



TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
ANKARA ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**VAJİNAL KÜLTÜRLERDEN İZOLE EDİLEN  
*LACTOBACILLUS* TÜRLERİNİN ANTİMİKROBİYAL  
AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Suna Sibel GÜRPINAR**

**FARMASÖTİK MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI  
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN**

**Yrd. Doç.Dr. Müjde ERYILMAZ**

**ANKARA**

**2017**

TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
ANKARA ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

VAJİNAL KÜLTÜRLERDEN İZOLE EDİLEN  
*LACTOBACILLUS* TÜRLERİNİN ANTİMİKROBİYAL  
AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI

Suna Sibel GÜRPINAR

FARMASÖTİK MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI  
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Yrd. Doç.Dr. Müjde ERYILMAZ

ANKARA

2017

Ankara Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Yüksek Lisans tezi olarak hazırlayıp sunduğum “Vajinal kültürlerden izole edilen *Lactobacillus* türlerinin antimikrobiyal aktivitelerinin araştırılması” başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Suna Sibel GÜRPINAR

Tarih: 04.07.2017

İmza: 

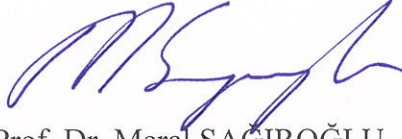
Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü  
Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalında  
Suna Sibel GÜRPINAR tarafından hazırlanan  
“Vajinal kültürlerden izole edilen *Lactobacillus* türlerinin antimikrobiyal  
aktivitelerinin araştırılması” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından YÜKSEK  
LİSANS TEZİ olarak OY BİRLİĞİ / ~~OY~~  
~~ÇOKLUĞU~~ ile kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 04.07.2017



Prof. Dr. Sulhiye YILDIZ

Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi



Prof. Dr. Meral SAĞIROĞLU

Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi



Yrd. Doç. Dr. Müjde ERYILMAZ

Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi

(Danışman)

Tez hakkında alınan jüri kararı, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü  
Yönetim Kurulu tarafından onaylanmıştır.

Prof. Dr. Mehmet AKAN

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdür Vekili

# İÇİNDEKİLER

Etik Beyan	ii
Kabul ve Onay	iii
İçindekiler	iv
Önsöz	vii
Simgeler ve Kısaltmalar	viii
Şekiller	ix
Çizelgeler	x
<b>1. GİRİŞ</b>	<b>1</b>
1.1. Laktik Asit Bakterileri	3
1.1.1. <i>Lactobacillus</i> Cinsi	4
1.2. Laktik Asit Bakterilerinin Ürettiği Sekonder Metabolitler ve Antagonizm Mekanizmaları	7
1.2.1. Organik Asitler	8
1.2.2. Hidrojen Peroksit	9
1.2.3. Enzimler	9
1.2.4. Düşük Molekül Ağırlıklı Metabolitler	10
1.2.5. Bakteriyosinler	10
1.2.6. Agregasyon ve Koagregasyon Özellikleri	17
1.3. Vajinanın Anatomik ve Fizyolojik Yapısı	17
1.3.1. Vajinal Mikroflora	17
1.3.2. Vajinal pH	19
1.3.3. Hormonal Aktivite	19
1.3.4. Menstrüel Siklus	21
1.4. Kadın Genital ve Ürogenital Sistemindeki Bazı Enfeksiyonlar ve Cinsel Yolla Bulaşan Hastalıklar	22
1.4.1. Bakteriyel Vajinozis	22
1.4.2. Trikomoniyazis	23
1.4.3. Vulvovajinal Kandidiyazis	24

1.4.4. HIV	24
1.4.5. Human Papilloma Virüs (HPV)	25
1.4.6. Aerobik Vajinit	25
<b>2. GEREÇ ve YÖNTEM</b>	<b>26</b>
2.1. Gereç	26
2.1.1. <i>Lactobacillus</i> sp. İzolatları	26
2.1.2. Standart Test Mikroorganizmaları	27
2.1.3. Kullanılan Besiyerleri	28
2.1.4. Kullanılan Boyalar ve Çözeltiler	28
2.1.4.1. Boyalar	28
2.1.4.2. Çözeltiler	28
2.2. Yöntem	29
2.2.1. <i>Lactobacillus</i> Türlerinin İzolasyonu ve Tanımlanması	29
2.2.2. <i>Lactobacillus</i> Türlerinin İdentifikasyonunda Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) Yönteminin Uygulanması	29
2.2.2.1. PCR Deneyi	29
2.2.2.2. Agaroz Jel Elektroforez	30
2.2.2.2.1. Agaroz Jelin Hazırlanması	30
2.2.2.2.2. Jele Uygulanacak Karışımın Hazırlanması ve Elektroforez	30
2.2.2.3. PCR Ürününün Saflaştırılması	30
2.2.2.4. Sekans PCR'ının Kurulması ve Sekans Analizleri	31
2.2.3. Antimikrobiyal Aktivite Tayini	31
2.2.3.1. Agar Kuyu Difüzyon Testi	31
2.2.3.2. Agar Damlatma Testi	32
<b>3. BULGULAR</b>	<b>33</b>
3.1. <i>Lactobacillus</i> sp. İzolatlarının Tanımlanması	33
3.1.1. Koloni Morfolojisi	33

3.1.2. Gram Boyama ve Morfolojik Değerlendirme	33
3.1.3. Katalaz Testi	34
3.1.4. Koloni PCR AgaroZ Jel Elektroforez Görüntüleri ve İdentifikasyon Soruları	34
3.2. Antimikrobiyal Aktivite Test Sonuçları	38
3.2.1. Agar Damlatma Testi Sonuçları	38
3.2.2. Agar Kuyu Difüzyon Testi Sonuçları	42
<b>4. TARTIŞMA</b>	46
<b>5. SONUÇ ve ÖNERİLER</b>	54
<b>ÖZET</b>	55
<b>SUMMARY</b>	56
<b>KAYNAKLAR</b>	57
<b>EKLER</b>	
Ek-1 Etik Kurul Raporu	63
Ek-2 Sekans Analizi Sonuçları	65
<b>ÖZGEÇMİŞ</b>	73

## ÖNSÖZ

Son yıllarda gereksiz ve bilinçsiz antibiyotik kullanımı sonucunda artan antibiyotik direnci insan sağlığını ciddi şekilde etkilemektedir. Özellikle çoğul dirençli mikroorganizmaların ortaya çıkışı ve bu mikroorganizmaların neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde yetersiz kalınması araştırmacıları alternatif tedavi yöntemleri aramaya yönlendirmiştir.

Antimikrobiyal etkili sekonder metabolit üretmeleri nedeniyle *Lactobacillus* türleri araştırmacıların çalışmalarına sıklıkla konu olmaktadır. Bu bakteriler insanlarda ağız, vajen ve bağırsak floralarında bulunurlar. Vajina epitelindeki glikojenden, laktik asit oluşturarak pH'ı 4'e kadar düşürürler ve böylece patojen mikroorganizmaların yerleşmesini önlerler.

Ülkemizde gıdalardan izole edilen *Lactobacillus* türlerinin antimikrobiyal aktivitelerinin araştırılması üzerine yapılan pek çok araştırma bulunmasına rağmen, klinik örnek olarak vajenden izole edilmiş Laktobasillerin antimikrobiyal aktiviteleri üzerine yapılan araştırmaların azlığı çalışmamızı önemli kılmaktadır.

Lisans ve yüksek lisans eğitimim boyunca desteğini ve değerli katkılarını esirgemeyen başta tez danışmanım Yrd.Doç.Dr. Müjde ERYILMAZ'a, Prof.Dr. Sulhiye YILDIZ'a, Prof.Dr. Nurten ALTANLAR'a ve Yrd.Doç.Dr. Banu KAŞKATEPE'ye, *Lactobacillus* izolatlarını temin etmemde bana destek olan Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof.Dr. Devran GERÇEKER'e, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Cebeci Merkez Laboratuvarı Sorumlusu Uzm.Dr. Haluk GÜRİZ'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca her koşulda arkamda olan, sevgi ve destekleri ile bana güç veren annem Filiz GÜRPINAR'a, babam Sarp GÜRPINAR'a, kardeşim Dr. İdris GÜRPINAR'a ve arkadaşlarım Dilara EREN, Elif MÜDERRİSOĞLU, Betül ERDOĞAN'a da çok teşekkür ederim.

## SİMGELER ve KISALTMALAR

<b>AIDS</b>	Acquired Immune Deficiency Syndrome
<b>ATCC</b>	American Type Culture Collection
<b>ATP</b>	Adenozin Trifosfat
<b>bç</b>	Baz çifti
<b>CDC</b>	Centers for Disease Control and Prevention
<b>cfu</b>	Colony forming unit
<b>DEPC</b>	Dietilpirokarbonat
<b>dNTPs</b>	Deoksinükleotid Trifosfat
<b>G-C</b>	Guanin-Sitozin
<b>GRAS</b>	Generally Recognized As Safe
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	Hidrojen Peroksit
<b>HIV</b>	Human Immunodeficiency Virus
<b>HPV</b>	Human Papilloma Virus
<b>LAB</b>	Laktik Asit Bakterileri
<b>μ</b>	Mikro
<b>NADH</b>	Nikotinamid Adenin Dinükleotid
<b>PCR</b>	Polimer Zincir Reaksiyonu
<b>TEA</b>	Tris Asetat EDTA

## ŞEKİLLER

<b>Şekil 3.1.</b> <i>Lactobacillus</i> türlerinin Rogosa Agar'daki görüntüsü	33
<b>Şekil 3.2.</b> Bazı <i>Lactobacillus</i> türlerinin Gram boyama mikroskop görüntüleri	33
<b>Şekil 3.3.</b> Koloni PCR'da <i>Lactobacillus</i> izolatlarının Agaroz Jel Elektroforez görüntüsü	34
<b>Şekil 3.4.</b> Bazı <i>Lactobacillus</i> izolatlarının <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853'e karşı Agar Damlatma Test Sonuçları	41
<b>Şekil 3.5.</b> Bazı <i>Lactobacillus</i> izolatlarının <i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633'e karşı Agar Damlatma Test Sonuçları	42
<b>Şekil 3.6.</b> Bazı <i>Lactobacillus</i> izolatlarının <i>Klebsiella pneumoniae</i> RSKK 578'e karşı Agar Damlatma Test Sonuçları	42
<b>Şekil 3.7.</b> Bazı <i>Lactobacillus</i> izolatlarının <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853'e karşı Agar Kuyu Difüzyon Test Sonuçları	46
<b>Şekil 3.8.</b> Bazı <i>Lactobacillus</i> izolatlarının <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212'ye karşı Agar Kuyu Difüzyon Test Sonuçları	47

## ÇİZELGELER

<b>Çizelge 1.1.</b> Sağlıklı bir kadının hayatının farklı dönemlerindeki vajina fizyolojisinin özellikleri	21
<b>Çizelge 2.1.</b> <i>Lactobacillus</i> izolatlarının alındığı kadınların yaş ve gebelik durumu	26
<b>Çizelge 3.1.</b> <i>Lactobacillus</i> izolatlarının Agar Damlatma Test sonuçları	38
<b>Çizelge 3.2.</b> <i>Lactobacillus</i> izolatlarının Agar Kuyu Difüzyon Test sonuçları	43



# 1. GİRİŞ

Antibiyotiklere karşı giderek artan direnç gelişimi dünya genelinde oldukça ciddi boyutlardadır. Her geçen gün dünyanın farklı bölgelerinden çoğul dirençli yeni mikroorganizmalar bildirilmektedir (Islam ve ark., 2017; Raut ve ark., 2017). Bu mikroorganizmaların yol açtığı enfeksiyonlar, önemli morbidite ve mortalite kaynağı olarak karşımıza çıkmaktadır (WHO, 2017). Her yıl yaklaşık olarak 700.000 kişi ilaca dirençli suşların neden olduğu hastalıklar nedeniyle hayatını kaybetmektedir. 2050 yılına kadar bu sayının yılda 10 milyon kişiye ulaşacağı ve ekonomik kaybın 100 trilyon doları geçeceği öngörülmektedir (Ahmad ve ark., 2017). Çoğul dirençli mikroorganizmaların neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde kullanılmak üzere yeni antimikrobiyal etkili bileşiklere ihtiyaç duyulmaktadır. Yeni antibiyotik gruplarının bulunamaması ve var olan ilaç seçeneklerine karşı önlenemez direnç gelişimi, bilim adamlarını alternatif tedavi seçeneklerinin araştırılmasına yöneltmiştir (WHO, 2017).

Laktik asit bakterileri (LAB) arasında gruplandırılan *Lactobacillus* cinsi, karbonhidrat metabolizmaları sonucunda başlıca son ürün olarak laktik asit oluşturan mikroorganizmalardır. Glikozdan majör fermantasyon ürünü olarak laktik asit oluşturmalarının yanında, bazı gruplarının değişik miktarlarda asetik asit, etil alkol ve karbondioksit gibi bileşikler de oluşturduğu bilinmektedir (Kandler ve Weiss, 1986, s.:1218).

Laktobasiller, antimikrobiyal etkili bileşikler üreterek gıda güvenliğini arttırmaları ve raf ömrünü uzatırlar. Organik asit, hidrojen peroksit, asetaldehit, karbondioksit, diasetil, etanol ile bakteriyosin ve benzeri ürünler oluşturarak gıdalarda bozulmaya yol açan mikroorganizmalara karşı antagonistik aktivite gösterirler (Holzapfel ve ark., 1995).

Laktobasiller insanlarda normal flora üyesi olarak ağızda, vajende ve bağırsaklarda bulunurlar (Davoodabadi ve ark., 2015). Ürettikleri sekonder

metabolitler ve antagonizma etkileri sayesinde bu bölgelerde koruyucu olarak görev yaparlar (Kılıç ve Aslım, 2003). Menopoz öncesi sağlıklı kadınlarda vajende dominant olarak bulunarak, patojen mikroorganizmaların kolonize olmasına engel olurlar (Kovachev, 2017).

Yapılan literatür taramasında gıdalardan izole edilen Laktobasillerin antimikrobiyal aktiviteleri üzerine yapılan pek çok çalışma bulunmasına rağmen (Todorov ve ark., 2014; Jabbari ve ark., 2017), klinik örnek olarak vajenden izole edilen Laktobasillerin antimikrobiyal aktiviteleri üzerine yapılan çalışmaların sınırlı sayıda olduğu görülmüştür (Dimitonova ve ark., 2007; Stoyancheva ve ark., 2014).

Bu çalışmanın amacı, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı'ndan Cebeci Hastanesi Merkez Laboratuvarı'na gönderilen vajen kültürlerinden izole edilmiş *Lactobacillus* türlerinin ürettiği sekonder metabolitlerin, çeşitli test mikroorganizmaları üzerindeki antimikrobiyal aktivitelerinin araştırılmasıdır.

## 1.1. Laktik Asit Bakterileri

LAB bitkilerde, deniz ve kara hayvanlarında, insan vücudunun mukozal yüzeylerinde, fermente gıdalar gibi özellikle karbonhidrat açısından zengin olan ortamlarda yaygın olarak bulunan mikroorganizmalardır. Bu bakteriler, insan ve hayvan mikrobiyotasının üyesidirler (Florou-Paneri ve ark., 2013). İnsan mikrobiyotası cilt, ağız boşluğu, konjonktiva, gastrointestinal sistem ve vajinada kolonize olmuş mikroorganizmalardan oluşmaktadır. Mikrobiyotada bulunan mikroorganizmalar sağlıklı bir yaşam için insan vücuduna katkıda bulunur (Stoyancheva ve ark., 2014).

Bu bakteriler ilk olarak 1900'lerin başlarında bir mikroorganizma grubu olarak araştırmacıların dikkatini çekmeye başlamıştır. LAB terimi ilk kez 1919'da Orla Jensen tarafından kullanılmış ve günümüzde kullanılan sınıflandırmaya temel oluşturmuştur. Bu sınıflandırma hücresel morfolojileri, glikoz fermentasyonları, büyüme sıcaklığı aralıkları ve şeker kullanımları göz önüne alınarak yapılmıştır. Mevcut taksonomik sınıflandırmaya göre LAB; *Firmicutes* şubesi, *Bacilli* sınıfı ve *Lactobacillales* takımına aittir ve *Aerococcus*, *Carnobacterium*, *Alloiococcus*, *Enterococcus*, *Leuconostoc*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Oenococcus*, *Symbiobacterium*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* ve *Weissella* cinslerini içermektedir. Bunlar düşük guanin-sitozin (G-C) oranına sahip mikroorganizmalardır (%31-49). *Bifidobacterium*'lar, LAB ile filogenetik açıdan zayıf bağlantılı olması, farklı heksoz parçalama yolları göstermesi ve G-C oranlarının %55'den fazla olmasına rağmen birçok kaynaktan bu grup içerisinde sınıflandırılmıştır. Ancak *Bifidobacterium*'lar, *Actinobacteria* şubesi içerisinde yer alırlar (Liu ve ark., 2014).

LAB, mikroaerofilik ya da anaerobik, aside karşı dirençli ve spor oluşturmeyen çubuk ya da kok şeklindeki bakterilerdir. Gram pozitif boyanırlar. Genellikle katalaz negatifler ancak bazı suşlar pseudokatalaz üretebilirler (Liu ve ark., 2014). Laktik asit bakterilerinin ana metabolizması farklı karbonhidratları ve ilgili bileşikleri laktik

asit ve enerji üreterek parçalamaktır. Glukoz fermentasyonlarına göre homofermentatif ve heterofermentatif olarak iki gruba ayrılırlar. Homofermentatifler, karbonhidratlardan son ürün olarak laktik asit meydana getirirken; heterofermentatifler, laktik asidin yanında etanol, asetik asit ve karbondioksit gibi ürünler de oluştururlar (Florou-Paneri ve ark., 2013).

LAB, fermentasyonda rol almaları nedeniyle “sütü ekşiten mikroorganizmalar” olarak adlandırılmış ve gıdalar ile olumsuz olarak ilişkilendirilmiştir. Ancak günümüzde yararlı mikroorganizmalar olarak görülmeye başlanmış ve probiyotik özellikte olan suşların sağlığı olumlu yönde etkilediği yapılan çeşitli çalışmalarda bildirilmiştir (Hojsak ve ark., 2017; Jafarpour ve ark., 2017). LAB süt endüstrisinde “starter kültür” olarak kullanımlarının yanında probiyotik olarak da çeşitli endüstri alanlarında kullanılmaktadır (Liu ve ark., 2014).

*Lactobacillus* cinsi, gıda mikrobiyolojisi alanında sıklıkla kullanılan birçok türü içermektedir. Bu türlerden bazıları fermente gıdaların üretiminde önemli bir yere sahipken; bazıları da besin koruyucu olarak kullanılmaktadır. Bu cinse ait türlerin çoğu gıda teknolojisinde GRAS (Generally Recognized As Safe) yani güvenli olarak kabul edilmektedir (Liu ve ark., 2014).

### **1.1.1. *Lactobacillus* Cinsi**

Laktik asit bakterilerinin en geniş cinsidir. *Lactobacillaceae* familyasında yer alan bu cinsin içinde 100’den fazla tür bulunur (Liu ve ark., 2014). İnsan mikrobiyotasında gastrointestinal sistem, vajina ve orofarenks florasında bulunan Gram pozitif basil şeklindeki bakterilerdir (Winn ve ark., 2006, s.:838). Probiyotik olarak kullanılan birçok türü vardır. Bazı fizyolojik özellikleri gastrointestinal sistemde canlılığını koruyabilmesine olanak tanımaktadır. Düşük pH ve/veya safra tuzlarına karşı dirençli olmaları ile geniş bir büyüme sıcaklığı aralığına sahip olmaları, probiyotik olarak fonksiyon göstermelerinin ön koşullarındandır (Klein ve ark., 1998). Mikroskobik incelemede sıklıkla ince ve uzun olarak görülürken, bazı

türler kokobasil özellik gösterir. Uzun zincirler oluşturabilirler. Çoğu türü hareketsiz olsa da hareketli türleri de mevcuttur. Hareketli türleri peritrik flagellaya sahiptir. Spor oluşturmazlar. Katalaz ve oksidaz negatif özellik gösterirler. Kısmen anaeroblardır (Winn ve ark., 2006, s.:838). DNA baz kompozisyonunda % G+C mol oranları % 32-53 gibi bir aralıkta değişmektedir (Kandler ve Weiss, 1986, s.:1218).

*Lactobacillus* cinsi ilk kez 1901 yılında Beijerinck tarafından tanımlanmıştır (Liu ve ark., 2014). Daha sonra Orla Jensen tarafından optimal büyüme sıcaklıkları ve heksoz fermente yollarına göre *Thermobacterium*, *Streptobacterium* ve *Betabacterium* olmak üzere üç alt gruba ayrılmıştır (Kandler ve Weiss, 1986, s.:1218; Klein ve ark., 1998; Liu ve ark., 2014). Ancak ilerleyen yıllarda modern moleküler metodlar fenotipik özelliklere göre yapılan sınıflandırmanın uygun olmadığını göstermiştir (Klein ve ark., 1998). Bergey's Manual of Systematic Bacteriology'nin ikinci baskısında çok sayıda *Lactobacillus* türü listelenmiş ve yeniden sınıflandırılma yapılmıştır. Bu sınıflandırmaya göre;

- **Grup I (Zorunlu Homofermentatif Laktobasiller):** Bu gruptaki türler heksozu Embden-Meyerhof yolu ile fermente ederler ve neredeyse son ürün olarak sadece laktik asit oluştururlar. Pentozları ve glukonatu fermente etmezler (Kandler ve Weiss, 1986, s.:1218).
- **Grup II (Fakültatif Heterofermentatif Laktobasiller):** Heksozu Embden-Meyerhof yolu ile fermente ederler ve bazı türler laktik asidin yanında son ürün olarak asetik asit, etanol ve formik asit de oluşturabilir. Pentozu ise fosfoketolaz enzimi ile parçalarlar ve laktik asit ve asetik asit oluştururlar (Kandler ve Weiss, 1986, s.:1218).
- **Grup III (Zorunlu Heterofermentatif Laktobasiller):** Fermentasyonu sadece fosfoketolaza dayalı metabolik yolla gerçekleştirirler. Heksozu laktik asit, asetik asit, etanol ve CO<sub>2</sub>'ye; pentozu laktik asit ve asetik aside fermente ederler. Şekerin fermentasyonu sırasında gaz oluştururlar (Kandler ve Weiss, 1986, s.:1218).

Gıda teknolojisi açısından bu sınıflandırma daha uygundur. I. ve II. Grup ile III. Grup'ta yer alan bazı türler fermente gıdaların üretiminde kullanılırken, III. Grup'ta bulunan türlerin çoğunluğu daha çok gıdaların bozulmasıyla ilişkilendirilir (Liu ve ark., 2014).

Laktobasiller enerji ve karbon kaynağı olarak sadece karbonhidratları kullanmazlar. Karbonhidratların yanında nükleoidler, aminoasitler ve vitaminleri de kullanırlar (Kandler ve Weiss, 1986, s.:1212). Klein ve arkadaşları (1998), laktobasilleri; *Lactobacillus acidophilus* grubu, *Lactobacillus casei* grubu ve *Lactobacillus reuteri/fermentum* grubu olmak üzere 3 gruba ayırmışlardır.

- ***Lactobacillus acidophilus* Grubu:** Bu gruba ait toplam altı tür bulunmaktadır. Başlangıçta sadece *Lactobacillus acidophilus* bilinmekteydi. İlk kez Moro tarafından 1900'de *Bacillus acidophilus* olarak adlandırılmış ve daha sonra Hansen ve Moquot tarafından 1970'de yeniden düzenlemiştir. 1953'te *L. crispatus*, 1970'de *L. amylovorus*, 1980'de *L. gasseri* ve 1992'de ise *L. johnsonii* ve *L. gallinarum* tanımlanarak bu gruba dahil edilmiştir. *L. gasseri*, *L. johnsonii*, *L. acidophilus* ve *L. crispatus* türleri probiyotik olarak kullanılmaktadır (Klein ve ark., 1998).
- ***Lactobacillus casei* Grubu:** Bu grupta *L. zaea*, *L. casei*, *L. paracasei* ve *L. rhamnosus* türleri yer alırlar. Bunlardan *L. casei*, *L. paracasei* ve *L. rhamnosus* probiyotik olarak kullanılmaktadır. Bu gruba ilk olarak sadece *L. casei* dahil edilmiş ve 5 alt gruba ayrılmıştır; *L. casei* subsp. *casei*, *L. casei* subsp. *alactosus*, *L. casei* subsp. *pseudoplantarum*, *L. casei* subsp. *tolerans* ve *L. casei* subsp. *rhamnosus*. Collins ve arkadaşları 1989 yılında bu grubun yeniden sınıflandırılmasını önermiş ve iki yeni tür *L. paracasei* ve *L. rhamnosus*'u tanımlamışlardır. Önceki sınıflandırmada yer alan alt türlerden *L. casei* subsp. *casei* yeniden tanımlanarak hiçbir alt tür içermeyen *L. casei*'ye dönüştürülmüştür. Diğer taraftan *L. paracasei* iki alt tür içermektedir. Önceki sınıflandırmada yer alan *L. casei* subsp. *alactosus* ve *L. casei* subsp. *pseudoplantarum*'u içeren *L. paracasei* subsp. *paracasei* ve *L. casei*'nin alt türü

*L. casei* subsp. *tolerans* ile aynı adı taşıyan *L. paracasei* subsp. *tolerans*'tır. Yeni tür olan *L. rhamnosus* ise sadece *L. casei* subsp. *rhamnosus*'dan oluşmaktadır. Dicks ve arkadaşları 1996 yılında yaptıkları sınıflandırmada *L. casei* ATCC 393 suşunu *L. zaea* olarak adlandırmışlardır (Klein ve ark., 1998).

- ***L. reuteri* / *fermentum* Grubu:** *L. fermentum* ilk kez Lerche and Reuter tarafından 1962'de izole edilmiştir. Daha sonra 1964 yılında Reuter tarafından American Type Culture Collection'a (ATCC 23277) eklenmiştir. 1980 yılında Kandler ve arkadaşları *L. reuteri*'yi tanımlamışlardır. *L. reuteri* bakteriyosin üreten probiyotik bir suş olması nedeniyle büyük ilgi görmektedir. Hayvan besiciliğinde kullanımının yanı sıra yoğurt ve müstahzar üretiminde de kullanılmaktadır. Bu gruptaki iki tür fenotipik olarak birbirlerine çok yakındır. Biyokimyasal özelliklerine göre ayırım yapılabilir. Peptidoglikan yapıları iki tür arasında önemli ölçüde farklılık gösterir (Klein ve ark., 1998).

## **1.2. Laktik Asit Bakterilerinin Ürettiği Sekonder Metabolitler ve Antagonizm Mekanizmaları**

Nüfus artışına paralel olarak seri üretime geçilmesi ve raf ömrü uzun besinlere olan ihtiyaç, gıdaların üretim aşamalarına olan ilgiyi arttırmıştır. Gıda sektöründe, kolay ve seri üretime uygun yöntemler ile besinsel değeri yüksek, güvenilir, raf ömrü uzun ürünlerin elde edilmesi temeldir. Bununla birlikte gıdalara raf ömrünü uzatmak amacıyla ilave edilen kimyasalların çeşitli hastalıklara neden olması, tüketicilerin daha doğal ve yapay katkı maddesi içermeyen besinleri tercih etmesine neden olmuştur. Bu nedenle doğal gıda koruyucularının belirlenmesi ve sektörde kullanılmasına yönelik çalışmalar önem kazanmıştır (Dinçer ve ark., 2009).

LAB organik asitler, diasetil, asetoin, hidrojen peroksit, reuterin, antifungal peptitler ve bakteriyosinler gibi çok çeşitli antimikrobiyal metabolitler oluşturmaktadır. Bu nedenle gıdalarda patojen kontrolünde ve raf ömrünün uzatılmasında kullanılmaktadırlar (Holzapfel ve ark., 1995).

Bir mikroorganizmanın büyüme hızı ve rekabet gücü, oksidasyon-redüksiyon potansiyeli, su aktivitesi, pH ve sıcaklık gibi faktörleri içeren intrinsik ve ekstrinsik faktörler ve bir substrata olan adaptasyonu ile belirlenir. Mikroorganizmaların besinlere karşı rekabeti ve ürettikleri antimikrobiyal metabolitler istenmeyen veya patojenik mikroorganizmaların inhibisyonuna neden olur. Böylelikle bu mikrobiyal aktiviteye sahip metabolitlerin birini veya birden fazlasını üreten mikroorganizma yarışma halinde olduğu diğer mikroorganizmalara karşı kolaylıkla üstünlük sağlayabilir (Holzapfel ve ark., 1995).

Holzapfel ve arkadaşları (1995) çalışmalarında LAB'nin ürettikleri bu metabolitleri beş ana başlık altında gruplandırmışlardır:

### 1.2.1. Organik Asitler

- **Laktik Asit:** LAB'nin karakteristik fermentasyon ürünüdür. Laktik asidin pH'ı düşürmesi *Clostridium* ve *Pseudomonas* gibi çürütücülerin, *Salmonella* ve *Listeria* gibi patojenlerin ve *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Clostridium botulinum* gibi toksinojenik bakterilerin üremesini inhibe edebilir. Ayrıca asitlerin yağları çözebilme özelliklerinden dolayı kolaylıkla hücre duvarından hücre içine geçebilirler. Böylece hücrenin pH'sını düşürerek metabolik aktiviteyi yavaşlatırlar (Holzapfel ve ark., 1995).
- **Asetik Asit:** Asetik asit, laktik asitten daha yüksek bir ayrışma sabitine sahip olduğu için daha güçlü bir inhibisyon gösterir. Heterofermantatif LAB, heksozun fermentasyonu sırasında laktik asit yanında az miktarda asetik asit de meydana getirebilmektedirler. Ayrıca sınırlı heksoz miktarı veya oksijenin bulunmaması gibi durumlarda homofermantatif LAB, laktik asit yerine asetik asit, formik asit ve CO<sub>2</sub> gibi son ürünler de oluşturabilmektedir (Holzapfel ve ark., 1995).

Gouda peyniri ve az yağlı yoğurt gibi bazı fermente ürünlerde benzoik asit konsantrasyonu normal olarak beklenen değeri aşar. Bu durum *Lactobacillus*

*casei* gibi bazı LAB'nin hippurik asit metabolizmasıyla açıklanmaktadır ve bu gibi süt ürünlerinde ekstra koruma sağlamaktadır (Holzapfel ve ark., 1995).

Vajende bulunan *Lactobacillus*'lar ürettikleri laktik asit sayesinde ortamın asidik olmasını sağlarlar. Böylelikle vajinal enfeksiyon ajanlarına karşı koruyucu rol oynadıkları düşünülmektedir. Herhangi bir sebeple vajinal floranın değişmesi *Lactobacillus*'ların koruyucu etkisinin ortadan kalkmasına neden olabilmektedir (Petricevic ve ark., 2013).

### **1.2.2. Hidrojen Peroksit**

Hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) çoğu LAB tarafından oksijen ile piruvat, laktat ve nikotinamid adenin dinükleotid (NADH) varlığında flavin enzimi yardımı ile üretilir. *Pseudomonas* ve *S. aureus* gibi istenmeyen patojenler LAB'ne kıyasla  $H_2O_2$ 'e karşı daha duyarlıdır (Holzapfel ve ark., 1995).

$H_2O_2$  üretim miktarları açısından laktobasiller farklılık gösterebilmektedirler. Yapılan çalışmalarda bu farklılığa dayanarak, türlerin antimikrobiyal aktivitesinin değişebileceği bildirilmektedir (Pendharkar ve ark., 2013).

### **1.2.3. Enzimler**

Laktoperoksidaz enzimi süt ve süt ürünlerinde, patojen ve bozulmaya neden olan bakterilere karşı kullanılmaktadır. Lizozim enzimi ise istenmeyen Gram pozitif bakterilere karşı etkilidir (Holzapfel ve ark., 1995).

#### 1.2.4. Düşük Molekül Ağırlıklı Metabolitler

Düşük molekül ağırlıklı metabolitlerin kısmen antimikrobiyal aktiviteleri olduğu bilinmektedir (Holzapfel ve ark., 1995).

- **Diasetil:** *Lactococcus*, *Leuconostoc* ve *Pediococcus* türleri tarafından sitrik asidin bozunması sırasında üretilir. Besinlerde koruyucu etkisinden daha çok sahip olduğu yoğun aroma için kullanılır.
- **Karbondioksit:** Heterofermentatif LAB'nin heksoz fermentasyonunda üretilir. Aerobik bakterilere karşı toksiktir.
- **Reuterin (3-hidroksipropiyonaldehit):** *L. reuteri* tarafından gliserolün fermentasyonu sonucunda üretilir. Ribonükleotid redüktazı inhibe ederek geniş antimikrobiyal aktivite gösterir. Balık ve et ürünlerinde koruyucu olarak kullanılabilir.

#### 1.2.5. Bakteriyosinler

Organizmaların büyümeleri, gelişmeleri ve üremeleri ile doğrudan ilişkili olmayan, ürettikleri organik bileşiklere sekonder metabolitler adı verilmektedir. Bu sekonder metabolitler genellikle antibiyotikler, pigmentler, toksinler, ekolojik rekabet ve ortak yaşam etkenleri, feromonlar, enzim inhibitörleri, immünomodülatör ajanlar, reseptör antagonistleri ve agonistleri içeren düşük molekül kütleli ürünlerdir. Bakteriyosinler de sekonder metabolitler arasında yer alırlar (Ramu ve ark., 2015).

Bakteriyosinler, bazı bakteriler tarafından üretilen, ısıya dayanıklı, genellikle yakın akraba türler üzerine bakterisidal etki gösteren peptidlerdir (Klaenhammer, 1998). Bakterilerin savunma sisteminde önemli rol oynarlar (Ramu ve ark., 2015).

Ayrıca bakteriyosini üreten bakteri, o bakteriyosine karşı spesifik immun mekanizmaya sahiptir (Cotter ve ark., 2005).

Bazı araştırmacılar antimikrobiyal aktivitelerinden dolayı bakteriyosinlerin, antibiyotiklerle aynı sınıf altında toplanabileceğini düşünmektedir. Ancak bakteriyosinler, sentezlenme şekillerinin, etki mekanizmalarının, antimikrobiyal spektrumunun, toksik etkilerinin ve direnç mekanizmasının farklı olmasından dolayı antibiyotiklerden farklılık gösterirler (Cleveland ve ark., 2001). Antibiyotikler multi-enzim kompleksleri tarafından üretilirken, bakteriyosinler bakteri ribozomlarında üretilen bakterisidal peptidlerdir. Ayrıca bakteriyosinlerin etki spektrumu antibiyotiklere göre daha dardır (Ramu ve ark., 2015).

Bakteriyosinler hem Gram pozitif hem de Gram negatif bakteriler tarafından üretilirler. Gram pozitif bakterilerin ürettikleri bakteriyosinler dört grup altında sınıflandırılmıştır. Sülfid (Lantioninlerde olduğu gibi) ve disülfid bağlarının varlığı majör ayırt edici faktör olarak dikkate alınmıştır. Aynı zamanda bu bağlar etki spektrumundan da sorumludur. Bununla birlikte moleküler kütle, ısıya karşı dayanıklılık, enzimatik sensitivite, post-translasyonel modifiye protein varlığı ve etki şekli özellikle alt gruplar halinde sınıflandırılmalarında rol oynamaktadır (Ramu ve ark., 2015).

Klaenhammer tarafından 1993'te laktik asit bakterileri tarafından üretilen bakteriyosinler dört sınıfa ayrılmıştır:

**Sınıf I:** Post translasyonel modifiye bakteriyosinler (lantibiyotikler)

**Sınıf II:** Küçük (<10 kDa) ısıya dayanıklı membran aktif bakteriyosinler

**Sınıf III:** Büyük (>10 kDa) ısıya duyarlı bakteriyosinler

**Sınıf IV:** Protein kısmına lipit ve karbonhidrat ilaveli kompleks bakteriyosinler

- **Sınıf I Bakteriyosinler:** Bunlar yapılarında lantionin veya metil lantionin gibi farklı aminoasitleri içeren post translasyonel modifiye peptidlerdir. Lantionin içermelerinden dolayı lantibiyotikler olarak da adlandırılırlar. Laktik asit bakterileri tarafından üretilen Gram pozitif bakterilere karşı etkili olan ve 5 kDa'dan küçük olan yapılardır (Ramu ve ark., 2015). Genel olarak linear (Tip A) ve globular (Tip B) olarak iki alt gruba ayrılmakla birlikte ilave alt gruplar halen tartışılmaktadır (Dinçer ve ark., 2009). Nisin, subtilin, sitolisin ve variasin 8 bazı örnekleridir (Ramu ve ark., 2015).

- **Sınıf II Bakteriyosinler:** Isıya dayanıklı, modifiye edilmemiş, yapılarında farklı aminoasitler bulundurmeyen yapılardır. Bu yüzden onlara non-lantibiyotikler denir. Laktik asit bakterileri tarafından üretilen 10 kDa'dan küçük peptid molekülleridir (Ramu ve ark., 2015).

Sınıf II bakteriyosinleri II-a, II-b, II-c olarak 3 alt gruba ayrılır. Bunlar sırasıyla: Pediosin benzeri bakteriyosinler, iki peptidli bakteriyosinler ve tiyol ile aktive edilmiş bakteriyosinlerdir. Pediosin PA-1, laktasin F, enterosin AS-48 bazı örneklerdir (Ramu ve ark., 2015).

Sınıf I ile Sınıf II bakteriyosinleri arasındaki majör fark Sınıf I post translasyonel değişime uğraması nedeniyle lantionin içerirken, Sınıf II'nin değişime uğramamasıdır (Ramu ve ark., 2015).

- **Sınıf III Bakteriyosinler:** Isıya karşı dayanıksız, 10 kDa'dan büyük protein molekülleridir. III-a (bakteriyolizinler) ve III-b (non litik bakteriyosinler) olmak üzere iki alt sınıfı vardır (Ramu ve ark., 2015). Bu bakteriyosinlerin geneli hücre duvarına etkili küçük bir gruptur (Dinçer ve ark., 2009). Gram pozitif *Staphylococcus* türlerinin ürettiği 27 kDa büyüklüğündeki lizostafin araştırılan en iyi bakteriyolizindir (Ramu ve ark., 2015).

- **Sınıf IV Bakteriyosinler:** Bunlar bakteriyosin aktivitesini sergileyebilmek için karbonhidrat ya da lipid kısımları içeren kompleks proteinlerdir. Bu grup, bakteriyosinlerin sadece proteazlarla muamele ile değil aynı zamanda glikolitik ve lipolitik enzimlerden de etkilendiğinin gözlenmesi nedeniyle sonradan eklenmiştir. Plantarisin S ve leukonosin S başlıca örnekleridir (Ramu ve ark., 2015).

Son yıllarda sirküler bakteriyosinlerin Sınıf V olarak ayrı grup altında kabul edilmesi gerektiği ileri sürülmüştür. Laktik asit bakterilerinin bakteriyosinlerinin beş ana gruba ayrıldığı tartışılrsa da Cotter ve arkadaşları (2005), bu sınıflandırmayı geliştirerek bakteriyosinleri iki grup altında toplamıştır. Bunlar Sınıf I lantiyonin içerenler-lantibiyotikler ve Sınıf II lantiyonin içermeyen bakteriyosinlerdir. Sınıf II-a, III, IV ve V sınıf II altında toplanmıştır. Bu nedenle bu grup, değiştirilmemiş peptidler, pediosin benzeri peptidler, iki bileşenli peptidler, siklik peptidler ve karışık bakteriyosinleri içermektedir (Ramu ve ark., 2015). Eski Sınıf III bakteriyosinleri yani ısıya dayanıksız murein hidrolazlar ise bakteriyolizinler olarak adlandırmışlardır (Cotter ve ark., 2005).

Cotter ve arkadaşlarının yaptıkları yeni sınıflandırma ise şu şekildedir:

- **Sınıf I Bakteriyosinler (Lantibiyotikler):** Lantibiyotikler, lantiyonin ya da  $\beta$ -metil lantiyonin kısımları içeren 19-38 aminoasit uzunluğunda olan küçük peptidlerdir. Bu kısımlar aminoasitler arasında kovalent bağlar oluşturur ve lantibiyotiklere karakteristik yapısını verirler (Cotter ve ark., 2005).

Lantibiyotiklerin en önemli üyesi *Lactococcus lactis subsp. lactis* tarafından üretilen nisindir. Yapılarındaki aminoasit farklılığından dolayı Nisin A ve Nisin Z olarak iki varyantı bulunur. Ancak etkileri aynıdır. pH 2'ye karşı dayanıklı ve 2-7 °C'de uzun süre saklanabilirken, oda sıcaklığında pH 7'nin üzerinde inaktive olurlar (Balciunas ve ark., 2013).

Lantibiyotikler, yapı ve etki mekanizmalarına göre gruplandırılırlar. Yapılarına göre sınıflandırmada tek peptid veya iki peptid içermeleri etkilidir. Tek peptid içerenler; nisin, mersasidin ve laktisin 481 iken iki peptid içerenler; laktisin 3147 ve sitolisindir (Cotter ve ark., 2005).

Etki mekanizmalarına göre değerlendirilecek olunursa, genellikle nisin gibi uzun katyonik lantibiyotikler membranlarda por oluşumu ve peptidoglikan sentezinin önlenmesi ile etkilerini gösterirler. Por oluşumu membran potansiyelinin kaybına ve küçük metabolitlerin hücreden çıkışına, peptidoglikan sentezinin önlenmesi ise hücre duvarı sentezinin engellenmesine neden olur. Buna karşılık, mersasidin gibi küresel lantibiyotikler sadece Lipid II'ye bağlanarak etkilerini gösterirler. Por oluşumuna neden olmazlar (Cotter ve ark., 2005).

Laktisin 3147 gibi iki peptidli lantibiyotikler ise iki etki mekanizmasına da sahiptir. Bu durumun iki peptidin sinerjik etkisiyle gerçekleştiği düşünülmektedir. Günümüzde nisinin, laktisin 3147 gibi, iki mekanizmaya da sahip olarak etki gösterdiği görülmüştür. Lantibiyotiklerin bu karmaşık yapıları onların alt gruplara ayrılmasını zorlaştırmaktadır. Modifiye edilmemiş propeptidlerin dizilimine göre 11 alt gruba ayrılabilmesi önerilmektedir (Cotter ve ark., 2005).

- **Sınıf II Bakteriyosinler (Lantiyonin İçermeyenler):** Daha yaygın olan lantiyonin içermeyen bakteriyosinler 10 kD'dan küçük, ısıya dayanıklı peptidlerdir. Lantibiyotiklerin aksine post-translasyonel modifikasyona uğramamışlardır (Cotter ve ark., 2005). Sınıf II bakteriyosinler etkilerini ampifilik helikal yapıları ile hedef bakterinin sitoplazmik membranına girerek gösterirler. Membran geçirgenliğini indükleyerek moleküllerin hücre dışına çıkmasına yol açarlar böylece hücrenin ölümüne neden olurlar (Balciunas ve ark., 2013). Gruplandırılırken birkaç grup öne sürülmüştür ama onların heterojen yapıları rasyonel sınıflandırmayı zorlaştırmıştır (Cotter ve ark., 2005).

Sınıf II bakteriyosinler üç gruba ayrılırlar:

- a) **Sınıf II-a:** Pediosin benzeri ya da *Listeria* aktif bakteriyosinler olarak da adlandırılırlar. *Listeria* aktif bakteriyosinler adını dar spektrumlu olmalarına karşın gıda patojeni *L. monocytogenes*'e karşı spesifik aktivite göstermelerinden dolayı alırlar. *L. monocytogenes*'in fosfotransferaz sisteminin mannoz permeazı ile Sınıf II-a bakteriyosinlerin duyarlılığı arasında bağ kurulmuştur. *L. monocytogenes*'de permeazı kodlayan mptACD geninin üretiminin azalması, mesenterisin ve leukosine karşı direnç gelişimine neden olmaktadır (Balciunas ve ark., 2013).

Yapılarında kıvrım şeklinde N terminali ve bir ya da iki  $\alpha$ -heliks yapısı içeren C terminali vardır (Balciunas ve ark., 2013). N terminalinin, hedef yüzeye spesifik olmayan bağlanmayı kolaylaştırdığı, C terminal bölgesinin ise Listerial antimikrobiyal spektrumdan sorumlu olduğu düşünülmektedir. Yani Sınıf II-a bakteriyosinlerde, C terminali tarafından spesifik hedef belirlenir (Cotter ve ark., 2005). C ucu ile hücre membranında por oluşumuna neden olarak, proton motiv güç kaybına neden olur. Proton motiv gücün tekrar sağlanmaya çalışılması hızlı ATP tüketimine neden olur. Bu da hücreyi ölüme götürür (Balciunas ve ark., 2013).

Pediosin PA-1, Sınıf II-a'ya ait, sadece farklı türler tarafından değil aynı zamanda laktik asit bakterilerinin farklı cinsleri tarafından da üretilen tek bakteriyosindir. Başlangıçta *Pediococcus acidilactici*'de saptanmıştır. Daha sonra pediokokların diğer türlerinin de pediosin ürettiği görülmüştür. Yapılan bir çalışmada, Fransız peynirinden izole edilen *L. plantarum*'dan pediocin Ach adında, *L. monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* ve *Clostridium perfringens*'e karşı etkili bir bakteriyosin elde edilmiştir (Balciunas ve ark., 2013).

Sınıf II-a sınıfına ait bakteriyosinlerden bir diğeri ise enterosindir. Enterosinler selektif antimikrobiyal aktiviteye sahiptir. *Leuconostoc* ve

*Lactococcus*'lara karşı antagonizm göstermezler. *C. perfringens*, *C. botulinum*, *S. aureus* ve *Listeria*'ların bazı türlerine karşı etki gösterirler (Balciunas ve ark., 2013).

**b) Sınıf II-b:** Heterodimerik, iki peptidli bakteriyosinlerdir (Balciunas ve ark., 2013). Aktivitelerinde iki peptidin kombine etkisi söz konusudur. Peptidler, tek tek test edildiklerinde bakteriyosin aktiviteleri çok düşüktür. Membran potansiyelinin azalması, iyonların hücre dışına çıkması ve hücre içi Adenozin trifosfat (ATP) konsantrasyonunun azalması ile etki gösterirler (Cotter ve ark., 2005).

**c) Sınıf II-c:** N ve C terminallerinin kovalent bağlarla bağlanması ile oluşturdukları siklik yapılar baz alınarak gruplandırılmışlardır. Az sayıda Sınıf II-c bakteriyosinleri tanımlanmış olmasına rağmen Cotter ve arkadaşları, aminoasit dizilişlerinin yüzdesine göre 2 alt gruba ayırmayı önermişlerdir. Sınıf II-c bakteriyosinlerinden gassarisin A ve reuterisin 6, D-aminoasit içeren lantibiyotik olmayan tek laktik asit bakterisi bakteriyosinleridir (Cotter ve ark., 2005).

- **Bakteriyosin Olmayan Litik Proteinler (Bakteriyolizinler):** Eski Sınıf III bakteriyosinleri olan bakteriyolizinler büyük, ısıya dayanıksız, antimikrobiyal proteinlerdir. Gıda mikrobiyolojisinde ilgi duyulan bazı bakteriyolizinler tanımlanmış olsa da, şimdiye kadar sadece dört laktik asit bakterisi bakteriyolizini genetik açıdan tanımlanmıştır. Bunların etki mekanizması bakteriyosinlerden farklıdır. Hücre duvarı hidrolizini katalize ederek, duyarlı hücrenin parçalanmasına neden olurlar. Hedef tanıma bölgesini temsil eden C terminali ve endopeptidazlarla benzerlik gösteren N terminal katalitik bölgesine sahiptirler. Gerçek bakteriyosinlerin aksine, bakteriyosin yapısal genlerine eşlik eden spesifik direnç genleri yoktur. Ama üreticinin, direnci hücre duvarındaki değişikliklerle kazanabileceği düşünülmektedir. Lizostafin ve enterolizin A bu tip bakteriyolizinelere örnektir (Cotter ve ark., 2005).

### **1.2.6. Agregasyon ve Koagregasyon Özellikleri**

Bakteriyel agregasyon, bakterinin konakçı hücreye yapışmasını ve oradaki patojenlerle yer değiştirmesini sağlayan bir olaydır (Nader-Macias ve Tomas, 2015). Uzun süreli kolonizasyonlar için bakterilerin doku hücre duvarına iyi yapışma özelliğinin olması gerekir (Redondo-Lopez ve ark., 1990).

LAB, agregasyon özellikleri sayesinde buldukları yüzeylere ve birbirlerine yapışarak biyolojik bariyer oluştururlar. Koagregasyon özellikleri sayesinde ise bulunduğu bölgeye giren patojen bakterilere yapışarak onları etkisiz hale getirirler (Kılıç ve Aslım, 2003).

### **1.3. Vajinanın Anatomik ve Fizyolojik Yapısı**

Vajina, genital sisteminin alt bölgesinde bulunur (Kılıç ve Aslım, 2003). Uterustan dış genital bölge girişine kadar uzanır. Yaklaşık 7.5 cm uzunluğunda ve güçlü kas yapısı olan bir kanaldır. Rektum ile mesane ve üretra arasında yer alır. Yeterli esneklik için vajinanın ön ve arka duvarları birbiri üzerine katlanmıştır. İşlevi ve kasılması bağırsak duvarından farklıdır. Bağırsakla karşılaştırıldığında, peristaltik hareket edemez ve sert değildir. Tunika mukoza, tunika muskularis, tunika adventisya olmak üzere üç kısımdan oluşur. Çok tabakalı yassı epitel olan mukoza epitelinin yüzeyel hücreleri bol miktarda glikojen içerir. Epitel tabakanın kalınlığı yaşa bağlıdır (Valenta, 2005). Epitel hücrelerde bulunan glikojenin miktarı östrojenin etkisiyle artar (Kılıç ve Aslım, 2003).

#### **1.3.1. Vajinal Mikroflora**

Vajinal mikroflora, epitelyal hücrelerin glikojen içeriğine, pH'sına, hormonal düzeylere, cinsel ilişki sırasında meydana gelen travmaya, doğum kontrol

yöntemlerine, yaşa, antimikrobiyal tedavi ve doğum gibi bazı faktörlere bağlı olarak değişebilmektedir (Valenta, 2005).

Vajina, mikroorganizmalar için kompleks bir yaşam ortamıdır. Laktobasiller bu bölgede yaşayan en baskın bakterilerdir. Ürogenital sistemin sağlığının korunmasında önemli rol oynarlar (Alioua ve ark., 2016).

İnsan vajinal mikroflorası ile ilgili ilk çalışmalar, 1892 yılında Albert Doderlein tarafından yapılmıştır (Redondo-Lopez ve ark., 1990). Bu nedenle yenidoğanlar ve puberteden menapoza kadar olan dönemdeki erişkin kadınların vajen florasında bulunan *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. fermenti* ve *L. cellobiosus*, Doderlein basilleri olarak anılmaktadır (Kıyan, 1999). Doderlein ve arkadaşları vajinal floranın homojen ve sadece Gram pozitif basillerden oluştuğunu düşünmekteydiler. Daha sonra yapılan çalışmalarla vajinanın heterojen bir mikrofloraya sahip olduğu gösterilmiştir. Ancak bu durum sağlıklı vajinal flora olarak adlandırılmıştır. Bu dönemi takip eden yıllar içerisinde heterojenliğin normal vajinal floranın özelliği olduğu anlaşılmış ve bu florada koliformlar, difteroidler, aerobik Gram pozitif koklar ve diğer patojenik bakteriler tanımlanmıştır (Redondo-Lopez ve ark., 1990).

Normal vajinal mikroflorada bulunan mikroorganizma türleri; *Lactobacillus*, *Staphylococcus*, *Ureaplasma*, *Corynebacterium*, *Streptococcus*, *Peptostreptococcus*, *Gardnerella*, *Bacterioides*, *Mycoplasma*, *Candida*, *Eubacterium*, Anaerobik *Streptococcus*, *Bifidobacterium*, *Propionibacterium*, *Escherichia*, *Sarcina*, *Klebsiella*, *Fusobacterium* olarak sıralanabilir (Redondo-Lopez ve ark., 1990; Zhou ve ark., 2004).

Bakteriyel vajinozisli kadınların vajenlerinde *Mobiluncus* türlerinin de bulunduğu gösterilmiştir (Redondo-Lopez ve ark., 1990).

Sağlıklı bir kadının vajinal mikrobiyotasında bulunabilecek *Lactobacillus* türleri *L. acidophilus*, *L. plantarum*, *L. crispatus*, *L. casei*, *L. rhamnosus*, *L. jensenii*,

*L. gasseri*, *L. brevis*, *L. fermentum*, *L. minutus*, *L. catenaforme*, *L. leichmannii*, *L. salivarius*, *L. reuteri*, *L. iners*, *L. vaginalis*, *L. delbrueckii* olarak sıralanabilir (Redondo-Lopez ve ark., 1990; Nader-Macias ve Tomas, 2015; Bertuccini ve ark., 2017).

Laktobasillerin azalması veya yokluğu vajinal floranın mikrobiyal dengesini bozar. Bu da Gram negatif bakterilerin gelişmesine, sonuç olarak da bakteriyel vajinozise neden olabilir. Laktobasiller genital patojenlere karşı olan koruyucu rolünü ürettikleri laktik asit, hidrojen peroksit ve asidolin, laktasin B, laktosin 160 gibi bakteriyosinler ile sağlarlar (Petricevic ve ark., 2013).

### **1.3.2. Vajinal pH**

Normal bir kadın vajinasının pH'ı 4-4.5 arasındadır (Donders, 2007). Laktobasiller vajina epitelindeki glikojenden laktik asit oluşturarak vajen pH'sının asiditesini korurlar. Böylelikle patojen mikroorganizmaların vajene yerleşmesine engel olurlar (Subramaniam ve ark., 2016). Normal vajen pH'ı infeksiyon varlığı dışında, menstrüasyon, lokal antifungal veya antibiyotik gibi ajanların kullanılması gibi durumlarında değişebilir (Donders, 2007). Sigara kullanımı, gebelik, yaş gibi etmenler de vajinal floranın değişmesine ve vajinadaki *Lactobacillus* oranının azalmasına sebep olabilir (Kılıç ve Aslım, 2003).

### **1.3.3. Hormonal Aktivite**

Vajinanın glikojen içeriğinde östrojen hormonunu etkilidir. Bu da vajendeki mikrobiyal türlerin ve popülasyonun kontrolünde ana etmendir (Redondo-Lopez ve ark., 1990).

Fetüsün östrojen miktarı fazladır. Bu hormon anneden transplental yolla sağlanır. Östrojen seviyesi fetüs vajinasının anatomik ve fizyolojik değişikliklerine

neden olduğu için vajinal epitelyum postpubertal (ergenlik sonrası) vajinal epitelyum özelliklerine sahiptir. Bu yalancı olgun yenidoğan vajinası doğumdan iki üç hafta sonrasına kadar bu fizyolojik şartlarını sürdürür. Yenidoğan dişinin vajinasında bulunan mikroorganizmalar annenin vajinasında bulunan mikroorganizmalarla benzerlik gösterir ve vajinal epitelyumun östrojen seviyesi yüksek olduğu sürece bu durum korunur. Baskın cins *Lactobacillus*'tur (Redondo-Lopez ve ark., 1990).

Üç hafta sonra anne kaynaklı östrojen azalmaya başlar ve vajinal epitelyum incilir. Östrojenin azalması epitelyumun glikojen içeriğinin de azalmasına neden olur. Bu durum vajinal mikrofloradaki bakteriler tarafından yapılan asit üretimini azaltır. Vajinal pH 4,5'tan 7'ye kadar yükselir. Aside toleranslı bakterilerin avantajı ortadan kalkar ve diğer bakteriler vajinal mikrofloraya yerleşmeye başlar. Gram pozitif koklar, Laktobasillerden başka Gram pozitif basiller ve Gram negatif basiller vajinada bulunur. Vajinal popülasyon, östrojenin fazla olduğu zamanki popülasyondan azdır. Nötral pH, anaerobik bakterilerin büyümesini destekleyen düşük oksidasyon-redüksiyon potansiyelinin oluşmasını kolaylaştırır (Redondo-Lopez ve ark., 1990).

Ergenlik başlangıcıyla östrojen seviyesinde artış meydana gelir. Vajinal epitelyum kalınlaşır ve yeniden glikojen depolanmaya başlar. Vajinal pH 4-4,5'e düşer. Yeni vajinal çevre glikojeni metabolize eden ve aside toleranslı bakterilerin büyümesi için daha uygundur. pH'ın düşmesi vajinal oksidasyon-redüksiyon potansiyelini arttırır. Bu da ortamı anaerobik bakterilerin gelişimi için olumsuz hale getirir. Cins çeşitliliği az olmasına rağmen vajinal popülasyon genellikle fazladır (Redondo-Lopez ve ark., 1990).

Menopoz sonrası vajinal mikroflora yavaş yavaş premenarş dönemdeki vajinal mikrofloraya dönüşmeye başlar. Aside karşı az toleranslı bakterilerin yaşamasına uygun bir ortama dönüşür. Bu değişim 5 ile 8 yıllık bir süreçte yavaş yavaş ortaya çıkar. Bu süreç bitene kadar oluşan mikroflora, tipik postmenopozal dönem mikroflorası olarak kabul edilmez (Redondo-Lopez ve ark., 1990).

Bu değişiklikler göz önünde bulundurulduğunda sağlıklı bir kadının farklı dönemlerdeki vajinasının fizyolojik koşulları Çizelge 1.1.'deki gibi gösterilebilir.

**Çizelge 1.1.** Sağlıklı bir kadının hayatının farklı dönemlerindeki vajina fizyolojisinin özellikleri (Redondo-Lopez ve ark., 1990)

	Yenidoğan	Ergenlik öncesi (prepubertal) dönem	Ergenlik sonrası (postpubertal) dönem	Postmenopozal dönem
Östrojen Düzeyi	++++	+	+++	+
pH	Asidik	Nötral	Asidik	Nötral
Glikojen içeriği	++++	+	+++	+
Epitel kalınlığı	↑	↓	↑	↓
Laktobasiller	↑	↓	↑	↓

#### 1.3.4. Menstrüel Siklus

Vajinanın fizyolojisi ve vajinal epitelyum menstrual siklusta önemli derecede değişir (Redondo-Lopez ve ark., 1990). Özellikle menstrual siklustaki hormonal değişiklikler epitel hücre kalınlığını ve vajinal pH'ı etkilemektedir (Valenta, 2005). Epitel hücreleri östrojen miktarının yüksek olduğu dönemde hızla çoğalır. Bu dönemde epitel hücreleri kalın ve glikojen içerikleri fazladır. Bu dönemden menstrual döngünün bitimine kadar geçen sürede yüzeyel epitel katman yavaş yavaş incelir ve döngü sonunda ince bir epitel tabaka kalır (Redondo-Lopez ve ark., 1990).

Vajinal pH ise adet kanamasının başlangıcında (2-3 gün) artış gösterir ve yaklaşık 7 civarındadır. Daha sonra takip eden 2-3 günlük süreçte pH keskin bir şekilde düşer. pH 4-4,5 seviyesine iner ve 21.güne kadar bu pH korunur. Bu durumun, östrojenin glikojen metabolizması ve hücrel proliferasyon üzerine olan etkisinden dolayı olduğu düşünölmektedir (Redondo-Lopez ve ark., 1990).

Vajinadaki baskın fakültatif anaerobik bakterilerin metabolik aktivitesi nedeniyle normalde vajinal lümenin oksijen içeriği düşüktür. Ancak menstrual dönemde oksijen miktarı önemli derece artar. Bu durumun da vajinal mikrofloranın değişimine neden olabileceği düşünülmektedir (Redondo-Lopez ve ark., 1990).

#### **1.4. Kadın Genital ve Ürogenital Sistemindeki Bazı Enfeksiyonlar ve Cinsel Yolla Bulaşan Hastalıklar**

##### **1.4.1. Bakteriyel Vajinozis**

1950'lere kadar laktobasil eksikliğinin ya da yetersizliğinin mikrobiyal etiyojisi bilinmediği için bakteriyel vajinozisli kadınlar spesifik olmayan vajinit ile ilişkilendirilirdi. Bu durum Gardner ve Duker tarafından yeni bir bakteri türünün keşfi ile ortadan kalkmıştır. Başlangıçta buldukları yeni bakterinin *Haemophilus* grubuna ait olduğunu düşünseler de kısa bir süre sonra bu bakterinin farklı bir cinse ait olduğu anlaşılmıştır ve *Gardnerella* (*G. vaginalis*) olarak adlandırılmıştır. Bakteriyel vajinozisli kadınların tamamında *G. vaginalis* bulunmasına rağmen bu kadınların hepsi hastalığın semptomlarını göstermemektedir. İlerleyen yıllarda kötü kokulu akıntıdan anaerobik *Bacteroides* sp., peptostreptokoklar ve diğer bazı mikroorganizmaların sorumlu olduğu ortaya çıkmıştır. Bakteriyel vajinozisli kadınların florasında mikoplazmalara özellikle *Mycoplasma hominis* ve *Mobiluncus* türlerine de sıklıkla rastlanmaktadır (Donders, 2007).

Bakteriyel vajinozis sıklıkla doğurganlık döneminde bulunan kadınlarda görülürken, hamilelerde %16-20 oranında gözlenmektedir. Bu durum vajen florasında *G. vaginalis* ve *M. hominis* gibi patojen bakterilerin, koruyucu laktobasillerden daha baskın hale gelmesiyle ilişkilidir. Vajinal duşlama, intrauterin kontraseptif kullanımı, çok eşlilik, sigara kullanımı ve siyahi etnik kökenli olma bakteriyel vajinozise neden olan risk faktörlerindedir (Barrons ve Tassone, 2008). Bakteriyel vajinozis, kötü kokulu vajinal akıntı ile seyrederek ve vajinal pH 4,5'in üzerindedir (Donders, 2007; Barrons ve Tassone, 2008).

Bakteriyel vajinozisli gebe kadınlarda, erken doğum, doğum öncesi erken membran rüptürü, doğum sonrası yara enfeksiyonları, spontan düşüklere, koryoamniyonit, postpartum endometrit, subklinik iltihaplı pelvik hastalıklarının olma olasılığı daha yüksektir (Alioua ve ark., 2016).

Centers for Disease Control and Prevention (CDC) tarafından 2015 yılında yayımlanan cinsel yolla bulaşan hastalıkların tedavisi kılavuzunda bakteriyel vajinozis için önerilen tedavi, yedi gün boyunca günde iki kere oral metronidazol alımı, beş gün boyunca günde bir kere intravajinal metronidazol kullanımı ya da yedi gün boyunca yatmadan önce intravajinal klindamisin jel kullanımı şeklindedir. Gebe olmayan kadınlarda vajinal semptomları ve enfeksiyon bulgularını hafifletir. Aynı zamanda dolaylı olarak *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Trichomonas vaginalis*, Human Immunodeficiency Virüs (HIV) ve Herpes Simplex Tip 2 gibi patojenlerin yerleşmelerini de önlemektedir (CDC, 2015).

#### **1.4.2. Trikomoniyazis**

Etkeni bir parazit olan *Trichomonas vaginalis*'dir. Klasik belirtileri kötü kokulu ve pürülan akıntıdır. Lokal ağrılara ve kaşıntıya neden olur (Bouchemal ve ark., 2017). Vajinal pH 6,5'in üzerine çıkar (Donders, 2007). Bu parazit ayrıca infertiliteye, prematüre erken membran rüptürüne, erken doğuma, düşük doğum ağırlıklı bebeklere ve neonatal ölümlere de neden olmaktadır (Bouchemal ve ark., 2017). *T. vaginalis* enfeksiyonu vajinadaki düşük *Lactobacillus* miktarı ile ilişkilendirilmektedir (Brotman ve ark., 2012).

Trikomoniyazis tedavisi için CDC tarafından, oral tek doz metronidazol veya tinidazol önerilmektedir (CDC, 2015).

### 1.4.3. Vulvovajinal Kandidiyazis

Genellikle etkeni *Candida albicans* olup, diğer *Candida* türleri veya mayalar da etken olarak saptanabilmektedir. Semptomları kaşıntı, vajinal ağrı, disparüni, idrar yaparken ağrı ve normal olmayan vajinal akıntıdır. Azol grubu antifungaller, nistatin içeren antifungallerden daha etkili olduğu için CDC tarafından tedavide önerilmektedir (CDC, 2015).

*C. albicans* ile özellikle vajinal florada bulunan Laktobasiller arasındaki ilişki *C. albicans*'ın kommensal ya da patojen olduğunun belirlenmesinde önemli bir rol oynar. Sağlıklı bir kadın genitoüriner sistemi florasında *C. albicans* ve Laktobasiller normal olarak birlikte yaşarlar (Wang ve ark., 2017). Laktobasiller ürettikleri H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, laktik asit, bakteriyosin gibi antimikrobiyal bileşikler ile *C. albicans*'ın popülasyonunun büyümesini engellemektedirler (Borges ve ark., 2014).

### 1.4.4. HIV

HIV enfeksiyonu tipik olarak kısa akut retroviral bir sendrom olarak başlar. İlerleyen yıllarda bağışıklık için kritik olan CD4 T-lenfositlerini tüketerek bağışıklık yetersizliğine neden olan kronik bir hastalık haline gelir. Enfeksiyonun geç dönemi AIDS (Acquired Immune Deficiency Syndrome) olarak bilinir ve tahmini 11 yılda bu seviyeye gelinir (CDC, 2015).

Vajinal enfeksiyona sahip kadınlarda HIV enfeksiyonunun görülme ihtimali yüksektir. Laktobasiller bakteriyel vajinozis, trikomonyazis, kandidiyazis gibi enfeksiyonların önlenmesinde etkili olduğu için dolaylı olarak kadınlarda HIV-1 enfeksiyonu riskini de azaltacağı düşünülmektedir (Baeten ve ark., 2009).

#### 1.4.5. Human Papilloma Virüs (HPV)

Yaklaşık 100 çeşit insan HPV enfeksiyon etkeni tanımlanmıştır ve bunların en az 40 tanesi genital bölgede enfeksiyona neden olmaktadır. Çoğu HPV enfeksiyonu sınırlıdır. Asemptomatiktir ve tanımlanamaz. Cinsel yönden aktif olan insanlar hayatları boyunca en az bir kere HPV enfeksiyonu ile karşı karşıya gelmektedir. Kanserojenik olan HPV enfeksiyonları (HPV Tip 16 ve 18 gibi) servikal, penil, vulvar, vajinal, anal ve orofaringeal kanserlere neden olurken, kanserojenik olmayan HPV enfeksiyonları (HPV Tip 6 ve 11 gibi) genital siğillere ve rekürren respiratuar papillomatozise neden olmaktadır (CDC, 2015).

Normal vajinal florada bulunan *Lactobacillus* türleri ile HPV enfeksiyonunun ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Yapılan çalışmalarda HPV enfeksiyonu olan kadınların vajen floralarında sağlıklı kadınlara göre daha az miktarlarda *Lactobacillus* türlerinin bulunduğu gözlenmiştir (Zhou ve ark., 2016).

#### 1.4.6. Aerobik Vajinit

Genel olarak *Escherichia coli*, *S. aureus*, B grubu streptokoklar ve enterokoklar enfeksiyon etkeni olarak karşımıza çıkmaktadır. Artmış vajinal sarı akıntı, vajinal pH'nın 5'in üzerine çıkması, lökosit sayısında artış ve vajinada *Lactobacillus* türlerindeki kayıp belirli semptomlarıdır. Bakteriyel vajinoziste sadece antibiyotik tedavisi uygulanırken, aerobik vajinitte antibiyotikler steroidler ve östrojenlerle kombine olarak kullanılmaktadır (Bertuccini ve ark., 2017).

Vajinal florada bulunan laktobasiller ürettikleri H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile *E.coli* ve *S. aureus*'un büyümelerini inhibe etmektedirler (Sgibnev ve Kremleva, 2015).

## 2. GEREÇ ve YÖNTEM

### 2.1. Gereç

#### 2.1.1. *Lactobacillus* sp. İzolatları

Çalışmamızda, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı'ndan, Cebeci Hastanesi Merkez Laboratuvarı'na gönderilen vajinal kültürlerden izole edilmiş 58 adet *Lactobacillus* izolatı kullanılmıştır.

*Lactobacillus* izolatlarının alındığı kadınların yaş ve gebelik durumları aşağıdaki çizelgede verilmiştir. (Çizelge 2.1.)

**Çizelge 2.1.** *Lactobacillus* izolatlarının alındığı kadınların yaş ve gebelik durumu

	<i>Lactobacillus</i> izolatları	Yaş	Özellik		<i>Lactobacillus</i> izolatları	Yaş	Özellik
1	<i>L. crispatus</i>	-	-	14	<i>L. crispatus</i>	24	gebe
2	<i>L. crispatus</i>	35	gebe değil	15	<i>L. crispatus</i>	20	gebe değil
3	<i>L. crispatus</i>	26	gebe	16	<i>L. crispatus</i>	29	gebe
4	<i>L. crispatus</i>	38	gebe	17	<i>L. crispatus</i>	24	gebe
5	<i>L. crispatus</i>	34	gebe	18	<i>L. crispatus</i>	23	gebe
6	<i>L. crispatus</i>	25	gebe	19	<i>L. crispatus</i>	-	-
7	<i>L. crispatus</i>	49	gebe değil	20	<i>L. gasseri</i>	-	-
8	<i>L. crispatus</i>	40	gebe	21	<i>L. gasseri</i>	23	gebe
9	<i>L. crispatus</i>	21	gebe	22	<i>L. gasseri</i>	22	gebe
10	<i>L. crispatus</i>	29	gebe değil	23	<i>L. gasseri</i>	21	gebe
11	<i>L. crispatus</i>	32	gebe değil	24	<i>L. gasseri</i>	36	gebe
12	<i>L. crispatus</i>	27	gebe	25	<i>L. gasseri</i>	20	gebe değil
13	<i>L. crispatus</i>	27	-	26	<i>L. gasseri</i>	33	gebe

**Çizelge 2.1.Devam.** *Lactobacillus* izolatlarının alındığı kadınların yaş ve gebelik durumu

	<i>Lactobacillus</i> izolatları	Yaş	Özellik		<i>Lactobacillus</i> izolatları	Yaş	Özellik
27	<i>L. gasseri</i>	52	gebe değil	43	<i>L. jensenii</i>	25	gebe
28	<i>L. gasseri</i>	26	gebe	44	<i>L. jensenii</i>	29	gebe
29	<i>L. gasseri</i>	30	gebe	45	<i>L. jensenii</i>	44	gebe değil
30	<i>L. gasseri</i>	27	gebe	46	<i>L. vaginalis</i>	-	-
31	<i>L. gasseri</i>	23	gebe	47	<i>L. vaginalis</i>	27	gebe
32	<i>L. gasseri</i>	25	gebe	48	<i>L. vaginalis</i>	28	gebe
33	<i>L. gasseri</i>	23	gebe	49	<i>L. vaginalis</i>	39	gebe
34	<i>L. gasseri</i>	37	gebe	50	<i>L. fermentum</i>	27	gebe
35	<i>L. gasseri</i>	28	gebe	51	<i>L. fermentum</i>	-	-
36	<i>L. gasseri</i>	28	gebe	52	<i>L. fermentum</i>	39	gebe
37	<i>L. gasseri</i>	25	gebe	53	<i>L. coleohominis</i>	35	gebe değil
38	<i>L. jensenii</i>	28	gebe	54	<i>L. coleohominis</i>	31	gebe değil
39	<i>L. jensenii</i>	28	gebe	55	<i>L. helveticus</i>	48	gebe değil
40	<i>L. jensenii</i>	34	gebe	56	<i>L. johnsonii</i>	37	gebe
41	<i>L. jensenii</i>	27	gebe	57	<i>L. saerimneri</i>	33	gebe
42	<i>L. jensenii</i>	31	gebe	58	<i>L. reuteri</i>	29	gebe

### 2.1.2. Standart Test Mikroorganizmaları

- *Staphylococcus aureus* ATCC 25923
- *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 (metisiline dirençli suş)
- *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 (biyofilm oluşturmeyen suş)
- *Staphylococcus epidermidis* ATCC 35984 (biyofilm oluşturan suş)
- *Enterococcus faecalis* ATCC 29212
- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853
- *Escherichia coli* ATCC 25922

- *Klebsiella pneumoniae* RSKK 578
- *Bacillus subtilis* ATCC 6633
- *Candida albicans* ATCC 10231

### **2.1.3. Kullanılan Besiyerleri**

- Rogosa Agar (*Lactobacillus* selektif agar) (Merck, Almanya)
- De Man-Rogosa Sharpe Broth (MRS Broth, Almanya)
- Mueller-Hinton Agar (MHA, Almanya)
- Mueller-Hinton Broth (MHB, Almanya)
- Sabouraud Dextrose Agar (SDA, Almanya)

### **2.1.4. Kullanılan Boyalar ve Çözeltiler**

#### **2.1.4.1. Boyalar**

- Kristal Viyole Solüsyonu (Bilgehan, 2002)
- Safranin Solüsyonu (Bilgehan, 2002)
- İyot Solüsyonu (Bilgehan, 2002)

#### **2.1.4.2 Çözeltiler**

- %3'lik H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Çözeltisi (Bilgehan, 2002)
- % 96'lık Etil Alkol (DOP Organik Kimya, Türkiye)
- %20'lik Gliserol çözeltisi

## 2.2. Yöntem

### 2.2.1. *Lactobacillus* Türlerinin İzolasyonu ve Tanımlanması

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Cebeci Hastanesi Merkez Laboratuvarı'ndan alınan vajinal kültürlerden, *Lactobacillus* sp. olduğu düşünülen kolonilerin Rogosa Agara (*Lactobacillus* selektif agar) tek koloni ekimi yapılmış ve petriler 37 °C'de 24-48 saat anaerobik koşullarda (%5 CO<sub>2</sub>) inkübe edilmiştir. (Davoodabadi ve ark., 2015). Saf olarak elde edilen *Lactobacillus* sp. kolonileri morfolojileri incelendikten sonra, Gram boyası ile boyanarak mikroskopik olarak incelenmiş ve katalaz aktivitesine bakılarak cins düzeyinde tanımlanmıştır (Kandler ve Weiss, 1986; Bilgehan, 2002). Çalışmada toplam 58 adet *Lactobacillus* izolatu kullanılmıştır. Çalışma için Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan onay alınmıştır (3 Mayıs 2016).

### 2.2.2. *Lactobacillus* Türlerinin İdentifikasyonunda Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) Yönteminin Uygulanması

*Lactobacillus* cinsine ait olduğu belirlenen izolatların koloni PCR yöntemi ile (16S rRNA) tür bazında tayini yapılmış (BigDye Terminator v1.1 Cycle Sequencing Kit User Guide, 2016) ve tür düzeyinde tanımlanan izolatlar %20 (v/v) gliserollü MRS broth içeren steril ependorf tüplerinde, -80 °C'de muhafaza edilmiştir (Stoyancheva vd., 2014). İdentifikasyon Bilkent Cyberpark'ta Sentegen firmasında yapılmıştır.

#### 2.2.2.1. PCR Deneyi

10x Standart Taq Tamponu, 10 mμ dNTPs, 5 pmol/μl 16S rRNA F (AGAGTTTGATCCTGGCTCAG), 5 pmol/μl 16S rRNA R (ACGGCTACCTTGTTACGACTT), Taq DNA polimeraz ve DEPC suyu içeren 24 μl reaksiyon karışımı hazırlanmıştır. Daha sonra *Lactobacillus* stoklarından 1μl (0,5-

2 µl) alınarak bu karışıma eklenmiş ve vortekslenmiştir. PCR amplifikasyonu için makineye konulmuştur. DNA kısımları 95 °C’de 30 sn, (35 tekrarlı) 95 °C’de 30 sn, 56 °C’de 30 sn, 68 °C’de 1,5 dk ve 68 °C’de 5 dk belirtilen sıcaklıklarda amplifiye edilmiş ve en son 12 °C son sıcaklığına getirilmiştir. Pozitif kontrol olarak *Escherichia coli* C2987P kullanılmıştır.

## **2.2.2.2. Agaroz Jel Elektforez**

### **2.2.2.2.1. Agaroz Jelin Hazırlanması**

1:100 oranında agaroz jel ile 1x Tris Asetat EDTA (TEA) tamponu karıştırılıp ısıtılmıştır. Yeterli sıcaklığa düşürüldükten sonra agaroz jele 5 µl etidyum bromür eklenmiş ve jel plaklarına dökülmüştür.

### **2.2.2.2.2. Jele Uygulanacak Karışımın Hazırlanması ve Elektforez**

Gel Loading Dye Purple (6x) ve PCR ürünü 1,5:7,5 oranında karıştırılmıştır. Her bir PCR ürünü için bu işlem tekrarlandıktan sonra tüm örnekler ve 100 bç DNA Leader jele yüklenmiştir. 30 dk 100 V’da elektforezlenmiştir. 30 dk sonunda UV okuyucuda jeller etidyum bromür boyama ile analiz edilmiştir.

### **2.2.2.3. PCR Ürününün Saflaştırılması**

15 µl PCR ürünü 27 µl manyetik boncuk (AmPure XP Beads) ile karıştırılmıştır. Vortekslenip bir süre bekletildikten sonra 4 dk manyetik rakta bekletilmiştir. Daha sonra 200 µl %70’lik etanol ile yıkanmış ve etanol ortamdan alınmıştır. Yıkama işlemi iki kez tekrar edilmiştir. 5-10 dk etanolün uçması beklendikten sonra karışım 15 µl DEPC suda çözülmüştür. Manyetik raka alınan ependorflar manyetik boncuklar ependorfun yüzeyine yapışana kadar bekletilmiş ve

kalan suda çözülmüş olan DNA'lar yeni ependorflara alınmıştır. Spektrofotometrede konsantrasyonları okunup konsantrasyonlar 15 ng/ µl'ye ayarlanmıştır.

#### **2.2.2.4. Sekans PCR'ının Kurulması ve Sekans Analizleri**

Sekans PCR için primer olarak 16S rRNA F primeri kullanılmıştır. Öncelikle BigDye® Terminator v1.1 Ready Reaction Mix, 5x sekans tamponu, 5 pmol/ µl 16S rRNA F (AGAGTTTGATCCTGGCTCAG) ve DEPC suyu içeren 8 µl ön karışım hazırlanmıştır. Daha sonra saflaştırılmış PCR ürünlerinden 2 µl alınarak bu karışıma eklenmiş ve vortekslenmiştir. Tüpler PCR'a yerleştirilip 96 °C'de 1 dk, (40 tekrarlı) 96 °C'de 10 sn, 50 °C'de 25 sn, 60 °C'de 3 dk PCR'lanmış en son 4 °C'ye getirilmiştir. Daha sonra sekans PCR ürünleri bir kez daha saflaştırılarak (Sephadex) sekans analizleri yapılmıştır.

Nükleotid sekans sonuçlarının BLAST ([https://blast.ncbi.nlm.nih.gov /Blast](https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast)) ile sekans benzerlik analizleri yapılmış ve yorumlanmıştır.

#### **2.2.3. Antimikrobiyal Aktivite Tayini**

Tür düzeyinde tanımlanan izolatların Agar Kuyu Difüzyon ve Agar Damlatma Yöntemleri ile test mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal aktiviteleri araştırılmıştır (Benli ve Yiğit, 2005; Pringsulaka ve ark., 2012; Stoyancheva ve ark., 2014; Davoodabadi ve ark., 2015).

##### **2.2.3.1. Agar Kuyu Difüzyon Testi**

Tür düzeyinde tanımlanan *Lactobacillus*'ların, Rogosa Agar'daki 24-48 saatlik kültürlerinden 5'er ml MRS broth (pH 6,5) besiyeri içeren tüplere ekim yapılmış ve 37 °C'de 72 saat, anaerobik koşullarda inkübasyonu sağlanmıştır. İnkübasyon süresi sonunda *Lactobacillus* sp. izolatları, bakteri hücrelerinden arındırılmak için 12000

g'de 4 °C'de 10 dk santrifüjlenip supernatantlar 0,45 µm por çaplı steril membran filtrelerden geçirilmiştir (Stoyancheva ve ark., 2014). 0,5 McFarland yoğunluğundaki 18-24 saatlik test mikroorganizma kültürlerinden, 20 ml MHA besiyeri içeren petrilere steril eküvyonlar yardımı ile ekim yapılmıştır. İnoküle edilen besiyerlerinin üzerinde 6 mm çapında 5 adet kuyu açılmış ve kuyuların dip kısımlarına 20'şer µl 45 °C'ye kadar soğutulmuş steril MHA damlatılmıştır. Bu kuyulara 50'şer µl santrifüjlenip filtreden geçirilmiş izolat supernatantları, pozitif kontrol olarak izolatlarla aynı işlemlerden geçirilmiş *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 53103 supernatantı ve negatif kontrol olarak steril MRS broth koyulmuştur. Petriler aerob koşullarda 37 °C'de 18-24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda oluşan inhibisyon zon çapları ölçülmüştür. Herbir test mikroorganizması için işlem üç paralel olarak yapılmıştır (Pringsulaka ve ark., 2012; Davoodabadi ve ark., 2015).

### **2.2.3.2. Agar Damlatma Testi**

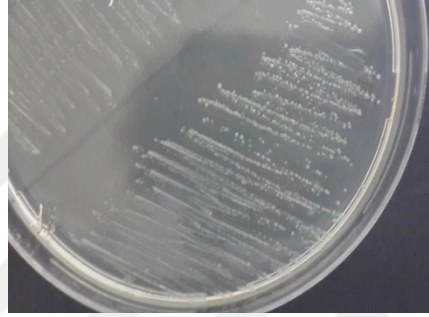
Tanımlanan *Lactobacillus*'ların, Rogosa Agar'daki 24-48 saatlik kültürlerinden 5'er ml MRS broth (pH 6,5) besiyeri içeren tüplere ekimi yapılmış ve 37 °C'de 72 saat, anaerobik koşullarda inkübasyonu sağlanmıştır. İnkübasyon süresi sonunda *Lactobacillus* sp. izolatları, bakteri hücrelerinden arındırılmak için 12000 g'de 4°C'de 10 dk santrifüjlenip, supernatantlar 0,45 µm por çaplı steril membran filtrelerden geçirilmiştir (Stoyancheva ve ark., 2014). 0,5 McFarland yoğunluğundaki 18-24 saatlik test mikroorganizma kültürlerinden, MHA besiyeri içeren petrilere steril eküvyonlar yardımı ile ekim yapılmıştır. Ekim yapılan besiyerlerinin üzerine birbirine eşit uzaklıklarda 20'şer µl izolat supernatantları, pozitif kontrol olarak izolatla aynı işlemlerden geçirilmiş *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 53103 supernatantı ve negatif kontrol olarak da steril MRS broth damlatılmıştır. Petriler aerob koşullarda 37 °C'de 18-24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda oluşan inhibisyon zonları değerlendirilmiştir. Çalışma üç paralel olarak yapılmıştır (Benli ve Yiğit, 2005).

### 3. BULGULAR

#### 3.1. *Lactobacillus sp.* İzolatlarının Tanımlanması

##### 3.1.1. Koloni Morfolojisi

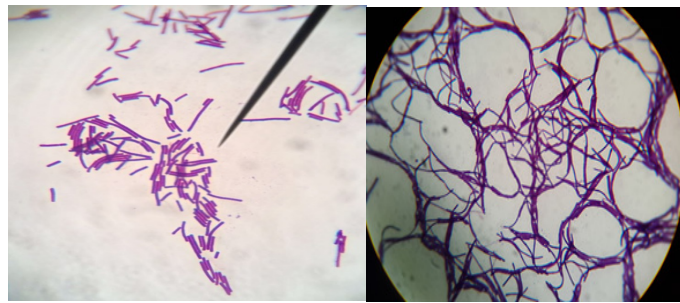
Cebeci Merkez Laboratuvarı'ndan alınan izolatlardan, Rogosa Agar besiyerine tek koloni ekim yapılmıştır. Küçük, mat ve beyaz koloni oluşturanların *Lactobacillus* türü olabileceği düşünülmüştür.



Şekil 3.1. *Lactobacillus* türlerinin Rogosa Agar'daki görüntüsü

##### 3.1.2. Gram Boyama ve Morfolojik Değerlendirme

Gram boyama yapılan preparatlar immersiyon yağı damlatılarak ışık mikroskobu altında incelenmiştir. Gram boyama sonucunda kristal viyole ile mor renge boyandıkları ve Gram pozitif özellikte kokobasil ya da basil oldukları belirlenmiştir.



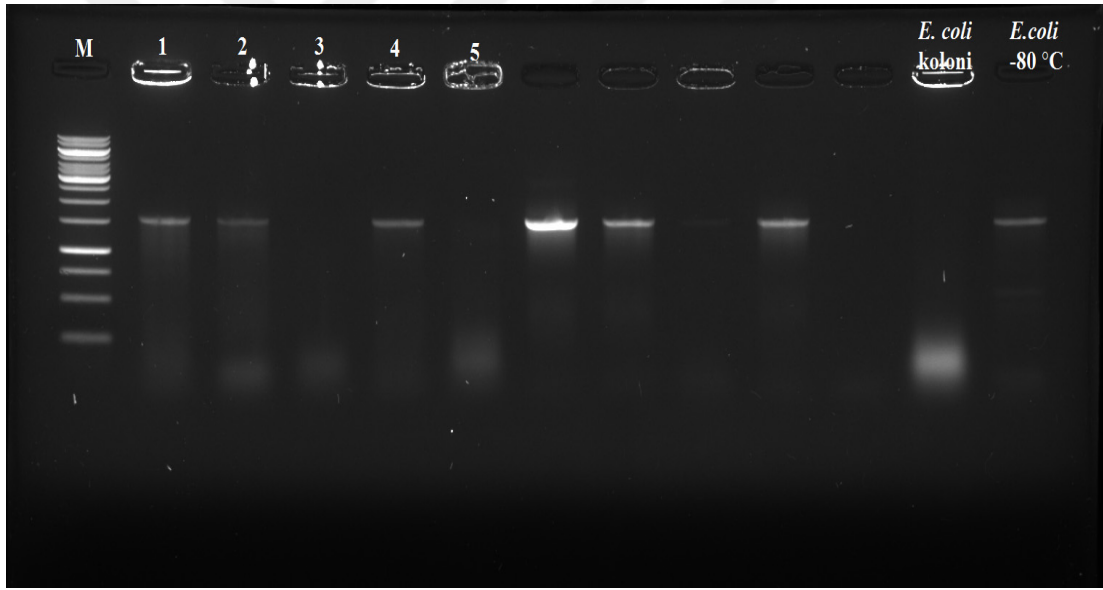
Şekil 3.2. Bazı *Lactobacillus* türlerinin Gram boyama mikroskop görüntüleri

### 3.1.3. Katalaz Testi

*Lactobacillus*'lar katalaz negatif özellik göstermektedirler. Rogosa Agarda 24-48 saat üretilen koloniler steril bir kürdan yardımıyla alınarak temiz lam üzerindeki %3'lük H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> çözeltisi içerisine bırakılmıştır. *Lactobacillus*'ların katalaz negatif olup hidrojen peroksiti kullanmadıkları yani su ve oksijen oluşturmadıkları, gaz çıkışının gözlenmemesiyle fiziksel olarak belirlenmiştir. Kontrol olarak katalaz pozitif olan *S. aureus* ATCC 29213 kullanılmıştır.

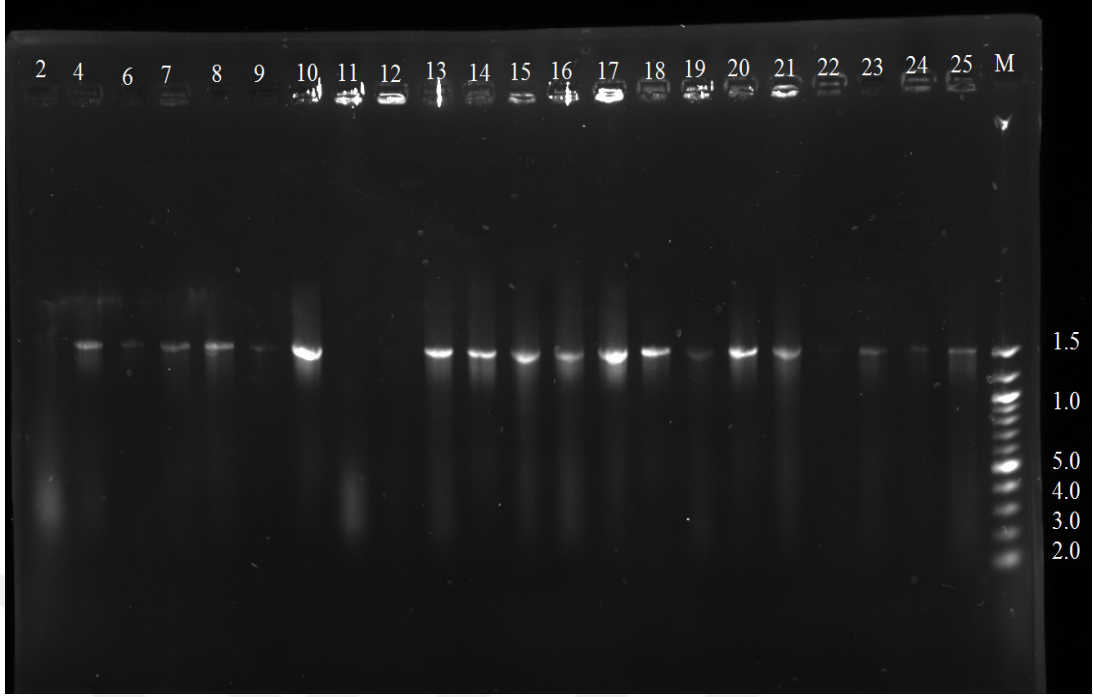
### 3.1.4. Koloni PCR Agaroz Jel Elektroforez Görüntüleri ve İdentifikasyon

#### Sonuçları



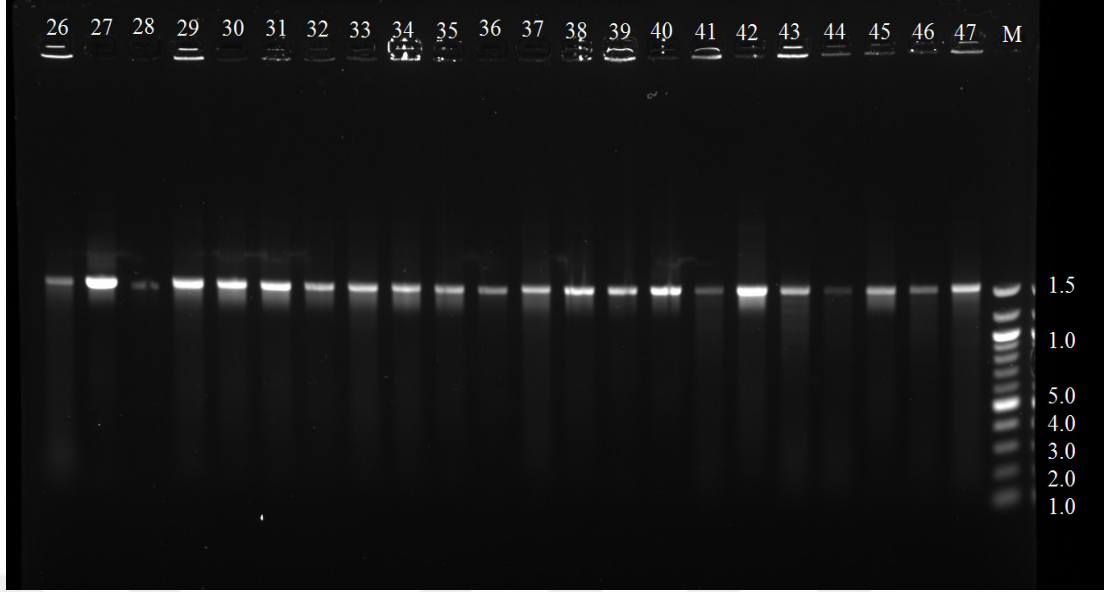
Şekil 3.3. Koloni PCR'da *Lactobacillus* izolatlarının Agaroz Jel Elektroforez görüntüsü. (M: 100 bp DNA Leader)

1. Kuyu: *Lactobacillus vaginalis* 46
2. Kuyu: *Lactobacillus gasseri* 25
4. Kuyu: *Lactobacillus crispatus* 3
5. Kuyu: *Lactobacillus gasseri* 20



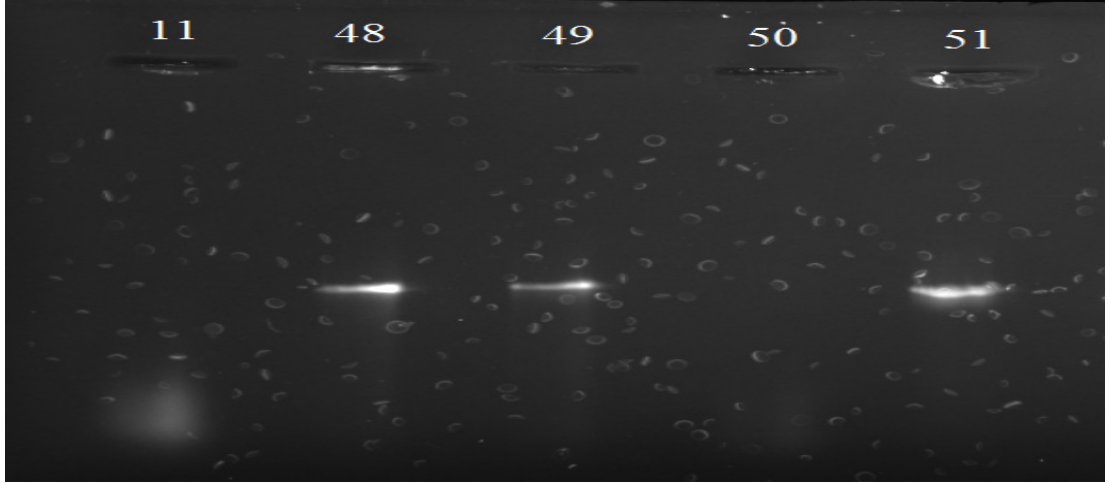
**Şekil 3.3.** Devam Koloni PCR’da *Lactobacillus* izolatlarının Agaroz Jel Elektroforez görüntüsü. (M: 100 bç DNA Leader)

6. Kuyu: *Lactobacillus crispatus* 4
7. Kuyu: *Lactobacillus jensenii* 38
8. Kuyu: *Lactobacillus gasseri* 26
9. Kuyu: *Lactobacillus crispatus* 8
10. Kuyu: *Lactobacillus crispatus* 9
12. Kuyu: *Lactobacillus vaginalis* 47
13. Kuyu: *Lactobacillus gasseri* 31
14. Kuyu: *Lactobacillus gasseri* 33
15. Kuyu: *Lactobacillus gasseri* 32
16. Kuyu: *Lactobacillus crispatus* 7
17. Kuyu: *Lactobacillus crispatus* 1
18. Kuyu: *Lactobacillus crispatus* 5
19. Kuyu: *Lactobacillus gasseri* 27
20. Kuyu: *Lactobacillus crispatus* 2
21. Kuyu: *Lactobacillus gasseri* 21
23. Kuyu: *Lactobacillus gasseri* 22
25. Kuyu: *Lactobacillus helveticus* 55



**Şekil 3.3. Devam** Koloni PCR’da *Lactobacillus* izolatlarının Agaroz Jel Elektroforez görüntüsü. (M: 100 bç DNA Leader)

26. Kuyu: *Lactobacillus gasseri* 23  
27. Kuyu: *Lactobacillus fermentum* 50  
29. Kuyu: *Lactobacillus gasseri* 29  
30. Kuyu: *Lactobacillus coleohominis* 54  
31. Kuyu: *Lactobacillus crispatus* 11  
32. Kuyu: *Lactobacillus crispatus* 16  
33. Kuyu: *Lactobacillus jensenii* 39  
34. Kuyu: *Lactobacillus crispatus* 15  
35. Kuyu: *Lactobacillus jensenii* 44  
36. Kuyu: *Lactobacillus jensenii* 45  
37. Kuyu: *Lactobacillus reuteri* 58  
38. Kuyu: *Lactobacillus crispatus* 10  
39. Kuyu: *Lactobacillus crispatus* 12  
40. Kuyu: *Lactobacillus vaginalis* 48  
41. Kuyu: *Lactobacillus saerimneri* 57  
42. Kuyu: *Lactobacillus coleohominis* 53  
43. Kuyu: *Lactobacillus jensenii* 41  
44. Kuyu: *Lactobacillus jensenii* 40  
45. Kuyu: *Lactobacillus crispatus* 17  
46. Kuyu: *Lactobacillus jensenii* 42  
47. Kuyu: *Lactobacillus gasseri* 34

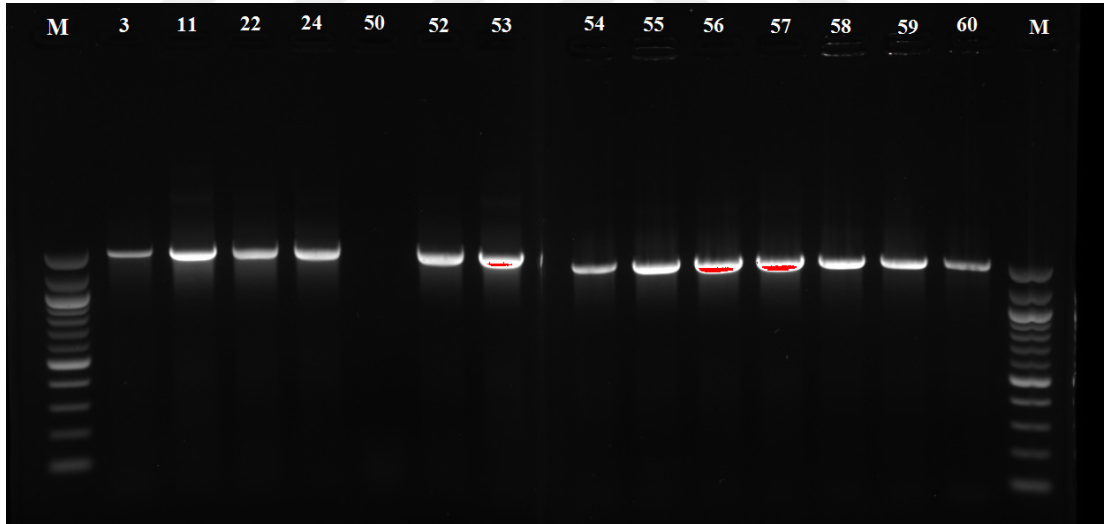


**Şekil 3.3. Devam** Koloni PCR'da *Lactobacillus* izolatlarının Agaroz Jel Elektroforez görüntüsü (M: 100 bç DNA Leader)

**48. Kuyu:** *Lactobacillus jensenii* 43

**49. Kuyu:** *Lactobacillus gasseri* 30

**51. Kuyu:** *Lactobacillus vaginalis* 49



**Şekil 3.3. Devam** Koloni PCR'da *Lactobacillus* izolatlarının Agaroz Jel Elektroforez görüntüsü. M: 100 bç DNA Leader

**3. Kuyu:** *Lactobacillus crispatus* 13

**11. Kuyu:** *Lactobacillus gasseri* 37

**22. Kuyu:** *Lactobacillus gasseri* 24

**24. Kuyu:** *Lactobacillus fermentum* 51

**52. Kuyu:** *Lactobacillus crispatus* 6

**53. Kuyu:** *Lactobacillus fermentum* 52

54. Kuyu: *Lactobacillus gasseri* 35  
 55. Kuyu: *Lactobacillus gasseri* 36  
 56. Kuyu: *Lactobacillus gasseri* 28  
 57. Kuyu: *Lactobacillus johnsonii* 56  
 58. Kuyu: *Lactobacillus crispatus* 18  
 59. Kuyu: *Lactobacillus crispatus* 14  
 60. Kuyu: *Lactobacillus crispatus* 19

Çalışmamızda 16S rRNA yöntemiyle tanımlanan 58 adet vajinal izolatin 19 tanesinin *L. crispatus*, 18 tanesinin *L. gasseri*, 8 tanesinin *L. jensenii*, 4 tanesinin *L. vaginalis*, 2 tanesinin *L. coleohominis*, 3 tanesinin *L. fermentum*, 1 tanesinin *L. saerimneri*, 1 tanesinin *L.reuteri*, 1 tanesinin *L. johnsonii* ve 1 tanesinin *L. helveticus* türü olduğu saptanmıştır.

### 3.2. Antimikrobiyal Aktivite Test Sonuçları

#### 3.2.1. Agar Damlatma Test Sonuçları

Çizelge 3.1. *Lactobacillus* izolatlarının Agar Damlatma Test sonuçları

<i>Lactobacillus</i> izolatları	Test Mikroorganizmaları									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<i>L. crispatus</i> 1	+	-	-	+	-	-	-	+	+	-
<i>L. crispatus</i> 2	+	-	-	+	-	-	-	+	+	-
<i>L. crispatus</i> 3	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-
<i>L. crispatus</i> 4	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-
<i>L. crispatus</i> 5	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-
<i>L. crispatus</i> 6	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-
<i>L. crispatus</i> 7	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-
<i>L. crispatus</i> 8	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-
<i>L. crispatus</i> 9	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-
<i>L. crispatus</i> 10	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-
<i>L. crispatus</i> 11	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-
<i>L. crispatus</i> 12	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-

1. *E.coli* ATCC 25922, 2. *S. aureus* ATCC 25923, 3. *S.aureus* ATCC 43300, 4. *P.aeruginosa* ATCC 27853, 5. *S. epidermidis* ATCC 12228, 6. *S. epidermidis* ATCC 35984, 7. *E. faecalis* ATCC 29212, 8. *K. pneumoniae* RSKK 578, 9. *B. subtilis* ATCC 6633, 10. *C. albicans* ATCC 10231

**Çizelge 3.1. Devam.** *Lactobacillus* izolatlarının Agar Damlatma Test sonuçları

<i>Lactobacillus</i> izolatları	Test Mikroorganizmaları									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<i>L. crispatus</i> 13	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-
<i>L. crispatus</i> 14	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-
<i>L. crispatus</i> 15	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-
<i>L. crispatus</i> 16	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
<i>L. crispatus</i> 17	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
<i>L. crispatus</i> 18	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
<i>L. crispatus</i> 19	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>L. gasseri</i> 20	+	-	-	+	-	-	-	+	+	-
<i>L. gasseri</i> 21	+	-	-	+	-	-	-	+	+	-
<i>L. gasseri</i> 22	+	-	-	+	-	-	-	+	+	-
<i>L. gasseri</i> 23	+	-	-	+	-	-	-	+	+	-
<i>L. gasseri</i> 24	+	-	-	+	-	-	-	+	+	-
<i>L. gasseri</i> 25	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-
<i>L. gasseri</i> 26	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-
<i>L. gasseri</i> 27	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-
<i>L. gasseri</i> 28	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-
<i>L. gasseri</i> 29	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-
<i>L. gasseri</i> 30	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-
<i>L. gasseri</i> 31	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-
<i>L. gasseri</i> 32	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-
<i>L. gasseri</i> 33	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-
<i>L.gasseri</i> 34	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
<i>L. gasseri</i> 35	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
<i>L. gasseri</i> 36	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
<i>L. gasseri</i> 37	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>L. jensenii</i> 38	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-
<i>L. jensenii</i> 39	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
<i>L. jensenii</i> 40	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
<i>L. jensenii</i> 41	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
<i>L. jensenii</i> 42	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
<i>L. jensenii</i> 43	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>L. jensenii</i> 44	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>L. jensenii</i> 45	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>L. vaginalis</i> 46	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>L. vaginalis</i> 47	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>L. vaginalis</i> 48	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>L. vaginalis</i> 49	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>L. fermentum</i> 50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>L. fermentum</i> 51	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>L. fermentum</i> 52	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

1. *E.coli* ATCC 25922, 2. *S. aureus* ATCC 25923, 3. *S.aureus* ATCC 43300, 4. *P.aeruginosa* ATCC 27853, 5. *S. epidermidis* ATCC 12228, 6. *S. epidermidis* ATCC 35984, 7. *E. faecalis* ATCC 29212, 8. *K. pneumoniae* RSKK 578, 9. *B. subtilis* ATCC 6633, 10. *C. albicans* ATCC 10231

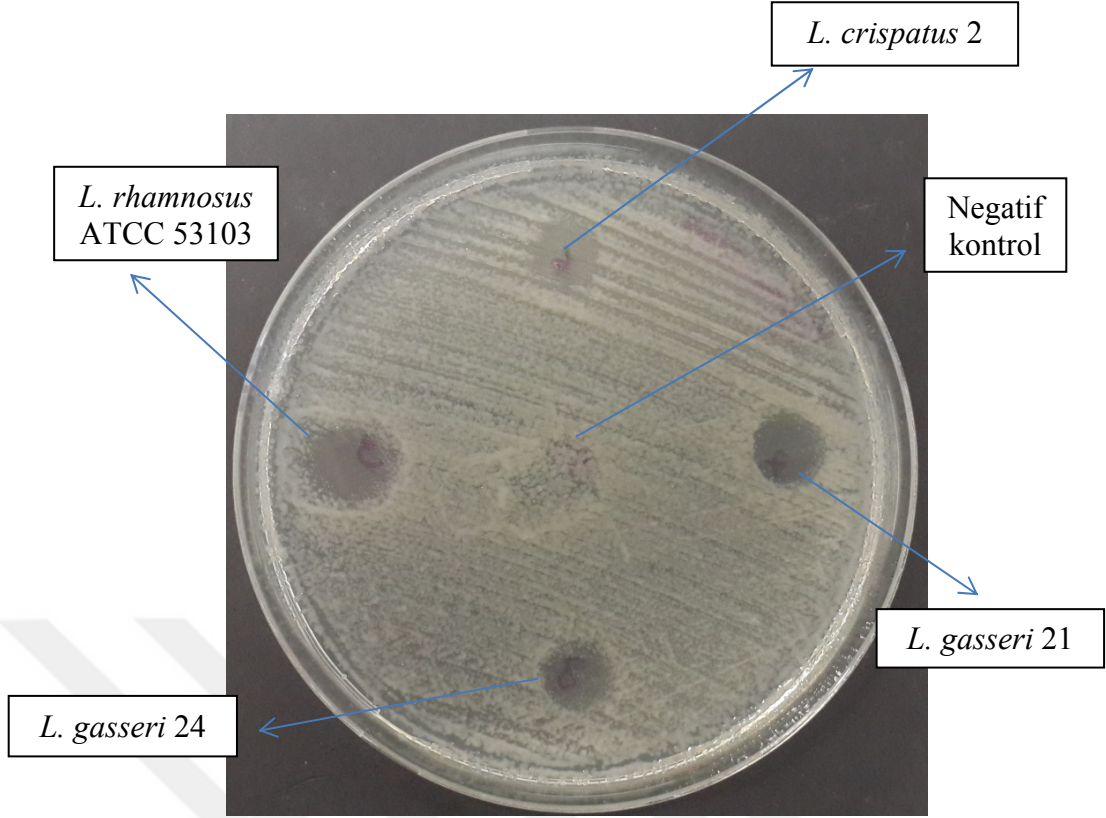
**Çizelge 3.1.Devam.** *Lactobacillus* izolatlarının Agar Damlatma Test sonuçları

<i>Lactobacillus</i> izolatları	Test Mikroorganizmaları									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<i>L. coleohominis</i> 53	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>L. coleohominis</i> 54	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>L. helveticus</i> 55	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-
<i>L. johnsonii</i> 56	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-
<i>L. saerimneri</i> 57	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-
<i>L. reuteri</i> 58	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

1. *E.coli* ATCC 25922, 2. *S. aureus* ATCC 25923, 3. *S.aureus* ATCC 43300, 4. *P.aeruginosa* ATCC 27853, 5. *S. epidermidis* ATCC 12228, 6. *S. epidermidis* ATCC 35984, 7. *E. faecalis* ATCC 29212, 8. *K. pneumoniae* RSKK 578, 9. *B. subtilis* ATCC 6633, 10. *C. albicans* ATCC 10231

*Lactobacillus* izolatlarının Agar Damlatma Test sonuçlarına göre sıklıkla *E.coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *K. pneumoniae* RSKK 578 ve *B.subtilis* ATCC 6633'e karşı etkili oldukları görülmüştür. Ayrıca bazı izolatların *S. aureus* ATCC 25923 ve *E. faecalis* ATCC 29212 suşları üzerine de etki gösterdiği gözlenmiştir. *S. aureus* ATCC 43300, *S. epidermidis* ATCC 12228, *S. epidermidis* ATCC 35984 ve *C. albicans* ATCC 10231 üzerinde hiçbir izolat etkili bulunmamıştır.





**Şekil 3.6.** Bazı *Lactobacillus* izolatlarının *Klebsiella pneumoniae* RSKK 578'e karşı Agar Damlatma Test Sonuçları

### 3.2.2. Agar Kuyu Difüzyon Testi Sonuçları

**Çizelge 3.2.** *Lactobacillus* izolatlarının Agar Kuyu Difüzyon Test sonuçları (mm)

<i>Lactobacillus</i> izolatları	Test Mikroorganizmaları									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<i>L. crispatus</i> 1	14	-	-	11	-	-	-	-	-	-
<i>L. crispatus</i> 2	11	-	-	11	-	-	-	-	-	-
<i>L. crispatus</i> 3	-	-	-	12	-	-	-	-	-	-
<i>L. crispatus</i> 4	8	8	-	12	-	-	-	11	-	-
<i>L. crispatus</i> 5	13	-	-	12	-	-	-	-	-	-
<i>L. crispatus</i> 6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>L. crispatus</i> 7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>L. crispatus</i> 8	12	-	-	14	-	-	-	-	13	-
<i>L. crispatus</i> 9	-	-	-	13	-	-	-	-	13	-

1. *E.coli* ATCC 25922, 2. *S. aureus* ATCC 25923, 3. *S.aureus* ATCC 43300, 4. *P.aeruginosa* ATCC 27853, 5. *S. epidermidis* ATCC 12228, 6. *S. epidermidis* ATCC 35984, 7. *E. faecalis* ATCC 29212, 8. *K. pneumoniae* RSKK 578, 9. *B. subtilis* ATCC 6633, 10. *C. albicans* ATCC 10231

**Çizelge 3.2.Devam.** *Lactobacillus* izolatlarının Agar Kuyu Difüzyon Test sonuçları (mm)

<i>Lactobacillus</i> izolatları	Test Mikroorganizmaları									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<i>L. crispatus</i> 10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>L. crispatus</i> 11	-	-	-	-	-	-	12	-	-	-
<i>L. crispatus</i> 12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>L. crispatus</i> 13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>L. crispatus</i> 14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>L. crispatus</i> 15	-	-	-	-	-	-	12	12	-	-
<i>L. crispatus</i> 16	-	-	-	-	-	-	12	-	-	-
<i>L. crispatus</i> 17	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>L. crispatus</i> 18	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>L. crispatus</i> 19	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>L. gasseri</i> 20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>L. gasseri</i> 21	12	-	-	12	-	-	-	-	-	-
<i>L. gasseri</i> 22	12	-	-	-	-	-	-	12	-	-
<i>L. gasseri</i> 23	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>L. gasseri</i> 24	12	-	-	11	-	-	-	-	-	-
<i>L. gasseri</i> 25	-	-	-	13	-	-	-	-	-	-
<i>L. gasseri</i> 26	-	-	-	13	-	-	-	-	13	-
<i>L. gasseri</i> 27	13	-	-	11	-	-	-	-	-	-
<i>L. gasseri</i> 28	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>L. gasseri</i> 29	-	-	-	11	-	-	-	-	-	-
<i>L. gasseri</i> 30	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>L. gasseri</i> 31	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>L. gasseri</i> 32	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>L. gasseri</i> 33	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>L. gasseri</i> 34	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>L. gasseri</i> 35	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>L. gasseri</i> 36	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>L. gasseri</i> 37	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>L. jensenii</i> 38	-	-	-	11	-	-	-	-	-	-
<i>L. jensenii</i> 39	-	-	-	-	-	-	11	-	-	-
<i>L. jensenii</i> 40	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>L. jensenii</i> 41	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>L. jensenii</i> 42	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>L. jensenii</i> 43	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>L. jensenii</i> 44	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>L. jensenii</i> 45	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>L. vaginalis</i> 46	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>L. vaginalis</i> 47	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>L. vaginalis</i> 48	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

1. *E.coli* ATCC 25922, 2. *S. aureus* ATCC 25923, 3. *S.aureus* ATCC 43300, 4. *P.aeruginosa* ATCC 27853, 5. *S. epidermidis* ATCC 12228, 6. *S. epidermidis* ATCC 35984, 7. *E. faecalis* ATCC 29212, 8. *K. pneumoniae* RSKK 578, 9. *B. subtilis* ATCC 6633, 10. *C. albicans* ATCC 10231

**Çizelge 3.2.Devam.** *Lactobacillus* izolatlarının Agar Kuyu Difüzyon Test sonuçları (mm)

<i>Lactobacillus</i> izolatları	Test Mikroorganizmaları									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<i>L. vaginalis</i> 49	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>L. fermentum</i> 50	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>L. fermentum</i> 51	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>L. fermentum</i> 52	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>L. coleohominis</i> 53	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>L. coleohominis</i> 54	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>L. helveticus</i> 55	11	-	-	13	-	-	-	12	-	-
<i>L. johnsonii</i> 56	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>L. saerimneri</i> 57	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>L. reuteri</i> 58	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

1. *E.coli* ATCC 25922, 2. *S. aureus* ATCC 25923, 3. *S.aureus* ATCC 43300, 4. *P.aeruginosa* ATCC 27853, 5. *S. epidermidis* ATCC 12228, 6. *S. epidermidis* ATCC 35984, 7. *E. faecalis* ATCC 29212, 8. *K. pneumoniae* RSKK 578, 9. *B. subtilis* ATCC 6633, 10. *C. albicans* ATCC 10231

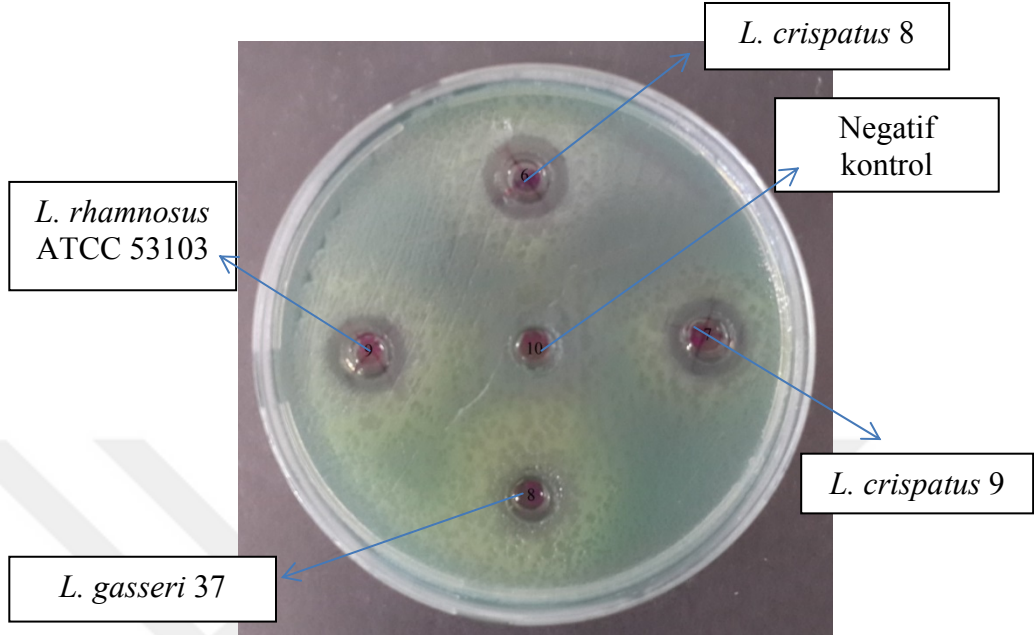
Çalışmamızda *L. crispatus* türlerinin antibakteriyel etkisinin diğer türlere göre daha fazla olduğu görülmüştür. Agar Kuyu Difüzyon Testi'nde *E. coli*, *P. aeruginosa*, *E. faecalis* ve *K. pneumoniae*'ye karşı 8 mm ile 14 mm arasında değişen zon çapları oluşturmuşlardır.

Agar Kuyu Difüzyon Testi sonuçlarına göre *L. gasseri* türlerinin *E. coli*, *P. aeruginosa* ve *K. pneumoniae*'ye karşı 11 mm ile 14 mm arasında değişen inhibisyon zon çapları oluşturdukları görülmüştür.

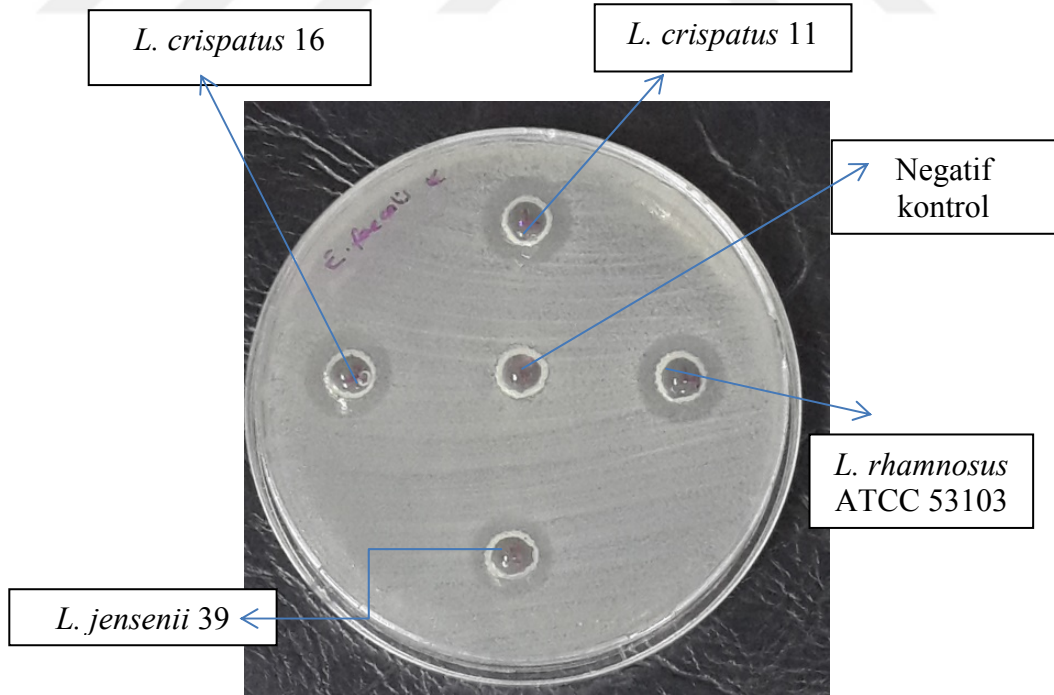
Agar Kuyu Difüzyon Testi sonuçlarına göre *L. jensenii* türlerinin *P. aeruginosa* ve *E. faecalis*'e karşı 11 mm inhibisyon zon çapı oluşturduğu görülmüştür.

Agar Kuyu Difüzyon Testi sonuçlarına göre *L. helveticus* *E. coli*, *P. aeruginosa* ve *K. pneumoniae*'ye karşı 11 mm ile 13 mm arasında değişen inhibisyon zon çapları oluşturmuştur.

*L. coleohominis*, *L. reuteri*, *L. fermentum* ve *L. vaginalis* izolatlarının her iki yöntemde de hiçbir test mikroorganizmasına karşı etkisi saptanmamıştır.



**Şekil 3.7.** Bazı *Lactobacillus* izolatlarının *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853'e karşı Agar Kuyu Difüzyon Test Sonuçları



**Şekil 3.8.** Bazı *Lactobacillus* izolatlarının *Enterococcus faecalis* ATCC 29212'ye karşı Agar Kuyu Difüzyon Test Sonuçları

## 4. TARTIŞMA

İnsan mikrobiyotası üzerine yapılan çalışmalar özellikle son on yılda artmış ve bu kompleks mikroorganizma topluluğunun patojenlerin neden olduğu hastalıkları önlemede nasıl etkili oldukları araştırılmaya başlanmıştır. Bu durum mikrobiyom, mikrobiyota, probiyotik ve prebiyotik gibi terimlerin kullanımını arttırmıştır (Young, 2017).

Mikrobiyom, iyi tanımlanmış bir yaşam ortamında bulunan ve farklı fizikokimyasal özelliklere sahip olan karakteristik bir mikrobiyal topluluktur. Bu terim sadece ilgili mikroorganizmaları belirtmekle kalmaz aynı zamanda bu mikroorganizmaların aktivitelerini de içerir. Mikrobiyota, belirli bir yeri veya yaşam alanını tutan mikroorganizma topluluğudur (Young, 2017).

Probiyotik, yeterli miktarlarda verildiğinde, konak organizmanın sağlığına faydalı olan canlı mikroorganizmalardır. Prebiyotik ise faydalı mikroorganizmaların baskın olmasını, büyümesini ve doğuştan gelen fonksiyonlarını destekleyen besinlerdir. Bunların çoğu insanlar tarafından parçalanamayan karbonhidratlardır. Ancak mikrobiyotaya özgü üyeler tarafından metabolize edilebilirler (Young, 2017).

Mikrobiyota hakkındaki araştırmalar arttıkça bu mikroorganizmaların enfeksiyon hastalıkları, inflamatuvar bağırsak hastalıkları, obezite (Young, 2017), kanser (Bhatt ve ark., 2017), Tip 2 diabetes mellitus (Miraghajani ve ark., 2017), alzheimer hastalığı (Jiang ve ark., 2017) ve akciğer hastalıkları (Young, 2017) gibi birçok hastalık ile ilişkili olabilecekleri tartışılmaya başlanmıştır. Probiyotiklerin bu hastalıkların tedavisinde kullanılabilme potansiyeli taşındıkları düşünülmektedir (Young, 2017). Günümüzde özellikle sınırlı tedavi seçeneklerine alternatif yöntemler araştırılırken, mikrobiyota ve probiyotikler konusu birçok araştırmacının dikkatini çekmiş ve bu konuda ümit verici olmuştur.

Son zamanlarda kadın üriner sistem mikrobiyotası konusunda yapılan çalışmalar artmış ve bu mikroorganizmaların üriner sistem sağlığı ve hastalıkları üzerindeki etkileri gösterilmiştir (Mueller ve ark., 2017). Bu durum da özellikle vajinal florada baskın olarak bulunan *Lactobacillus* türleri üzerine olan ilgiyi arttırmış ve bu bakterilerin ürettikleri antimikrobiyal etkili sekonder metabolitler, adhezyon ve agregasyon yetenekleri ve GRAS statüsünde bulunmaları nedeni ile çok iyi probiyotik özellik göstermeleri konuları araştırmalarda sıkça yer almıştır (Borges ve ark., 2014; Nader-Macias ve Tomas, 2015).

Vajinal floranın çeşitli sebeplerle değişmesi patojenlerin gelişimine izin verir ve hastalıkların ortaya çıkmasına neden olur. Yapılan araştırmalar vajinal mikrobiyota ile jinekolojik kanserlerin ilişkili olduğunu göstermiştir. Rahim ağzı kanseri etkeni olan HPV bu konuda verilebilecek en iyi örnektir. HPV pozitif olan kadınların vajinal mikrobiyotasında büyük mikroorganizma çeşitliliği yanında *Lactobacillus* miktarının az olduğu gözlenmiştir. Ayrıca vajinal florasında fazla miktarlarda *L. gasseri* veya *L. iners* bulunan kadınlarda HPV enfeksiyonunun hızlı gerileme gösterdiği bildirilmiştir (Champer ve ark. 2017).

Çalışmamızda Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı'ndan Cebeci Hastanesi Merkez Laboratuvarı'na gönderilen vajen kültürlerinden izole edilmiş 58 adet *Lactobacillus* izolatının ürettiği sekonder metabolitlerin, çeşitli test mikroorganizmaları üzerindeki antimikrobiyal aktiviteleri araştırılmıştır. Günümüzün en büyük sorunlarından biri olarak görülen antimikrobiyallere direnç gelişimi göz önüne alınarak, alternatif tedavi seçeneği olabilecek iyi etkili bir izolatın bulunması amaçlanmıştır. .

*L. crispatus* ve *L. iners* vajinal mikrobiyotada çoğunlukla baskın bulunan iki türdür. Bazı durumlarda *L. gasseri* ve *L. jensenii* de baskın olarak bulunabilmektedir (Champer ve ark. 2017). Çalışmamızda en sık *L. crispatus*, *L. gasseri* ve *L. jensenii* türlerine rastlanılmıştır. Aynı zamanda *Lactobacillus* cinsinin yeni üyelerinden (Nikolaitchouk ve ark., 2001) *L. coleohominis*'e de rastlanılmıştır.

Pendharkar ve ark. (2013), vajinal *Lactobacillus* izolatları üzerine yaptıkları çalışmada, *L. crispatus*'un *L. iners*, *L. gasseri* ve *L. jensenii*'ye göre daha güçlü H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ürettiğini gözlemlemişlerdir. *L. crispatus* bulunan kadınlarda bakteriyel vajinozis görülmezken, diğer *Lactobacillus*'ların bakteriyel vajinozis olgusuyla birlikte gözlemlendiği bildirilmiştir.

Siroli ve ark. (2017), herhangi bir üriner veya vajinal sistem enfeksiyonu bulunmayan premenopozal dönemdeki kadınlardan elde ettikleri 17 *Lactobacillus* izolatının, patojen ve gıdalarda bozulmaya neden olan suşlar üzerine antagonistik aktivitelerini incelemişlerdir. *Lactobacillus* izolatlarını, *L. crispatus*, *L. gasseri* ve *L. vaginalis* türleri olarak tanımlamışlardır. Çalışmalarında kullandıkları bütün *Lactobacillus* izolatları, *Listeria monocytogenes* Scott A, *L. innocua* DSM 20649, *E. faecalis* EF37, *E. coli* DSM 18039 ve *E. coli* 555 üzerinde inhibitör etki göstermişlerdir. *L. crispatus* izolatlarının en yüksek inhibitör aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir.

Çalışmamızda elde ettiğimiz izolatlardan biri olan *L. saerimneri* (59138) 'nin *P. aeruginosa* ve *B. subtilis* üzerine inhibitör etkisinin bulunduğu görülmüştür. Bu bakteri ilk kez 1950'lerde at midesinden (Rodwell, 1953) izole edilmiştir. Daha sonra domuz fekal florasından (Pedersen ve Roos, 2004) ve insan fekal florasından (Taweechotipatr ve ark., 2009) izole edildiği bildirilmiştir. Yapılan literatür taramasında insan vajinal florasından izole edildiğine dair bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu açıdan bizim çalışmamız, vajenden *L. saerimneri*'nin ilk kez izole edilmiş olması nedeniyle önem taşımaktadır.

Diyare, dünya genelinde yüksek morbidite ve mortalite sebebidir. Çoğunlukla gelişmekte olan ülkelerde çocuk diyarelerine diyarejenik *E. coli* suşları neden olmaktadır. Diyarejenik *E. coli*, enteroagregatif *E. coli* (EHEC), enterohemorajik *E. coli* (EHEC) enteroinvaziv *E. coli* (EIEC), enteropatogenik *E. coli* (EPEC) ve enterotoksijenik *E. coli* (ETEC) gibi beş majör patojen tipi ile kategorize edilir. Bu bakterilerde antibiyotiklere karşı direnç gelişimi olabilmektedir. Davoodabadi ve ark. (2015), yaptıkları çalışmada fekal floradan izole ettikleri Laktobasillerin diyarejenik

*E. coli* suşları üzerine antimikrobiyal aktivitelerini kuyu difüzyon yöntemi ile araştırmışlardır. *Lactobacillus* izolatlarından elde edilen supernatantların 11 mm ile 16 mm arasında zon çapı oluşturarak etki gösterdiklerini bildirmişlerdir. Bu supernatantlar 15 dakika 100 °C'ye ya da tripsin, pepsin, proteinkinaz K gibi enzimlere maruz bırakıldıklarında etkilerinde herhangi bir değişiklik olmazken, pH değerleri 6,5'e ayarlandığında ve katalaz ile muamele edildiklerinde antimikrobiyal etki göstermedikleri bildirilmiştir. *Lactobacillus*'ların antimikrobiyal aktivitesinin ürettikleri organik asitlerden ve hidrojen peroksitten kaynaklandığı düşünülmektedir (Davoodabadi ve ark., 2015).

Antibiyotiklerin gereksiz ve bilinçsiz kullanımı sonucunda ortaya çıkan direnç sorunu, tüm insanlığı tehdit eden bir sorun haline gelmiştir. *P. aeruginosa* ve *S. aureus* gibi biyofilm oluşturan patojenler, nozokomiyal enfeksiyon etkenleri olarak sıklıkla izole edilmekte olup, her geçen gün farklı antimikrobiyallere direnç kazanmış bakteriler olarak karşımıza çıkmaktadır (Affhan ve ark., 2015). Affhan ve ark. (2015), Laktobasillerin ve bunların hücre içermeyen supernatantlarının *P. aeruginosa* ve *S. aureus* bakterilerine karşı etkilerini incelemiş ve kültüre edilmiş insan bağırsak hücreleri ile yapılan çalışmada Laktobasillerin kompetatif mekanizması sayesinde enfeksiyon sırasında Laktobasil supernatantlarının patojenlerin adezyonunu ve enfeksiyon gelişmesini azalttığını bildirmişlerdir.

Çalışmamızda elde ettiğimiz aynı türe ait *Lactobacillus* izolatlarının test mikroorganizmalarına karşı farklı derecelerde etkili olduğu görülmüştür. Bu durumun ürettikleri sekonder metabolit içeriklerinin farklı olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Wang ve ark. (2017), insan vajinal akıntısından izole ettikleri *L. gasseri*, *L. crispatus* ve *L. jensenii* türlerini içeren 18 *Lactobacillus* bakterisinin *C. albicans*'a karşı antimikrobiyal aktivitesini araştırmışlardır. Bu 18 izolattan 15'i *C. albicans*'a karşı antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Aynı zamanda çalışmada *Lactobacillus* izolatlarının aynı türden olsalar bile, aynı H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> üretme kapasitesine sahip olmadıklarını bildirmişlerdir.

Parolin ve ark. (2015), 8 *L. crispatus*, 6 *L. gasseri* ve 3 *L. vaginalis* toplamda 17 vajinal *Lactobacillus* izolatının *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* ve *C. lusitaniae*'ye karşı antifungostatik ve antifungisidal aktivitelerini incelemişlerdir. *Lactobacillus* izolatlarının hiçbirinin *C. krusei* ve *C. parapsilosis*'e karşı aktivite göstermedikleri ancak diğer *Candida* türlerine karşı antifungostatik veya antifungisidal aktivitelerinin bulunduğu saptanmıştır. *Lactobacillus* izolatlarının aynı türden olsalar bile farklı H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> üretme kapasitesine sahip oldukları ve antifungostatik veya antifungisidal aktivite açısından en değişken profili *L. vaginalis* suşlarının sergilediği bildirilmiştir.

Jamalifar ve ark. (2011), farklı yerlerden izole ettikleri *Lactobacillus*'ların supernatantlarının çoklu ilaç direnci olan klinik *P. aeruginosa* suşları üzerine antimikrobiyal aktivitelerini araştırmışlardır. İranlı çocukların feçeslerinden izole edilen *L. acidophilus* bakterisinin, çoklu ilaç direnci olan *P. aeruginosa* suşlarına karşı güçlü antimikrobiyal aktivite gösterdiği, oral üründen izole edile *L. reuteri*'nin ise zayıf etkili olduğu görülmüştür. Vajinal üründen elde edilen *L. acidophilus* bakterisinin ise antimikrobiyal aktivitesi saptanmamıştır.

Stoyancheva ve ark. (2014), vajinal örneklerden izole ettikleri 17 tane *Lactobacillus* izolatının antimikrobiyal aktivitesini çeşitli Gram pozitif ve Gram negatif bakteri türleri üzerinde kuyu difüzyon ve damlatma yöntemleri ile araştırmışlardır. Çalışmada kullandıkları izolatlardan 12 tanesi test mikroorganizmalarından bir veya daha fazlasına (*K. ozoenae*, *K. pneumoniae*, *E. coli*, *E. faecalis*, *S. aureus*, *C. parapsilosis* vs.) karşı çeşitli düzeylerde antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Ayrıca çalışmalarında *Lactobacillus*'ların ürettikleri sekonder metabolitlerin içeriğinde bulunan bileşenlerin ayrı ayrı antimikrobiyal aktivitesi bulunmasına rağmen bu metabolitlerin sinerjik etkilerinin daha güçlü olduğunu bildirmişlerdir.

Dimitonova ve ark. (2007), sağlıklı Bulgar kadınların vajenlerinden izole ettikleri 20 *Lactobacillus* izolatının çeşitli test mikroorganizmaları üzerindeki antimikrobiyal aktivitesini araştırmışlardır. İki farklı *L. fermentum* izolatının,

bakteriyel vajinozis etkenlerinden olan *G. vaginalis*'e karşı inhibitör etkisini saptamışlardır. 11 tane izolatin çeşitli test mikroorganizmaları (*P. aeruginosa*, *S. aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *E. aerogenes*, *K. pneumoniae*, *E. coli*) üzerinde antimikrobiyal etkisi saptanmıştır. İzolatların hiçbiri *C. albicans*, *S. saprophyticus*, *S. epidermidis*, *Proteus vulgaris* ve *Salmonella typhimurium*'a karşı inhibitör etki göstermemiştir. Bu çalışmada da sekonder metabolitlerin içeriğinde bulunan antimikrobiyal etkili bileşenlerin, birlikte daha iyi antimikrobiyal etki gösterdikleri bildirilmiştir.

Nami ve ark. (2014b), vajinal *L. plantarum* 5BL'nin çeşitli patojen mikroorganizmalar üzerine olan antimikrobiyal aktivitesini kuyu difüzyon testi ile incelemiştir. *L. plantarum* 5BL, *Salmonella typhimurium*, *E. coli* 026, *E. coli* 0157, *S. aureus*, *Bacillus cereus*, *K. pneumoniae*, *S. flexneri*, *L. monocytogenes*, *S. marcescens* ve *S. mutans*' a karşı iyi antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Bu suş *E. coli* 026, *K. pneumoniae* ve *S. marcescens* test bakterilerine karşı 12 mm'den büyük inhibisyon zon çapları oluştururken, *S. saprophyticus*, *C. albicans*, *P. aeruginosa*, *Lactococcus lactis* ve *E. faecalis*'e karşı etkili bulunmamıştır.

Jang ve ark. (2017), attenüe *G. vaginalis* etkenli bakteriyel vajinozisli fareler üzerine *L. acidophilus* ve *L. rhamnosus* içeren bir probiyotik karışımını hem oral hem de intravajinal yolla uygulamışlardır. Çalışmada bu probiyotiklerin *G. vaginalis*'in üremesini inhibe ettiği ve HeLa hücrelerine olan adheransını engelledikleri görülmüştür. *L. acidophilus*'un *L. rhamnosus*'dan daha etkili olduğu ve probiyotik karışımın oral yolla kullanımının daha etkili olduğu bildirilmiştir.

Terraf ve ark. (2016), vajinal *Lactobacillus*'ların üriner sistem enfeksiyonlarında en sık karşılaşılan patojen olan *E. coli*'ye karşı olan antimikrobiyal etkisini araştırmışlardır. Vajinal *L. reuteri*, *L. gasseri* ve *L. rhamnosus* suşlarının üropatojenik *E. coli* suşuna karşı etkili olduğunu bildirmişlerdir. Bu etkinin ürettikleri H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve laktik asitten kaynaklandığı düşünülmektedir.

Nami ve ark. (2014a), 40 sağlıklı ve fertil kadından aldıkları vajinal örneklerden elde ettikleri *L. acidophilus* 36YL suşunun çeşitli patojenlere karşı antimikrobiyal aktivitesini ve iyi probiyotik özellik gösterip göstermediğini araştırmışlardır. Çalışmada pH 6,5 'e ayarlı hücre içermeyen *L. acidophilus* supernatantının *E. coli* 026, *K. pneumoniae*, *E. faecalis* ve *S. marcescens*'e karşı Agar Kuyu Diffüzyon Testi'nde antimikrobiyal aktivite gösterdiği görülmüştür. Ayrıca sahip olduğu antagonistik ve antikanser özellikleri ve çoğu antibiyotiğe karşı duyarlı olması nedeniyle probiyotik olarak dikkate alınabileceği düşünülmektedir.

Coman ve ark. (2014), *Lactobacillus rhamnosus* IMC 501, *Lactobacillus paracasei* IMC 502 ve bu iki bakteriyi içeren kombine bir preparatın farklı yöntemlerle bazı patojen mikroorganizmalar üzerine olan etkisini araştırmışlardır. Bu bakterilerin, spor oluşturan bakterilere ve Gram pozitiflere, Gram negatif bakterilere göre daha çok etki gösterdikleri görülmüştür. Agar Kuyu Difüzyon Testi'nde her iki bakteri tarafından da *E. faecium* DSM 13590 ve *K. pneumoniae* IMV'ye karşı en geniş inhibisyon zonu oluşturulmuştur. *Candida* suşlarına, *Listeria gray* 309, *S. aureus* ATCC 25923, *P. aeruginosa* ATCC 27853 ve *Proteus mirabilis* IMV4'e karşı inhibitör etkileri saptanmamıştır.

Dover ve ark. (2007), vajinal *L. rhamnosus* suşunun ürettiği Lactocin 160 bakteriyosinin insanlarda güvenle kullanılıp kullanılamayacağını araştırmışlardır. Yapılan çalışmalarda Lactocin 160'ın vajinal epitel dokusunda hiçbir irritasyona ve toksik etkiye neden olmadığı ve vajinal laktobasilleri inhibe etmediği bildirilmiştir. Bu sebeple güvenli formülasyonlarının geliştirilip bakteriyel vajinozis tedavisinde kullanılabileceği önerilmektedir.

Laktobasilerden günümüzde endüstride de faydalanılmaktadır. Bu bakteriler süt ve süt ürünlerinde aroma arttırıcı, düşük kalorili tatlandırıcıların üretimi, süt ürünlerinin kıvamını arttıran ve raf ömrünü uzatan ekzopolisakkaritlerin üretimi ve vitamin (folat, riboflavini B12) üretimi gibi alanlarda kullanılmaktadır. Laktik asit bakterileri basit ve kontrol edilebilir bir mekanizmaya sahip oldukları için metabolik mühendisliği ile bu mekanizmaların iyileştirilmesine yönelik çalışmalar

yapılmaktadır. Böylece kullanılan bakterilerden elde edilen verimi arttırmak hedeflenmektedir (Karaca ve ark. 2010).



## 5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Dünyada ve ülkemizde antibiyotiklere karşı giderek artan direnç gelişimi oldukça ciddi boyutlardadır. Her geçen gün dünyanın farklı bölgelerinden çoğul dirençli yeni mikroorganizmalar bildirilmektedir. Çoğul dirençli mikroorganizmaların neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde kullanılmak üzere yeni antimikrobiyal etkili bileşiklere ihtiyaç duyulmaktadır. Antimikrobiyal etkili bileşikler üretmeleri nedeniyle son yıllarda araştırmacıların dikkatini çeken *Lactobacillus* cinsi bu açıdan ümit verici olmuştur.

Çalışmamızda, vajinal örneklerden izolen edilen *Lactobacillus* türlerinin çoğunlukla *L.crispatus*, *L. gasseri* ve *L. jensenii* olduğu görülmüştür. Yapılan literatür taramasında *L. saerimneri* türünün insan vajinal florasından izole edildiğine dair bir çalışmaya rastlanmamıştır. Çalışmamızda, vajenden *L. saerimneri* türü izole edilmiş olup, literatür taramasına göre bir ilk olması nedeniyle önem taşımaktadır. *Lactobacillus* izolatlarının genellikle *E.coli*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* ve *B. subtilis*'e karşı antimikrobiyal etkili oldukları görülmüştür.

Farklı kadınların gebelik, cinsel olarak aktif olma, menstrüasyon, sigara kullanımı, yaş, temizlik alışkanlıkları ve antimikrobiyal ajan kullanımları gibi koşulları göz önüne alındığında vajinal floralarının farklı olabileceği ve florada bulunan mikroorganizmaların ortam koşullarından etkilenerek farklı sekonder metabolit içeriğine sahip olabileceği bilinmektedir. Bu durum sonucunda ortaya çıkabilecek değişik sekonder metabolit içeriğinin, *Lactobacillus* türlerinin antimikrobiyal aktivitelerinin farklılığına neden olabileceği düşünülmektedir. Bir sonraki aşamada, çalışmamızda elde ettiğimiz izolatların sekonder metabolit içerikleri Gaz Kromatografisi, Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi gibi analitik yöntemlerle analiz edilecek ve antibakteriyel etkiden sorumlu bileşikler aydınlatılacaktır. Çalışmamızın sonuçları göz önünde bulundurulduğunda flora üyesi olan *Lactobacillus*'ların ürettikleri sekonder metabolitlerin antimikrobiyal aktiviteleri üzerinde daha kapsamlı çalışmalar yapılmalı, antimikrobiyal aktivitesi iyi olan izolatlar kullanılarak antibiyotik direncine karşı alternatif tedavi seçenekleri sunulmalıdır.

## ÖZET

### Vajinal Kültürlerden İzole Edilen *Lactobacillus* Türlerinin Antimikrobiyal Aktivitelerinin Araştırılması

Her geçen gün dünyanın farklı bölgelerinden antimikrobiyallere karşı çoğul dirençli yeni mikroorganizmaların bildirilmesi ve bu mikroorganizmaların neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde yetersiz kalınması yeni antimikrobiyal etkili bileşiklere olan ihtiyacı göz önüne koymaktadır. Antimikrobiyal etkili sekonder metabolitler üretmeleri nedeniyle *Lactobacillus* cinsi son dönemlerde araştırmacıların dikkatini çekmektedir. Vajinal mikroflorada bulunan *Lactobacillus*'lar vajina epitelindeki glikojenden, laktik asit oluşturarak pH'ı 4'e kadar düşürürler ve böylece patojen mikroorganizmaların yerleşmesini önlerler.

Bu çalışmanın amacı, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı'ndan Cebeci Hastanesi Merkez Laboratuvarı'na gönderilen vajen kültürlerinden izole edilmiş *Lactobacillus* türlerinin ürettiği sekonder metabolitlerin Agar Kuyu Difüzyon Testi ve Agar Damlatma Testi ile *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 35984, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Klebsiella pneumoniae* RSKK 578, *Bacillus subtilis* ATCC 6633 ve *Candida albicans* ATCC 10231 test mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal aktivitelerinin araştırılmasıdır.

Çalışmamızda 16S rRNA yöntemiyle tanımlanan 58 adet vajinal izolatın 19 tanesinin *L. crispatus*, 18 tanesinin *L. gasseri*, 8 tanesinin *L. jensenii*, 4 tanesinin *L. vaginalis*, 3 tanesinin *L. fermentum*, 2 tanesinin *L. coleohominis*, 1 tanesinin *L. saerimneri*, 1 tanesinin *L. reuteri*, 1 tanesinin *L. johnsonii* ve 1 tanesinin *L. helveticus* türü olduğu saptanmıştır. Bu izolatların sıklıkla *E.coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *K. pneumoniae* RSKK 578 ve *B.subtilis* ATCC 6633'e karşı etkili oldukları görülmüştür. Bazı izolatların *S. aureus* ATCC 25923 ve *E. faecalis* ATCC 29212 suşları üzerine de etki gösterdiği gözlenmiştir. İzolatların hiçbirisi *S. aureus* ATCC 43300, *S. epidermidis* ATCC 12228, *S. epidermidis* ATCC 35984 ve *C. albicans* ATCC 10231 üzerinde etkili bulunmamıştır.

Yapılan literatür taramasında *L. saerimneri* türünün insan vajinal florasından izole edildiğine dair bir çalışmaya rastlanmamıştır. Çalışmamız, ilk kez vajenden *L. saerimneri* türünün izole edilmiş olması nedeniyle önem taşımaktadır.

**Anahtar Sözcükler:** Antimikrobiyal aktivite, *Lactobacillus* sp., Sekonder metabolit, Vajinal flora

## SUMMARY

### Investigation into Antimicrobial Activity of *Lactobacillus* sp. Isolated From Vaginal Cultures

The fact that an increasing number of new multi-resistant microorganisms have been reported from different parts of the world and inefficiency in treating the infections caused by these microorganisms have brought about the necessity for new compounds with antimicrobial effects. The genus *Lactobacillus* have recently been focal point of researchers due to their ability to produce secondary metabolites with antimicrobial effects. Lactobacilli, located in vaginal microflora decreases pH down to 4 producing lactic acid from the glycogen in vaginal epithelium, and as a result, they prevent invasion of pathogenes.

The aim of this study is to investigate into antimicrobial activity of secondary metabolites produced by *Lactobacillus* species, isolated from vaginal cultures which were sent from Ankara University, Faculty of Medicine, Department of Obstetrics and Gynecology to Cebeci Central Laboratory, against test microorganisms (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 35984, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Klebsiella pneumoniae* RSKK 578, *Bacillus subtilis* ATCC 6633 and *Candida albicans* ATCC 10231) using Agar Well Diffussion Method and Agar Spot Method.

In our study, of the 58 vaginal isolates identified through 16S rRNA method, 19 were established to be *L. crispatus*, 18 *L. gasseri*, 8 *L. jensenii*, 4 *L. vaginalis*, 3 *L. fermentum*, 2 *L. coleohominis*, 1 *L. saerimneri*, 1 *L. reuteri*, 1 *L. johnsonii* and 1 *L. helveticus* species. These isolates were often found to be effective against *E.coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *K. pneumoniae* RSKK 578 ve *B.subtilis* ATCC 6633. It was also observed that some isolates were effective against *S. aureus* ATCC 25923 and *E. faecalis* ATCC 29212 strains. None of these isolates was found to be effective againts *S. aureus* ATCC 43300, *S. epidermidis* ATCC 12228, *S. epidermidis* ATCC 35984 and *C. albicans* ATCC 10231.

No study dealing with isolation of *L. saerimneri* from human vaginal flora has been detected in literature. Our study is of significance as it isolated *L. saerimneri* from human vaginal flora for the first time.

**Keywords:** Antimicrobial activity, *Lactobacillus* sp., Secondary metabolites, Vaginal flora

## KAYNAKLAR

- AFFHAN, S., DACHANG, W., XIN, Y., SHANG, D. 2015. "Lactic acid bacteria protect human intestinal epithelial cells from *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* infections", *Genet. Mol. Res*, **14** (4), 17044-17058.
- AHMAD A, PATEL I, KHAN MU, BABAR Z (2017). Pharmaceutical waste and antimicrobial resistance. *The Lancet Infectious Diseases*, **17** (6): 578-579.
- ALIOUA S, ABDI A, FHOULA I, BRINGEL F, BOUDABOUS A, OUZARI IH (2016). Diversity of vaginal lactic acid bacterial microbiota in 15 Algerian pregnant women with and without bacterial vaginosis by using culture independent method. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, **10** (9): 23-27.
- BAETEN JM, HASSAN WM, CHOCHAN V, RICHARDSON BA, MANDALIYA K, NDINYA-ACHOLA JO, JAOKO W, MCCLELLAND RS (2009). Prospective study of correlates of vaginal *Lactobacillus* colonization among high-risk HIV-1 seronegative women. *Sexually Transmitted Infections*, **85** (5): 348-353.
- BALCIUNAS EM, MARTINEZ FAC, TODOROV SD, FRANCO BDGM, CONVERTI A, OLIVERIA RPS (2013). Novel biotechnological applications of bacteriocins: a review. *Food Control*, **32**: 134-142.
- BARRONS R, TASSONE D (2008). Use of *Lactobacillus* probiotics for bacterial genitourinary infections in women: A Review. *Clinical Therapeutics*, **30** (3): 453-468.
- BENLİ M, YİĞİT N (2005). Ülkemizde yaygın kullanımı olan kekik (*Thymus vulgaris*) bitkisinin antimikrobiyal aktivitesi. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*. **3**(8): 1-8.
- BERTUCCINI L, RUSSO R, IOSIL F, SUPERTI F (2017). Effects of *Lactobacillus rhamnosus* and *Lactobacillus acidophilus* on bacterial vaginal pathogens. *International Journal of Immunopathology and Pharmacology*, **30** (2): 163-167.
- BHATT AP, REDINBO MR, BULTMAN SJ (2017). The role of the microbiome in cancer development and therapy. *A Cancer Journal for Clinicians*. DOI: 10.3322/caac.21398.
- BIGDYE TERMINATOR V1.1 CYCLE SEQUENCING KIT USER GUIDE, 20 Nisan 2016. s: 6-47.
- BİLGEHAN, H. (2002) Klinik Mikrobiyolojik Tanı. 3. Baskı. Barış Yayınları Fakülteler Kitabevi.
- BORGES S, SILVA J, TEIXEIRA P (2014). The role of lactobacilli and probiotics in maintaining vaginal health. *Archives of Gynecology and Obstetrics*, **289**: 479-489.

- BOUCHEMAL K, BORIES C, LOISEAU PM (2017). Strategies for prevention and treatment of *Trichomonas vaginalis* infections. *Clinical Microbiology Reviews*, **30** (3): 811-825.
- BROTMAN RM, BRADFORD LL, CONRAD M, GAJER P, AULT K, PERALTA L, FORNEY LJ, CARLTON JM, ABDO Z, RAVEL J (2012). Association between *Trichomonas vaginalis* and vaginal bacterial community composition among reproductive-age women. *Sexually Transmitted Diseases*, **39** (10): 807–812.
- CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (2015). Sexually transmitted diseases treatment guidelines. *Morbidity and Mortality Weekly Report*, **64** (3): 21-86.
- CHAMPER M, WONG AM, CHAMPER J, BRITO IL, MESSER PW, HOU JY, WRIGHT JD (2017). The role of the vaginal microbiome in gynaecological cancer. *An International Journal of Obstetrics and Gynaecology*. DOI: 10.1111/1471-0528.14631.
- CLEVELAND J, MONTVILLE TJ, NES IF, CHIKINDAS ML (2001). Bacteriocins: safe, natural antimicrobials for food preservation. *International Journal of Food Microbiology*, **71**: 1–20.
- COMAN MM, VERDENELLI MC, CECCHINI C, SILVI S, ORPIANESI C, BOYKO N, CRESCI A (2014). In vitro evaluation of antimicrobial activity of *Lactobacillus rhamnosus* IMC 501®, *Lactobacillus paracasei* IMC 502® and SYNBIO® against pathogens. *Journal of Applied Microbiology*, **117** (2): 518-527.
- COTTER PD, HILL C, ROSS RP (2005). Bacteriocins: developing innate immunity for food. *Nature Reviews/Microbiology*, **3**: 777-788.
- DAVOODABADI A, DALLAL MMS, LASHANI E, EBRAHIMI MT (2015). Antimicrobial activity of *Lactobacillus* spp. isolated from fecal flora of healthy breast-fed infants against diarrheagenic *Escherichia coli*. *Jundishapur J Microbiol.* **8** (12): e27852.
- DIMITONOVA SP, DANOVA ST, SERKEDJIEVA JP, BAKALOV BV (2007). Antimicrobial activity and protective properties of vaginal lactobacilli from healthy Bulgarian women. *Anaerobe*, **13**: 178-184.
- DİNÇER E, KIVANÇ M, KARACA H. (2009). Biyokoruyucu olarak laktik asit bakterileri ve bakteriyosinler. *Gıda Dergisi*, 1-8.
- DONDERS GGG (2007). Definition and classification of abnormal vaginal flora. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics and Gynaecology*, **21** (3): 355-373.
- DOVER SE, AROUTCHEVA AA, FARO S, CHIKINDAS AL (2007). Safety study of an antimicrobial peptide Lactocin 160, produced by the vaginal *Lactobacillus rhamnosus*. *Hindawi Publishing Corporation Infectious Diseases in Obstetrics and Gynecology*, **2007**:78248. DOI: 10.1155/2007/78248.

- FLOROU-PANERI P, CHRISTAKI E, BONOS E (2013). Lactic acid bacteria as source of functional ingredients. *R & for Food, Health and Livestock Purposes*, **25**; 589-614.
- HOJSAK I, SZAJEWSKA H, CANANI RB, GUARINO A, INDRIO F, KOLACEK S, OREL R, SHAMIR R, VANDENPLAS Y, VAN GOUDOEVEER JB, WEIZMAN Z; ESPGHAN Working Group for Probiotics/Prebiotics (2017). Probiotics for the prevention of nosocomial diarrhea in children. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, DOI: 10.1097/MPG.0000000000001637.
- HOLZAPFEL WH, GEISEN R, SCHILLINGER U. (1995). Biological preservation of foods with reference to protective cultures, bacteriocins and food-grade enzymes. *International Journal of Food Microbiology*, **24**: 343-362.
- ISLAM MA, ISLAM M, HASAN R, HOSSAIN MI, NABI A, RAHMAN M, GOESSENS WHF, ENDTZ HP, BOEHM AB, FARUQUE SM (2017). Environmental spread of NDM-1-producing multi-drug resistant bacteria in Dhaka, Bangladesh. *Applied And Environmental Microbiology*, **83**. DOI:10.1128/AEM.00793-17.
- JABBARI V, KHIABANI MS, MOKARRAM RR, HASSANZADEH AM, AHMADI E, GHARENAGHADEH S, KARIMI N, KAFIL HS (2017). *Lactobacillus plantarum* as a probiotic potential from kouzeh cheese (traditional iranian Cheese) and its antimicrobial activity. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, **9** (2): 189-193.
- JAFARPOUR D, SHEKARFOROUSH SS, GHASARI HR, NAZIFI S, SAJEDIANFARD J, ESKANDARI MH (2017). Protective effects of synbiotic diets of *Bacillus coagulans*, *Lactobacillus plantarum* and inulin against acute cadmium toxicity in rats. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, **17** (1): 291.
- JAMALIFAR H, RAHIMI HR, SAMADI N, SHAHVERDI AR, SHARIFIAN Z, HOSSEINI F, ESLAHI H, FAZELI MR (2011). Antimicrobial activity of different *Lactobacillus* species against multi-drug resistant clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Iranian Journal of Microbiology*, **3** (1) : 21-25.
- JANG SE, JEONG JJ, CHOI SY, KIM H, HAN MJ, KIM DH (2017). *Lactobacillus rhamnosus* HN001 and *Lactobacillus acidophilus* La-14 Attenuate *Gardnerella vaginalis*-Infected Bacterial Vaginosis in Mice. *Nutrients*. DOI:10.3390/nu9060531.
- JIANG C, LI G, HUANG P, LIU Z, ZHAO B (2017). The gut microbiota and alzheimer's disease. *Journal of Alzheimer's Disease*, **58** (1): 1-15.
- KANDLER O, WEISS N. Regular, Nonsporing Gram-Positive Rods. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (1986). MURRAY RGE, BRENNER DJ, BRYANT MP, HOLT JG, KRIEG NR, MOULDER JW, PFENNIG N, SNEATH PHA, STALEY JT. **2** (14); 1208-1234.
- KARACA H, DİNÇER E, KIVANÇ M (2010). Metabolik mühendisliğinde laktik asit bakterileri. *Akademik Gıda*, **8** (1): 32-38.

- KILIÇ E, ASLIM B (2003). Laktik asit bakterilerinin vajen florasındaki önemi ve probiyotik olarak kullanımı. *OrLab On-line Mikrobiyoloji Dergisi*, **1** (2): 70-82.
- KIYAN M. Anaerob Gram Pozitif, Sporsuz, Basil ve Koklar. *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*. USTAÇELEBİ Ş (1999). Bölüm 3: s:653.
- KLAENHAMMER TR (1993). Genetics of bacteriocins produced by lactic acid bacteria. *FEMS Microbiology Reviews*, **12**: 39-86.
- KLAENHAMMER TR (1998). Bacteriocins of lactic acid bacteria. *Biochimie*, **70**: 337-349.
- KLEIN G, PACK A, BONAPARTE C, REUTER G (1998). Taxonomy and physiology of probiotic lactic acid bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, **41**: 103–125.
- KOVACHEV S (2017). Defence factors of vaginal lactobacilli. *Critical Reviews In Microbiology*, 8:1-9. DOI:10.1080/1040841X.2017.1306688.
- LIU W, PANG H, ZHANG H, CAI Y (2014). Biodiversity of lactic acid bacteria. Chapter 2: 103-203. DOI: 10.1007/978-94-017-8841-0\_2.
- MIRAGHAJANI M, DEHSOUKHTEH SS, RAFIE N, HAMEDANI SG, SABIHI S, GHIASVAND R (2017). Potential mechanisms linking probiotics to diabetes: a narrative review of the literature. *Sao Paulo Medical Journal*, **135** (2):169-178.
- MUELLER ER, WOLFE AJ, BRUBAKER L (2017). Female urinary microbiota. *Current Opinion in Urology*, **27** (3): 282–286.
- NADER-MACIAS MEF, TOMAS MSJ (2015). Profiles and technological requirements of urogenital probiotics. *Advanced Drug Delivery Reviews*, **92**: 84-104.
- NAMI Y, ABDULLAH N, HAGSHENAS B, RADIAH D, ROSLI R, KHOSROUSHAHI AY (2014a). Probiotic potential and biotherapeutic effects of newly isolated vaginal *Lactobacillus acidophilus* 36YL strain on cancer cells. *Anaerobe*, **28**: 29-36.
- NAMI Y, ABDULLAH N, HAGSHENAS B, RADIAH D, ROSLI R, KHOSROUSHAHI YA (2014b). Assessment of probiotic potential and anticancer activity of newly isolated vaginal bacterium *Lactobacillus plantarum* 5BL. *Microbiology and Immunology*, **58**: 492-502.
- NIKOLAITCHOUK N, WACHER C, FALSEN E, ANDERSCH B, COLLINS MD, LAWSON PA (2001). *Lactobacillus coleohominis* sp. nov., isolated from human sources. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, **51**: 2081–2085.
- PAROLIN C, MARANGONI A, LAGHI L, FOSCHI C, PALOMINO RAN, CALONGHI N, CEVENINI R, VITALI B (2015). Isolation of vaginal Lactobacilli and

characterization of Anti-Candida activity. *Plos One*, DOI:10.1371/journal.pone.0131220.

- PEDERSEN C, ROOS S (2004). *Lactobacillus saerimneri* sp. nov., isolated from pig faeces. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, **54**: 1365–1368.
- PENDHARKAR S, MAGOPANE T, LARSSON PG, BRUYN G, GRAY GE, HAMMARSTROM L, MARCOTTE H (2013). Identification and characterisation of vaginal lactobacilli from South African women. *BMC Infectious Diseases*, **13**: 43.
- PETRICEVIC L, DOMIG KJ, NIRSCHER FJ, SANDHOFER MJ, KRONDORFER I, KNEIFEL W, KISS H (2013). Differences in the vaginal lactobacilli of postmenopausal women and influence of rectal lactobacilli. *Climacteric*, **16**: 356–361.
- PRINGSULAKA O, THONGNGAM N, SUWANNASAI N, ATTHAKOR W, POTHIVEJKUL K, RANGSIRUJI A (2012). Partial characterisation of bacteriocins produced by lactic acid bacteria isolated from Thai fermented meat and fish products. *Food Control*, **23**: 547-551.
- RAMU R, SHIRAHATTI PS, DEVI AT, PRASAD A, KUMUDA J, LOCHANA MS, ZAMEER F, DHANANJAYA BL, NAGENDRA PRASAD MN (2015). Bacteriocins and their applications in food preservation. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 1-42.
- RAUT S, BAJRACHARYA K, ADHIKARI J, PANT SS, ADHIKARI B (2017). Prevalence of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in Lumbini Medical College and Teaching Hospital, Palpa, Western Nepal. *BMC Research Notes*, **10** (1): 187.
- REDONDO-LOPEZ V, COOK RL, SOBEL JD (1990). Emerging role of Lactobacilli in the control and maintenance of the vaginal bacterial microflora. *Reviews Of Infectious Diseases*, **12** (5): 856-872.
- RODWELL AW (1953). The occurrence and distribution of amino-acid decarboxylases within the genus *Lactobacillus*. *Journal of General Microbiology*, **8**: 224-232.
- SGIBNEV AV, KREMLEVA EA (2015). Vaginal protection by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-producing Lactobacilli. *Jundishapur Journal of Microbiology*, **8** (10): e22913.
- SIROLI L, PATRIGNANI F, SERRAZANETTI DI, PAROLIN C, PALOMINO RAN, VITALI B, LANCIOTTI R (2017). Determination of antibacterial and technological properties of vaginal Lactobacilli for their potential application in dairy products. *Frontiers in Microbiology*, **8** (166): 1-12.
- STOYANCHEVA G, MARZOTTO M, DELLAGLIO F, TORRIANI S (2014). Bacteriocin production and gene sequencing analysis from vaginal *Lactobacillus* strains. *Arch Microbiol*, **196**: 645–653.

- SUBRAMANIAM A, KUMAR R, CLIVER SP, ZHI D, SZYCHOWSKI JM, ABRAMOVICI A, BIGGIO JR, LEFKOWITZ EJ, MORROW C, EDWARDS RK (2016). Vaginal microbiota in pregnancy: evaluation based on vaginal flora, birth outcome, and race. *Am J Perinatol*, **33**: 401–408.
- TAWEECHOTIPATR M, IYER C, SPINLER JK, VERSALOVIC J, TUMWASORN S (2009). *Lactobacillus saerimneri* and *Lactobacillus ruminis*: novel human-derived probiotic strains with immunomodulatory activities. *FEMS Microbiology Letters*, **293**(1): 65–72.
- TERRAF MCL, TOMÁS MSJ, RAULT L, LOIR YL, EVEN S, NADER MACIAS MEF (2016). In vitro effect of vaginal lactobacilli on the growth and adhesion abilities of uropathogenic *Escherichia coli*. *Archives of Microbiology*. DOI:10.1007/s00203-016-1336-z.
- TODOROV SD, FRANCO BD, WIID IJ (2014). In vitro study of beneficial properties and safety of lactic acid bacteria isolated from Portuguese fermented meat products. *Beneficial Microbes*, **5** (3): 351-366.
- VALENTA C (2005). The use of mucoadhesive polymers in vaginal delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, **57**: 1692– 1712.
- WANG S, WANG Q, YANG E, YAN L, LI T, ZHUANG H (2017). Antimicrobial compounds produced by vaginal *Lactobacillus crispatus* are able to strongly inhibit *Candida albicans* growth, hyphal formation and regulate virulence-related gene expressions. *Frontiers in Microbiology*. DOI: 10.3389/fmicb.2017.00564.
- WINN W, ALLEN S, JANDA W, KONEMAN E, PROCOP G, SCHRECKENBERGER P, WOODS G (2006). Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 6th Ed. Chapter 14. p.: 838-840.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (Mayıs 2017). Implementation of the global action plan on antimicrobial resistance. Erişim: [www.who.int/antimicrobial-resistance/news/WHO-GAP-AMR-Newsletter-may-2017.pdf?ua=1]. Erişim tarihi: 06.06.2017.
- YOUNG VB (2017). The role of the microbiome in human health and disease: an introduction for clinicians. *British Medical Journal*. DOI: 10.1136/bmj.j831.
- ZHOU D, CUI Y, WU FL, DENG WH (2016). The change of vaginal *Lactobacillus* in patients with high-risk human papillomavirus infection. *Zhonghua Yixuehui Zazhishe*, **96** (25): 2006-2008.
- ZHOU X, BENT SJ, SCHNEIDER MG, DAVIS CC, ISLAM MR AND FORNEY LJ (2004). Characterization of vaginal microbial communities in adult healthy women using cultivation-independent methods. *Microbiology*, **150**: 2565–2573.

## KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI		Vajinal kültürlerden izole edilen ve antimikrobiyal tedavide kullanılması muhtemel <i>Lactobacillus</i> türlerinin tanımlanması, antimikrobiyal aktiviteilerinin araştırılması ve üretikleri sekonder metabolitlerin analizi		
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU				
DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarih	Versiyon Numarası	Dil
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ			Türkçe <input type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU			Türkçe <input type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>
	OLGU RAPOR FORMU			Türkçe <input type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ			Türkçe <input type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı	Açıklama		
	SİGORTA	<input type="checkbox"/>		
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	<input type="checkbox"/>		
	BİYOLÜKİK MATERYEL TRANSFER FORMU	<input type="checkbox"/>		
	ILAN	<input type="checkbox"/>		
	YILLIK BİLDİRİM	<input type="checkbox"/>		
	SONUÇ RAPORU	<input type="checkbox"/>		
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	<input type="checkbox"/>		
DİĞER	<input type="checkbox"/>			
KARAR BÜLTENİ	Karar No:88-347-16	Tarih: 25 Nisan 2016		
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın/çalışmanın gereği, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunan olup araştırmanın/çalışmanın başvuru dosyasında belirlenen merkezde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıda katılan etik kurul üyelerinin sayısına salt çoğunluğu ile karar verilmiştir.			

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU									
ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI		İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu							
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:		Prof.Dr.Mehmet MELLİ							
Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile İlgili	Katılım *	İmza		
Prof.Dr.Mehmet MELLİ	Farmakoloji	A.Ü.Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof.Dr.İbrahim SOYKAN	Gastroenteroloji	A.Ü. Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof.Dr.Serdar ÖZTÜRK	Tıbbi Biyokimya	A.Ü. Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof.Dr.Selma DEMİRER	Genel Cerrahi	A.Ü. Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof.Dr.Şule ŞENGÜL	Nefroloji	A.Ü. Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof.Dr.İnci İLHAN	Rah Sağlığı ve Hastalıkları	A.Ü. Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof.Dr.Serap SIVRI	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	H.Ü. Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof.Dr.Zafer ŞENOCAK	Hukuk	A.Ü.Hukuk Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	
Prof.Dr.İsmail ÇAKIR	Halk Sağlığı	H.Ü. Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	
Doç.Dr.Süleyman YAĞCIOĞLU	Biyofizik	H.Ü. Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç.Dr.Derya ÖZTUNA	Biyostatistik	A.Ü. Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç.Dr.Selma Koşuk TOPRAK	Hematoloji	A.Ü. Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Yrd.Doç.Dr.Nüket KUTLAY	Tabii Genetik	A.Ü. Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Uz.Dr.Önder İLGİLİ	Top Tarih ve Etik	A.Ü. Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Mühterem SUTAY	İşletme	-	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	

\*Toplantıda Belirli

Etik Kurul Başkanı

Unvanı/Adı/Soyadı:Prof.Dr.Mehmet MELLİ

İmza:

Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı her sayfaya imza atmalıdır.

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Vajinal kültürlerden izole edilen ve antimikrobiyal tedavide kullanılması muhtemel <i>Lactobacillus</i> türlerinin tanımlanması, antimikrobiyal aktivitesinin araştırılması ve üreticileri sekonder metabolitlerin analizi
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	

ETİK KURULU BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	AÇIK ADRESİ:	Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Morfoloji Binası 06100 Sıhhiye/ANKARA
	TELEFON	0312 595 82 27
	FAKS	0312 310 63 70
	E-POSTA	etik@medicine.ankara.edu.tr

BAŞVURU BİLGİLERİ	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Yrd.Doç.Dr.Müjde ERYILMAZ			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Farmasötik Mikrobiyoloji			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı			
	VARSA İDARI SORUMLU UNVANI/ADI/SOYADI				
	DESTEKLEYİCİ				
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANI/ADI/SOYADI (TÜBİTAK vb. gibi kaynaklardan destek alanlar için)				
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ				
	ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 2	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 3	<input type="checkbox"/>		
FAZ 4		<input type="checkbox"/>			
Gözlemsel ilaç çalışması		<input type="checkbox"/>			
Tıbbi cihaz klinik araştırması		<input type="checkbox"/>			
In vitro tıbbi tanı cihazları ile yapılan performans değerlendirme çalışmaları		<input type="checkbox"/>			
İlaç dışı klinik araştırma	<input type="checkbox"/>				
Diger ise belirtiniz:					
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ	<input checked="" type="checkbox"/>	ÇOK MERKEZLİ	<input type="checkbox"/>	
	ULUSAL	<input checked="" type="checkbox"/>	ULUSLARARASI	<input type="checkbox"/>	

Etik Kurul Başkanının  
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof.Dr.Mehmet MELLİ  
İmza:

*M. Mellî*

03 Mayıs 2016



Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı her sayfaya imza atmaktadır.

## EK-2

[BLAST](#) » [blastn suite](#) » RID-M3SHKWGZ015

### BLAST Results

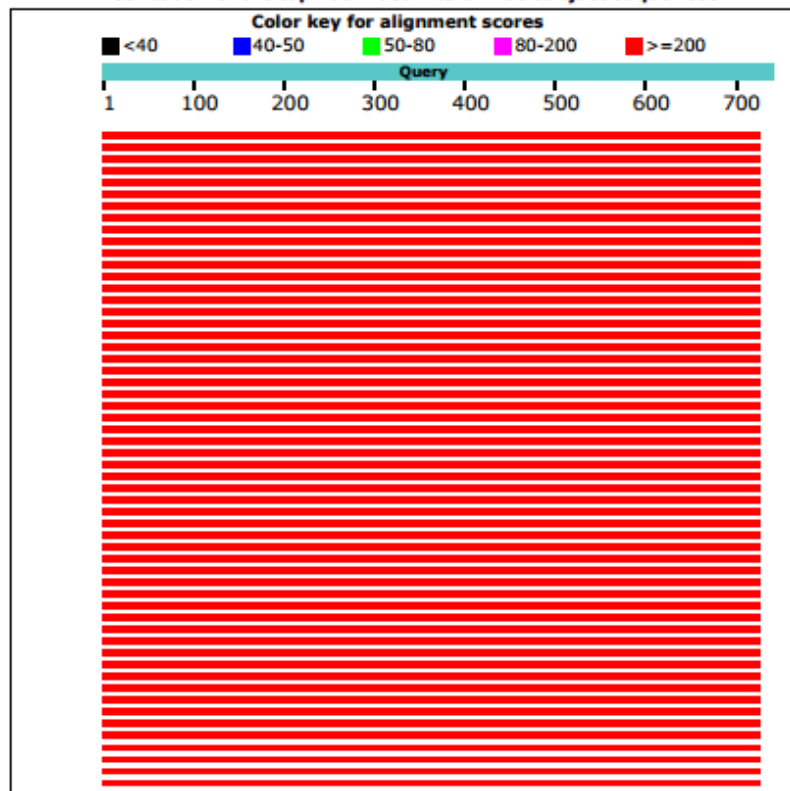
Job title: 3340-9-2943-16S rRNA F

RID [M3SHKWGZ015](#) (Expires on 06-16 09:26 am)

<b>Query ID</b>	icl Query_213953	<b>Database Name</b>	nr
<b>Description</b>	None	<b>Description</b>	Nucleotide collection (nt)
<b>Molecule type</b>	nucleic acid	<b>Program</b>	BLASTN 2.6.1+
<b>Query Length</b>	720		

### [Graphic Summary](#)

Distribution of the top 100 Blast Hits on 100 subject sequences



Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
Lactobacillus crispatus strain A055 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1287	1287	100%	0.0	99%	<a href="#">KF661292.1</a>
Lactobacillus crispatus strain I 5 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1285	1285	100%	0.0	99%	<a href="#">MH189769.1</a>
Uncultured Lactobacillus sp. partial 16S rRNA gene, isolate W799T_21689	1285	1285	100%	0.0	99%	<a href="#">LT696271.1</a>
Uncultured Lactobacillus sp. partial 16S rRNA gene, isolate W799T_21081	1285	1285	100%	0.0	99%	<a href="#">LT696263.1</a>
Uncultured Lactobacillus sp. partial 16S rRNA gene, isolate W799T_21675	1285	1285	100%	0.0	99%	<a href="#">LT696267.1</a>
Uncultured Lactobacillus sp. partial 16S rRNA gene, isolate W799T_21671	1285	1285	100%	0.0	99%	<a href="#">LT696263.1</a>
Uncultured Lactobacillus sp. partial 16S rRNA gene, isolate W799T_21685	1285	1285	100%	0.0	99%	<a href="#">LT696247.1</a>
Uncultured Lactobacillus sp. partial 16S rRNA gene, isolate W799N_18080	1285	1285	100%	0.0	99%	<a href="#">LT693563.1</a>
Uncultured Lactobacillus sp. partial 16S rRNA gene, isolate 520N_17228	1285	1285	100%	0.0	99%	<a href="#">LT691811.1</a>
Uncultured Lactobacillus sp. partial 16S rRNA gene, isolate 520N_17226	1285	1285	100%	0.0	99%	<a href="#">LT691809.1</a>
Uncultured Lactobacillus sp. partial 16S rRNA gene, isolate 520N_17202	1285	1285	100%	0.0	99%	<a href="#">LT691786.1</a>
Uncultured Lactobacillus sp. partial 16S rRNA gene, isolate 520N_17200	1285	1285	100%	0.0	99%	<a href="#">LT691783.1</a>
Uncultured Lactobacillus sp. partial 16S rRNA gene, isolate WB40T_14362	1285	1285	100%	0.0	99%	<a href="#">LT688946.1</a>
Uncultured Lactobacillus sp. partial 16S rRNA gene, isolate WB40T_14328	1285	1285	100%	0.0	99%	<a href="#">LT688912.1</a>
Uncultured Lactobacillus sp. partial 16S rRNA gene, isolate 219T_9962	1285	1285	100%	0.0	99%	<a href="#">LT684647.1</a>
Uncultured Lactobacillus sp. partial 16S rRNA gene, isolate 219T_9935	1285	1285	100%	0.0	99%	<a href="#">LT684520.1</a>
Uncultured Lactobacillus sp. partial 16S rRNA gene, isolate 219T_9903	1285	1285	100%	0.0	99%	<a href="#">LT684488.1</a>
Uncultured Lactobacillus sp. partial 16S rRNA gene, isolate 520T_7176	1285	1285	100%	0.0	99%	<a href="#">LT681762.1</a>
Uncultured Lactobacillus sp. partial 16S rRNA gene, isolate 520T_7172	1285	1285	100%	0.0	99%	<a href="#">LT681758.1</a>
Uncultured Lactobacillus sp. partial 16S rRNA gene, isolate 520T_7165	1285	1285	100%	0.0	99%	<a href="#">LT681751.1</a>
Uncultured Lactobacillus sp. partial 16S rRNA gene, isolate 520T_7140	1285	1285	100%	0.0	99%	<a href="#">LT681726.1</a>
Uncultured Lactobacillus sp. partial 16S rRNA gene, isolate 520T_7139	1285	1285	100%	0.0	99%	<a href="#">LT681725.1</a>
Uncultured Lactobacillus sp. partial 16S rRNA gene, isolate 520T_7136	1285	1285	100%	0.0	99%	<a href="#">LT681722.1</a>
Uncultured Lactobacillus sp. partial 16S rRNA gene, isolate 520T_7133	1285	1285	100%	0.0	99%	<a href="#">LT681719.1</a>
Uncultured Lactobacillus sp. partial 16S rRNA gene, isolate 520T_7129	1285	1285	100%	0.0	99%	<a href="#">LT681715.1</a>
Uncultured Lactobacillus sp. partial 16S rRNA gene, isolate 520T_7127	1285	1285	100%	0.0	99%	<a href="#">LT681713.1</a>

rRNA gene, isolate 520T_7118	1285	1285	100%	0.0	99%	<a href="#">LT681704.1</a>
Uncultured <i>Lactobacillus</i> sp. partial 16S rRNA gene, isolate 520T_7105	1285	1285	100%	0.0	99%	<a href="#">LT681691.1</a>
Uncultured <i>Lactobacillus</i> sp. partial 16S rRNA gene, isolate 520T_7104	1285	1285	100%	0.0	99%	<a href="#">LT681690.1</a>
Uncultured <i>Lactobacillus</i> sp. partial 16S rRNA gene, isolate 520T_7103	1285	1285	100%	0.0	99%	<a href="#">LT681689.1</a>
Uncultured <i>Lactobacillus</i> sp. partial 16S rRNA gene, isolate 206N_5878	1285	1285	100%	0.0	99%	<a href="#">LT680464.1</a>
Uncultured <i>Lactobacillus</i> sp. partial 16S rRNA gene, isolate 206N_5859	1285	1285	100%	0.0	99%	<a href="#">LT680445.1</a>
Uncultured <i>Lactobacillus</i> sp. partial 16S rRNA gene, isolate 206N_5856	1285	1285	100%	0.0	99%	<a href="#">LT680442.1</a>
Uncultured <i>Lactobacillus</i> sp. partial 16S rRNA gene, isolate 206N_5814	1285	1285	100%	0.0	99%	<a href="#">LT680400.1</a>
Uncultured <i>Lactobacillus</i> sp. partial 16S rRNA gene, isolate WB40N_5793	1285	1285	100%	0.0	99%	<a href="#">LT680379.1</a>
Uncultured <i>Lactobacillus</i> sp. partial 16S rRNA gene, isolate WB40N_5791	1285	1285	100%	0.0	99%	<a href="#">LT680377.1</a>
Uncultured <i>Lactobacillus</i> sp. partial 16S rRNA gene, isolate WB40N_5786	1285	1285	100%	0.0	99%	<a href="#">LT680372.1</a>
Uncultured <i>Lactobacillus</i> sp. partial 16S rRNA gene, isolate WB40N_5784	1285	1285	100%	0.0	99%	<a href="#">LT680370.1</a>
Uncultured <i>Lactobacillus</i> sp. partial 16S rRNA gene, isolate WB40N_5756	1285	1285	100%	0.0	99%	<a href="#">LT680342.1</a>
Uncultured <i>Lactobacillus</i> sp. partial 16S rRNA gene, isolate WB40N_5746	1285	1285	100%	0.0	99%	<a href="#">LT680332.1</a>
Uncultured <i>Lactobacillus</i> sp. partial 16S rRNA gene, isolate WB40N_5725	1285	1285	100%	0.0	99%	<a href="#">LT680311.1</a>
Uncultured <i>Lactobacillus</i> sp. partial 16S rRNA gene, isolate W463N_5169	1285	1285	100%	0.0	99%	<a href="#">LT679755.1</a>
Uncultured <i>Lactobacillus</i> sp. partial 16S rRNA gene, isolate W463N_5163	1285	1285	100%	0.0	99%	<a href="#">LT679749.1</a>
Uncultured <i>Lactobacillus</i> sp. partial 16S rRNA gene, isolate 43T_4648	1285	1285	100%	0.0	99%	<a href="#">LT679234.1</a>
Uncultured <i>Lactobacillus</i> sp. partial 16S rRNA gene, isolate 43N_4262	1285	1285	100%	0.0	99%	<a href="#">LT678848.1</a>
Uncultured <i>Lactobacillus</i> sp. partial 16S rRNA gene, isolate 206T_3859	1285	1285	100%	0.0	99%	<a href="#">LT678445.1</a>
Uncultured <i>Lactobacillus</i> sp. partial 16S rRNA gene, isolate 219N_3399	1285	1285	100%	0.0	99%	<a href="#">LT677985.1</a>
Uncultured <i>Lactobacillus</i> sp. partial 16S rRNA gene, isolate 219N_3396	1285	1285	100%	0.0	99%	<a href="#">LT677982.1</a>
Uncultured <i>Lactobacillus</i> sp. partial 16S rRNA gene, isolate 219N_3395	1285	1285	100%	0.0	99%	<a href="#">LT677981.1</a>
Uncultured <i>Lactobacillus</i> sp. partial 16S rRNA gene, isolate 219N_3379	1285	1285	100%	0.0	99%	<a href="#">LT677965.1</a>
<i>Lactobacillus crispatus</i> strain MRS_54-4 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1285	1285	100%	0.0	99%	<a href="#">KX674035.1</a>
<i>Lactobacillus crispatus</i> strain MRS_54-3 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1285	1285	100%	0.0	99%	<a href="#">KX674034.1</a>

Uncultured bacterium clone T-RFLP_clone_I3 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1285	1285	100%	0.0	99%	<a href="#">KP780103.1</a>
<i>Lactobacillus crispatus</i> strain LE10 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1285	1285	100%	0.0	99%	<a href="#">KP090113.1</a>
<i>Lactobacillus crispatus</i> strain LE48 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1285	1285	100%	0.0	99%	<a href="#">KP090102.1</a>
Uncultured <i>Lactobacillus</i> sp. clone v8 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1285	1285	100%	0.0	99%	<a href="#">KM260385.1</a>
Uncultured bacterium clone nck142g10c1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1285	1285	100%	0.0	99%	<a href="#">KF091058.1</a>
Uncultured bacterium clone nck139g02c1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1285	1285	100%	0.0	99%	<a href="#">KF090833.1</a>
Uncultured bacterium clone nck137h05c1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1285	1285	100%	0.0	99%	<a href="#">KF090699.1</a>
Uncultured bacterium clone nck137b06c1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1285	1285	100%	0.0	99%	<a href="#">KF090644.1</a>
Uncultured bacterium clone nck130c12c1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1285	1285	100%	0.0	99%	<a href="#">KF090157.1</a>
Uncultured bacterium clone nck129g08c1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1285	1285	100%	0.0	99%	<a href="#">KF090107.1</a>
Uncultured bacterium clone nck130c01c1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1285	1285	100%	0.0	99%	<a href="#">KF083798.1</a>
Uncultured bacterium clone nck132c08c1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1285	1285	100%	0.0	99%	<a href="#">KF083749.1</a>
Uncultured bacterium clone nbw787e06c1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1285	1285	100%	0.0	99%	<a href="#">KF066930.1</a>
Uncultured bacterium clone nbw215g06c1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1285	1285	100%	0.0	99%	<a href="#">KF064980.1</a>
Uncultured bacterium clone nbw216f11c1 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1285	1285	100%	0.0	99%	<a href="#">KF064935.1</a>
<i>Lactobacillus casei</i> gene for 16S rRNA, partial sequence, strain: JCM 8677	1285	1285	100%	0.0	99%	<a href="#">AB911518.1</a>
<i>Lactobacillus crispatus</i> gene for 16S rRNA, partial sequence, strain: JCM 7702	1285	1285	100%	0.0	99%	<a href="#">AB911459.1</a>
<i>Lactobacillus crispatus</i> gene for 16S rRNA, partial sequence, strain: JCM 7696	1285	1285	100%	0.0	99%	<a href="#">AB911455.1</a>
<i>Lactobacillus crispatus</i> strain A014 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1285	1285	100%	0.0	99%	<a href="#">KF661284.1</a>
<i>Lactobacillus crispatus</i> strain CLS01 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1285	1285	100%	0.0	99%	<a href="#">KC767156.1</a>
<i>Lactobacillus crispatus</i> strain CRL1453 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1285	1285	100%	0.0	99%	<a href="#">KC166145.1</a>
<i>Lactobacillus crispatus</i> strain QC0823 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1285	1285	100%	0.0	99%	<a href="#">JX974429.1</a>

Uncultured organism clone ELU0034-T174-S-NIPCRAMgANb_000427 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	1285	1285	100%	0.0	99%	<a href="#">HQ753172.1</a>
Uncultured organism clone ELU0034-T174-S-NIPCRAMgANb_000296 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	1285	1285	100%	0.0	99%	<a href="#">HQ753041.1</a>
Uncultured organism clone ELU0178-T478-S-NIPCRAMgANa_000149 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	1285	1285	100%	0.0	99%	<a href="#">HQ818368.1</a>
Uncultured organism clone ELU0177-T472-S-NIPCRAMgANa_000929 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	1285	1285	100%	0.0	99%	<a href="#">HQ818218.1</a>
Uncultured organism clone ELU0177-T472-S-NIPCRAMgANa_000772 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	1285	1285	100%	0.0	99%	<a href="#">HQ818061.1</a>
Uncultured organism clone ELU0177-T472-S-NIPCRAMgANa_000445 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	1285	1285	100%	0.0	99%	<a href="#">HQ817734.1</a>
Uncultured organism clone ELU0169-T415-S-NIPCRAMgANa_000025 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	1285	1285	100%	0.0	99%	<a href="#">HQ812373.1</a>
Uncultured organism clone ELU0167-T400-S-NIPCRAMgANa_000415 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	1285	1285	100%	0.0	99%	<a href="#">HQ812106.1</a>
Uncultured organism clone ELU0167-T400-S-NIPCRAMgANa_000319 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	1285	1285	100%	0.0	99%	<a href="#">HQ812010.1</a>
Uncultured organism clone ELU0167-T400-S-NIPCRAMgANa_000285 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	1285	1285	100%	0.0	99%	<a href="#">HQ811976.1</a>
Uncultured organism clone ELU0167-T400-S-NIPCRAMgANa_000218 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	1285	1285	100%	0.0	99%	<a href="#">HQ811909.1</a>
Uncultured organism clone ELU0167-T400-S-NIPCRAMgANa_000186 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	1285	1285	100%	0.0	99%	<a href="#">HQ811877.1</a>
Uncultured organism clone ELU0167-T400-S-NIPCRAMgANa_000056 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	1285	1285	100%	0.0	99%	<a href="#">HQ811747.1</a>
Uncultured organism clone ELU0153-T424-S-NIPCRAMgANa_000346 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	1285	1285	100%	0.0	99%	<a href="#">HQ803528.1</a>
Uncultured organism clone ELU0153-T424-S-NIPCRAMgANa_000340 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	1285	1285	100%	0.0	99%	<a href="#">HQ803522.1</a>
Uncultured organism clone ELU0153-T424-S-NIPCRAMgANa_000171 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	1285	1285	100%	0.0	99%	<a href="#">HQ803353.1</a>
Uncultured organism clone ELU0149-T297-S-NIPCRAMgANa_000556 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	1285	1285	100%	0.0	99%	<a href="#">HQ801726.1</a>
Uncultured organism clone ELU0149-T297-S-NIPCRAMgANa_000116 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	1285	1285	100%	0.0	99%	<a href="#">HQ801286.1</a>
Lactobacillus crispatus strain ATCC 33820 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	1285	1285	100%	0.0	99%	<a href="#">NR_041800.1</a>
Lactobacillus crispatus partial 16S rRNA gene, strain Marseille-P1443	1281	1281	100%	0.0	99%	<a href="#">LT223588.1</a>

Lactobacillus crispatus strain L5 16S ribosomal RNA gene, partial sequence  
 Sequence ID: MF155765.1 Length: 1426 Number of Matches: 1  
 Range 1: 6 to 725

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand	Frame
1285 bits(1424)	0.0()	719/721(99%)	2/721(0%)	Plus/Plus	
Features:					
Query 1	CGAGCGAGCGGA-CTAACAGATTTACTTCGGTAATGACGTTAGGAAAGCGAGCGCGGAT				59
Sbjct 6	CGAGCGAGCGGA-CTAACAGATTTACTTCGGTAATGACGTTAGGAAAGCGAGCGCGGAT				65
Query 60	GGTGAGTAACACGTTGGGAACTGCCCCATAGTCTGGGATACCACCTTGGAAACAGGTGC				119
Sbjct 66	GGTGAGTAACACGTTGGGAACTGCCCCATAGTCTGGGATACCACCTTGGAAACAGGTGC				125
Query 120	TAATACCGGATAAGAAAGCAGATCGCATGATCAGCTTTTAAJAGGCGCGGTAAAGCTGTCG				179
Sbjct 126	TAATACCGGATAAGAAAGCAGATCGCATGATCAGCTTTTAAJAGGCGCGGTAAAGCTGTCG				185
Query 180	CTATGGGATGGCCCCGCGGTGCATTAGCTAGTTGGTAAGGTAAGGCTTACCAAGGCGAT				239
Sbjct 186	CTATGGGATGGCCCCGCGGTGCATTAGCTAGTTGGTAAGGTAAGGCTTACCAAGGCGAT				245
Query 240	GATGCATAGCCGAGTTGAGAGACTGATCGGCCACATGGGACTGAGACACGGCCAAACT				299
Sbjct 246	GATGCATAGCCGAGTTGAGAGACTGATCGGCCACATGGGACTGAGACACGGCCAAACT				305
Query 300	CCTACGGGAGGCAGTAGGGAACTTCCACAATGGACGCAAGTCTGATGGAGCAACGC				359
Sbjct 306	CCTACGGGAGGCAGTAGGGAACTTCCACAATGGACGCAAGTCTGATGGAGCAACGC				365
Query 360	CGCTGAGTGAAGAAGGTTTTCCGATCGTAAAGCTCTGTGTGGTGAAGAAGGATAGAG				419
Sbjct 366	CGCTGAGTGAAGAAGGTTTTCCGATCGTAAAGCTCTGTGTGGTGAAGAAGGATAGAG				425
Query 420	GTAGTAACGGCTTTATTTGACGGTAATCAACCAGAAAGTCACGGCTAACTACGTGCCA				479
Sbjct 426	GTAGTAACGGCTTTATTTGACGGTAATCAACCAGAAAGTCACGGCTAACTACGTGCCA				485
Query 480	GCAGCCCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGATTATTTGGCGTAAAGCGAGC				539
Sbjct 486	GCAGCCCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGATTATTTGGCGTAAAGCGAGC				545
Query 540	GCAGCCGGAAGAATAAGTCTGATGTGAAGCCCTCGGCTTAAACCGAGGAACGTCATCGGA				599
Sbjct 546	GCAGCCGGAAGAATAAGTCTGATGTGAAGCCCTCGGCTTAAACCGAGGAACGTCATCGGA				605
Query 600	AACGTGTTTTCTTGAGTGCAGAAAGGAGAGTGGAACTCCATGTGTAGCGGTGGAAATGCG				659
Sbjct 606	AACGTGTTTTCTTGAGTGCAGAAAGGAGAGTGGAACTCCATGTGTAGCGGTGGAAATGCG				665
Query 660	TAGATATATGAAAGAACCCAGTGGCGAAGCGGCTCTCTGGTCTGCAACTGACGCTGA				719
Sbjct 666	TAGATATATGAAAGAACCCAGTGGCGAAGCGGCTCTCTGGTCTGCAACTGACGCTGA				724
Query 720	g 720				
Sbjct 725	G 725				

Lactobacillus crispatus strain A055 16S ribosomal RNA gene, partial sequence  
 Sequence ID: KF661292.1 Length: 1425 Number of Matches: 1  
 Range 1: 7 to 725

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand	Frame
1287 bits(1426)	0.0()	718/720(99%)	1/720(0%)	Plus/Plus	
Features:					
Query 1	CGAGCGAGCGGACTAACAGATTTACTTCGGTAATGACGTTAGGAAAGCGAGCGCGGATG				60
Sbjct 7	CGAGCGAGCGGACTAACAGATTTACTTCGGTAATGACGTTAGGAAAGCGAGCGCGGATG				66
Query 61	GGTGAGTAACACGTTGGGAACTGCCCCATAGTCTGGGATACCACCTTGGAAACAGGTGCT				120
Sbjct 67	GGTGAGTAACACGTTGGGAACTGCCCCATAGTCTGGGATACCACCTTGGAAACAGGTGCT				126
Query 121	TAATACCGGATAAGAAAGCAGATCGCATGATCAGCTTTTAAJAGGCGCGGTAAAGCTGTCGC				180
Sbjct 127	TAATACCGGATAAGAAAGCAGATCGCATGATCAGCTTTTAAJAGGCGCGGTAAAGCTGTCGC				186
Query 181	TATGGGATGGCCCCGCGGTGCATTAGCTAGTTGGTAAGGTAAGGCTTACCAAGGCGATG				240
Sbjct 187	TATGGGATGGCCCCGCGGTGCATTAGCTAGTTGGTAAGGTAAGGCTTACCAAGGCGATG				246
Query 241	ATGCATAGCCGAGTTGAGAGACTGATCGGCCACATGGGACTGAGACACGGCCAAACTC				300
Sbjct 247	ATGCATAGCCGAGTTGAGAGACTGATCGGCCACATGGGACTGAGACACGGCCAAACTC				306
Query 301	CTACGGGAGGCAGTAGGGAACTTCCACAATGGACGCAAGTCTGATGGAGCAACGCC				360
Sbjct 307	CTACGGGAGGCAGTAGGGAACTTCCACAATGGACGCAAGTCTGATGGAGCAACGCC				366
Query 361	CGCTGAGTGAAGAAGGTTTTCCGATCGTAAAGCTCTGTGTGGTGAAGAAGGATAGAGG				420
Sbjct 367	CGCTGAGTGAAGAAGGTTTTCCGATCGTAAAGCTCTGTGTGGTGAAGAAGGATAGAGG				426
Query 421	TAGTAACGGCTTTATTTGACGGTAATCAACCAGAAAGTCACGGCTAACTACGTGCCAG				480
Sbjct 427	TAGTAACGGCTTTATTTGACGGTAATCAACCAGAAAGTCACGGCTAACTACGTGCCAG				486
Query 481	CAGCCCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGATTATTTGGCGTAAAGCGAGCG				540
Sbjct 487	CAGCCCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGATTATTTGGCGTAAAGCGAGCG				546
Query 541	CAGCCGGAAGAATAAGTCTGATGTGAAGCCCTCGGCTTAAACCGAGGAACGTCATCGGAA				600
Sbjct 547	CAGCCGGAAGAATAAGTCTGATGTGAAGCCCTCGGCTTAAACCGAGGAACGTCATCGGAA				606
Query 601	ACTGTTTTCTTGAGTGCAGAAAGGAGAGTGGAACTCCATGTGTAGCGGTGGAAATCGCT				660
Sbjct 607	ACTGTTTTCTTGAGTGCAGAAAGGAGAGTGGAACTCCATGTGTAGCGGTGGAAATCGCT				666
Query 661	AGATATATGAAAGAACCCAGTGGCGAAGCGGCTCTCTGGTCTGCAACTGACGCTGAG				720
Sbjct 667	AGATATATGAAAGAACCCAGTGGCGAAGCGGCTCTCTGGTCTGCAACTGACGCTGAG				725

Uncultured *Lactobacillus* sp. partial 16S rRNA gene, isolate W799T\_21681  
 Sequence ID: LT696263.1 Length: 781 Number of Matches: 1  
 Range 1: 36 to 755

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand	Frame
1285 bits(1424)	0.0()	719/721(99%)	2/721(0%)	Plus/Plus	
Features:					
Query 1	CGAGCGAGCGGA-CTAACGATTTACTTCGGTAATGACGTTAGGAANGCGAGCGCGAT				59
Sbjct 36	CGAGCGAGCGGA-CTAACGATTTACTTCGGTAATGACGTTAGGAANGCGAGCGCGAT				95
Query 60	GGGTGAGTAACACGTTGGGAACTGCCCCATAGTCTGGGATACCACTTGGAAACAGGTGC				119
Sbjct 96	GGGTGAGTAACACGTTGGGAACTGCCCCATAGTCTGGGATACCACTTGGAAACAGGTGC				155
Query 120	TAAATCCGGATAAGAAAGCAGATCGCATGATCAGCTTTTAAAGGCGCGTAAAGCTGTCG				179
Sbjct 156	TAAATCCGGATAAGAAAGCAGATCGCATGATCAGCTTTTAAAGGCGCGTAAAGCTGTCG				215
Query 180	CTATGGGATGGCCCCGCGTGCATTAGCTAGTGGTAAGGTAAGGCTTACCAAGGCGAT				239
Sbjct 216	CTATGGGATGGCCCCGCGTGCATTAGCTAGTGGTAAGGTAAGGCTTACCAAGGCGAT				275
Query 240	GATGCATAGCCGAGTTGAGAGACTGATCGGCCACATGGGACTGAGACACGGCCCAAAT				299
Sbjct 276	GATGCATAGCCGAGTTGAGAGACTGATCGGCCACATGGGACTGAGACACGGCCCAAAT				335
Query 300	CCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCACAATGGACGCAAGTCTGATGGAGCAACGC				359
Sbjct 336	CCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCACAATGGACGCAAGTCTGATGGAGCAACGC				395
Query 360	COCGTGAGTGAAGAAGGTTTTCCGATCGTAAAGCTCTGTTTGGTGAAGAAGGATAGAG				419
Sbjct 396	COCGTGAGTGAAGAAGGTTTTCCGATCGTAAAGCTCTGTTTGGTGAAGAAGGATAGAG				455
Query 420	GTAGTAACTGGCCCTTATTGACGGTAATCAACCAGAAAGTCAAGGCTAACTACGTGCCA				479
Sbjct 456	GTAGTAACTGGCCCTTATTGACGGTAATCAACCAGAAAGTCAAGGCTAACTACGTGCCA				515
Query 480	GCAGCCCGGTAAATACGTAGGTGGCAAGCCTTGTCCGGATTTAATGGCCGTAAGCGAGC				539
Sbjct 516	GCAGCCCGGTAAATACGTAGGTGGCAAGCCTTGTCCGGATTTAATGGCCGTAAGCGAGC				575
Query 540	GCAGCCCGGTAAATACGTAGGTGGCAAGCCTTGTCCGGATTTAATGGCCGTAAGCGAGC				599
Sbjct 576	GCAGCCCGGTAAATACGTAGGTGGCAAGCCTTGTCCGGATTTAATGGCCGTAAGCGAGC				635
Query 600	AACGTGTTTTCTTGAGTGCAGAAAGGAGAGTGGAACTCCATGTGTAGCCGGTGAATGCG				659
Sbjct 636	AACGTGTTTTCTTGAGTGCAGAAAGGAGAGTGGAACTCCATGTGTAGCCGGTGAATGCG				695
Query 660	TAGATATATGGAAGAACAACAGTGGCGAAGGCGGCTCTCTGGTCTGCAACTGACGCTGA				719
Sbjct 696	TAGATATATGGAAGAACAACAGTGGCGAAGGCGGCTCTCTGGTCTGCAACTGACGCTGA				754
Query 720	G 720				
Sbjct 755	G 755				

Uncultured *Lactobacillus* sp. partial 16S rRNA gene, isolate W799T\_21689  
 Sequence ID: LT696271.1 Length: 781 Number of Matches: 1  
 Range 1: 36 to 755

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand	Frame
1285 bits(1424)	0.0()	719/721(99%)	2/721(0%)	Plus/Plus	
Features:					
Query 1	CGAGCGAGCGGA-CTAACGATTTACTTCGGTAATGACGTTAGGAANGCGAGCGCGAT				59
Sbjct 36	CGAGCGAGCGGA-CTAACGATTTACTTCGGTAATGACGTTAGGAANGCGAGCGCGAT				95
Query 60	GGGTGAGTAACACGTTGGGAACTGCCCCATAGTCTGGGATACCACTTGGAAACAGGTGC				119
Sbjct 96	GGGTGAGTAACACGTTGGGAACTGCCCCATAGTCTGGGATACCACTTGGAAACAGGTGC				155
Query 120	TAAATCCGGATAAGAAAGCAGATCGCATGATCAGCTTTTAAAGGCGCGTAAAGCTGTCG				179
Sbjct 156	TAAATCCGGATAAGAAAGCAGATCGCATGATCAGCTTTTAAAGGCGCGTAAAGCTGTCG				215
Query 180	CTATGGGATGGCCCCGCGTGCATTAGCTAGTGGTAAGGTAAGGCTTACCAAGGCGAT				239
Sbjct 216	CTATGGGATGGCCCCGCGTGCATTAGCTAGTGGTAAGGTAAGGCTTACCAAGGCGAT				275
Query 240	GATGCATAGCCGAGTTGAGAGACTGATCGGCCACATGGGACTGAGACACGGCCCAAAT				299
Sbjct 276	GATGCATAGCCGAGTTGAGAGACTGATCGGCCACATGGGACTGAGACACGGCCCAAAT				335
Query 300	CCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCACAATGGACGCAAGTCTGATGGAGCAACGC				359
Sbjct 336	CCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCACAATGGACGCAAGTCTGATGGAGCAACGC				395
Query 360	COCGTGAGTGAAGAAGGTTTTCCGATCGTAAAGCTCTGTTTGGTGAAGAAGGATAGAG				419
Sbjct 396	COCGTGAGTGAAGAAGGTTTTCCGATCGTAAAGCTCTGTTTGGTGAAGAAGGATAGAG				455
Query 420	GTAGTAACTGGCCCTTATTGACGGTAATCAACCAGAAAGTCAAGGCTAACTACGTGCCA				479
Sbjct 456	GTAGTAACTGGCCCTTATTGACGGTAATCAACCAGAAAGTCAAGGCTAACTACGTGCCA				515
Query 480	GCAGCCCGGTAAATACGTAGGTGGCAAGCCTTGTCCGGATTTAATGGCCGTAAGCGAGC				539
Sbjct 516	GCAGCCCGGTAAATACGTAGGTGGCAAGCCTTGTCCGGATTTAATGGCCGTAAGCGAGC				575
Query 540	GCAGCCCGGTAAATACGTAGGTGGCAAGCCTTGTCCGGATTTAATGGCCGTAAGCGAGC				599
Sbjct 576	GCAGCCCGGTAAATACGTAGGTGGCAAGCCTTGTCCGGATTTAATGGCCGTAAGCGAGC				635
Query 600	AACGTGTTTTCTTGAGTGCAGAAAGGAGAGTGGAACTCCATGTGTAGCCGGTGAATGCG				659
Sbjct 636	AACGTGTTTTCTTGAGTGCAGAAAGGAGAGTGGAACTCCATGTGTAGCCGGTGAATGCG				695
Query 660	TAGATATATGGAAGAACAACAGTGGCGAAGGCGGCTCTCTGGTCTGCAACTGACGCTGA				719
Sbjct 696	TAGATATATGGAAGAACAACAGTGGCGAAGGCGGCTCTCTGGTCTGCAACTGACGCTGA				754
Query 720	G 720				
Sbjct 755	G 755				

Uncultured *Lactobacillus* sp. partial 16S rRNA gene, isolate W799T\_21675  
 Sequence ID: **LT696257.1** Length: 781 Number of Matches: 1  
 Range 1: 36 to 755

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand	Frame
1285 bits(1424)	0.0()	719/721(99%)	2/721(0%)	Plus/Plus	
Features:					
Query 1	CGAGCGAGCGGA-CTAACAGATTACTTCGGTAATGACGTTAGGAAAGCGAGCGGCGAT				59
Sbjct 36	CGAGCGAGCGGAACCTAACAGATTACTTCGGTAATGACGTTAGGAAAGCGAGCGGCGAT				95
Query 60	GGGTGAGTAACACGTGGGGAACCTGCCCATAGTCTGGGATACCACTTGGAAACAGGTGC				119
Sbjct 96	GGGTGAGTAACACGTGGGGAACCTGCCCATAGTCTGGGATACCACTTGGAAACAGGTGC				155
Query 120	TAATACCGGATAGGAAAGCAGATCGCATGATCAGCTTTTAAAGGCGCGGTAAAGCTGTCC				179
Sbjct 156	TAATACCGGATAGGAAAGCAGATCGCATGATCAGCTTTTAAAGGCGCGGTAAAGCTGTCC				215
Query 180	CTATGGGATGGCCCGCGGTGCATTAGCTAGTTGGTAAGGTAANGGCTTACCAAGGCGAT				239
Sbjct 216	CTATGGGATGGCCCGCGGTGCATTAGCTAGTTGGTAAGGTAANGGCTTACCAAGGCGAT				275
Query 240	GATGCATAGCCGAGTTGAGAGACTGATCGGCCACATGGGACTGAGACACGGCCCAACT				299
Sbjct 276	GATGCATAGCCGAGTTGAGAGACTGATCGGCCACATGGGACTGAGACACGGCCCAACT				335
Query 300	CCTACGGGAGGCGAGTAGGGAATCTTCCACAATGGACGCAAGTCTGATGGAGCAACGC				359
Sbjct 336	CCTACGGGAGGCGAGTAGGGAATCTTCCACAATGGACGCAAGTCTGATGGAGCAACGC				395
Query 360	CGCGTGAGTGAAGAAGGTTTTCGGATCGTAAAGCTCTGTTGTTGGTGAAGAAGGATAGAG				419
Sbjct 396	CGCGTGAGTGAAGAAGGTTTTCGGATCGTAAAGCTCTGTTGTTGGTGAAGAAGGATAGAG				455
Query 420	GTAGTAAC TGGCCTTTATTTGACGGTAATCAACAGAAAGTCACGGCTAACTACGTGCCA				479
Sbjct 456	GTAGTAAC TGGCCTTTATTTGACGGTAATCAACAGAAAGTCACGGCTAACTACGTGCCA				515
Query 480	GCAGCCCGGTAACTACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGATTATTTGGGCGTAAAGCGAGC				539
Sbjct 516	GCAGCCCGGTAACTACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGATTATTTGGGCGTAAAGCGAGC				575
Query 540	GCAGGCGGAAGAATAAGTCTGATGTGAAAGCCCTCGGCTTAACCGAGGAACGCATCGGA				599
Sbjct 576	GCAGGCGGAAGAATAAGTCTGATGTGAAAGCCCTCGGCTTAACCGAGGAACGCATCGGA				635
Query 600	AAC TGT TTT TCT TTAGTGCAGAAAGAGGAGTGGAACTCCATGTGTAGCGGTGGAATGCG				659
Sbjct 636	AAC TGT TTT TCT TTAGTGCAGAAAGAGGAGTGGAACTCCATGTGTAGCGGTGGAATGCG				695
Query 660	TAGATATA TGG AAAGAA CACCAGTGGCGAAGGCGGCTCTCTGGTCTGCAACTGACCGCTGA				719
Sbjct 696	TAGATATA TGG AAAGAA CACCAGTGGCGAAGGCGGCTCTCTGGTCTGCAACTGACCGCTGA				754
Query 720	G 720				
Sbjct 755	G 755				

# ÖZGEÇMİŞ

## I- Kişisel Bilgiler

Adı : Suna Sibel  
Soyadı : Gürpınar  
Doğum yeri ve Tarihi : Muğla-1990  
Uyruğu : T.C.  
Medeni Durumu : Bekar  
İletişim Adresi ve Telefonu : 100.yıl Mah. Nenehatun Cad. Özgür Apt.  
63/2 Gaziosmanpaşa/ANKARA  
Tel: 0530 060 13 53  
e-mail : ssgurpinar@ankara.edu.tr

## II- Eğitimi

Yüksek Lisans : Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi  
Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı 2015-  
Lisans : Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi  
2009-2014  
Lise : Ordu Fen Lisesi  
2004-2007  
Yabancı Dil : İngilizce

## III- Staj Bilgileri

02.2014-05.2014 : Nenehatun Eczanesi (Ankara)  
06.2013-07.2013 : Bristol-Myers Squibb Inc./ Ruhsatlandırma  
Departmanı  
07.2012-08.2012 : Ankara Dışkapı Yıldırım Beyazıt Eğitim ve  
Araştırma Hastanesi  
06.2011-07.2011 : Ortaca Eczanesi (Muğla)  
08.2012-09.2012

#### **IV- Verdiği Seminerler**

02.06.2016

Bakteriyosinler ve Kullanım Alanları

#### **V- Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler**

Eryılmaz M, Gürpınar SS (2016). Hastanelerde Sık Kullanılan Bazı Antiseptiklerin Biyofilm Oluşturan ve Oluşturmayan *Staphylococcus epidermidis* Suşlarına Karşı Antibakteriyal Etkinliğinin Araştırılması. 31. ANKEM KONGRESİ. (4-8 Mayıs 2016)

#### **VI- Uluslararası Bilimsel Toplantılarda Sunulan ve Bildiri Kitaplarında Basılan Bildiriler**

Arabacı S, Eryılmaz M, Gürpınar SS, Coşkun M. Antimicrobial activity of *Peucedanum palimbioides* and *Peucedanum chryseum*. IVEK 3rd International Convention of Pharmaceuticals and Pharmacies. 26-29 April 2017, İstanbul (Sözlü Sunum).

#### **VII- Katıldığı Kongreler**

28-30 Kasım 2014

Uluslararası İlaç ve Eczacılık Kongresi

09-12 Haziran 2015

11th International Symposium on  
Pharmaceutical Sciences

26-29 Nisan 2017

III.Uluslararası İlaç ve Eczacılık Kongresi

#### **VIII- Bursiyer olarak çalıştığı projeler**

Proje No: 114Y141 (Tübitak-1001)

Proje Adı: Deniz Çayırı (*Zostera spp.*) Ölü Yaprak Ekstratının Patojen Bakterilere karşı Antimikrobiyal Aktivitesinin ve *Artemia naupliilerinin* Bakteriyel Yükünü Azaltmada Kullanabilirliğinin Belirlenmesi

Proje Bütçesi: 111.501 TL