

Laktik Asit Bakterilerinin Vajen Florasındaki Önemi ve Probiyotik Olarak Kullanımı ¹

Emine KILIÇ ² , Belma ASLIM ³

Vajenin Yapısı ve Florası

Kadın genital sistemi, alt genital sistem ve üst genital sistem olarak iki kısımda incelenir. Vajina alt genital sistem içerisinde ve üç tabakadan oluşur (1):

- Tunika mukoza
- Tunika muskularis
- Tunika adventisya

Mukoza epiteli çok tabakalı yassı epiteldir. Epitelin yüzeysel hücreleri çok miktarda glikojen içerir. Glikojen miktarı östrojenin etkisiyle fazlalaşır. Ayrıca glikojenin parçalanmasından meydana gelen laktik asit vajinanın asitliğini sağlar (2). Bu asitlik vajinanın pH 'sının düşmesine neden olur. Vajendeki bu asitlik ve diğer bazı etmenler patojen bakteriler için bir engel oluşturmaktadır. Normal bir kadın vajinasında pH 4.0-4.5 arasındadır. Vajinadaki glikojen miktarının artması sonucu mikroflora değişime uğramaktadır ve genellikle fungal gelişimin arttığı tespit edilmiştir.

Tablo 1 'de görüldüğü gibi, insan vajinasının normal florasında dominant mikroorganizmalar *Lactobacillus* 'lardır (3). Reid ve arkadaşları da, 100 sağlıklı kadından izole edilen *Lactobacillus* türlerinin neler olduğunu belirlemişlerdir (Şekil 1) (4). Diks ve arkadaşları, insan vajeninde 20 suş izole etmişler, 16s rRNA ve çözülebilir total proteinlerin nümerik analizine göre suşları *L. johnsonii*, *L. crispatus*, *L. gallinaum* olarak teşhis etmişlerdir (5).

Vajina sigara kullanımı, gebelik, yaş, menopoz, antibiyotik ve antifungal kullanımına bağlı olarak mikroflora içeriğinin değişmesi, *Lactobacillus* 'un vajinadaki oranın düşmesine ve buna bağlı vajinal enfeksiyonların oluştuğu bildirilmektedir. (3, 7, 8).

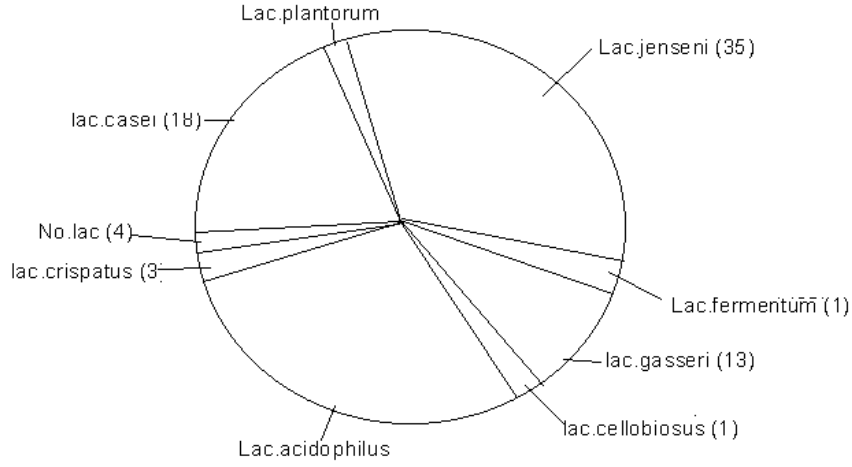
¹ Gazi Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Aralık 2001 Yılı Yüksek Lisans Semineri, Ankara

² Gazi Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Biyoteknoloji Laboratuvarı Yüksek Lisans Öğrencisi, Beşevler Ankara

³ * Doç. Dr., Gazi Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü, Beşevler Ankara.

Yazışmalardan sorumlu yazarın e-posta adresi: baslim@gazi.edu.tr

Şekil 1:100 Sağlıklı kadından izole edilen *Lactobacillus* türleri (4)



Tablo1: Normal 52 insan vajinasında belirlenen mikroorganizmaların dağılımı (3).

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

% dağılım, 52 bireyin % kaçından izole edildiğini göstermektedir

Kadın Genital ve Ürogenital Sistemlerinde Bazı Enfeksiyonlar ve Seksüel Yolla Bulaşan Hastalıklar (STD_s)

Kandida Vajiniti; Mantarlar normal vajina florasında da bulunurlar. *Candida albicans*, en sık görülenidir. Vajinal enfeksiyonlar içinde en yaygın etken olarak görülmektedir. Vajinanın iltihabıdır. Yapılan araştırmalarda vajinal floranın değişmesiyle vajinadaki sayısının arttığı belirlenmiştir.

Kandidiyazis genellikle;

- Diyabetli kişilerde,
- Antibiyotik kullanımı sırasında (özellikle tetrasiklin ve ampisilin),
- Oral kontraseptif ve enjekte edilen kontraseptif kullananlarda,
- Gebe kadınlarda daha sık gözlemlenmiştir.

Vajinal akıntı, vulvada ödem, yanma ve kaşıntı ilk bulgulardır (9, 10).

Berry ve arkadaşlarının, araştırmasına göre, *Lactobacillus acidophilus* türünün *Candida albicans* üzerinde inhibisyon etkisi gösterdiği belirlenmiştir. Bu inhibisyon etkisinin hidrojen-peroksit üretimiyle ilişkili olabileceği bildirilmiştir (11, 12).

Bakteriyel Vajinozis; Bulgu göstermeyen vajinanın iltihabıdır. *Gardnerella vaginalis*, vajinal normal florada dominant durumda bulunan *Lactobacillus* türlerinin yerini yabancı objeler (tampon veya kontreseptif olarak kullanılan diyafram) veya alerjik reaksiyonlar (sabun, deterjan, yağ kullanımı, deodorantlar, oral kontraseptiflerin kullanımı gibi benzer etkenler) sonucu vajina iltihabına neden bakterilerden biri olan *G. vaginalis* alır. Balık kokusu özelliği belirgindir (9).

Toxic Şok Sendromu; Etkeni *Staphylococcus aureus* bakterisidir. Vajinal enfeksiyonlarda yaygın olarak görülmektedir. Bayanların kullandığı tamponlar veya hijyenik kurallara uymama nedeniyle vajinaya yerleşmektedir. Çeşitli araştırmacıların yaptığı çalışmaların sonucuna göre *Lactobacillus* türlerinin *S.aureus*'un gelişimini engellediği bulunmuştur (10, 13).

Trikomoniyazis; Etkeni *Trichomonas vaginalis*' di. Kamçılı bir parazit olup, genellikle bazik ve hafif asidik ortamlarda gelişme göstermektedir. Vajen ve servikste enfeksiyona neden olur. Kadınlarda semptom olmayabilir ya da vajinal akıntı, vajen ve vulvada kaşıntı şikayeti olabilir. Trikomoniyazis, cinsel ilişki sırasında enfekte olan kişinin vajen veya üretra salgılarına maruz kalmak veya bu salgılarla kontamine olmuş eşya aracılığı ile geçebilir. 16-35 yaş arasında daha yaygın olarak görülmektedir. Her iki cinsel eş de tedavi görmelidir (14, 9, 10).

Servisit; En sık görülen servisit nedenleri *Chlamydia trachomatis* ve *Neisseria gonorrhoeae*' dir. Enfeksiyöz servisitte servikal kanal epitelinde enfeksiyon vardır ve epitel serviksın dış ağzından vajene doğru dışa dönmüştür. Eğer tedavi edilmezse uterus ve adneksleri tutarak pelvik enflamatuvar hastalığa (PID) neden olur (9).

Chlamydia trachomatis; Üretranın, serviks ve fallop tüplerinin iltihabına neden olmaktadır ve cinsel yolla bulaşmaktadır (10). Tedavi edilmediği takdirde doğum sırasında bebeğin gözünde ve akciğerlerinde enfeksiyona neden olabildiği ve doğumların %50-70' inin düşükle sonlandığı bildirilmiştir (9).

Neisseria gonorrhoeae; Gonorenin etkenidir ve halk arasında erkeklerde bel soğukluğu olarak bilinmektedir. Cinsel yolla bulaşmaktadır. Bazı kaynaklar vajenin pH'sının değişimine bağlı olarak vajenin gonoreya karşı direnç kazandığını bildirmişlerdir (10). Tedavi edilmediği takdirde kısırlık ve dış gebeliğe neden olabildiği bildirilmiştir (9).

İnsan İmmün Yetmezlik Virüsü ve AIDS; Etkeni *Human immünodeficiency virus* (HIV); Türkiye 'de ve dünyada hızla yayılmakta olan viral kaynaklı bir hastalıktır. İmmün sistemin baskılanması sonucu oluşur ve AIDS etkenidir (15). Cinsel ilişki, ortak kullanılan iğneler ve kan transfüzyonu sırasında bulaşabilir. ELISA testi ile anti-HIV antikoları saptanabilir. Günümüzde kullanılan en güvenilir yoldur (9).

Yapılan bir çalışma da HIV-1' le oluşan viral enfeksiyon ile vajinal florada bulunan *Lactobacillus*'lar arasında bir ilişkinin olup-olmadığı belirlenmeye çalışılmıştır. 657 hayat kadınıyla yapılan bir araştırma sonucunda kadınların % 26' sında *Lactobacillus*

türleri gözlenmiştir. Geri kalan kadınlarda *Lactobacillus* 'ların bulunmamasıyla HIV-1 enfeksiyonunu kazanma riskinin artmasıyla bir ilişki olduğu belirlenmiştir. Bu çalışmadaki sonuçlara göre vajen florasında *Lactobacillus* türlerine sahip kişilerde HIV-1 virusuna rastlanmazken, florada *Lactobacillus* belirlenmeyen kadınlarda HIV-1 virusuna rastlanmıştır (15).

Yapılan bir başka araştırmada da invitro koşullarda yüksek H₂O₂ üreten *Lactobacillus*'ların HIV'e antiviral etki gösterdiği saptanmıştır (16).

Genital Siğiller (Kandiloma aküminata); Genital ve anal siğillerin nedeni papovirüs grubundan Human papilloma virustür (HPV). Son yıllarda rahim kanserlerinin en büyük nedeninin HPV olduğu bildirilmektedir. Deri ve mukus membranını infekte etmektedir ve HPV enfeksiyonları iyi ve kötü huylu üterin servikal kanser lezyonlarına neden olmaktadır (1, 9).

Normal florada bulunan *Lactobacillus* türleriyle HPV enfeksiyonlarının ilişkili olabileceği düşünülmektedir (1). Yapılan bir çalışmada hidrojen peroksit konsantrasyonu yüksek olan ortamda ki hücrelerin kanser hücrelerine dönüşümünün engellendiği, hatta laktik asit bakterilerinin oluşturduğu hidrojen-peroksitin kanserli hücreleri tekrar eski haline döndürdüğü düşünülmektedir (17).

Üretrit; üriner yolların enfeksiyonudur genellikle temizliğe dikkat edilmediğinde meydana gelmektedir. *Salmonella enteritidis*, *Escherichia coli* ve *Pseudomonans aeruginosa* etkenler arasındadır (1, 10).

Salmonella enteritidis; Sağlıklı kişiler tarafından kirli su ve yiyeceklerle alınarak mideye gelirler. Mide asidine duyarlıdır. Buradan ince barsağa ulaşarak üremesi artar, diyareye neden olur (10).

Escherichia coli; Önemli bir fırsatçı patojendir. Barsakların normal flora üyesi olan *E. coli* barsakların patojen mikroorganizmalar tarafından kolonizasyonunu önlemeye çalışır. Ancak vücutta başka bir organ veya dokuya geçtiklerinde enfeksiyonlara neden olur. Üriner yol bu enfeksiyonu bunlarda birisidir (10).

Pseudomonans aeruginosa; Fırsatçı bir patojen olarak kabul edilen *P. aeruginosa* insanlarda birçok enfeksiyona neden olmaktadır. Bu enfeksiyonların son yıllarda hastane ortamında çok kolay barındığı ve dirençli suşların bir hayli arttığı gözlenmektedir (10).

Laktik Asit Bakterilerinin Özellikleri ve Vajen Florasındaki Önemi

Laktik asit bakterileri, metabolizmaları sırasında laktozu parçalayarak laktik asit oluşturan mikroorganizmalarıdır ve laktatın sentezinde rol alan Laktat Dehidrogenaz (LDH) enzimine sahiptirler (18, 19).

Laktik asit bakterileri gram pozitif reaksiyon verirler. Bir türü hariç hiçbiri spor oluşturmaz. Bir iki ayrıcalık gösteren üye dışında hepsi hareketsizdir. Fizyolojik karakterleri bakımından birbirine yakın veya benzer bulunan, ancak morfolojileri

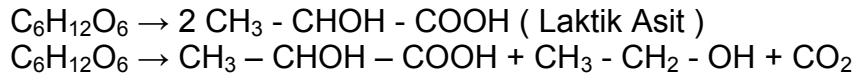
oldukça farklı olan cinsleri içerirler. Morfolojileri kok veya çubuklardan oluşan farklı uzunlukta zincir şeklindedir (20, 21, 22)

Laktik asit bakterileri iki ayrı familyada toplanmıştır. *Streptococcaceae* familyasına ait *Streptococcus*, *Leuconostoc* ve *Pediococcus* cinsleri yer alırken *Lactobacillaceae* familyasına ait *Lactobacillus* cinsleri bulunur (23, 20,18).

Laktik asit bakterilerinin “hem” grupları (sitokrom ve katalaz) yoktur. Buna karşın havanın oksijeninde gelişip üreyebilirler. Bütün üyeleri anaerob veya mikroaerofiliktir (21)

Laktik asit bakterileri laktik asit fermantasyonuyla oluşturdukları ürünlerin cins ve miktarına göre sınıflandırılır. Homofermentatif laktik asit bakterileri glukozu, Fruktöz Di Fosfat (FDP) yolu ile parçalayarak fermentasyon sonucu % 99 oranında laktik asit, %1 oranında diğer bileşikler meydana getirirler. Heterofermentatif laktik asit bakterileri, glikozu Hegzos Mono Fosfat (HMF) yolu ile parçalayarak fermantasyon sonucu %70 laktik asit üretilir. %30 oranında da diğer bileşikler, özellikle asetik asit, etil alkol ve karbondioksiti, oluştururlar. (24, 25, 23, 22, 18).

Homofermentatif yol:



Heterofermentatif yol:



Laktik asit bakterileri sağlıklı kişilerin barsak sisteminde, süt ürünleri ve sebze materyalinde bulunur. Ayrıca sağlıklı kadınların vajen florasında dominant olarak bulunmaktadır (7).

Laktik asit bakterileri, sağlıklı kişilerin gerek barsak, gerekse vajen florasında bulunarak patojen mikroorganizmalara karşı mikrobiyolojik bir bariyer görevi görmektedir. Ayrıca, kanserojen maddelere karşıda önemli bir savunma birliği içindedirler (26). Ayrıca, laktik asit bakterinin immün sistemi teşvik ederek organizmayı sağlıklı tutmaya yardımcı olduğu belirlenmiştir (27).

Lactobacillus suşlarının vajende azalmasıyla vajen enfeksiyonlarından sorumlu olan *Gardnerella vaginalis* 'de artış olduğu bildirilmiştir (13).

Laktik asit bakterilerinin oluşturduğu laktik asidin yanında, hidrojen peroksit (H₂O₂) ve bakteriyosin gibi antimikrobiyal maddelerinde florayı korumada önemli etkileri mevcuttur (23).

Lactobacillus 'ların vajinal ekosistemi korumada etkili olan ve onu ekosistemdeki diğer bakterilerden üstün kılan özellikleri aşağıdaki gibidir (28).

- Antimikrobiyal madde oluşumları; Bakteriyosin, Laktik asit ve Hidrojen peroksit

- Agregasyon ve koagregasyon özelliği
- Bakteri yüzey uzantıları; Flagella ve Fimbria

Antimikrobiyal Maddeler

Bakteriyosin

Bakteriyosinler, protein veya protein kompleksleri olup, bazı bakteri türleri tarafından üretilen potansiyel antimikrobiyal maddelerdir (29, 30, 23, 31).

Klaenhammer, şimdiye kadar karakterize edilmiş olan *Lactobacillus* bakteriyosinlerinin protein yapısında, bakteriyosidal etki mekanizması sergileyen ve kendisine çok yakın cinsleri etkileyen bir etki mekanizmasına sahip olduğunu bildirmiştir (30).

Tagg ve arkadaşları, bakteriyosin için 6 karakteristik özellik belirlemişlerdir ve bakteriyosinin, biyolojik olarak aktif protein ve plazmid orjinli oldukları üzerinde durmuşlardır (32).

Yapılan bir araştırmada insan vajeninin arka forniksinden izole edilen *Lactobacillus pentosus* TV35b suşundan izole edilen bakteriyosinle *Candida albicans* üzerine çalışma yapılmış, çalışma sonucunda bakteriyosinin bakteriyosidal etki göstererek, *C.albicans* 'ın gelişimini inhibe ettiğini belirlemişlerdir. Yine aynı çalışmada bu bakteriyosinin 2,35-3,4 kDa arasında değişen molekül ağırlığına sahip, peptit yapısında olduğu tespit edilmiştir (12).

Laktik asit

Laktik asit bakterilerinin fermantasyon yolu ile ürettikleri bir üründür ve mikroorganizmalar üzerinde olumsuz etki yapmaktadır. Ekşi tatta, kokusuz bir organik asittir (33).

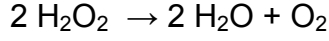
Lactobacillus 'lar pH' yı 3,5-3,2' ye kadar düşürebildiklerinden dolayı asitliğe karşı daha dayanıklıdırlar (34).

Savay- de- Giori ve arkadaşları, *L.plantarum* suşlarının asit üretim yeteneklerinin inkübasyon ısısına bağlı olduğunu ve *L.plantarum* CRL60 ve *L.plantarum* CRL83 suşlarının 30-37 °C' de asit üretirken, 15 °C' de asit üretmediğini bildirmişlerdir (39).

Vajendeki *Lactobacillus* 'ların laktik asit üretimiyle, vajinal enfeksiyon ajanlarından koruyucu rolü olduğu düşünülmektedir (40). Normal bir kadın vajinasında pH 4.0-4.5 arasındadır. Vajenin asidik pH 'sı laktik asit bakterilerince sağlanmaktadır. Vajinanın bu asiditesinin sahip olmasıyla potojenlerin gelişmesini engelleyerek, vajenin patojen enfeksiyonlarına karşı korunmasına yardımcı olduğu düşünülmektedir (40). Herhangi bir nedenle floranın değişmesiyle asidite değişmekte, bu değişim vajen florasının koruyucu özelliğinin kaybolmasına neden olmaktadır (2, 7).

Hidrojen Peroksit (H₂O₂)

Laktik asit bakterilerinin üremeleri sonucu hidrojen peroksit oluştururlar. Oluşturulan H₂O₂ miktarı, laktik asit bakterilerinin cins, tür ve hatta suşlarına göre farklılık göstermektedir. Hidrojen peroksit termodinamik bakımdan kararsız bir bileşiktir, su ve oksijene ayrışır (23, 41).



Fernandes ve arkadaşları, bazı bakterilerin patojen mikroorganizmaların üremesini kontrol eden çeşitli antimikrobiyal maddeler oluşturduğunu saptamışlardır. Örneğin, *Lactobacillus lactis* 'in hidrojen peroksit üretilen *E. coli* 'nin *in vivo* olarak üremesini durdurduğunu gözlemişlerdir. Ayrıca laktik asit bakterileri tarafından antimikrobiyal maddelerin intestinal ve üriner sistem enfeksiyonlarında koruyucu rol aldığını tespit etmişlerdir (42).

Hidrojen peroksit, ortamda yüksek konsantrasyonlara vardığı zaman, gerçek antibiyotik olmadığı halde *Staphylococcus*, *Streptococcus* ve *Clostridium* gibi bir çok bakterilerin gelişimini engelleyebilmektedir (43).

Seksüel yolla bulaşan HPV hastalığında H₂O₂'nin etkili olduğu düşünülmektedir. 2001 yılında yapılan çalışmada H₂O₂'dan hipoklorik asit üretimi yapıldığı belirlenmiş ve bu ürünlerin kanser öncüsü hücreleri değiştirdiğini saptanmıştır (17).

Yapılan bir çalışmada, hidrojen peroksit konsantrasyonu yüksek olan ortamda ki hücrelerin kanser hücrelerine dönüşümünün engellendiği, hatta laktik asit bakterilerinin oluşturduğu hidrojen-peroksitin kanserli hücreleri tekrar eski haline dönüştürdüğü düşünülmektedir (17).

Hidrojen peroksiti yüksek oranda üreten *Lactobacillus* türleri sağlıklı kadının vajinasında Bakteriyel Vajinosisli kadınlarda bulunan türlere göre daha fazla bulunduğu tespit edilmiştir (44). Hidrojen peroksit üretimi yüksek olan türlerin bulunduğu vajinada *Neisseria gonorrhoeae* ve *Gardnerella vaginalis* gibi patojenlere öldürücü etki ettiği düşünülmektedir (45).

Laktik asit bakterilerinin üremeleri sonucu hidrojen peroksit oluştururlar. Oluşturulan H₂O₂ miktarı, laktik asit bakterilerinin cins, tür ve hatta suşlarına göre farklılık göstermektedir (23, 41).

Hidrojen peroksit, ortamda yüksek konsantrasyonlara vardığı zaman, gerçek antibiyotik olmadığı halde *Staphylococcus*, *Streptococcus* ve *Clostridium* gibi bir çok bakterilerin gelişimini engelleyebilmektedir (43).

Agregasyon ve Koagregasyon Özellikleri

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

Agregasyon kelime manası olarak toplanma, bir araya gelme, kümeleşme olarak tanımlanır (14). Laktik asit bakterilerinin bu özelliği nedeniyle bulunduğu yüzeye ve birbirlerine yapışarak biyolojik bir bariyer oluştururlar.

Koagregasyon özelliğinden dolayı da laktik asit bakterilerinin bulunduğu ekosisteme giren patojen bakterilere yapışarak onları etkisiz hale getirmekte, böylece olası bir enfeksiyonu ve bakterinin toksik etkisini engelleyebilmektedir.

Normal ürogenital mikroflora da dengenin korunmasıyla, patojen bakterilerin bulunmaması arasın da ilişki olabileceği düşünülmektedir. Belirli *Lactobacillus* türlerinin koagregasyon mekanizmasıyla üropatojenlerle rekabet içerisine girdiği belirlenmiş, *Lactobacillus* 'ların agregasyon ve koagregasyonla ilgili *Escherichia coli* 'de çalışmalar yapılmıştır. Boris ve arkadaşları, laktik asit bakterilerinin agregasyon aktiviteleri ile ürogenital bölgenin korunmasına yardımcı olacağı gibi, koagregasyon mekanizmaları ile de patojen *E. coli* 'leri inhibe edebileceklerini bildirmişlerdir (28). Yapılan çalışmalarda 20 sağlıklı kadından izole edilen 60 *Lactobacillus* türünün 12 sinde auto-agregasyon aktivitesi bulunmuştur. Bu özellik bakterini hücre yüzey hidrofobisiyle ilişkili olduğu belirlenmiştir (46).

Hücre agregasyonu lipotekoik asit, proteinler ve karbonhidratlar gibi, hücre yüzey bileşenleri ile ilgili olduğu düşünülmüştür. Boris ve arkadaşları, agregasyon aktivitesinden aggregation promoting factor (APF) denilen ve hücre dışına salınan protein yapısındaki bir maddenin sorumlu olduğunu bildirmiştir. Proteinaz K ile muamele edildiğinde bu özelliğin kaybolduğu ve plazmid DNA'larca kodlandığını ileri sürmüştür (28).

Laktik asit bakterilerinin bu özelliği nedeniyle bulunduğu hücrede diğer bakterilerle rekabet haline girerek dominant bir şekilde kolonize olması sağlanır.

Bakteri Yüzey Uzantıları

Flagella

Bazı mikroorganizmalar, ince, uzun, dalgalı, sarmal yapıda olan bu organellere sahiptir. Bakteri türleri arasında, hatta aynı tür içinde bile, üreme koşullarına bağlı olarak flagellumların çapı, uzunluğu, sayısı, kimyasal yapısı, ve yerleşme düzeni bakımından oldukça farklar gösterdiği bilinmektedir. Flagellumunu kaybetmiş bakteriler hareket edemezlerken, yaşama, üreme ve diğer fizyolojik aktivitelerine normal olarak devam ederler ve kısa bir süre sonra flagellumları tekrar oluşmaya başlar (47).

Flagella bir hareket organelidir ve. flagellaya sahip olan mikroorganizmalar sıvı ortamlarda yer değiştirme yeteneğine sahiptirler (47).

Vajendeki laktik asit bakterileri genelde hareketsiz ise de, bazı türleri flagellalara sahiptir ve bu nedenle hareket edebilmektedir. Hareketliliğin mikroorganizmaya toksik maddelerden sakınma ve daha müsait yere taşınma imkanı verdiği düşünülmektedir ve böylece laktik asit bakterilerinin ekosistemdeki diğer bakterilere nazaran üstünlük sağladığı belirlenmiştir (7).

Fimbria

Gram negatif veya gram pozitif, hareketli veya hareketsiz mikroorganizmalarda flagellumlardan ayrı olarak stoplazmik membrandan orjin alan, kısa, düz, bazılarının ortası boş ince ve çok sayıda oluşumlara rastlanılmaktadır ki bunlara fimbria (pilus) adı verilmektedir. Fimbrialar sindirim ve ürogenital sistemde yerleşen mikroorganizmalar için hücrelere tutunma, yerleşme ve yapışmasına (adheziyon) yardımcı olduğu bildirilmektedir (47).

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

Bakteride çok sayıda olan normal fimbriaların yanı sıra çok az sayıda seks pilusu (F-pilus) bulunur. Bu pilusların görevi hücrelere yapışmaktan ziyade bir bakteriden diğerine genetik materyalin aktarılmasında görev yapmaktadır.

Laktik Asit Bakterilerinin Probiyotik Kullanımda Önemi

Laktik asit bakterileri üzerinde yapılan çalışmalar 1974 yılında probiyotik teriminin kullanılmasıyla yeni bir boyut kazanmıştır. Probiyotik sindirim sisteminde bulunan mikroorganizmanın dengede kalmasına yardımcı olan maddeler ve mikroorganizmalar şeklinde tanımlanmıştır. Probiyotik terimi yeni olsa bile, mikroorganizmalar hayvan ve insan sindirim sistemleri üzerindeki etkileri daha öncelere dayanır. Son yıllarda artan geçim sıkıntısı, olumsuz çevre şartları, kontrolsüz ve sağlıksız gıdaların kullanılmasıyla insan hayatı risk altındadır. Özellikle kontrolsüz kullanılan bir çok antibiyotik ve ilaçlar organizmada mevcut mikrofloradaki dengeyi bozduğu gibi, onarılması güç hastalıklara neden olmaktadır. Örneğin, patojen bakteriler florada dominant duruma geçerek böbrek, barsak ve vajinada enfeksiyonlara neden olmaktadır.

Probiyotikler, özellikle organizmada, gerek sağlıklı bir gelişme gerekse hastalıkların tedavisinde antibiyotiklerin yerine, doğal biyolojik ürünleri destekleyici alternatif ürünler olarak kullanılabilir. Bu sayede mikroflorada stabilite sağlandığı gibi dışarıdan alınan diğer maddelerin (ilaç, antibiyotik vb.) olumsuz etkilerinin de önüne geçilmiş olunur. Laktik asit bakterilerinin, hiper-kolesteromi, gastrointestinal hastalıkların tedavisi, prokanserojenik enzimlerin baskılanması, bazı besinlerden kaynaklanan alerjilerin önlenmesi gibi özelliklerinden dolayı, probiyotik olarak kullanımda önemini arttırmıştır.

Ayrıca probiyotik bakteriler, organizmanın immün sisteminde uyarıcı bir etki yaparlar. Laktik asit bakterilerinden *Lb. casei*, *Lb. delbrueckii* spp. *bulgaricus* suşlarının makrofaj aktivasyonunu arttırdıkları belirlenmiştir. Probiyotik etkili laktik asit bakterilerinin hücre duvarında bulunan peptidoglikan ve polisakkaritlerin, nitrozamin gibi kanserojen etkili maddelerle kimyasal bağlar oluşturarak, onları etkisiz hale getirdikleri bildirilmektedir (26, 48, 49)

Ocana ve arkadaşları, vajinal mukozanın kontrolünde laktik asit bakterilerinin, laktik asit, bakteriyosin ve H₂O₂ gibi antagonistik madde üretimiyle rol aldığını düşünmüşler. Yaptıkları çalışmalarda insan vajinasında H₂O₂ üretiminin fazlalığıyla ayrılan izolatlar elde etmişler. İzole ettikleri suşlardan *Lactobacillus crispatus* F117 suşunun en yüksek H₂O₂ ürettiğini belirlemişler. Bu suşun çeşitli üropatojenlere olan inhibisyonları araştırılmış ve bu araştırma sonucunda üstün bir suş olduğu belirlenmiştir. *Lactobacillus crispatus* F117'nin vajinal sistemde probiyotik olarak kullanılabilmesi düşünülmüştür (13).

Probiyotik olarak kullanılacak mikroorganizmalarda olması gereken birkaç önemli özellik vardır.

- Antimikrobiyal madde üretimi olmalıdır.
- Antibiyotiklere karşı direnci olmalıdır.
- Bulunduğu hücrelere tutunma ve dominant olarak kolonize olmalıdır.
- Sabit olmalıdır, çeşitli olumsuz dış etmenlere karşı yerini muhafaza edebilmelidir.
- Güvenilir olmalıdır, insanda ve hayvanda bulunduğu yerde hastalık etmeni olmamalıdır.

Laktik asit bakterilerinin yukarıda saymış olduğumuz ve probiyotik açıdan çok önemli olan özelliklerine rağmen yapılan kaynak araştırmasında probiyotik olarak kullanımının vajen florasında çok yaygın olmadığı görülmüştür. Bu konudan yola çıkarak özellikle günümüzde çok önemli viral ve bakteriyal hastalıkların tedavisinde veya bu hastalıklardan koruma amaçlı bu bakterilerin kullanılabilmesi düşünülmüştür. Bu da yapacağımız izolatlar arasından seçilen bazı üstün özelliklerdeki suşların kullanımının önerilmesi ile söz konusu olabilir.

Tablo 2. Probiyotik olarak kullanılan laktik asit bakterileri

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

Yine bu çalışmada diğer bir hedef ise, floradaki laktik asit bakterilerinin oranına etki eden faktörlerin belirlenmesidir. Bu çalışma sonucunda elde edilen bulguların klinikte çalışan araştırmacılara kaynak olacağı düşünülmektedir.

Yapılması Hedeflenen Çalışmalar

1. Vajen mikroflorasının korunmasında rol alan ve vajende lokalize olabilecek patojen bakterilere karşı bir bariyer görevine sahip, laktik asit bakterilerinin dağılımlarının ve bu dağılıma etki eden faktörlerin belirlenmesi (Sigara kullanımı, hamilelik, HPV(+), yaş faktörü, tedavi amaçlı kullanılan antibiyotik ve antifungaller gibi).

2. Laktik asit, hidrojen peroksit, bakteriyosin üretiminin belirlenerek, vajen patojenleri üzerine antagonistik etkisi ile ilişkilerinin araştırılması.

3. Floraya olumlu etkisi olabileceği düşünülen suşların klinikte kullanım alanlarının araştırılması. Bu çalışmada probiyotik olarak kullanıma uygun olarak belirlenen suşlar, gerek sağlıklı bir gelişme, gerekse hastalıkların tedavisinde antibiyotiklerin yerine doğal biyolojik ortamı destekleyici bir ürün olarak kullanılabilir. Bu sayede vajen florasının stabilizasyonu sağlandığı gibi dışarıdan alınan diğer maddelerin (ilaç, antibiyotik vb) olumsuz etkilerinin de önüne geçilmiş olacaktır. Bu uygulamalarda probiyotik olarak kullanımda önem arz eden özelliklere göre üstün olan suşlar seçilerek, kullanıldığı için uygulamalardan daha kısa sürede daha iyi sonuç alınacağı düşünülmektedir.

4. Özellikle, kontrolsüz kullanılan bir çok antibiyotik ve ilaçlar organizmada mevcut mikroflorayı bozduğu gibi istenmeyen önemli hastalıklarda neden olabilir. Probiyotik olarak seçilecek suşların bazı antibiyotiklere ve antifungal ilaçlara dirençli olması da esas alınıp, buna yönelik çalışmalara da ağırlık verilecektir.

Son yıllarda biyolojik sistemlerden tıp, eczacılık, endüstri, tarım ve hayvancılıkta faydalanılmaktadır. Günümüzde hem daha güvenilir, hemde daha ekonomik olması nedeniyle her dalda biyoteknolojik çalışmalara ağırlık verilmiştir. Bizimde amacımız, doğal floradan izole ettiğimiz bazı üstün özelliklere sahip suşların probiyotik olarak kullanılarak, bazı hastalıkların tedavisinde alternatif teşkil etmesidir. Ayrıca sadece tedavi amaçlı olmayıp, bu tip suşların hekimlikte koruma amaçlıda kullanılabilirliği düşünülmektedir.

Kaynaklar

1. Harrison's 14th Edition CD-ROOM 1998
2. Murathanoğlu, O.,1996. Histoloji.İ.Ü.Fen Fakültesi Basımevi İstanbul 277s.
3. Lopez, R.V., Cook, L.R. and Sobel D.J., 1990. Emerging role of *Lactobacilli* in the control and maintenance of the vaginal bacterial microflora. *Rev. Infect. Dis.*,12(5), 856-872.
4. Reid, G., McGroarty, J.A., Tomeczek, L., Bruce, A.W., 1996. Identification and plasmid profiles of *Lactobacillus* species from the vagina of 100 healthy women. *FEMS Immün. Med. Microb.*, 15,23-26.
5. Dicks, L. M. T., Silvester M., Lawson P. A.and Collins M. D., 2000. *Lactobacillus fornicalis* sp. Nov., isolated from the posterior fornix of the human vagina. *Int. J.Syst. Microbiol.*, 50, 1253-1258
6. Charteris, W.P., Kelly, P.M., Morelli, L. and Collins,J.K., 1999. Development of agar overlay disc diffusion method for the antibiotic susceptibility testing of potentially probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* species. *Egyptian J. Dairy Sci.*,27,71-82.

7. Mc Groarty, A.J., 1993. Probiotic use of *Lactobacilli* in the human female urogenital tract. *FEMS İmmünol. and Med. Microbiol.*, 6,251-264.
8. Charteris, W.P., Kelly, P.M., Morelli, L. and Collins,J.K., 1997. The role and therapeutic potential of *Lactobacillus* species in female urogenital tract infection. *Microecology and Therapy*, 26,59-96.
9. Neyzi, O. ve Yolsal N., 1997. cinsel yolla bulaşan hastalıklar tanı ve tedavi rehberi. *İnsan Kaynağı Geliştirme Vakfı*. İstanbul.
10. Ustaçelebi, Ş., 1999. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. *Güneş Kitabevi*, Ankara, 1083s.
11. Berry, D. R. and Fitzsimmons N., 1994. Inhibition of *Candida albicans* by *Lactobacillus acidophilus* evidence for the involvement of a peroxidase system. *Microbios*, 80,125-133.
12. Okkers, D. J., 1999. Characterization of Pentocin TV 35b bacteriocin like peptide isolated from *Lactobacillus pentosus* with a fungistatic effect on *Candida albicans*. *J. App. Microbiol.*, 87,726-734.
13. Ocana, S. Virginia, Pesce de Ruiz Holgado A.Aida, Nader-Macias E. Maria,1999. Selection of vaginal H₂O₂ – generating *Lactobacillus* species for probiotic use. *Curr. Microbiol.*,38, 279-284.
14. Kocatürk, U.,1991. Açıklamalı Tıp Terimleri Sözlüğü. *Ankara Üniversitesi Basımevi*, Ankara.
15. Martin, H. L., Richardson B. A., 2000. Vaginal lactobacilli microbiol flora and risk of human immunodeficiency virus type 1 and sexually transmitted disease acquisition. *J. Infect. Dis.*,180(6), 1863-1868.
16. Hilier, L. S. and Hughes V. L. Hughes, M. T., 1990. Microbiologic characteristics of *Lactobacillus* products used for colonization of the vagina. *Obstetrics &Gynecology*, 75 (2), 244-248.
17. Bauer, G., 2001. *Lactobacilli*-mediated control of vaginal cancer through specific reactive oxygen species interaction. *Med. Hypotheses*, 57(2),252-257.
18. Tekinşen, O. C. ve Atasever M., 1994. Süt Ürünleri üretiminde starter kültür. *Selçuk_U. Vet. Fak.Yayını*,150s,Konya.
19. Nessler, S., 1994. Crystallization of D-lactate dehydrogenase from *Lactobacillus bulgaricus*. *J. Mol. Biol.*, 235, 370-371.
20. Tunail, N. ve Köşker, Ö., 1989. Süt mikrobiyolojisi. A.Ü. *Ziraat Fak.Yayınları*, No:1116,138s., Ankara
21. Halkman, K.,1991,Tarım mikrobiyolojisi. A. Ü.Ziraat Fak.Yayınları, No:1214, 82s, Ankara
22. Yetişmeyen, A., 1995. Süt teknolojisi. A.Ü.Ziraat Fak Yayınları, No: 1420,229s.
- 23.Daeschel, M. A., 1989. Antimicrobial substances from lactic acid bacteria for use as food preservatives. *Food Technol.*, 164-167.
24. Drinan, D. F., Tobin, S. and Cogan, T. M., 1976. Citric acid metabolism in hetero and homofermentative lactic acid bacteria. *Appl. Envir.Microbiol.*, 31(4), 481-486.
25. Prescott, C. S. and Dunn, G. C., 1987. Industrial microbiology.Puldished on Distributors. Delhi, India pp 882.
26. Prosod, J., 1998. Selection and characterization of *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* strains for use as probiotics. *Int. Dairy J.*, 8, 993-1002.
27. Perdigon, G. Vintini, E. Alvarez, S. Medina M.and Medici M., 1999. Study of the possible mechanisms involved in the mucosal immune system activation by lactic acid bacteria. *J. Dairy Sci.*, 82,1108-1114.

28. Boris, S. Suarez, J. E. and Barbes, C., 1997. Characterization of the aggregation promoting factor from *Lactobacillus gasseri*, vaginal isolate, *J. Appl. Microb.*, 83,413-420.
29. Gers, A., Singh J. and Tevber M., 1983. Potential of lactic streptococci to produce bacteriocin. *App. Envir. Microbiol.*, 45(1),205-211.
30. Klaenhammer T. R.,1988. Bacteriosin of lactic acid bacteria. *Biochimie*. 70,337-349.
31. Barefoot, S. F.and Nettles C. G., 1993, Antibiosis revisited, bacteriocins produced by dairy starter cultures. *J. Dairy Sci.*,76,2366-2379.
32. Tagg, J. R., Dajani A. S. and Wannamaker L. K., 1976. Bacteriocins of gram-positive bacteria. *Bacteriol. Review.*, 40 (3), 722-756.
33. Çetin, E. T., 1983,Endüstriyel mikrobiyoloji, İst. Tıp.Fak.Vakfı Yayını 418 s.
34. Rasic, J.L. and Kurman, J.A., 1978. Yoğurt technology, manufacture and preparation, D.K.27, 20, *Vanlose Copenhagen*, 466p.
35. Kempler, G.M. and McKay, L. L., 1979. Characterization of plasmid DNA in *Streptococcus lactis* subsp. *diacetylactis*, evidence for plasmid linked citrate utilization. *App. Envir.Microbiol.*, 37(2), 316-323.
36. Prestini, P., Bottazzi, V., Vescova, M. and proteolytic activity in *Lactobacillus helveticus* and *Lactobacillus bulgaricus*. *Annali della Facolta di Agraria*, 23(1), 71.
37. Hermann, R.E.and McKay, L.L., 1985. Isolation and partial characterization of plasmid DNA in *Streptococcus thermophilus*. *App. Envir.Microbiol.*, 50(4), 1103-1106
38. Kok, J. and Venema, G., 1988. Genetics of proteinases of lactic acid bacteria, *Biochimie*, 70, 475-488.
39. Savoy-de-Giori, G., Font-D-Valdez, G., Ruiz-Holgado, A. P. and Oliver, G., 1985. Effect of growth temperature on acid production by lactic acid bacteria. *Microbiologie- Aliment. Nutrit.*, 2,243-246
40. Hughes, V.L., M.T, and Hillier S.L., 1990. Microbiologic characteristics of *Lactobacillus* products used for colonization of the vagina. *Obstetrics & Gynecology*, 75 (2), 244-248.
41. Juven B.J. Schved F. and Lidner P., 1992. Antagonistic compounds produced by a chicken intestinal strain of *Lactobacillus acidophilus*. *J. Food Protect.*, 55 (3), 157-161.
- 42.Fernandes, C.F., Shahani, K.M. and Amer, M.A., 1987. Therapeutic role of dietary *Lactobacillus* and lactobacillic fermented dairy products. *FEMS- Microbiol. Review.*, 46, 343-356.
43. Eralp, M., 1974. Peynir teknolojisi. *A. Ü. Ziraat Fak.Yayınları*, No:533,331 s.,Ankara.
- 44.Klebanoff, S.J., Hillier, S.L., Eschenbach, D.A., Waltersdorph, A.M., 1991. Control of the microbial flora of the vagina by H₂O₂- generating lactobacilli. *The J. Infect. Dis.*, 164,94-100.
45. Hawes, S.E., Hillier, S.L., Benedetti, J., Stevens, C.E., Koutsky, L.A., Wolner-Hanssen, P. and Holmes, K.K., 1996. Hydrogen Peroxide- producing *Lactobacilli* and acquisition of vaginal infections. *The J. Infect. Dis.*,174,1058-63.
46. Kmet V. and Lucchini F., 1997. Aggregation-promoting factor in human vaginal *Lactobacillus* strains. *FEMS İmmünol. and Med. Microbiol.* 19,111-114.
47. Arda M. 1997, Temel Mikrobiyoloji.35-40s, Ankara.
48. Kimmet S. A., 1998. Optimization of exopolysaccharide production by *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* RR grown in a semidefined medium. *Applied and Envir. Microbiol.* 64 (2), 659-664.
49. Lankaputhra W. E. V., 1998. Antimutagenic properties of probiotic bacteria and of organic acids. *Mutation Research* 397, 169-182.