9.)



**Tablo 9.** LA-5 ve BB-12 Süpernatantlarının İnhibisyon Etkisinin Klinik Örnekler Arasında Karşılaştırılması

Probiyotik	Uygulama (U <sup>1</sup> )	Uygulama (U <sup>2</sup> )	Fark ortalama ası (U <sup>1</sup> -U <sup>2</sup> )	SD	**p	%95 Güven Aralığı	
						Alt sınır	Üst sınır
LA-5	<i>E. coli</i>	<i>K. pnemonia</i>	4.71	3.60	0.397	-3.97	13.39
		<i>S. aureus</i>	7.20	3.35	0.090	-0.87	15.27
	<i>K. pnemonia</i>	<i>E. coli</i>	-4.72	3.60	0.397	-13.39	3.97
		<i>S. aureus</i>	2.49	3.83	0.794	-6.73	11.70
	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	-7.20	3.35	0.090	-15.27	0.87
		<i>K. pnemonia</i>	-2.49	3.83	0.794	-11.70	6.73
BB-12	<i>E. coli</i>	<i>K. pnemonia</i>	4.80	2.50	0.005	1.15	5.35
		<i>S. aureus</i>	6.93*	2.29	0.002	1.70	6.00
	<i>K. pnemonia</i>	<i>E. coli</i>	-4.80		0.005	-5.35	-1.15
		<i>S. aureus</i>	2.12	0.51	0.609	-0.88	2.08
	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	-6.93*	0.73	0.002	-6.00	-1.70
		<i>K. pnemonia</i>	-2.12	0.51	0.609	-2.08	0.88

\*ortalama fark 0.05 seviyesinde önemlidir

\*\**Post Hoc testi (Games-Howell).*

## 5.Tartışma

İnsan kolon mikrobiyotası doğanın üç büyük grubu olan Arkea, bakterya ve ökaryayı içeren büyük ve kompleks bir mikroorganizma topluluğudur. Bu inanılmaz simbiyoz yaşam, doğum sırasında vajinal flora ile oluşup, çevresel, hormonal, beslenme şekli gibi faktörlerle şekillenir. Yetişkin bir bireyin bağırsak mikrobiyotasında Bacteroides ve Firmicutes gruplarının baskın olduğu bir çoğunun kültürünün yapılamadığı 1000'i aşkın tür bulunmaktadır (Donaldson, Lee, ve Mazmanian, 2015) (Tuohy ve ark., 2017). Bu mikrobiyota, metabolik faaliyetler, biyoaktif maddelerin sentezi, bağırsak fonksiyonlarının iyileştirilmesi, patojenlere direnç gibi faaliyetler ile konağın sağlığında önemli bir rol oynamaktadır (Grimoud ve ark., 2010).

Probiyotikler ve prebiyotiklerin insan sağlığı açısından önemi giderek daha iyi anlaşılmaktadır. Probiyotiklerin çeşitli mekanizmalarla gastrointestinal sistemdeki patojen bakterilerin üremesini kontrol altına aldığı hatta inhibe ettiği bildirilmektedir (Isolauri, Salminen, ve Ouwehand, 2004). Probiyotiklerin prebiyotikler ile birlikte (sinbiyotik) ve düzenli olarak alınması daha etkili ve faydalıdır. Bağışıklık sisteminin regüle edilmesi, kanser önleyici, sindirim sorunlarının iyileşmesi, alerjik reaksiyonlarda azalma gibi etkiler görülür (Roberfroid, 2000) (In ve Nutrition, n.d.) (Schrezenmeir ve Vrese, 2001)

Bir mikroorganizmanın probiyotik olarak değerlendirilebilmesi için insan orijinli olması, toksik ve patojen olmaması, mide asidine dirençli olması, safra tuzları ve enzimlere dayanıklı olması, bağırsak hücrelerine tutunabilmesi ve kolonize olması, alındığında canlılığının intestinal sisteminde yararlı etkiler göstermesi gerekmektedir. Bu bakteriler çoğunlukla Lactobacillus, Bifidobacterium ve Enterococcus gibi doğal florada bulunan bakterilerdir. Probiyotik bakteriler, gastrointestinal sistemdeki patojenlerle tutunma ve besin için rekabete girerek onları sistemden uzaklaştırılmasına yardımcı olmaktadır (Shenderov, 2011) (In ve Nutrition, n.d.) (DAMAR, 2018) (Fao, Working, Report, Guidelines, ve London, 2002).

Probiyotik bakterilerin antimikrobiyal etkisinin belirlenmesinde birden çok yöntem başvurulmaktadır. Elde edilen sonuçları etkileyen birçok faktör bulunduğu için

kullanılan yöntemlerin hiçbiri güvenilir ve tekrarlanabilir sonuç vermemektedir. Bir yöntemde antimikrobiyal etki gösteren bir izolat başka bir yöntemde bu özelliğini göstermeyebilmektedir (Sezer, 2017).

Çeşitli çalışmalarda patojen bakteriler ile probiyotik mikroorganizmaların birlikte kültürü sonucu probiyotiklerin patojen bakteriler üzerine inhibisyon etkisi araştırılmıştır. 2017 yılında bir çalışmada fermente meyve ve sebzelerden izole edilmiş ve Bioresource Koleksiyon ve Araştırma Merkezi'nden satın alınan toplam 370 laktik asit bakterisinin üretral patojen olan *Staphylococcus saprophyticus* üzerindeki antimikrobiyal etkisini birlikte kültür ederek gözlemlemişlerdir. Çalışma sonucunda *S. saprophyticus*'un canlı kalma yüzdesinde anlamlı azalma olduğu görülmüştür (Tsai, Lai, Lin, ve Hsieh, 2017). Coman ve ark. yaptıkları bir çalışmada *L. rhamnosus*, *L. paracasei* ve ikisinin kombinasyonunun birçok patojen özellik taşıyan gram negatif, gram pozitif ve mayalar üzerindeki inhibisyon etkileri değerlendirilmiştir. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında patojen bakterilerin inhibe edildiği görülmüş ve gram negatif patojenlere karşı inhibisyon etkisinin daha güçlü olduğu sonucuna varılmıştır (Coman ve ark., 2014).

Bir çalışmada *Lactococcus lactis*'in *Salmonella enterica* serovar Typhi üzerindeki etkisine ko-kültür ile bakılmış. *L. lactis* ve *S. typhi* modifiye edilmiş ve pH:6.5 ayarlanmış besiyerlerinde kültür etmişlerdir. Bu deneyde bir reaktör tasarlanmış; iki adet 1L şişe yan yana konmuş ve şişeler altlarından birbirine içerisinde 0.22µm çaplı membrane filtre olan bir tüp ile bağlamışlardır. Her iki şişeye *L. lactis* ve *S. typhi* için ayrı ayrı besiyeri konulmuş ve 180 rpm'de çalkalayıcı inkübatörde kültür etmişlerdir. Bakteri üremesi geç yoğun faza geçene kadar saat başı besiyeri bulanıklığının optik yoğunluk ölçümü ile izlenmiştir. Bakterilerin maksimum ve spesifik üreme oranı optik yoğunluk logaritmik grafiğine göre analiz edilmiş ve yapılan analizler sonucunda, *S. typhi*'nin üremesinin, *L. lactis*'in ürettiği laktik asit nedeniyle baskılandığı belirtmişlerdir (Kumar, Kundu, ve Das, 2018).

Bu çalışmada *L. acidophilus* ve *B. animalis* subs. *lactis*'in *E. coli*, *K. pneumoniae* ve *S. aureus* klinik izolatları ile birlikte kültürü sonucu patojen bakterilerin ilgili besiyerinde üredikleri görülmüş fakat her tekrarda sayılabilir ve istikrarlı koloni sayısı gözlemlenmemiştir. Probiyotik bakteriler ise deney tekrarlarında ilgili katı besiyerlerinde bazen üreme gösterirken bazen de üreme göstermemiştir.

Litaratüre bakıldığında probiyotik özellikteki bakteriler ile yapılan çalışmalarda bakterilerin canlılığının ve biyokimyasal özelliklerinin korunması oldukça zor bir durum olduğu görülmüştür. Geçen zaman ve pasaj tekrarları, canlılık ve biyokimyasal özelliklerin ifade edilmesi üzerinde ters etki yarattığı düşünülmektedir (Sezer, 2017).

Probiyotik olarak kullanılan bakterilerin patojen özellik taşıyan bakterilere karşı antagonist etkisinin belirlenmesinde en çok kullanılan yöntemlerden biri agar difüzyon yöntemidir. Bu yöntem ile probiyotik bakterilerin üretmiş oldukları antimikrobiyal maddelerin patojen bakterilere olan etkisi gözlemlenir. Naderi ve ark. yaptıkları çalışmada farklı antibiyotiklere karşı dirence sahip olan 10 farklı *E. coli* kökeninin üzerinde *L. acidophilus*, *L. casei* ve *L. rhamnosus* süpernatantlarının inhibitör etkisinin olduğunu göstermiştir. 2016 yılında yapılan bir çalışmada Bifidobacterium türlerinin enteropatojenik ve enteroinvaziv *E. coli* ve *K. pneumoniae*'ye karşı bakterisidal etki sergilediğini göstermişlerdir (Delcaru ve ark., 2016). Başka bir çalışmada gıda kaynaklı olan *S. aureus*, *Listeria monocytogenes* ATCC 5672 ve *E. coli* O157:H7 patojenlerine karşı *L. acidophilus*, *B. longum* ve *L. plantarum*'un antimikrobiyal etkisi araştırılmış; en güçlü inhibisyonu *L. acidophilus* yaparken, onu *B. longum* ve *L. plantarum*'un takip ettiği saptamışlardır (El-Kholy, El-Shinawy, Meshref, ve Korny, 2014). Yapılan başka bir çalışmada *L. rhamnosus*, *L. paracasei* ve bu iki suşun birlikte olduğu bir karışımın bazı gram pozitif, gram negatif ve mayalar üzerindeki etkilerine bakılmış, gram negatif bakteri grubundan *K. pneumoniae*'da en geniş inhibisyon zonu, gram pozitif bakteri grubundan *Enterococcus faecium*'da en geniş inhibisyon zonu görülürken maya grubunda inhibisyon zonu olmadığı belirtilmiştir (Coman ve ark., 2014). Bazı agar difüzyon testi çalışmalarında çeşitli Lactobacillus suşlarının *S.aureus* üzerinde inhibisyon yapmadığı bildirilmiştir (Khalid ve ark., 1999) (Coman ve ark., 2014). Tejero-Sariñena ve ark 2012 yılında yaptıkları çalışmada çeşitli Lactobacillus ve Bifidobacterium süpernatantlarının değişen konsantrasyonlardaki antimikrobiyal etkisine bakılmış, kullanılan bazı gram pozitif ve gram negatif patojenler üzerinde antimikrobiyal etki yaptığı saptamışlardır (Tejero-Sariñena ve ark., 2012).

Trivedi ve ark. yaptıkları çalışmada, genetiği değiştirilmiş kolisin E2 salgılayan *L. brevis* DT24 suşunun ve *L. brevis*'in üropatojenik *E. coli* üzerindeki inhibisyon

etkisine bakmışlardır. Bir gecelik kültürden süpernatın elde edip, süpernatınların pH'sını 6.5 ayarlayarak kullanmışlardır. Hazırlanan deney sonucu kolisin E2 salgılayan *L. brevis* DT24 suşunun, *L. brevis*'den daha etkili olduğunu saptamışlardır (zon çapları sırasıyla; 56mm, 23mm).

Bir araştırmada ise İzmir ilinden toplanan tulum peynirlerinden izole edilen 7 tane *L. fermentum*'un *E. coli* ATCC25922, *P. aeruginosa* ATCC27853, *K. pneumoniae* ATCC25656, *S. aureus* ATCC29213 ve MRSA üzerindeki antimikrobiyal etkisi agar difüzyon yöntemi ile saptanmıştır. *L. fermentum*'un bir gecelik kültüründen süpernatın elde edilmiş, bu süpernatın 0.5 McFarland ayarlı indikatör bakterilerin ekildiği besiyerinde açılan kuyulara eklenmiş ve inkübasyona bırakılmışlardır. Deney sonucunda *L. fermentum* suşlarının hepsi *E. coli* ATCC25922 ve *P. aeruginosa* ATCC27853 kökenlerini inhibe ettiğini bildirmişlerdir (Tulumoğlu, Kaya, ve Şimşek, 2014).

Bu çalışmada her iki probiyotik bakteri türünden elde edilen süpernatınların klinik izolatlar üzerine inhibisyon etkisi olduğu gözlemlendi. BB-12 süpernatınının inhibisyon etkisinin, LA-5'ten daha yüksek olduğu saptandı. Aynı türe ait klinik izolatların probiyotik süpernatınlarından farklı düzeylerde etkilendikleri görüldü. Bunun nedeninin, her izolatin farklı hastalardan elde edilmiş olması, bakterilerin üreme ve biyokimyasal özelliklerindeki farklılıklar olabileceği düşünüldü. Delcaru ve ark. çalışmalarındaki agar difüzyon yöntemini, katı besiyerinde kuyucuk açmadan ve probiyotik *Bifidobacterium sp.* kökenlerinin kültürlerinden inokül alarak katı besiyerine damlatılmasıyla gerçekleştirmişlerdir. Bu araştırmada agar difüzyon yöntemi, katı besiyerinde kuyucuk açıp bu kuyucuklara LA-5 ve BB-12 süpernatınlarının eklenmesiyle gerçekleştirildi. Her iki çalışmada da probiyotikler *E.coli* ve *K. pneumoniae* kökenlerini inhibe etmiştir. Khalid ve ark. ise çalışmalarında probiyotik süpernatınlarının pH'ını 7'ye ayarlayarak agar difüzyon yöntemini uygulamışlar ve *E. coli* ve *S. aureus* üzerine inhibisyon saptamamışlar; bu çalışmada ise pH ayarlaması yapılmamış süpernatınlar direkt kuyucuklara konulmuş ve *E. coli* ve *S. aureus* üzerine inhibisyon gözlenmiştir.

Optik yoğunluk ölçüm yöntemi antimikrobiyal etkinin incelenmesinde kullanılanlardan biridir. Bu yöntem probiyotik bakterilerin ürettikleri bakteriyosin

etkilerinin herhangi bir etkiye maruz kalmadan göstermesini ve sıcaklık, pH gibi etkilerin bakteriyosinler üzerindeki etkisinin hızlı bir şekilde görünmesine olanak vermektedir. Yapılan bir çalışmada *L. plantarum* süpernatantının çeşitli gram negatif ve gram pozitif bakteriler üzerindeki antimikrobiyal etkisi incelenmiş, hem gram pozitif hem de gram negatif bakteriler üzerinde inhibisyon etkisi olduğu gözlemlenmiştir (Lash ve ark., 2002). Başka bir çalışmada ise probiyotik özelliğe sahip *L. acidophilus*, *L. rhamnosus*, *L. fermentum* ve *L. plantarum* süpernatantlarının 3 farklı enteropatojenik *Escherichia coli* ve *Shigella sonnei*, *Shigella dysenteriae* ve *Salmonella enteritidis* üzerine etkileri optik yoğunluk ile ölçülmüş ve inhibisyon yüzdeleri üzerinden değerlendirme yapılmış ve deney sonunda tüm *Lactobacillus* suşları 3 farklı enteropatojenik *E. coli*, *Shigella sonnei* ve *Salmonella enteritidis* üzerinde anlamlı düzeyde ( $p<0.05$ ) %24-%51 inhibisyon yüzdesi görülmüşken *Shigella dysenteriae* üzerinde sadece *L. fermentum* inhibisyon etkisi gözlemlenmiştir (Estevão, Freitas, ve Pehrson, n.d.).

Bu çalışmada BB-12 süpernatantının *E. coli*, *K. pneumoniae* ve *S. aureus* üzerindeki inhibisyon etkisi LA-5'ninkinden daha yüksek olduğu gözlemlendi ve probiyotik bakterilerin klinik kökenler üzerine %39 ile %86 arasında değişen oranlarda inhibisyon gösterdiği saptandı. Lash ve ark. yaptıkları çalışmada probiyotik süpernatantını pH:4.8'e ayarlayarak optik yoğunluk ölçümü yöntemini gerçekleştirmişler ve yüksek oranda inhibisyon etkisi gözlemlenmiştir. Bu çalışmada süpernatantlarda pH değeri ayarlamadan gerçekleştirildi ve inhibisyon etkisi gözlemlendi. Araştırmalarda sıkça kullanılan agar difüzyon yönteminde başka bakterilere karşı antimikrobiyal madde üreten bakterilerin etkinliğinin belirlenmesi; süpernatantın agara iyi difüze olmasına ve antimikrobiyal bileşiklerin özelliklerinin yitirmemesine bağlıdır. Buna ek olarak, her test edilecek farklı bakteri için farklı besiyerleri kullanılmasını gerektiğinden maliyet de artmaktadır. Optik yoğunluk ölçüm yönteminde ise test edilen mikroorganizma ve süpernatant direkt sıvı ortamda birlikte bulunmaktadır. Süpernatantın bu ortamda daha etkin olduğu görülmüştür. Ayrıca optik yoğunluk ölçüm yöntemi verileri istatistiksel olarak kolaylıkla yorumlanabilmektedir.

## 6.Sonuç ve Öneriler

İnsan vücudu birçok yararlı ve zararlı mikroorganizmanın rekabet içinde yaşadığı bir ekosistemdir. Yararlı mikroorganizmalar mikrobiyotayı oluşturur. Mikrobiyota sindirim sistemi boyunca yerleşip özellikle bağırsak işlevinin iyileştirilmesinde önemli bir rol oynamaktadır.

Günümüzde stres, dengesiz beslenme, alkol ve sigara kullanımı, düzensiz antibiyotik kullanımı gibi etkenler bağırsak florasının bozulmasına yol açmakta ve insan hayatında olumsuz etkiler yaratmaktadır. Bundan dolayı mikrobiyotayı destekleyici probiyotik, prebiyotik ve sinbiyotik kullanımı önem kazanmıştır.

Bu araştırmada probiyotik bakteriler ile patojen bakteriler arasında nasıl bir etkileşim olduğunu hem bakterileri bir arada inkübe ederek hem de sadece probiyotik bakterilerin ürettikleri maddelerin patojenler üzerindeki etkilerini belirlemek amaçlandı. Bu amaç doğrultusunda farklı yöntemler kullanıldı. Probiyotikler ile patojenlerin bir arada kültür edilmesi oldukça zahmetli, emek yoğunluğu fazla olan bir çalışmadır. Her bakterinin üreme ihtiyaçları farklıdır. Birlikte kültür edildikten sonra bakteri kolonilerinin sayımında her bakteri için ayırt edici besiyeri kullanılması gerekmektedir. Çalışmaya dahil edilen köken sayısı arttıkça maliyet ve iş yükü de buna paralel olarak artmaktadır. Ayrıca birlikte kültür yönteminde uygulanan tekrarlar, belirlenen koloni sayılarının kabul edilebilir aralıkta olmaması bu yöntemde olan güvenilirliği azaltmaktadır. Deneyin tekrarlanabilir olmamasının sebepleri olarak, probiyotik bakterilerin üreme hassasiyetlerinin yüksek olması ve tekrarlanan pasajlarda üreme özelliklerini yitirdiği düşünülmektedir. Birlikte kültür yönteminin tekrarlanabilirliğini ve güvenilirliğini arttıracak şekilde modifiye edilmesi gerekmektedir.

Difüzyon yöntemi, probiyotik bakterilerden elde edilen süpernatant içerisindeki antimikrobiyal bileşiklerin, patojen bakteriler üzerine etkisini in vitro olarak incelemek için uygulanan tekrarlanabilir ve güvenilir bir yöntemdir. Bu yöntemde de

inkübasyon süresinin ve süpernatant miktarının belirleyici olduğu düşünülmektedir. Çünkü kuyulara konulan süpernatantların inhibisyon etkisinin inkübasyonun 18. saatinden sonra azalmaya başladığı ve inkübasyon süresi uzadıkça yok olduğu gözlenmiştir. İnkübasyon süresinin uzatılması gerektiğinde, belirli aralıklarla süpernatant eklenmesi ile antimikrobiyal etkinlik daha iyi gözlemlenebilir.

Optik yoğunluk ölçümünde mikropipet ile çalışıldığı için oldukça düşük hacimlerde patojen bakteri ve probiyotik süpernatantları kullanıldı. Daha büyük hacimler ile yapılan çalışmaların deney sonucu nasıl etkileyeceğinin araştırılması gerektiği düşünülmektedir. Ayrıca belirli saatlerde ölçüm yapmak ve/veya probiyotik süpernatant hacminin artırılmasının da sonuçlar üzerindeki etkileri incelenmelidir.

Probiyotiklerin olumlu etkilerinin daha geniş kapsamlı araştırılması ve insan sağlığı üzerindeki etkilerinin netleştirilmesi önemlidir. Bu amaç doğrultusunda bu çalışmanın bundan sonra gerçekleştirilecek araştırmalara bir temel oluşturacağını düşünmekteyiz. Bu gibi in vitro çalışmalardan elde edilen bulgular daha fazla sayıda ve çeşitlilikte patojen bakteri ve daha fazla sayıda probiyotik bakterinin kullanıldığı çalışmalar ile desteklenmelidir. Kullanılan yöntemler modifiye edilerek, tekrarlanabilir ve güvenilir yöntemler geliştirilmelidir. Probiyotiklerin insan sağlığı üzerindeki etkilerini daha iyi gözlemlmek ve netleştirmek için in vivo çalışmaların gerçekleştirilmesi de önemli ve gereklidir.

## 7.Kaynaklar

- Abdel-daim, A., Hassouna, N., Hafez, M., Seif, M., Ashor, A., & Aboulwafa, M. M. (2013). Antagonistic Activity of Lactobacillus Isolates against Salmonella typhi In Vitro, 2013.
- Alkan, Ş. (2017). İmmün Sistem ve Barsak Mikrobiyotası. *J Biotechnol and Strategic Health Research*, 1, 7–16.
- ALP, G. (2008). Bifidobacterium CİNSİ BAKTERİLERİN BAZI PROBİYOTİK ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ.
- ALP, G., & ASLIM, B. (2009). Derleme / Review Importance of Bifidobacteria As Probiotic in Human Intestinal System, 354, 343–354.
- Altuntaş, Y., & Batman, A. (2017). Mikrobiyota ve metabolik sendrom. *Türk Kardiyoloji Dernegi Arsivi*, 45(3), 286–296. <https://doi.org/10.5543/tkda.2016.72461>
- BAKIR, B. O. (2012). Prebiyotik , Probiyotik ve Sinbiyotiklere Genel Bakış, 40(2), 178–182.
- BROOKS, G. F., CARROLL, K. C., BUTEL, J. S., & MORSE, S. A. (2010). *JAWETZ, MELNICK VE ADELBERG TIBBİ MİKROBİYOLOJİ*. (P. D. O. Ş. YENEN, Ed.). NOBEL TIP KİTAPEVLERİ.
- ÇAKIR, İ. (2003). LAKTOBASİLLUS VE BİFİDOBAKTERLERDE BAZI PROBİYOTİK ÖZELLİKLERİN BELİRLENMESİ, (September).
- ÇAKIR, İ., & ÇAKMAKÇI, M. L. (2004). PROBİYOTİKLER: TANIMI, ETKİ MEKANİZLARI, SEÇİM VE GÜVENLİK KRİTERLERİ.Pdf, 427–434.
- Castagliuolo, I., Riegler, M. F., Valenick, L., LaMont, J. T., & Pothoulakis, C. (1999). Saccharomyces boulardii protease inhibits the effects of Clostridium difficile toxins A and B in human colonic mucosa. *Infection and Immunity*, 67(1), 302–307. <https://doi.org/10.1086/523333>
- Ceyhan, N., & ALIÇ, H. (2012). Bağırsak Mikroflorası ve Probiyotikler Intestinal Microflora and Probiotics, 5(1), 107–113.
- Coman, M. M., Verdenelli, M. C., Cecchini, C., Silvi, S., Orpianesi, C., Boyko, N.,

- & Cresci, A. (2014). *In vitro* evaluation of antimicrobial activity of *Lactobacillus rhamnosus* IMC 501<sup>®</sup>, *Lactobacillus paracasei* IMC 502<sup>®</sup> and SYN BIO<sup>®</sup> against pathogens. *Journal of Applied Microbiology*, 117(2), 518–527. <https://doi.org/10.1111/jam.12544>
- Coşkun, T. (2006). Pro-, pre- ve sinbiyotikler. *Cocuk Sagligi ve Hastaliklari Dergisi*, 49(2), 128–148. <https://doi.org/10.4274/TPA.V42I11.5000002303>
- Daliri, E. B., & Lee, B. H. (2015). New perspectives on probiotics in health and disease. *Food Science and Human Wellness*, 4(2), 56–65. <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2015.06.002>
- DAMAR, R. M. (2018). SİMBİYOTİK KULLANIMININ BAĞIRSAK MİKROBİOTA ÜZERİNE ETKİSİ. *Acıbadem Üniversitesi*, 151, 10–17. <https://doi.org/10.1145/3132847.3132886>
- Delcaru, C., Alexandru, I., Podgoreanu, P., Cristea, V. C., Bleotu, C., Chifiriuc, M. C., ... Lazar, V. (2016). Antagonistic activities of some Bifidobacterium sp. strains isolated from resident infant gastrointestinal microbiota on Gram-negative enteric pathogens. *Anaerobe*, 39, 39–44. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2016.02.010>
- Demirci, M., Sağdıç, O., Çavuş, M., Pehlivanoğlu, H., Yusuf, M., & Yılmaz, T. (2017). Prebiyotik Oligosakkaritlerin Kaynakları , Üretimleri ve Gıda Uygulamaları Sources , Production and Food Applications of Prebiotic Oligosaccharides, 6(10), 20–31.
- Donaldson, G. P., Lee, S. M., & Mazmanian, S. K. (2015). Gut biogeography of the bacterial microbiota. *Nature Reviews Microbiology*, 14(1), 20–32. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3552>
- Duan, G., Yang, T., Niu, S., & Wang, Y. (2015). Purification , Characterization and Antibacterial Mechanism of Bacteriocin from *Lactobacillus Acidophilus* XH1. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 14(June), 989–995.
- Dubourg, G., Elsayi, Z., & Raoult, D. (2015). Assessment of the *in vitro* antimicrobial activity of *Lactobacillus* species for identifying new potential antibiotics. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 46(5), 590–593. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2015.05.011>
- El-Kholy, A. M., El-Shinawy, S. H., Meshref, A. M. S., & Kornay, A. M. (2014). Screening of Antagonistic Activity of Probiotic Bacteria against Some Food-

- Borne Pathogens. *Journal of Applied & Environmental Microbiology*, 2(2), 53–60. <https://doi.org/10.12691/JAEM-2-2-4>
- Ertekin, Ö., & Çon, A. H. (2014). Farklı Gıdalardan İzole Edilen Laktik Asit Bakterilerinin Endüstriyel ve Probiyotik Özellikleri, *12*(4), 6–16.
- Estevão, M., Freitas, D. S., & Pehrson, P. (n.d.). Antimicrobial activity of probiotic Lactobacillus strains towards gram-negative enteropathogens, 136–149.
- Fao, J., Working, W. H. O., Report, G., Guidelines, D., & London, F. (2002). Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food, 1–11.
- Fijan, S., Šulc, D., & Steyer, A. (2018). Study of the In Vitro Antagonistic Activity of Various Single-Strain and Multi-Strain Probiotics against Escherichia coli. *International Journal of Environmental Research and Public Health Article*. <https://doi.org/10.3390/ijerph15071539>
- Fooks, L. J., & Gibson, G. R. (2002). In vitro investigations of the effect of probiotics and prebiotics on selected human intestinal pathogens. *FEMS Microbiology Ecology*, 39(1), 67–75. [https://doi.org/10.1016/S0168-6496\(01\)00197-0](https://doi.org/10.1016/S0168-6496(01)00197-0)
- Fuller, R. (1991). Probiotics in human medicine, 439–442.
- Grimoud, J., Durand, H., Courtin, C., Monsan, P., Ouarné, F., Theodorou, V., & Roques, C. (2010). In vitro screening of probiotic lactic acid bacteria and prebiotic glucooligosaccharides to select effective synbiotics. *Anaerobe*, 16(5), 493–500. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2010.07.005>
- GÜRSOY, O., & KINIK, Ö. (2004). Peynir Üretiminde Probiyotik Bakterilerin Kullanımı: Probiyotik Peynir.
- Halder, D., Mandal, M., Chatterjee, S., Pal, N., & Mandal, S. (2017). Indigenous Probiotic Lactobacillus Isolates Presenting Antibiotic like Activity against Human Pathogenic Bacteria. *Biomedicines*, 5(2), 31. <https://doi.org/10.3390/biomedicines5020031>
- Hütt, P., Shchepetova, J., Lõivukene, K., Kullisaar, T., & Mikelsaar, M. (2006). Antagonistic activity of probiotic lactobacilli and bifidobacteria against enteric and uropathogens. *Journal of Applied Microbiology*, 100(6), 1324–1332. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2006.02857.x>
- Ilkgül, Ö. (2005). Modern tipta prebiyotikler ve probiyotikler. *Turkish Journal of Surgery*, 21(1), 47–50.

- In, P., & Nutrition, A. (n.d.). *Probiotics in Animal Nutrition*.
- Inanç, N., Şahin, H., & Çiçek, B. (2005). The Impact of Probiotics and Prebiotics on Healty. *Erciyes Tıp Dergisi*, 12(January), 728–734. <https://doi.org/doi:10.1038/nri3312>
- Isolauri, E., Salminen, S., & Ouwehand, A. C. (2004). Probiotics. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*, 18(2), 299–313. <https://doi.org/10.1053/ybega.2004.443>
- J Garssen, M Herreilers, H van Loveren, J Vos, A. O., & This. (2003). Immunomodulation by probiotics: a literature survey. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 53. <https://doi.org/10.1128/AAC.03728-14>
- Jones, S. E., & Versalovic, J. (2009). Probiotic *Lactobacillus reuteri* biofilms produce antimicrobial and anti-inflammatory factors. *BMC Microbiology*, 9, 1–9. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-9-35>
- Kahraman, M., & Karahan, A. G. (2018). Tumor Suppressor Effects of Probiotics. *Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology*, 75(4), 421–442. <https://doi.org/10.5505/TurkHijyen.2018.15428>
- Kalkan, S. (2016). Probiyotik Laktik Asit Bakterilerinin *Staphylococcus aureus* ' a Karşı Antimikrobiyel Etkilerinin Farklı Matematiksel Modeller ile Analizi Analysis of Antimicrobial Effects of Probiotic Lactic Acid Bacteria Against *Staphylococcus aureus* by Different Mathematical Models, 1(2), 150–159.
- Khalid, F., Siddiqi, R., & Mojgani, N. (1999). DETECTION AND CHARACTERIZATION OF A HEAT STABLE BACTERIOCIN (LACTOCIN LC-09) PRODUCED BY A CLINICAL ISOLATE OF LACTOBACILLI, (5), 67–71.
- Koçak, Y., Fındık, A., & Çiftçi, A. (2016). Probiyotikler: Genel Özellikleri ve Güvenilirlikleri, 27(2), 118–122.
- Kumar, A., Kundu, S., & Das, M. D. (2018). Microbial Pathogenesis Effects of the probiotics *Lactococcus lactis* ( MTCC-440 ) on *Salmonella enteric* serovar Typhi in co-culture study. *Microbial Pathogenesis*, 120(June 2017), 42–46. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.04.045>
- Lash, B. W., Gourama, H., & Mysliwiec, T. H. (2002). Microscale assay for screening of inhibitory activity of *Lactobacillus*. *BioTechniques*, 33(6), 1224–1228.

- Likotrafiti, E., Tuohy, K. M., Gibson, G. R., & Rastall, R. A. (2013). Development of antimicrobial synbiotics using potentially-probiotic faecal isolates of *Lactobacillus fermentum* and *Bifidobacterium longum*. *Anaerobe*, *20*, 5–13. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2013.01.002>
- MADİGAN, M. T., & MARTİNKO, J. M. (2010). *BROCK MİKROORGANİZMALARIN BİYOLOJİSİ*. (P. D. C. ÇÖKMÜŞ, Ed.). PALME YAYINCILIK.
- Markowiak, P., & Slizewska, K. (2017). Effects of Probiotics, Prebiotics, and Synbiotics on Human Health , (1989). <https://doi.org/10.3390/nu9091021>
- Murat, D. (2012). Probiyotik Bakterilerin Gastrointestinal Sistemdeki Etki Mekanizması The Effect Mechanisms of Probiotic Bacteria in Gastrointestinal System, *2012*(1), 20–27.
- Naderi, A., Kasra-kermanshahi, R., Gharavi, S., Ali, A., Fooladi, I., Alitappeh, A., & Saffarian, P. (2014). Study of antagonistic effects of *Lactobacillus* strains as probiotics on multi drug resistant ( MDR ) bacteria isolated from urinary tract infections ( UTIs ). *Iran J Basic Med Sci*, *17*(6), 201–208.
- Nagpal, R., Wang, S., Ahmadi, S., Hayes, J., Gagliano, J., Subashchandrabose, S., ... Yadav, H. (2018). Human-origin probiotic cocktail increases short-chain fatty acid production via modulation of mice and human gut microbiome. *Scientific Reports*, *8*(1), 1–15. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-30114-4>
- Nami, Y., Haghshenas, B., Abdullah, N., Barzegari, A., Radiah, D., Rosli, R., & Khosroushahi, A. Y. (2015). Probiotics or antibiotics: Future challenges in medicine. *Journal of Medical Microbiology*, *64*(2), 137–146. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.078923-0>
- Ohashi, Y., & Ushida, K. (2009). Health-beneficial effects of probiotics: Its mode of action. *Animal Science Journal*, *80*(4), 361–371. <https://doi.org/10.1111/j.1740-0929.2009.00645.x>
- Oliveira, D., Pinheiro, R., Oliveira, D. S., Perego, P., & Converti, A. (2009). LWT - Food Science and Technology Growth and acidification performance of probiotics in pure culture and co-culture with *Streptococcus thermophilus* : The effect of inulin. *LWT - Food Science and Technology*, *42*(5), 1015–1021. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2009.01.002>
- Özbek, B. (2010). Probiyotikler : Biyolojik Terapi Probiotics : Biological Therapy,

40, 207–218.

- Özden, A. (n.d.). Gastro-intestinal Sistem ve Probiyotik-Prebiyotik Synbiyotik. *Güncel Gastroenteroloji*.
- Özyurt, V. H., & Ötle, S. (2014). Prebiyotikler : Metabolizma İçin Önemli Bir Gıda Bileşeni, *12*(1), 115–123.
- Pehrson, M., Mancilha, I. M., & Pereira, C. (2015). Antimicrobial activity of probiotic *Lactobacillus* strains towards gram-negative enteropathogens. *European International Journal of Science and Technology*, *4*(3), 136–149.
- Prabhurajeshwar, C., & Chandrakanth, R. K. (2017). Probiotic potential of *Lactobacilli* with antagonistic activity against pathogenic strains: An in vitro validation for the production of inhibitory substances. *Biomedical Journal*, *40*(5), 270–283. <https://doi.org/10.1016/j.bj.2017.06.008>
- Quraishi, F., Fatima, G., Shaheen, S., Memon, Z., Kainat, S., & Agha, F. (2018). In-Vitro Comparison of Antimicrobial Actions of Probiotics ( *Lactobacilli* Species and *Saccharomyces boulardii* ) with Standard Antibiotics for the Treatment of Diarrhea in Pediatric Population, 827–840. <https://doi.org/10.4236/ijcm.2018.912069>
- Roberfroid, M. B. (2000). Prebiotics and probiotics : are they functional foods ? 1 – 3, *71*, 1682–1687.
- Rodriguez-Palacios, A., Staempfli, H. R., Duffield, T., & Weese, J. S. (2009). Isolation of bovine intestinal *Lactobacillus plantarum* and *Pediococcus acidilactici* with inhibitory activity against *Escherichia coli* O157 and F5. *Journal of Applied Microbiology*, *106*(2), 393–401. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2008.03959.x>
- Salminen, S., Koletzko, B., Guarner, F., Perdigon, G., & Morelli, L. (2005). Review article Should yoghurt cultures be considered probiotic ?, 783–786. <https://doi.org/10.1079/BJN20051428>
- Salminen, S., Nybom, S., Meriluoto, J., Collado, M. C., Vesterlund, S., & El-nezami, H. (2010). Interaction of probiotics and pathogens — benefits to human health ? *Current Opinion in Biotechnology*, *21*(2), 157–167. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2010.03.016>
- Sarowska, J., & Jama-kmiecik, A. (2013). The Therapeutic Effect of Probiotic Bacteria on Gastrointestinal Diseases, 759–766.

- Saurabh, S., Babu, V., & Chaubey, A. (n.d.). *A Handbook on High Value Fermentation Products, Volume 2: Human Welfare*.
- Schrezenmeir, J., & Vrese, M. de. (2001). Probiotics, prebiotics, and synbiotics—approaching a definition, 73(14).
- Sezen, A. G. (2013). Prebiyotik, Probiyotik ve Sinbiyotiklerin İnsan ve Hayvan Sağlığı Üzerine Etkileri. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 8(3), 248–258. Retrieved from <http://dergipark.gov.tr/ataunivbd/issue/2919/40422>
- Sezer, Ç. (2017). Bakterilerinin Bakteriyoisin Üretim Yeteneklerinin Araştırılması, (September 2007). <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.22336.74243>
- Shenderov, B. A. (2011). Probiotic ( symbiotic ) bacterial languages. *Anaerobe*, 17(6), 490–495. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2011.05.009>
- Shokryazdan, P., Sieo, C. C., Kalavathy, R., Liang, J. B., Alitheen, N. B., Faseleh Jahromi, M., & Ho, Y. W. (2014). Probiotic Potential of *Lactobacillus* Strains with Antimicrobial Activity against Some Human Pathogenic Strains. *BioMed Research International*, 2014, 1–16. <https://doi.org/10.1155/2014/927268>
- Strachan, D. P. (2000). Family size , infection and atopy : the first decade of the “ hygiene hypothesis ,” 55(Suppl 1), 2–10.
- Šušković, J., Kos, B., Beganović, J., Pavunc, A. L., Habjanič, K., & Matoć, S. (2010). Antimicrobial activity - The most important property of probiotic and starter lactic acid bacteria. *Food Technology and Biotechnology*, 48(3), 296–307.
- Tejero-Sariñena, S., Barlow, J., Costabile, A., Gibson, G. R., & Rowland, I. (2012). In vitro evaluation of the antimicrobial activity of a range of probiotics against pathogens: Evidence for the effects of organic acids. *Anaerobe*, 18(5), 530–538. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2012.08.004>
- Tirmalar, A. R. A. Ş. (2012). Probiyotik Bakterilerin Gastrointestinal Sistemdeki Etki Mekanizması 1 The Effect Mechanisms of Probiotic Bacteria in Gastrointestinal System, 2012(1), 20–27.
- Trivedi, D., Jena, P. K., & Seshadri, S. (2014). Colicin E2 Expression in *Lactobacillus brevis* DT24 , A Vaginal Probiotic Isolate , against Uropathogenic *Escherichia coli*, 2014.
- Tsai, C., Lai, T., Lin, P., & Hsieh, Y. (2017). Evaluation of Lactic Acid Bacteria Isolated from Fermented Plant Products for Antagonistic Activity Against

Urinary Tract Pathogen Staphylococcus saprophyticus.  
<https://doi.org/10.1007/s12602-017-9302-x>

- Tsiouris, C. G., & Tsiouri, M. G. (2017). Human microflora, probiotics and wound healing. *Wound Medicine*, 19(August), 33–38.  
<https://doi.org/10.1016/j.wndm.2017.09.006>
- Tulumoğlu, Ş., Kaya, H. İ., & Şimşek, Ö. (2014). Probiotic characteristics of Lactobacillus fermentum strains isolated from tulum cheese. *Anaerobe*, 30, 120–125. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2014.09.015>
- Tuohy, K., Thiele, I., Rowland, I., Gibson, G., Scott, K., Heinken, A., & Swann, J. (2017). Gut microbiota functions: metabolism of nutrients and other food components. *European Journal of Nutrition*, 57(1), 1–24.  
<https://doi.org/10.1007/s00394-017-1445-8>
- Williams, N. T. (2010). Probiotics. *American Journal of Health-System Pharmacy*, 67(6), 449–458. <https://doi.org/10.2146/ajhp090168>
- Williams, NANCY TOEDTER. (2010). Probiotics. *Am J Health-Syst Pharm*, 67, 591–602. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-088504-9.00317-2>
- Zago, M., Emanuela, M., Carminati, D., Burns, P., Suárez, V., Vinderola, G., ... Giraffa, G. (2011). Characterization and probiotic potential of Lactobacillus plantarum strains isolated from cheeses. *Food Microbiology*, 28(5), 1033–1040.  
<https://doi.org/10.1016/j.fm.2011.02.009>
- Zoral, S. (2013). İNSAN KAYNAKLI Lactobacillus Spp . SUŞLARININ PROBİYOTİK ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ.

## Teşekkür

Yüksek lisans sürecim boyunca takıldığım ve sıkıştığım her an desteklerini ve yardımlarını esirgemeyen başta danışman hocam Prof. Dr. Şafak ERMERTCAN olmak üzere değerli Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'ndaki sayın hocalarıma, araştırma görevlisi, yüksek lisans ve doktora öğrencileri arkadaşlarıma; bu sürecin gerçekleşmesini sağlayan ve hayatım boyunca bana destek olan aileme ve arkadaşlarıma teşekkür ederim.

İzmir, 25.12.2019

Berna GÜVENÇ

# Özgeçmiş

## Kişisel Bilgiler

**Ad Soyad:** Berna Güvenç

**Doğum Tarihi ve Yeri:** 22.03.1993-Ankara

**GSM:** 05442873713

**E-mail :** bernagvnc123@gmail.com

## Eğitim Bilgileri

**Lise:** İnönü Anadolu Lisesi

**Lisans:** Hacettepe Üniversitesi Biyoloji Bölümü

**Yüksek Lisans:** Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Mikrobiyoloji ABD

## Kurs ve Seminerler

PRİMER TASARIM VE BLAST'a GİRİŞ / 2016 / BİYOAKADEMİ

## Projeler

Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi'de yürütülen "Heterosiklik Halka Taşıyan Bir Grup Asetamin Türevi Bileşiğin Biyolojik Aktivite ve Yapı-Etki Çalışması" adlı projede hem izleyici olarak hem de antimikrobiyal etkinliğin test edilmesi