

**BEBEKLERDEN İZOLE EDİLEN *Lactobacillus*
spp.'nin FONKSİYONEL ÖZELLİKLERİNİN
BELİRLENMESİ**

Nazan TOKATLI DEMİROK

Doktora Tezi

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Muhammet ARICI

2014

T.C.

NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

**BEBEKLERDEN İZOLE EDİLEN *Lactobacillus* spp.'nin
FONKSİYONEL ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

Nazan TOKATLI DEMİROK

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN: Prof. Dr. Muhammet ARICI

TEKİRDAĞ-2014

Her hakkı saklıdır

Prof. Dr. Muhammet ARICI danışmanlığında, Nazan TOKATLI DEMİROK tarafından hazırlanan “Bebeklerden İzole Edilen *Lactobacillus* spp.’nin Fonksiyonel Özelliklerinin Belirlenmesi ” isimli bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı’nda Doktora tezi oy birliği ile kabul edilmiştir.

Juri Başkanı : Prof. Dr. Muhammet ARICI

İmza :

Üye : Doç. Dr. Ömer ÖKSÜZ

İmza :

Üye : Doç. Dr. Tuncay GÜMÜŞ

İmza :

Üye : Doç. Dr. Eser Kemal GÜRCAN

İmza :

Üye : Yrd. Doç. Dr. Muhammet Zeki DURAK

İmza :

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu adına

Prof. Dr. Fatih KONUKCU

Enstitü Müdürü

ÖZET

Doktora Tezi

BEBEKLERDEN İZOLE EDİLEN *Lactobacillus* spp.'nin FONKSİYONEL ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

Nazan TOKATLI DEMİROK

Namık Kemal Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Muhammet ARICI

Yaşamın ilk yılında bağırsak sisteminin dengeli kolonizasyonu bağışıklığın bebeklik döneminde kazanılması yönüyle önem arz etmektedir. Laktobasiller, konakçıları için yararlı ve günümüzde potansiyel probiyotik bakteriler olarak değerlendirilmektedir. Çalışmamızda, bir yaşından küçük bebek feçeslerinden fenotipik özellikler baz alınarak izole edilen laktobasiller; 16S rDNA dizi analizi sonucunda; *L.paracasei* subsp. *paracasei*, (41), *L.fermentum* (24), *L.rhamnosus* (11), *L.casei* (17), *Lactobacillus* sp. (11) olarak tanımlanmıştır. Tanımlanan laktobasil izolatlarının probiyotik ve teknolojik özelliklerini belirlemek amacıyla, antibakteriyel aktiviteleri, asit, hidrojen sülfür, hidrojen peroksit, D- ve L-laktat üretme yetenekleri, asit ve safra tuzu toleransları, bazı antibiyotiklere hassasiyetleri ve tutunma yetenekleri gibi özellikleri incelenmiştir. İzolatların tamamında 24 saatlik inkübasyon sonrasında pH 5'in altına düşmüştür. İzolatlar hidrojen sülfür üretme yetenekleri dikkate alındığında; *L.casei*'nin tümünün, *L.paracasei* subsp. *paracasei* ve *L.rhamnosus*'un hemen hemen hepsinin *L.fermentum*'un ise bir kısmının pozitif sonuç verdiği belirlenmiştir. İzole edilen diğer türlere göre *L.rhamnosus*'un safra tuzuna daha duyarlı olduğu, düşük pH'ya (pH 3) ise *L.casei* 'nin diğer türlere göre daha dirençli olduğu tespit edilmiştir. Türler arasında

belirgin fark olmamakla birlikte xylene ile yapılan hidrofobisite tespitinde *L.rhamnosus*'un daha hidrofobik olduğu belirlenmiştir.

İzolatların tamamının chloramphenicol, penicillin ve tetracycline duyarlı, çoğunun kanamycin ve streptomycine dirençli olduğu belirlenmiştir. İzole edilen *lactobacillus* spp.'lerin çoğunun L (+) laktik asit, *L.fermentum* izolatlarının ise DL laktik asit ürettiği belirlenmiştir. İzolatların tümü genellikle analiz edilen patojen bakterilere inhibisyon etkide bulunmakla birlikte, en yüksek zon çapı *S.aureus*'a karşı verilmiştir. İzolatların bir kısmının hidrojen peroksit ürettiği belirlenirken, en yüksek miktarda hidrojen peroksiti *L.rhamnosus*'un ürettiği tespit edilmiştir.

Anahtar kelimeler: *Lactobacillus* spp, *L.fermentum*, *L.paracasei* subsp. *paracasei*, *L.rhamnosus*, *L.casei*, Bebek feçesi, Probiyotik özellikler, Fonksiyonel özellikler

2014, 181 sayfa

ABSTRACT

Ph. D. Thesis

FUNCTIONAL CHARACTERIZATION of *Lactobacillus* spp. ISOLATED FROM INFANT

Nazan TOKATLI DEMİROK

Namık Kemal University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Food Engineering

Supervisor: Prof. Dr. Muhammet ARICI

In the initial stage of lifetime, balanced colonization of gastrointestinal system is crucial by means of acquiring immunity in infancy period. *Lactobacillus* is beneficial for host and also in our daily life, they are evaluated as potential probiotics. In my thesis, based on phenotypic features, lactobacillus isolated from faeces of babies whose age was under 1 were identified as; *L.paracasei* subsp. *paracasei*, (41), *L.fermentum* (24), *L.rhamnosus* (11), *L.casei* (17), *Lactobacillus* spp. (11) at the end of 16S rDNA sequence analysis. In order to determine probiotic as well as technological features of isolated and identified lactobacillus; anti-bacterial activity, acidity, hydrogen sulphur, hydrogen peroxide, D and L lactate production ability, acid and bile salts tolerability, resistance to some antibiotics and adherence ability tests all examined.

After 24 incubation period, pH of entire isolates declined to below 5. By means of production of hydrogen sulphur, entire species of *L.casei*, almost all species of *L.paracasei* subsp. *paracasei* and *L.rhamnosus*, to some extent of *L.fermentum* were determined to give positive results. Compared to other isolated sub-species, *L.rhamnosus* was determined to be more sensitive to bile salts on the other hand *L.casei* was determined to be more resistant to low pH (pH: 3) compared to other species. Hydrophobicity test conducted by using xylene was resulted indistinctive difference in inter-species nevertheless *L.rhamnosus* is determined to be more hydrophobic. Entire isolates were determined to be sensitive to chloramphenicol,

penicillin and tetracyclin; resistant to kanamycin and streptomycin. Almost all species of isolated lactobacillus were determined to produce L (+) lactic acid, however *L.fermentum* produce DL lactic acid. All isolates generally have bacterial inhibition effect, the most wide inhibition zone radius was given by *S.aureus*. Some part of the isolates were proven to produce hydrogen peroxide, the highest amount of hydrogen peroxide was detected to produce by *L.rhamnosus*.

Key words: *Lactobacillus* spp, *L.fermentum*, *L.paracasei* subsp. *paracasei*, *L.rhamnosus*, *L.casei* infant faeces, probiotic features, functional features.

2014, 181 pages

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	iii
İÇİNDEKİLER.....	V
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	Vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	Viii
SİMGELER DİZİNİ	X
ÖNSÖZ	Xi
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	4
2.1. GASTROİNTESTİNAL SİSTEM.....	4
2.1.1 GASTROİNTESTİNAL SİSTEMİN KOLONİZASYONU	7
2.2. ANNE SÜTÜ İLE BESLENME	9
2.3. PROBİYOTİKLER	12
2.4. LAKTİK ASİT BAKTERİLERİ.....	17
2.5.1 <i>Lactobacillus</i> spp.....	19
3. MATERYAL VE METOD	29
3.1 MATERYAL	29
3.2 METOD	29
3.2.1 Örneklerden Laktik Asit Bakterisi (LAB) İzolasyonu ve Tanımlanması.....	29
3.2.1.1 Gram boyama	30
3.2.1.2 Katalaz Testi	30
3.2.1.3 Glukozdan Gaz Oluşturma	31
3.2.1.4 Argininden Amonyak Oluşturma	31
3.2.1.5 Farklı Sıcaklıklarda (15°C ve 45°C) Gelişme Testi	31
3.2.1.6 Farklı Tuz Konsantrasyonlarında Gelişme Testi	31
3.2.2 İzolatların Genotipik Tanımlanması	32
3.2.2.1 İzolatların Hücrelerinden Genomik DNA'ların İzolasyonu.....	32
3.2.2.2 DNA Konsantrasyon Tespiti	32
3.2.2.2.1 Saflık ve miktar tayini	32
3.2.2.3 Bakterilerin 16S rDNA Bölgesinin Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) ile çoğaltılması.....	33
3.2.2.4 DNA Dizi Analizi (PCR Ürünlerinin Saflaştırılması ve Tanımlanması)	34
3.2.3 Tanımlanan <i>Lactobacillus</i> spp. İzolatlarının Teknolojik ve Probiyotik Özelliklerinin Belirlenmesi.....	35
3.2.3.1 İzolatların asit üretme yeteneklerinin belirlenmesi	35
3.2.3.2 İzolatların hidrojen sülfür üretme yeteneklerinin test edilmesi	35
3.2.3.3 İzolatların hidrojen peroksit üretme yeteneklerinin belirlenmesi.....	35
3.2.3.3.1 Hidrojen Peroksit standartının hazırlanması.....	36
3.2.3.4 İzolatların D- ve L- Laktat üretme yeteneklerinin belirlenmesi	36
3.2.3.5 İzolatların antibakteriyel aktivitelerinin belirlenmesi.....	37
3.2.3.6 İzolatların asit toleranslarının belirlenmesi	37
3.2.3.7 İzolatların antibiyotiklere direncinin tespiti	37
3.2.3.8 İzolatların safra tuzlarına direncinin belirlenmesi	38
3.2.3.9 İzolatların hidrofobisite yeteneklerinin belirlenmesi.....	39

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	40
4.1 ÖRNEKLERDEN LAKTİK ASİT BAKTERİSİ (LAB) İZOLASYONU	40
4.1.1 İzolatların Fenotipik özellikleri	40
4.1.2 İzolatların Genotipik Tanımlanması	45
4.1.2.1 Dizi analiz sonuçları	45
4.2 Tanımlanan <i>Lactobacillus</i> spp. İzolatlarının Teknolojik ve Probiyotik Özellikleri.....	53
4.2.1 İzolatların asit üretme yetenekleri	53
4.2.2 İzolatların hidrojen sülfür üretme yetenekleri	59
4.2.3 İzolatların hidrojen peroksit üretme yetenekleri.....	61
4.2.4 İzolatların D- ve L- Laktat üretme yetenekleri.....	66
4.2.5 İzolatların antibakteriyel aktiviteleri	75
4.2.6 İzolatların asit toleransları	86
4.2.7 İzolatların antibiyotiklere direnci	94
4.2.8 İzolatların safra tuzlarına direnci.....	104
4.2.9 İzolatların hidrofobisite yetenekleri.....	110
5. SONUÇ	115
6. KAYNAKLAR.....	123
ÖZGEÇMİŞ	181

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa No

Çizelge 2.2 : Anne sütünün bileşimi.....	10
Çizelge 2.3 : Probiyotik suşlar içeren mikroorganizma grupları.....	13
Çizelge 4.1.1: İzolatların kısmi karakterizasyonu.....	40
Çizelge 4.1.2.1: İzolatların 16S rDNA sekanslarının NCBI Gen banka sonuçlarına göre % benzerlikleri.....	46
Çizelge 4.2.1: İzolatlarda inkübasyon süresince pH'da meydana gelen değişimler.....	53
Çizelge 4.2.2: İzolatların hidrojen sülfür üretme yetenekleri.....	59
Çizelge 4.2.3: İzolatların hidrojen peroksit üretme yetenekleri.....	62
Çizelge 4.2.4: İzolatların D- ve L-Laktat üretme yetenekleri.....	66
Çizelge 4.2.5: İzolatların antibakteriyel aktiviteleri.....	75
Çizelge 4.2.6: İzolatlarının asite toleransı.....	86
Çizelge 4.2.7: İzolatlarının antibiyotiklere dirençleri.....	94
Çizelge 4.2.8: İzolatların safra tuzuna dirençleri.....	104
Çizelge 4.2.9: İzolatlarının hidrofobisite yetenekleri.....	110

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 1.1.1: Gastrointestinal sistemin değişik kısımlarında bulunan mikroorganizmalar	5
Şekil 3.1: Bebeklerin yaşlarının haftalara göre dağılımı	29
Şekil 3.2.1: İzolatların ekimi için kullanılan a) Anaerobik jar b) Anaerocult	30
Şekil 3.2.2.3: a) Polimeraz Zincir Reaksiyon Cihazı b) Elektroforez cihazı c) Jel Görüntüleme Sistemi	34
Şekil 3.2.3.4: İzolatların D-L Laktat üretimlerinin tespiti	36
Şekil 3.2.3.7: Antibiyotik disklerinin yerleştirilmesi	38
Şekil 4.1.1.1: a) izolatların tek koloni düşürülmesi, b) Glukozdan gaz üretimi pozitif veren BF 122 nolu örneğin görüntüsü	43
Şekil 4.1.1.2: İzolatların glukozdan gaz oluşturma yetenekleri	44
Şekil 4.1.1.3: İzolatların 15°C ve 45°C'de gelişme yetenekleri	44
Şekil 4.1.2: İzolatların (47, 74 ve 131 nolu) universal primeri ile yapılan PCR reaksiyonu sonucunda elde edilen agaroz jel (%2) görüntüsü	45
Şekil 4.1.2.1.1: İzole edilen <i>lactobacillus</i> spp.'lerin benzerlik oranları	49
Şekil 4.1.2.1.2: LAB İzolatlarının 16S rDNA Sonuçlarına Göre Tanımlanmaları ve Dağılımları	50
Şekil 4.2.1: MRS Brothta izolatların 24 saat inkübasyon sonrası pH'ları	57
Şekil 4.2.2.1: Hidrojen sülfür pozitif sonuç veren BF 77 izolatının görüntüsü	59
Şekil 4.2.2.2: Laktik asit bakterilerinin hidrojen sülfür üretmeleri (%)	61
Şekil 4.2.3: İzolatların hidrojen peroksit üretme yetenekleri (%)	63
Şekil 4.2.4: İzolatların D-L laktat üretme yetenekleri (%)	73
Şekil 4.2.5: İzolatlarının patojenlere karşı inhibisyon yetenekleri	79
Şekil 4.2.6: İzolatların pH 3'te gelişim gösterim % oranı	89
Şekil 4.2.7.1: İzolatların antibiyotiklere dirençleri	99

Şekil 4.2.7.2: BF 112 nolu izolatın antibiyotiklere direnci a) CHL, PEN, TET; b) KAN, STR.....	100
Şekil 4.2.8: İzolatların %0,3'lük safra tuzunda gelişebilme yetenekleri.....	106
Şekil 4.2.9.1: İzolatlara xylene ilavesi, ilave sonrası tüplerin vortekslenmesi ve spektrofotometrede okumanın yapıldığı aşama.....	112
Şekil 4.2.9.2: İzolatların ortalama % hidrofobisite değerleri.....	112

SİMGELER DİZİNİ

Caco-2	İnsan Kolon Adeno Carcinoma
dk	Dakika
DNA	Deoksiribonükleik Asit
g	Gram
GIS	Gastrointestinal Sistem
GRAS	Generally Recognized as Safe
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
IgA	Immunoglobulin A
kb	Kilobaz
Kob	Koloni Oluşturan Birim
kob/mL	Mililitredeki Koloni Oluşturan Birim
L	Litre
LAB	Laktik Asit Bakterileri
log	Logaritma
M	Molar
mL	Mililitre
mg	Miligram
µL	Mikrolitre
µm	Mikrometre
Mb	Megabaz
MRS	de Man Rogosa Sharpe
PCR	Polymerase Chain Reaction
RNA	Ribonükleik Asit
rDNA	Ribozomal DNA
rpm	Dakikada Devir Sayısı
sn	Saniye
°C	Selsius Derecesi

ÖNSÖZ

Lisansüstü eğitime başladığım ilk günden itibaren en iyi şekilde yetişmem içinengin bilgisi ve deneyimleriyle bana yol gösteren, benden desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, karşılaştığım zorluklar karşısında her zaman yardımcı olan, zor anlarımda farklı bir bakış açısı ile kolaylık getiren, bana gösterdiği sabır ve anlayışla güzel bir çalışma ortamı sağlayan, emeklerini hiçbir zaman unutamayacağım, yeri doldurulamayacak danışman hocam Sayın Prof. Dr. Muhammet ARICI'ya teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışmamı Namık Kemal Üniversitesi'nde sürdürebilmemi, laboratuvarın her türlü imkanından yararlanmamı sağlayan başta çok kıymetli bölüm başkanımız Sayın Prof. Dr. Mehmet DEMİRCİ olmak üzere tüm öğretim elemanları ve öğrenci arkadaşlarım Şeymanur ÖZALP, M.Enes BAĞDATLI'ya teşekkürü bir borç bilirim.

Tez savunma sınavımda jüri üyesi olarak bulunarak, yaptıkları düzeltmeler ve yapıcı eleştiriler ile tezimin son halini almasında katkıda bulunan Gıda Mühendisliği öğretim üyeleri Sayın Doç. Dr. Ömer ÖKSÜZ, Sayın Doç. Dr. Tuncay GÜMÜŞ'e ve Zootekni bölümü öğretim üyesi Sayın Doç. Dr. Eser Kemal GÜRCAN'a teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmamın bir bölümünü gerçekleştirdiğim Yıldız Teknik Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümünde birlikte çalışma imkanı bulduğum bilgisi, tecrübesi ve yardımseverliği ile çalışmam sırasında bana destek olan değerli hocam Sayın M.Zeki DURAK, ilgilerini eksik etmeyen tüm öğretim elemanları ve Gülsüm UÇAK'a teşekkür ederim.

Moleküler çalışma sürecimizin hizmet alımı bölümünde yardımını esirgemeyen Gazi Üniversitesi Yaşam Bilimleri Araştırma ve Uygulama Merkezi müdürü Sayın Doç. Dr. Turgay TEKİNAY'a teşekkür ederim.

Doktora yaptığım süre boyunca 2211-Yurtiçi doktora bursiyeri olduğum TÜBİTAK Bilim İnsanı Destekleme Daire Başkanlığı ve çalışanlarına teşekkürü borç bilirim.

Beni yetiştirip, her zaman destekleyerek yanımda olan canım annem Sevinç TOKATLI ve canım babam Dr. Fuat TOKATLI'ya, ilgilerini her zaman hissettiğim kardeşim Ahmet TOKATLI, ablam Nur şENER ve eniştem Doç. Dr. Mehmet şENER'e, mutluluk sebebimiz yeğenlerim Ceren ve Melis şENER'e, yanımda olan ailemizin diğer tüm fertlerine, son olarak bu satırları yazdığım sırada tekmelerini hissettiğim kucağımıza almaya can attığımız bize şimdiden inanılmaz duygular yaşatan biricik kuzuma, yavrucağıma ve her zaman beni cesaretlendiren, kendi kendime bile tahammül gösteremediğim zamanlarda bana sabırla yaklaşan, zor anlarımda yanımda olan, bana sakin olmayı elinden geldiğince:) öğretmeye çalışan eşi olmaktan büyük mutluluk ve gurur duyduğum hayat arkadaşım Dr. Mehmet DEMİROK'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Nisan 2014

Nazan TOKATLI DEMİROK
Gıda Mühendisi

1. GİRİŞ

Gastrointestinal sistem bireylerde lokal ya da sistemik immün yanıt şekillenmesinde önemli roller üstlendiğinden sağlıklı bir yaşam için gastrointestinal sistem ve mikrobiyotanın korunması önem taşımaktadır. Gastrointestinal sistem normal mikrobiyotası doğumda steril iken, yenidoğan döneminde kazanılmakta ve yaşam boyu kalmaktadır. Doğum sırasında anneden kazanılan mikrobiyota ilk mikrobiyota kaynağını oluşturmaktadır. Doğumdan bir hafta sonra Bifidobakteriler mikrobiyotada baskın duruma geçmektedir ve yaşam boyu özellikle *Bifidobacterium* ile *Lactobacillus* türleri gastrointestinal sistemin ana mikrobiyotasını oluşturmaktadır (Ceyhan ve Alıç 2012).

Bağırsak mikrobiyotasının çok önemli bir kısmını oluşturduğu intestinal immün sistem yaşamın erken dönemlerinden itibaren enfeksiyonlarla daha iyi mücadele ederken daha az alerji ve otoimmünite geliştirmek üzere programlanabilmektedir. Gebelikteki diyetten başlayarak vajinal doğum şekli ve sinbiyotik özellikleri olan anne sütünün verilmesinin gastrointestinal mikrobiyota gelişimine olumlu etkileri vardır (Kültürsay 2009).

Yeryüzündeki tüm insanlar sağlıklı bir yaşam sürmeyi, iyi beslenmiş ve yetişmiş, geleceğe umutla bakan çocuklar yetiştirmeyi amaçlar. Hükümetler bu amaçları sağlamak için halk sağlığı programlarını desteklerken, anne sütü de doğal bir kaynak olarak sağlık programlarına katkıda bulunabilmektedir (Altay 2007).

Bebeğin beslenmesinde anne sütüne eşit veya daha iyi bir seçenek bugüne kadar bulunamamıştır. Anne sütünün içeriği doğum sonrasında, bebeğin ihtiyaçlarına göre değişiklikler gösterir. Anne sütü ile beslenmenin enfeksiyonlardan, prematüre bebeklerde sepsis ve nekrotizan enterokolit gelişiminden koruyucu etkilerinin yanı sıra uzun dönemde alerjik hastalıkların da anne sütü ile azaldığı bilinmektedir (Magne ve ark. 2005, Atıcı ve ark. 2007, Kültürsay 2009).

Anne sütü probiyotik ve prebiyotik içeriği ile bir sinbiyotiktir. Probiyotikler, konakçısının gastrointestinal sisteminde bulunan sağlığa faydalı mikroorganizmalardır, prebiyotikler ise, ince bağırsakta sindirilmeden direk kalın bağırsağa geçen ve bağırsaktaki bakterilerin çoğalmasını ve etkinliğini olumlu yönde etkileyerek konağın sağlığını da iyileştiren besin öğeleridir (Gueimonde ve ark. 2007, Işıdan ve Mart 2009, Kutlu 2011).

Günümüzde sayıları gittikçe artmakla birlikte probiyotik mikroorganizmalar grubu içerisinde en büyük alanı laktik asit bakterileri kaplamaktadır. Laktik asit bakterilerinin çoğu; insan, hayvan ve bitkinin olduğu doğal ortamlarda bulunan, bu ortamlardan izole edilebilen, biyoteknolojik çalışmalarda ve endüstriyel birçok alanda kullanılan, insan beslenmesinde ve sağlığında oldukça önemli mikrobiyal ajanlardır (Alan ve Dığrak 2012).

Laktik asit bakterileri, karbonhidrat kaynaklarından laktik asit, asetik asit, formik asit, propiyonik asit, hidrojen sülfür, bakteriosin ve diasetil gibi metabolitler üretebilmektedir. Çoğu mikroorganizmalar üretilen asitlere, pH düşüşüne ve azalan besin elementleri açısından rekabet durumuna hassastır. Laktik asit bakterileri tarafından aerobik gelişme sırasında üretilen hidrojen peroksit de bir çok mikroorganizma üzerine inhibitör etki göstermektedir (Okereke ve Montville 1991, Yüksekdağ ve Beyatlı 2003).

Laktik asit bakterileri gıda teknolojisinde çok önemli bir role sahiptir. Bunlar özellikle yoğurt, kefir, kırmızı gibi fermente süt ürünleri, sauerkraut, salatalık turşusu ve salamura yeşil zeytin gibi fermente bitkisel ürünler, ekmek, boza, tarhana ve oğru gibi tahıl ürünleri ve bunun yanında şarap, sucuk, balık sosu gibi pek çok gıdanın üretimi, olgunlaştırılması, organoleptik, reolojik ve besinsel değerinin arttırımı ve dayanıklılığının sağlanmasında kullanılırlar (Kılıç 2008, Tangüler 2010).

Probiyotik olarak kullanılan suşların çoğu insan gastrointestinal mikrobiyotasının önemli bir parçası olan ve genellikle zararlı özellik taşımayan *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* cinsine dahildir. Laktobasiller ve Bifidobakterler geleneksel kullanım süreçlerine bağlı olarak GRAS statüsündedir. Bu iki grubun içerisinde Laktobasiller, probiyotik konusunu içeren bilimsel çalışmalarda en çok yer alan bakteridir (Klein ve ark. 1998, Vesterlund ve ark. 2007).

Laktik asit bakterilerinin en büyük grubu olan *Lactobacillus* cinsi 80'nin üzerinde tür ve alt türlerden oluşmaktadır. Laktobasiller doğada karbonhidrat içeren substratların zengin bir şekilde elde edilebileceği ortamlarda bulunurlar. *Lactobacillus* üyeleri doğada oldukça yaygındırlar. İnsan ve hayvanların mukozal membranları (ağız içerisindeki yarık ve boşluklar, bağırsak sistemi ve vajina), bitkilerin ya da bitkisel materyallerin üzerinde, fermente olan ya da bozulan gıdalar gibi çok geniş bir habitatta bulunabilmektedirler (Limsowtin ve ark. 2003, Gürsoy ve Kınık 2005, Özgün 2009).

Bu çalışmada anne sütüyle beslenen 14 bebeğin feçesinden izole edilen laktobasillerin izolasyonu ve moleküler düzeyde tanımlanması yapılmış olup, aynı zamanda bu izolatların probiyotik ve teknolojik özelliklerini belirlemek amacıyla, antibakteriyel aktiviteleri, asit, hidrojen sülfür, hidrojen peroksit, D- ve L-laktat üretme yetenekleri, asit ve safra tuzu toleransları, bazı antibiyotiklere hassasiyetleri ve tutunma yetenekleri gibi fonksiyonel özellikleri incelenmiştir.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

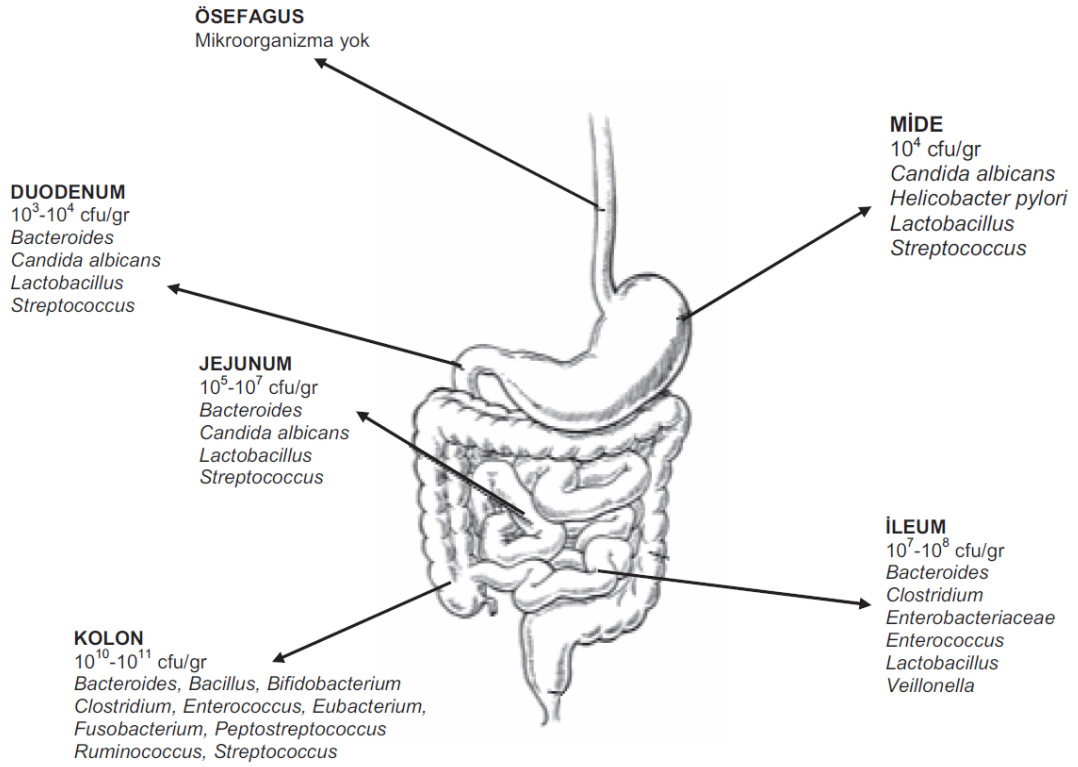
2.1. GASTROİNTESTİNAL SİSTEM

İnsan vücudunun yakalaşık 2 m²'si deri ile 300-400 m²'si geniş bir mukozal yüzey ile kaplıdır. Gastrointestinal sistem; besinsel antijenler, patojen mikroorganizmalar ve çevresel ajanlarla karşı karşıya kalmaktadır. Karşılaşılan bu ajanlara karşı intestinal epitel bariyeri, mukozal immün sistem ve intestinal mikrobiyota yardımı ile gelişmiş bir savunma sistemi kurulmuştur (Kültürsay 2009, Ceyhan ve Alıç 2012)

Epitel yüzeydeki mukus bariyeri ve epitel hücreleri arasındaki sıkı bağlantılar yardımı ile bakteri ve antijenlerin bağırsak lümeninden dolaşıma geçmeleri engellenir. Bariyer fonksiyonunun önemli bir komponenti de mukozal immün sistemdir. Deri ve mukozal yüzeylerde yaşayan bakteri sayısı insanın kendi hücrelerinden daha fazladır. Sonuç olarak, insanlar yaklaşık 10¹⁴ mikroorganizma ve 10¹³ memeli hücrelerinden oluşan kompleks bir yapıya sahiptir. Vücut yüzeyi ve boşluklarına bakıldığında bir organizma tabakası ile kaplı durumda olduğu görülmektedir. Kalın bağırsaklarda 1 - 2 kg, deride 200 g, ağız boşluğu, akciğerler ve vajenin her birinde 20'şer g, burunda 10 g, gözde 1 g mikroorganizma vardır. (Gorbach ve ark. 1967, Caicedo ve ark. 2005, Vural ve Çelen 2005, Saevedra 2007, Tezcan 2007, Neish 2009).

İnsan intestinal sisteminde 400'ün üzerinde farklı mikroorganizma türünün bulunduğu bildirilmektedir. Bu mikroorganizmalar; deride, ürogenital sistemde, ağız ve burun boşluklarında, kısacası insan vücudunun dış ortamın etkisi altındaki ve bakterilerin hayatta kalması için uygun şartlara sahip olan her kısmında çok fazla sayıda ve çeşitlilikte yerleşik olarak bulunmaktadır. Sağlıklı bir konakçıda, mide-bağırsak mikrobiyotasının uygun bir şekilde sürdürülmesi, bu mikrobiyotayı oluşturan yararlı ve zararlı mikroorganizmaların denge halinde bulunmasına bağlıdır. Özellikle kolonda ve ince bağırsak distalinde yerleşen bu mikrobiyota "Unutulmuş organ" olarak adlandırılacak kadar çok önemli biyolojik aktiviteye sahiptir (Cummings ve Macfarlane 1991, Çakır 2003, Tok ve Aslım 2007, Saavedra 2007, Neish 2009).

Sindirim sisteminde bulunan mikroorganizmaların dağılımı; mide, duodenal, jejunal, ileal, çekal, kolonik, rektal ve fekal mikrobiyotada farklılaşmaktadır. Toplam bakteri sayısı genellikle; Mide, duodenum ve jejunumda peristaltizmin daha hızlı olması, asidik ortam (mide) ve safra asitleri (duodenum) nedeni ile 10^3 'ün altında bakteri barındırırken, ileumdan itibaren geçiş yavaşladığından bakterilerin sayısı ve çeşitliliği kolondakine benzer 10^{14} miktar kazanmaya başlar. Kalın bağırsak, sindirim sisteminin diğer bölgeleri ile karşılaştırıldığında, daha kompleks ve yoğun popülasyona sahip bir ekosistemdir. Şekil 2.1'de gastrointestinal sistemde yer alan bakterilerin miktarca dağılımı bulunmaktadır (Moore ve Holdeman 1978, Cummings ve Macfarlane 1991, Richardson 1996, Guarner 2003, Young ve Huffman 2003, Isolauri 2004, Caicedo ve ark. 2005, Coşkun 2007)



Şekil 2.1. Gastrointestinal sistemin değişik kısımlarında bulunan mikroorganizmalar (Coşkun 2007)

Kolonun distal bölgesi daha düşük substrat konsantrasyonu içerir ve bu bölgede bakterilerin gelişimi daha yavaştır. Sindirim sisteminde bulunan bakteri mikrobiyotasının % 90'ı veya daha fazlası *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* ve *Bacterioides* cinslerine dahil anaerob bakteriler tarafından oluşmaktadır. Mikrobiyotanın diğer üyeleri; *Enterococcus* ve *Streptococcus* cinsinde yer alan türler ile *Clostridium*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas* gibi patojen bakteriler, küfler ve *Candida* cinsi mayalardır (Uymaz 2009, Fallani ve ark. 2011).

İnsan vücudunun çeşitli bölgelerinde gruplanmış, organizmaya zarar vermeksizin hatta bazı yararlar sağlayabilen ve organizma ile yaşayan mikroorganizma topluluklarına vücudun normal mikrobiyotası denir ve iki grupta ele alınır;

1. Kalıcı Mikrobiyota: Belirli bölgelerde genellikle değişmeyen, kısa süreli ortadan kaldırılrsa bile yeniden oluşabilen, süreklilik gösteren mikroorganizma topluluğudur. Kalıcı mikrobiyotanın etkinlikleri şöyledir:

- Bağırsaktaki bazı mikrobiyota üyeleri beslenme, anjiogenez ve mukozal immünite üzerinde önemli faydalar sağlar.

- Bağırsak bakterileri safra tuzu metabolizması lipid hidrolizi, proteinlerin peptid ve aminoasitlere parçalanması ve vitamin üretiminde de rol alırlar.

- Kolona sindirilmeden gelen kompleks karbonhidratların fermentasyonu ile oluşturdukları asetat, propiyonat ve bütirat gibi kısa zincirli yağ asitleri (SCFA) gibi konakçının kullanabileceği enerji kaynakları oluştururlar.

- Epitel yüzeyde patojenlerle bağlantı yerleri için yarışarak, bakteriyosin adı verilen bakterisidal veya bakteristatik ürünler salarak patojen bakteri üremesini engellerler.

- İmmün sistemini kullanıma hazırlar, bu bakteriler olmaksızın immün sistemin normal fonksiyon göremeyeceği kanıtlanmıştır.

2. Geçici Mikrobiyota: Kalıcı mikrobiyotanın yanında, çoğu hastalık oluşturmayan, bazen patojen olabilen, birkaç saatten birkaç haftaya değişebilen sürelerde canlı kalan mikroorganizma topluluğudur. Kalıcı mikrobiyota üyeleri ortadan kalktığında, geçici mikrobiyota kolonize olur, çoğalır ve hastalık yapıcı özellik kazanabilir (Vanderhoof ve Rosemary 2002, Kültürsay 2009, Ceyhan ve Aliç 2012).

2.1.1 GASTROİNTESTİNAL SİSTEMİN KOLONİZASYONU

Gastrointestinal sistemde mikrobiyota doğumda sterilken, yeni doğan döneminde kazanılmakta ve yaşam boyu sabit kalmaktadır. İnsandaki normal mikrobiyota; doğum sırasında anneden geçen ve dışarıdan değişik yollarla alınan mikroorganizmaların dokulardaki kolonizasyonu sonucu oluşur. Bakteriyel kolonizasyon, doğum sırasında ve takip eden birkaç gün içinde oluşmaya başlar. Doğumdan sonra mikrobiyotayı oluşturan bakterilerin türü ve miktarına etki eden faktörler;

- gebelik yaşı,
- doğum şekli, (vajinal veya cerrahi)
- annenin aldığı besinler,
- probiyotik alıp almaması,
- bebeğin primer beslenme şekli, (anne sütü veya mama)
- bebeğin sağlık durumu,
- bebeğin immünolojik durumu,
- gastrointestinal sistem geçiş zamanı,
- gastrointestinal sistem pH'sı ve stres gibi intrensek faktörler kolonizasyonu etkiler. (Küçükler 2003, Young ve Huffman 2003, Tannock 2004, Caicedo ve ark. 2005, Coşkun 2007).

Yenidoğanların sindirim sistemi birincil olarak annenin vajinal, kolon ve deri sistemi ile çevre (doğrudan insan teması veya hastane çevresinden) mikrobiyotasından gelen mikroorganizmalar tarafından inoküle olur. Böylece bebeğin yaşamının ilk birkaç gününde ilk kolonik mikrobiyotası oluşmuş olur (Uymaz 2009).

Kolonizasyonun başlangıç fazı yaklaşık iki haftalık bir periyotta gerçekleşir. Doğumdan sonraki 48. saatte kolonda Fakültatif Gram-pozitif koklar, enterobakteriler ve laktobasiller ilk kolonize olan bakterilerdir. Bu mikroorganizmalar mevcut oksijeni hızlı bir şekilde tüketerek zorunlu anaerobik türlerin gelişimi için uygun bir ortam oluşturur. Daha

sonraki süreçte; anne sütü ile beslenen bebeklerde, *E.coli* ve *Streptococcus* popülasyonları sayıca azalırken, *Clostridium* ve *Bacterioides* popülasyonları ise kısmen veya tamamen kaybolur. Bakteriyel popülasyonlardaki bu azalma ile mikrobiyotada bifidobakteri popülasyonunu dominant hale gelmeye başlar (10^{10} - 10^{11} g/ gaita) (Kavas 2007, Morelli 2008, Uymaz 2009, Ceyhan ve Alıç 2012).

Bebek anne sütü ile beslenmeye devam ettiğinde yerleşik kolonik mikrobiyota oluşur. Anne sütünden kesildikten sonra erişkin mikrobiyotası yönünde değişiklikler olmaya başlar ve sağlıklı bebeklerde, ikinci yılın sonuna doğru, erişkin mikrobiyotasının benzeri mikrobiyota oluşmaya başlar (Sullivan ve ark. 2001, Guarner 2003, Young ve Huffman 2003, Caicedo ve ark. 2005, Özden 2005).

Metabolik olarak aktif olan bu mikrobiyota diğer bakteriler, mukozal immün sistem ve bağırsak epitel hücreleri ile sürekli iletişim halinde olduğundan bebeğin gelişimini ve fizyolojisini etkilemesi beklenir (Coşkun 2007).

Vajinal yolla doğan bebekler erkenden kolonize olurken doğum kanalından geçmediklerinden sezeryanla doğan bebeklerde mikrobiyota gelişimi geç olur ve daha çok çevreden alınan mikroorganizmaları içerir. Sezeryan ile doğmuş bebek gaitasında bakteri sayısı ve bifidobakteri içeriği 1. ayda bile vajinal doğanlardan daha az bulunmaktadır. Bu nedenle de normal mikrobiyota bakterilerinin kazanılması güçtür, gastrointestinal ve immünolojik bozukluklara daha yatkındırlar. Bu gruptaki bebeklerde gastroenterit ve uzun dönemde alerjik hastalıklarda artış bildirilmektedir. Prematüre bebeklerde ise sezaryen doğum, anne sütü alabilme şansının azlığı, yoğun bakım ünitesi mikropları, antibiyotikler nedeniyle sağlıklı bir mikrobiyota gelişimi gecikir ve patojen bakterilerle kolonizasyon sıklaşır. Genellikle baskın olarak koliformlar ayrıca enterokok ve *bacterioides* türleri izlenir (Hakansson ve Kallen 2003, Coşkun 2007, Huurre ve ark. 2008, Kültürsay 2009).

Doğum şeklinden sonra ikinci olarak mikrobiyotayı beslenme şekli etkiler. Sağlıklı anne sütü ile beslenen bebeklerdeki bifidobakteriyal ağırlıklı mikrobiyota normal durum olarak tanımlanır. Term Anne sütü alan bebekte bifidobakteriler 4. Günde ortaya çıkarlar. 7-10 günde laktobasiller, *Escherichia coli* ve enterokokları içeren ama ciddi oranda bifidobakteri predominansı olan bir mikrobiyota oluştururlar. Ancak mama ile beslenen bebeklerin bağırsaklarında Enterobakter türleri baskındır. Altı ay dolayında mama ile beslenen bebeklerin mikrobiyotasında bifidobakteriler yer almakta ise de anne sütü

alanlarındakinden daha azdır ve mikrobiyota dağılımı oldukça karmaşıktır (Caicedo ve ark. 2005, Coşkun 2007, Kültürsay 2009, Koropatkin ve ark. 2012)

Formula ile beslenen bebeklerde genellikle *Bifidobacterium*, *Bacterioides*, *Lactobacillus*, *Clostridium* ve *Streptococcus* cinsleri üyelerini içeren daha kompleks bir mikrobiyota bulunur. Bir yaşında anne sütü ve mama ile beslenen çocukların bağırsak mikrobiyotaları birbirine benzer ve erişkin mikrobiyotasına yakındır (Coşkun 2007, Uymaz 2009).

2.2. ANNE SÜTÜ İLE BESLENME

Anne sütü doğumdan itibaren altı ay sonuna kadar olan dönemde, bebeğin tüm besinsel gereksinimlerine tek başına cevap verebilen, bebeklerin dengeli beslenme, sağlıklı büyüme ve gelişimleri için son derece önemli olan bir besindir (Atıcı ve ark. 2007).

2008 Türkiye Nüfus ve Sağlık Araştırması verilerine göre ülkemizde emzirme yaygın olup annelerin % 95,9'u bebeklerini değişen sürelerde kendi sütleri ile beslemişlerdir. Bebeklerin ilk altı ayında yalnız anne sütüyle beslenme oranı % 41,6'dır. TNSA-2008 verileri, altı aydan küçük çocuklarda biberon kullanım sıklığını % 41 olarak göstermektedir ve bu sıklık 8-9 aylık çocuklarda en yüksek seviyeye (% 55) ulaşmaktadır (Anonim 2009).

Anne sütü tüm bebekler, (prematürel ve hasta yenidoğanlar dahil olmak üzere) için ideal bir besindir. Yeni doğanların savunma sisteminde geniş bir yer tutar. Anne sütü içeriği bebeğin yaşına ve fizyolojik özelliklerine göre değişen en uygun besindir. Örneğin zamanında doğum yapan ile zamanından önce doğum yapan annelerin sütleri birbirinden farklıdır, ayrıca bebek büyüdükçe anne sütünün de içeriği farklılaşarak bebeğin ihtiyaçlarını karşılar. Kazein insan sütü proteinlerinin % 40'ını, inek sütü proteinlerinin % 80'ini oluşturur. Daha düşük miktarda kazein içermesinin yanı sıra içerdiği kazein misellerinin çapının inek sütü kazein misellerine göre küçük olması da anne sütünün yenidoğanın fizyolojik ihtiyaçlarına uygunluğunun bir diğer göstergesidir (Yılmaz ve ark. 1996, Kunz ve ark. 1999, Altay 2007, Özgün 2009).

Kolostrum, doğumdan sonra salgılanan ilk süt olup, 3-5 gün devam eder, miktarı az olmasına karşın içeriğindeki fazla protein, enerji ve aktif immünolojik maddeler sayesinde süt miktarı artana kadar bebeğin tüm gereksinimlerini karşılar ve enfeksiyonlardan korunmasını sağlar. Anne sütünün içeriği Çizelge 2.2'de verilmiştir. (Atıcı ve ark. 2007).

Anne sütünün inek sütünü ve formül mama gibi gıdalardan önemli farklılıkları ve üstünleri mevcuttur:

- Bebek için en ideal kalite ve miktarda besleyici madde içerir,
- alerjen değildir,
- ekonomiktir,
- enfeksiyonu önleyici maddeler içerir,
- çocuğun psikolojik gelişiminde olumlu etkileri vardır,
- annede meme kanseri insidansını azaltır,
- sınırlı da olsa kontraseptif etkisi vardır (Altay 2007).

Çizelge 2.2. Anne sütünün bileşimi (Thomas 1994, Yavuzdurmaz 2007)

Bileşen	Birim	Anne Sütü
Enerji	(kcal)	65-75
Protein (Kazein, α -laktalbumin, IgA, IgG, lizozim, laktoglobulin)	(g)	0,9
Yağ	(g)	4,1
Esansiyel yağ asitleri (linoleik / linolenik)		5/1
Karbonhidrat (Oligosakkaritler, laktoz)	(g)	7,2
Kalsiyum	(mg)	32-36
Fosfor	(mg)	14-15
Kalsiyum / Fosfor		2,3 / 1
Sodyum	(mg)	11-20
Potasyum	(mg)	57-62
Klor	(mg)	35-55
Demir	(mikrogram)	62-93

Anne sütünü 130'dan fazla çeşitte oligosakkarit bulundurmaktadır. Anne sütündeki en büyük komponent oligosakkaritlerdir, prebiyotik ve immün modülatör etkilidirler. Kolostrumdaki oligosakkarit konsantrasyonu 15-23 g/L, geçiş sütünü ve matür sütte ise 8-12 g/L'dir. Anne sütünü oligosakkaritlerinin % 75-85'i nötral, % 15-25'i asidik oligosakkaritlerdir (Boehm ve ark. 2002, Gibson ve ark. 2004, Fanaro ve ark. 2005).

Laktoz anne sütündeki başlıca karbonhidrattır (68 g/L) ve miktarı çok fazla değişmeyen besin öğelerinden biridir. Laktoz, *Laktobasillus bifidus*'un çoğalmasına ve büyük ölçüde bağırsak mikrobiyotasının zararlı olmayan bu mikroorganizmalardan oluşmasını teşvik eder. Anne sütündeki laktoz oranı ne kadar yüksek olursa monovalan iyonların oranı da o denli düşük olmaktadır. Düşük oranda monovalan iyon bulunması böbreklerinin solid yük kaldırma kapasitesi sınırlı olan yenidoğanın fizyolojisine çok uygun olmaktadır (Altay 2007, Öncü 2007).

Anne sütünün protein düzeyi % 1,1-1,2 civarındadır. Sindirimi kolaydır, biyolojik yararlılığı çok yüksek olduğu için, konsantrasyonu inek sütüne göre çok düşük olmasına karşın yenidoğan ve süt çocuğunun ihtiyacını karşılamaktadır. Anne sütü proteinlerinin bir kısmı (whey proteinleri) bağışıklık sisteminin gelişiminde rol oynarken, bir kısmı da (laktoferrin) immünolojik olmayan savunma sistemlerinde görev alır. Anne sütündeki vitamin miktarı annenin vitamin alımı ve beslenme durumundan etkilenirken, anne sütünün mineral bileşimi, annenin diyeti ile büyük değişim göstermez. Anne sütündeki kalsiyumun emilimi daha kolay iken, demir oranı daha yüksektir. (Altay 2007, Atıcı ve ark. 2007, Özgün 2009).

Anne sütünde başlıca enerji kaynağı lipitlerdir (anne sütünün sağladığı enerjinin % 40-50'si yağlardan elde edilir). Yağların % 97-98' i trigliserid şeklinde bulunmaktadır. Anne sütünde bulunan diğer lipitler ise karotenoidler, yağ asitleri, fosfolipitler, sterol ve hidrokarbonlardır. Lipit miktarı 30-50 g/L arasında değişmektedir. Anne sütünde bulunan lipitler, enerji sağlamalarının yanı sıra retina ve beyin gelişimi için de gerekli olması dolayısıyla önem arz etmektedir (Altay 2007).

Anne sütüyle beslenen bebeklerin kalın bağırsağında dominant olan *Bifidobacterium* spp., yaşa bağlı olarak farklı tür ve oranlarda bulunmakla birlikte, bebeklerde dışkı mikrobiyotasının % 99'unu, genç ve yetişkinlerde ise % 20'sini oluşturmaktadır (Kuş 2010).

Oligosakkaritler bifidobakteriler için spesifik üreme faktörleridir. İnsan sütünün protein içeriğinin az olması ve tamponlama kapasitesinin düşük olması bifidobakterilerin üremesini kolaylaştırır. Bifidobakteriler, proteinin anne sütünden emilmesini artırabilen fosfotaz aktivitesi sergileyebilirken bazı türleri türleri B1, B9 ve B12 vitaminlerini üretmektedir. Bu vitaminlerin üretilmesi ile fermente süt ürünlerinin besleyici özellikleri artmaktadır (Özden 2005, Uymaz 2009, Ceyhan ve Alıç 2012).

Anne sütü, birçok farklı besin maddesinin, biyoaktif maddelerin; leptin, grelin, insülin ve insülin benzeri büyüme faktörleri gibi besin alımını düzenleyen, metabolizmayı etkileyen ve vücut kompozisyonun düzenlenmesinde rol alan hormon ve büyüme faktörlerinin kaynağıdır. Özellikle anne sütü leptini; anne sütü alan bebeklerde, almayan bebeklere göre ideal bir enerji dengesi oluşturmakta ve daha iyi bir Şekilde büyüme sağlamaktadır (Atıcı ve ark 2007).

Anne sütü büyümekte olan bebeğe mükemmelen bir besin kaynağı olmasının yanında antikor, sitokinler, antimikrobiyal maddeler ve özgün bağışıklık hücreleri de içermektedir. Böylece anne sütü, bebeğin kendi bağışıklık sistemi olgunlaşana değin, bebeği enfeksiyonlardan korur (Atıcı ve ark. 2007).

Anne sütü ile beslenmenin enfeksiyonlardan, bebeklerde sepsis ve nekrotizan enterokolit, *Haemophilus influenza* bakteriyemi ve menenjit gelişiminden koruyucu etkileri yanı sıra yapılan çalışmalar anne sütü tüketimi ile birlikte uzun dönemde alerjik hastalıkların da görülme sıklığının azaldığını göstermektedir (Gurtler ve ark. 2005, Drudy ve ark 2006, Kültürsay 2009, Tokatlı 2011).

Bebeklerde immünize antikor düzeyleri, anne sütü alanlarda, hazır mama ile beslenenlere göre daha fazla bulunmuştur. Bu bulgular emzirmenin ilk bir yılda aktif humoral immün yanıtı arttırdığını gösteren güçlü kanıtlardır. Küçük yaşlarda yeterli süreyle anne sütü almış erişkinlerde lenfoma, lösemi, multipl skleroz, diabetes mellitus, kronik karaciğer hastalığı, ülseratif kolit, obesite, crohn hastalığı, ağızda maloklüzyon ve lyak hastalığı riski azaldığı bildirilmektedir (Van-Coric 1990, Dewey ve ark. 1995, zalp 1996).

2.3. PROBİYOTİKLER

İlk olarak 1965 yılında Lily ve Stillwell tarafından bir protozoa tarafından salgılanıp, diğer bir protozoanın gelişmesini teşvik eden metaboliti tanımlamak amacıyla kullanılmış olan probiyotik kelimesi “yaşam için” anlamını taşır (Işıdan ve Mart 2009, Eryılmaz 2011).

Besinlerle birlikte veya ayrı olarak uygun miktarda alındığında mukozal ve sistemik immüniteyi düzenleyerek, bağırsaklarda besinsel ve mikrobiyal dengeyi sağlayarak konakçının sağlığını olumlu olarak etkileyen canlı nonpatojen mikroorganizmalar “probiyotik” olarak adlandırılır. Vücudun mukoz membranlarında ve gastrointestinal sistem

bölgelerinde kolonize olan bakterilerdir. Çizelge 2.3’de probiyotik mikroorganizma grupları yer almaktadır (Chung ve ark. 2004, Timmerman ve ark. 2004, Saavedra 2007).

Laktik asit bakterileri, probiyotik mikroorganizmaların en önemli grubunu oluşturmaktadır. *Bifidobacterium* ve *Lactobacillus* türleri en yaygın olarak kullanılan probiyotik mikroorganizmalardır. Ayrıca bazı bakteri cinsleri ile maya ve küf türlerinden de probiyotik ürünlerin hazırlanmasında yararlanılmaktadır. Günümüzde probiyotik bakteri içeren birçok gıda ve özellikle süt ürünleri geliştirilip marketlerdeki yerini almıştır (Salminen ve ark. 1999, Ouwehand ve ark 2002, Heiland ve ark 2004, Saarela ve ark. 2004, Eryılmaz 2011).

Çizelge 2.3. Probiyotik suşlar içeren mikroorganizma grupları

(Salminen ve ark. 1998, Yılsay ve Kurdal 2000, Özden 2005, Göktepe ve ark. 2006)

<i>Lactobacillus</i> Türleri	<i>Bifidobacterium</i> Türleri
<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	<i>Bifidobacterium bifidum</i>
<i>Lactobacillus lactis</i>	<i>Bifidobacterium breve</i>
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Bifidobacterium adolescentis</i>
<i>Lactobacillus gasseri</i>	<i>Bifidobacterium infantis</i>
<i>Lactobacillus cellebiosus</i>	<i>Bifidobacterium longum</i>
<i>Lactobacillus delbrueckii</i>	<i>Bifidobacterium thermophilum</i>
<i>Lactobacillus reuteri</i>	<i>Bacillus</i> Türleri
<i>Lactobacillus curvatus</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
<i>Lactobacillus fermentum</i>	<i>Bacillus pumilus</i>
<i>Lactobacillus plantarum</i>	<i>Bacillus lentus</i>
<i>Lactobacillus johnsonii</i>	<i>Bacillus licheniformis</i>
<i>Lactobacillus salivarius</i>	<i>Bacillus coagulans</i>
<i>Lactobacillus helveticus</i>	<i>Enterococcus</i> Türleri
<i>Lactobacillus brevis</i>	<i>Enterococcus faecium</i>
<i>Lactobacillus casei</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	<i>Enterococcus faecium</i>

Çizelge 2.3. Probiyotik suşlar içeren mikroorganizma grupları (devam)

<i>Streptococcus</i> Türleri	<i>Leuconostoc</i> Türleri
<i>Streptococcus cremoris</i>	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
<i>Streptococcus thermophilus</i>	<i>Propionibacterium</i> Türleri
<i>Streptococcus intermedius</i>	<i>Propionibacterium shermanii</i>
<i>Streptococcus lactis</i>	<i>Propionibacterium freudenreichii</i>
<i>Streptococcus diacetilactis</i>	<i>Pediococcus</i> Türleri
<i>Bacteriodes</i> Türleri	<i>Pediococcus cerevisiae</i>
<i>Bacteriodes capillus</i>	<i>Pediococcus acidilactici</i>
<i>Bacteriodes juis</i>	<i>Pediococcus pentosaceus</i>
<i>Bacteriodes ruminicola</i>	Küfler
<i>Bacteriodes amylophilus</i>	<i>Aspergillus niger</i>
Mayalar	<i>Aspergillus oryzae</i>
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	
<i>Candida torulopsis</i>	

Probiyotik bakterilerin gastro-intestinal kanala süregelen kolonizasyonu olasılığı az olduğundan her gün muntazam olarak alınması gerekmektedir (Özden 2005).

Çoğunlukla laktik asit bakterilerinden oluşan probiyotiklerin sayısı günümüzde oldukça fazladır. Bu mikroorganizma grubunun insanlarda ve hayvanlarda hastalıklardan korunma vb. özellikleriyle kullanılabilmesi amacıyla bazı özelliklere sahip olmaları gerekmektedir. Bu özellikler;

- güvenilir olmalıdır. Kullanıldığı insan ve hayvanda yan etki oluşturmamalıdır.
- insan orjinli olmalıdır.
- stabil olmalıdır. Safra tuzları ve yüksek asiditeye dayanıklı olmalıdır.
- patojenlerle rekabet edebilmesi için probiyotiklerin bağırsak epitellerine tutunabilmesi veya agregasyon oluşturabilmesi gerekmektedir,
- karsinojenik ve patojenik bakterilere antagonistik etki yapmalıdır.

- antimikrobiyal maddeler üretebilmelidir.
- konakçıda hastalıklara direnç gibi yararlı etkiler oluşturabilmelidir.
- metabolik etki kabiliyeti olmalıdır (vitamin üretimi, kolesterol asimilasyonu, laktaz aktivitesi).
- patojen özellik içermemelidir.
- antibiyotiklere karşı dirençli olmalıdır.
- üretim ve depolama sırasında canlılığını ve aktivitesini koruyabilmelidir,
- gıdalara ilave edildiğinde kaliteyi düşürmemelidir.
- aktarılabılır antibiyotik direnç genleri taşımamalıdır (Guarner ve Schaafsma 1998, Gülmez ve Güven 2002, Başyigit 2004, Srilakshmi ve Matthai 2005, Ewaschuk ve Dieleman 2006, Tuohy ve ark 2007, Yaşar ve Kurdaş 2009).

Probiyotikler, patojen mikroorganizmaların inhibe edilmesini veya ortadan kaldırılmasını birçok mekanizma ile gerçekleştirmektedir. Bu mekanizmalar: Laktik asit üreterek lümenin pH'sını düşürmek, antimikrobiyal özellik gösterecek bakteriyosin, hidrojen peroksit ve serbest radikaller üretmek, birçok patojenin hastalık oluşturulabilmesi için bağırsak duvarına tutunması gerekir; reseptörlere tutunarak patojenlerle besin kaynakları için rekabet edip onların tutunmasını önlemek ve immün sistemini modüle etmek, koruyucu mün oluşumunu uyarmak, immün sistem değişimi (Sekretuar IgA yapımını arttırmak), proteolitik enzimler (pH 2,5–9,0 aralığı) üretmek, toksinler ya da toksin reseptörlerinin modifikasyonunu sağlamak ve bağırsak mukozasını geliştirmektir (Fukushima ve ark. 1998, Dugas ve ark. 1999, Laurens-Hattingh ve Viljoen 2001, Srilakshmi ve Matthai 2005, Novik ve ark. 2006, Alp 2007, Manzoni ve ark. 2009).

Probiyotiklerin bağırsak mukozasına tutunması, patojenlerin kolonizasyonunu azalttığı, immün sistemi modüle ettiği ve zarar gören mukozanın iyileşmesini artırdığı için önemli olmaktadır. *Lactobacillus* kolonizasyonu aynı zamanda gastrointestinal hastalıkların önlenmesi için önemlidir. Örneğin, mukozal laktobasillerin miktarının azalmasının, ülseratif kolitle ve rotavirüs diyareye neden olabileceği düşünülmektedir. Yapılan çalışmalar laktobasillerin, belirli koşullarda ince bağırsaklara yerleşerek yiyeceklerle alınan laktozu

hidrolize ettiğini, süte göre yoğurtta bulunan laktoz miktarını azaltarak, bağırsak rahatsızlıklarının ortaya çıkmasını engellediğini göstermektedir (Gismondo ve Drago 1999, Alp 2007).

İstenmeyen birçok bakteri türünün, bağırsaklarda gıdalarla alınan karsinogenlerin öncül maddelerini aktive eden enzimleri üreterek, aktif karsinogen maddelerin oluşumuna neden oldukları belirtilmiştir. Probiyotik bakteriler ise, istenmeyen mikroorganizmaların çoğalmasını inhibe ederek bu enzimlerin oluşmasını engellemektedir (Jay 1986, Ray 1996).

Bebek bağırsak mikrobiyotasının dengesi; alerji, astım, otizim ve gastrointestinal hastalıklar açısından büyük bir önem taşımaktadır. Probiyotik mikroorganizmaların tüketiminin çocuklarda solunum ve diş çürümesi enfeksiyonlarını, bebeklerde atopik dermatit ve yeni doğanlarda nekrotizan enterekolit görülme oranını düşürdüğü tespit edilmiştir. Yapılan çalışmalar ilk iki yaşta tüketilen probiyotiklerin bebeklerde enfeksiyon sıklığını ve antibiyotik kullanımını azalttığını göstermiştir. Sütten kesme sırasında bebeklerin probiyotik mikroorganizmalarla desteklenmiş bebek mamaları ile beslenmesinin, bebeklerde kompleks diyetle geçmenin neden olduğu yaygın semptomların görülmesini engellediğini, akut diyare ve kabızlık oranının azalmasını sağladıkları belirlenmiştir (Saxelin ve ark. 1996, Isolauri 1997, Hoyos 1999, Dunne 2001, Salminen ve ark. 2004, Bin-nun ve ark. 2005, Rastall ve ark. 2005, Kukkonen ve ark 2008).

Yapılan birçok çalışma probiyotiklerin laktoz intoleransı semptomlarının hafifletmesi, kolesterolü düşürmesi, antibiyotik kullanımına bağlı diyareyi iyileştirmesi, sindirim yolu enfeksiyonları ve kolon kanserini engellemesi, rotavirüsü kontrol etmesi, *Helicobacter pylori*'ye bağlı ülseri engellemesi, bağışıklık sistemini, irritabl bağırsak sendromunu ve antihipertansif etkileri iyileştirmesi gibi olumlu etkilere sahip olduğunu ortaya koymuştur (Gupta ve Garg 2009, Espinoza ve Navarro 2010, Manzoni ve ark. 2011, Seyhan 2012).

Rahim kanserinin en büyük nedenlerinden biri olan HPV (Human Papilloma Virus) ile ilgili yapılan bir çalışma sonucunda hidrojen peroksit konsantrasyonu yüksek olan ortamdaki hücrelerin kanser hücrelerine dönüşümünün engellendiği, hatta laktik asit bakterilerinin oluşturduğu hidrojen peroksidin kanserli hücreleri tekrar eski haline dönüştürdüğü düşünülmektedir (Yiğit 2009).

Probiyotiklerle vajinal mikrobiyel mikrobiyotanın modifikasyonunun, HIV enfeksiyonlarına karşı korunmada etkili olabileceği düşünülmektedir. Çalışmalar;

L.rhamnosus GR-1 ve *L.fermentum* RC-14'ün, dakikalar içinde virüsü öldürebildiğini ve bir kaç hafta içinde kolonize olabildiğini göstermiştir (Cadieux ve ark. 2002, Wiesenfeld ve ark. 2003).

Probiyotik süt ürünlerinin üretiminde en çok kullanılan türler insan orijinlidir. Çünkü bu türlerin yabancı türlere veya hayvan orijinli olan türlere göre konakçı insanın fizyolojik ihtiyaçlarını daha kolay karşılayacağı ve bağırsaklarda daha çabuk kolonize olabileceği genel olarak kabul edilmektedir. İnsan kaynaklı olan türler *L.casei* subsp. *rhamnosus*, *L.acidophilus* *B. adolescentis*, *B. bifidum*, *B. breve*, *B. infantis*, *B. longum*, ve *E. faecium*'u içermektedir (Gomes ve Malcata 1999).

2.4. LAKTİK ASİT BAKTERİLERİ

Laktik asit bakterileri, Gram pozitif, bazı durumlarda katalaz (+) olmasına karşın genellikle katalaz negatif, fakültatif anaerobik, kok, çomak, tetra ve ovoid şeklinde, asit tolerant olan türleri içeren, *Sporolactobacillus inulinus* hariç spor oluşturmeyen, kromozomal DNA yapısındaki guanin+sitozin (G+C) oranı % 55'den az olan bakterilerdir (Şahin 1995, Stiles ve Holzapfel 1997, Hofvendahl ve Hahn-Hägerdal 2000, Yüksekdağ 2005, Etöz 2006, De Vuyst ve Leroy 2007, Kılıç 2008) .

Bir iki üye dışında laktik asit bakterilerinin tümü hareketsizdir. Fizyolojik karakterleri bakımından birbirine yakın veya benzer, ancak morfolojik yapıları yönüyle oldukça farklı olan cinsleri içerirler (Tunail ve Köşker 1989, Halkman 1991, Yetişmeyen 1995, Axelsson 1998)

Eubacteriales takımının, *Streptococcaceae*, *Lactobacillaceae*, *Actinomycetaceae* familyalarının içerisinde yer alan Laktik asit bakterileri; *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Tetragonococcus*, *Vagococcus*, *Weissella*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Aerococcus*, *Oenococcus* ve *Pediococcus* cinslerini içerir (Şahin 1995, Bulut 2003, Salminen ve ark. 2004, Yüksekdağ 2005, Kılıç 2008)

Bifidobacterium cinsi de filogenetik olarak LAB'ne benzememesine rağmen, biyokimyasal, fizyolojik ve ekolojik özellikleri bakımından benzer olduğundan LAB içerisinde yer almaktadır (Tangüler 2010).

Karbohidrat fermentasyonu sırasında en fazla laktik asit üretirler. Laktik asit bakterileri laktik asit fermentasyonu ile oluşturdukları ürünlerin cinsine ve miktarına göre iki

gruba ayrılırlar; Homofermentatif laktik asit bakterileri ve Heterofermentatif laktik asit bakterileri (Tunail ve Köşker 1989, Halkman 1991, Yetişmeyen 1995, Turantaş 1999, O'toole ve Lee 2004).

Homofermentatif laktik asit bakterileri (Bazı *Lactobacilluslar*, *Pediococcus*, *Lactococcus* vb.) Fruktoz Di Fosfat yolunu kullanarak şekerlerden esas ürün olarak % 90-95 oranında laktik asit oluştururlar.

Heterofermentatif laktik asit bakterileri (Bazı *Lactobacilluslar*, *Leuconostoc*, *Oenococcus*, *Weissella* vb.) Heksoz Mono Fosfat yolu ile şekerleri parçalayarak fermentasyon sonucu %50 laktik asit üretirken, bunun yanı sıra yüksek oranda etil alkol, asetik asit, diasetil, karbondioksit, gliserol, mannitol ve früktoz gibi ikincil ürün üretirler (Drinan ve ark 1976, Moat 1985, Prescott ve Dunn 1987, Turantaş 1999, Beasley 2004).

Laktik asit bakterilerinin "hem" grupları (sitokrom ve katalaz) yoktur. Buna rağmen havanın oksijeninde gelişip üreyebilirler. Yani katalaz enzimleri olmamasına rağmen aerob koşullarda gelişebilen nadir bakteriler arasında laktik asit bakterileri de bulunur (Halkman 1991, Hofvendahl ve Hahn- Hagerdal 2000).

Laktik asit bakterileri, içerisinde yalnız glukoz ve amonyum bulunan bir besiyeri ortamında gelişmemekle birlikte, pek çoğu vitaminlerden bir veya birkaçına ve amino asitlere ihtiyaç duymaktadır (Tunail ve Köşker 1986, Vural 1998, Klaenhammer ve Kulen 1999)

Laktik asit bakterileri, cins ve türe göre değişmek üzere gıdalarda, bitki ve bitki atıklarında, süt ve süt ürünlerinde ve çalışma alanlarında, toprakta, silajda, insan ve hayvanların genital, intestinal ve solunum sistemlerinde olmak üzere doğada oldukça yaygın olarak bulunmaktadır. Gününü tam olarak doldurmuş bir şekilde dünyaya gelen canlı, özellikle eğer anne sütüyle besleniyorsa, bu canlının bağırsak mikrobiyotasının en baskın üyeleri laktik asit bakterileridir (Tunail ve Köşker 1986, Olson 1990, Karahan ve Çakmakçı 1996, Hofvendahl ve Hahn- Hagerdal 2000, Dağdemir 2006, Tok ve Aslım 2007)

Laktik asit bakterilerinde ribozomlar 70S tipindedir, 70S, 50S büyük ve 30S küçük olmak üzere iki alt ünitelerden oluşur. 50S' lik alt birim 50S rRNA ve 23S rRNA ile yaklaşık 35 çeşit protein; 30S'lik küçük alt birim ise 16S rRNA ve 25 farklı protein içerir. Laktik asit

bakterilerinin birbirinden ayrımında 16S rRNA' nın özelliklerinden yararlanılmaktadır (Eryılmaz 2011).

Laktik asit bakterileri, düşük pH'larda asit üretirler. (laktik asit, formik asit, propiyonik asit, asetik asit vb) Ürettikleri bu maddelerle patojen ve kontaminant organizmaların gelişimlerini inhibe ederler. Yapılan çalışmalarda *Lactobacillus*'ların inhibisyonik etkisinin, *Streptococcus*'lara göre daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Laktik asit bakterileri tarafından aerobik gelişme sırasında üretilen hidrojen peroksidin de birçok mikroorganizma üzerine inhibitör etki gösterebildiği bildirilmiştir. Laktik asit bakterileri, B grubu vitaminleri ve aminoasitleri sentezleyebilmeleri için kompleks besin kaynaklarına ihtiyaç duyarlar (Attaie ve ark 1989, Tunail ve Köşker 1989, Kılıç 1990, Lewus ve ark. 1991, Barefoot ve Nettles 1993, Zhu ve ark. 2000, Leroy ve Vuyst 2004).

Laktik asit bakterileri, asitlerin yanında farklı bakteri grupları tarafından (*Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Staphylococcus* ve *Enterococcus* gibi) üretilen bakteriyosinleri üretirler. Daha çok gıdalar da güvenli olduğu düşünülen laktik asit bakterileri (özellikle *Lactobacillus* ve *Lactococcus*) tarafından sentezlenen bakteriyosinler üzerinde durulup hakkında araştırma yapılmakta ve gıdalarda bu bakteriyosinler kullanılabilir. LAB tarafından üretilen bakteriyosinlerin antagonistik etkileri yakın akraba ve Gram pozitif diğer türlere olmakla beraber; *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Clostridium perfringens*, *Listeria* türleri ve *Staphylococcus aureus* gibi gıda maddelerinin bozulmasına neden olan patojen mikroorganizmalar üzerinde bakteriosidal etki gösterirler, gıda maddelerinin korunmasında doğal koruyucu rolünü üstlenirler (Biswas ve ark. 1991, Lewus ve Montville 1991, Kurt ve Zorba 2005, Todorov ve Dicks 2006).

2.5. *Lactobacillus* spp.

Gram pozitif, katalaz ve oksidaz negatif reaksiyon veren bu bakteri grubu, kültürlerin eskimesi ile gram negatif sonuç da verebilmektedir. *Lactobacillus* cinsi bakterilerin, bazı türleri zorunlu anaerobik olmakla birlikte genellikle mikroaerobik ve çubuk (basil) şeklinde olup, ancak bazı türleri farklı uzunlukta ve zincir şeklindedir. Üreme sıcaklıkları 5-55⁰C arasında değişebilmektedir. Optimum üreme pH'sı 5,5-5,8 aralığında olduğu görülmüştür. Asidürik ya da asidofilik özellikte olup kompleks besin gereksinimleri (karbonhidratlar, aminoasitler, peptitler, yağ asidiesterleri, tuzlar, nükleik asit türevleri ve vitaminler gibi)

vardır (Kandler ve Weiss 1986, Tunail ve Köşker 1989, Hammes ve Vogel 1995, Ünlütürk ve ark. 1998, Ayhan 2000, Kılıç 2001, Winn ve ark. 2006).

Lactobacillus cinsi üyeleri doğada oldukça yaygındırlar. Günümüzde laktobasillerin altmışın üzerinde türü olduğu bildirilmektedir. Silajlarda, hayvan ve insanların sindirim sisteminde, fermente süt ürünlerinde, ağız boşluğunda, deri üzerinde, substratların zengin bir şekilde elde edilebileceği ortamlarda bulunabilmektedirler (Sneath ve ark. 1986, Hammes ve Vogel 1995, Tannock 1999, Kılıç 2001, Banks ve Williams 2004).

Lactobacillus cinsi laktozu fermente etme tiplerine göre üç büyük gruba ayrılmaktadır; Betabacterium, Streptobacterium, Thermobacterium (Tannock 1999, Kılıç 2001, Winn ve ark. 2006).

Betabacterium grubuna dahil olan *Lactobacillus* türleri son ürün olarak laktik asidin yanı sıra asetik asit ve diğer organik asitleri, etil alkol ve CO₂ üretirler. Zorunlu heterofermentatif *lactobacillus* türleri bu gruba dahildir. (*L.fermentum*, *L.buchneri* ve *L.kefir*) *L.reuteri* ve *L.fermentum* insan gastrointestinal sisteminde bulunan en önemli heterofermentatif laktobasiller olarak tanımlanmıştır (Hammes ve Vogel 1995, Andrighetto ve ark. 1998, Holzapfel ve Schillinger 2002).

Streptobacterium grubundaki laktobasiller, hekzoz şekerinden fermentasyon yoluyla yüksek oranda laktik asit üretirler. Ancak glukoz yokluğunda bazı türleri laktik asit, asetik asit, etil alkol ve formik asit üretirler. Bu grupta fakültatif heterofermentatif türler yer almaktadır (*L.casei* subsp. *casei*, *L.casei* subsp. *pseudoplantarum*, *L.casei* subsp. *rhamnosus*, *L.casei* subsp. *tolerans*, *L.plantarum* ve *L.sake*).

Thermobacterium grubundaki *Lactobacillus* türleri hekzoz şekerinden başlıca laktik asit üretirler, pentoz şekeri ve glukonatları fermente edemezler. Bu grupta zorunlu homofermentatif türler yer alır, optimum gelişme sıcaklıkları 40 °C civarındadır ve % 3 düzeyinde laktik asit üretirler (*L.delbrueckii* subsp. *delbrueckii*, *L.delbrueckii* subsp. *lactis*, *L.delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *L.acidophilus*, *L.helveticus* ve *L.salivarus*) (Özgün 2009, Tangüler 2010).

Lactobacillus cinsi genetik açıdan heterojen suşlar içerdiğinden, fiziksel ve biyokimyasal testlerle sınıflandırılması oldukça kompleks ve zor olduğu belirtilmektedir (Collins ve ark. 1991).

Özgün (2009), yaptıkları çalışmada, 100 kolostrum örneği incelemiş 20'sinde *Lactobacillus* spp. gelişimi gözlemiş ve bu cinsin 5 farklı türe ait olduklarını (*L.acidophilus*, *L.acidophilus-3*, *L.brevis*, *L.casei*, *L.plantarum*) belirlemiştir. İnceledikleri 50 feçes örneğinin ise 17'sinde gelişme olmuş ve bu türleri (*L.brevis*, *L.fermentum*, *L.reuteri*, *L.rhamnosus*, *L.plantarum*) olarak belirlemiştir.

Anne sütü veya hazır mamalarla beslenen bebeklerin dışkı örneklerinden, özellikle moleküler yöntemlerle yapılan çalışmalarda *L.acidophilus*'un en fazla tanımlanan tür olduğu belirtilmiştir. Bebek dışkı örneklerinde *L.acidophilus*'un yanı sıra, *L.casei/paracasei* ve *L.salivarius*'un da baskın türler olduğu gözlemlenmiştir (Kılıç 2009).

Yavuzdurmaz (2007), anne sütünde probiyotik özellik gösteren laktik asit bakterilerini ve bu bakterilerin fonksiyonel özelliklerini inceledikleri çalışmada; izole ettikleri grup içerisinde, *Lactobacillus oris*, *Lactobacillus fermentum*'un potansiyel probiyotik özellikte olduklarını belirtmişlerdir.

İsveç'te 1,2,4,8 haftalık ve 6,12,18 aylık 112 bebekle yapılan çalışmada; *L.rhamnosus*, *L.gasseri*, *L.paracasei* ve *L.fermentum* izole edilen mikroorganizma türleri olmuştur. *L.rhamnosus*, popülasyonunun 6 aylık bebeklerde en yüksek düzeyde, *L.paracasei* subsp. *paracasei* popülasyonunun ise 18 aylık bebeklerde en yüksek düzeyde olduğu saptanmıştır (Ahrné ve ark. 2005).

Konjuge linoleik asit (KLA) rumen mikroorganizmalar tarafından sentezlenen bir yağ asitidir. KLA izomerlerinin, antikanserojen, antiatherojenik, antidiyabetik, bağışıklık sistemini güçlendirici, vücutta yağ, kas ve mineral madde kompozisyonunu düzenleyici olduğu belirlenmiştir (İrkin ve Eren 2008). Ham ve ark. (2002)'de sağlıklı bebeklerden alınan feçes örneklerinden izole edilen *L.fermentum*'un KLA üretebildiğini belirlemiştir.

Sindirim sistemi bakteriyel açıdan düşünüldüğünde birçok patojen ve patojen olmayan bakteri türü için doğal yerleşim bölgeleridir. Özellikle *Lactobacillus* türleri ürettikleri laktik asit sonucu ortamın pH'sını düşürmeleri, bazı türler ise ürettiği bakteriosinler ve ürettikleri H₂O₂ ile sindirim sistemi ve vajinal mikrobiyotanın düzenlenmesinde ve belirlenmesinde önemli rol oynamaktadırlar. Laktik asit bakterilerinin birçok türü katalaz negatiftir ve H₂O₂'yi parçalayamadıklarından bunu ortama salarlar ve H₂O₂ diğer bakteriler için öldürücü etki yaparak gelişmelerine engel olur, böylece mikrobiyotayı kendi faydalarına değiştirmiş olurlar.

Lactobacillus fermentum kadınların ürogenital enfeksiyon tedavisinde kullanılmaktadır (Niedzielin ve ark. 2001, Çataloluk ve Gögebakan 2004, Dickson ve ark. 2005).

Her 15 saniyede bir bebeğin dünyanın herhangi bir yerinde ishal nedeni ile ölümü nedeniyle (Senok ve ark. 2005), ishal tedavisinde etkinliği çalışmalarla belirlenmiş mikroorganizmaların (*L.rhamnosus* GG, *L.reuteri*, *L.casei*, *Lactobacillus acidophilus*, *L.plantarum*, *Bifidobacteria*, *Enterococcus faecium* SF 68 ve *Saccharomyces boulardii*) önemi büyüktür (Pant ve ark. 1996, Coşkun 2007, Delia ve ark. 2007).

Lactobacillus rhamnosus GG suşu ilk olarak 1990 yılında yapılan çalışmalarda kullanılmış ve sonrasında özellikle de çocuk sağlığına olan katkıları nedeniyle günümüzde bebek ve çocuk ürünlerinin üretiminde kullanımı yaygınlaşmıştır. Doğal olarak insan bağırsak mikrobiyotasında bulunması, düşük pH'daki ortamlara karşı dirençli olması, gastrointestinal sistem duvarına tutunabilmesi başlıca özellikleridir (Goldin ve ark. 1992, Sjazewska ve ark. 2001, Reid ve Burton 2002).

Kalliomäki ve ark. (2001,2003) riskli gebelere ve bebeklerine *L.rhamnosus* GG verip, akabinde izledikleri çalışmada, anne ve bebeklerde; atopik egzema, alerjik rinit, astım sıklığının azaldığını göstermişlerdir.

Hatakka ve ark. (2001), araştırmalarında; *L.rhamnosus* GG katılarak verilen sütü tüketen çocuklarda rotavirüsten kaynaklanan diyarenin şiddetinin azaldığı, antibiyotik kullanımından kaynaklanan diyarenin ise önemli ölçüde önlendiği, ancak solunum yolu enfeksiyonlarının önüne geçilmesinde daha az etkili olduğunu tespit etmişlerdir, başka bir çalışmada *L.rhamnosus* GG(ATCC 53013)'nin bebeklerdeki atopik egzamanın azaltılması, atopik hastalıkların önlenmesi, sistik fibrozis semptomlarının azaltılması, bifidobakteri mikrobiyotasının desteklenmesi, *Streptococcus mutans* aktivitesinin azaltılması, rotavirüs diyarelerinin tedavisi, intestinal mikrobiyotanın düzenlenmesinde etkili olduğu belirlenmiştir (Sanders ve Veld 1999). Bunun yanında Saarela ve ark. (2000) yılında yaptıkları çalışmada *Lactobacillus rhamnosus*'un, *Clostridium difficile*'ye bağlı diyarenin önlenmesi ve çocuklarda atopik dermatitis semptomlarının azaltılmasını sağladığını bildirmişlerdir.

Lin ve ark. (2005); 367 çok düşük doğum kiloda doğmuş bebekte yaşamın ilk haftasından başlayarak *L.acidophilus* ve *B.infantis* ek ilavesi ile Nekrotizan Enterekolit sıklığının azaldığını saptamışlardır.

Rosenfeldt ve ark. (2002)'de yaptıkları çalışmada; *L.rhamnosus* (19070-2) ve *L.reuteri* (DSM 12246) kullanımını sonucu, akut diyareli çocuklarda tedavinin beşinci gününden itibaren kontrol grubuna göre daha az sulu dışkılama olduğunu belirlemişlerdir.

Cats ve ark. 2003'nin yaptıkları çalışmada; üçlü antibiyotik tedavisi alan *H. pylori* pozitif hastalara, *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* suşlarını içeren yoğurt vermişlerdir. Bu bakteri gruplarının, sadece üçlü tedaviyi alan gruba göre, enfeksiyonun tedavisinde daha başarılı olduğunu (% 78-91) tespit etmişlerdir. Yapılan diğer çalışmalarda özellikle *Lactobacillus* cinsine ait türlerde üretilen laktik asit ve bakteriyosine bağlı olarak *H. pylori*'nin üreaz aktivitesinin önemli derecede azaldığı belirlenmiştir (Randazzo ve ark. 2004, Ceyhan ve Alıç 2012).

Yaşlı ve immün sistemi baskılanmış hastaların ağız boşluğunda *Candida albicans* en önemli enfeksiyon nedeni olarak görülmektedir. Hatakka ve ark. (2007), yaşlı hastalarda *L.rhamnosus* GG ve *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *shermanii* JS içeren probiyotikli peynir tüketiminden sonra *C.albicans* prevelansında azalma olduğunu bildirmişlerdir. Yapılan başka bir çalışmada diyetle alınan *L.acidophilusun*, *Candida albicans* enfeksiyonlarını önlediği ve/veya tekrarlanma oranını azalttığı belirlenmiştir (Vandenberg 1993, Kalantzopoulos 1997, Murray 1998, Wiesenfeld ve ark. 2003).

Aso ve Akazan (1992), çalışmalarında 10^{10} kob/g düzeyinde *L.casei* toz preparatından bir yıl boyunca günde üç defa tüketen insanlarda mesane kanseri tedavi sürecinin hızlandığını tespit etmişlerdir.

Lactobacillus veya *Bifidobacterium* türlerini içeren probiyotik ürünlerin kandaki yüksek kolesterol seviyelerini azalttığı yönünde birçok in vitro ve in vivo çalışma yapılmış, *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium*'un; safra tuzları varlığında, kolesterolü asimile edebilme yeteneğine sahip oldukları üzerinde durulmuştur (Tok ve Aslım 2007). Bazı çalışmalarda, *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium*'un tükürükte çürük oluşumuna neden olan bazı bakterilerin sayılarını azalttığı bildirilmektedir (Meurman ve Stamatova 2007).

Alerjik bünyeli çocuklara standart allerji tedavisi yanı sıra *Lactobacillus rhamnosus* GG ve *Bifidobacterium lactis* Bb-12 içeren mama verildiğinde alerjik semptom ve bulguların daha çabuk kontrol altına alındığı bildirilmektedir (Coşkun 2007).

Yapılan çalışmalar *laktobasil* spp. ve bifidobakteri içeren ticari probiyotik suşların mukoz tabakasının bozulmasında rollerinin olmadığını, bu bakterilerin çok nadir olarak sindirim sistemi ve diğer enfeksiyonlarla ilişkilendirildiğini ve teknolojiye kullanılan türlerin patojen olmayıp güvenilir olduklarını göstermektedir (Gomes ve Malcata 1999, Sanders ve Veld 1999, Shortt 1999).

Lactobacillus spp. türlerinin birleşebilme yeteneklerinin, onlara diğer patojenik bakterinin kolonizasyonunu önlemeleri açısından fırsat oluşturduğu bildirilmiştir (Reid ve ark. 1988, Boris ve ark. 1997).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda *Lactobacillus* spp. ve *Bifidobacterium* spp. gibi probiyotik bakterilerin antimikrobiyal etkiye sahip oldukları *Salmonella* Typhimurium, *Clostridium difficile*, *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli* ve *Shigella* spp. gibi patojen bakteriler üzerinde inhibisyon etkide buldukları kanıtlanmıştır (Klebanof ve ark. 1991, Hirano ve ark. 2003, Maden ve Altun 2012).

Erginkaya ve ark. (2003)'nın, farklı laktik asit bakterisi kültürlerini (*Streptococcus thermophilus* + *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (A), *Lactobacillus rhamnosus* (B), *Bifidobacterium longum* (C) ve *Streptococcus thermophilus* + *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus* + *Lactobacillus acidophilus* + *Bifidobacterium* spp. içeren (D)) kullanıp yoğurt ürettikleri çalışmada, *Aspergillus flavus* üzerine en yüksek etkinin *Lactobacillus rhamnosus* ve *Bifidobacterium longum*'un gösterdiğini bildirmişlerdir.

Plockova ve ark. (2001), tarafından *L.rhamnosus* ve *L.reuteri*'nin *Fusarium*, *Aspergillus* ve *Penicillium* üzerine antifungal etkilerini araştırılmış ve sonuçta her iki laktik bakterisinin söz konusu küf suşları üzerine antifungal etkileri oldukları belirlenmiştir.

L.paracasei subsp. *paracasei* suşunun *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Helicobacter pylori*, *L.delbrueckii* suşları ve bazı maya türleri ve suşları üzerine antimikrobiyal aktivitesi olduğu tespit edilmiştir (Atanassova ve ark. 2003). Gürsoy ve Kınık'ın (2005) yaptıkları bir başka çalışmada, *L.paracasei* subsp. *paracasei* ve *L.curvatus*'un *E. coli*'ye karşı yoğun bir antagonistik aktivite gösterdiğini belirlemişlerdir.

Sağlıklı insanlarda gastrik pH yaklaşık olarak 2-2,5 arasındadır (Bernet ve ark. 1993, Önal ve ark. 2005). Laktik asit bakterilerinin önemli bir kısmının pH 2,5 değerinde canlılıklarını koruyabildiği yapılan birçok çalışmada gözlenmektedir (Mathara ve ark. 2008, Akman 2009). *Lactobacillus* cinsi bakteriler genellikle, diğer laktik asit bakterilerinden daha çok asitlik koşullarına dirençlidirler ve gelişme gösterebilirler (Hayaloğlu ve Erginkaya 2001).

Haddain ve ark. (2004), bebeklerden izole ettikleri probiyotik bakterileri (*L.casei*, *L.gasseri*, *B.infantis*) yoğurt üretiminde kullanarak depolama süresince bu bakterilerin canlılıklarını incelemişlerdir. Bu bakterilerin +4°C'de 15 günden daha fazla süre canlılıklarını koruduklarını belirlemişlerdir. Novik ve ark. (2006) yaptıkları çalışmada, *Bifidobacteri* ve *Lactobacillus* spp. gibi probiyotik bakterilerin, intestinal kanalda redoks potansiyelini düşürdüğünü tespit etmişlerdir.

Bifidobakterler ve bazı laktik asit bakterilerinin %1' lik safra ortamında aktivitelerine devam ettiği tespit edilmiştir (Nayir 2008). Yapılan in vitro çalışmalarla bifidobakterler ile laktobasillerin safra tuzlarına dirençleri karşılaştırıldıklarında bifidobakterlerin daha dirençli oldukları ancak direncin türe bağlı olarak değiştiği belirtilmektedir (Tahri ve ark. 1996). Ayrıca Patel ve ark. (2004) tarafından yapılan bir başka çalışmada düşük pH'da mikroorganizmaların safra tuzuna dirençlerinin azaldığı tespit edilmiştir.

Bireylerden alınan gastrik biyopsi ve dışkı örneklerinin probiyotik mikroorganizma özellikleriyle ilgili yapılan çalışmada laktobasil suşlarının %54'ü asit ortamda canlılıklarını devam ettirip ve/veya gelişebildikleri, % 0,3'lük safra tuzu konsantrasyonunda laktobasillerin % 81'inin canlılıklarını devam ettirebildikleri ve/veya gelişebildikleri belirlenmiştir (Başyigit 2004).

Yapılan bir çalışmada asitlik ve safra tuzlarına direnç bakımından; *P.acidilactici* S1, *S.salivarius* subsp. *thermophilus* FYC1'in asitliğe, *B.longum* PBC1 ve *L.rhamnosus* UCP1'in safra tuzlarına, *C.glutamicum* R17 ve *L.rhamnosus* UCP1'in ise hem asitlik hem de safra tuzlarına karşı dirençli oldukları belirlenmiştir (Çakır 2004).

Vinderola ve Reinheimer (2003), *L.casei* ve *L.rhamnosus*'un asit ortama *L.acidophilus*'a göre daha duyarlı olduğunu belirlemiş, mide özsuyu içeriğine benzeyen ortam şartlarında *L.casei* ve *L.rhamnosus*'un hücre sayısının 2,7-5,9 logaritmik birim azaldığını bildirmişlerdir. *L.acidophilus*'un en iyi gelişimi gösterdiğini, onu *L.casei*, *L.rhamnosus* ve

bifidobakterlerin takip ettiğini belirlemişlerdir. Buna karşın Prasad ve ark. (1999) ise *L.rhamnosus* suşlarının asit ve safra tuzunda *L.acidophilus*'a göre daha dayanıklı olduğunu belirtmişlerdir.

Xanthopoulos ve ark. (2000), bebek feçeslerinden izole ettikleri; *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* (6 suş), *L.rhamnosus* (6 suş), *L.acidophilus* (2 suş), *L.gasseri* (3 suş) ve *L.reuteri*'nin (3 suş) fonksiyonel ve probiyotik özellikleri ile ilgili yaptıkları çalışmada; test edilen çoğu bakteri suşunun gastrointestinal sistemde canlılığını koruyabildiğini, karbonil bileşen üretebildiklerini belirlemişlerdir. Söz konusu çalışmada; mide ortamının düşük pH'ına *L.paracasei* subsp. *paracasei* ve *L.rhamnosus*'un diğerlerine göre daha dirençli olduğunu ve *L.gasseri* ve *L.reuteri*'nin sütü fermente edemediğini tespit etmişlerdir. Çalışmaları sonucunda *L.acidophilus* ve *L.rhamnosus*'un bazı suşlarının fermente süt üretiminde starter olarak kullanılabileceği kanısına vardıklarını belirtmişlerdir.

Xiaodong ve ark. (2009); bebek feçesinden izole ettikleri potansiyel probiyotik özellik taşıyan *Lactobacillus acidophilus* NIT'in pH 2-4'e, safra tuzuna (%1-3) dayanıklı ve patojenlere karşı güçlü bir inhibisyon etki gösterdiğini tespit etmişlerdir.

Altmış yedi sağlıklı bebekle (4,30,90 günlük) yapılan çalışmada izole edilen (*L.gasseri*, *L.crispatus*, *Lactobacillus paracasei*, *L.salivarius*, *L.fermentum*) izolatların çoğunun ampicillin, amoxicillin/clavulanic acid, tetracycline, erythromycin, cephalothin, chloramphenicol ve rifampicine duyarlı iken, % 34'ünün vancomycin ve bacitracine dirençli olduklarını belirlemişlerdir. 44 izolattan 20'sinin safra tuzuna toleranslı olduğunu belirlemişlerdir. Dayanıklı izolatlardan 17'sinin pH 3-3 saatlik inkübasyon, 6'sının pH 2'de 1,5 saatlik inkübasyon ve sadece 2'sinin pH 2'de 3 saatlik inkübasyon sonunda canlılıklarını koruyabildiklerini belirlemişlerdir (Kirtzalidou ve ark. 2011).

Delgado ve ark. (2005) yılında insanlardan izole ettikleri *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus rhamnosus*, ve *Lactobacillus brevis*'in bazı suşlarının; erythromycin, clindamycin ve vancomycine dirençli olduklarını tespit etmişlerdir.

Temmerman ve ark. (2003) potansiyel probiyotik özelliğe sahip 55 adet *Lactobacillus* spp.'lerin (protein sentezini inhibitörü) tetrasiklin (%29), kloramfenikol (%12), eritromisin (%21) antibiyotiklerine düşük oranda dirençli iken, hücre duvarı inhibitörü olan vankomisine (%65) yüksek oranda dirençli olduğunu tespit etmişlerdir.

Nawaz ve ark. (2011) Pakistan’da anne sütüyle beslenen bebeklerden izole ettikleri 61 *Lactobacillus* spp. izolatında; *L.fermentum* NWS29’un gastrointestinal sistem sıvısı ve safra tuzuna en yüksek toleransı ve patojenlere karşı en yüksek antimikrobiyal aktiviteyi gösterdiğini tespit etmiş, aynı zamanda in vitro şartlarda caco-2 hücrelerine en yüksek tutunma oranına sahip olduğunu bildirerek, bu suşun insanlar için hazırlanabilecek fonksiyonel gıdalarda potansiyel probiyotik olarak kullanılabileceğini belirtmişlerdir.

Caco-2 hücreleri kullanılarak yapılan başka bir çalışmada ise; süt ürünlerinden izole edile *L.plantarum* ACA-DC146 için %25,5; *L.paracasei* subsp. *paracasei* ACA-DC 221, 3334 ve 3335 suşları için sırasıyla %13,1; %13,8 ve %11,8 tutunma oranları saptanmıştır (Maragkoudakis ve ark. 2006).

Lactobacillus spp.’lerin antibiyotik duyarlılıklarıyla ilgili yapılan diğer çalışmalarda *L.casei*, *L.rhamnosus*, *L.plantarum*, *pediococci* ve *Leuconostoc* spp. suşlarının vankomisin’e karşı dirençli olduğu belirlenmiştir (Swenson 1990).

Karaoğlu ve ark. (2003) insanlardan izole ettikleri 100 *Lactobacillus* izolatında 6 tanesinin bakteriyosin üretim yeteneğinde olduğunu, bakteriyosinlerin; alkali ortam ve proteinaz enzimine duyarlı iken katalaza dayanıklı olduklarını tespit etmişlerdir.

Fernandez ve ark. (2003) yaptıkları çalışmada; insanlardan izole ettikleri *Lactobacillus acidophilus* UO 001 ve *L.gasseri* UO 002 pH 2-3, pepsin varlığına ve safra tuzuna dirençli olduklarını aynı zamanda süt varlığında bu direncin arttığını belirterek potansiyel probiyotik suşlar olduğu üzerinde durmuşlardır.

Succi ve ark. (2005), Parmigiano Reggiano peynirinden izole ettikleri *Lactobacillus* spp.’lerden *L.rhamnosus* ATCC 7469’nin gastrointestinal sistemde düşük pH, safra tuzu ve asitler gibi çeşitli stres faktörlerine dayanıklı olduğunu belirtmişlerdir.

Yıldız ve ark. (2011) yılında bebeklerden izole ettikleri *Lactobacillus rhamnosus*’ un LP1, E3 ve E9 suşlarıyla yaptıkları çalışmada bu suşların düşük pH’ya ve safra tuzuna dirençli olduklarını ve kolestrolü düşürmede etkili olduklarını bildirmişlerdir.

Khalil ve ark. (2007) yılında, 3-6 aylık bebek feeslerin izole ettikleri 55 laktik asit bakterisinin fonksiyonel özelliklerini, inceledikleri çalışmada; *Lactobacillus acidophilus*, *L.plantarum*, *Enterococcus faecium* ve *E.faecalis* türlerini popülasyonda yoğun olarak tespit etmişlerdir. %0,4 Safra tuzu, 3 pH, intestinal mukoz tabakasına tutunum özellikleri dikkate

alındığında *L.plantarum* (P1 ve P164), *L.pentosus* (P191) ve *L.fermentum*'un (P10 ve P193) 5 suşu üzerinde olumlu özellikleri açısından durmuşlardır.

Kotsou ve ark. (2008), bebek feçeslerinden elde edilen *L.acidophilus*, *L.rhamnosus*, *L.paracasei* subsp. *paracasei*, *L.fermentum*, *L.delbrueckii* subsp. *delbrueckii*, *L.cellobiosus*, *L.plantarum*, *L.brevis* ve *L.crispatus* ile hücre tutunumu, safra tuzuna direnç, düşük pH gibi fonksiyonel özellikleri dikkate alınarak yapılan çalışmada *L.paracasei* subsp. *paracasei* ve *L.fermentum*'un bazı suşlarının potansiyel probiyotik mikroorganizmalar olarak kullanılabilceğini belirtmişlerdir.

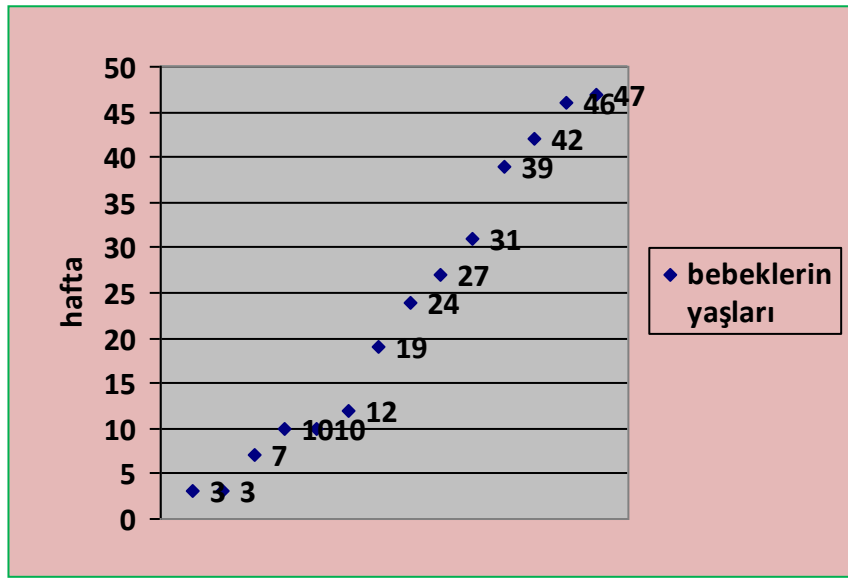
Epilete kolonizasyon gösteren probiyotik kriterlerden olan agregasyon ve otoagregasyon faaliyetlerinin asidik (pH 3-4) ortamda en iyi olduğu, nötr pH' da sabit kaldığı ve pH 10 da ise tamamen yok olduğu bildirilmiştir. *L.casei* GR-1 suşunun pH 3,3 de 5,6 ya oranla daha iyi otoagrege olduğu tespit edilmiştir (Eryılmaz 2011).

Süt ürünlerinde starter olarak kullanılabilcek potansiyel probiyotiklerin belirlenmesi amacıyla yapılan çalışmada; izole edilen *Lactobacillus* spp.'lerin çoğunun koyun ve inek sütünü 30° de çok iyi asitlendirebildiğini, Yüksek β -galaktosidaz aktivitesi aynı zamanda peynirde arzu edilen tatların gelişiminde etkili aminopeptidaz aktivitesi belirlendiği, ayrıca *L.rhamnosus* ATCC 53103'un α -fukosidaz aktivitesi gösterdiği (intestinal sistemde kolonizasyonu kolaylaştırır), α -glukosidaz aktivitesi eksikliği görüldüğü (diyabetik ve kilolu insanlar için olumlu) ve *L.mesenteroides*'in sadece D(-) laktik asit üreticisi olduğu tespit edilmiştir (Monteagudo-Mera ve ark. 2011).

3. MATERYAL ve METOD

3.1 Materyal

Bu çalışmada bir yaşından küçük bebeklerin feçesleri Ocak 2011 - Nisan 2013 tarihleri arasında Tekirdağ'da çeşitli kliniklerden toplanmıştır. Bebeklerin yaşlarının dağılımı Şekil 3.1'de verilmiştir. Araştırma materyalini, anne sütüyle beslenen bir yaşından küçük bebeklerin feçeslerinden izole edilen *Lactobacillus* izolatları oluşturmuştur. Bebek feçesleri – 40 °C de analiz yapılana kadar muhafaza edilmiştir.



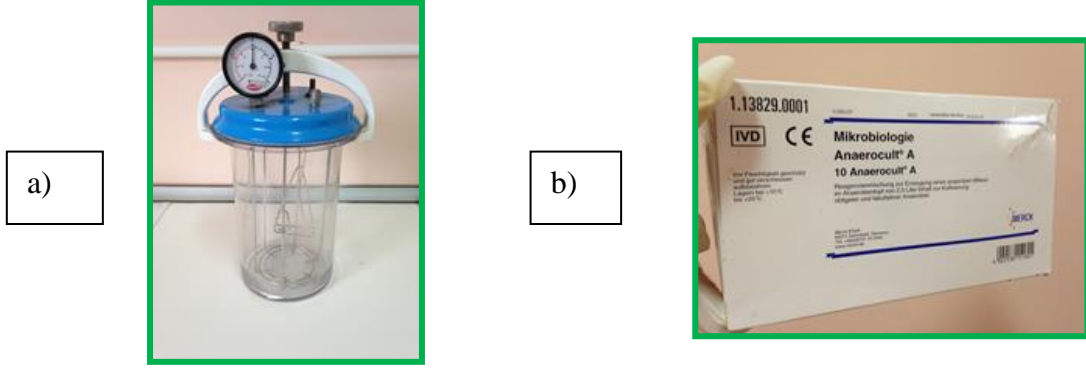
Şekil 3.1. Bebeklerin yaşlarının haftalara göre dağılımı

3.2 Metod

3.2.1 Örneklerden Laktik Asit Bakterisi (LAB) İzolasyonu ve Tanımlanması

İzolasyon için, MRS Agar besiyerlerinde yayma plak yöntemi kullanılarak ve ekim yapılan petripler $30\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de 72 saat anaerobik olarak (Şekil 3.2.1) inkübe edilmiştir (De Man ve ark. 1960). İnkübasyon sonunda birbirinden farklı görünümdeki koloniler, aynı besiyerlerinin sıvı ortamı olan MRS besiyerine alınıp üremeleri sağlandıktan sonra tekrar agarlı besiyerine sürme kültür yöntemi ile pasajlanarak saflaştırılmıştır.

Laktik asit bakterilerinin tanımlanmalarında geleneksel olarak kullanılan taksonomik sınıflandırmanın temeli, morfolojik özellik, mikroskopik görünüm, gram reaksiyonları ve katalaz aktiviteleri, glukozdan gaz üretme, argininden amonyak oluşturma, farklı tuz konsantrasyonlarında (%2 ve %4) ve farklı sıcaklıklarda (15°C’de ve 45°C’de) gelişme ve metabolik/biyokimyasal özelliklerin incelenmesini içeren fenotipik özellikler baz alınmaktadır (Kandler ve Weiss 1986, Xanthopoulos ve ark. 1999, Gobbetti ve ark. 2005).



Şekil 3.2.1. İzolatların ekimi için kullanılan a) Anaerobik jar b) Anaerocult

3.2.1.1 Gram boyama

Christian Gram tarafından 1884 yılında geliştirilmiş diferansiyel bir boyama tekniği olan Gram boyama ile bakterilerin Gram reaksiyonu incelenmiştir. İzolatların 24 saatlik aktif kültürlerinden Gram boyama yapılmış mor-mavi renkli olan bakteriler Gram pozitif, pembe renkli olan bakteriler ise Gram negatif olarak değerlendirilmiştir (Gram 1884, Temiz 2008).

3.2.1.2 Katalaz Testi

Katalaz testi için MRS agarda geliştirilmiş olan aktif koloniler üzerine % 3-30'luk H₂O₂ çözeltisinden 2-3 damla ilave edilerek, kolonilerin etrafında gaz kabarcıklarının görülmesi pozitif olarak değerlendirilmiştir (Temiz 2008).

3.2.1.3 Glukozdan Gaz Oluşturma

Glukozdan gaz oluşturma yeteneğinin belirlenmesinde içerisinde Durham tüpü bulunan MRS sıvı besiyeri kullanılmış, 30°C'de 48 saat inkübasyona bırakılan bakterilerin gaz oluşumları gözlenmiştir (Harrigan ve Mc Cance 1966, Kandler ve Weiss 1986).

3.2.1.4 Argininden Amonyak Oluşturma

Argininden amonyak oluşturma yeteneğinin tespitinde, Arginin-MRS Broth besiyeri kullanılmıştır. Besiyerine (5 mL) aktif kültürlerden birer ze aşılanarak 30°C'de 24 saat inkübe edilmiş, bu srenin sonunda beyaz porselen plaka üzerinde Nessler reaktifi ilavesiyle renk değişimi incelenerek; rengin kırmızı-turuncuya dönüşümü pozitif reaksiyon, limon sarısına dönüşümü negatif reaksiyon olarak değerlendirilmiştir (Harrigan ve Mc Cance 1966, akır 1996).

3.2.1.5 Farklı Sıcaklıklarda (15°C ve 45°C) Gelişme Testi

Farklı sıcaklıklarda (15°C ve 45°C) gelişme testi için MRS besiyeri kullanılmıştır. 5 mL'lik MRS besiyeri içeren tüplere taze kültürden ze ile aşılama yapılarak, 15°C ve 45°C'de, 48 saatlik inkübasyon sonunda bulanıklık oluşumuna göre değerlendirme yapılmıştır (Harrigan ve Mc Cance 1966, akır 1996).

3.2.1.6 Farklı Tuz Konsantrasyonlarında Gelişme Testi

Farklı tuz konsantrasyonlarında gelişme testi için, %2 ve %4 sodyum klorür ilave edilerek MRS broth besiyeri hazırlanmış, test edilecek izolat, bu besiyerini içeren tüplere inoküle edilerek 30±1°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda izolatın üreme yeteneği, besiyerinde bulanıklık olup olmaması gözlenerek değerlendirilmiştir (Fortina ve ark. 2003).

3.2.2 İzolatların Genotipik Tanımlanması

3.2.2.1 İzolatların Hücrelerinden Genomik DNA'ların İzolasyonu

DNA izolasyonu için, MRS agarda daha önceki aşamalarda muhtemel laktik asit bakterisi olarak saflaştırılmış olan izolatlardan saf bakteri kültürü MRS sıvı besiyerine bir öze dolusu aşılanarak 30 °C'de 24 saat inkübe edilmiştir. 2000 µL'lik ependorf tüplerine 1500 µL bakteri kolonisi alınarak, 10 dk 13 000 g'de santrifüj edilmiştir. Süpernatant kısmı pipet kullanılarak dikkatlice ayrıldıktan sonra pelletler -80°C'de 15 dk bekletilerek DNA ekstraksiyonu yapılmıştır. DNA ekstraksiyonu için; pelletlere öce 95 µL 1X PCR buffer akabinde 5 µL lizozim (50 mg/mL) ilave edilmiş her ilave sonrasında dikkatlice pipetlenip karıştırılmıştır. Oda sıcaklığında 15 dk bekletildikten sonra 3 µL proteinaz K (20mg/mL) ilave edilip birkaç saniye vortekslendikten sonra 58°C'de 60 dk su banyosunda bekletilip, sonrasında enzimlerin inaktivasyonu için 95°C'de 8 dk su banyosunda inkübasyona bırakılmıştır. Santrifüj edilip (1 dk) -20 °C'de muhafaza edilmiştir.

3.2.2.2 DNA Konsantrasyon Tespiti

3.2.2.2.1 Saflık ve miktar tayini

İzole edilen DNA numunelerinin saflık ve miktar tayinleri Nanospektrofotometrede (Shimadzu, Japonya) seyreltilmemiş ana stok DNA'ların kullanımı 3 µL ile 3 paralel okuma yapıp bu değerlerin ortalaması alınarak gerçekleştirilmiştir. DNA numunelerinin okunması için kontrol olarak dehidrasyon tamponu kullanılarak 260 nm, 280 nm, 260 nm/280 nm, 260/230 nm değerleri ölçülmüş ve DNA numunelerinin konsantrasyonları ng/µL olarak belirlenmiştir (Sambrook ve Russell 2001).

Ölçümler 3 tekrarlı yapılmıştır. DNA örneklerinin saflıklarının kontrolü için OD260/OD280 için kullanılmıştır. Değerlendirme saf örnekler için 1,8 ideal, daha yüksek değerler için RNA, daha düşük değerlerde ise protein kontaminasyonu olarak kabul edilmiştir. DNA miktar 260 nm dalga boyunda spektrofotometrede absorbans ölçümü yapılarak belirlenirken, elde edilen genetik materyalin protein kirliliği taşıyıp taşımadığı 280 nm'de ölçüm yapılarak tespit edilmiştir.

3.2.2.3 Bakterilerin 16S rDNA Bölgesinin Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) ile çoğaltılması

a. PCR İşlemi:

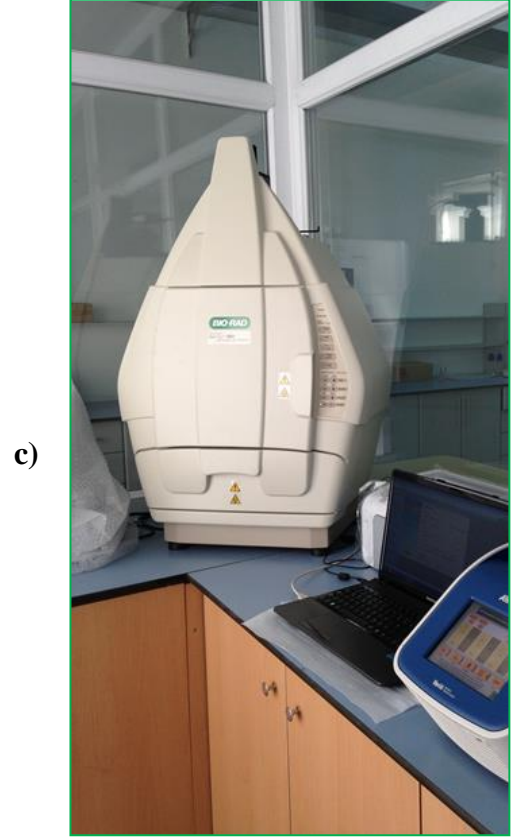
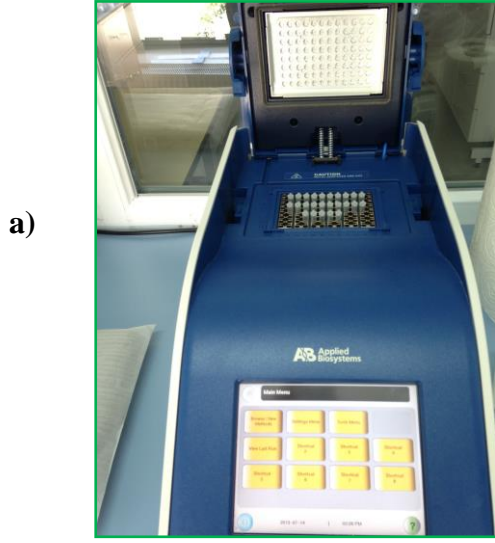
Hedef bölgelerin çoğaltılması için PCR yapılacak örnekler için 200 µL'lik PCR tüplerine toplam hacim 50 µL olacak şekilde sırasıyla 21 µL moleküler çalışmalar için üretilmiş steril su, 25 µL 2X Taq Master Mix, 1 µL 16S ileri (5-GCA AAC AGG ATT AGA TAC CC-3) ve 16S geri primer (5-AGG AGG TGA TCC AAC CGC A-3) (Griesen 1994, Rothman ve ark 2002) veya 1 µL 16S ileri 1492r (5-CCCGGGATCCAGCTTTACCTTGTTACGACTT-3), 1 µL 16S geri primer 27f (5-CCGAATTCGTCGACAACAGAGTTTGATCMTGGA-3) (Lane 1991), son olarak 2 µL DNA ve negatif kontrol için 2 µL çalışmada kullanılan sterli su kullanılmıştır.

Tüpler hedef bölgelerin çoğaltılması için PCR haznesine yerleştirildikten sonra PCR reaksiyon parametreleri 94°C'de 2 dk Initial Denaturation (denatürasyonun başlaması), 94°C'de 1 dk Denaturation (çift zincirin açılması), 55°C'de 1 dk Annealing (primerlerin bağlanması) ve 72°C'de 1 dk Extension (zincir uzaması) olarak optimize edilmiştir ve bu işlem 30 defa tekrarlanmıştır son olarak 72°C'de 5 dk ile işlem tamamlanmıştır.

b. PCR Ürünlerinin Elektrofrez:

DNA örneklerinin elektrofrez, % 1 agaroz içeren jellerde yapılmıştır (Meyers ve ark. 1976). PCR amplifikasyonu tamamlanmış DNA örneklerinden 10 µL alınarak üzerinde 2 µL boya çözültisi (Gene Ruler 1 kb DNA Ladder) ile karıştırılarak ve mikropipet aracılığı ile jel kuyucuklarına yüklenmiştir. DNA'nın büyüklüğünü belirlemek amacıyla jelin bir kuyucuğuna da 5 µL marker (6x Loading Dye Solution) yüklenmiştir.

Yükleme işlemi bittikten sonra tank kapatılarak güç kaynağına bağlanarak, 100 voltta – 325 mA'de 30-60 dak süre ile elektrofrez işlemi yapılmıştır. Oluşan DNA bantları jel dökümantasyon sisteminde görüntülenmiş, bilgisayar ortamında analiz edilmiştir. Şekil 3.2.2.3'te Polimeraz Zincir Reaksiyon Cihazı, Elektrofrez cihazı, Jel Görüntüleme Sistemi yer almaktadır.



Şekil 3.2.2.3. a) Polimeraz Zincir Reaksiyon Cihazı (Applied Biosystem, ABD)

a) Elektroferez cihazı (Thermo Scientific) c) Jel Görüntüleme Sistemi (BIO RAD, Fransa)

3.2.2.4 DNA Dizi Analizi (PCR Ürünlerinin Saflaştırılması ve Tanımlanması)

Bebek feçeslerinden izole edilip çeşitli özellikleri incelenen 104 adet *Lactobacillus* spp.'nin DNA yapılarını tespit etmek amacıyla yapılmıştır. PCR'da çoğaltılan ve agaroz jelde görüntülenen DNA örneklerinin pcr saflaştırma ve DNA dizi analizi Gazi Üniversitesi Yaşam Bilimleri Uygulama ve Araştırma Merkezinde yapılmıştır. Dizi analizi ABI 3130 Genetic Analyser cihazı Sanger metodu kullanılarak yapılmıştır (Sanger ve ark. 1977).

Her bir izolatanın oluşturduğu bant durumu not edilmiştir. Tüm veriler DNA (Lasergene 11; DNASTAR Inc, Madison, WI, USA)'de analiz edilerek oluşturulan dendograma göre genetik akrabalık oranları belirlenmiştir. Ayrıca izolatların sekanslama işlemi sonrası elde edilen 16S rDNA bölgesinin dizisi EK 1' de verilmiştir.

3.2.3 Tanımlanan *Lactobacillus* spp. İzolatlarının Teknolojik ve Probiyotik Özelliklerinin Belirlenmesi

Tanımlanan *Lactobacillus* spp. izolatlarının probiyotik ve teknolojik özelliklerini belirlemek amacıyla, antibakteriyel aktiviteleri, asit, hidrojen sülfür, hidrojen peroksit, D- ve L-laktat üretme yetenekleri, asit ve safra tuzu toleransları, bazı antibiyotiklere hassasiyetleri ve tutunma yetenekleri gibi özellikleri incelenmiştir.

3.2.3.1 İzolatların asit üretme yeteneklerinin belirlenmesi

İzolatların asit üretme yeteneklerini test etmek için MRS sıvı besiyeri bulunan tüplere izolatlardan ayrı ayrı inoküle edilecek ve $30\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de 24 saat inkübe edilmiştir. Analiz üç tekrür yapılmıştır. İnkübasyon süresince 3, 6, 18 ve 24. saatler sonunda kültürlerde pH ölçümleri yapılmıştır (Sağdıç ve ark. 2002).

3.2.3.2 İzolatların hidrojen sülfür üretme yeteneklerinin test edilmesi

İzolatların hidrojen sülfür üretme yeteneklerini belirlemek için, Triple Sugar Iron Agar yatık besiyerine öze ile aktif kültürden ekim yapıldıktan sonra $30\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de 2 hafta inkübe edilmiştir. Süre sonunda besiyerinin renginde siyahlaşma olup olmadığı gözlenmiştir (Lee ve Simard 1984).

3.2.3.3 İzolatların hidrojen peroksit üretme yeteneklerinin belirlenmesi

Yirmi dört (24) saatlik aktif LAB kültürlerinden % 2 oranında; % 10 kurumadde içeriğine sahip sterilize edilmiş yağsız süt besiyerine inoküle edilerek $30\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda distile su ile 25 mL'ye tamamlanarak ve 5000

dev/dak hızla 15 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası, üstte kalan kısım (supernatant) alınarak Whatman 42 filtre kâğıdından ardından 0,2 µm gözenek çaplı filtrelerden geçirilerek karanlık ortamda süzölmüştür. Süzölen kısımdan 8'er mL alınarak üzerlerine sırasıyla 1 mL 1 N sülfürik asit, 1 mL 0,01 M amonyum molibdat ve 1 mL 1 M potasyum iyodür çözeltileri ilave edilerek karıştırılmış ve 400 nm dalga boyunda spektrofotometrede ölçümleri gerçekleştirilmiştir.

Analiz iki tekerrür yapılmıştır. Sonuçlar, hidrojen peroksit standart eğrisi ile karşılaştırılarak, izolatların hidrojen peroksit üretimleri µg/mL olarak tespit edilmiştir (Toksoy 1996).

3.2.3.3.1 Hidrojen peroksit standartının hazırlanması

Hidrojen peroksitten (%35); 0,1 mL alınıp, 25 mL'ye distile su ile tamamlanmıştır. Çözeltiden 1 mL alınarak tekrar 25 mL'ye distile su ile tamamlanmıştır. Metodta bahsi geçen işlem aynen uygulanıp, hidrojen peroksit standart eğrisi çıkarılarak, bu eğriden 1 µg/mL H₂O₂'ye tekabül eden hidrojen peroksit değeri hesaplanmıştır (Toksoy 1996).

3.2.3.4 İzolatların D- ve L-Laktat üretme yeteneklerinin belirlenmesi

İzolatların D- ve L-laktat üretme yetenekleri enzimatik olarak D-lactate ve L-lactate dehydrogenase kullanılarak spektrofotometrik olarak (Shimadzu UV-1208, Japonya) tespit edilmiştir (Boehringer-Mannheim 1989). Şekil 3.2.3.4'te izolatların D-L Laktat üretimlerinin tespiti için hazırlık aşaması yer almaktadır.



Şekil 3.2.3.4. İzolatların D-L Laktat üretimlerinin tespiti

3.2.3.5 İzolatların antibakteriyel aktivitelerinin belirlenmesi

İzolatların MRS sıvı besiyerleri içindeki 24 saatlik taze kültürleri hazırlanarak, kültür santrifüjlenmiş ve hücresiz solüsyon elde edildikten sonra süpernatant 0,2 µm gözenek boyutunda selüloz asetat filtreden geçirilmiştir. Antibakteriyel aktivite için seçilen [*S. aureus* (ATCC 25923), *L.monocytogenes* (ATCC 7644), *S.Enteritidis* (ATCC 13076), *E.coli* (ATCC 25922), *E.coli* O157:H7 (NCTC 12900)] test bakterilerinin 18 saatlik kültürlerini içeren Nutrient Agar besiyerleri petrilere dökülerek ve 6 mm çapında kuyucuklar açılmıştır. Her bir kuyucuğa antibakteriyel aktivitesi test edilecek izolatın süpernatantı pipetlenerek yirmi dört (24) saat inkübasyon sonunda, kuyucuklar etrafında oluşan inhibisyon zonlarının çapları ölçülerek kaydedilmiştir. Analiz üç tekrerrür yapılmıştır (Arıcı ve ark. 2004).

3.2.3.6 İzolatların asit toleranslarının belirlenmesi

LAB izolatları MRS sıvı besiyerinde 37°C’de bir gece inkübe edildikten sonra pH’ları HCl (3M) ile 3’e ayarlanmış 10 mL’lik taze MRS sıvı besiyerine bakteri ekimi yapılarak kültürel yöntemle başlangıç sayıları tespit edilmiştir. Hazırlanan bakteri kültürleri 37°C’de 3 saat (180 dak) inkübe edilmiştir. İnkübasyonun başlangıcında ve sonunda pH 3’deki kültürlerden 1’er mL alınarak, 9 mL steril fizyolojik tuzlu su ile 10⁻⁶’ya kadar seri dilüsyonları hazırlanan ve 10⁻³, 10⁻², 10⁻¹ dilüsyonlardan MRS besiyerine damla kültür yöntemiyle ekim yapılmıştır. Analiz üç tekrerrür yapılmıştır. Bu petri kutuları 37°C’de 48 saat inkübe edilerek inkübasyon sonunda MRS besiyeri üzerinde gelişen koloniler sayılmış ve başlangıç sayısına göre bakterilerin canlı kalma oranları tespit edilmiştir (Arıcı ve ark. 2004, Maragkoudakis ve ark. 2006).

3.2.3.7 İzolatların antibiyotiklere direncinin tespiti

İzolatların antibiyotiklere karşı hassasiyetlerini belirlemek için farklı 5 antibiyotik (CHL; Chloramphenicol, KAN; Kanamycin, PEN; Penicillin G, STR; Streptomycin, TET; Tetracycline) (Bioanalyse) diskleri kullanılmıştır. Şekil 3.2.3.7’de Antibiyotik disklerinin yerleştirilmesi görülmektedir.



Şekil 3.2.3.7. Antibiyotik disklerinin yerleştirilmesi

İzolatların MRS sıvı besiyerindeki 18 saatlik aktif kültürlerinin optik yoğunluğu 1,5 McFarland'a ayarlanmıştır. Steril MRS agar besiyeri 45-50°C'ye soğutulup optik yoğunlukları ayarlanmış izolatlardan %1 oranında karıştırıldıktan sonra steril petrilere dökülmüştür. Bu şekilde hazırlanan petrilere, petri kabının kenarından 10 mm, birbirlerinden 15 mm uzaklıkta olacak şekilde antibiyotik diskler yerleştirilerek petriler, 37°C'de 18 saat inkübasyona bırakılmış ve inkübasyon sonunda disklerin etrafında oluşan inhibisyon zonu çapları ölçülmüştür. Analiz üç tekerrür yapılmıştır (Kheadr ve ark. 2007).

3.2.3.8 İzolatların safra tuzlarına direncinin belirlenmesi

İzolatların safra tuzlarına dayanımı Kotsou ve ark. (2008)'ı tarafından uygulanan metoda göre tespit edilmiştir. Aktif kültürler (2236 g) 5 dk santrifüj edilmiş, pelletler 0,5 mL MRS ile sulandırılmıştır. 5 mL MRS broth'a % 0,3 safra tuzu ya da kontrol grubu için MRS broth eklenmiştir. Yukarıda bahsi geçen inokulumdan 50 µL ilave edilip, 37°C'de 24 saat anaerobik şartlarda inkübasyona bırakılmıştır.

Analiz üç tekerrür yapılmıştır. 0. ve 24. saatte MRS agara ekim yapılarak izolatların safra tuzlarına karşı dirençleri belirlenmiştir.

3.2.3.9 İzolatların hidrofobisite yeteneklerinin belirlenmesi

Probiyotiklerin bağırsak yüzeylerine tutunma kabiliyetlerinin ölçüsü olan hidrofobisite Perez ve ark. (1998)'nin bildirdikleri metoda göre belirlenmiştir. Taze bakteri kültüründen 2 mL; 0,4 mL xylene ile birlikte 120 sn vortekslendikten sonra üstte kalan faz uzaklaştırılmış, alttaki faz (sulu faz) spektrofotometrede (Shimadzu 1208) 600 nm'de absorbansı ölçülmüştür. Analiz üç tekerrür yapılmıştır.

Sulu faz uzaklaştırılmadan önce (A_0) ve sonraki (A) absorbans değerleri arasındaki farktan hücre yüzeyi hidrofobisitesi aşağıdaki formül yardımıyla hesaplanmıştır.

$$\text{Hidrofobisite (\%)} = [(A_0 - A)/A_0] \times 100$$

A_0 ve A değerleri xylene ile ekstraksiyondan önce ve sonraki absorbans değerleridir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

4.1 Örneklerden Laktik Asit Bakterisi (LAB) İzolasyonu

4.1.1 İzolatların fenotipik özellikleri

Bebek feçeslerinden izole edilen 104 laktik asit bakterisi (LAB) izolatlarının bazı fenotipik özellikleri Çizelge 4.1.1’de verilmiştir. İzolatlardan 27’sinin (% 26) glukozdan gaz ürettiği, 77 (% 74) adedinin ise üretmediği belirlenmiştir. İzolatların 21 (% 20) adedinin argininden amonyak oluşturabildiği, 27’sinin (% 26) 15°C’de gelişemeyip, 45°C’de gelişme gösterdikleri tespit edilmiştir. Şekil 4.1.1’de izolatların tek koloni hali ve glukozdan gaz oluşturan 122 nolu örnek, Şekil 4.1.1.2’de izolatların glukozdan gaz oluşturma yetenekleri ve Şekil 4.1.1.3’te izolatların 15°C ve 45°C’de gelişme yetenekleri yer almaktadır.

Çizelge 4.1.1. İzolatların Kısmi Karakterizasyonu

İzolat no	Morfoloji	Gram	Katalaz	Glukozdan Gaz üretimi	15°C’de Gelişme	45°C’de Gelişim	%2 Tuzda Gelişim	%4 Tuzda Gelişim	Argininden NH ₄ üretimi
BF 2	çubuk	+	-	-	+	-	+	+	-
BF 3	çubuk	+	-	+	-	+	+	+	+
BF 6	çubuk	+	-	-	+	-	+	+	-
BF 7	çubuk	+	-	-	+	+	+	+	-
BF 9	çubuk	+	-	-	+	-	+	+	-
BF 10	çubuk	+	-	+	-	+	+	+	+
BF 13	çubuk	+	-	+	-	+	+	+	+
BF 14	çubuk	+	-	-	+	-	+	+	-
BF 18	çubuk	+	-	+	-	+	+	+	+
BF 20	çubuk	+	-	-	+	-	+	+	-
BF 23	çubuk	+	-	+	-	+	+	+	+
BF 24	çubuk	+	-	-	+	-	+	+	-
BF 25	çubuk	+	-	-	+	-	+	+	-
BF 26	çubuk	+	-	-	+	+	+	+	-
BF 27	çubuk	+	-	+	-	+	+	+	+
BF 29	çubuk	+	-	+	-	+	+	+	+
BF 31	çubuk	+	-	-	+	-	+	+	-
BF 32	çubuk	+	-	+	-	+	+	+	+
BF 34	çubuk	+	-	+	-	+	+	+	+
BF 35	çubuk	+	-	-	+	-	+	+	-

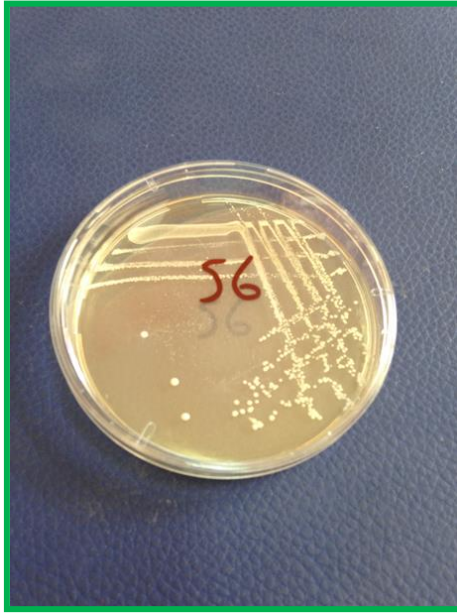
Çizelge 4.1.1 İzolatların Kısmi Karakterizasyonu (Devam)

İzolat no	Morfoloji	Gram	Katalaz	Glukozdan Gaz üretimi	15°C'de Gelişme	45°C'de Gelişim	%2 Tuzda Gelişim	%4 Tuzda Gelişim	Argininden NH ₄ üretimi
BF 37	çubuk	+	-	+	-	+	+	+	+
BF 38	çubuk	+	-	-	+	-	+	+	-
BF 41	çubuk	+	-	+	-	+	+	+	+
BF 44	çubuk	+	-	+	-	+	+	+	+
BF 47	çubuk	+	-	-	+	-	+	+	-
BF 53	çubuk	+	-	+	-	+	+	+	+
BF 55	çubuk	+	-	-	+	-	+	+	-
BF 56	çubuk	+	-	-	+	-	+	+	-
BF 57	çubuk	+	-	-	+	-	+	+	-
BF 59	çubuk	+	-	-	+	-	+	+	-
BF 61	çubuk	+	-	-	+	-	+	+	-
BF 62	çubuk	+	-	-	+	-	+	+	-
BF 68	çubuk	+	-	-	+	-	+	+	-
BF 69	çubuk	+	-	-	+	+	+	+	-
BF 70	çubuk	+	-	-	+	+	+	+	-
BF 73	çubuk	+	-	-	+	+	+	+	-
BF 74	çubuk	+	-	-	+	-	+	+	-
BF 75	çubuk	+	-	+	-	+	+	+	+
BF 76	çubuk	+	-	-	+	+	+	+	-
BF 77	çubuk	+	-	-	+	-	+	+	-
BF 78	çubuk	+	-	-	+	-	+	+	-
BF 80	çubuk	+	-	-	+	-	+	+	-
BF 86	çubuk	+	-	-	+	-	+	+	-
BF 89	çubuk	+	-	-	+	-	+	+	-
BF 92	çubuk	+	-	-	+	-	+	+	-
BF 96	çubuk	+	-	-	+	-	+	+	-
BF 97	çubuk	+	-	-	+	-	+	+	-
BF 99	çubuk	+	-	-	+	-	+	+	-
BF 100	çubuk	+	-	-	+	-	+	+	-
BF 102	çubuk	+	-	-	+	-	+	+	-
BF 105	çubuk	+	-	+	-	+	+	+	+
BF 108	çubuk	+	-	-	+	-	+	+	-
BF 109	çubuk	+	-	-	+	-	+	+	-
BF 111	çubuk	+	-	-	+	+	+	+	-
BF 112	çubuk	+	-	-	+	-	+	+	-
BF 117	çubuk	+	-	-	+	-	+	+	-

Çizelge 4.1.1 İzolatların Kısmi Karakterizasyonu (Devam)

İzolat no	Morfoloji	Gram	Katalaz	Glukozdan Gaz üretimi	15°C'de Gelişme	45°C'de Gelişim	%2 Tuzda Gelişim	%4 Tuzda Gelişim	Argininden NH ₄ üretimi
BF 119	çubuk	+	-	-	+	-	+	+	-
BF 120	çubuk	+	-	-	+	-	+	+	-
BF 122	çubuk	+	-	+	-	+	+	+	+
BF 123	çubuk	+	-	-	+	-	+	+	-
BF 124	çubuk	+	-	-	+	-	+	+	-
BF 125	çubuk	+	-	+	-	+	+	+	+
BF 127	çubuk	+	-	+	-	+	+	+	+
BF 131	çubuk	+	-	-	+	-	+	+	-
BF 132	çubuk	+	-	+	-	+	+	+	+
BF 134	çubuk	+	-	-	+	-	+	+	-
BF 136	çubuk	+	-	-	+	-	+	+	-
BF 141	çubuk	+	-	-	+	-	+	+	-
BF 143	çubuk	+	-	-	+	-	+	+	-
BF 145	çubuk	+	-	-	+	-	+	+	-
BF 146	çubuk	+	-	-	+	-	+	+	-
BF 147	çubuk	+	-	-	+	-	+	+	-
BF 149	çubuk	+	-	+	-	+	+	+	+
BF 154	çubuk	+	-	-	+	-	+	+	-
BF 160	çubuk	+	-	-	+	-	+	+	-
BF 161	çubuk	+	-	-	+	-	+	+	-
BF 164	çubuk	+	-	-	+	-	+	+	-
BF 165	çubuk	+	-	-	+	+	+	+	-
BF 169	çubuk	+	-	-	+	-	+	+	-
BF 173	çubuk	+	-	-	+	-	+	+	-
BF 174	çubuk	+	-	-	+	-	+	+	-
BF 178	çubuk	+	-	-	+	-	+	+	-
BF 183	çubuk	+	-	-	+	-	+	+	-
BF 184	çubuk	+	-	-	+	-	+	+	-
BF 186	çubuk	+	-	+	-	+	+	+	+
BF 187	çubuk	+	-	-	+	-	+	+	-
BF 188	çubuk	+	-	-	+	-	+	+	-
BF 189	çubuk	+	-	-	+	-	+	+	-
BF 191	çubuk	+	-	-	+	-	+	+	-
BF 193	çubuk	+	-	-	+	-	+	+	-
BF 194	çubuk	+	-	-	+	-	+	+	-
BF 196	çubuk	+	-	-	+	-	+	+	-

Çizelge 4.1.1 İzolatların Kısmi Karakterizasyonu (Devam)									
İzolat no	Morfoloji	Gram	Katalaz	Glukozdan Gaz üretimi	15°C'de Gelişme	45°C'de Gelişim	%2 Tuzda Gelişim	%4 Tuzda Gelişim	Argininden NH ₄ üretimi
BF 199	çubuk	+	-	-	+	+	+	+	-
BF 200	çubuk	+	-	-	+	-	+	+	-
BF 201	çubuk	+	-	-	+	-	+	+	-
BF 203	çubuk	+	-	+	-	+	+	+	+
BF 205	çubuk	+	-	+	-	+	+	+	+
BF 206	çubuk	+	-	+	-	+	+	+	+
BF 210	çubuk	+	-	+	-	+	+	+	+
BF 211	çubuk	+	-	-	+	+	+	+	-
BF 214	çubuk	+	-	+	-	+	+	+	+
BF 215	çubuk	+	-	-	+	+	+	+	-
BF 217	çubuk	+	-	+	-	+	+	+	+
BF 218	çubuk	+	-	-	+	-	+	+	-

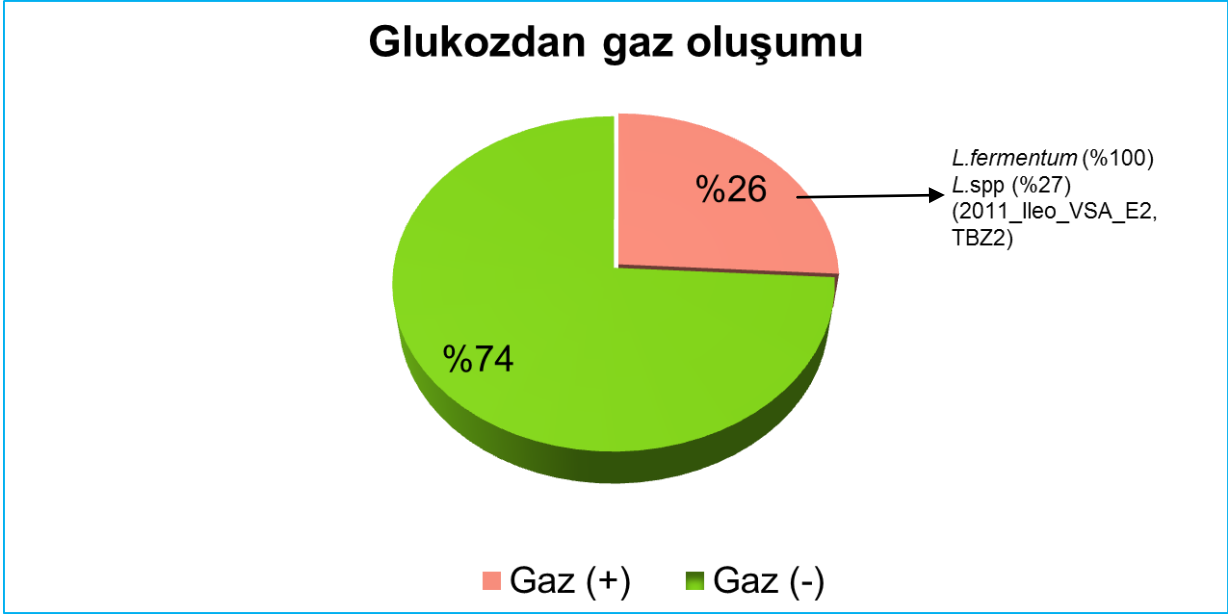


a)

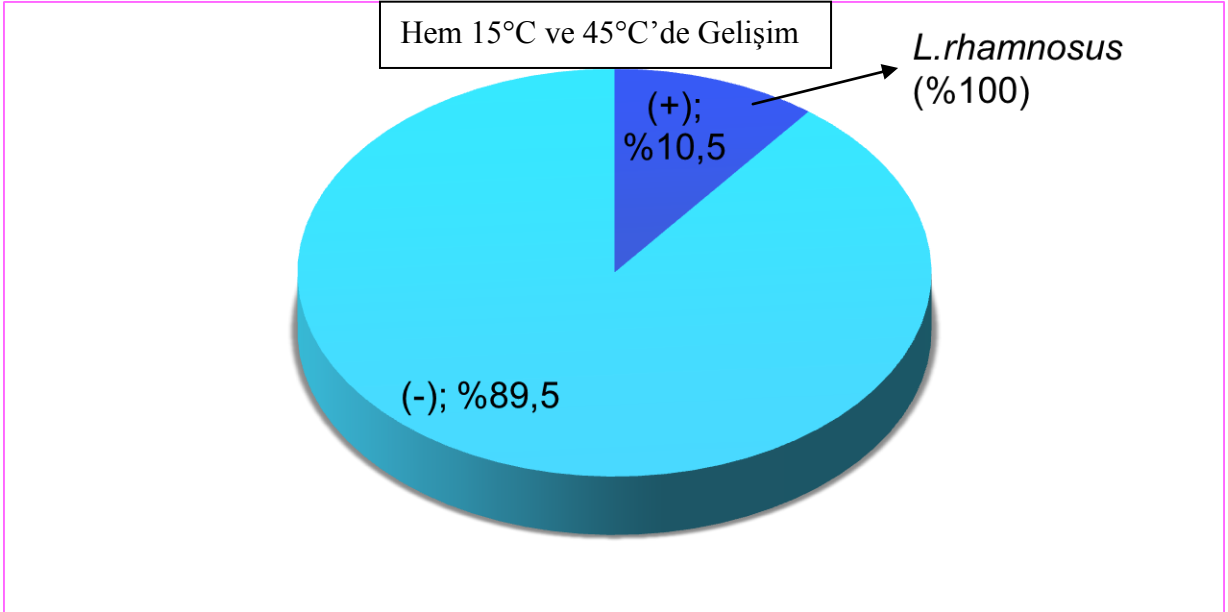


b)

Şekil 4.1.1.1. a) İzolatların tek koloni düşürülmesi, b) Glukozdan gaz üretimi pozitif veren BF 122 nolu örneğin görüntüsü



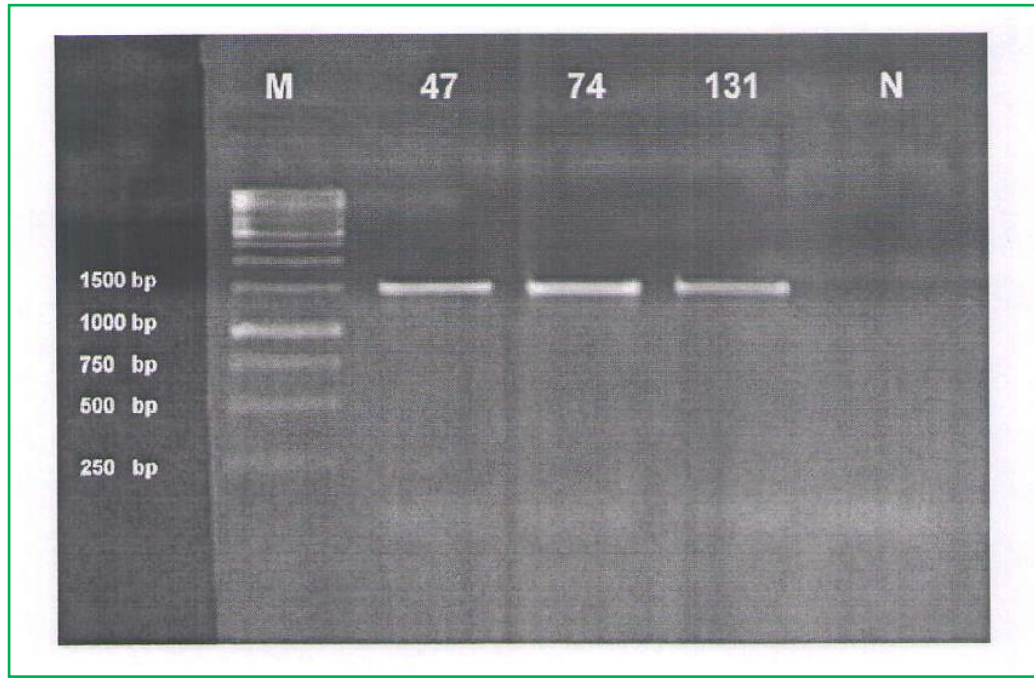
Şekil 4.1.1.2. İzolatların glukozdan gaz oluşturma yetenekleri



Şekil 4.1.1.3. İzolatların 15°C ve 45°C'de gelişme yetenekleri

4.1.2 İzolatların Genotipik Tanımlanması

Universal primer çiftleri kullanılarak ;16S ileri (5-GCA AAC AGG ATT AGA TAC CC-3) ve 16S geri primer (5-AGG AGG TGA TCC AAC CGC A-3), ile 16S ileri 1492r (5-CCCGGGATCCAGCTTTACCTTGTTACGACTT-3), 16S geri primer 27f (5-CCGAATTCGTCGACAACAGAGTTTGATCMTGGA-3) kullanılarak bantlar elde edilmiş ve ve izolatların *Lactobacillus* cinsine ait oldukları moleküler olarak PCR'la tanımlanarak desteklenmiştir. Şekil 4.1.2'de 47, 74 ve 131 nolu izolatların PCR reaksiyonu sonucunda elde edilen % 2'lik jel görüntüsü yer almaktadır.



Şekil 4.1.2. İzolatların (47, 74 ve 131 nolu) universal primeri ile yapılan PCR reaksiyonu sonucunda elde edilen agaroz jel (%2) görüntüsü

4.1.2.1 Dizi analiz sonuçları

DNA örneklerinin PCR'da çoğaltılmasından sonra sekans analizi yapılmadan önce mutlaka PCR ürünlerinden temizlenmesi gerekmektedir. İleri ve geri primerlerle yapılan dizi analizi sonucu elde edilen 16S rDNA sekanslarının NCBI Gen bankası sonuçları ile blastlanması sonrası elde edilen % benzerlikleri aşağıdaki Çizelge 4.1.2.1'de ve tanımlama sonrası % dağılımları Şekil 4.1.2.1.2'de belirtildiği gibidir. Tüm örnekler, yaklaşık 620 baz çifti olarak değerlendirilmeye alınmıştır.

Çizelge 4.1.2.1. İzolatların 16S rDNA sekanslarının NCBI Gen banka sonuçlarına göre % benzerlikleri

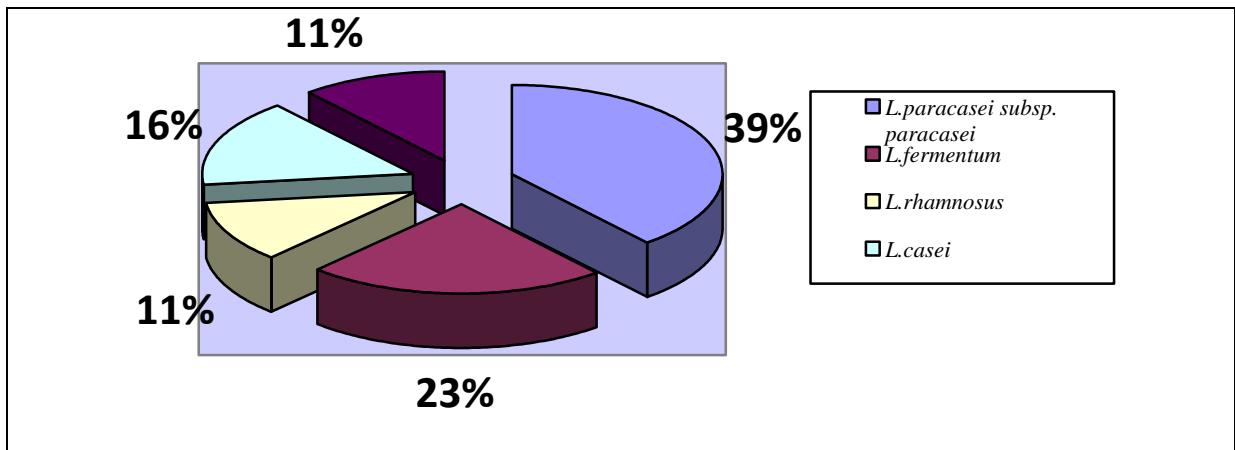
Örnek kodu	EMBL / Gen Bank No	Karşılaştırıldığı Bakteri Türleri	% Homoloji
BF 2	JX520291.1	<i>Lactobacillus</i> sp. HXF0062	% 100
BF 3	CP005958.1	<i>Lactobacillus fermentum</i> F-6	% 100
BF 6	AP012541.1	<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i> JCM 8130	% 100
BF 7	JX409653.1	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> 99	% 95
BF 9	CP002391.1	<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i> 8700:2	% 99
BF 10	KF418815.1	<i>Lactobacillus fermentum</i> FQ002	% 100
BF 13	CP005958.1	<i>Lactobacillus fermentum</i> F-6	% 100
BF 14	AB602936.1	<i>Lactobacillus</i> sp. SCA34	% 100
BF 18	KF418815.1	<i>Lactobacillus fermentum</i> FQ002	% 99
BF 20	AP012541.1	<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i> JCM 8130	% 96
BF 23	KF649202.1	<i>Lactobacillus fermentum</i> A011	% 100
BF 24	AP012541.1	<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i> JCM 8130	% 99
BF 25	KF487550.1	<i>Lactobacillus</i> sp. cemb29	% 100
BF 26	CP005485.1	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> LOCK 908	% 100
BF 27	CP005958.1	<i>Lactobacillus fermentum</i> F-6	% 100
BF 29	CP002033.1	<i>Lactobacillus fermentum</i> CECT 5716	% 100
BF 31	AP012541.1	<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i> JCM 8130	% 99
BF 32	JQ669387.1	<i>Lactobacillus fermentum</i> 907	% 99
BF 34	CP005958.1	<i>Lactobacillus fermentum</i> F-6	% 100
BF 35	CP005486.1	<i>Lactobacillus casei</i> LOCK 919	% 100
BF 37	CP002033.1	<i>Lactobacillus fermentum</i> CECT 5716	% 100
BF 38	HQ177095.1	<i>Lactobacillus</i> sp. lab11	% 97
BF 41	KF649202.1	<i>Lactobacillus fermentum</i> A011	% 100
BF 44	KF649202.1	<i>Lactobacillus fermentum</i> A011	% 100
BF 47	KF418817.1	<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i> FQ005	% 100
BF 53	KF418815.1	<i>Lactobacillus fermentum</i> FQ002	% 99
BF 55	AP012541.1	<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i> JCM 8130	% 99
BF 56	AP012541.1	<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i> JCM 8130	% 99
BF 57	KF487550.1	<i>Lactobacillus</i> sp. cemb29	% 100
BF 59	HE970764.1	<i>Lactobacillus casei</i> W56	% 99

Çizelge 4.1.2.1. İzolatların 16S rDNA sekanslarının NCBI Gen banka sonuçlarına göre % benzerlikleri (devam)			
Örnek kodu	EMBL / Gen Bank No	Karşılaştırıldığı Bakteri Türleri	% Homoloji
BF 61	CP002391.1	<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i> 8700:2	%99
BF 62	AP012541.1	<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i> JCM 8130	%100
BF 68	HE970764.1	<i>Lactobacillus casei</i> W56	%99
BF 69	CP005485.1	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> LOCK 908	%99
BF 70	CP005485.1	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> LOCK 908	%99
BF 73	CP005484.1	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> LOCK 900	%99
BF 74	KF418817.1	<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i> FQ005	%100
BF 75	KF649202.1	<i>Lactobacillus fermentum</i> A011	%100
BF 76	CP005485.1	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> LOCK 908	%100
BF 77	AP012541.1	<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i> JCM 8130	%100
BF 78	AP012541.1	<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i> JCM 8130	%100
BF 80	AP012541.1	<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i> JCM 8130	%100
BF 86	KF358705.1	<i>Lactobacillus casei</i> SSK	%100
BF 89	CP002391.1	<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i> 8700:2	%100
BF 92	AP012541.1	<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i> JCM 8130	%100
BF 96	HE970764.1	<i>Lactobacillus casei</i> W56	%100
BF 97	JX519659.1	<i>Lactobacillus</i> sp. HFH0056	%99
BF 99	AP012541.1	<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i> JCM 8130	%100
BF 100	CP002391.1	<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i> 8700:2	%100
BF 102	AP012541.1	<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i> JCM 8130	%100
BF 105	NR_075033.1	<i>Lactobacillus fermentum</i> IFO 3956	%100
BF 108	AP012541.1	<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i> JCM 8130	%99
BF 109	AP012541.1	<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i> JCM 8130	%100
BF 111	CP003094.1	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> ATCC 8530	%100
BF 112	HE970764.1	<i>Lactobacillus casei</i> W56	%100
BF 117	AP012541.1	<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i> JCM 8130	%100
BF 119	CP002391.1	<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i> 8700:2	%99
BF 120	CP002391.1	<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i> 8700:2	%100
BF 122	CP005958.1	<i>Lactobacillus fermentum</i> F-6	%100
BF 123	CP005486.1	<i>Lactobacillus casei</i> LOCK 919	%100
BF 124	CP002391.1	<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i> 8700:2	%99

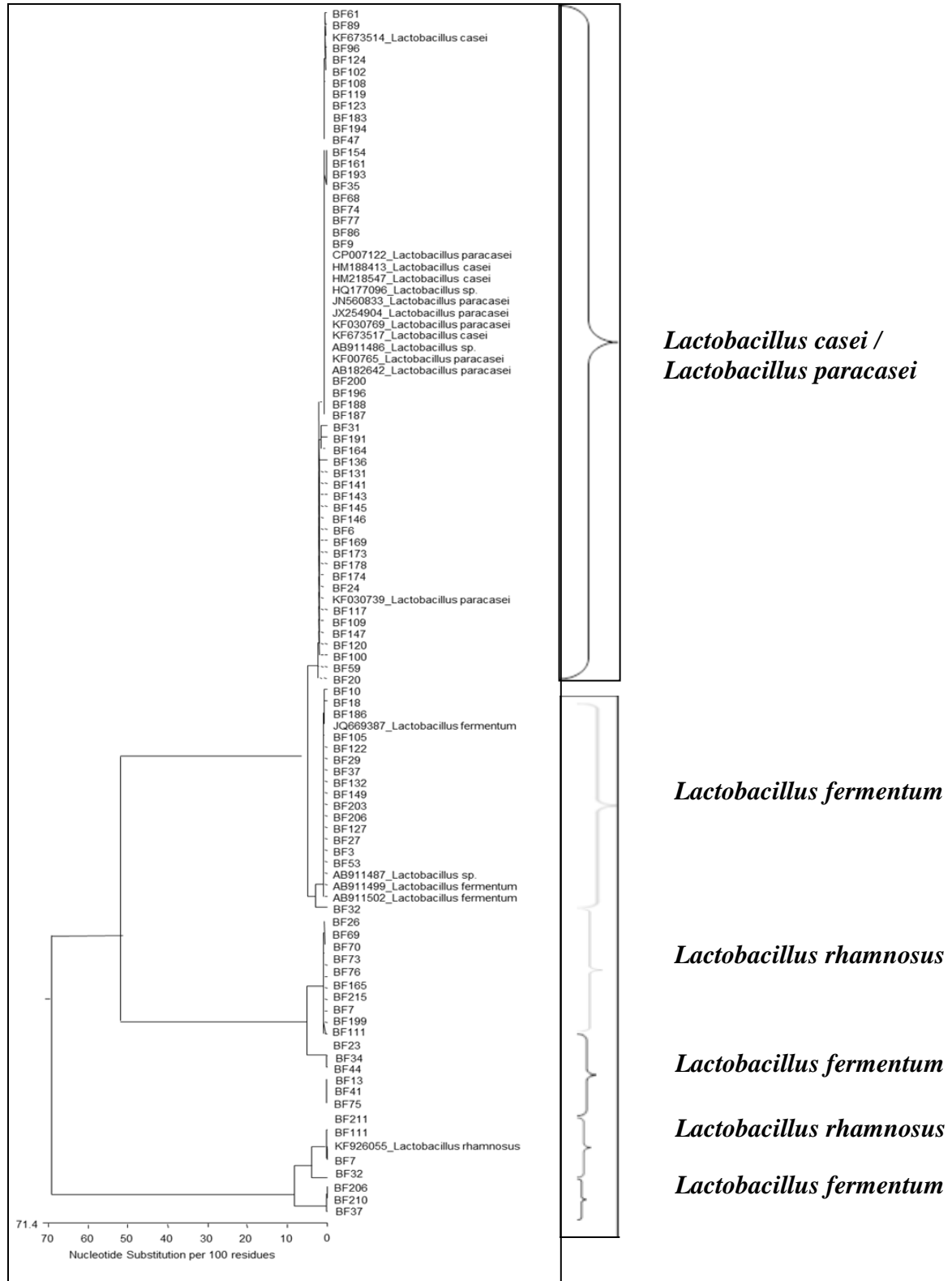
Çizelge 4.1.2.1. İzolatların 16S rDNA sekanslarının NCBI Gen banka sonuçlarına göre % benzerlikleri (devam)			
Örnek kodu	EMBL / Gen Bank No	Karşılaştırıldığı Bakteri Türleri	% Homoloji
BF 125	JQ680137.1	<i>Lactobacillus</i> sp. 2011_ileoo_vsa_e2	%99
BF 127	KF418815.1	<i>Lactobacillus fermentum</i> FQ002	%100
BF 131	CP002391.1	<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i> 8700:2	%100
BF 132	CP005958.1	<i>Lactobacillus fermentum</i> F-6	%100
BF 134	HE970764.1	<i>Lactobacillus casei</i> W56	%100
BF 136	CP002391.1	<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i> 8700:2	%99
BF 141	CP005486.1	<i>Lactobacillus casei</i> LOCK 919	%100
BF 143	CP005486.1	<i>Lactobacillus casei</i> LOCK919	%100
BF 145	CP002391.1	<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i> 8700:2	%100
BF 146	AP012541.1	<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i> JCM 8130	%100
BF 147	CP005486.1	<i>Lactobacillus casei</i> LOCK 919	%100
BF 149	CP005958.1	<i>Lactobacillus fermentum</i> F-6	%100
BF 154	CP002618.1	<i>Lactobacillus casei</i> BD-II	%99
BF 160	HQ177095.1	<i>Lactobacillus</i> sp. lab11	%100
BF 161	AP012541.1	<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i> JCM 8130	%99
BF 164	CP005486.1	<i>Lactobacillus casei</i> LOCK 919	%99
BF 165	CP005485.1	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> LOCK 908	%100
BF 169	KF673503.1	<i>Lactobacillus casei</i> SWU92194	%99
BF 173	HE970764.1	<i>Lactobacillus casei</i> W56	%100
BF 174	CP002618.1	<i>Lactobacillus casei</i> BD-II	%99
BF 178	CP002391.1	<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i> 8700:2	%99
BF 183	AP012541.1	<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i> JCM 8130	%100
BF 184	CP002391.1	<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i> 8700:2	%99
BF 186	KF030779.1	<i>Lactobacillus fermentum</i> M17-1	%99
BF 187	CP002391.1	<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i> 8700:2	%99
BF 188	CP002391.1	<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i> 8700:2	%100
BF 189	KF487550.1	<i>Lactobacillus</i> sp. cemb29	%99
BF 191	HE970764.1	<i>Lactobacillus casei</i> W56	%100
BF 193	AP012541.1	<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i> JCM 8130	%100
BF 194	CP002391.1	<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i> 8700:2	%100
BF 196	CP002391.1	<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i> 8700:2	%100

Çizelge 4.1.2.1. İzolatların 16S rDNA sekanslarının NCBI Gen banka sonuçlarına göre % benzerlikleri (devam)			
Örnek kodu	EMBL / Gen Bank No	Karşılaştırıldığı Bakteri Türleri	% Homoloji
BF 199	NR_102778.1	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG (ATCC 53103)	%99
BF 200	AP012541.1	<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i> JCM 8130	%100
BF 201	AP012541.1	<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i> JCM 8130	%100
BF 203	CP005958.1	<i>Lactobacillus fermentum</i> F-6	%100
BF 205	JQ680137.1	<i>Lactobacillus</i> sp. 2011_Ileo_VSA_E2	%100
BF 206	CP002033.1	<i>Lactobacillus fermentum</i> CECT 5716	%99
BF 210	CP002033.1	<i>Lactobacillus fermentum</i> CECT 5716	%99
BF 211	CP003094.1	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> ATCC 8530	%99
BF 214	KF030779.1	<i>Lactobacillus fermentum</i> M17-1	%100
BF 215	CP005485.1	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> LOCK 908	%99
BF 217	GU197388.1	<i>Lactobacillus</i> sp. TBZ2	%99
BF 218	AP012541.1	<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i> JCM 8130	%100

Elde edilen izolatların DNA dizi analizlerine bakılarak tür düzeyinde tanımları yapılmıştır. Bu analizler sonucunda izolatların 41 adedi % 96-100 oranlarında *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei*, 24 adedi % 99-100 oranlarında *Lactobacillus fermentum*, 11 adedi % 95-100 oranlarında *Lactobacillus rhamnosus*, 17 adedi % 97-100 oranlarında *Lactobacillus casei*, 11 adedi ise %99-100 gibi bir yüksek oranla *Lactobacillus* cinsi içerisinde yer alan fakat tam olarak tanımlanamayan türler oldukları tespit edilmiştir.



Şekil 4.1.2.1.2. LAB İzolatlarının 16S rDNA Sonuçlarına Göre Tanımlanmaları ve Dağılımları



Şekil 4.1.2.1.1. İzole edilen *Lactobacillus* spp.'lerin benzerlik oranları

Yukarıdaki şekil 4.1.2.1.1’de yer alan figürde bebek feçeslerinden elde edilen *Lactobacillus* spp.’lerin çift yönlü sekans iki yönlü kontrol edilerek, DNA sekans benzerlik oranlarına göre 16S filogenetik ağacı çıkarılmıştır. Bazı referans izolatlar da (KF673514, CP007122, HM188413, HM218547, HQ177096, JN560833, JX254904, KF030769, KF673517, AB911486, KF00765, AB182642, KF030739, JQ669387, AB911487, AB911499, AB911502, KF926055) ağaçta yer almaktadır. Örneklerin en büyük grubunu *Lactobacillus casei/paracasei*, bunun yanında *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus rhamnosus* türleri oluşturmuştur. *Lactobacillus fermentum* 3 ayrı ve *Lactobacillus rhamnosus* grubu 2 ayrı şekilde sınıflandırılmıştır. Çalışmamızda aynı grupta yer alan izolatların aynı fenotipik karakteristik özelliklere sahip olduğu belirlenmiştir.

İsveç’te 1,2,4,8 haftalık ve 6,12,18 aylık 112 bebekten dört farklı primer çifti kullanılıp multiplex PCR ile tanımlama yapılan çalışmada izolatlar; *L.rhamnosus*, *L.gasseri*, *L.paracasei* subsp. *paracasei* ve *L.fermentum* olarak tanımlanmıştır. *L.rhamnosus*, popülasyonunun 6 aylık bebeklerde en yüksek düzeyde, *L.paracasei* subsp. *paracasei* popülasyonunun ise 18 aylık bebeklerde en yüksek düzeyde olduğu saptanmıştır (Ahrné ve ark. 2005). Çalışmamızda izole edilen *Lactobacillus* spp.’lerin izole edildikleri bebeklerin yaşlarına göre dağılımlarına bakıldığında *L.paracasei* subsp. *paracasei*, *L.fermentum*, *L.casei* izolatlarında aylara göre bir farklılık belirlenmezken, *L.rhamnosus* popülasyonunun 6 aylık ve daha küçük anne sütüyle beslenen bebeklerde daha yoğun olduğu tespit edilmiştir.

Arıcı ve ark. (2004) yaptıkları çalışmada bebek feçeslerinden izole ettikleri laktobasilleri; *Lactobacillus rhamnosus* (7 suş), *L.paracasei* subsp. *paracasei* (4 suş), *L.fermentum* (4 suş), *L.buchneri* (2 suş), *L.brevis* (1 suş), *L.curvatus* (1 suş) and *Lactobacillus* spp. (2 suş) olarak tanımlamışlardır.

Xanthopoulos ve ark. (2000), bebek feçeslerinden izole ettikleri laktik asit bakterilerini; *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* (6 suş), *L.rhamnosus* (6 suş), *L.acidophilus* (2 suş), *L.gasseri* (3 suş) ve *L.reuteri* (3 suş) olarak tanımlamıştır.

Mccartney ve ark (1996) yılında yaptıkları çalışmada 1 yaşından küçük bebek feçeslerini incelemiş; Laktobasillerin bebek feçeslerinde 10^9 kob/g bulunduğunu belirleyip, izolatları; *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus crispatus* ve *Lactobacillus plantarum* türlerine rastlamışlardır.

Öner (2012), anne sütü ile beslenen yeni doğan bebeklerin feçesinden izole edilen 18 laktobasili; *L.casei* (12 adet), *L.fermentum* (4 adet), *L.rhamnosus* (1 adet) ve *L.plantarum* (1 adet) olarak belirlemiştir.

Özgün (2009), inceledikleri 50 feçes örneğinin 17'sinde gelişme olduğunu belirleyip izole ettiği türleri (*L.fermentum*, *L.reuteri*, *L.rhamnosus*, *L.brevis*, *L.plantarum*) tanımlamış, aynı zamanda 100 kolostrum örneği incelemiş 20'sinde *Lactobacillus* spp. gelişimi gözlemiş ve izolatların 5 farklı türe ait olduklarını (*L.casei*, *L.acidophilus*, *L.acidophilus-3*, *L.brevis*, *L.plantarum*) belirlemiştir.

Wall ve ark. (2007), yaşları 3 gün ile 3 ay arasında değişen 16 bebekten elde ettiği izolatları 16S rRNA ile *Lactobacillus casei/paracasei*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus salivarius*, *Lactobacillus brevis* olarak tanımlamışlardır.

Khalil ve ark. (2007), yaşları 3-6 ay arasında değişen bebek feçeslerinden elde ettiği izolatları API 50 CH ve API 20 ile *L.plantarum*, *L.acidophilus*, *L.brevis*, *L.paracasei* subsp. *paracasei*, *L.pentosus*, *L.fermentum*, *E.faecalis* ve *E.faecium* olarak tanımlamışlardır.

Heilig ve ark. (2002), bebeklerden izole ettikleri bakterileri 16S rDNA ile *Lactobacillus casei* (1), *Lactobacillus salivarius* (3), *Lactobacillus ruminis* (4) olarak tanımlamışlardır.

Satokari ve ark. (2002), yedi anne sütü ve altı bebek maması ile beslenen bebeklerden elde ettiği izolatlarda; koloni sayısında ve tür bazında ciddi bir farklılık gözlemlememiş, en sık rastlanılan türlerin *B.infantis* ve *L.acidophilus* olduğunu rapor etmişlerdir.

Bebeklerden izole edilen izolatlar yapılan çalışmalarda elde edilen bulgularla benzerlik göstermektedir.

4.2 Tanımlanan *Lactobacillus* spp. İzolatlarının Teknolojik ve Probiyotik Özellikleri

4.2.1 İzolatların asit üretme yetenekleri

Asit üretme yeteneklerini test etmek için MRS sıvı besiyeri bulunan tüplere izolatlardan ayrı ayrı inoküle edilerek ve $30\pm 1^\circ\text{C}$ 'de inkübe edilmiş ve inkübasyon süresince 3, 6, 18 ve 24. saatler sonunda kültürlerde pH ölçümleri yapılmıştır. İnkübasyon süresince pH'daki değişimler Çizelge 4.2.1'de verilmiştir. MRS Brothta izolatların 24 saat inkübasyon sonrası pH'ları ise Şekil 4.2.1'de görülmektedir.

Çizelge 4.2.1. İzolatlarda inkübasyon süresince pH'da meydana gelen değişimler

İzolat No	pH			
	3 Saat	6 Saat	18 Saat	24 Saat
BF 2	5,39±0,005	4,95±0,010	4,39±0,015	3,92±0,015
BF 3	5,05±0,015	4,93±0,011	4,30±0,005	4,11±0,020
BF 6	5,53±0,005	4,97±0,015	4,04±0,025	3,88±0,015
BF 7	5,08±0,005	4,76±0,010	4,04±0,005	3,91±0,015
BF 9	5,10±0,015	4,79±0,005	4,21±0,025	4,09±0,005
BF 10	5,11±0,005	4,92±0,010	4,29±0,011	4,13±0,020
BF 13	5,35±0,010	5,07±0,020	4,36±0,010	4,05±0,005
BF 14	5,24±0,015	4,88±0,020	4,01±0,020	3,91±0,005
BF 18	5,06±0,020	4,91±0,015	4,14±0,005	4,04±0,020
BF 20	5,46±0,005	4,90±0,005	4,05±0,005	3,92±0,005
BF 23	4,95±0,011	4,71±0,020	4,10±0,005	3,98±0,011
BF 24	5,51±0,010	4,92±0,005	4,11±0,015	3,96±0,020
BF 25	5,10±0,020	4,93±0,020	4,25±0,015	4,11±0,025
BF 26	5,06±0,010	4,74±0,010	4,19±0,020	4,03±0,005
BF 27	5,11±0,015	4,89±0,020	4,03±0,010	3,91±0,010
BF 29	5,05±0,020	4,80±0,010	4,15±0,005	3,99±0,020
BF 31	5,43±0,020	4,80±0,025	4,04±0,010	3,89±0,005
BF 32	4,98±0,015	4,73±0,015	3,97±0,010	3,87±0,020
BF 34	5,03±0,011	4,89±0,020	4,27±0,010	4,05±0,010

Çizelge 4.2.1. İzolatlarda inkübasyon süresince pH'da meydana gelen değişimler (devam)

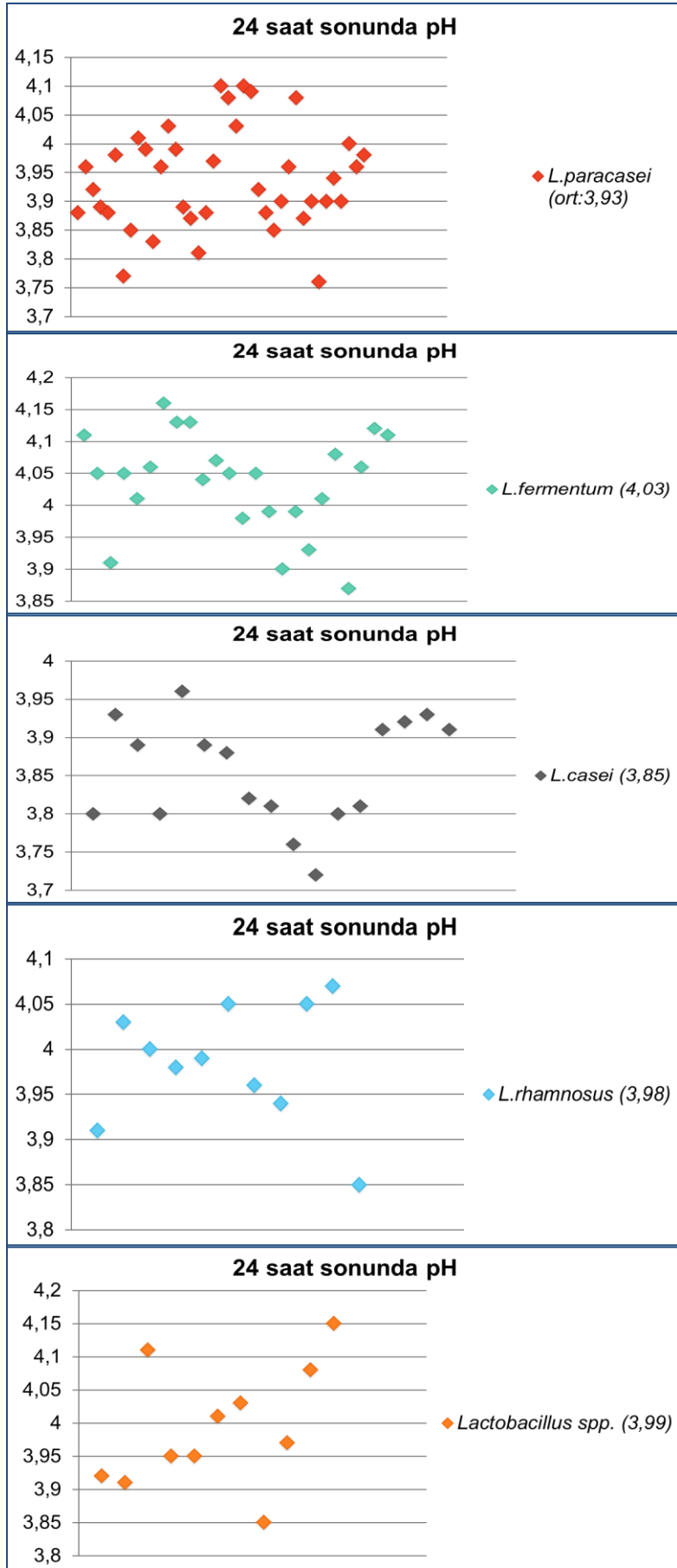
İzolat No	pH			
	3 Saat	6 Saat	18 Saat	24 Saat
BF 35	5,29±0,020	4,99±0,020	4,25±0,015	3,80±0,005
BF 37	5,11±0,010	4,84±0,010	4,16±0,020	3,93±0,025
BF 38	5,00±0,025	4,84±0,011	4,33±0,020	4,01±0,020
BF 41	4,95±0,010	4,87±0,015	4,13±0,015	4,05±0,010
BF 44	4,92±0,010	4,78±0,020	4,17±0,020	3,99±0,010
BF 47	5,22±0,010	4,98±0,010	4,43±0,010	4,07±0,025
BF 53	5,07±0,015	4,85±0,020	4,12±0,010	4,07±0,015
BF 55	5,56±0,010	4,98±0,011	4,16±0,010	3,88±0,005
BF 56	5,47±0,005	5,01±0,005	4,16±0,005	3,98±0,005
BF 57	5,48±0,005	5,05±0,020	4,02±0,015	3,95±0,010
BF 59	5,42±0,010	5,12±0,025	4,14±0,020	3,88±0,010
BF 61	4,80±0,010	4,69±0,010	4,04±0,015	3,92±0,010
BF 62	5,57±0,020	5,21±0,020	3,98±0,020	3,77±0,025
BF 68	5,41±0,015	4,87±0,020	4,17±0,010	3,82±0,010
BF 69	5,03±0,015	4,81±0,010	4,28±0,010	4,00±0,025
BF 70	5,05±0,025	4,87±0,020	4,13±0,005	3,98±0,025
BF 73	5,16±0,010	4,83±0,015	4,08±0,020	3,94±0,020
BF 74	5,12±0,011	4,83±0,005	4,25±0,010	4,03±0,010
BF 75	4,96±0,010	4,69±0,005	3,95±0,020	3,90±0,025
BF 76	5,07±0,025	4,86±0,010	4,11±0,020	3,99±0,025
BF 77	5,44±0,025	5,06±0,010	4,04±0,010	3,85±0,020
BF 78	5,49±0,010	5,08±0,020	4,28±0,025	4,01±0,010
BF 80	5,35±0,005	5,01±0,010	4,13±0,011	3,99±0,020
BF 86	5,17±0,015	5,00±0,015	4,25±0,015	3,91±0,010
BF 89	4,98±0,015	4,66±0,010	4,03±0,005	3,88±0,010
BF 92	5,44±0,020	4,95±0,005	4,18±0,010	3,83±0,010
BF 96	5,37±0,025	4,99±0,025	4,25±0,005	3,81±0,010
BF 97	5,26±0,015	4,94±0,005	4,19±0,025	3,85±0,005
BF 99	5,39±0,010	4,91±0,015	4,26±0,020	3,96±0,015
BF 100	5,06±0,005	4,97±0,010	4,11±0,005	3,85±0,005

Çizelge 4.2.1. İzolatlarda inkübasyon süresince pH'da meydana gelen değişimler (devam)

İzolat No	pH			
	3 Saat	6 Saat	18 Saat	24 Saat
BF 102	5,41±0,011	4,95±0,025	4,08±0,020	4,03±0,011
BF 105	5,11±0,011	4,96±0,005	4,14±0,005	4,06±0,015
BF 108	5,27±0,005	5,07±0,010	4,19±0,010	3,99±0,015
BF 109	5,43±0,025	4,95±0,005	4,08±0,010	3,89±0,015
BF 111	5,07±0,020	4,99±0,020	4,13±0,005	4,05±0,005
BF 112	5,41±0,020	5,11±0,005	3,98±0,020	3,76±0,011
BF 117	5,36±0,025	4,86±0,005	4,07±0,020	3,87±0,025
BF 119	5,03±0,025	4,87±0,015	4,04±0,015	3,90±0,025
BF 120	5,46±0,005	4,90±0,020	4,21±0,010	3,96±0,025
BF 122	4,96±0,005	4,69±0,005	4,22±0,015	4,01±0,015
BF 123	5,27±0,015	4,91±0,020	4,11±0,010	3,93±0,005
BF 124	5,29±0,005	5,16±0,025	4,13±0,005	4,08±0,005
BF 125	5,18±0,010	4,85±0,015	4,21±0,015	3,97±0,005
BF 127	5,10±0,025	4,81±0,025	4,17±0,005	4,05±0,020
BF 131	5,02±0,025	4,76±0,010	4,03±0,015	3,87±0,010
BF 132	5,09±0,010	4,73±0,025	4,27±0,005	4,06±0,010
BF 134	5,42±0,005	5,13±0,030	3,93±0,010	3,72±0,020
BF 136	4,96±0,011	4,72±0,005	3,92±0,020	3,90±0,011
BF 141	5,53±0,015	5,34±0,015	4,14±0,005	3,89±0,010
BF 143	5,51±0,015	5,49±0,010	4,12±0,020	3,80±0,005
BF 145	5,06±0,015	4,80±0,015	3,89±0,015	3,76±0,005
BF 146	5,29±0,005	5,01±0,025	3,91±0,025	3,81±0,020
BF 147	5,55±0,025	5,35±0,015	4,25±0,015	3,96±0,015
BF 149	5,00±0,030	4,86±0,010	4,30±0,015	4,16±0,005
BF 154	5,47±0,010	4,93±0,015	4,11±0,015	3,92±0,015
BF 160	4,98±0,011	4,76±0,010	4,11±0,010	4,03±0,020
BF 161	5,55±0,005	4,90±0,020	4,07±0,020	3,88±0,005
BF 164	5,46±0,020	5,22±0,020	4,25±0,015	3,89±0,020
BF 165	5,13±0,015	4,91±0,010	4,28±0,025	4,05±0,005
BF 169	4,98±0,015	4,71±0,010	4,12±0,005	3,91±0,005

Çizelge 4.2.1. İzolatlarda inkübasyon süresince pH'da meydana gelen değişimler (devam)

İzolat No	pH			
	3 Saat	6 Saat	18 Saat	24 Saat
BF 173	5,37±0,005	5,01±0,020	4,28±0,005	3,80±0,011
BF 174	5,38±0,020	4,85±0,010	4,03±0,020	3,93±0,010
BF 178	5,17±0,020	5,05±0,020	4,37±0,011	3,90±0,020
BF 183	5,22±0,010	4,99±0,005	4,33±0,005	3,97±0,010
BF 184	5,01±0,015	4,69±0,020	4,00±0,015	3,94±0,020
BF 186	5,09±0,015	4,86±0,020	4,21±0,010	4,12±0,020
BF 187	5,16±0,005	5,03±0,005	4,17±0,005	3,90±0,005
BF 188	5,13±0,010	5,02±0,020	4,15±0,020	4,00±0,020
BF 189	5,21±0,011	4,97±0,020	4,28±0,015	3,95±0,005
BF 191	5,38±0,005	4,95±0,015	4,22±0,020	3,81±0,015
BF 193	5,51±0,020	5,01±0,010	4,18±0,020	4,10±0,010
BF 194	5,07±0,010	4,85±0,020	4,13±0,005	3,96±0,020
BF 196	5,15±0,010	5,05±0,005	4,18±0,020	3,98±0,005
BF 199	5,32±0,015	4,99±0,015	4,14±0,015	3,85±0,005
BF 200	5,44±0,020	5,01±0,015	4,26±0,011	4,08±0,005
BF 201	5,36±0,005	4,98±0,010	4,31±0,010	4,03±0,020
BF 203	5,17±0,005	4,92±0,020	4,25±0,010	4,13±0,010
BF 205	5,06±0,015	4,81±0,015	4,35±0,020	4,08±0,015
BF 206	5,07±0,015	4,85±0,005	4,15±0,005	4,01±0,005
BF 210	5,10±0,005	4,87±0,020	4,20±0,015	4,08±0,015
BF 211	5,05±0,005	4,85±0,005	4,17±0,010	4,07±0,015
BF 214	5,12±0,010	4,90±0,010	4,26±0,020	4,11±0,005
BF 215	5,11±0,005	4,80±0,020	4,13±0,005	3,96±0,015
BF 217	5,10±0,020	4,95±0,005	4,32±0,020	4,15±0,015
BF 218	5,35±0,011	5,02±0,020	4,36±0,010	4,10±0,015



Şekil 4.2.1. MRS Brothta izolatların 24 saat inkübasyon sonrası pH'ları

Çalışmamızda bebek feçeslerinden izole ettiğimiz *L.fermentumun* MRS Brothta 24 saatlik inkübasyonu sonucundaki pH değeri 3,90-4,11 arasında olurken, bu değerler *L.rhamnosus* için 3,85-4,07 arasında, *L.casei* için 3,72-3,96 arasında, *L.fermentum* için 3,87-4,16, *L.paracasei* subsp. *paracasei* için 3,76-4,10, *Lactobacillus* spp. için 3,85-4,15 arasında olmuştur.

Menteş ve ark. (2004), izole ettikleri *L.casei*'nin MRS Brothta 24 saatlik inkübasyonu sonucunda pH değerlerini 3,65 ile 4,00 arasında; *L.fermentum*'un pH değerlerini 3,78 ile 4,03 arasında olduğunu tespit etmiştir.

Xanthopoulos ve ark. (2000), bebek feçeslerinden izole ettikleri *Lactobacillus* spp. türlerinin çoğunun 24 saatlik inkübasyon sonrasında pH'ları 5,0'in altına indiğini en iyi asitlendirmeyi *L.rhamnosus* (40°C;3,40-3,51)'un sağladığını belirtmişlerdir.

Arıcı ve ark. (2004), yaptıkları çalışmada bebek feçeslerinden izole ettikleri *Lactobacillus* spp. türlerinin inoküle edildiği sütün 24 saatlik inkübasyon sonrasında çoğunun pH'sının 5,50'nin altına indiğini tespit etmişlerdir.

Kırmacı (2010), geleneksel urfa peynirinden izole ettiği *L.fermentum* suşlarının UHT sütte inkübasyonları sonucunda 0.saatte pH'yı 6,56; 3. saatte 6,30 ile 6,51 arasında; 6. saatte 5,60 ile 6,01 arasında; 9. saatte 5,16 ile 5,52 arasında; 24. saate ise 4,40 ile 4,85 arasında olduğunu tespit etmiştir.

Çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlar Mentеш ve ark. (2004), Arıcı ve ark. (2004), Kırmacı (2010) yaptıkları çalışmada elde ettikleri sonuçlara benzer olmakla birlikte, izolatlarımızda en iyi asitlendirmeyi *L.casei* gerçekleştirmiştir. *L.casei* türü içerisinde *L.casei* W56, 24 saat sonunda MRS Brothta en düşük pH'lara (3,72-3,88) ulaşan izolatları oluşturmuştur

4.2.2 İzolatların hidrojen sülfür üretme yetenekleri

Sharpe ve Franklin (1962), bazı *Lactobacillus* spp.türlerinin düşük pH, anaerobik ortam ve az karbonhidrat içeren substratlarda H₂S ürettiğini bildirmişlerdir.

Çalışmalar, bazı laktik asit bakterilerinin hidrojen sülfür oluşturmadıklarını, hidrojen sülfür üretiminin sülfid redüktaz ve sistein desülfhidraz enzim aktivitesine bağlı olduğunu göstermiştir (Toksoy ve ark. 1999b).

Yapılan çalışmada; Pozitif kontrol olarak: *Salmonella* Enteritidis ATCC 13076, Negatif kontrol olarak: *Escherichia coli* ATCC 35218 bakterileri kullanılmış olup, BF 3, BF 6, BF 9, BF 13, BF 20, BF 24, BF 26, BF 27, BF 31, BF 34, BF 35, BF 55, BF 56, BF 59, BF 61, BF 62, BF 68, BF 69, BF 70, BF 73, BF 76, BF 77, BF 78, BF 80, BF 86, BF 89, BF 92, BF 96, BF 99, BF 100, BF 102, BF 105, BF 108, BF 109, BF 112, BF 117, BF 119, BF 120, BF 122, BF 123, BF 124, BF 131, BF 132, BF 134, BF 136, BF 141, BF 143, BF 145, BF 146, BF 147, BF 149, BF 154, BF 161, BF 164, BF 165, BF 169, BF 173, BF 174, BF 178, BF 183, BF 184, BF 199 nolu izolatların pozitif sonuç verdiği gözlenmiştir.

Arıcı ve ark. (2004) yaptıkları çalışmada bebek feçeslerinden izole ettikleri *L.paracasei* subsp. *paracasei*, *L.buchneri* ve *L.fermentum* suşlarının bazılarının H₂S ürettiğini belirlemişlerdir. Lee ve Simard (1984), *L.rhamnosus*, *L.casei*, *L.fermentum* ve *L.plantarum*'un H₂S ürettiğini rapor etmiştir. Çalışmamızda Lee ve Simard (1984) ve Arıcı ve ark. (2004) benzer sonuçlar elde ettik.



Şekil 4.2.2.1. Hidrojen sülfür pozitif sonuç veren BF 77 izolatının görüntüsü

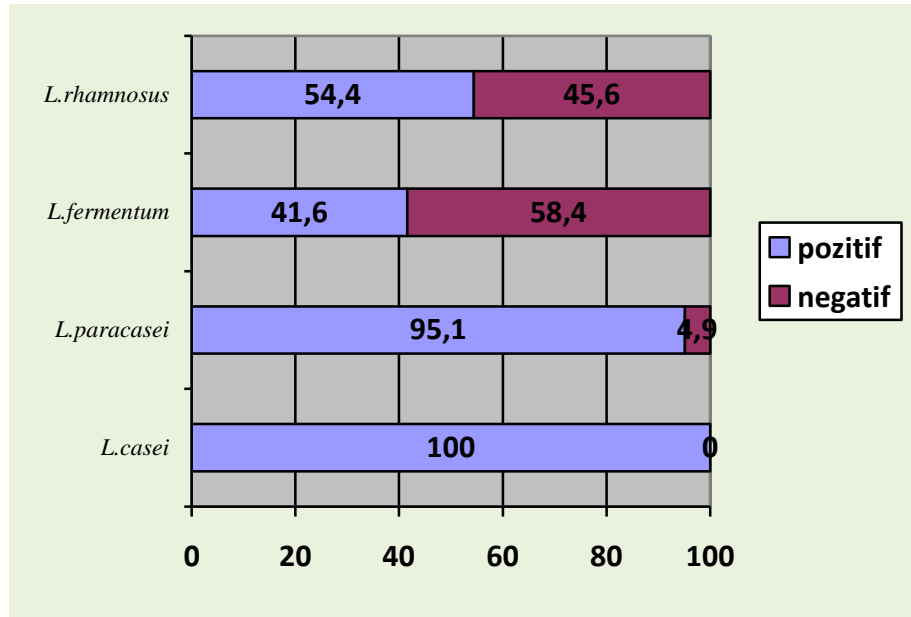
Çalışmamızda, *L.casei*'nin tümünün, *L.paracasei* subsp. *paracasei* ve *L.rhamnosus*'un hemen hemen hepsinin *L.fermentum*'un ise bir kısmının pozitif sonuç verdiği belirlenmiştir. Çizelge 4.2.2 izolatların hidrojen sülfür üretme yetenekleri, Şekil 4.2.2.1'de analizde pozitif sonuç veren örnek, Şekil 4.2.2.1'de ise izolatların % olarak ne kadarının hidrojen sülfür üretebildiği yer almaktadır.

Çizelge 4.2.2. İzolatların hidrojen sülfür üretme yetenekleri

İzolat No	H ₂ S Üretimi	İzolat No	H ₂ S Üretimi	İzolat No	H ₂ S Üretimi	İzolat No	H ₂ S Üretimi
BF 2	-	BF 55	+	BF 109	+	BF 169	+
BF 3	+	BF 56	+	BF 111	-	BF 173	+
BF 6	+	BF 57	-	BF 112	+	BF 174	+
BF 7	-	BF 59	+	BF 117	+	BF 178	+
BF 9	+	BF 61	+	BF 119	+	BF 183	+
BF 10	-	BF 62	+	BF 120	+	BF 184	+
BF 13	+	BF 68	+	BF 122	+	BF 186	-
BF 14	-	BF 69	+	BF 123	+	BF 187	+
BF 18	-	BF 70	+	BF 124	+	BF 188	+
BF 20	+	BF 73	+	BF 125	-	BF 189	+
BF 23	-	BF 74	-	BF 127	-	BF 191	+
BF 24	+	BF 75	-	BF 131	+	BF 193	+
BF 25	-	BF 76	+	BF 132	+	BF 194	+
BF 26	+	BF 77	+	BF 134	+	BF 196	+
BF 27	+	BF 78	+	BF 136	+	BF 199	+
BF 29	-	BF 80	+	BF 141	+	BF 200	+
BF 31	+	BF 86	+	BF 143	+	BF 201	+
BF 32	-	BF 89	+	BF 145	+	BF 203	+
BF 34	+	BF 92	+	BF 146	+	BF 205	+
BF 35	+	BF 96	+	BF 147	+	BF 206	-
BF 37	-	BF 97	-	BF 149	+	BF 210	-
BF 38	-	BF 99	+	BF 154	+	BF 211	-
BF 41	-	BF 100	+	BF 160	-	BF 214	-

Çizelge 4.2.2. İzolatların hidrojen sülfür üretme yetenekleri (devam)

İzolat No	H ₂ S Üretimi	İzolat No	H ₂ S Üretimi	İzolat No	H ₂ S Üretimi	İzolat No	H ₂ S Üretimi
BF 44	-	BF 102	+	BF 161	+	BF 215	-
BF 47	-	BF 105	+	BF 164	+	BF 217	+
BF 53	-	BF 108	+	BF 165	+	BF 218	+



Şekil 4.2.2.2. Laktik asit bakterilerinin hidrojen sülfür üretmeleri (%)

4.2.3 İzolatların hidrojen peroksit üretme yetenekleri

Çalışmamızda *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei*: 0-0,71 µg/mL, *Lactobacillus casei*: 0,73-0,94 µg/mL, *Lactobacillus rhamnosus*: 0-1,01 µg/mL, *Lactobacillus fermentum*: 0-0,45 µg/mL arasında hidrojen peroksit ürettikleri belirlenmiştir. Çizelge 4.2.3’de izolatların hidrojen peroksit üretim miktarları ve Şekil 4.2.3’de izolatların hidrojen peroksit üretme yetenekleri verilmiştir.

Çizelge 4.2.3. İzolatların hidrojen peroksit üretme yetenekleri (µg/mL)

İzolat No	H ₂ O ₂ üretimi	İzolat No	H ₂ O ₂ üretimi
BF 2	-	BF 109	0,71±0,01
BF 3	0,43±0,01	BF 111	0,75±0,02
BF 6	0,68±0,03	BF 112	0,80±0,01
BF 7	0,81±0,01	BF 117	0,65±0,03
BF 9	-	BF 119	-
BF 10	-	BF 120	-
BF 13	0,41±0,01	BF 122	0,44±0,01
BF 14	0,68±0,02	BF 123	0,78±0,02
BF 18	-	BF 124	-
BF 20	0,68±0,03	BF 125	0,46±0,02
BF 23	0,40±0,01	BF 127	-
BF 24	0,65±0,01	BF 131	-
BF 25	-	BF 132	0,41±0,02
BF 26	-	BF 134	0,81±0,03
BF 27	0,41±0,02	BF 136	-
BF 29	-	BF 141	0,78±0,02
BF 31	0,69±0,04	BF 143	0,76±0,03
BF 32	-	BF 145	-
BF 34	0,77±0,02	BF 146	0,69±0,02
BF 35	0,75±0,02	BF 147	0,83±0,04
BF 37	-	BF 149	0,42±0,01
BF 38	0,67±0,04	BF 154	0,83±0,02
BF 41	0,39±0,01	BF 160	-
BF 44	0,40±0,03	BF 161	0,48±0,07

Çizelge 4.2.3. İzolatların hidrojen peroksit üretme yetenekleri (µg/mL) (devam)			
İzolat No	H₂O₂ üretimi	İzolat No	H₂O₂ üretimi
BF 47	0,46±0,02	BF 164	0,76±0,01
BF 53	-	BF 165	-
BF 55	0,65±0,02	BF 169	0,94±0,02
BF 56	0,68±0,03	BF 173	0,74±0,03
BF 57	0,66±0,01	BF 174	0,83±0,02
BF 59	0,75±0,04	BF 178	-
BF 61	-	BF 183	0,65±0,03
BF 62	0,65±0,02	BF 184	-
BF 68	0,77±0,01	BF 186	-
BF 69	-	BF 187	-
BF 70	-	BF 188	-
BF 73	-	BF 189	-
BF 74	0,49±0,01	BF 191	0,94±0,04
BF 75	0,42±0,03	BF 193	0,68±0,01
BF 76	-	BF 194	-
BF 77	0,67±0,05	BF 196	-
BF 78	0,71±0,02	BF 199	1,01±0,05
BF 80	0,68±0,01	BF 200	0,65±0,02
BF 86	0,79±0,02	BF 201	0,65±0,02
BF 89	-	BF 203	0,41±0,01
BF 92	0,69±0,03	BF 205	0,41±0,03
BF 96	0,73±0,03	BF 206	-
BF 97	-	BF 210	-
BF 99	0,69±0,02	BF 211	0,78±0,01
BF 100	-	BF 214	-
BF 102	0,69±0,03	BF 215	-
BF 105	-	BF 217	0,43±0,01
BF 108	0,68±0,01	BF 218	0,63±0,04

Reinheimer ve ark. (1990), laktik asit bakterilerinin, suşların oksijen oksidoredüktaz aktivitelerinin farklı olması dolayısıyla farklı miktarlarda hidrojen peroksit ürettiklerini bildirmişlerdir.

Song ve ark. (1999), bebeklerden izole ettikleri *L.rhamnosus* ve *L.fermentum* 'un H₂O₂ üretebilirken, *L.paracasei* subsp. *paracasei*'nin üretmediğini bildirmişlerdir. *L.crispatus* güçlü bir H₂O₂ üreticisi olduğunu *L.paracasei* subsp. *paracasei* ve *L.plantarumun* üretmediğini bildirmişlerdir.

Vizoso Pinto ve ark. (2006) insanlardan ve geleneksel fermente ürünlerden izole ettikleri *Lactobacillus* spp.lerin probiyotik özelliklerini inceledikleri çalışmada, fermente üründen izole ettikleri *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei*'nin H₂O₂ üretmediğini, %0,4'lük fenol varlığında 24 saatlik inkübasyon sonucunda canlılığında 1,29 log₁₀ kob/mL miktarda azalma olduğunu saptamışlardır.

Ángeles-López ve ark.(2001) insanlardan izole ettikleri 10 *L.fermentum* suşundan 4'ünün ve izole ettikleri bir *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei*'nin H₂O₂ ürettiğini tespit etmişlerdir.

İnsanlardan izole edilen laktobasillerin H₂O₂ üretimlerinin araştırıldığı çalışmada; *L.casei* subsp. *casei* F79; 0,51 mmol/L, *L.casei* subsp. *tolerans* F3; 0,77 mmol/L, *L.paracasei* subsp. *paracasei* F12; 0,29 mmol/L, *L.paracasei* subsp. *paracasei* F57; 0,14 mmol/L, *L.paracasei* subsp. *paracasei* F31; 0,06 mmol/L, *L.paracasei* subsp. *paracasei* F2; 2,17 mmol/L , *L.paracasei* subsp. *paracasei* F28; 1,84 mmol/L , *L.crispatus* F117'nin 2,80 mmol/L ürettiklerini tespi etmişler ve *L.paracasei* subsp. *paracasei* F2, *L.paracasei* subsp. *paracasei* F28 ve *L.crispatus* F117 yüksek seviyelerde H₂O₂ üreterek *S. aureus* gelişimini inhibe edebildikleri belirtilmiştir (Ocana ve ark 1999a, Ocana ve ark 1999 b)

Lactobacillus türü tarafından üretilen H₂O₂'nin normal vajinal ekosistemde spesifik olmayan antimikrobiyal savunma mekanizmasını temsil ettiği belirtilmiştir (Eschenbach ve ark. 1989).

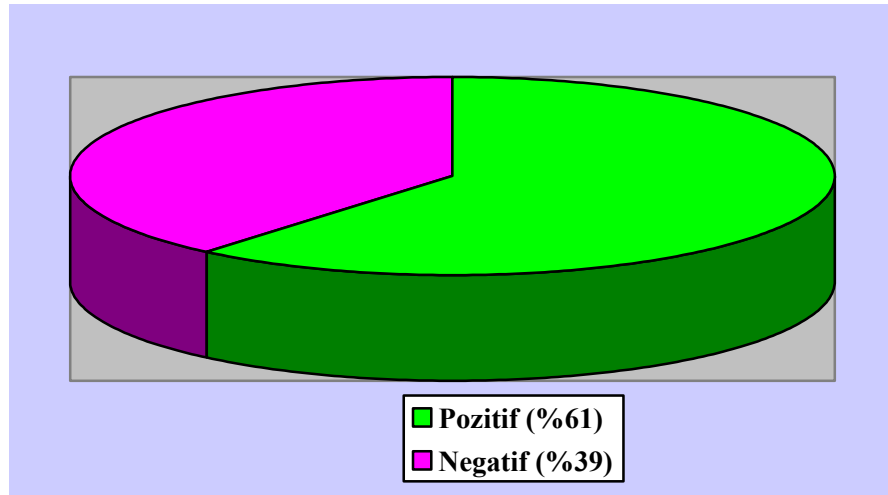
Rabe ve Hillier (2002), sağlıklı kadınlardan izole ettikleri ve daha önce çeşitli kaynaklardan izole edilip tanımlanmış toplamda 206 Laktik asit bakterisinden *L.casei* subsp. *casei* (ATCC 393) ve *L.fermentum* (ATCC 23271)'un H₂O₂ üretmediğini bildirmişlerdir.

Pascual ve ark. (2006)'nın yaptıkları çalışmada ise, bayanlardan izole edilen 37 *L.fermentum* izolatından 23'ünün, 6 *L.casei* subsp. *casei* izolatından da 3'ünün hidrojen peroksit ürettiği belirlenmiştir.

Toksoy ve ark. (1999b) sucuk ve sosislerden izole ettikleri 97 *Laktobasillus* cinsine dahil bakteriden 39 adedinin *L.plantarum* olduğunu belirlemiş, *L.plantarum*'ların 1.80-3.45 µg/mL arasında H₂O₂ ürettiklerini saptamışlardır.

Yüksekdağ ve ark. (2004), kefirde izole ettikleri laktik asit bakterilerinin H₂O₂ üretimlerini 0-0,17 µg/mL arasında tespit etmişlerdir.

Çalışmamızda izolatlardan; *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus rhamnosus* bir kısmının *L.casei*'nin ise tamamının H₂O₂ ürettiği belirlenmiştir. *L.casei*'nin izolatlarının tümü H₂O₂ üretmesine rağmen en yüksek miktarda H₂O₂'nin *L.rhamnosus* GG (BF 199) tarafından üretildiği saptanmıştır.



Şekil 4.2.3. İzolatların hidrojen peroksit üretme yetenekleri

4.2.4 İzolatların D- ve L-Laktat üretme yetenekleri

İzolatların büyük çoğunluğunun (*lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei*, *lactobacillus casei*, *lactobacillus rhamnosus*) L-Laktat ürettikleri tespit edilirken, bir kısmının DL-Laktat (*lactobacillus fermentum*) ürettiği belirlenmiştir. LAB izolatlarının 24 saat inkübasyonu sonundaki laktik asit üretimleri 1,145 ile 3,179 g/L arasında belirlenmiştir. Çizelge 4.2.4 ve Şekil 4.2.4'te izolatların D- ve L-Laktat üretme yetenekleri verilmiştir.

Çizelge 4.2.4. İzolatların D- ve L-Laktat üretme yetenekleri

İzolat No	LA konfigürasyonu	LA Miktar (g/L)	LA İzo. (%)	Toplam LA (g/L)
BF 2	D(-)	0,213	9,8	2,176
	L(+)	1,963	90,2	
BF 3	D(-)	0,656	46,6	1,791
	L(+)	0,835	53,4	
BF 6	D(-)	0,158	6,6	2,397
	L(+)	2,239	93,4	
BF 7	D(-)	0,202	6,8	2,978
	L(+)	2,776	93,2	
BF 9	D(-)	0,132	6,3	2,115
	L(+)	1,983	93,7	
BF 10	D(-)	0,712	44,1	1,577
	L(+)	0,865	54,9	
BF 13	D(-)	0,801	44,9	1,777
	L(+)	0,976	55,1	
BF 14	D(-)	0,199	9,2	2,185
	L(+)	1,986	90,8	
BF 18	D(-)	0,576	38,7	1,491
	L(+)	0,915	61,3	
BF 20	D(-)	0,102	4,4	2,347
	L(+)	2,245	95,6	
BF 23	D(-)	0,824	45,8	1,803
	L(+)	0,979	54,2	

Çizelge 4.2.4. İzolatların D- ve L-Laktat üretme yetenekleri (devam)

İzolat No	LA konfigürasyonu	LA Miktar (g/L)	LA İzo. (%)	Toplam LA (g/L)
BF 24	D(-)	0,215	8,2	2,652
	L(+)	2,437	91,8	
BF 25	D(-)	0,137	6,8	2,025
	L(+)	1,888	93,2	
BF 26	D(-)	0,127	7,9	1,612
	L(+)	1,485	92,1	
BF 27	D(-)	0, 645	41,9	1,542
	L(+)	0, 897	58,1	
BF 29	D(-)	0,814	49,9	1,659
	L(+)	0,845	50,1	
BF 31	D(-)	0,123	5,9	2,119
	L (+)	1,996	94,1	
BF 32	D(-)	0,692	47,9	1,460
	L(+)	0,768	52,1	
BF 34	D(-)	0,614	46,7	1,315
	L(+)	0,701	53,3	
BF 35	D(-)	0,119	5,6	2,157
	L(+)	2,038	94,4	
BF 37	D(-)	0,998	47,8	2,087
	L(+)	1,089	52,2	
BF 38	D(-)	0,114	4,9	2,365
	L(+)	2,251	95,1	
BF 41	D(-)	0,814	44,1	1,848
	L(+)	1,034	55,9	
BF 44	D(-)	0,487	42,6	1,145
	L(+)	0,658	57,4	
BF 47	D(-)	0,123	6,1	2,025
	L(+)	1,902	93,9	
BF 53	D(-)	0,689	46,2	1,491
	L(+)	0,802	53,8	

Çizelge 4.2.4. İzolatların D- ve L-Laktat üretme yetenekleri (devam)

İzolat No	LA konfigürasyonu	LA Miktar (g/L)	LA İzo. (%)	Toplam LA (g/L)
BF 55	D(-)	0,205	8,1	2,556
	L(+)	2,351	91,9	
BF 56	D(-)	0,196	7,6	2,598
	L(+)	2,402	92,4	
BF 57	D(-)	0,209	9,6	2,192
	L(+)	1,983	90,4	
BF 59	D(-)	0,215	7,3	2,949
	L(+)	2,734	92,7	
BF 61	D(-)	0,105	5,4	1,950
	L(+)	1,845	94,6	
BF 62	D(-)	0,189	7,2	2,644
	L(+)	2,455	92,8	
BF 68	D(-)	0,189	6,5	2,945
	L(+)	2,756	93,5	
BF 69	D(-)	0,106	7,4	1,439
	L(+)	1,333	92,6	
BF 70	D(-)	0,134	7,9	1,703
	L(+)	1,569	92,1	
BF 73	D(-)	0,146	9,3	1,585
	L(+)	1,439	90,7	
BF 74	D(-)	0,108	5,5	1,987
	L(+)	1,879	94,5	
BF 75	D(-)	0,867	46,3	1,875
	L(+)	1,008	53,7	
BF 76	D(-)	0,168	9,4	1,805
	L(+)	1,637	90,6	
BF 77	D(-)	0,215	9,1	2,381
	L(+)	2,166	90,9	
BF 78	D(-)	0,133	5,6	2,385
	L(+)	2,252	94,4	

Çizelge 4.2.4. İzolatların D- ve L-Laktat üretme yetenekleri (devam)

İzolat No	LA konfigürasyonu	LA Miktar (g/L)	LA İzo. (%)	Toplam LA (g/L)
BF 80	D(-)	0,163	6,2	2,658
	L(+)	2,495	93,8	
BF 86	D(-)	0,213	8,6	2,484
	L(+)	2,271	91,4	
BF 89	D(-)	0,144	6,9	2,109
	L(+)	1,965	93,1	
BF 92	D(-)	0,166	6,3	2,651
	L(+)	2,485	93,7	
BF 96	D(-)	0,303	9,6	3,179
	L(+)	2,876	90,4	
BF 97	D(-)	0,154	7,7	2,017
	L(+)	1,863	92,3	
BF 99	D(-)	0,137	5,6	2,463
	L(+)	2,326	94,4	
BF 100	D(-)	0,159	8,0	2,005
	L(+)	1,846	92,0	
BF 102	D(-)	0,135	5,6	2,437
	L(+)	2,302	94,4	
BF 105	D(-)	0,795	39,3	2,026
	L(+)	1,231	60,7	
BF 108	D(-)	0,147	6,9	2,155
	L(+)	2,008	93,1	
BF 109	D(-)	0,155	6,7	2,323
	L(+)	2,168	93,3	
BF 111	D(-)	0,270	9,6	2,814
	L(+)	2,544	90,4	
BF 112	D(-)	0,235	8,3	2,858
	L(+)	2,623	91,7	
BF 117	D(-)	0,127	5,0	2,559
	L(+)	2,432	95,0	

Çizelge 4.2.4. İzolatların D- ve L-Laktat üretme yetenekleri (devam)

İzolat No	LA konfigürasyonu	LA Miktar (g/L)	LA İzo. (%)	Toplam LA (g/L)
BF 119	D(-)	0,204	9,2	2,241
	L(+)	2,037	90,8	
BF 120	D(-)	0,172	8,5	2,041
	L(+)	1,869	91,5	
BF 122	D(-)	0,915	49,2	1,861
	L(+)	0,946	50,8	
BF 123	D(-)	0,122	5,9	2,097
	L(+)	1,975	94,1	
BF 124	D(-)	0,131	6,7	1,979
	L(+)	1,848	93,3	
BF 125	D(-)	1,104	47,9	2,301
	L(+)	1,197	52,1	
BF 127	D(-)	0,815	48,2	1,694
	L(+)	0,879	51,8	
BF 131	D(-)	0,208	9,1	2,296
	L(+)	2,088	90,9	
BF 132	D(-)	0,445	38,2	1,169
	L(+)	0,723	61,8	
BF 134	D(-)	0,167	5,6	2,990
	L(+)	2,823	94,4	
BF 136	D(-)	0,115	5,7	2,019
	L(+)	1,904	94,3	
BF 141	D(-)	0,153	6,7	2,287
	L(+)	2,134	93,3	
BF 143	D(-)	0,165	7,6	2,173
	L(+)	2,008	92,4	
BF 145	D(-)	0,131	6,3	2,097
	L(+)	1,966	93,7	
BF 146	D(-)	0,167	8,0	2,100
	L(+)	1,933	92,0	

Çizelge 4.2.4. İzolatların D- ve L-Laktat üretme yetenekleri (devam)

İzolat No	LA konfigürasyonu	LA Miktar (g/L)	LA İzo. (%)	Toplam LA (g/L)
BF 147	D(-)	0,164	6,9	2,388
	L(+)	2,224	93,1	
BF 149	D(-)	0,781	49,4	1,579
	L(+)	0,798	50,6	
BF 154	D(-)	0,221	9,7	2,300
	L(+)	2,079	90,3	
BF 160	D(-)	0,186	8,1	2,305
	L(+)	2,119	91,9	
BF 161	D(-)	0,186	8,1	2,305
	L(+)	2,119	91,9	
BF 164	D(-)	0,176	7,4	2,402
	L(+)	2,226	92,6	
BF 165	D(-)	0,117	6,6	1,780
	L(+)	1,663	93,4	
BF 169	D(-)	0,237	9,3	2,559
	L(+)	2,322	90,7	
BF 173	D(-)	0,112	3,9	2,919
	L(+)	2,807	96,1	
BF 174	D(-)	0,125	5,2	2,421
	L(+)	2,296	94,8	
BF 178	D(-)	0,126	6,1	2,074
	L(+)	1,948	93,9	
BF 183	D(-)	0,136	5,7	2,421
	L(+)	2,285	94,3	
BF 184	D(-)	0,128	6,9	1,862
	L(+)	1,734	93,1	
BF 186	D(-)	0,385	28,8	1,341
	L(+)	0,956	71,2	
BF 187	D(-)	0,132	5,8	2,297
	L(+)	2,165	94,2	

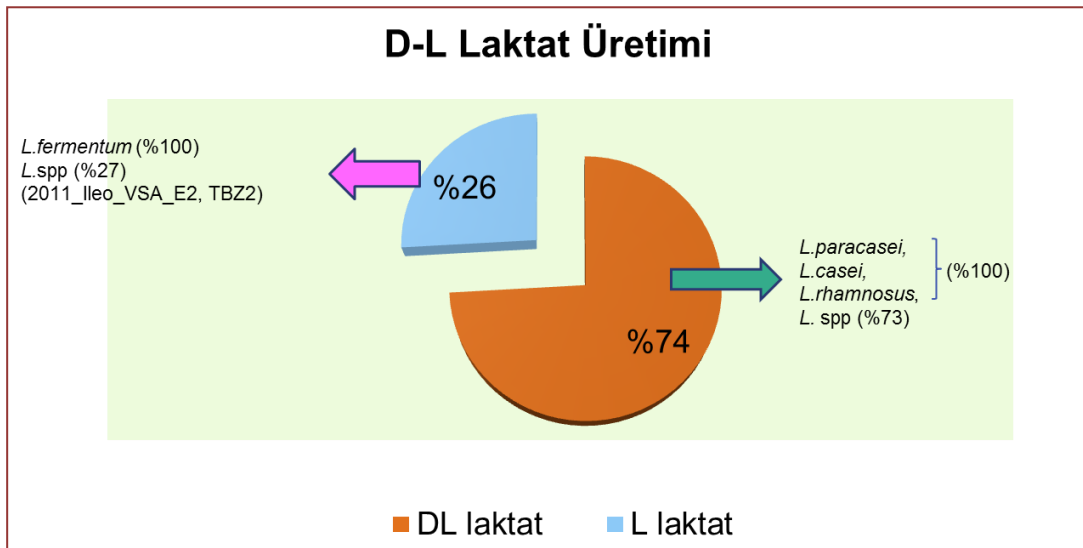
Çizelge 4.2.4. İzolatların D- ve L-Laktat üretme yetenekleri (devam)

İzolat No	LA konfigürasyonu	LA Miktar (g/L)	LA İzo. (%)	Toplam LA (g/L)
BF 188	D(-)	0,126	6,1	2,097
	L(+)	1,971	93,9	
BF 189	D(-)	0,213	9	2,376
	L(+)	2,163	91	
BF 191	D(-)	0,229	7,9	2,901
	L(+)	2,672	92,1	
BF 193	D(-)	0,212	8,8	2,420
	L(+)	2,208	91,2	
BF 194	D(-)	0,178	8,7	2,054
	L(+)	1,876	91,3	
BF 196	D(-)	0,176	8,3	2,123
	L(+)	1,947	91,7	
BF 199	D(-)	0,249	9,5	2,634
	L(+)	2,385	90,5	
BF 200	D(-)	0,121	5,9	2,055
	L(+)	1,934	94,1	
BF 201	D(-)	0,116	5,5	2,123
	L(+)	2,007	94,5	
BF 203	D(-)	0,659	40,2	1,640
	L(+)	0,981	59,8	
BF 205	D(-)	0,493	36,1	1,366
	L(+)	0,873	63,9	
BF 206	D(-)	0,677	42,7	1,582
	L(+)	0,905	57,8	
BF 210	D(-)	0,552	33,1	1,668
	L(+)	1,116	66,9	
BF 211	D(-)	0,126	4,3	2,974
	L(+)	2,848	95,7	
BF 214	D(-)	0,576	39,2	1,470
	L(+)	0,894	60,8	

Çizelge 4.2.4. İzolatların D- ve L-Laktat üretme yetenekleri (devam)

İzolat No	LA konfigürasyonu	LA Miktar (g/L)	LA İzo. (%)	Toplam LA (g/L)
BF 215	D(-)	0,147	9,8	1,512
	L(+)	1,365	90,2	
BF 217	D(-)	0,725	39,3	1,847
	L(+)	1,122	60,7	
BF 218	D(-)	0,135	5,8	2,336
	L(+)	2,201	94,2	

LA: Laktik Asit



Şekil 4.2.4. İzolatların D-L laktat üretme yetenekleri (%)

İnsanlarda D (-) laktik asit LDH enzimleri tarafından hidrolize olamadığından dolayı kanda asitliğin artmasına sebep olması nedeniyle Laktik asit bakterileri tarafından üretilen laktik asit izomerin çeşidi önem kazanmaktadır. WHO; D (-) laktik asit alımını günlük olarak birey için maximum 100 mg/kg olarak belirlemiştir ve bebek ve çocuklar için kullanımını önermemektedir. L (+) laktik asit alımı için her hangi bir sınırlama getirilmemiştir. (Anonim 1968, Caplice ve Fitzgerald 1999, Holzapfel 2002).

Collins ve ark. (1989) *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei*, *Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerans* ve *Lactobacillus rhamnosus*'un DNA homolojilerini inceledikleri çalışmada, bu türlerin L (+) laktik asit üreticisi olduğunu belirtmişlerdir.

Hammes ve ark. (1992) yayınladıkları çalışmada *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei*, *Lactobacillus paracasei* subsp. *tolerans*, *Lactobacillus rhamnosus* türlerinin L (+) laktik asit; *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *delbrueckii*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lactobacillus jensenii* D (-) laktik asit; *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus curvatus*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus sake* 'nin DL- laktik asit üreticisi olduğunu belirtmişlerdir.

Adnan ve Tan (2007) Malezya'da fermente gıda ve keçi sütünden izole ettikleri *Lactobacillus casei*, *Lactococcus lactis*'in L (+) laktik asit, *Lactobacillus plantarum*'un ise DL laktik asit ürettiğini belirlemişlerdir.

Xanthopoulos ve ark. (1999), bebek feçeslerinden izole ettikleri *Lactobacillus* spp.'lerin farklılıklarını (SDS-PAGE ve Rna oligonükleotid hedefli) inceledikleri çalışmada, *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei*, *Lactobacillus acidophilus* ve *Lactobacillus reuteri*'nin DL- laktik asit; *Lactobacillus rhamnosus*'un L (+) laktik asit ürettiğini belirlemişlerdir.

Dicks ve Endo (2009), Laktik asit bakterilerinin taksonomik statülerini ve farklılıklarını belirttikleri çalışmada *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei*, *Lactobacillus casei* ve *Lactobacillus rhamnosus* 'un L (+) laktik asit ürettiğini belirtmişlerdir.

Bebek feçeslerinden izole edilen izolatların D-L laktik asit üretimleri Collins ve ark. (1989), Hammes ve ark. (1992), Adnan ve Tan (2007) ve Dicks ve Endo (2009)'nun yaptıkları çalışmalar sonucunda elde ettikleri bulgularla aynı, Xanthopoulos ve ark. (1999)'nin elde ettikleri sonuçların bir kısmıyla paralel özellikler göstermektedir.

4.2.5 İzolatların antibakteriyel aktiviteleri

Antibakteriyel etkinin belirlenmesi için agar difüzyon yöntemi, patojen olarak *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Listeria monocytogenes* (ATCC 7644), *Salmonella* Enteritidis (ATCC 13076), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Escherichia coli* O157:H7 (NCTC 12900) kullanılmıştır. İzolatların antibakteriyel aktiviteleri Çizelge 4.2.5'te, izolatlarının patojenlere karşı inhibisyon yetenekleri ise Şekil 4.2.5'te gösterilmiştir. İzolatlar genel olarak en fazla *S. aureus* üzerinde etkili olmuştur. *L.monocytogenes* üzerindeki etki ise genel olarak diğerlerine olan etkiden daha düşük bulunmuştur.

Çizelge 4.2.5. İzolatların antibakteriyel aktiviteleri (Zon çapı; mm)

İzolat No	<i>E.coli</i>	<i>E.coli</i> O157:H7	<i>L.monocytogenes</i>	<i>S.Enteritidis</i>	<i>S.aureus</i>
BF 2	14,4±0,3	10,0±0,9	6,7±0,6	10,9±1,1	16,3±0,8
BF 3	11,3±0,6	11,2±0,5	12,4±0,3	12,9±0,5	13,3±0,2
BF 6	15,3±1,1	11,1±0,3	7,8±0,7	13,6±1,0	17,4±0,7
BF 7	-	10,7±0,7	10,5±0,6	12,3±0,6	11,5±0,2
BF 9	14,3±1,0	10,1±0,3	6,9±0,6	10,6±0,8	16,2±0,9
BF 10	8,3±0,3	8,8±0,3	-	14,0±0,3	13,6±0,5
BF 13	11,5±0,5	11,5±0,5	12,3±0,6	12,7±0,5	13,3±0,3
BF 14	15,2±0,3	10,7±0,3	7,9±0,5	14,0±1,1	17,1±0,8
BF 18	8,6±1,2	9,0±0,9	-	14,5±0,9	14,1±0,6
BF 20	14,8±1,1	10,5±0,5	6,7±0,6	13,1±0,4	15,5±0,4
BF 23	12,4±0,3	9,5±0,8	11,8±0,5	7,7±0,9	22,3±0,9
BF 24	15,2±0,6	10,7±0,6	8,1±0,3	13,5±0,9	17,8±0,3
BF 25	14,2±1,1	10,2±0,9	6,5±0,8	10,5±0,8	15,9±0,3
BF 26	13,4±0,8	8,4±0,5	13,1±1,1	11,6±0,7	14,2±1,0
BF 27	11,2±0,6	11,0±0,7	12,2±0,4	12,0±0,9	13,2±1,1
BF 29	9,7±0,6	9,2±0,9	10,1±1,1	8,3±0,9	7,6±0,6
BF 31	15,0±0,6	10,6±0,8	7,8±0,7	14,1±0,5	17,5±0,8
BF 32	17,3±0,8	24,0±0,5	15,4±0,6	21,6±0,9	-
BF 34	11,0±0,5	10,9±0,9	12,4±1,1	12,6±0,4	13,0±0,5
BF 35	13,2±0,5	9,3±0,6	12,8±0,5	9,6±0,6	12,4±0,7
BF 37	10,2±0,6	9,4±0,6	10,3±0,7	9,3±1,2	8,1±0,4
BF 38	14,7±0,4	10,5±0,8	7,2±0,8	13,9±0,6	17,1±0,5
BF 41	12,6±0,5	9,0±0,5	11,3±0,9	7,9±0,4	21,5±0,5

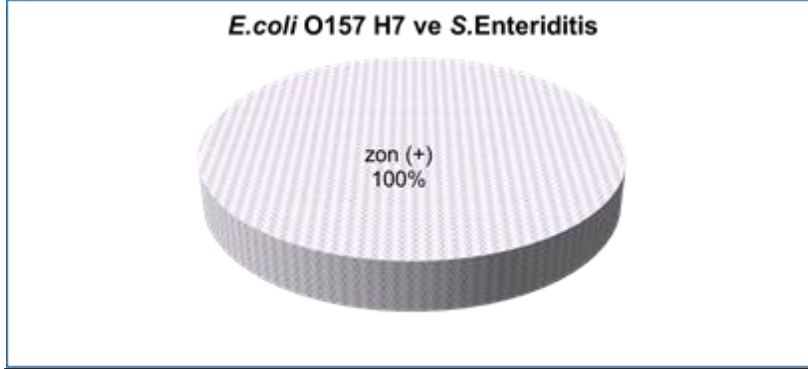
Çizelge 4.2.5. İzolatlarının antibakteriyel aktiviteleri (Zon çapı; mm)(devam)					
İzolat No	<i>E.coli</i>	<i>E.coli</i> O157:H7	<i>L.monocytogenes</i>	<i>S.Enteritidis</i>	<i>S.aureus</i>
BF 44	12,4±0,6	9,4±0,8	11,6±1,0	7,9±0,3	21,1±1,1
BF 47	16,1±0,9	11,3±0,7	9,2±0,6	6,7±0,8	17,5±0,4
BF 53	8,4±0,6	8,7±0,3	-	14,4±0,7	13,6±0,6
BF 55	14,8±0,8	10,7±1,0	8,1±0,8	12,9±0,7	17,9±0,8
BF 56	14,8±0,3	10,2±0,6	7,6±0,9	13,4±1,1	17,4±0,9
BF 57	15,1±0,5	10,3±0,6	8,0±0,8	14,5±0,5	18,3±0,5
BF 59	17,8±0,4	10,8±0,5	11,9±0,3	10,6±0,6	12,5±0,5
BF 61	14,1±0,6	10,3±1,1	6,8±0,5	11,0±0,7	15,8±1,1
BF 62	14,9±0,6	11,0±0,5	7,5±0,8	13,3±0,5	17,2±0,6
BF 68	17,5±0,6	10,4±0,7	11,7±1,1	10,2±0,3	12,8±0,7
BF 69	13,4±1,0	8,5±0,8	12,7±0,6	11,3±0,7	14,2±1,1
BF 70	13,4±0,4	8,7±0,3	13,1±0,3	11,2±0,7	14,2±0,8
BF 73	13,6±0,9	8,3±0,3	13,5±0,7	11,4±0,3	14,3±0,6
BF 74	16,3±0,3	11,3±0,7	9,5±0,6	6,8±1,4	17,7±0,9
BF 75	12,4±0,4	9,8±0,4	11,7±0,4	7,7±0,8	21,0±1,7
BF 76	13,5±0,9	8,4±1,1	13,3±1,5	11,0±0,6	14,1±0,8
BF 77	14,6±0,7	9,8±0,3	8,8±0,8	13,7±0,4	16,5±1,0
BF 78	15,0±0,6	11,1±0,6	8,0±0,6	13,5±1,1	16,1±0,7
BF 80	14,9±1,1	10,2±0,9	7,5±0,9	13,4±0,7	17,2±0,3
BF 86	12,3±0,9	10,0±0,5	8,6±0,5	10,7±0,5	14,7±0,9
BF 89	14,1±0,7	10,2±0,7	7,2±0,8	10,7±0,8	16,5±0,6
BF 92	15,1±0,5	10,7±0,8	8,2±0,4	13,9±0,8	17,5±0,9
BF 96	17,4±0,7	10,9±1,0	12,6±0,7	10,5±0,4	12,1±0,7
BF 97	14,1±0,9	10,0±0,7	6,3±0,8	10,5±0,6	16,0±1,2
BF 99	14,9±1,0	10,4±0,9	7,7±1,2	13,3±0,8	16,9±0,8
BF 100	14,3±0,6	10,6±0,8	6,4±0,7	10,8±0,4	16,3±1,3
BF 102	14,7±0,7	10,5±0,6	7,5±0,8	11,4±0,4	17,7±1,0
BF 105	13,7±0,5	7,3±0,9	13,5±0,4	13,9±0,4	13,2±0,6
BF 108	14,9±0,4	10,0±0,7	7,4±1,1	14±0,7	16,2±0,3
BF 109	14,7±0,6	10,4±0,7	7,5±0,4	11,7±0,5	18,0±0,8
BF 111	13,7±0,4	8,6±1,0	13,5±0,8	11,1±0,3	14,8±1,0
BF 112	17,4±0,8	10,5±0,5	11,7±0,8	10,3±0,9	12,7±0,7
BF 117	15,3±0,7	11,1±0,2	8,9±0,5	13,5±1,0	17,6±0,3

Çizelge 4.2.5. İzolatlarının antibakteriyel aktiviteleri (Zon çapı; mm) (devam)					
İzolat No	<i>E.coli</i>	<i>E.coli</i> O157:H7	<i>L.monocytogenes</i>	<i>S.Enteritidis</i>	<i>S.aureus</i>
BF 119	14,4±1,1	10,2±0,8	6,7±0,3	10,4±0,6	16,6±0,3
BF 120	14,3±1,1	10,5±0,8	6,5±0,7	10,3±0,6	16,8±0,6
BF 122	11,0±0,6	11,5±0,7	12,1±0,2	12,8±0,3	13,0±0,8
BF 123	13,4±0,3	9,1±0,5	12,2±1,0	9,6±0,5	12,4±0,9
BF 124	14,2±0,5	10,7±1,2	6,8±0,8	10,6±0,5	16,5±0,7
BF 125	11,3±0,4	11,1±0,6	12,4±0,7	13,0±0,6	13,1±0,2
BF 127	8,6±0,3	8,5±0,3	-	14,1±0,3	13,5±0,3
BF 131	14,1±0,3	10,1±0,5	6,8±0,7	10,7±0,6	15,8±0,9
BF 132	11,2±0,9	11,5±1,0	12,3±0,3	13,1±0,3	13,0±1,6
BF 134	17,3±0,6	10,1±1,0	11,4±0,7	10,3±0,2	12,3±0,7
BF 136	14,1±0,2	10,4±0,9	6,7±0,5	10,1±0,3	15,7±0,7
BF 141	13,3±0,7	9,5±0,3	12,6±0,3	9,8±0,6	12,0±0,8
BF 143	13,2±0,7	9,4±0,6	12,4±0,8	9,9±0,7	12,5±0,8
BF 145	14,4±0,3	10,1±0,5	7,0±1,0	10,3±1,0	16,4±1,0
BF 146	15,1±0,2	10,8±0,6	8,4±0,3	13,3±0,5	17,0±0,7
BF 147	13,5±0,3	9,0±0,7	12,3±0,7	9,5±0,5	12,5±0,8
BF 149	11,5±0,5	12,0±0,3	12,0±0,6	12,4±0,3	13,3±0,9
BF 154	14,5±1,0	10,3±1,0	7,5±0,3	13,5±0,5	15,7±0,6
BF 160	14,6±0,7	10,2±0,2	6,6±0,7	10,9±0,7	16,0±0,3
BF 161	15,3±0,3	10,5±0,7	7,8±0,5	13,3±0,6	17,6±0,4
BF 164	13,1±1,1	9,5±0,9	12,6±0,4	9,7±0,3	12,5±0,5
BF 165	13,5±0,5	8,4±0,7	13,2±0,9	11,3±0,8	14,2±1,0
BF 169	17,0±0,9	15,6±0,3	14,8±0,9	17,1±0,7	19,3±0,6
BF 173	17,3±0,6	10,3±0,3	11,5±0,5	10,2±0,2	12,3±0,7
BF 174	14,1±0,2	10,8±0,4	7,7±0,9	13,5±0,9	15,9±0,6
BF 178	14,4±0,3	10,4±0,6	6,7±0,3	9,9±0,4	16,5±1,0
BF 183	15,2±0,3	10,8±0,5	7,5±1,1	13,9±0,3	17,0±0,3
BF 184	14,4±0,9	10,7±0,5	6,9±0,6	10,3±0,2	16,5±1,2
BF 186	8,5±1,1	8,9±0,7	9,7±0,7	9,5±0,6	10,1±0,2
BF 187	14,2±0,3	10,5±0,5	6,5±0,9	9,9±0,5	15,4±0,3
BF 188	14,3±0,4	10,5±0,5	6,7±1,0	10,4±0,8	16,1±0,7
BF 189	14,1±0,3	10,2±1,2	7,0±0,5	10,2±1,1	15,8±0,7
BF 191	17,4±0,7	10,3±0,9	11,5±0,9	10,6±0,3	12,4±0,6

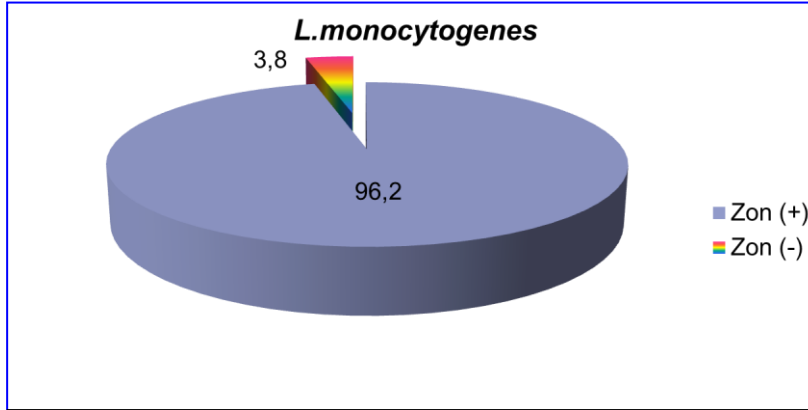
Çizelge 4.2.5. İzolatlarının antibakteriyel aktiviteleri (Zon çapı; mm) (devam)					
İzolat No	<i>E.coli</i>	<i>E.coli</i> O157:H7	<i>L.monocytogenes</i>	<i>S.Enteritidis</i>	<i>S.aureus</i>
BF 193	15,0±0,6	10,8±0,5	8,0±0,5	14,3±0,5	16,5±0,5
BF 194	14,4±0,9	10,5±0,3	6,8±0,3	10,3±0,6	16,3±1,1
BF 196	14,2±0,3	10,1±0,8	6,5±0,4	9,8±0,7	15,9±0,9
BF 199	20,1±0,7	9,2±0,7	10,1±0,7	11,2±1,0	11,3±0,8
BF 200	14,8±0,9	10,5±0,5	7,9±0,8	13,9±0,6	17,6±0,3
BF 201	14,9±1,3	10,7±0,5	8,3±0,3	14,1±0,9	16,5±0,9
BF 203	11,1±0,3	11,6±0,4	12,2±0,3	12,7±0,4	13,4±0,7
BF 205	11,2±1,0	11,9±0,9	12,5±0,7	12,1±0,6	13,4±0,3
BF 206	9,9±0,7	9,5±0,4	10,7±0,3	9,1±0,4	7,8±0,9
BF 210	10,4±0,7	9,7±0,8	10,3±0,2	9,1±0,9	8,3±1,1
BF 211	13,8±0,5	8,8±0,5	13,4±1,0	11,4±0,5	14,8±0,8
BF 214	8,5±0,3	8,6±0,3	9,5±0,3	9,8±0,6	9,9±0,5
BF 215	13,4±0,9	8,5±0,9	13,2±0,7	11,4±0,3	14,4±0,5
BF 217	11,3±0,8	11,6±0,3	12,4±1,2	12,7±0,9	13,2±0,5
BF 218	15,1±0,3	11,3±1,2	8,2±0,7	14,6±0,7	17,6±0,4

S. aureus ATCC 25923; *S.Enteritidis* ATCC 13076; *L.monocytogenes* ATCC 7644

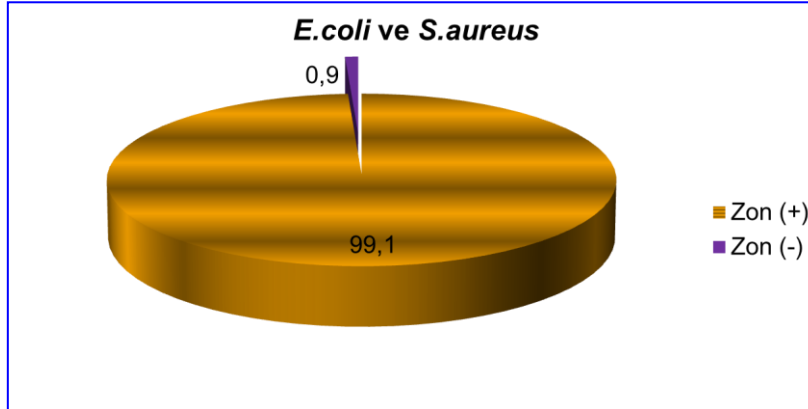
E.coli ATCC 25922; *E.coli* O157:H7 NCTC 12900



En Yüksek zon (mm)
E.coli O157 H7'ye karşı BF 32 (*L.fermentum* 907): $24,0 \pm 0,5$
S.Enteriditis'e karşı BF 32 (*L.fermentum* 907): $21,6 \pm 0,9$



En Yüksek zon (mm)
L.monocytogenes'e karşı BF 111 (*L.rhamnosus* ATCC 8530): $13,5 \pm 0,8$



En Yüksek zon (mm)
E.coli'ye karşı BF 199 (*L.rhamnosus* GG): $20,1 \pm 0,7$
S.aureus'a karşı BF 23 (*L.fermentum* A011): $22,3 \pm 0,9$

Şekil 4.2.5. İzolatlarının patojenlere karşı inhibisyon yetenekleri

Kotsou ve ark. (2008), bebek feçeslerinden elde edilen *Lactobacillus* spp.'lerin agar spot metoduyla antimikrobiyal özelliklerini inceledikleri çalışmada; *L.rhamnosus* LR-B20'nin *E. coli* ATCC 25922'ye karşı 1,2mm; *L.paracasei* LPP-B9'un *Enterococcus faecalis* ATCC 51299'ye 1,5mm ve *Enterococcus hirrae* CIP 5855'e karşı 3 mm zon verdiğini tespit etmişlerdir.

Basavanna ve Prapulla (2013) bebeklerden izole ettikleri *Lactobacillus fermentum* CFR'un spesifik substrat (prebiyotik - FOS) varlığında *B. cereus*, *L.monocytogenes*, *E. coli*, *Enterotoxigenic E.coli*, *S.aureus*, *Salmonella* Typhi ve *Y. enterocolitica*'ya inhibisyon etkisinin oldukça fazla olduğunu tespit etmişlerdir.

Nawaz ve ark. (2011) Pakistan'da anne sütüyle beslenen bebeklerden izole ettikleri 61 *Lactobacillus* spp. izolatında; *L.fermentum* suşlarının; *E.coli* ve *S.dysenteriae*'ye karşı 2-4 mm; *S.Typhi*, *S.aureus* ve *L.monocytogenes*'e karşı 0-4 mm arasında zon verdiğini saptamışlardır.

Boukhemis ve ark (2009) bebek feçeslerinden izole ettikleri *L.casei* subsp. *rhamnosus*'un safra tuzuna (10-20 g/L) ve asite (pH2-3) dirençli aynı zamanda *E.coli*'ye karşı 2-4 mm zon verdiğini belirlemişlerdir.

Jacobsen ve ark. (1999) 1 yaşından küçük Danimarkalı bebek feçeslerinden izole ettikleri, *L.paracasei* subsp. *paracasei* 19015-6, *L.paracasei* subsp. *paracasei* 19058-4, *L.rhamnosus* 19020-8, *L.rhamnosus* 19070-2 suşlarının agar spot metoduyla antimikrobiyal özelliklerini incelemiş; , *L paracasei* subsp. *paracasei* 19015-6, *L.paracasei* subsp. *paracasei* 19058-4'nin *L.monocytogenes*, *E.coli* ve *Y.enterocolitica*'ya karşı 2-5 mm arasında zon oluşturduğunu, *S. aureus*'a karşı inhibisyon etkide bulunmadıklarını; *L.rhamnosus* 19020-8, *L.rhamnosus* 19070-2'nin ise *L.monocytogenes*, *E.coli* ve *Y.enterocolitica*'ya karşı 2-5 mm arasında zon oluşturduğunu, *B.cereus*'a 5 mm, *S.aureus* ve *S.Thyphimurium* ve *S.flexneri*'ye karşı zon oluşturamadıklarını tespit etmişlerdir.

Yoon-Jong ve ark. (2003) bebek feçeslerinden izole ettikleri *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* spp.'lerin hiçbiri *S.aureus* (ATCC 25923)'a karşı inhibisyon etkide bulunmazken, *C.difficile* ATCC 9689e karşı %20 den büyük inaktivasyon gösterebildiklerini ve *E.coli* O157:H7 ATCC 43888'e karşı 10 mm'den büyük zon çapı verdiklerini belirtmişlerdir. Çalışmamızda elde edilen izolatların tamamına yakını Yoon-Jong

ve ark. (2003) yaptıkları çalışmada elde ettikleri izolatlardan farklı olarak inhibisyon etkide bulunmuştur.

Bebek feçeslerinden izole edilen *L.paracasei* subsp. *paracasei* NTU 101 ve *L.paracasei* subsp. *paracasei* BCRC 12248'nin *Staphylococcus aureus* BCRC 14958'e karşı her hangi bir inaktivasyon etkinliği bulunmadığı belirtilmiştir (Lin ve Pan 1983).

Arıcı ve ark. (2004), bebek feçeslerinden izole ettikleri laktobasillerin çoğunun *B. cereus* FMC 19, *E.coli* ATCC 25922, *S.aureus* ATCC 2392, *S.aureus* ATCC 28213, *Y.enterocolitica* ATCC 1501'e karşı inhibisyon zonu verdiğini, *S.aureus* ATCC 28213'in izole edilen tüm laktobasillere karşı duyarlı olduğunu tespit etmişlerdir. Bakteri süpernatantlarının pH'ının 6,5'e ayarlanıp katalaz ilavesi yapıldığında inhibisyon etkide azalma olduğunu belirlemişlerdir.

Xanthopoulos ve ark. (2000), bebek feçeslerinden izole ettikleri *Lactobacillus* türlerinden; *L.paracasei* subsp. *paracasei* and *L.acidophilus*'un *E. coli* O:44 NCT9702 ve *Y.enterocolitica* O:9/4360'a karşı zayıf antibakteriyel aktivite gösterdiğini belirlemişlerdir.

Altmış yedi sağlıklı bebekle (4, 30, 90 günlük) yapılan çalışmada izole edilen; *L.fermentum*'un *E.coli* ATCC 25922, *E.coli* EDL 933 VIT1 (+), VIT2 (+) and *E.hirae* CIP5855'e, *L.paracasei* subsp. *paracasei*'nin ise *S.choleraesuis* DSM554'a karşı inhibisyon etkide bulunduğu bildirilmiştir (Kirtzalidou ve ark. 2011).

Anne sütünden izole edilen *L.fermentum*'un; *Salmonella* Typhimurium CCM 5445'a karşı 18 mm, *Escherichia coli* O157:H7 NCTC 129000'e karşı 43 mm ve *Escherichia coli* NRRL B-3008'e karşı 25 mm zon çapı vererek antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirtilmiştir (Yavuzdurmaz 2007). Çalışmamızda elde edilen izolatlar patojenlere karşı daha düşük zonlar vermiştir.

Uymaz (2009), insanlardan izole ettiği dört *L.casei* suşunun agar noktolama testine göre antimikrobiyal etkisini incelediği çalışmada; *Bacillus subtilis*'e karşı 11-40 mm arasında, *Listeria monocytogenes* ATCC 15813'e karşı 7-9 mm, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538'a karşı 20-40 mm arasında, *Escherichia coli* LMG3083 (ETEC)'e karşı 6-8 mm arasında, *Salmonella* Typhimurium SL 1344'e karşı 6-8 mm arasında, *Listeria monocytogenes* ATCC 25295'e karşı 8-18 mm arasında, *Escherichia coli* ATCC 25295'ye karşı 10-12 mm zon

arasında çapı verip, *Staphylococcus aureus* FRI 100 ve *Pediococcus pentosaceus* FBB 611'e karşı inhibisyon etkide bulunmadığını tespit etmiştir.

Verdenelli ve ark. (2009), İtalya'da insanlardan izole ettikleri *Lactobacillus rhamnosus* IMC 501 (EU483094.1) ve *Lactobacillus paracasei* IMC 502 (FJ542303.1)'nin antimikrobiyal özelliklerini inceledikleri çalışmada; *L.rhamnosus* IMC 501'in; *E.coli* (ATCC 11775) ve *C.perfringens* (ATCC 13124)' e karşı 7,5 mm'den küçük, *S.aureus* (ATCC 25923)'a karşı 5 mm'den küçük, *C.albicans* (ATCC 10261)' a karşı 7,5 mm'den büyük zon verdiğini belirleyip, *L.paracasei* IMC 502 ise *E. coli* (ATCC 11775) ve *S.mutans* (ATCC 20523)'a karşı 3 mm'den küçük zon verirken; *S.aureus* (ATCC 25923) ve *C. perfringens* (ATCC 13124)' e karşı 7,5 mm'den küçük, *C.albicans* (ATCC 10261)' a karşı ise 7,5 mm'den büyük zon verdiğini tespit etmişlerdir.

Gaudana ve ark. (2010), insanlardan izole ettikleri *Lactobacillus rhamnosus* GG, *L.fermentum* ASt1, *L.rhamnosus* CS25'in; *Staphylococcus aureus* ATCC 6538'a karşı 2-5 mm arasında; *Salmonella typhi* ve *Escherichia coli*'ye karşı 5 mm zondan büyük zon çapı verdiğini belirlemişlerdir.

Bao ve ark. (2010) geleneksel gıdalardan izole ettikleri çeşitli *L.fermentum* suşlarının probiyotik özelliklerini araştırdıkları çalışmada, *L.fermentum* F6'nın *Listeria monocytogenes* ve *Staphylococcus aureus*'a karşı 12 mm'den büyük, *Salmonella* Typhimurium, *Escherichia coli*, *Shigella flexneri*'ye karşı 8-12 mm arasında zon çapı verdiğini belirtmişlerdir..

Mallesha ve ark. (2010) yaptıkları çalışmada, çiğ ve fermente ürünlerden izole ettikleri *Lactobacillus fermentum*'un *E.coli* ve *S.aureus*'a karşı 13 mm zon verdiğini; *L.casei*'nin ise bu bakterilere karşı bir aktivite gösteremediğini belirtmiştir.

Taş (2008), probiyotik bakterilerin gıda patojenlerine karşı inhibisyon etkisini inceledikleri çalışmada, *Lactobacillus rhamnosus* LAB101'in *Bacillus cereus* B41'a karşı 9,6 mm, *Salmonella* Enteritidis B42'ye karşı 10,6 mm, *Escherichia coli* B43'e karşı 9 mm, *Escherichia coli* O157:H7 B51'e karşı 9 mm, *Staphylococcus aureus* B60'a karşı 12 mm zon verdiğini, *Lactobacillus casei* Shirota'nın ise *Bacillus cereus* B41'e karşı 8 mm, *Salmonella* Enteritidis B42'ye karşı 9,3 mm, *Escherichia coli* B43'e karşı 8,3 mm, *Escherichia coli* O157:H7 B51'e karşı 8,3 mm, *Staphylococcus aureus* B60'a karşı 9,6 mm zon verdiğini belirlemiştir.

Etöz (2006), Kefirden izole edip API 50 CHL ile tanımladığı 20 *L.casei* izolatının, *Staphylococcus aureus*' a karşı 4-16 mm arasında, *Klebsiella oxytoca*'ya karşı 4-10 mm arasında, *Klebsiella pneumoniae*'ye karşı 4- 16 mm arasında; *Salmonella Typhi*'ye karşı 6-10 mm arasında; *Salmonella paratyphi*'ye karşı 4-10 mm arasında; *Salmonella choleraesius*'a karşı 8 mm; *Salmonella Typhimurium*'a karşı 0-12 mm arası; *Pseudomonas putida*'ya karşı 8 mm; *Shigella sonnei*' ye karşı 14 mm; *Shigella flexneri*' ye karşı 10 mm; *Listeria monocytogenes*'e karşı 8 mm; *Aeromonas hydrophila*'ya karşı 6 mm; *E. coli*'ye karşı 2-4mm; *E. vuneris*'e karşı 4 mm; *Enterobacter aerogenes*'e karşı 4 mm; *Enterobacter gergoviae*'ye karşı 10 mm; *Enterobacter agglomerans*'a karşı 2-4 mm arasında; *Enterobacter cloacae*'ya karşı 4-8 mm arasında; *Citrobacter broakii*'ye karşı 12 mm; *Citrobacter freundii*'ye karşı 6 mm zon oluşturduğunu tespit etmiştir.

Chuayana ve ark. (2003), süt ürünlerinden izole ettikleri laktik asit bakteri kültürlerinin *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Serratia marcescens* üzerine antimikrobiyel etkilerini araştırmışlar ve sonuç olarak *Lactobacillus casei*'nin tüm bakterilere karşı bakteriyostatik etki gösterdiğini bulmuşlardır.

Aslim ve ark. (2005), fermente ürünlerden izole ettikleri *L.fermentum* 25'in *S.aureus*'a karşı 13-20 mm arasınada, *E.coli* ve *Y.enterocolitica*'ya karşı 8-10 mm zon çapı verdiğini; çeşitli *L.casei* suşlarının (Z3L, 5, Z4L, Z6L) ise bu patojenlere etki edemediğini tespit etmişlerdir.

Patra ve ark. (2011) fermente süt ürününden (dahi) izole ettiği *L.fermentum*'un *S.aureus*'a karşı 13,3 mm; *Bacillus subtilis*'e karşı 10,9 mm; *E.coli*'ye karşı ise 12,9 mm zon çapı verdiğini belirlemişlerdir.

L.casei ve *L.monocytogenes* enjekte edilen farelerin karaciğerinde *L.monocytogenes* gelişiminin *L.casei* tarafından baskılandığı belirlenmiştir (Sato 1984). Benzer şekilde yapılan başka bir çalışmada wistar farelerinde oral yolla alınan *L.casei* Shirota'nın dokularda *L.monocytogenes*'in sayısında azalmaya sebep olduğu tespit edilmiştir (De Waard 2002) .

Aykanat (2008), tavuktan izole ettiği ve API ile *Lactobacillus fermentum* olarak tanımladığı izolatın *E.coli*'ye karşı 6 mm, *L.monocytogenes*'e karşı 26 mm zon çapı verdiğini belirlemiştir. Çalışmamızda izole edilen *L.fermentum* izolatları *E.coli*'ye karşı genellikle daha yüksek, *L.monocytogenes*'e karşı daha düşük zon çapı vermiştir.

Tambekar ve Bhudata (2010) keçi sütünden elde ettikleri 48 *Lactobacillus* türünden önde gelen probiyotikler olarak kabul ettikleri *Lactobacillus* türlerinin *E. coli* (MTCC 443), *Enterobacter aerogenes* (MTCC 111), *Klebsiella pneumoniae* (MTCC 2653), *Proteus vulgaris* (MTCC 426), *S.typhi* (MTCC 734) and *Shigella flexneri* (MTCC 1457) üzerindeki antimikrobiyal etkilerini incelemişlerdir. LAB'nin test bakterileri üzerinde farklı oranlarda inhibitif etki gösterdiklerini belirlemişlerdir.

Et ve et ürünlerinden izole edilen çeşitli *L.plantarum* ve *L.sake* suşlarının bazı patojen mikroorganizmalara karşı inhibisyon etkisi olduğu rapor edilmiştir (Schillinger ve Lücke 1989, Toksoy ve ark. 1999a). *Lactobacillus casei* CRL705'in kullanıldığı bir diğer çalışmada besiyeri ve model olarak kullanılan et bulamacında *Listeria innocua* ile koruyucu kültürün beraber ve ayrı gelişimi incelenmiştir. Sonuç olarak, *Lactobacillus casei* CRL705'in et ve ürünlerinde koruyucu kültür olarak kullanılabilceği belirtilmiştir (Castellano ve ark. 2004).

Çon ve Gökalp (2000), Türkiye genelinden 51 sucuk örneğinden MRS agar kullanarak izole ettikleri 424 laktik asit bakterisini API 50 CHL tanı kiti kullanarak tanıya edip, antagonistik aktivite testlerinin ardından 57 LAB izolatınının *Clostridium perfringens* 4TTK, *Clostridium botulinum* tip A 7948, *Bacillus cereus* NRRL B-3711, *Micrococcus luteus* NRRL B-4376 ve *Yersinia enterocolitica* 103 üzerinde çeşitli oranlarda etkili olduklarını bildirmişlerdir.

Arslan (2010), steril edilmiş ekmeklik undan elde edilen hamura 10^4 kob/mL *B. subtilis* ve aynı sayıda *L.rhamnosus* (10^4 kob/mL) ilave ettikten sonra, 37 °C'de 24 saatlik inkübasyona bırakılmış, inkübasyon sonunda, *B. subtilis* sayısında bir azalma gözlemeyip, yok denecek kadar az bir çoğalma saptamışlardır. Ancak, kontrol örneğinde hızlı bir artış olmasının, hamur içerisinde *L.rhamnosus*'un *B. subtilis*'in gelişimini önlediğini göstermesi açısından önemli olduğunu rapor etmişlerdir.

Tejero-Sariñena ve ark. (2012) laktik asit bakteirlerinin antimikrobiyal özelliklerini inceledikleri çalışmada, Agar spot metoduna göre *L.rhamnosus* (NCIMB 30188)(insan kaynaklı)'in *S.Typhimurium*, *S. aureus*, *E. coli*, *E. faecalis*, *C. Difficile*' e karşı 11-17 mm arasında zon oluşturduğu; *L.casei* (NCIMB 30185)(süt ürünü)'in *S.Typhimurium* ve *C. Difficile*'e karşı 17 mm den büyük; *S. aureus*, *E. coli*, *E. faecalis*'e karşı ise 11-17 mm arasında zon oluşturduğu, *L.fermentum* (NCIMB 30226)(süt ürünü kaynaklı)'nın *S.Typhimurium*, *E. coli*, *C. Difficile*' e karşı 11-17 mm zon oluşturduğu, *S. aureus* ve *E.*

faecalis'e karşı 5-10 mm zon oluşturduğunu belirlemişlerdir. Çalışmalarının devamında süpernatantların alkali ile nötralizasyonunun antimikrobiyal etkiyi önemli ölçüde azalttığını, bu durumda glukoz fermentasyonu sonucunda oluşan laktik ve asetik asit gibi organik asitlerin probiyotik mikroorganizmaların önemini göstermesi açısından püf nokta olduğunu belirtmişlerdir.

Gratz ve ark. (2007), *L.rhamnosus* GG'nin aflatoksin B1'in taşınması, metabolizması ve toksisite etkisinin azaltılmasına yönelik bir araştırma yapmışlar, Caco-2 hücrelerinde *L.rhamnosus* GG'nin, aflatoksin B1'i hücre içine absorblayarak etkisini azalttığı, aflatoksin tarafından hücre zarı ve DNA'nın zarar görmesinin engellendiğini tespit etmişlerdir.

Sameshima ve ark (1998), *Lactobacillus* cinsine ait suşların (*L.acidophilus* FERM P-15119, *L.rhamnosus* FERM P-15120, *L.paracasei* subsp. *paracasei* FERM P-15121), antagonistik etkilerini, *Staphylococcus aureus*'un enterotoksin üretimi ve gelişme hızını, 20°C ve 35°C fermentasyon sıcaklıklarında araştırmışlar ve her iki sıcaklıkta da, *Lactobacillus* spp.'lerin, *S. aureus* gelişimini ve enterotoksin üretimini inhibe ettiğini rapor etmişlerdir.

Messi ve ark. (2001)'de çalışmalarında, *L. acidophilus* ve *L.casei* türlerinin *E. coli* O157:H7'nin STEC 89020087 suşu üzerinde inhibisyon etkiye sahip olduğunu göstermişlerdir.

Bebeklerden izole edilen izolatların antibakteriyel aktivite sonuçları incelendiğinde elde edilen zon çaplarının Arıcı ve ark. (2004), Taş (2008), Bao ve ark. (2010) Kirtzalidou ve ark. (2011) ve Patra ve ark. (2011)'nin yaptıkları çalışmada elde ettikleri zon çaplarıyla paralel, Aslim ve ark. (2005), Uymaz (2009), Mallesha ve ark. (2010)'nin elde ettikleri zon çaplarıyla kısmen benzer sonuçlar elde edilmiştir.

İzolatlardan, BF 32 (*L.fermentum* 907); *E.coli* O157 H7 ve *S.Enteriditis*'e, BF 111 (*L.rhamnosus* ATCC 8530); *L.monocytogenes*'e, BF 199 (*L.rhamnosus* GG) *E.coli*'ye, BF 23 (*L.fermentum* A011); *S.aureus*'a karşı en yüksek inhibisyon zon çapı vermeleriyle dikkat çekmişlerdir.

4.2.6 İzolatların asit toleransları

İzolatların asitliğe karşı toleransları pH 3 değerinde incelenmiş olup sonuçları Çizelge 4.2.6 ve izolatlardan asit ortamda gelişim gösterenlerin oranları Şekil 4.2.6'da verilmiştir. *Lactobacillus* izolatlarının pH 3'te 3 saatlik inkübasyon sonrasında yüksek oranla canlılıklarını koruyabildikleri, bir kısmında ise gelişme olduğu gözlenmiştir.

Çizelge 4.2.6. İzolatlarının asite toleransı (pH 3,00)

İzolat No	Bakteri sayısı (log kob/mL)		Azalma
	0. dak	180. dak	
BF 2	5,78 ± 0,10	5,48±0,02	0,30
BF 3	5,95 ±0,03	5,93±0,08	0,02
BF 6	7,10 ±0,06	7,17±0,03	-0,07
BF 7	5,43 ±0,01	5,46±0,01	-0,03
BF 9	5,55 ±0,04	5,17±0,03	0,38
BF 10	5,76 ±0,08	5,95±0,08	-0,19
BF 13	6,18 ±0,07	6,23±0,10	-0,05
BF 14	6,24 ±0,02	6,28±0,10	-0,04
BF 18	5,21 ±0,01	5,20±0,03	0,01
BF 20	6,83 ±0,01	6,86±0,01	-0,03
BF 23	5,81 ±0,03	5,60±0,03	0,19
BF 24	5,25 ±0,05	5,47±0,07	-0,22
BF 25	5,34 ±0,10	5,00±0,01	0,30
BF 26	6,16 ±0,01	5,98±0,04	0,18
BF 27	7,35 ±0,07	7,37±0,02	-0,02
BF 29	5,67 ±0,03	5,49±0,01	0,18
BF 31	5,43 ±0,05	5,62±0,03	-0,19
BF 32	5,85 ±0,01	5,92±0,02	-0,07
BF 34	5,28±0,01	5,20±0,08	0,08
BF 35	5,46±0,01	5,33±0,02	0,13
BF 37	6,98±0,07	6,96±0,03	0,02
BF 38	6,93±0,04	6,76±0,03	0,17
BF 41	5,66±0,06	5,59±0,01	0,07

Çizelge 4.2.6. İzolatlarının asite toleransı (pH 3,00) (devam)

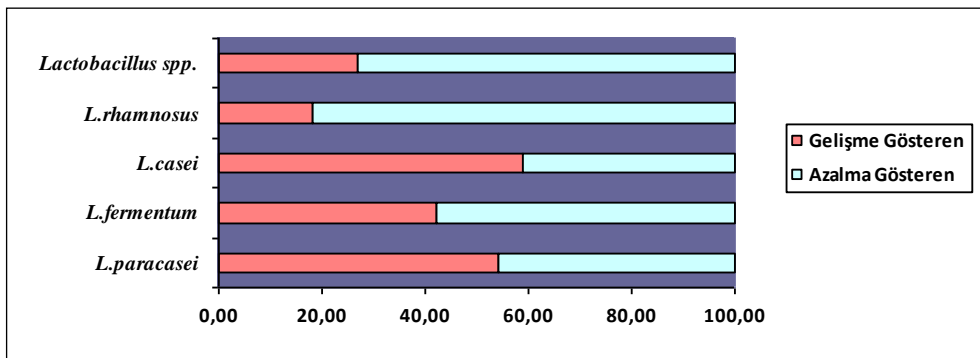
İzolat No	Bakteri sayısı (log kob/mL)		Azalma
	0. dak	180. dak	
BF 44	5,12±0,03	5,01±0,01	0,11
BF 47	6,81±0,01	6,63±0,02	0,18
BF 53	7,17±0,06	7,00±0,05	-0,17
BF 55	6,37±0,03	6,56±0,03	-0,19
BF 56	5,89±0,01	6,05±0,09	-0,16
BF 57	6,13±0,06	6,17±0,02	-0,04
BF 59	5,87±0,02	5,91±0,03	-0,04
BF 61	5,74±0,03	5,09±0,01	0,65
BF 62	5,31±0,06	5,41±0,01	-0,10
BF 68	5,54±0,03	5,47±0,02	-0,07
BF 69	5,85±0,02	5,64±0,04	0,21
BF 70	5,87±0,01	5,80±0,03	0,07
BF 73	6,12±0,05	5,96±0,01	0,16
BF 74	6,39±0,03	6,26±0,02	0,13
BF 75	6,18±0,05	5,93±0,03	0,25
BF 76	5,21±0,02	5,11±0,07	0,10
BF 77	7,32±0,01	7,36±0,02	-0,04
BF 78	5,44±0,10	5,50±0,04	-0,06
BF 80	7,02±0,02	7,04±0,03	-0,02
BF 86	5,77±0,01	5,59±0,05	0,18
BF 89	5,54±0,03	5,32±0,07	0,22
BF 92	5,63±0,02	5,65±0,02	-0,02
BF 96	5,33±0,02	5,41±0,01	-0,08
BF 97	5,11±0,02	4,93±0,04	0,18
BF 99	5,61±0,02	5,72±0,10	-0,11
BF 100	5,33±0,01	4,98±0,03	0,35
BF 102	5,47±0,06	5,56±0,02	-0,09
BF 105	5,66±0,03	5,43±0,01	0,23
BF 108	7,89±0,01	7,93±0,01	-0,04
BF 109	5,45±0,01	5,46±0,03	-0,01

Çizelge 4.2.6. İzolatlarının asite toleransı (pH 3,00) (devam)

İzolat No	Bakteri sayısı (log kob/mL)		Azalma
	0. dak	180. dak	
BF 111	5,86±0,02	5,82±0,02	0,04
BF 112	6,17±0,03	6,19±0,01	-0,02
BF 117	5,13±0,08	5,22±0,06	-0,09
BF 119	6,23±0,01	6,02±0,12	0,21
BF 120	5,34±0,03	5,29±0,08	0,05
BF 122	5,49±0,02	5,51±0,03	-0,02
BF 123	5,79±0,07	5,62±0,01	0,17
BF 124	6,73±0,03	6,52±0,01	0,21
BF 125	5,58±0,02	5,40±0,07	0,18
BF 127	6,15±0,01	6,19±0,01	-0,04
BF 131	5,95±0,10	5,47±0,03	0,48
BF 132	5,37±0,01	5,45±0,05	-0,08
BF 134	5,71±0,01	5,78±0,01	-0,07
BF 136	7,29±0,02	6,99±0,03	0,30
BF 141	5,37±0,03	5,21±0,02	0,16
BF 143	5,33±0,06	5,19±0,01	0,14
BF 145	5,83±0,03	5,72±0,01	0,11
BF 146	6,23±0,11	6,30±0,02	-0,07
BF 147	5,74±0,03	5,66±0,01	0,08
BF 149	5,45±0,06	5,50±0,06	-0,05
BF 154	5,77±0,04	5,84±0,01	-0,07
BF 160	5,42±0,02	5,38±0,04	0,04
BF 161	5,34±0,07	5,42±0,01	-0,08
BF 164	5,60±0,02	5,52±0,01	0,08
BF 165	5,65±0,03	5,47±0,09	0,18
BF 169	5,38±0,01	5,42±0,01	-0,04
BF 173	5,13±0,08	5,15±0,02	-0,02
BF 174	5,41±0,01	5,47±0,03	-0,06
BF 178	5,91±0,01	5,66±0,06	0,25
BF 183	6,24±0,01	6,25±0,04	-0,01

Çizelge 4.2.6. İzolatlarının asite toleransı (pH 3,00) (devam)

İzolat No	Bakteri sayısı (log kob/mL)		Azalma
	0. dak	180. dak	
BF 184	5,23±0,02	5,04±0,01	0,19
BF 186	5,72±0,05	5,38±0,02	0,34
BF 187	6,72±0,08	6,25±0,03	0,47
BF 188	5,93±0,01	5,79±0,02	0,14
BF 189	7,85±0,04	7,66±0,01	0,19
BF 191	5,15±0,03	5,22±0,03	-0,07
BF 193	6,13±0,01	6,08±0,01	0,05
BF 194	7,31±0,01	7,08±0,10	0,23
BF 196	6,72±0,05	6,50±0,03	0,22
BF 199	6,42±0,02	6,84±0,06	-0,42
BF 200	5,33±0,01	5,35±0,02	-0,02
BF 201	5,37±0,03	5,41±0,02	-0,04
BF 203	6,66±0,02	6,72±0,01	-0,06
BF 205	7,12±0,9	7,05±0,14	0,07
BF 206	6,97±0,02	6,80±0,04	0,17
BF 210	5,29±0,01	5,14±0,01	0,15
BF 211	6,74±0,02	6,69±0,08	0,05
BF 214	7,28±0,03	7,18±0,09	0,10
BF 215	5,61±0,01	5,47±0,02	0,14
BF 217	5,49±0,07	5,51±0,01	-0,02
BF 218	6,55±0,02	6,64±0,01	-0,09



Şekil 4.2.6. İzolatların pH 3'te gelişim gösterim % oranı

Gastrointestinal sistemin doğal bariyer elemanlarından olan mide asidi sayesinde midede, yalnızca az miktarda aside dirençli mikrobiyota bakterisi (Laktobasil türlerinden) ve patojen mikroorganizma olan *H. pylori* yaşamını devam ettirebilmektedir. Midede canlılığını devam ettirebilme ve safra tuzlarına direnç yeteneklerini araştıran in vitro çalışmalar ile in vivo sonuçların genellikle uyumlu bulunduğu; ancak bununla birlikte, *Lactobacillus* spp. ile yapılmış bir çalışmanın sonucuna göre, in vitro çalışma sırasında HCl ile asidifiye edilmiş distile suya göre, mideden elde edilen asit salgısına mikroorganizmaların daha dirençli olduğu tespit edilmiştir (intrensek ve/veya ekstrensek faktör) (Conway ve ark. 1987).

Laktik asit bakterilerinin bağırsağa ulaşması için geçen 90 dakikalık sürede canlı kalması probiyotik olarak seçimleri açısından çok önem arz etmektedir (Chang ve ark. 2001).

Daha önce yapılan çalışmalar, laktik asit bakterilerinin önemli kısmının pH 2,5 değerinde canlılığını koruduğunu göstermektedir (Santos ve ark. 2003, Mathara ve ark. 2008). Bunun yanında Klingberg ve ark. (2005) yaptıkları çalışmalarda pH 2,5 değerinde Rashid ve ark. (2007) ise pH 3 değerinde bakterilerin canlılıklarını önemli ölçüde kaybettiklerini bildirmişlerdir. *L.rhamnosus*, *L.paracasei* subsp. *paracasei*, *L.plantarum* and *L.crispatus*'un pH 3'e dayanıklı, pH 2'ye ise duyarlı olduğu çeşitli çalışmalarda belirtilmiştir (Pereira ve Gibson 2002).

Kirtzalidou ve ark. (2011) altmış yedi sağlıklı bebekle (4, 30, 90 günlük) yaptıkları çalışmada izole edilen (*Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei*, *L.fermentum*, *L.rhamnosus*) izolatlarının pH 3'te 3 saatlik inkübasyon süresince gelişimlerini incelemiş ve *Lactobacillus paracasei* suşlarında (7,49-7,70; 7,79-7,40; 7,92-7,88; 8,30-8,29; 7,97-7,75) log₁₀ kob/mL, *L.fermentum*da (7,48-7,52) log₁₀ kob/mL, *L.rhamnosus* suşlarında (7,87-6,97; 7,27-7,15) olarak tespit etmişlerdir.

Nawaz ve ark. (2011) Pakistan'da anne sütüyle beslenen bebek feçeslerinden izole ettikleri 61 *Lactobacillus* spp. izolatında yaptıkları düşük pH'ya direnç araştırmasında; *L.fermentum* suşlarının pH 2,5 ve 3 saatlik inkübasyon sonrasında % canlılık oranlarını %80-%92,5 arasında bulmuş, izole ettikleri *L.rhamnosus*'un ise % 90,8 oranla canlılığını koruduğunu saptamışlardır. Çalışmamızda izole ettiğimiz *L.fermentum* ve *L.rhamnosus* izolatları pH 3'te inkübasyona bırakılmış ve 3 saat sonunda tamamı canlılığını korumuştur.

Jacobsen ve ark. (1999) 1 yaşından küçük Danimarkalı bebek feçeslerinden izole ettikleri, *L.paracasei* subsp. *paracasei* 19015-6, *L.rhamnosus* 19020-8, *L.rhamnosus* 19070-2

suşlarının pH 2,5 ve 4 saatlik inkübasyon sonucunda canlılıklarını koruduklarını ancak gelişemediklerini, *L.paracasei* subsp. *paracasei* 19058-4'nin ise canlılığını da koruyamadığını belirtmişlerdir.

Kotsou ve ark. (2008), bebek feçeslerinden izole ettikleri *L.acidophilus*, *L.rhamnosus*, *L.paracasei* subsp. *paracasei*, *L.fermentum*, *L.delbrueckii* subsp. *delbrueckii*, *L.cellobiosus*, *L.plantarum*, *L.brevis* ve *L.crispatus* türlerinin düşük pH'ya dirençlerini inceledikleri çalışmalarında; çoğu türün pH 3'te 1,5 saatlik sürede canlılığını koruduğunu ancak *L.rhamnosus* B5 ve *L.fermentum* B15'in sayıca önemli ölçüde azaldığını, 3 saatlik inkübasyon sonucunda ise 4 suş hariç (*L.rhamnosus* B5, *L.fermentum* B15, *L.delbrueckii* subsp. *delbrueckii* C4, *L.brevis* C8) canlılıklarının devam ettiğini belirlemişlerdir. İnkübasyon süresince *L.rhamnosus* suşları içerisinde azalmanın (0,05 ile 0,26) log₁₀ kob/mL değerinde olduğu, *L.paracasei* subsp. *paracasei* suşları içerisinde [0,08 ile (- 0,02)] log₁₀ kob/mL arasında olduğu gözlemlerken, *L.fermentum* suşları içerisinde (0 ile 0,23) log₁₀ kob/mL değerinde olduğunu rapor etmişlerdir.

Xanthopoulos ve ark. (2000), bebek feçeslerinden izole ettikleri lactobacillus türlerinden üç *L.paracasei* subsp. *paracasei* (DC411, DC412 and DC416) ve bir *L.rhamnosus* (DC425) suşunun iki saatlik inkübasyon sonrasında düşük pH'ya dirençli olduklarını aynı zamanda çalışma sonuçlarına genel olarak bakıldığında bu iki türün izole edilen diğer lactobacillus türlerine (*L.acidophilus*, *L.gasseri*, *L.reuteri*) göre düşük pH'ya daha dirençli olduklarını saptamışlardır.

Dunne ve ark. (2001); insan feçes kaynaklı *Lactobacillus* spp.'lerin probiyotik olarak değerlendirilebilmeleri için seçme kriterlerini araştırdıkları çalışmada; *L.casei* F19'un, *L.fermentum* KLD ve *L.paracasei* 212.3'ün pH 1,2 de canlılıklarını 30 dk'da yitirdiklerini tespit etmişlerdir. (pH 1,2'de 0. dk, 5 dk, 30 dk inkübasyon sonrası canlı mikroorganizma sayısı sırasıyla; 8740, 4900, 0 log₁₀ kob/L; 9480, 9640, 0 log₁₀ kob/L; 9030, 3370, 0 log₁₀ kob/L).

Uymaz (2009), insanlardan ve çeşitli peynirlerden izole ettiği 6 *L.casei* suşunun düşük pH dirençlerini incelediği çalışmasında; pH 3'te 3 saatlik inkübasyon sonrasında insan kaynaklı suşlarda % 76,35 ile % 97,54 arasında, peynirden izole edilen suşlarda % 95,62 ile % 99,48 arasında canlılığın devam ettiğini saptamıştır.

Başığit (2004), insanlardan izole ettikleri çeşitli laktobacillus spp. suşlarının düşük pH'ya dirençlerini incelediği çalışmada; pH 3,5 ve 3 saatlik inkübasyon sonrasında Laktobasil suşlarının 67 adetinin sayım sonuçlarının değişmeden sabit kaldığını, 21 adet suşun sayısının azaldığını. 23 adet suşun ise deneme periyodunda gelişme gösterdiğini rapor etmiştir.

Verdenelli ve ark. (2009), İtalya'da insanlardan izole ettikleri 11 izolattan; *Lactobacillus rhamnosus* IMC 501 (EU483094.1) ve *Lactobacillus paracasei* IMC 502 (FJ542303.1)'nin asite toleransını inceledikleri çalışmada; pH 3'ü gastrik ortamın temsili pH'sı olarak kullanıp test bakterilerini pH 3'te 5 saat inkübasyona bırakmışlar ve bu bakterilerin ortam koşullarına dirençli olduklarını saptamışlardır.

Gaudana ve ark. (2010), insanlardan izole ettikleri *L.rhamnosus* CS25'in ve *L.fermentum* ASt1'in sırasıyla; pH 2,5'ta 2 saatlik inkübasyon sonucunda %6,9 ve %4,03; pH 2'de 2 saatlik inkübasyon sonucunda ise %5,1 ve %2,33 canlı kalma oranı sergilediklerini tespit etmişlerdir.

Bao ve ark. (2010) geleneksel gıdalardan izole ettikleri çeşitli *L.fermentum* suşlarının probiyotik özelliklerini araştırdıkları çalışmada, *L.fermentum* F6'nın pH 2,5 ve 3 saatlik inkübasyon sonucundaki değişimini 8,488 log kob/mL-7,358 log kob/mL (%86,7 canlı kalma oranı) olarak saptamışlardır.

Mishra ve Prasad (2005)'in *Lactobacillus casei* suşlarının pH 3 koşullarına dayanımlarını inceledikleri çalışmada; 3 saat sonunda suşlardaki azalmanın 0,22 ile -0,1 log kob/mL olduğunu tespit etmişlerdir.

Maragkoudakis ve ark. 2006 yılında süt ürünlerinden izole ettikleri *Lactobacillus* spp.'lerin (29 suş) probiyotik özelliklerini inceledikleri çalışmada; Ph 1'de ya da pepsin varlığında ancak birkaç suşun canlılığını devam ettirebildiğini gözlemlemiş, Ph 3'te tüm suşların canlılığını koruduğunu belirlemişlerdir. pH 1'de 1 saat sonunda yalnızca *L.paracasei* subsp. *paracasei* ACA-DC 119 - 3345, *L.paracasei* subsp. *tolerans* ACA-DC 4037, *L.plantarum* ACA-DC 146 ve *Lactobacillus* sp. ACA-DC 108, *Lactobacillus* sp. ACA-DC 109; 3 saatlik inkübasyon sonrası ise *Lactobacillus* sp. ACA-DC 108 (%0,04 canlılık) ve *Lactobacillus* sp. ACA-DC 109 (%0,008 canlılık) suşlarının canlı kalabildiklerini belirlemişlerdir. Yavuzdurmaz (2007), anne sütünden izole ettikleri *L.oris* ve *L.fermentum*'un mide pH'sına (pH 3,0) dirençli, bağırsak safra tuzuna ise (0,3%) toleranslı olduğu belirtmiştir.

Salem ve ark. (2013) anne sütünden izole ettikleri (glukozdan gaz oluşturan) *Lactobacillus* spp.'lerin pH 2'ye dirençlerini inceledikleri çalışmada; 0. ve 60. dk'daki değişimleri (7,60-7,69; 9,70-9,92; 8,90-8,98; 7,11-7,20 log₁₀ kob/mL) olarak tespit etmişlerdir.

Vinderola ve Reinheimer (2003) ise mide özsuyu şartlarında bir ortam hazırlayarak 24 adet probiyotik bakterinin asit ortamda dayanımını incelemiş, pH 3'te 3 saat sonunda *L.casei* ve *L.rhamnosus* suşlarında 2,7-5,9 aralığında log kob/mL azalma olduğunu belirlemişlerdir.

Akman (2009), çeşitli laktik asit bakterilerinin probiyotik özelliklerini incelediği çalışmasında, *Lactobacillus casei*'nin çeşitli suşlarının pH 2,5'ta 2 saatlik inkübasyon sonunda bakteri sayısında (-0,03 log kob/mL ile $\geq 2,41$ 'den büyük log kob/mL aralığında) azalma, 4 saatlik inkübasyon sonucunda ise ($\leq 0,6$ log kob/mL ile $\geq 3,56$ log kob/mL) aralığında azalma belirlemiştir.

Kavas (2007), probiyotik mikroorganizmaların asite toleransını incelediği çalışmada, *L.casei*'nin, ortam pH 4,6'da iken üremesinin baskılanmamış olduğunu ancak 3,2 ve 2 gibi düşük pH'larda kontrol grubuna göre anlamlı şekilde canlılığını yitirdiğini tespit etmiştir [kontrol grubu; 6,88 log₁₀ kob/mL; pH (4,6); 6,72 log₁₀ kob/mL; pH (3,2); 6,08 log₁₀ kob/mL; pH (2); 2,92 log₁₀ kob/mL].

Charteris ve ark. (1998) *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium*'un probiyotik olabilecek suşlarının bağırsak sisteminden geçiş toleranslarını in vitro olarak inceledikleri araştırmalarında; gastrik ortamda pH 2'de, sadece bir laktobasil suşunun (*L.fermentum* KLD) dirençli olduğunu ancak, ortama süt proteinleri katılarak yapılan denemede ise *L.casei* 2123 ve *B. infantis* 25962 suşlarının da %100 geçiş toleransı gösterdiklerini belirlemişlerdir.

Bebeklerden izole edilen izolatların pH 3 dirençlerinin; Mishra ve Prasad (2005), Yavuzdurmaz (2007), Kotsou ve ark. (2008), Verdenelli ve ark. (2009), Kirtzalidou ve ark. (2011)'nin elde ettiği sonuçlarla benzer olduğu, izolatların; Vinderola ve Reinheimer (2003), Başıyigit (2004), Kavas (2007), Uymaz (2009)'ın yaptıkları çalışmalarda elde ettikleri izolatlara göre ise daha yüksek dirence sahip olduğu belirlenmiştir. *L.casei* en fazla miktarda pH 3'e dirence sahip izolatları barındırmakla birlikte, BF 199 (*L.rhamnosus* GG) 0,42 log kob/mL gelişimle en yüksek miktarda pH 3'e direnç gösterip gelişme gösteren izolat olmuştur.

4.2.7 İzolatların antibiyotiklere direnci

Bebeklerden izole edilen *Lactobacillus* spp.'leri tetracycline, chloramphenicol ve penicillinden etkilenmiştir. İzolatların antibiyotik dirençleri Çizelge 4.2.7 ve Şekil 4.2.7.1'de görülmektedir. Ayrıca 4.2.7.2'de 112 nolu izolata antibiyotiklere direnç görünümü yer almaktadır. İzolatların çoğunluğu kanamycin ve streptomycine direnç gösterirken, Chloramphenicol en duyarlı oldukları antibiyotik olmuştur. Birçok araştırmada benzer sonuçlar alınmıştır (Kattla ve ark 2001, Choi ve ark 2003).

Çizelge 4.2.7. İzolatlarının antibiyotiklere dirençleri (Zon çapı: mm)

İzolat No	CHL	PEN	TE	KAN	STR
BF 2	24,5±0,8	23,0±0,9	27,3±1,6	-	-
BF 3	19,4±1,3	18,1±0,7	17,3±0,3	-	-
BF 6	20,4±0,7	17,7±0,5	15,6±0,8	-	-
BF 7	20,2±1,3	21,6±0,9	22,3±0,4	-	7,3±0,6
BF 9	25±0,8	23,3±0,3	27,3±1,5	-	-
BF 10	21,2±0,6	24,8±0,8	22,2±0,9	-	-
BF 13	20,1±1,2	19,3±1,2	17,8±0,6	-	-
BF 14	21,3±0,5	20,1±1,3	17,1±0,3	-	-
BF 18	21,5±0,8	25,4±0,1	22,7±1,7	-	-
BF 20	20,1±0,4	15,2±0,6	16,5±0,2	-	-
BF 23	20,9±0,5	19,5±0,7	18,2±1,8	7,4±0,2	8,0±0,8
BF 24	22,3±0,9	18,6±0,8	15,4±0,8	-	-
BF 25	24,5±0,7	22,9±1,1	27,5±1,7	-	-
BF 26	20,3±0,5	22,4±0,6	21,7±0,3	7,1±0,7	7,1±1,0
BF 27	20,6±0,9	19,3±0,6	17,5±1,2	-	-
BF 29	21,0±0,6	25,2±0,2	22,4±1,2	-	-
BF 31	21,4±1,5	20,0±0,8	17,3±0,4	-	-

Çizelge 4.2.7. İzolatlarının antibiyotiklere dirençleri (Zon çapı: mm)(devam)

İzolat No	CHL	PEN	TE	KAN	STR
BF 32	21,2±0,7	24,9±1,2	22,5±0,7	-	-
BF 34	21,0±1,1	19,4±0,9	17,6±1,1	-	-
BF 35	25,1±0,9	21,9±1,5	21,5±0,5	-	-
BF 37	21,4±1,3	24,9±0,8	23,1±0,3	-	-
BF 38	20,6±0,9	22,7±1,3	19,2±1,4	-	-
BF 41	21,1±0,7	21,1±0,7	19,2±0,6	7,6±0,5	9,2±0,7
BF 44	20,8±0,9	20,7±0,7	18,8±0,8	7,4±0,3	7,9±0,9
BF 47	18,9±0,3	16,8±0,7	14,8±1,3	7,5±0,3	-
BF 53	21,9±1,2	24,3±0,8	23,3±1,9	-	-
BF 55	20,7±0,5	19,9±0,9	15,9±0,2	-	-
BF 56	21,8±1,5	19,7±0,9	15,9±0,7	-	-
BF 57	20,3±0,6	24,4±0,9	16,8±1,2	-	9,5±0,4
BF 59	20,8±0,6	21,4±0,2	18,7±0,7	-	7,2±0,9
BF 61	24,3±0,5	22,7±0,8	27,1±0,8	-	-
BF 62	21,4±1,3	18,6±0,7	15,0±0,2	-	-
BF 68	21,2±0,2	22,2±0,1	17,1±0,3	-	7,2±0,8
BF 69	20,5±0,1	22,7±1,0	21,2±0,7	7,0±0,5	7,3±0,5
BF 70	20,2±0,6	22,4±0,5	21,3±1,3	7,2±0,6	7,1±0,7
BF 73	20,8±0,8	22,7±0,8	22,0±1,3	7,3±0,3	7,5±1,1
BF 74	18,5±1,1	17,8±0,2	14,1±0,4	7,9±1,1	-
BF 75	20,7±0,7	19,9±0,9	18,4±0,6	7,3±0,4	8,0±0,2
BF 76	20,5±0,3	22,7±0,6	21,3±0,8	7,1±0,9	7,3±0,7
BF 77	21,3±0,9	22,4±1,5	16,8±0,9	-	-

Çizelge 4.2.7. İzolatlarının antibiyotiklere dirençleri (Zon çapı: mm)(devam)

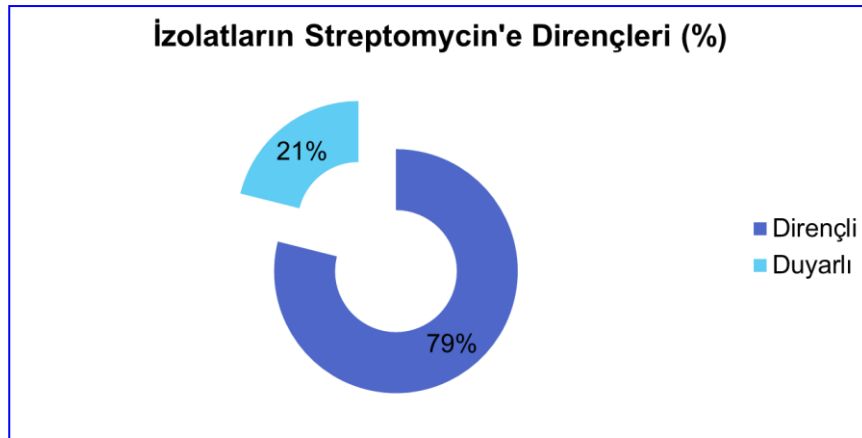
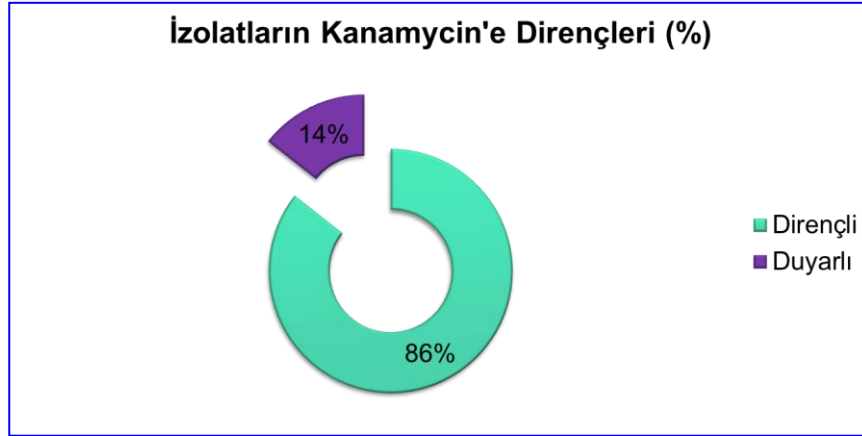
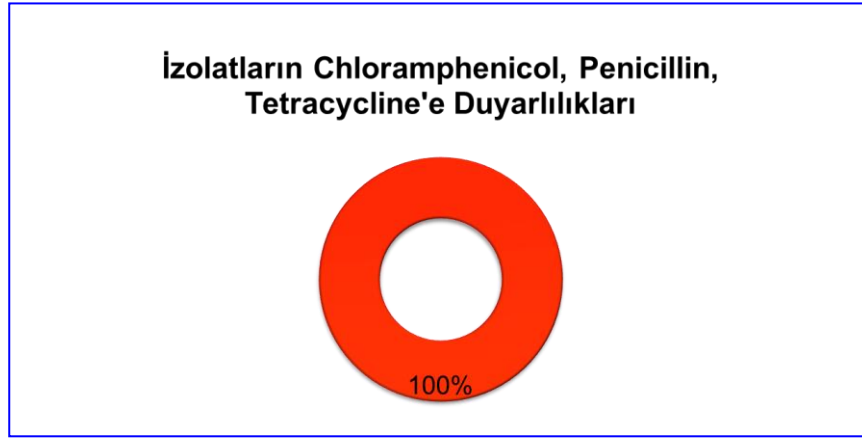
İzolat No	CHL	PEN	TE	KAN	STR
BF 78	20,5±1,3	18,5±0,8	15,7±0,5	-	-
BF 80	22,0±0,8	20,2±0,3	16,3±1,0	-	-
BF 86	25,4±0,5	22,6±1,9	27,9±0,8	-	-
BF 89	24,8±0,7	22,9±0,6	27,8±0,9	-	-
BF 92	21,3±0,2	19,1±0,4	17,5±1,5	-	-
BF 96	20,7±0,9	21,4±1,4	18,7±0,8	-	7,1±0,6
BF 97	25,0±1,0	22,4±0,6	27,8±0,9	-	-
BF 99	21,8±0,8	19,9±0,5	15,9±0,3	-	-
BF 100	24,5±0,6	22,4±1,0	28,5±0,6	-	-
BF 102	22,4±1,1	19,2±0,2	17,7±1,2	-	-
BF 105	21,7±0,2	24,5±0,2	23,3±1,7	-	-
BF 108	21,7±0,6	19,4±0,9	16,3±0,9	-	-
BF 109	21,1±1,0	19,8±1,0	17,6±0,9	-	-
BF 111	21,4±0,8	23,0±0,7	21,7±0,9	7,5±0,4	7,8±0,8
BF 112	21,3±1,1	23,5±0,7	17,1±1,0	-	7,2±0,3
BF 117	22,2±0,9	18,1±0,9	16,4±0,8	-	-
BF 119	24,7±0,5	22,8±0,8	27,4±1,7	-	-
BF 120	24,9±0,9	22,7±1,3	27,6±1,4	-	-
BF 122	19,9±0,6	20,2±1,0	17,1±0,2	-	-
BF 123	24,8±0,9	22,0±0,7	21,3±0,5	-	-
BF 124	24,5±1,5	22,5±0,8	28,0±2,2	-	-
BF 125	19,8±0,9	19,3±0,7	17,4±0,9	-	-
BF 127	21,4±0,5	25,0±2,0	23,4±1,6	-	-

Çizelge 4.2.7. İzolatlarının antibiyotiklere dirençleri (Zon çapı: mm)(devam)

İzolat No	CHL	PEN	TE	KAN	STR
BF 131	23,6±0,8	22,5±0,5	27,7±1,0	-	-
BF 132	20,3±1,5	18,1±0,2	17,5±0,7	-	-
BF 134	20,2±0,9	21,4±0,8	17,6±0,6	-	7,0±0,1
BF 136	24,8±0,6	22,5±0,9	27,6±1,4	-	-
BF 141	25,0±0,8	22,1±0,7	20,9±0,5	-	-
BF 143	25,0±1,1	21,7±1,2	20,9±0,8	-	-
BF 145	25,1±0,7	23,3±0,7	28,0±2,1	-	-
BF 146	20,5±0,8	17,7±0,8	15,8±0,9	-	-
BF 147	25,2±0,9	21,8±0,6	21,1±0,8	-	-
BF 149	19,8±0,5	19,4±1,4	17,3±0,8	-	-
BF 154	19,3±0,9	18,8±0,5	17,2±0,2	-	-
BF 160	25,2±0,9	22,9±0,7	27,5±1,4	-	-
BF 161	21,7±0,8	20,1±0,6	16,4±0,1	-	-
BF 164	24,7±1,7	22,4±1,0	21,3±0,8	-	-
BF 165	21,3±0,7	22,9±1,3	22,2±0,8	7,0±0,3	7,2±0,5
BF 169	18,4±0,3	17,2±0,6	14,2±0,9	-	-
BF 173	20,3±1,1	22,1±0,9	18,3±0,7	-	7,1±0,3
BF 174	18,8±0,8	17,9±0,7	17,1±0,1	-	-
BF 178	25,1±0,6	22,8±0,9	27,8±0,9	-	-
BF 183	19, 8±1,0	20,5±0,8	17,2±0,3	-	-
BF 184	24,1±1,2	22,6±0,7	27,4±2,3	-	-
BF 186	21,7±0,5	23,7±1,2	23,5±1,1	-	-
BF 187	24,7±0,6	22,6±0,9	27,7±1,8	-	-

Çizelge 4.2.7. İzolatlarının antibiyotiklere dirençleri (Zon çapı: mm)(devam)					
İzolat No	CHL	PEN	TE	KAN	STR
BF 188	24,5±0,9	22,5±1,3	27,4±0,7	-	-
BF 189	24,5±0,6	22,4±1,5	27,6±1,3	-	-
BF 191	20,2±1,4	21,4±0,8	17,1±0,9	-	7,0±0,4
BF 193	20,2±1,0	20,1±0,7	16,3±0,5	-	-
BF 194	24,7±1,0	22,6±0,8	27,9±0,4	-	-
BF 196	24,9±0,8	22,9±1,7	28,0±0,6	-	-
BF 199	19,8±0,5	20,5±0,7	17,2±0,1	-	-
BF 200	20,3±0,8	18,1±1,2	17,8±0,9	-	-
BF 201	20,5±0,9	18,1±0,9	17,6±0,5	-	-
BF 203	19,6±0,6	18,1±1,3	17,1±0,8	-	-
BF 205	19,9±0,1	18,6±0,3	17,2±0,7	-	-
BF 206	21,1±1,3	24,1±0,3	22,7±1,2	-	-
BF 210	21,3±0,6	24,4±1,4	22,9±0,7	-	-
BF 211	21,5±0,8	23,2±0,8	21,5±0,5	7,4±0,5	7,7±0,5
BF 214	21,6±0,9	24,9±1,2	23,1±1,5	-	-
BF 215	20,5±0,9	22,6±0,6	21,5±1,0	7,3±0,2	7,5±0,4
BF 217	20,3±1,6	19,7±0,7	17,2±1,0	-	-
BF 218	21,3±0,3	19, 3±0,7	17,9±0,6	-	-

TET: Tetracycline (30 µg); CHL: Chloramphenicol (30 µg); PEN: Penicillin (10 U)
KAN: Kanamycin (30 µg); STR: Streptomycin (10µg) (Bioanalyse)



Şekil 4.2.7.1. İzolatların antibiyotiklere dirençleri

Bazı antibiyotiklere probiyotik suşların direnci bağırsak enfeksiyonları kontrolünde önleyici ve tedavi edici olarak kullanılabilir. Bu suşların antibiyotiklere direnci, bakteriyel ekosistem üzerine antibiyotik tedavisinin negatif etkilerini minimize etmede onların potansiyelini açıklamaktadır (El-Naggar 2004).



(a)



(b)

Şekil 4.2.7.2. BF 112 nolu izolatin antibiyotiklere direnci a) CHL, PEN, TET; b) KAN, STR

Kotsou ve ark. (2008), bebek feçeslerinden elde edilen *L.acidophilus*, *L.rhamnosus*, *L.paracasei* subsp. *paracasei*, *L.fermentum*, *L.delbrueckii* subsp. *delbrueckii*, *L.cellobiosus*, *L.plantarum*, *L.brevis* ve *L.crispatus*'un antibiyotik dirençlerini inceledikleri çalışmada *L.rhamnosus* suşlarının vancomycin, bacitracin, amikacin, kanamycine dirençli iken çoğu suşun ampicillin, amoxicillin/clavulanic acid, cephalothin, chloramphenicol, erythromycin ve rifampicine hassas olduğunu; *L.paracasei* subsp. *paracasei* suşlarının; ampicillin, amoxicillin/clavulanic acid, cephalothin, tetracycline, chloramphenicol, erythromycin ve rifampicine hassas vancomycin, bacitracin, amikacin ve kanamycine dirençli olduklarını, *L.fermentum* suşlarının; ampicillin, amoxicillin/clavulanic acid, cephalothine hassas, vancomycin, amikacin, kanamycin ve ciprofloxacin dirençli olduklarını tespit etmişlerdir.

Kirtzalidou ve ark. (2011), bebeklerden (4, 30, 90 günlük) izole ettikleri (*L.gasseri*, *L.crispatus*, *Lactobacillus paracasei*, *L.salivarius*, *L.fermentum*, *L.rhamnosus*) izolatlarının çoğunun ampicillin, amoxicillin/clavulanic acid, tetracycline, erythromycin, cephalothin, chloramphenicol ve rifampicine duyarlı iken, izole edilen *L.rhamnosus* suşlarının ve bazı *L.paracasei* subsp. *paracasei* suşlarının bacitracin'e dirençli; izole edilen çoğu suşun ise amikacin ve kanamycine dirençli olduğunu tespit etmişlerdir.

Xanthopoulos ve ark. (2000), bebek feçeslerinden izole ettikleri *Lactobacillus* türlerinden *L.paracasei* subsp. *paracasei* ve *L.rhamnosus*'un tüm suşlarının; chloramphenicol, erythromycin, penicillin G, methicillin, streptomycin, erythromycin, vancomycin ve tetracycline duyarlı olduklarını belirlemişlerdir.

Arıcı ve ark. (2004) yaptıkları çalışmada bebek feçeslerinden izole ettikleri *Lactobacillus* türlerinin genellikle kanamycin ve streptomycine dayanıklı iken amoxycillin, chloramphenicol, erythromycin, penicillin G ve tetracyclinee duyarlı olduklarını bildirmişlerdir.

Delgado ve ark (2005), insanlardan izole ettikleri *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* türlerinin bazı antibiyotik ve antibiyotik kombinasyonlarına dirençlerini inceledikleri çalışmada; bütün suşların chloramphenicol ve imipeneme duyarlı iken çoğunun metronidazole dirençli olduğunu belirlemişlerdir. *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium pseudocatenulatum*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus rhamnosus* ve *Lactobacillus brevis*'in erythromycin ve/ya da clindamycine dirençli olduğunu, *L.casei/L.paracasei*, *L.rhamnosus*, *L.plantarum*, *L.parabuchneri*, *L.brevis* ve *L.vaginalis*'in vancomycine karşı yüksek MIC (MICs \geq 256 $\mu\text{g/mL}$) değerine sahip olduğunu tespit etmişlerdir.

Uymaz (2009), insanlardan izole ettiği çeşitli *L.casei* suşunun; metisilin, seftazidime, vankomisin, basitrasin, amikasin, gentamisin, kanamycin, streptomycin, sulfadiazine, trimethoprine dirençli iken penisilin, amfisilin, amfisilin-sulbaktam, meropenem, imipenem, rifampisine hassas olduğunu tespit etmiştir.

Yokokura ve Mutai (1976), yaptıkları çalışmada insanlardan izole edilen 45 adet *L.fermentum* suşunda penisilin direncinin minimum inhibe edici konsantrasyonunun (MIC) sadece 2 izolatta 17 ve 13 U/mL olduğunu, diğer izolatların ise 0,03-0,44 U/mL konsantrasyonda inhibisyon gösterdiklerini tespit etmişlerdir.

Başıyigit (2004), insanlardan izole ettiği çeşitli *Laktobasil* suşlarının penisilin grubu antibiyotiklerden amoksisilin kluvulanik aside %100, amoksisiline ve karbenisiline %97 oranında duyarlı bulmuştur. Kloramfenikol ve sefalotin %97, klindamisin %84 değerleriyle laktobasillere yüksek düzeyde etkili diğer antibiyotikleri oluşturmuş, Ayrıca basitrasine karşı suşların %34'ü dirençli, ofloksasine suşların %47'si orta düzeyde duyarlı iken %31'i dirençli bulunmuştur. nistatine, streptomycin ve peptid grubu antibiyotiklerden polimiksin B'ye karşı suşların %100'ü direnç gösterirken, suşların %82'sinin vankomisine dirençli olduğunu belirtmiştir.

Verdenelli ve ark. (2009), İtalya'da insanlardan izole ettikleri *Lactobacillus rhamnosus* IMC 501 (EU483094.1) ve *Lactobacillus paracasei* IMC 502 (FJ542303.1)'nin antibiyotik dirençlerini inceledikleri çalışmada; her iki bakterinin de vancomycin, colistin

sulphate, gentamicin, oxolinic acid ve kanamycine dirençli olduklarını; erythromycin ve neomycin'nin *Lactobacillus paracasei*'nin gelişimini inhibe ederken *Lactobacillus rhamnosus*'u etkileyemediğini bildirmişlerdir. *L.rhamnosus* IMC 501 *L.paracasei* IMC 502'ye karşı kanamycin, penicillin g, tetracyclinee sırasıyla; 7,36,28; 0,36,31 mm zon çapı verdiğini rapor etmiştir.

Cataloluk ve Gogebakan (2004), insanlardan ve süt ürünlerinden izole ettikleri *Lactobacillus* spp.lerin (*L.acidophilus*, *L.casei*, *L.plantarum*, *L.fermentum*, *L.rhamnosus*, *L.jonsoni*, *L.gasseri*, *L.crispatus*) antibiyotiklere dirençlerini inceledikleri çalışmada izole edilen *Lactobacillus* spp.'lerin %62'sinin tetracyclinee dirençli olduğunu tespit etmiştir. Ağız, dışkı ve vajinal mikrobiyotada bulunan laktobasillerin direnç genlerine sahip olmasının, dirençliliğin sindirim sistemi içerisinde elde edildiği/edilebileceği kanaatine vardığını belirtmişlerdir. Çalışmamızda elde edilen izolatların hiçbiri tetracyclinee direnç gösterememiştir.

Maragkoudakis ve ark. (2006) süt ürünlerinden izole ettikleri *Lactobacillus* izolatlarının (29 izolat) probiyotik özelliklerini inceledikleri çalışmada; büyük çoğunluğunun (25) vancomisin ve teicoplaninee dirençli olduğunu (MIC : 128 µgm/L' den yüksek) belirlerken, chloramphenicol ve tetracyclinee duyarlı olduğunu belirlemişlerdir. Çoğu (25) izolatın γ hemolitik, 4 adedinin ise α hemolitik aktivite gösterdiğini tespit etmişlerdir.

Tambekar ve Bhudata (2010) keçi sütünden izole ettikleri *L.rhamnosus* (G119b)'un probiyotik türlerinin tetracyclinee dayanıklı olduklarını, *L.rhamnosus* (G92 ve G99c)'un ise tetracyclinee duyarlı olduklarını tespit etmişlerdir.

Akman (2009), laktik asit bakterilerinin probiyotik özelliklerini incelediği çalışmasında; *L.casei*'nin ampicillin, novobiocin, erithromycin, rifampicin, gentamicin, tetracyclinee dirençli iken chloramphenicol, cephalothine genellikle orta derecede hassas ve novobiocine hassas olduğunu belirtip, *L.rhamnosus*'un ise; gentamicin, penicillin, tetracycline, vancomycine dirençli iken; chloramphenicol, erithromycin, novobiocine hassas olduğunu tespit etmişlerdir.

Temmerman ve ark. (2003), probiyotik ürünlerinden izole ettikleri laktobasillerin antibiyotik dirençlerini inceledikleri çalışmada izole edilen *Lactobacillus rhamnosus*'un tümünün kanamycin ve vancomycine , %21'inin tetracyclinee, %4'ünün erythromycine, %71'inin penicillin g'ye dirençli olduğunu ve hiçbirinin chloramphenicol dirençli

olmadığını; ayrıca izole ettikleri *Lactobacillus casei*'nin tümünün kanamycin ve vancomycine, %7'sinin tetracyclinee, %10'unun erythromycine, %17'inin penicillin g'ye ve %10'unun chloramphenicole dirençli olduğunu tespit etmişlerdir. Çalışmamızda bebek feçeslerinden elde edilen izolatların kanamycin, tetracycline ve penicilline karşı daha yüksek duyarlılık gösterdiği belirlenmiştir.

Antibiyotik duyarlılık çalışmalarında, *L.rhamnosus* HN001 ve HN067, *L.acidophilus* HN017'nin; gentamisin, kanamycin, neomisin ve streptomycine karşı dirençli fakat eritromisin, penisilin ve amfisiline duyarlı suşlar oldukları tespit edilmiştir (Zhou ve ark. 2005).

Değişik çalışmalarda, tetracycline ve klindamisine karşı *L.casei*, *L.fermentum* ve *L.rhamnosus*, *L.acidophilus* suşlarının duyarlı oldukları belirtilmiştir (Charteris ve ark. 1998).

Bebeklerden izole edilen *lactobacillus* spp. izolatlarının antibiyotiklere dirençlerini incelediğimiz çalışmada; (Charteris ve ark. 1998), Xanthopoulos ve ark. (2000), Arıcı ve ark. (2004), Başyigit (2004), Delgado ve ark (2005), (Zhou ve ark. 2005), Maragkoudakis ve ark. (2006), Kotsou ve ark. (2008), Uymaz (2009), Verdenelli ve ark. (2009), Kirtzalidou ve ark. (2011)'nin çalışmalarında elde ettikleri bulgulara paralel olduğu belirlenmiştir.

Çalışmamızda elde ettiğimiz izolatlardan BF 169 (*Lactobacillus casei* SWU 92194); chloramphenicole karşı en dirençli izolat olup en düşük zon çapı (18,4±0,3 mm), BF 20 (*Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* JCM 8130); penicilline karşı en dirençli izolat olarak tespit edilmiş olup en düşük zon çapı (15,2±0,6 mm), BF 74 (*Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* FQ005); tetracyclinee karşı en dirençli izolat olarak belirlenmiş olup, (14,1±0,4 mm) zon verdirmiştir. İzolatların % 86'sı kanamycine, % 79'u ise streptomycine karşı direnç göstermiştir.

4.2.8 İzolatların safra tuzlarına direnci

Çalışmamızda % 0,3 'lük safra tuzunda 24 saatlik inkübasyon sonrasında; *L.rhamnosus* suşlarındaki azalmanın 6,03 ile – 0,04 log kob/mL arasında olduğu, bu değerlerin *L.paracasei* subsp. *paracasei* için 6,74 ile – 0,15 log kob/mL arasında, *L.casei* için 0,52 ile -0,27 arasında olduğu belirlenirken, *L.fermentum* türünde ise 0,26 ile – 0,96 log kob/mL arasında artış belirledik. Test edilen *Lactobacillus* spp. izolatlarının safra tuzu bulunan besiyerinde gelişmeleriyle ilgili sonuçlar Çizelge 4.2.8 ve Şekil 4.2.8'de belirtilmiştir.

Çizelge 4.2.8 İzolatların Safra Tuzuna Dirençleri

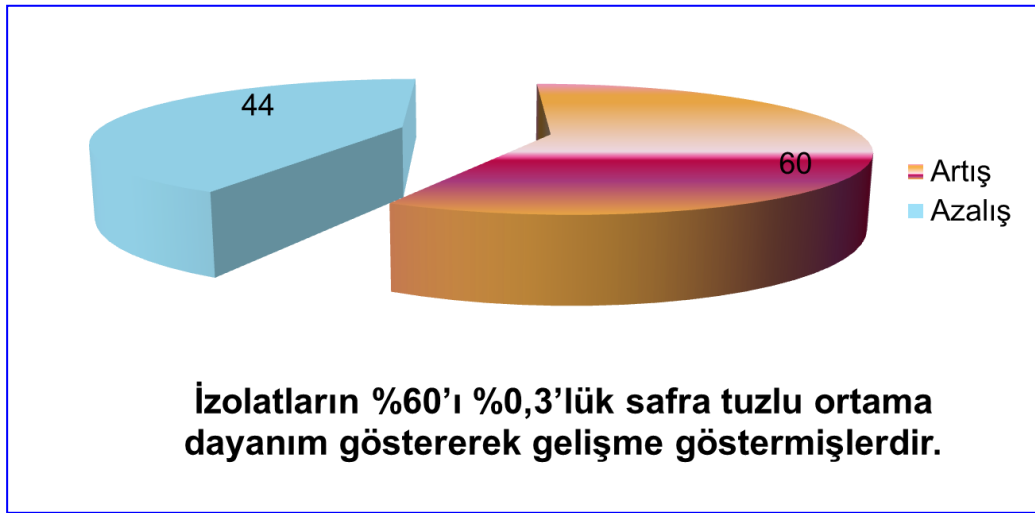
İzolat No	Bakteri sayısı (log kob/mL)		Azalma	İzolat No	Bakteri sayısı (log kob/mL)		Azalma
	0. saat	24. saat			0. saat	24. saat	
BF2	5,76±0,09	-	5,76	BF 109	6,39±0,12	6,51±0,04	-0,12
BF 3	7,18±0,04	7,77±0,02	-0,59	BF 111	6,12±0,05	5,84±0,07	0,28
BF 6	5,46±0,03	5,49±0,03	0,03	BF 112	5,81±0,04	6,03±0,01	-0,22
BF 7	5,32±0,03	5,43±0,07	0,11	BF 117	5,85±0,02	5,93±0,10	-0,08
BF 9	6,32±0,01	-	6,32	BF 119	6,76±0,07	-	6,76
BF 10	6,13±0,03	6,69±0,06	-0,56	BF 120	6,34±0,03	6,20±0,09	0,14
BF 13	5,49±0,05	6,11±0,02	-0,62	BF 122	6,28±0,02	6,76±0,06	-0,48
BF 14	5,18±0,07	5,25±0,08	-0,07	BF 123	5,44±0,08	5,27±0,08	0,17
BF 18	5,74±0,01	6,05±0,04	-0,31	BF 124	6,32±0,07	-	6,32
BF 20	5,96±0,10	6,08±0,08	-0,12	BF 125	5,78±0,02	6,12±0,06	-0,34
BF 23	5,88±0,05	6,24±0,02	-0,36	BF 127	6,56±0,07	6,81±0,10	-0,35
BF 24	6,15±0,03	6,00±0,04	0,15	BF 131	5,67±0,01	-	5,67
BF 25	6,32±0,07	-	6,32	BF 132	5,32±0,07	5,73±0,08	-0,41
BF 26	5,46±0,05	-	5,46	BF 134	5,96±0,06	6,22±0,04	-0,26
BF 27	7,09±0,09	7,35±0,03	-0,26	BF 136	5,44±0,03	-	5,44
BF 29	5,66±0,04	5,98±0,02	-0,32	BF 141	6,09±0,02	5,89±0,06	0,21
BF 31	6,40±0,08	6,47±0,16	-0,07	BF 143	7,22±0,01	7,06±0,14	0,16
BF 32	6,09±0,05	6,36±0,10	-0,25	BF 145	5,28±0,05	-	5,28
BF 34	5,55±0,01	5,96±0,07	-0,41	BF 146	5,90±0,05	5,96±0,04	-0,06

Çizelge 4.2.8 İzolatların safra tuzuna dirençleri (devam)

İzolat No	Bakteri sayısı (log kob/mL)		Azalma	İzolat No	Bakteri sayısı (log kob/mL)		Azalma
	0. saat	24. saat			0. saat	24. saat	
BF 35	5,38±0,02	5,12±0,15	0,26	BF 147	6,75±0,07	6,43±0,01	0,32
BF 37	5,23±0,06	5,49±0,03	-0,26	BF 149	5,07±0,12	5,54±0,09	-0,47
BF 38	5,73±0,04	-	5,73	BF 154	5,66±0,06	3,26±0,06	2,40
BF 41	5,96±0,07	6,28±0,09	-0,32	BF 160	6,13±0,11	-	6,13
BF 44	6,13±0,03	6,44±0,01	-0,31	BF 161	5,57±0,01	5,66±0,04	-0,09
BF 47	5,76±0,03	5,05±0,12	0,71	BF 164	5,26±0,02	5,03±0,08	0,23
BF 53	6,29±0,08	6,51±0,06	-0,22	BF 165	5,71±0,07	-	5,71
BF 55	5,38±0,05	5,42±0,01	-0,04	BF 169	7,11±0,22	7,15±0,14	-0,04
BF 56	6,07±0,08	5,93±0,07	0,14	BF 173	5,64±0,01	5,85±0,06	-0,27
BF 57	6,33±0,06	6,51±0,02	-0,18	BF 174	5,48±0,03	4,33±0,04	1,15
BF 59	5,78±0,04	6,00±0,29	-0,22	BF 178	6,14±0,05	5,07±0,07	1,07
BF 61	5,97±0,07	-	5,97	BF 183	5,75±0,02	5,89±0,01	-0,14
BF 62	6,15±0,01	6,25±0,17	-0,10	BF 184	6,74±0,09	-	6,74
BF 68	4,87±0,01	5,14±0,03	-0,27	BF 186	6,27±0,08	6,98±0,08	0,71
BF 69	5,57±0,05	-	5,57	BF 187	5,57±0,09	-	5,57
BF 70	6,03±0,07	-	6,03	BF 188	5,96±0,03	5,98±0,05	-0,02
BF 73	6,07±0,07	-	6,07	BF 189	5,75±0,04	-	5,75
BF 74	5,84±0,04	5,11±0,07	0,73	BF 191	6,14±0,01	6,33±0,01	-0,19
BF 75	5,33±0,02	5,67±0,01	-0,34	BF 193	5,67±0,05	5,71±0,03	-0,04
BF 76	5,38±0,09	-	5,38	BF 194	5,68±0,08	-	5,68
BF 77	5,56±0,08	5,72±0,04	-0,16	BF 196	6,24±0,12	-	6,24
BF 78	5,44±0,05	5,47±0,02	-0,03	BF 199	5,63±0,03	6,86±0,07	-1,23
BF 80	5,36±0,07	5,41±0,09	-0,05	BF 200	6,84±0,08	6,90±0,09	-0,06
BF 86	5,68±0,02	5,16±0,07	0,52	BF 201	5,49±0,02	5,50±0,05	-0,01
BF 89	5,33±0,06	-	5,33	BF 203	6,78±0,07	7,06±0,03	-0,28
BF 92	5,82±0,01	5,78±0,05	0,04	BF 205	5,65±0,04	5,88±0,13	-0,23
BF 96	6,45±0,11	6,65±0,09	-0,20	BF 206	6,08±0,10	6,40±0,05	-0,32
BF 97	5,37±0,03	-	5,37	BF 210	5,77±0,09	6,03±0,01	-0,26
BF 99	5,47±0,04	5,60±0,08	-0,13	BF 211	8,39±0,05	8,15±0,18	0,24

Çizelge 4.2.8 İzolatların safra tuzuna dirençleri (devam)

İzolat No	Bakteri sayısı (log kob/mL)		Azalma	İzolat No	Bakteri sayısı (log kob/mL)		Azalma
	0. saat	24. saat			0. saat	24. saat	
BF 100	5,97±0,03	6,12±1,17	-0,15	BF 214	6,12±0,06	7,08±0,03	-0,96
BF 102	7,20±0,05	7,34±0,06	-0,14	BF 215	6,28±0,04	-	6,28
BF 105	5,16±0,07	5,66±0,35	-0,50	BF 217	7,17±0,10	7,39±0,06	-0,22
BF 108	5,66±0,03	5,69±0,02	-0,03	BF 218	5,85±0,04	5,88±0,13	-0,03



Şekil 4.2.8. İzolatların %0,3'lük safra tuzunda gelişebilme yetenekleri

Laktik asit bakterilerinin probiyotik özellikte olabilmesi için mide asitliğinden geçebilen bakterilerin bağırsak sistemine ulaştıklarında safra tuzuna dirençli olmaları istenmektedir. Bu yüzden safra tuzlarına karşı direnç, probiyotik bakterilerin seçiminde önemli bir kriterdir (Başyigit 2004). Fuller (1992) safra tuzlarının düşük konsantrasyonlarda bile (*in vitro*) mikroorganizmaları inhibe ettiğini bildirmiştir.

Safra tuzlarının %0,3'lük konsantrasyonunun mikroorganizmaların bu tuzlara karşı direncinin belirlenmesinde kritik konsantrasyon olarak kabul edildiği bildirilmektedir (Gilliand ve ark. 1984).

Kotsou ve ark. (2008), bebek feçeslerinden elde edilen *L.acidophilus*, *L.rhamnosus*, *L.paracasei* subsp. *paracasei*, *L.fermentum*, *L.delbrueckii* subsp. *delbrueckii*, *L.cellobiosus*, *L.plantarum*, *L.brevis* ve *L.crispatus* ile safra tuzuna dirençlerini inceledikleri çalışmada % 0,3 'lük safra tuzunda; *L.rhamnosus* suşlarında 24 saatlik inkübasyon sonucundaki azalmanın

0,19 ile (-0,20) \log_{10} kob/mL arasında, *L.paracasei* subsp. *paracasei* suşlarındaki azalmanın 1,39 ile (-0,46) \log_{10} kob/mL arasında olduğunu belirlemişlerdir *L.fermentum* suşları; *L.rhamnosus* ve *L.paracasei* subsp. *paracasei* suşlarına kıyasla safra tuzuna daha direnç gösterip suşlar arasında 24 saatlik inkübasyon sonucunda 1,5 ile 2,19 \log_{10} kob/mL artış olduğunu rapor etmişlerdir. Çalışmamızda, Kotsou ve ark. (2008) yaptıkları çalışmaya göre % 0,3 'lük safra tuzunda daha yüksek inhibisyon etkisi saptanmıştır.

Altmış yedi bebekle (4, 30, 90 günlük) yapılan çalışmada izole edilen (*L.gasseri*, *L.crispatus*, *L.paracasei*, *L.salivarius*, *L.fermentum*, *L.rhamnosus*) izolatlarının safra tuzuna dirençlerinin incelendiği çalışmada %0,3 lük safra tuzu konsantrasyonunda *L.paracasei* suşlarında 0 ve 24 saatlik inkübasyon sonrası değişimin (7,10-7,82; 7,02-7,32; 6,02-8,40; 6,25-8,04; 5,97-8,69; 7,04-7,72) \log_{10} kob/mL olduğu, *L.fermentum* suşlarında değişimin (5,27-8,85; 7,39-8,76) \log_{10} kob/mL, *L.rhamnosus* suşlarındaki değişimin ise (4,40-7,61; 6,76-7,72) \log_{10} kob/mL olduğu belirtilmiştir (Kirtzalidou ve ark. 2011). Bu çalışmada safra tuzuna yüksek direnç ve bazı suşlarda önemli oranlarda gelişim gözlenmişken, bizim çalışmamızda daha yüksek inhibisyon, dirençli suşlarda ise daha düşük oranlarda gelişim saptanmıştır.

Xanthopoulos ve ark. (2000), bebek feçeslerinden izole ettikleri *Lactobacillus* türlerinin % 0,15 safra tuzuna dirençlerini inceledikleri çalışmada; *L.paracasei* subsp. *paracasei*'nin çeşitli suşlarında (% inhibisyonu 34,2-67,4) *L.rhamnosus*'ta (% inhibisyon 42,7-83,9) tespit etmiş, genellikle bu iki türün diğer izole edilen laktobasil türlerine *L.acidophilus* (82,1-85,6) *L.gasseri* (63,5-78,1), *L.reuteri* (48,9-89,7) göre safra tuzuna daha dirençli olduklarını belirtmişlerdir.

Jacobsen ve ark. (1999) 1 yaşından küçük Danimarkalı bebek feçeslerinden izole ettikleri, *L.paracasei* subsp. *paracasei* 19015-6, *L.paracasei* subsp. *paracasei* 19058-4, *L.rhamnosus* 19020-8, *L.rhamnosus* 19070-2 suşlarının %0,3 (w/v) konsantrasyona sahip safra tuzunda canlılıklarını koruduklarını ancak gelişemediklerini belirtmişlerdir.

Uymaz (2009), insan feçeslerinden ve peynirden izole ettiği 6 *L.casei* suşunun; % 0,3'lük safra tuzuna direncini incelediği çalışmasında 4 saatlik inkübasyon sonucunda insan feçeslerinden izole edilen *L.casei* suşlarında % gelişmenin 0 ile 90,86 arasında; peynirden izole edilen *L.casei* suşunda ise 0 ile 95,59 arasında değişim gösterdiğini tespit etmiştir.

Çalışmamızda izole edilen *L.casei* suşlarının % 0,3'lük safra tuzuna dirençlerinin daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

Verdenelli ve ark. (2009), İtalya'da insan feçeslerinden izole ettikleri *Lactobacillus rhamnosus* IMC 501 (EU483094.1) ve *Lactobacillus paracasei* IMC 502 (FJ542303.1)'nin (0,1; 0,3; 0,5%) safra tuzu konsantrasyonlarıyla dirençlerini araştırdıkları çalışmada bu bakterilerin safra tuzuna dirençli olup potansiyel probiyotik mikroorganizmalar olarak ele alınabileceklerini saptamışlardır.

Başığit (2004), insanlardan izole ettikleri çeşitli laktobasil suşlarının % 0,3'lük safra tuzu konsantrasyonunda 3 saatlik inkübasyon sonrasında 41 tanesinde artış olduğunu, 21 tanesinde azalma olduğunu ve 49 tanesinde sayıca bir değişme olmadığını belirlenmiş, izolatların düşük pH koşullarına dayanım testi sonuçları ile kıyaslandığında, laktobasillerin safra tuzuna dayanımlarının daha yüksek olduğunu rapor etmiştir. Çalışmamızda Başığıit (2004)'in elde ettiği sonuçlara paralel bulgular elde edilmiştir.

Kavas (2007), probiyotik mikroorganizmaların safra duyarlılıklarını incelediği çalışmada, *L.casei*'nin çeşitli suşlarının tümünün %1, 1,5 ve 2 safra konsantrasyonlarında kontrol gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede inhibe olduklarını belirlemiştir (kontrol grubu: 8,35 log₁₀ kob/mL, %2: 8,02 log₁₀ kob/mL, %1,5: 8,16 log₁₀ kob/mL, %1: 8,12 log₁₀ kob/mL).

Dunne ve ark. (2001); insan kaynaklı *Lactobacillus* spp.'lerin probiyotik olarak değerlendirilebilmeleri için seçme kriterlerini araştırdıkları çalışmada; *L.casei* F19'un, *L.fermentum* KLD ve *L.paracasei* 212.3'ün sığır safrasına dirençli iken domuz safrasının bu bakterilere kuvvetli inhibitör etkide bulunduğunu tespit etmişlerdir.

Salem ve ark. (2013) anne sütünden izole ettikleri (glukozdan gaz oluşturan) *Lactobacillus* spp.'lerin %0,3'lük safra tuzuna dirençlerini inceledikleri çalışmada; izolatlardaki 0. ve 60. dk'daki değişimi (7,40-8,26; 8,77-9,37; 9,00-9,33; 8,34-8,37 log₁₀ kob/mL) olarak belirlemişlerdir.

Maragkoudakis ve ark. (2006) süt ürünlerinden izole ettikleri *Lactobacillus* türlerinin (29 izolat) probiyotik özelliklerini inceledikleri çalışmada; tüm suşların pankreatin ve safra tuzunda canlılığını koruduğunu belirlerken suşlar arasında değişken safra tuzu hidrolaz aktivitesi gözlemişlerdir.

Akman (2009), yaptığı çalışmada %0,3'lük (w/v) konsantrasyondaki safra tuzunda bakterilerin gelişimlerinin yavaşlayıp artış ve azalışın 1 log kob/mL değerinde olduğunu belirtmiştir. Çalışmamızda azalışın 1 log kob/mL'den fazla olduğu izolatlar olduğu tespit edilmiştir. Yapılan diğer benzer çalışmada %0,3 (w/v) oxgall içeren MRS broth besiyerinde bakterilerin gelişimlerinin yavaşlayıp birbirine yakın canlılık gösterdikleri rapor edilmiştir (Pennacchia ve ark. 2004).

4.2.9 İzolatların hidrofobisite yetenekleri

Çalışmadaki izolatlarnın bir hidrokarbon olan xylene hidrofobisite değerleri Çizelge 4.2.9'da izolatlarnın hidrofobisite değerleri ve Şekil 4.2.9.2 'de izolatlarnın türlere göre ortalama % hidrofobisite değerleri verilmiştir. Şekil 4.2.9.1'de izolatlara xylene ilavesi, ilave sonrası tüplerin vortekslenmesi ve spektrofotometrede okumanın yapıldığı aşama görölmektedir. İzolatların hidrofobisite değerleri %2,61 (BF 75) ile 34,86 (BF 199) arasında değişmiştir.

Çizelge 4.2.9. İzolatların Hidrofobisite Yetenekleri

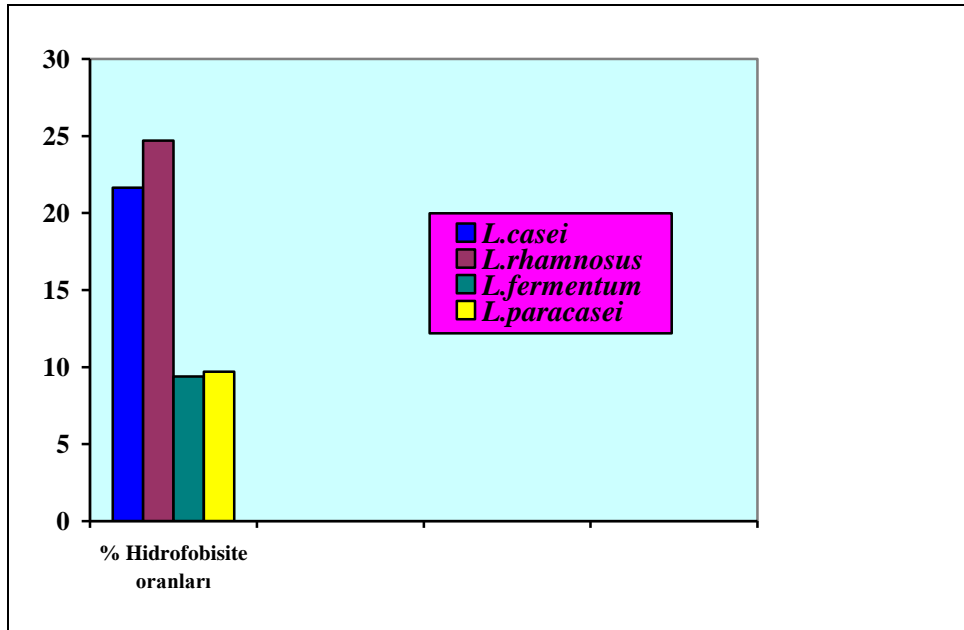
İzolot No	Hidrofobisite (%)	İzolot No	Hidrofobisite (%)
BF2	8,19±1,32	BF 109	14,28±1,03
BF 3	9,87±0,71	BF 111	21,76±0,74
BF 6	12,36±0,76	BF 112	23,89±0,88
BF 7	29,1±2,45	BF 117	8,90±0,92
BF 9	7,17±1,13	BF 119	6,78±0,67
BF 10	7,32±0,64	BF 120	6,73±1,72
BF 13	12,25±1,03	BF 122	10,51±1,72
BF 14	14,32±0,48	BF 123	18,03±0,83
BF 18	5,20±0,80	BF 124	6,06±0,57
BF 20	10,55±0,94	BF 125	17,28±1,06
BF 23	2,84±0,42	BF 127	5,36±0,69
BF 24	12,21±0,65	BF 131	6,56±0,41
BF 25	6,32±0,76	BF 132	14,44±1,17
BF 26	22,39±0,91	BF 134	28,27±0,63
BF 27	8,11±0,88	BF 136	6,37±0,81
BF 29	11,08±1,01	BF 141	17,15±0,74
BF 31	11,62±0,94	BF 143	20,45±2,36
BF 32	26,44±2,12	BF 145	6,63±1,10
BF 34	12,37±0,62	BF 146	15,78±0,95
BF 35	17,36±1,03	BF 147	18,88±1,14
BF 37	13,95±1,26	BF 149	13,81±1,25
BF 38	8,15±0,89	BF 154	14,24±0,71
BF 41	4,76±0,48	BF 160	4,73±0,73

Çizelge 4.2.9. İzolatlarının Hidrofobisite Yetenekleri (devam)

İzolat No	Hidrofobisite (%)	İzolat No	Hidrofobisite (%)
BF 44	3,13±0,79	BF 161	9,47±1,11
BF 47	4,16±1,04	BF 164	19,33±0,80
BF 53	6,09±0,91	BF 165	27,34±1,52
BF 55	14,22±0,37	BF 169	29,12±2,18
BF 56	13,97±1,25	BF 173	27,89±0,93
BF 57	8,74±1,12	BF 174	12,24±0,82
BF 59	29,02±1,55	BF 178	7,45±0,71
BF 61	5,67±0,29	BF 183	13,86±0,94
BF 62	7,88±0,65	BF 184	6,67±1,08
BF 68	28,94±1,83	BF 186	5,84±0,47
BF 69	20,73±1,36	BF 187	5,18±0,32
BF 70	24,15±0,78	BF 188	6,36±0,63
BF 73	21,22±0,99	BF 189	7,30±0,90
BF 74	4,20±1,04	BF 191	19,12±0,65
BF 75	2,61±0,79	BF 193	11,23±0,54
BF 76	23,44±2,24	BF 194	9,27±0,81
BF 77	11,45±0,61	BF 196	7,88±1,15
BF 78	14,40±1,16	BF 199	34,86±1,88
BF 80	13,39±0,42	BF 200	13,35±0,52
BF 86	15,28±0,93	BF 201	12,64±0,72
BF 89	9,33±0,52	BF 203	15,79±1,14
BF 92	14,12±1,05	BF 205	16,18±0,76
BF 96	28,74±0,67	BF 206	12,15±1,14
BF 97	5,12±0,49	BF 210	11,90±0,96
BF 99	9,90±0,67	BF 211	22,18±1,84
BF 100	5,88±0,79	BF 214	5,95±0,55
BF 102	12,69±1,38	BF 215	24,72±1,69
BF 105	16,71±1,05	BF 217	13,10±0,52
BF 108	12,26±0,97	BF 218	9,45±0,64



Şekil 4.2.9.1. İzolatlara xylene ilavesi, ilave sonrası tüplerin vortekslenmesi ve spektrofotometrede okumanın yapıldığı aşama



Şekil 4.2.9.2. İzolatların ortalama % hidrofobisite değerleri

Kotzamanidis ve ark. (2010) bebek feçeslerinden izole ettikleri *Lactobacillus* türlerinin xylene ile hidrofobisitesini ölçümledikleri çalışmada; *L.paracasei*'nin çeşitli suşlarının hidrofobisitesini % 1,4, *L.rhamnosus*'un çeşitli suşlarının hidrofobisitesini % 1,8-3,4 arasında bulmuş, en yüksek hidrofobisiteyi %43,3 ile *L.reuteri* DC421'in gösterdiğini saptamışlardır. Yaptığımız çalışmada daha yüksek değerler elde ettik.

Marin ve ark. (1997) laktik asit bakterilerinin hidrofobik özelliklerini inceledikleri çalışmada xylene tutunum oranlarını % 8,42-60,85 arasında bulmuş en yüksek tutunum oranını *L.sake*'nin gösterdiğini tespit etmişlerdir.

Mishra ve Prasad (2005)'in *Lactobacillus casei* suşlarının hidrofobisite kabiliyetlerini incelediği çalışmada, bakterilerin üç farklı hidrokarbona hidrofobisitesini incelemişler ve xylene olan hidrofobisiteyi %5,81 ile 42,52 arasında bulmuşlardır.

Çalışmamızda izolatların hidrofobisite değerlerinin; Marin ve ark. (1997) ve Mishra ve Prasad (2005)'in çalışmalarında elde ettikleri izolatların hidrofobisite değerleriyle benzer, Kotzamanidis ve ark. (2010)'ının izole ettikleri izolatların hidrofobisite değerlerine kıyasla ise daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

Schillinger ve ark. (2005), n-hexadecane kullanarak izole ettikleri çeşitli *L.paracasei* subsp. *paracasei* suşlarının hidrofobisitesini değerlendirdikleri çalışmada hidrofobisiteyi %28-%50 arasında bulmuşlardır.

İñiguez-Palomares ve ark. (2007) izole ettikleri 62 izolattan *L.salivarius*, *L.reuteri* ve *L.mucosae*'nin safra tuzuna ve pH 3 koşullarına dayanıklılık sergileyip, xylene ile yapılan hidrofobisite araştırmasında % 40'ın üzerinde tutunum gerçekleştirdiklerini ve dolayısıyla potansiyel probiyotik mikroorganizmalar olarak kullanılabilirliklerini rapor etmişlerdir.

Laktobasillerin hücre tutunum yetenekleri probiyotik özellikte olup olmadıklarını belirlemede önemli bir kriterdir. Önceki yapılan çalışmalarda *L.johnsonii* La1, *L.rhamnosus* GG, *L.casei* Shirota ve *L.casei* Imunitass'in bu özelliğe sahip olduğu belirlenmiştir (Juntunen ve ark. 2001, Ouwehand ve ark. 2001).

Basavanna ve Prapulla (2013) bebeklerden izole ettikleri *Lactobacillus fermentum* CFR 2195'un HT-29 ve Caco-2 hücrelerine tutunumlarını (100 hücre başına); $197,66 \pm 15,62$ ve $100,33 \pm 15,69$ olarak belirlemişlerdir.

Jacobsen ve ark. (1999) 1 yaşından küçük Danimarkalı bebek feçeslerinden izole ettikleri, *L.paracasei* subsp. *paracasei* 19015-6, *L.paracasei* subsp. *paracasei* 19058-4, *L.rhamnosus* 19020-8, *L.rhamnosus* 19070-2 suşlarının Caco- 2 hücrelerine (10^8 kob/mL inokulasyon ve 20 rastgele seçilmiş mikroskopik alan sayımı yapılmış) tutunumlarını sırasıyla; 82 ± 26 , 41 ± 11 , 84 ± 26 , 713 ± 188 olarak bulmuşlardır.

Verdenelli ve ark. (2009), İtalya'da insanlardan izole ettikleri *Lactobacillus rhamnosus* IMC 501 ve *Lactobacillus paracasei* IMC 502'nin HT-29 hücresine tutunumlarını sırasıyla %14,9±3,2; %4,7±1,5 olarak tespit etmiş ayrıca bu bakterilerin kombinasyonu (1:1) kullanıldığında tutunmanın % 25 oranına çıktığını belirtmişlerdir.

Dunne ve ark. (2001); insan feçes kaynaklı *Lactobacillus* spp.'lerin probiyotik olarak değerlendirilebilmeleri için seçme kriterlerini araştırdıkları çalışmada; *L.casei* F19'un, *L.fermentum* KLD ve *L.paracasei* 212.3 dahil olmak üzere laktobasillerin bifidobakterilere göre HT-29 ve Caco-2 hücrelerine yüksek tutunum gösterdiklerini tespit etmişlerdir.

Sarem-Damerdji ve ark (1995) insanlardan izole edilen *L.rhamnosus* GG ve *L.casei* 212.3 suşlarının hücrelere tutunum oranlarını taramalı elektron mikroskopuyla elde ettikleri çalışmada sırasıyla 1 mm² başına 14,32 ve 33,46 olarak tespit etmişlerdir.

Tuomola ve Salminen (1998), insanlardan ve çeşitli gıda ürünlerinden izole ettikleri *Lactobacillus* spp.'lerin Caco-2 hücrelerine tutunumlarını inceledikleri çalışmada (negatif kontrol olarak *E. coli* B44; %4, pozitif kontrol olarak *E. coli* H10407; %14,2 kullanmışlar ve test bakterilerinden 3 x 10⁸ ile 1-2 x 10⁹ kob/mL inokule etmişlerdir) *L.rhamnosus* suşlarının %7,2 ile %9,8 arasında, *L.casei* suşlarının ise %2,6 ile %14,4 arasında tutunum gerçekleştirdiklerini tespit etmişlerdir.

Maragkoudakis ve ark. (2006) yılında süt ürünlerinden izole ettikleri *Lactobacillus* türlerinin (29 suş) probiyotik özelliklerini inceledikleri çalışmada; suşların hiçbirinde, in vitro şartlarda bakteriyosin üretme aktivitesi gözlemezken; *L.casei* Shirota ACA-DC 6002, *L.plantarum* ACA-DC 146 ve *L.paracasei* subsp. *tolerans* ACA-DC 4037 suşlarının *Escherichia coli* ve *Salmonella* Typhimurium'un Caco-2 hücrelerine tutunumunu engelleyebildiklerini belirlemişlerdir. *L.plantarum* ACA-DC146 için %25,5; *L.paracasei* sp. *paracasei* ACA-DC 221, 3334 ve 3335 suşları için sırasıyla %13,1; %13,8 ve %11,8 Caco-2 tutunma oranları saptamışlardır. 20 suşta Caco-2 hücrelerine tutunumun % 4'ün altında kaldığını tespit etmişlerdir.

Santos ve ark. (2003), kefirde izole ettikleri 2 *L.paracasei* subsp. *paracasei* suşunun Caco-2 hücrelerine tutunumlarının orta düzeyde (20 mikroskopik alanda 44 ve 58 tutunan bakteri) olarak tespit etmişlerdir.

Chauviere ve ark. (1992), 25 *Lactobasillus* suşunun Caco-2 hücrelerine tutunumunu incelediği çalışmada; *L.rhamnosus* ATCC 7469'un zayıf tutunum (100 Caco-2 hücresine 6 bakteri), *Lactobacillus* GG (100 Caco-2 hücresine 125 bakteri), *L.acidophilus* LB'nin ise (100 Caco-2 hücresine 210 bakteri) tutunum gerçekleştirdiğini saptamışlardır.

Gopal ve ark. (2001), *L.rhamnosus* DR20 ve *L.rhamnosus* GG probiyotik bakterilerinin HT-29, Caco-2 ve HT29-MTX tutunumlarını inceledikleri çalışmada, (negatif kontrol olarak *L.bulgaricus* LB1 kullanılmış, test bakterilerinden 10^8 kob/mL inoküle etmişlerdir) *L.rhamnosus* DR20 ve *L.rhamnosus* GG'nin HT-29, Caco-2, HT-29MTX'e tutunumlarını sırasıyla 100 epitel hücre başına 161, 219, 410; 105, 145, 257 olarak tespit etmişlerdir.

5. SONUÇ

Bu araştırmada anne sütünle beslenen bebeklerin feçeslerinden *Lactobacillus* spp. izolasyonu yapılarak, izolatların fenotipik ve genotipik tanımlanması sağlanmıştır. Tanımlanan laktobasil izolatlarının probiyotik ve teknolojik özelliklerini belirlemek amacıyla, antibakteriyel aktiviteleri, asit, hidrojen sülfür, hidrojen peroksit, D- ve L-laktat üretme yetenekleri, asit ve safra tuzu toleransları, bazı antibiyotiklere hassasiyetleri ve tutunma yetenekleri gibi özellikleri incelenmiştir.

Bebek feçeslerinden izole edilen 104 izolattan, 27'sinin (% 26) glukozdan gaz ürettiği, 77 adedinin (% 74) ise üretmediği belirlenmiştir. İzolatların 21 adedinin (% 20) argininden amonyak oluşturabildiği, 27'sinin (% 26) 15°C'de gelişemeyip, 45°C'de gelişme gösterdiği, 11 (% 10,5) izolatın her iki sıcaklıkta da gelişebildiği tespit edilmiştir. İzolatların tamamının %2 ve %4'lük tuz konsantrasyonunda gelişebildiği belirlenmiştir.

Araştırmada, bir yaşından küçük bebek feçeslerinden fenotipik özellikler baz alınarak izole edilen laktobasiller; uygun primerler kullanılarak elde edilen 16S rDNA dizi analizi sonucunda; *L.paracasei* subsp. *paracasei* (41), *L.fermentum* (24), *L.rhamnosus* (11), *L.casei* (17), *Lactobacillus* sp. (11) olarak tanımlanmıştır.

İzolatların MRS Brothta 24 saatlik inkübasyonu sonucundaki pH değerleri 3,72 (BF 134) ile 4,16 (BF 149) arasında olurken, tüm *L.casei* suşlarının 24 saat sonundaki pH değerleri 4'ün altına inmiştir. Çalışmamızda bebek feçeslerinden izole ettiğimiz *L.fermentumun* MRS Brothta 24 saatlik inkübasyonu sonucundaki pH değeri 3,90-4,11 arasında olurken, bu değerler *L.rhamnosus* için 3,85-4,07 arasında, *L.casei* için 3,72-3,96 arasında, *L.fermentum* için 3,87-4,16, *L.paracasei* subsp. *paracasei* için 3,76-4,10, *Lactobacillus* spp. için 3,85-4,15 arasında olmuştur.

İzolatlardan; BF 3, BF 6, BF 9, BF 13, BF 20, BF 24, BF 26, BF 27, BF 31, BF 34, BF 35, BF 55, BF 56, BF 59, BF 61, BF 62, BF 68, BF 69, BF 70, BF 73, BF 76, BF 77, BF 78, BF 80, BF 86, BF 89, BF 92, BF 96, BF 99, BF 100, BF 102, BF 105, BF 108, BF 109, BF 112, BF 117, BF 119, BF 120, BF 122, BF 123, BF 124, BF 131, BF 132, BF 134, BF 136, BF 141, BF 143, BF 145, BF 146, BF 147, BF 149, BF 154, BF 161, BF 164, BF 165, BF 169, BF 173, BF 174, BF 178, BF 183, BF 184, BF 199'un hidrojen sülfür ürettiği gözlenmiştir. Çalışmada, izolatlar tür bazında hidrojen sülfür üretim yönünden

incelendiğinde; *L.casei*'nin tümünün, *L.paracasei* subsp. *paracasei* ve *L.rhamnosus*'un hemen hemen hepsinin *L.fermentum*'un ise bir kısmının pozitif sonuç verdiği belirlenmiştir.

Bebeklerden izole edilen 104 izolattan 59'unun H₂O₂ üretebildiği, üretilen değerlerin 0,39 µg/mL (BF 41) ile 1,01 µg/mL (BF 199) arasında olduğu belirlenmiştir. Bazı *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus fermentum* suşlarının H₂O₂ üretmediği saptanmıştır.

İzolatların büyük çoğunluğunun (*Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus*) L-Laktat ürettikleri tespit edilirken, bir kısmının DL-Laktat (*Lactobacillus fermentum*) ürettiği belirlenmiştir. LAB izolatlarının 24 saat inkübasyonu sonundaki laktik asit üretimleri 1,145 ile 3,179 g/L arasında belirlenmiştir.

Bebeklerden izole edilen 104 izolat antibakteriyel özellikleri yönünden incelendiğinde izolatların genel olarak en fazla *S. aureus* üzerinde etkili olduğu, *L.monocytogenes* üzerindeki etkinin ise genel olarak daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Altı izolat (BF 7, BF 10, BF 18, BF 32, BF 53, BF 127) hariç tüm izolatların test edilen patojen bakterilere (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Listeria monocytogenes* ATCC 7644, *Salmonella* Enteritidis ATCC 13076, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Escherichia coli* O157:H7 NCTC 12900) karşı inhibisyon etkisinde bulunduğu saptanmıştır.

Lactobacillus izolatlarının pH 3'te 3 saatlik inkübasyon sonrasında yüksek oranla canlılıklarını koruyabildikleri, 47 izolatta (BF 6, BF 7, BF 10, BF 13, BF 14, BF 20, BF 24, BF 27, BF 31, BF 32, BF 53, BF 55, BF 56, BF 57, BF 59, BF 62, BF 68, BF 77, BF 78, BF 80, BF 92, BF 96, BF 99, BF 102, BF 108, BF 109, BF 112, BF 117, BF 122, BF 127, BF 132, BF 134, BF 146, BF 149, BF 154, BF 161, BF 169, BF 173, BF 174, BF 183, BF 191, BF 199, BF 200, BF 201, BF 203, BF 217, BF 218) ise gelişme olduğu gözlenmiştir.

Bebeklerden izole edilen izolatların tamamı chloramphenicol, penicillin ve tetracycline hydrochloridee duyarlı iken çoğunluğu kanamycin (BF 23, BF 26, BF 41, BF 44, BF 47, BF 69, BF 70, BF 73, BF 75, BF 76, BF 111, BF 165, BF 211, BF 215 hariç) ve streptomycine (BF 7, BF 23, BF 26, BF 41, BF 44, BF 57, BF 59, BF 68, BF 69, BF 70, BF 73, BF 75, BF 76, BF 96, BF 111, BF 112, BF 134, BF 165, BF 173, BF 191, BF 211, BF 215 hariç) direnç göstermiştir. chloramphenicol, izolatların en duyarlı oldukları antibiyotik olmuştur.

Araştırmada % 0,3'lük safra tuzunda 24 saatlik inkübasyon sonrasında izolatların 51'inde (% 49) artış, 53'ünde (% 51) azalış tespit edilmiştir. *L.rhamnosus* suşlarındaki azalmanın 6,03 ile – 0,04 log kob/mL arasında olduğu, bu değerlerin *L.paracasei* subsp. *paracasei* için 6,74 ile – 0,15 log kob/mL arasında, *L.casei* için 0,52 ile -0,27 arasında olduğu belirlenirken, *L.fermentum* türünde ise 0,26 ile – 0,96 log kob/mL arasında artış belirlenmiştir. *L.fermentum* suşlarının safra tuzuna daha fazla direnç gösterdiği belirlenmiştir.

Bebeklerden izole edilen 104 izolatın tamamı xylene ile yapılan hidrofobisite çalışmasında pozitif sonuç vermiş ve tutunma oranları %2,61 (BF 75) ile %34,86 (BF 199) arasında belirlenmiştir. *L.casei*'nin; *L.paracasei* subsp. *paracasei*, *L.fermentum*, *L.rhamnosus*'a göre daha yüksek hidrofobisite özelliği gösterdiği belirlenmiştir.

Laktik asit bakterinin morfolojik, biyokimyasal ve fizyolojik özelliklerinin tanımlamasına yönelik olarak yapılan klasik fenotiplendirme testleri her ne kadar kullanışlı ve cins ile tür bazında ayırımı için halen önemli bir rol oynasa da yorumlaması oldukça zordur. Günümüzde, LAB identifikasyon/tiplendirme çalışmalarında ilgi odağı fenotipik yöntemlerden ziyade uygulamasının kolay olmasının yanında, güçlü bir ayırım gücüne sahip olmaları, sonuçlarının kolay yorumlanabilmesi tekrarlanabilir olmaları, gibi özellikleri dolayısıyla moleküler yöntemlere doğru kaymıştır.

Çalışmada probiyotik olma potansiyeli incelenen bazı laktik asit bakterilerinin öncelikle mide-bağırsak sisteminde canlılıkları *in vitro* analiz metotları kullanılarak araştırılmıştır. İlk aşamada midedeki asidik ortamda canlılığın gözlenmesi için pH değeri 3'e ayarlanan MRS kültür ortamında yeterli canlılığı göstermesi incelenmiştir. Analiz sonucunda 104 izolatın tamamının canlılığını koruduğu gözlenmiştir. Daha sonra % 0,3 safra tuzuna dirençleri tespit edilerek ince bağırsakta salgılanan safra suyunun etkisi incelenmiştir. Bu analiz sonucunda 104 izolattan 29'unun canlılığını yitirdiği saptanmıştır.

Çalışmamızda izole ettiğimiz *L.paracasei* subsp. *paracasei* izolatlarından (BF 9, BF 61, BF 89, BF 100, BF 119, BF 120, BF 124, BF 131, BF 136, BF 145, BF 178, BF 184, BF 187, BF 188, BF 194, BF 196), *L.rhamnosus* izolatlarından (BF 26, BF 69, BF 70, BF 76, BF 165, BF 215) ve *L.rhamnosus* izolatlarından (BF 73) safra tuzuna (% 0,3) dayanım gösteremeyerek, canlılıklarını yitirmişlerdir.

Anne sütüyle beslenen bebeklerden izole edilen bazı *L.paracasei* subsp. *paracasei* izolatları (BF 6, BF 20, BF 24, BF 31, BF 55, BF 56, BF 62, BF 77, BF 78, BF 80, BF 92, BF

99, BF 102, BF 108, BF 109, BF 117, BF 146, BF 161, BF 183, BF 193, BF 200, BF 201, BF 218); asit üretimlerinin iyi olması, hidrojen sülfür ve hidrojen peroksit üretebilmeleri, *E.coli*, *E.coli* O157 H7, *L.monocytogenes*, *S.Enteriditis* ve *S.aureus*'a karşı inhibisyon etkide bulunabilmeleri, asite (pH 3) toleranslı olmalarının yanında bu ortamda tamamına yakınının gelişim gösterebilmeleri, kanamycin ve streptomycine karşı direnç gösterebilmeleri, tamamının safra tuzuna (% 0,3) direnç gösterip tamamına yakınının bu ortamda gelişebilmesi, % 7,5'in üzerinde xylene tutunum gösterebilmeleri açısından potansiyel probiyotik mikroorganizma özellikleri taşımaktadır.

Çalışmamızda izole ettiğimiz *L.paracasei* subsp. *paracasei* izolatlarından BF 47, BF 74; 24 saat sonunda MRS brothta pH'yı 4 civarına düşürebilmeleri, hidrojen peroksit üretebilmeleri, *E.coli*, *E.coli* O157 H7, *L.monocytogenes*, *S.Enteriditis* ve *S.aureus*'a karşı inhibisyon etkide bulunabilmeleri, pH 3'e ve safra tuzuna (% 0,3) dayanım gösterebilmeleri, streptomycine direnç gösterebilmeleri yönüyle önemli özellikler taşımaktadır. Ancak xylene tutunumları % 4,16 - % 4,20 değerleri arasındadır.

Anne sütüyle beslenen bebeklerden izole ettiğimiz *L.fermentum* izolatlarından BF 3, BF 13, BF 27, BF 34, BF 122, BF 132, BF 149, BF 203; 24 saat sonunda MRS brothta pH'yı 4 civarına düşürebilmeleri, hidrojen sülfür ve hidrojen peroksit üretebilmeleri, *E.coli*, *E.coli* O157 H7, *L.monocytogenes*, *S.Enteriditis* ve *S.aureus*'a karşı inhibisyon etkide bulunabilmeleri, asitli ortamda (pH 3) canlılıklarını yitirmemeleri, kanamycin ve streptomycine karşı dirençli olmaları, tamamının safra tuzlu ortamda (% 0,3) gelişebilmeleri, % 8,11 ile % 15,79 arasında hidrofobisiteye sahip olmaları dolayısıyla potansiyel probiyotik mikroorganizma olarak tanımlanabilir.

Çalışmamızda izole ettiğimiz *L.fermentum* izolatlarından BF 10, BF 18, BF 53, BF 127; 24 saat sonunda MRS brothta pH'yı 4 civarına düşürebilmeleri, *L.monocytogenes* dışında patojen test bakterilerine (*E.coli*, *E.coli* O157 H7, *S.Enteriditis* ve *S.aureus*) inhibisyon etkiye sahip olmaları, asitli ortamda (pH 3) canlılıklarını yitirmemeleri, kanamycin ve streptomycine karşı dirençli olmaları, tamamının safra tuzlu ortamda (% 0,3) gelişme gösterebilmeleri, % 5,20 ile % 7,32 arasında xylene tutunum gösterebilmeleri açısından potansiyel probiyotik mikroorganizma özellikleri taşımaktadır.

Çalışmamızda izole ettiğimiz *L.fermentum* izolatlarından BF 186, BF 214; 24 saat sonunda MRS brothta pH'yı 4,10 civarına düşürebilmeleri, *E.coli*, *E.coli* O157 H7,

L.monocytogenes, *S.Enteriditis* ve *S.aureus*'a karşı inhibisyon etkide bulunabilmeleri, pH 3'te gelişemeseler bile canlılıklarını devam ettirebilmeleri, kanamycin ve streptomycine karşı dirençli olmaları, safra tuzlu ortamda (% 0,3) canlılıklarını devam ettirebilmeleri, önemli özellikler olmakla birlikte % 5,90 değerlerinde hidrofobisiteye sahiptirler.

Bebeklerden izole edilen *L.fermentum* izolatlarından BF 23, BF 41, BF 44, BF 75; 24 saat sonunda MRS brothta pH'yı 4 civarına düşürebilmeleri, hidrojen peroksit üretebilmeleri, *E.coli*, *E.coli* O157 H7, *L.monocytogenes*, *S.Enteriditis* ve *S.aureus*'a karşı inhibisyon etkide bulunabilmeleri, tamamının pH 3'te canlılığını devam ettirebildiği, tamamının safra tuzlu ortamda (% 0,3) gelişme gösterebilmeleri yönünden önemli özelliklere sahiptir. Ancak hidrofobisite değerleri % 2,61-% 4,76 düşüktür.

Çalışmamızda izole ettiğimiz *L.fermentum* izolatlarından BF 29, BF 37, BF 206, BF 210; 24 saat sonunda MRS brothta pH'yı 4 civarına düşürebilmeleri, hidrojen peroksit üretebilmeleri, *E.coli*, *E.coli* O157 H7, *L.monocytogenes*, *S.Enteriditis* ve *S.aureus*'a karşı inhibisyon etkide bulunabilmeleri, pH 3'te gelişemeseler bile canlılıklarını devam ettirebilmeleri, kanamycin ve streptomycine karşı dirençli olmaları, tamamının safra tuzlu ortamda (% 0,3) gelişme gösterebilmeleri, % 11,08 ile % 13,95 arasında hidrofobisite değerleri gösterebilmeleri yönüyle potansiyel mikroorganizma özellikleri taşımaktadır.

Bebek feçeslerinden izole edilen BF 32 nolu *L.fermentum* izolatu, 24 saat sonunda MRS brothta pH'yı 3,87'ye düşürebilmesi, *S.aureus* haricinde *E.coli*, *E.coli* O157 H7, *L.monocytogenes* ve *S.Enteriditis*'e karşı inhibisyon etkiye sahip olması, pH 3'te gelişimine devam edebilmesi, kanamycin ve streptomycine karşı dirençli olması, safra tuzlu ortamda (% 0,3) gelişme gösterebilmesi, hidrofobisite değerinin % 26,44 gibi yüksek bir değer olması dolayısıyla potansiyel probiyotik mikroorganizma özellikleri taşımaktadır.

Çalışmamızda izole ettiğimiz BF 105 nolu *L.fermentum* izolatu, 24 saat sonunda MRS brothta pH'yı 4,06'ya düşürebilmesi, hidrojen sülfür üretebilmesi, *E.coli*, *E.coli* O157 H7, *L.monocytogenes*, *S.Enteriditis* ve *S.aureus*'a karşı inhibisyon etkide bulunabilmesi, pH 3'e dayanım gösterebilmesi, kanamycin ve streptomycine karşı dirençli olması, safra tuzlu ortamda (% 0,3) gelişme gösterebilmesi, hidrofobisite değerinin % 16,71 olması dolayısıyla potansiyel probiyotik mikroorganizma özellikleri taşımaktadır.

İzole edilen *L.rhamnosus* izolatlarından BF 111, BF 21; 24 saat sonunda MRS brothta pH'yı 4 civarına düşürebilmeleri, hidrojen peroksit üretebilmeleri, *E.coli*, *E.coli* O157 H7,

L.monocytogenes, *S.Enteriditis* ve *S.aureus*'a karşı inhibisyon etkide bulunabilmeleri, pH 3'te ve safra tuzlu ortamda (% 0,3) gelişemeseler bile canlılıklarını devam ettirebilmeleri, % 21,76 ile % 22,18 arasında hidrofobisite değerleri gösterebilmeleri yönüyle potansiyel mikroorganizma özellikleri taşımaktadır.

Çalışmamızda izole ettiğimiz *L.rhamnosus* izolatlarından BF 7; 24 saat sonunda MRS brothta pH'yı 3,91'e düşürebilmesi, hidrojen peroksit üretebilmesi, *E.coli* O157 H7, *L.monocytogenes*, *S.Enteriditis* ve *S.aureus*'a karşı inhibisyon etkide bulunabilmesi, pH 3'lü ortamda gelişme gösterebilmesi, kanamycine direnç gösterebilmesi, % 0,3'lük safra tuzuna dayanım gösterebilmesi ve yüksek hidrofobisiteye (% 29,1) sahip olması dolayısıyla potansiyel probiyotik mikroorganizma özellikleri taşımaktadır.

Çalışmamızda izole ettiğimiz izolatlardan BF 199 nolu *L.rhamnosus* izolatu, 24 saat sonunda MRS brothta pH'yı 3,85'e düşürebilmesi, hidrojen sülfür ve hidrojen peroksit üretebilmesi, *E.coli*, *E.coli* O157 H7, *L.monocytogenes*, *S.Enteriditis* ve *S.aureus*'a karşı inhibisyon etkide bulunabilmesi, kanamycin ve streptomycine direnç gösterebilmesi, pH 3 ve % 0,3'lük safra tuzlu ortamda gelişme gösterebilmesi ve yüksek hidrofobisiteye (% 34,86) sahip olması dolayısıyla potansiyel probiyotik mikroorganizma özellikleri taşımaktadır.

Çalışmamızda izole ettiğimiz *L.casei* izolatlarından BF 59, BF 68, BF 96, BF 112, BF 134, BF 173, BF 191; yüksek asitlik sağlaması, hidrojen sülfür ve hidrojen peroksit üretebilmeleri, *E.coli*, *E.coli* O157 H7, *L.monocytogenes*, *S.Enteriditis* ve *S.aureus*'a karşı inhibisyon etkide bulunabilmeleri, pH 3'te gelişimlerine devam edebilmeleri, kanamycine direnç gösterebilmeleri, safra tuzlu ortamda (% 0,3) gelişme gösterebilmeleri, % 19,12 ile % 29,02 arasında yüksek değerlerle xylene tutunum gösterebilmeleri yönüyle potansiyel probiyotik mikroorganizma olarak belirlenmiştir.

Anne sütüyle beslenen bebeklerden izole ettiğimiz BF 86 nolu *L.casei* izolatu, 24 saat sonunda MRS brothta pH'yı 3,91'e düşürebilmesi, hidrojen sülfür ve hidrojen peroksit üretebilmesi, *E.coli*, *E.coli* O157 H7, *L.monocytogenes*, *S.Enteriditis* ve *S.aureus*'a karşı inhibisyon etkide bulunabilmesi, kanamycin ve streptomycine direnç gösterebilmesi, pH 3'e ve safra tuzuna (% 0,3) dayanım gösterebilmesi, % 15,28'lik hidrofobisiteye sahip olması dolayısıyla potansiyel probiyotik mikroorganizma özellikleri taşımaktadır.

Bebek feçeslerinden izole edilen *L.casei* izolatlarından BF 35, BF 123, BF 141, BF 143, BF 147, BF 164; MRS brothta pH'yı 4'ün altına düşürebilmeleri, hidrojen sülfür ve hidrojen peroksit üretebilmeleri, *E.coli*, *E.coli* O157 H7, *L.monocytogenes*, *S.Enteriditis* ve *S.aureus*'a karşı inhibisyon etkide bulunabilmeleri, pH 3'te canlılıklarını koruyabildikleri, kanamycin ve streptomycine karşı dirençli olmaları, % 0,3'lük safra tuzlu ortama dayanım gösterebilmeleri, % 17,15 ile % 20,45 arasında xylene tutunum göstermeleri özelliklerine sahip olmaları dolayısıyla potansiyel probiyotik mikroorganizma özellikleri taşımaktadırlar.

Bebek feçeslerinden izole edilen *L.casei* izolatlarından BF 154, BF 174; MRS brothta pH'yı 4'ün altına düşürebilmeleri, hidrojen sülfür ve hidrojen peroksit üretebilmeleri, *E.coli*, *E.coli* O157 H7, *L.monocytogenes*, *S.Enteriditis* ve *S.aureus*'a karşı inhibisyon etkide bulunabilmeleri, pH 3'te gelişebildikleri, kanamycin ve streptomycine karşı dirençli olmaları, % 0,3'lük safra tuzlu ortama dayanım gösterebilmeleri, % 12,24 ile % 14,24 arasında xylene tutunum göstermeleri özelliklerine sahip olmaları dolayısıyla potansiyel probiyotik mikroorganizma özellikleri taşımaktadırlar.

Anne sütüyle beslenen bebeklerden izole ettiğimiz BF 169 nolu *L.casei* izolatı, 24 saat sonunda MRS brothta pH'yı 3,91'e düşürebilmesi, hidrojen sülfür ve hidrojen peroksit üretebilmesi, *E.coli*, *E.coli* O157 H7, *L.monocytogenes*, *S.Enteriditis* ve *S.aureus*'a karşı inhibisyon etkide bulunabilmesi, kanamycin ve streptomycine direnç gösterebilmesi, Ph 3 ve safra tuzlu (% 0,3) ortamda gelişme gösterebilmesi, % 29,12'lik yüksek hidrofobisiteye sahip olması dolayısıyla potansiyel probiyotik mikroorganizma özellikleri taşımaktadır.

Daha sonra yapılacak çalışmalarda probiyotik özellik gösteren bu kültürlerin teknolojik ve duysal olarak gıdalara uygunluğu test edilmeli ve kültürlerin probiyotik olabilme özellikleri insan ve hayvan deneklerinin yer aldığı çalışmalarla desteklenmelidir.

6. KAYNAKLAR

- Adnan AFM, Tan IKP (2007). Isolation of lactic acid bacteria from Malaysian foods and assessment of the isolates for industrial potential. *Bioresource Technology*, 98(7): 1380-1385.
- Ahrné S, Lönnemark E, Wold AE, Åberg N, Hesselmar B, Saalman R, Strannegård IL, Molin G (2005). Ingegerd Adlerberth *Lactobacilli* in the intestinal microbiota of Swedish infants. *Microbes and Infection*, (7) 1256–1262.
- Akman E (2009). Bazı Laktik Asit Bakterilerinin Probiyotik Özelliklerinin İncelenmesi. Yüksek lisans tezi. İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü. İstanbul.
- Alan Y, Dığrak M. (2012). Doğal Turşulardan İzole Edilen *Lactobacillus plantarum* Suşlarının İzolasyonu ve Tanımlanması. *KSÜ Doğa Bil. Dergisi*, 15(2), 46-49.
- Alp, G (2007). *Bifidobacterium* Cinsi Bakterilerin Bazı Probiyotik Özelliklerin Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Altay ND (2007). İnfant Dönemi Bebeklerde Beslenme Epidemiyolojisi ve Enfeksiyon Hastalıkları İle Beslenme Arasındaki İlişki. Uzmanlık Tezi, Atatürk Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Erzurum.
- Andrighetto C, Dea PD, Lombardi A, Neviani E, Rossetti L, Giraffa G (1998). Molecular identification and cluster analysis of homofermentative thermophilic *lactobacilli* isolated from dairy products. *Res. Microbiology*, 149: 631-643.
- Ángeles-López M, Cano Ramos EG, Santiago CA (2001). Hydrogen peroxide production and resistance tononoxinol-9 in *lactobacillus* spp. isolated from the vagina of reproductive age women. *Revista Latinoamericana de Microbiología*, 43(4):171-176.
- Anonim (2009). Türkiye Nüfus ve Sağlık Araştırması TNSA. Emzirme ve Ek Gıda. Hacettepe Nüfus Etütleri Enstitüsü. T.C. Sağlık Bakanlığı. Ana Çocuk Sağlığı ve Aile Planlaması Genel Müdürlüğü.
- Anonim (1968). WHO, Food Additives 29: 144–148.
- Arıcı M, Bilgin B, Sağdıç O, Özdemir C (2004). Some characteristics of *Lactobacillus* isolates from infant faeces. *Food Microbiology*, 21:19-24.
- Arslan S (2010). *Lactobacillus rhamnosus* ‘un Sünme (Rope) Hastalığı Etkeni Olan Bacillus Cinsi Bakteriler Üzerine İnhibitör Etkisinin Unlarda Araştırılması. Yüksek lisans tezi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Aslim B, Yuksekdag ZN, Sarikaya E, Beyatli Y (2005). Determination of the bacteriocin-like substances produced by some lactic acid bacteria isolated from Turkish dairy products. *Food Science and Technology*, 38: 691-694.
- Aso Y, Akazan H (1992). Prophylactic effect of a *Lactobacillus casei* preparation on the recurrence of superficial bladder cancer. *Urol. Int*, 49: 125-129.
- Atanassova M, Choiset Y, Dalgalarrrondo M, Chobert JM, Dousset X, Ivanova I, Haertle T (2003). Isolation and Partial Biochemical Characterization of A Proteinaceous Anti-Bacteria and Anti-Yeast Compound Produced By *Lactobacillus Paracasei* subsp. *Paracasei* Starin M3. *Int. J. Food Microbiology*, 87: 63-73.
- Atıcı A, Polat S, Turhan AH (2007). Anne Sütü ile Beslenme. *Türkiye Klinikleri J Pediatr Sci*, 3(6):1-5.

- Attaie R, Whalen PJ, Shahani KM, and Amer MA (1989). Inhibition of growth of *Staphylococcus aureus* during production of acidophilus Yogurt. J. Food Protection 50(3): 224-228.
- Axelsson L (1998). Lactic acid bacteria: Classification and physiology, Microbiology and Funct 1-73.
- Ayhan K (2000). Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları; Gıdalarda Bulunan Mikroorganizmalar. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Yayınları, Armoni Matbaacılık, s. 37-80, Ankara.
- Aykanat Ö (2008). Tavuktan İzole Edilen *Lactobacillus* Cinsi Bakterilerin, çeşitli Patojen Bakteriler Üzerine Antagonistik Etkisinin İncelenmesi. Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Banks JM, Williams AG (2004). The Role of the Nonstarter Lactic Acid Bacteria in Cheddar Cheese Ripening. Int. J. Dairy Technology, 57 (2/3): 145-152.
- Bao Y, Zhang Y, Zhang Y, Liu Y, Wang S, Dong X, Wang Y, Zhang H (2010). Screening of potential probiotic properties of *Lactobacillus fermentum* isolated from traditional dairy products. Food Control 21: 695–701.
- Barefoot SF, Nettles CG (1993). Antibiosis revisited, bacteriocins produced by dairy starter cultures. J. Dairy Science, 76: 2366-2379.
- Basavanna G, Prapulla SG (2013). Evaluation of functional aspects of *Lactobacillus fermentum* CFR 2195 isolated from breast fed healthy infants' fecal Matter. J Food Science Technology 50(2):360–366.
- Başıyigit G (2004). Bazı Laktik Asit Bakterilerinin Probiyotik Olarak Kullanılma Özellikleri. Yüksek lisans tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Beasley S (2004). Isolation, identification and exploitation of lactic acid bacteria from human and animal microbiota. Academic Dissertation in Microbiology, University of Helsinki, Faculty of Agriculture and Forestry Sciences, Finland.
- Bernet MF, Brassart D, Neeser JR, Servin A (1993). Adhesion of human bifidobacterial strains to cultured human intestinal epithelial cells and inhibition of enteropathogen-cell interactions. Applied and Environmental Microbiology, 59: 4121-4128
- Bin-Nun, Bromiker R, Wilschanski M, Kaplan M, Rudensky B, Caplan M and Hammerman C (2005). Oral Probiotics Prevent Necrotizing Enterocolitis In Very Low Birth Weight Neonates. The Journal of Pediatrics, 147: 192-196.
- Biswas SR, Ray P, Johnson MC and Ray B (1991). Influence of growth conditions on the production of a bacteriocin, Pediocin AcH, by *Pediococcus acidilactici*. H, Appl. Envir. Microbiology, 57(4): 1265-1267.
- Boehm G, Lidestri M, Casetta P, Jelinek J, Negretti F, Stahl B, Marini A (2002). Supplementation of a bovine milk formula with an oligosaccharide mixture increases counts of faecal *bifidobacteria* in preterm infants. Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed, 86: 178-81.
- Boehringer-Mannheim (1989). UV—Method for the determination of l-lactic acid in foodstuffs and other materials. In: Methods of Biochemical Analysis Using Single Reagents. Boehringer-Mannheim GmbH, 78–81.
- Boris S, Suarez JE, Barbes C (1997). Characterization of the aggregation promoting factor from *Lacobacillus gasseri*, a vaginal isolate. J Appl Microbiology, 83(4): 413-420.

- Boukhemis M, Djeghri-Hocine B, Tahar A, Amrane A (2009). Phenotypic characterization of *Lactobacillus* strains isolated from different biotopes. *African Journal of Biotechnology*, Vol. 8 (19): 5011-5020.
- Bulut Ç (2003). Isolation and characterization of lactic acid bacteria from cheese. Yüksek Lisans Tezi, İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü Mühendislik, Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoteknoloji Anabilim Dalı, 112s, İzmir.
- Cadieux P, Burton J, Kang CY, Gardiner G, Braunstein I, Bruce AW, Reid G (2002). *Lactobacillus* strains and vaginal ecology. *J. Am. Med. Assoc*, 287: 1940- 1941.
- Caicedo RA, Schanler RJ, Li N, Neu J (2005). The developing intestinal ecosystem: implications for the neonate. *Pediatr Re*, 58: 625-628.
- Caplice E, Fitzgerald GF (1999). Food fermentations: role of microorganisms in food production and preservation. *International Journal of Food Microbiology*, 50: 131–149.
- Castellano PH, Holzapfel WH, Vignolo GM (2004). The control of *Listeria innocua* and *Lactobacillus sakei* in broth and meat slurry with the bacteriocinogenic strain *Lactobacillus casei* CRL705, *Food Microbiology*, 21:291–298.
- Cats, A, Kuipers, EJ, Bosschaert, MA, Pot RG (2003). Effect of frequent consumption of a *Lactobacillus casei* containing milk drink in *Helicobacter pylori* colonized subjects. *Aliment. Pharmacol. Ther*, 17: 429-435.
- Ceyhan N, Aliç H (2012). Bağırsak Mikroflorası ve Probiyotikler. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*, 5(1): 107-113.
- Chang, Y, Kim J, Kim H, Kim W, Kim Y, Park Y (2001). Selection of a potential probiotic *Lactobacillus* strain and subsequent in vivo studies. *Antonie van Leeuwenhoek*, 80: 193-199.
- Charteris WP, Kelly PM, Morelli L, Collins JK (1998). Antibiotic susceptibility of potentially probiotic *Lactobacillus* species. *Journal of Food Protection*, 61: 1636-1643.
- Chauviere G, Coconnier MH, Kerneis S, Fourniat J, Servin AL (1992). Adhesion of Human *Lactobacillus acidophilus* Strain-Ib to Human Enterocyte-Like Caco-2 Cells. *J. Gen. Microbiol.* 138, 1689–1696.
- Choi YS, Chang CE, Kim SC, So JS (2003). Antimicrobial susceptibility and strain prevalence of Korean vaginal *Lactobacillus* sp. *Anaerobe*, 9: 277–280.
- Chuayana EL, Ponce VC, Rivera MRB, Cabrera EC (2003). Antimicrobial activity of probiotics from milk products. *Phil J. Microbiol. Infect. Dis.* 32(2): 71-74.
- Chung J, Ha ES, Park HR, Kim S (2004). Isolation and Characterization of *Lactobacillus* Species Inhibiting The Formation of *Streptococcus mutans* biofilm. *Oral Microbiol Immunol*, 19: 2164-2169.
- Collins MD, Phillips BA, Zannoni P (1989). Deoxyribonucleic Acid Homology Studies of *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus paracasei* sp. nov., subsp. *paracasei* and subsp. *tolerans*, and *Lactobacillus rhamnosus* sp. nov., comb. nov. *International journal of Systematic Bacteriology*, 39(2): 105-108.
- Collins MD, Rodrigues UM, Ash C, Aguirre M, Farrow JAE, Martinez-Murcia A, Phillips BA, Williams AM, Wallbanks S (1991). Phylogenetic Analysis of the Genus *Lactobacillus* and Related Lactic Acid Bacteria as Determined by Reverse Transcriptase Sequencing of 16S rRNA. *FEMS Microbiol. Lett*, 77: 5-12.

- Conway PL, Gorbach SL, Goldin BR (1987). Survival of lactic acid bacteria in the human stomach and adhesion to intestinal cells. *J Dairy Sci* 70: 1-12.
- Coşkun T (2007). Pro-, Pre- ve Sinbiyotikler. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi*, 49(2): 128-148.
- Cummings, JH, Macfarlane GT (1991). The control and consequences of bacterial fermentation in the human colon. *Journal of Applied Bacteriology*, 70: 443-459.
- Çakır İ (1996). Et tavuklarının körbarsak florasında yer alan laktobasillerin proteolitik aktiviteleri ve organik asit oluşturma yeteneklerinin belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, 58s, Ankara.
- Çakır İ (2003). Laktobasillus ve Bifidobakterlerde Bazı Probiyotik Özelliklerin Belirlenmesi. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, s84 Ankara.
- Çakır İ (2004). Probiyotikler: Tanımı, Etki Mekanizması, Seçim ve Güvenilirlik Kriterleri. *Gıda Dergisi*, 29(6): 427-434.
- Cataloluk O, Gogebakan B (2004). Presence of drug resistance in intestinal *lactobacilli* of dairy and human origin in Turkey. *FEMS Microbiol. Letter*, 236: 7–12.
- Çon AH, Gökalp HY (2000). Production of bacteriocin-like metabolites by lactic acid cultures isolated from sucuk samples, *Meat Science*, 55: 89-96.
- Dağdemir E (2006). Salamura beyaz peynirlerden izole edilen laktik asit bakterilerin tanımlanması ve seçilen bazı izolatların kültür olarak kullanılma imkanları. Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda mühendisliği anabilim dalı, Erzurum.
- Delgado S, Florez AB, Mayo B (2005). Antibiotic Susceptibility of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* Species from the Human Gastrointestinal Tract. *Current Microbiology Vol. 50*: 202–207.
- Delia P, Sansotta G, Donato V, Frosina P, Messina G, Renzis C, G Famularo (2007). Use of probiotics for prevention of radiation induced diarrhea. *World J Gastroenterol*, 13:912-915.
- De Man JC, Rogosa M, Sharpe ME (1960). A medium for the cultivation of *lactobacilli*. *Journal of Applied Bacteriology*, 23, 130-135.
- De Vuyst L, Leroy F (2007). Bacteriocins from Lactic Acid Bacteria: Production, purification and food applications. *Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology*, 13: 194-199.
- De Waard R, Garssen J, Bokken GC, Vos JG (2002). Antagonistic activity of *Lactobacillus casei* strain shirota against gastrointestinal *Listeria monocytogenes* infection in rats. *Int. J. Food Microbiology*, 73: 93-100.
- Dewey KG, Heinig MJ, Nommesen LA (1995). Differences in morbidity between breast-fed and formula-fed infants. *J Pediatr*, 126: 696-702.
- Dicks LMT, Endo A (2009). Taxonomic Status of Lactic Acid Bacteria in Wine and Key Characteristics to Differentiate Species. *South African Journal of Enology & Viticulture*, 30(1): 72-90.
- Dickson EM, Riggio MP, Macpherson L (2005). A novel species-specific PCR assay for identifying *Lactobacillus fermentum*. *J Med Microbiology*, 54 (3): 299-303.

- Drinan DF, Tobin S, Cogan TM, (1976). Citric acid metabolism in hetero and homofermentative lactic acid bacteria. *Appl. Envir. Microbiol*, 31(4): 481-486.
- Drudy D, Mullane NR, Quinn T, Wall PG, Fanning S (2006). *Enterobacter sakazakii*: An Emerging Pathogen in Powdered Infant Formula. *Clin. Infec. Dis*, 42: 996-1002.
- Dugas B, Mercenier A, Lenoir-Winjkooop I, Arnaud C, Dugas N, Postaire E. 1999. Immunity and probiotics. *Immunol Today*, 20(9): 387-390.
- Dunne C (2001). Adaptation of bacteria to the intestinal niche: probiotics and gut disorder. *Inflamm. Bowel Dis*, 7: 136-145.
- Dunne C, O'Mahony L, Murphy L, Thornton G, Morrissey D, O'Halloran S, Feeney M, Flynn S, Fitzgerald G, Daly C, Kiely B, O'Sullivan GC, Shanahan F, Collins JK (2001). In vitro selection criteria for probiotic bacteria of human origin: correlation with in vivo findings. *Am J Clin Nutr*, 73:386S-392S.
- El-Naggar MYM (2004). Comparative study of probiotic cultures to control the growth of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* Typhimurium. *Asian Network for Scientific Information Biotechnology*, 3: 173-180.
- Erginkaya Z, Güven M, Kavas C, Var I, Kabak B, Karaca OB (2003). Farklı Laktik Asit Kültürleriyle Üretilen Yoğurtlarda Laktik Asit Bakterilerinin *Aspergillus flavus* Üzerine Antifungal Etkisi. *Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi. Gıda Mühendisliği Dergisi*, 31-37
- Eryılmaz FT (2011). Vajinal sekresyondan izole edilen laktik asit Bakterilerine ait bazı suşların potansiyel probiyotik özelliklerin belirlenmesi. Doktora tezi, Ankara Üniversitesi, Biyoteknoloji Enstitüsü.
- Eschenbach DA, Davick R, Williams BL, Kebanoff SJ, Young-Smith K, Critchlow CM, Holmes KK (1989). Prevalence of hydrogen peroxide-producing *Lactobacillus* species, normal women and women with bacterial vaginosis. *Journal of Clinical Microbiology*, 27(2): 251- 256.
- Espinoza YR, Navarro YG (2010). Non-dairy probiotic products. *Food Microbiology* 27: 1-11.
- Etöz D (2006). Kefirden izole edilen maya ve bakterilerin bazı patojen mikroorganizmalar üzerine inhibitör etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, 91 s, Ankara.
- Ewaschuk, JB, Dieleman LA (2006). Probiotics and prebiotics in choronic inflammatory bowel diseases. *World Journal of Gastroenterology*, 12; 5941-5950.
- Fallani M, Amarri S, Uusijarvi A Adam R, Khanna S, Aguilera M, Gil A, Vieites JM, Norin E, Young D, Scott JA, Dore J, Edwards CA (2011). Determinants of the human infant intestinal microbiota after the introduction of first complementary foods in infant samples from five European centres. *Microbiology* (2011), 157: 1385-1392.
- Fanaro S, Jelinek J, Stahl B, Boehm G, Kock R, Vigi V (2005). Acidic oligosaccharides from pectin hydrolysate as new component for infant formulae: effect on intestinal flora, stool characteristics, and pH. *J Pediatr Gastroenterol Nutrition*, 41: 186-190.
- Fernandez MF, Boris S, Barbes C (2003). Probiotic properties of human *lactobacilli* strains to be used in the gastrointestinal tract. *Journal of Applied Microbiology*, 94: 449-455.
- Fortina MG, Ricci G, Acquati A, Zeppa G, Gandini A, Manachini PL (2003). Genetic Characterization of Some Lactic Acid Bacteria Occuring in an Artisanal Protected

- Domination Origin (PDO) Italian Cheese, Toma Piemontese. *Food Microbiology*, 20: 397-404.
- Fukushima Y, Kawata Y, Hara H, Terada A, Mitsuoka T (1998). Effect of probiotic formula on intestinal immunoglobulin. A production in healthy children. *Int. J. Food Microbiology*, 42: 39-44.
- Fuller R (1992). *Probiotics: The Scientific Basis*. Chapman and Hall, 398 pp, London.
- Gaudana SB, Dhanani AS, Bagchi T (2010). Probiotic attributes of *Lactobacillus* strains isolated from food and of human origin. *British Journal of Nutrition*, 103: 1620–1628
- Gibson GR, Probert HM, Loo JV, Rastall RA, Roberfroid MB (2004). Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics. *Nutr Res Rev*, 17: 259–75.
- Gilliand SE, Staley TE, Bush LJ (1984). Importance of Bile Tolerance of *Lactobacillus acidophilus* Used as a Dietary Adjunct. *Journal of Dairy Science*, 67 (12): 3045-3051.
- Gismondo MR, Drago L (1999). Review of probiotics available to modify gastrointestinal flora. *International Journal of Antimicrobiol Agents*, 12: 287-292.
- Gobbetti M, Angelis M, Corsetti A, Cagno R (2005). Biochemistry and Physiology of Sourdough Lactic Acid Bacteria. *Trends in Food Science & Technology*, 16: 1-13.
- Goldin BR, Gorbach SL, Saxelin M, Barakat S, Gualtieri L, Salminen S (1992). Survival of *Lactobacillus* Species (strain GG) In Human Gastrointestinal-Tract. *Digestive Diseases and Sciences*. Plenum Publ Corp, 37: 121-128.
- Gomes AMP, Malcata FX (1999). *Bifidobacterium* spp. and *Lactobacillus acidophilus*: biological, biochemical, technological, and therapeutical properties relevant for use as probiotics. *Trends in Food Science & Technology*, 10: 139-157.
- Gopal PK, Prasad J, Smart J, Gill HS (2001). In vitro adherence properties of *Lactobacillus rhamnosus* DR20 and *Bifidobacterium lactis* DR10 strains and their antagonistic activity against an enterotoxigenic *Escherichia coli*. *International Journal of Food Microbiology*, 67: 207–216.
- Gorbach SL, Nahas L, Lerner PI (1967). Studies of intestinal microflora. Effects of diet, age and periodic sampling on numbers of faecal microorganisms in man. *Gastroenterology*, 53; 845-855.
- Göktepe I, Juneja KV, Ahmedna M (2006). *Probiotics in Food Safety and Human Health*, Published in by CRC Press Taylor & Francis Group ABD.
- Gram C (1884). The Differential Staining of Schizomycetes in Tissue Sections and in Dried Preparations. *Fortschritte der Medicine* 2: 185-189.
- Gratz S, Wu QK, El-nezami H, Juvonen RO, Mykkanen H, Turner PC (2007). “*Lactobacillus rhamnosus* Strain GG Reduces Aflatoxin B1 Transport, Metabolism, and Toxicity in Caco-2 Cells. *Appl Environ microbiology*, 73(12): 3958–3964.
- Griesen K, Loeffelholz M, Purohit A, Leong D (1994). PCR primers and probes for the 16S rRNA gene of most species of pathogenic bacteria, including bacteria found in cerebrospinal fluid. *J Clin Microbiology*, 32: 335–351.
- Guarner F and Schaafsma GJ (1998). Probiotics. *Int. J. Food Microbiology* 39; 237-238.
- Guarner F (2003). Gut flora in health and disease. *The Lancet*, 306: 512.

- Gueimonde M, Laitinen K, Salminen S, Isolauri E (2007). Breast milk: a source of bifidobacteria for infant gut development and maturation? *Neonatology*: 92: 64–6.
- Gupta V, Garg R (2009). Probiotics. *Indian J Med Microbiology*, 27(3): 202-209
- Gurtler JB, Kornacki JL, Beuchat LR (2005). *Enterobacter sakazakii*: A coliform of increased concern to infant health. *Int. J. Food Microbiology* 104: 1-34.
- Gülmez M, Güven A (2002). Probiyotik prebiyotik ve sinbiyotikler, Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 8: 83-89.
- Gürsoy O, Kınık O (2005). Laktobasiller ve Probiyotik Peynir Üretiminde Kullanım Potansiyelleri. Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Mühendislik Bilimleri Dergisi, 11(3): 361-371.
- Haddain MSY, Awaisheh SS, Robinson RK (2004). The Production of Yoghurt with Probiotic Bacteria Isolated from Infants in Jordan. *Pakistan Journal of Nutrition*, 3(5): 290-293.
- Hakansson S Kallen K (2003). Caesarian section increases the risk of hospital care in childhood for asthma and gastroenteritis *Clin Exp Allergy*, 33: 757-64.
- Halkman K (1991). Tarım Mikrobiyolojisi, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, No: 1214, 82s, Ankara.
- Ham JS, In YM, Jeng SG, Kim JG, Lee EH, Kim HS, Lee BH (2002). Screening of conjugated linoleic acid producing lactic acid bacteria from fecal samples of healthy babies. *Asian Australasian Journal of Animal Sciences*, 15: 1031-1035.
- Hammes WP, Weiss N, Holzapfel W (1992). In: *The Prokaryotes* Balows A, Trüper HG, Dworkin M, Harder W, Schleifer KH eds 2nd edn, Springer, New York pp: 1535-1594.
- Hammes WP, Vogel RF (1995). The genus *Lactobacillus*. In “The Genera of Lactic Acid Bacteria. The Lactic Acid Bacteria Volume: 2”, Editors: Wood, B.J.B., Holzapfel, W.H., Chapman & Hall, 2-6 Boundary Row, 19-55p, London.
- Harrigan WF, McCance ME (1966). *Laboratory Methods in Microbiology*. Academic press, 362 p London and New York.
- Hatakka K, Savilahti E, Pönkä A, Meurman JH, Poussa T, Näse L, Saxelin M, Korpela R (2001). Effect of long term consumption of probiotic milk on infections in children attending day care centers: double blind, randomised trial. *British Microbiology Journal*, 322: 1-5.
- Hatakka K, Ahola AJ, Yli-Knuutila H, Richardson M, Poussa T, Meurman JH, Korpela R (2007). Probiotics reduce the prevalence of oral candida in the elderly-a randomized controlled trial. *J Dent Res*, 86(2): 125-130.
- Heiland MH, Wicklund T, Narvhus JA (2004). Growth and metabolism of selected strains of probiotic bacteria in milk- and water- based cereal puddings. *Int Dairy J*, 12: 579-589.
- Heilig HGJ, Zoetendal EG, Vaughan EE, Marteau P, Akkermans ADL, Vos WMD (2002). Molecular Diversity of *Lactobacillus* spp. and Other Lactic Acid Bacteria in the Human Intestine as Determined by Specific Amplification of 16S Ribosomal DNA. *Applied and Environmental Microbiology*. 68(1): 114-123.

- Hirano J, Yoshida T, Sugiyama T, Koide N, Mori I, Yokochi T (2003). The effect of *Lactobacillus rhamnosus* on enterohemorrhagic *Escherichia coli* infection of human intestinal cells in vitro. *Microbiol Immunology*, 47: 405–409.
- Hofvendahl K, Hahn-Hägerdal B (2000). Factors affecting the fermentative lactic acid production from renewable resources. *Enzyme Microb Technology*, 26: 87–107.
- Holzapfel WH (2002). Appropriate starter culture technologies for small-scale fermentation in developing countries. *International Journal of Food Microbiology* 75: 197– 212.
- Holzapfel WH, Schillinger U (2002). Introduction to pre- and probiotics. *Food Research Int*, 35(2-3): 109-116.
- Hoyos AB (1999). Reduced incidence of necrotizing enterocolitis associated with enteral administration of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium infantis* to neonates in an intensive care unit. *Int. J. Infect. Dis*, 3; 197-202.
- Huurre A, Laitinen K, Rautava S, Korkeamäki M, Isolauri E (2008). Impact of maternal atopy and probiotic supplementation during pregnancy on infant sensitization: a double-blind placebo-controlled study. *Clin Exp Allergy*, 38(8): 1342-8.
- Iñiguez-Palomares C, Pérez-Morales R, Acedo-Félix E (2007). Evaluation of probiotic properties in *Lactobacillus* isolated from small intestine of piglets. *Reviews of Latinoamerican Microbiology*, 49: 46-54.
- İrkin R, Eren UV (2008). Bazı Probiyotik Bakterilerin Süt Ürünlerinde Oluşturduğu Konjuge Linoleik Asidin Sağlık Yönünden Önemi. *Gıda*, 33(2): 83-89.
- Isolauri E (1997). Intestinal involvement in atopic disease. *J. Royal Soc. Med*, 90; 15-20.
- Isolauri E (2004). Dietary modification of atopic disease: Use of probiotics in the prevention of atopic dermatitis. *Curr Allergy Asthma Rep* 4: 270–275.
- Işıdan H, Mart (2009). Probiyotikler, SÜMAE (Su Ürünleri Merkez Araştırma Enstitüsü) Yunus Araştırma Bülteni, 9(1): 9-10.
- Jacobsen CN, Nielsen VR, Hayford AE, Moller PL, Michaelsen KF, Pærregaard A, Sandström B, Tvede M, Jakobsen M (1999). Screening of Probiotic Activities of Forty-Seven Strains of *Lactobacillus* spp. by in vitro Techniques and Evaluation of the Colonization Ability of Five Selected Strains in Humans. *Applied And Environmental Microbiology*, 65(11): 4949-4956.
- Jay JM (1986). *Modern Food Microbiology*. 3rd. Ed, Van Nostrand Reinhold Compony Inc, pp. 362-399. New York
- Juntunen M, Kirjavainen PV, Ouwenhand AC, Salminen SJ, Isolauri E (2001). Adherence of probiotic bacteria to human intestinal mucus in healthy infants during rotavirus infection. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, 8: 293–296.
- Kalantzopoulos G (1997). Fermented Products with Probiotic Qualities. *Anaerobe*, 3(2-3): 185-190.
- Kalliomäki M, Salminen S, Arvilommi H, Kero P, Koskinen P, Isolauri E (2001). Probiotics in primary prevention of atopic disease: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet*; 7: 1076-1079.
- Kalliomäki M, Salminen S, Poussa T, Arvilommi H, Isolauri E (2003). Probiotics and prevention of atopic disease: 4-year follow-up of a randomised placebo-controlled trial. *Lancet*; 31: 1869-1871.

- Kandler O, Weiss N (1986). Section 14. Regular Nonsporing Gram Positive Rods. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology 2: 1208-1234.
- Karahan AG, Çakmakçı ML (1996). Probiyotikler. Gıda Dergisi, 21 (4): 297-302.
- Karaoğlu ŞA, Aydın F, Kılıç SS, Kılıç AO (2003). Antimicrobial Activity and Characteristics of Bacteriocins Produced by Vaginal *Lactobacilli*. Turk J Med Sci 33: 7-13.
- Kattla AK, Kruse H, Johnsen G, Herikstad H (2001). Antimicrobial susceptibility of starter culture bacteria used in Norwegian dairy products. International Journal of Food Microbiology, 67: 147–152.
- Kavas ST (2007). Probiyotik Mikroorganizmaların Gastrointestinal Sistem Uyumluluğu ve Enterik Patojenlere Etkisi. Uzmanlık Tezi. Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı.
- Khalil R, Mahrous H, El-Halafawy K, Kamaly K, Frank J, El Soda M (2007). Evaluation of the probiotic potential of lactic acid bacteria isolated from faeces of breast-fed infants in Egypt. African J. Biotechnology 6: 939-949.
- Kheadr E, Dabour N, Le Lay C, Lacroix C, Fliss I (2007). Antibiotic Susceptibility Profile of Bifidobacteria as Affected by Oxygall, Acid, and Hydrogen Peroxide Stress. Antimicrob. Agents and Chemot. 51, 169–174.
- Kılıç S (1990). Yoğurt kültürünü oluşturan *L. bulgaricus* ve *S. thermophilus* bakterilerinin antibakteriyal özellikleri üzerine bir araştırma, Gıda, 15(6): 333-338.
- Kılıç S (2001). Probiyotik özelliğindeki laktik asit bakterileri. Süt Endüstrisinde Laktik Asit Bakterileri. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları:363-423. İzmir
- Kılıç S (2008). Süt Endüstrisinde Laktik Asit Bakterileri, Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları No: 542, Ege Üniversitesi Basımevi, Bornova, İzmir, 451 s.
- Kılıç GB (2009). Bazı Laktobasil Suşlarının Genetik Tanısının Yapılması ve Faj Dirençliliklerinin Belirlenmesi. Doktora Tezi. Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Kırmacı HA (2010). Geleneksel Urfa Peynirinde Yeralan laktik asit Bakterilerinin İzolasyonu, Moleküler Karakterizasyonu ve Starter Kültür Olarak Kullanım Olanakları. Doktora Tezi. Harran Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Şanlıurfa.
- Kirtzalidou E, Pramateftaki P, Kotsou M, Kyriacou A (2011). Screening for *lactobacilli* with probiotic properties in the infant gut microbiota. Clinical Microbiology. Anaerobe 17: 440-443.
- Klaenhammer RT, Kullen JM (1999). Selection and design of properties. Int. J. Food Microbiology 50: 45-57.
- Klebanof SJ, Hillier SL, Eschenbach DA, Walteredorph AM (1991). Control of the microbial flora of the vagina by H₂O₂ – generating bacilli, J Infect Dis, 164 166.
- Klein G, Pack A, Bonaparte C, Reuter G (1998). Taxonomy and physiology of probiotic lactic acid bacteria. International Journal of Food Microbiology, 4: 103–125.
- Klingberg TD, Axelsson L, Naterstad K, Elsser D, Budde BB (2005). Identification of Potential Probiotic Cultures For Scandinavia-Type Fermented Sausages. International Journal of Food Microbiology, 105: 419-431.
- Koropatkin NM, Cameron EA, Martens EC (2012). How glycan metabolism shapes the human gut microbiota. 10: 323-335

- Kotzamanidis C, Kourelis A, Litopoulou-Tzanetaki E, Tzanetakos N, Yiangou M (2010). Evaluation of adhesion capacity, cell surface traits and immunomodulatory activity of presumptive probiotic *Lactobacillus* strains. *International Journal of Food Microbiology* 140 (2010) 154-163.
- Kotsou MG, Mitsou EK, Oikonomou IG, Kyriacou AA (2008). In vitro assessment of probiotic properties of *Lactobacillus* strains from infant gut microflora. *Food Biotechnology*, 22: 1-17.
- Kukkonen K, Savilahti E, Haahtela T, Juntunen-Backman K, Korpela R, Poussa T, Tuure T, Kuitunen M (2008). Long-term safety and impact on infection rates of postnatal probiotic and prebiotic (synbiotic) treatment: randomized, double-blind, placebocontrolled trial. *Pediatrics*, 122(1): 8-12.
- Kunz C, Rodriguez-Palmero M, Koletzko B, Jensen R (1999). Nutritional and biochemical properties of human milk, Part 1: General aspects, proteins and carbohydrates. *Clin Perinatal*, 26: 307-33.
- Kurt Ş, Zorba Ö (2005). Bakteriyosinler ve Gıdalarda Kullanım Olanakları. *YYÜ Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, 16(1):77-83
- Kuş H (2010). İnsan Orjinli Probiyotik Bakteriler Kullanılarak Probiyotik Ayran Üretimi. Yüksek lisans tezi, Namık Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ.
- Kutlu T (2011). Pre ve Probiyotikler, *Türk Pediatri Arşivi Dergisi*, 46: 59-64.
- Küçüker MA (2003). Barsak florası ve patojen mikroorganizmalarla etkileşimi. *Aktüel Tıp Dergisi*, 8:6-8.
- Kültürsay N (2009). Bebeklikte Barsak Florası Gelişimi ve İmmun Sisteme Etkileri *Çocuk Enf Derg*, 3: 75-78.
- Lane DJ (1991). 16S/23S rRNA sequencing. In: *Nucleic Acid Techniques in Bacterial Systematics* (Stackebrandt, E. and Goodfellow, M, Eds.), 115–147.
- Laurens-Hattingh A, Viljoen BC (2001). Yogurt as Probiotic Carrier Food. *Int. Dairy J*, 11: 1-17.
- Lee BH, Simard RE (1984). Evaluation methods for detecting the production of H₂S, volatile sulfides, and greening by *Lactobacilli*. *Journal of Food Science*, 49: 981-983.
- Leroy F, Vuyst LC (2004). Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. *Trends in Food Science & Technology* 15: 67–78.
- Lewus CB, Kasier A, Montville TJ (1991). Inhibition of food-borne bacterial pathogens by bacteriocins from meat, *Appl. Environ. Microbiology*, 57(6): 1683-1688.
- Lewus CB, Montville TJ (1991). Detection of bacteriocins produced by lactic acid bacteria, *J. Microbiol. Method*, 13: 145-150.
- Limsowtin, GKY, Broome MC, Powell IB (2003). *Lactic Acid Bacteria Taxonomy*, *Encyclopedia of Dairy Sciences*, (H. ROGINSKI, J.W. FUQUAY and P.F. FOX, editors), Vol. 3, Academic Pres, 2005.
- Lin TH, Pan TM (1983). Antimicrobial Activity of Metabolites Produced by *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* NTU 101 and *Lactobacillus plantarum* NTU 102. (<http://www.docstoc.com/docs/26774144/Antimicrobial-activity-of-metabolites-produced-by-Lactobacillus>)

- Lin HC, Hsu HC, Chen HL, Chung MY, Hsu JF, Lien Rİ, Tsao LY, Chen CH, Su BH (2005). Oral probiotics reduce the incidence and severity of necrotizing enterocolitis in very low birth weight infants. *Pediatrics*, 115: 1-4.
- Maden EA, Altun C (2012). Probiyotikler ve Ağız Sağlığı. Atatürk Üniversitesi, Dış Hekimliği Fakülte Dergisi, 22(3): 334-339.
- Magne F, Suau A, Pochart P, Desjeux JF (2005). Fecal Microbial Community in Preterm Infants. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 41: 386–392.
- Mallesha SR, Selvakumar D, Jagannath JH (2010). Isolation and Identification of Lactic Acid Bacteria from Raw and Fermented Products and Their Antibacterial Activity. *Recent Research in Science and Technology*, 2(6): 42-46.
- Manzoni P, Gallo E, Farina D (2009). Probiotics for the neonate. *Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine*, 22: 27-30.
- Manzoni P, Rizzollo S, Vain N, Mostert M, Stronati M, Tarnow-Mordi W, Farina D (2011). Probiotics use in preterm neonates: what further evidence is needed? *Early Human Devolopment* 87(1): 3-4.
- Maragkoudakis PA, Zoumpopoulou G, Miaris C, Kalantzopoulos G, Pot B, Tsakalidou E (2006). Probiotic potential of *Lactobacillus* strains isolated from dairy products. *Int. Dairy J*, 16: 189-199.
- Marin ML, Benito Y, Pin C, Fernandez MF, Garcia ML, Selgas MD, Casas C (1997). Lactic acid bacteria: hydrophobicity and strength of attachment to meat surfaces. *Letters in Applied Microbiology*, 24: 14-18
- Mathara JM, Schillinger U, Kutima PM, Mbugua SK, Guigas C, Franz C, Holzapfel WM (2008). Functional properties of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from maasai traditional fermented milk products in Kenya. *Curr Microbiology*, 56: 315-321.
- Mccartney AL, Wenzhi W, Tannock GW (1996). Molecular Analysis of the Composition of the *Bifidobacterial* and *Lactobacillus* Microflora of Humans. *Applied And Environmental Microbiology*, 62(12): 4608–4613.
- Menteş Ö, Akçelik M, Ercan R (2004). Türkiye’de Üretilen Ekşi Hamurlardan *Lactobacillus* Suşlarının İzolasyonu, İdentifikasyonu ve Bu Suşların Temel Endüstriyel Özellikleri. *Gıda Dergisi*, (4): 307-315.
- Messi P, Bondi M, Sabia C, Battini R, Manicardi G (2001). Detection and preliminary characterization of a bacteriocin (plantaricin 35d) produced by a *Lactobacillus plantarum* strain. *Int. J. Food Microbiology*, 64: 193-198.
- Meurman JH, Stamatova I (2007). Probiotics: contributions to oral health. *Oral Dis*, 13(5): 443-451.
- Meyers JA, Sanchez D, Elwell LP, Falkow S (1976). Simple agarose gel electrophoretic method for the identification and characterization of plasmid deoxyribonucleic acid. *Journal of Bacteriology*, 127: 1529-1537.
- Mishra V, Prasad DN (2005). Application of in vitro methods for selection of *Lactobacillus casei* strains as potential probiotics, *International Journal of Food Microbiology*, 103-115.
- Moat AG (1985). Biology of the Lactic, Acetic and Propionic Acid bacteria. “Demain, A.L. and Solomon, N.A. (ed): *Biology of Industrial Microorganisms*” p. 143, the Benjamin/ Cummins Publishing Company Inc., Menlo Park, California.

- Monteagudo-Mera A, Caro I, Rodríguez-Aparicio LB, Rúa J, Ferrero MA (2011). Characterization of Certain Bacterial Strains for Potential Use as Starter or Probiotic Cultures in Dairy Products. *Journal of Food Protection*, 74(8): 1379-86.
- Moore WEC, Holdeman LV (1978). Some current concepts in intestinal bacteriology. *Am. J. Clin. Nutrition* 3: 33-42.
- Morelli L (2008). Postnatal Development of Intestinal Microflora as Influenced by Infant Nutrition. *The Journal of Nutrition*, 138: 1791S–1795S.
- Nawaz M, Wang J, Zhou A, Ma C, Wu X, Xu J (2011). Screening and characterization of new potentially probiotic lactobacilli from breast-fed healthy babies in Pakistan. *African Journal of Microbiology Research*, 5(12): 1428-1436.
- Murray F (1998). *Acidophilus and Your Health: The beneficial microorganisms that aid digestion and fight disease*. Keats Publishing, Inc, New Canaan, Connecticut, 46.
- Nayir SM (2008). Sütün yoğurda dönüşümü sırasında içerdiği feneolik antioksidan maddelere probiyotik bakteri etkisinin incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Trakya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Neish A (2009). Microbes in gastrointestinal health and disease *Gastroenterology*, 136: 65-80.
- Niedzielin K, Kordecki H, Birkenfeld B (2001). A controlled, doubleblind, randomized study on the efficacy of *Lactobacillus plantarum* 299V in patients with irritable bowel syndrome. *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 13:1143-1147.
- Novik GI, Samartsev AA, Astapovich NI, Kavrus MA, Mikhalyuk AN (2006). Biological Activity of Probiotic Microorganisms. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 42(2): 166–172.
- Ocana VS, Pesce De Ruiz Holgado AA, Nader-Macias ME (1999a). Selection of vaginal H₂O₂-generating *Lactobacillus* species for probiotic use. *Curr. Microbiology*, 38: 279–284.
- Ocana VS, De Ruiz Holgado AA, Nader-Macias ME (1999b). Growth inhibition of *Staphylococcus aureus* by H₂O₂- producing *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* isolated from the human vagina. *FEMS Immunol. Med. Microbiology*, 23: 87–92.
- Okereke A, Montville TJ (1991). Bacteriocin inhibition of *Clostridium botulinum* spores by lactic acid bacteria. *J. Food Protection*, 54: 349-353.
- Olson NF (1990). The impact of lactic acid bacteria on cheese Flavour. *FEMS Microbiology*. 87: 131-138.
- O'toole DK, Lee YK (2004). *Fermented Foods, Microbial Biotechnology, Principles and Applications*, World Scientific Publishing Company, 724.
- Ouwehand AC, Tuomola EM, Tolkkio S, Salminen S (2001). Assessment of adhesion properties of novel probiotic strains to human intestinal mucus. *International Journal of Food Microbiology*, 64: 119–126.
- Ouwehand AC, Salminen S, Isolauri E (2002). Probiotics: An overview of beneficial effects. *Anton Leeuw IntJ G*, 82: 279-289.
- Önal D, Beyatlı Y, Aslım B (2005). Probiyotik Bakterilerin Epitel Yüzeylere Yapışması, *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*, 3(9): 1-10.

- Öncü Ü (2007). 1-5 yaş arası çocukların persantillerine ailenin sosyoekonomik düzeyinin ve annenin beslenme konusundaki bilginin etkisi. Uzmanlık Tezi, Taksim Eğitim ve Araştırma Hastanesi Aile Hekimliği, İstanbul.
- Öner Ö (2012). *Bifidobacterium* ve *Lactobacillus* Cinsi Bakterilerin Kolesterol Giderim Özellikleri İle Safra Tuzu Hidrolaz (BSH) Enzim Aktivitesinin ve Geninin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Özalp İ (1996). Anne sütü ve anne sütü ile beslenme. *Katkı Pediatri Dergisi* 1: 37-52.
- Özden A (2005). Gastrointestinal Sistem ve Probiyotik, Prebiyotik Synbiyotik. *Güncel Gastroenteroloji*, 9(3): 124-133.
- Özgün D (2009). Anne Sütü (kolostrum) ve Bebek Feçeslerinden *Lactobacillus* Cinsi Bakteri Suşlarının İzolasyonu ve API 50 CHL Sistemi İle İdentifikasyonu. Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Pant AR, Graham SM, Allen SJ, Harikul S, Sabchareon A, Cuevas L, Med MT, Hart CA (1996). *Lactobacillus* GG and acute diarrhea in young children in the tropics. *J Trop Pediatr*, 42: 162-165.
- Pascual LM, Daniele MB, Pajaro C, Barberis L (2006). *Lactobacillus* species isolated from the vagina: identification, hydrogen peroxide production and nonoxynol-9 resistance. *Elsevier, Contraception* 73: 78-81.
- Patel HM, Pandiella SS, Wang RH, Webb C (2004). Influence of malt, wheat, and barley extracts on the bile tolerance of selected strains of *Lactobacilli*. *Food Microbiology*, 21: 83-89.
- Patra A, Sil J, Das BK (2011). Isolation and characterization of dominant lactic acid bacteria from Dahi at Medinipur and evaluation of their antibacterial activity. *Internet Journal of Food Safety*, 13:157-163.
- Pennacchia C, Ercolini D, Blaiotta G, Pepe O, Mauriello G, Villani F (2004). Selection of *Lactobacillus* strains from fermented sausages for their potential use as probiotics. *Meat Science*, 67: 309-317.
- Pereira DIA, Gibson GR (2002). Cholesterol assimilation by lactic acid bacteria and bifidobacteria isolated from the human gut. *Appl. Environ. Microbiology*, 68: 4689-4693.
- Perez PF, Minnaard Y, Disalvo EA, Antoni DG (1998). Surface properties of bifidobacterial strains of human orijin. *Appl. Environ. Microbiology*, 64(1): 21-26.
- Plockova M, Stiles J, Chumchalova J, Halfarova R (2001). Control of Mould Growth by *L.rhamnosus* VT1 and *L. reuteri* CCM 3625 on Milk Agar Plates. *Czech J. Food Science*, 19(2): 46-50.
- Prasad J, Gill H, Smart J, Gopal PK (1999). Selection and characterization of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains for use as probiotic. *Int. Dairy Journal*, 8: 993-1002.
- Prescott CS, Dunn GC (1987). *Industrial Microbiology*, 4th Ed. CBS publishers and Distributors, Delhi, India, 882.
- Rabe LK, Hillier SL (2002). Optimization of Media for Detection of Hydrogen Peroxide Production by *Lactobacillus* Species. *Journal of Clinical Microbiology*, 3260–3264.

- Randazzo CL, Restuccia C, Romano AD, Caggia C (2004). *Lactobacillus casei*, dominant species in naturally fermented Sicilian green olives. *International Journal of Food Microbiology*, 90: 9–14.
- Rashid MH, Togo K, Ueda M, Miyamoto T (2007). Identification and characterization of dominant lactic acid bacteria isolated from traditional fermented milk Dahi in Bangladesh. *World J. Microbiology Biotechnology*, 23: 125-133.
- Rastall R, Gibson GR, Gill HS, Guarner F, Klaenhammer TR, Pot B, Reid G, Rowland IR, Sanders ME (2005). Modulation of the microbial ecology of the human colon by probiotics, prebiotics and synbiotics to enhance human health: An overview of enabling science and potential applications. *FEMS Microbiology Ecology*, 52: 145-152.
- Ray B (1996). *Fundamental Food Microbiology*. CRC Press, Inc, New York, 191-200.
- Reid G, McGroarty JA, Angotti R, Cook RL (1988). *Lactobacillus* inhibitor production against *Escherichia coli* and coaggregation ability with uropathogens. *Can J Microbiology*, 34(3): 344-351.
- Reid G, Burton J (2002). Use of *Lactobacillus* to prevent infection by pathogenic bacteria. *Microbes and Infection*, 4: 319-324.
- Reinheimer JA, Dekow MR, Candiotti MC (1990). Inhibition of coliform bacteria by lactic cultures, *The Australian Journal of Dairy Technology*, 45(1): 5-9.
- Richardson D (1996). Probiotics and product innovation. *Nutrition and Food Science* 96(4): 27-33.
- Rosenfeldt V, Michaelsen KF, Jakobsen M (2002). Effect of probiotic *Lactobacillus* strains in young children hospitalized with acute diarrhea. *Pediatr. Infect. Dis*, 21: 411.
- Rothman R, Majmudar MD, Kelen GD, Madico G, Gaydos CA, Walker T, Quinn TC (2002). Detection of bacteremia in emergency department patients at risk for infective endocarditis using universal 16S rRNA primers in a decontaminated polymerase chain reaction assay. *J Infect Dis*, 186: 1677–1681.
- Saarela M, Morgensen G, Fonden R, Mattö J, Mattila-Sandholm T (2000). Probiotic bacteria: safety, functional and technological Properties. *Journal of Biotechnology*, 84: 197-215.
- Saarela M, Rantala M, Hallamaa K, Nohynek L, Virkajärvi I, Mättö J (2004). Stationary-phase acid and heat treatment for improvement of the viability of probiotic *Lactobacilli* and *Bifidobacteria*. *J Appl. Microbiology* 96: 1205-1214.
- Saavedra JM (2007). Use of probiotics in pediatrics: Rationale, mechanisms of action, and practical aspects. *Nutrition in clinical practice*, 22: 351–365.
- Sağdıç O, Arıcı M, Şimşek O (2002). Selection of starters for a traditional Turkish yayik butter made from yoghurt. *Food Microbiology*, 19: 303-312.
- Salem G, Hassan Z, Abubakr M (2013). Adhesion of Probiotic Bacteria to Resistant Rice Starch. *American Journal of Applied Sciences*, 10(4): 313-321.
- Salminen S, Deighton MA, Benno Y, Gorbach SL (1998). Lactic acid bacteria in health and disease. In: Salminen S, von Wright, A. eds. *Lactic acid bacteria: microbiology and functional aspects*. 2nd ed. New York: Marcel Dekker Inc, 211-254.

- Salminen S, Ouwehand A, Benno Y, Lee KY (1999). Probiotics: How should they be defined? *Trends in Food Science & Technology*, 10: 107-110.
- Salminen S, Von Wright A, Ouwehand A (2004). *Lactic acid bacteria microbiological and functional aspects*. Marcel Dekker Inc, 628, New York, USA.
- Sambrook J, Russell DW (2001). *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. Cold Spring Harbor Laboratory Press Cold Spring Harbor, New York.
- Sameshima T, Magome C, Takeshita K, Arihara K, Itoh M, Kondo Y (1998). Effect of intestinal *Lactobacillus* starter cultures on the behaviour of *Staphylococcus aureus* in fermented sausages. *Int. Journal of Food Microbiology*, 41: 1-7.
- Sanders ME, Veld JH (1999). Bringing a probiotic-containing functional food to the market: microbiological, product, regulatory and labelling issues. *Antonie van Leeuwenhoek*, 76: 293-315.
- Sanger F, Nicklen S, Coulson AR (1977). DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 74: 5463-5467.
- Santos A, San Mauro M, Sanchez A, Torres JM, Marquina D (2003). The Antimicrobial Properties of Different Strains of *Lactobacillus* spp. Isolated from Kefir. *Appl. Microbiology*, 26: 434-437.
- Sarem-Damerdjı LO, Sarem F, Marcjal L, Nicolas JP (1995). In vitro colonization ability of human colon mucosa by exogenous *Lactobacillus* strains. *FEMS Microbiology Letters*, 131: 133-137.
- Sato K (1984). Enhancement of host resistance against *Listeria* infection by *Lactobacillus casei*: role of macrophages. *Infect. Immun*, 44: 445-451.
- Satokari RM, Vaughan EE, Favier CF, Dore J, Edwards C, Vos WMD (2002). Diversity of *Bifidobacterium* and *Lactobacillus* spp. in Breast-Fed and Formula-Fed Infants as Assessed by 16S rDNA Sequence Differences. *Microbial Ecology in Health and Disease*, 14: 97-105.
- Saxelin M, Chuang NH, Chassey B, Rautelin H, Makela PH, Salminen S, Gorbach SL (1996). Lactobacilli and bacteremia in Southern Finland 1989-1992. *Clin. Infect. Dis*, 22: 564-566.
- Schillinger U, Lucke FK (1989). Antibacterial activity of *Lactobacillus sake* isolated from meat. *Appl. Environ. Microbiology*, 55: 1901-1906.
- Schillinger U, Guigas C, Holzapfel WH (2005). In vitro adherence and other properties of lactobacilli used in probiotic yoghurt-like products. *International Dairy Journal*, 15: 1289-1297.
- Senok AC, Ismaeel AY, Botta GA (2005). Probiotics: facts and myths. *Clin Microbiol Infect*, 11: 958-966.
- Seyhan E (2012). Fonksiyonel Fermente Peynıraltı Suyu İeeği Üretimi Üzerine Bir Araştırma. Yüksek lisans tezi, Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Sharpe ME, Franklin JG (1962). Production of hydrogen sulfide by *Lactobacilli* with special reference to strains isolated from Chem. 8th. *Int. Ciba Microbiology*, 56.
- Shortt C (1999). The probiotic century: historical and current perspectives. *Trends in Food Science and Technology*, 10: 411-417.

- Sjazewska H, Kotowska M, Mrukowicz J, Armańska M, Mikolajczyk W (2001). *Lactobacillus* GG in prevention of diarrhea in hospitalized children. *J Pediatr*, 138: 361-365.
- Sneath PHA, Mair NS, Sharpe ME, Hold JG (1986). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 2: 1208-1234.
- Song YL, Kato N, Matsumiya Y, Liu CX, Kato H, Watanabe K (1999). Identification of and Hydrogen Peroxide Production by Fecal and Vaginal Lactobacilli Isolated from Japanese Women and Newborn Infants. *Journal of Clinical Microbiology*, 37(9): 3062-3064.
- Srilakshmi A, Matthai J(2005). Probiotics In Children. *Indian Journal of Practical Pediatrics* 7(1): 60.
- Succi M, Tremonte P, Reale A, Sorrentino E, Grazia L, Pacifico S, Coppola R (2005). Bile salt and acid tolerance of *Lactobacillus rhamnosus* strains isolated from Parmigiano Reggiano cheese. *FEMS Microbiology Letters*, 244: 129–137.
- Sullivan A, Edlund C, Nord CE (2001). Effect of antimicrobial agents on the ecological balance of human microflora. *Lancet Infect Dis*, 1: 101-114.
- Stiles ME, Holzapfel WH (1997). Lactic acid bacteria of foods and their current taxonomy. *International Journal of Food Microbiology*, 36: 1-29.
- Swenson JM, Facklam RR, Thornberyy C (1990). Antimicrobial susceptibility of vancomycin resistant *Leuconostoc*, *Pediococcus* and *Lactobacillus* species. *Antimicrob Agents Ch*, 34: 543–549.
- Şahin (1995). Endüstriyel Mikrobiyoloji. Uludağ Üniversitesi Ziraat Fakültesi, 151s, Bursa.
- Tambekar DH, Bhutada SA (2010). Acid and bile tolerance, antibacterial activity, antibiotic resistance and bacteriocins activity of probiotic *Lactobacillus* species, *Recent Research in Science and Technology*, 2: 94-98.
- Tahri K, Grill JP, Schnider F (1996). *Bifidobacteria* strain behavior toward cholesterol: Coprecipitation with bile salts and assimilation. *Curr. Microbiology*, 33; 187-193.
- Tangüler H (2010). Şalgam suyu üretiminde etkili olan laktik asit bakterilerinin belirlenmesi ve şalgam suyu üretim tekniğinin geliştirilmesi. Doktora Tezi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Tannock GW (1999). Identification of *Lactobacilli* and *Bifidobacteria*. *Current Issues Molec. Biology*, 1(1): 53–64.
- Tannock GW (2004). Can the gut microflora of infants be modified by giving probiotics to mothers? *J Pediatr Gastroenterol Nutrition*, 38: 244-246.
- Taş E (2008). Probiyotik Laktik Asit Bakterileri ve Baharatların Bazı Gıda Patojenleri Üzerine İnhibisyon Etkisi. Yüksek Lisans Tezi. Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Tejero-Sariñena S, Barlow J, Costabile A, Gibson GR, Rowland I (2012). In vitro evaluation of the antimicrobial activity of a range of probiotics against pathogens: Evidence for the effects of organic acids. *Anaerobe*, 18(5): 530-538
- Temiz A (2008). Genel Mikrobiyoloji Uygulama Teknikleri. Hatiboğlu Yayınları: 96, Yükseköğretim Dizisi, 29:90-93, Ankara.

- Temmerman R, Pot B, Huys G, Swings J (2003). Identification and Antibiotic Susceptibility of Bacterial Isolates from Probiotic Products. *International Journal of Food Microbiology*, 81: 1-10.
- Tezcan Fİ (2007). İntestinal immun sistem. *Türkiye Klinikleri J Pediatr Science*, 3(6): 65-67.
- Thomas B (1994). *Manual of Dietetic Practice*, Oxford: Blackwell Science Publications, 250.
- Timmerman, HM, Koning CJM, Mulder L, Rombouts FM, Beynen AC (2004). Monostrain, multistrain and multispecies probiotics- A comparison of functionality and efficacy, *International Journal of Food Microbiology*, 219–233.
- Todorov SD, Dicks LMT (2006). Screening for bacteriocin-producing lactic acid bacteria from boza, a traditional cereal beverage from Bulgaria bomparison of the bacteriocins, *Process Biochemistry*, 41: 11-19.
- Tok E, Aslım B (2007). Probiyotik olarak kullanılan bazı laktik asit bakterilerinin kolesterol asimilasyonu ve safra tuzları dekonjugasyonundaki rolleri. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 37(1): 62-68.
- Tokatlı N (2011). Farklı Formülasyonlarda Üretilen Bebek Mamalarının Bileşimi, Bazı Mikrobiyolojik Özellikleri ve *Enterobacter sakazakii* Varlığının Belirlenmesi. Yüksek lisans tezi, Namık Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ.
- Toksoy A (1996). *Lactobacillus plantarum* ve *Pediococcus pentosaceus* suşlarının metabolik ve antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi. Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Toksoy A, Beyatlı Y, Aslım B (1999a). Studing on metabolic and antimicrobial activities of some *L. plantarum* strains isolated from sausages. *Tr. J. Vet. Anim. Science*, 23: 533-540.
- Toksoy A, Beyatlı Y, Aslım B (1999b). Sucuk ve Sosislerden İzole Edilen *Lactobacillus plantarum* Suşlarının Bazı Metabolik ve Antimikrobiyal Aktivitelerinin İncelenmesi. *Tr. J. of Veterinary and Animal Sicences*, 23: 533-540
- Tunail N, Köşker Ö (1989). *Süt Mikrobiyolojisi*, Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Yayınları, No:1116, 138s, Ankara.
- Tuohy KM, Pinart-Gilberga M, Jones M, Hoyles L, McCartney AL, Gibson GR (2007). Survivability of a probiotic *Lactobacillus casei* in the gastrointestinal tract of healthy human volunteers and its impact on the faecal microflora. *Journal of Applied Microbiology*, 102:(4) 1026–1032.
- Tuomola EM, Salminen SJ (1998). Adhesion of some probiotic and dairy *Lactobacillus* strains to Caco-2 cell cultures. *International Journal of Food Microbiology*, 41: 45-51.
- Turantaş F (1999). Fermantasyonda Rol Oynayan Mikroorganizmalar. İçinde *Gıda Mikrobiyolojisi* (Ünlütürk, A, Turantaş, F. ed.). İkinci Baskı, İzmir. 425-473.
- Uymaz B (2009). Probiyotik Özellik Taşıyan Gıda ve İnsan Kaynaklı Laktobasillerin İzolasyonu Tanımlanması ve Bakteriyosin Üretim Yeteneklerinin Karakterizasyonu. Doktora tezi. Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Ünlütürk A, Karapınar M, Turantaş F (1998). *Gıdalarda Önemli Mikroorganizmalar*, Gıda Mikrobiyolojisi, Mengi Tan Basımevi, Çınarlı, İzmir, 11-44.

- Van-Coric M (1990). Antibody Responses to Parental & Oral Vaccines Where Impaired by Conventional and Low-Protein Formulas as Compared to Breast Feeding. *Acta Paediatr Scand*, 79: 1137-1142.
- Vandenberg PA (1993). Lactic acid bacteria, their metabolic products and interference with microbial growth. *FEMS Microbiology Reviews*, 12: 221–238.
- Vanderhoof A, Rosemary Y (2002). Probiotics in pediatrics. *Pediatrics*, 109: 956-958.
- Verdenelli MC, Ghelfi F, Silvi S, Orpianesi C, Cecchini C, Cresci A (2009). Probiotic properties of *Lactobacillus rhamnosus* and *Lactobacillus paracasei* isolated from human faeces. *Eur J Nutrition*, 48: 355-363.
- Vesterlund S, Vankerckhovan V, Saxelin M, Goosens H, Salminen S, Ouwehand AC (2007). Safety assessment of *Lactobacillus* strains: Presence of putative risk factors in faecal, blood and probiotic isolates. *International Journal of Food Microbiology*, 116: 325–331.
- Vinderola CG, Reinheimer JA (2003). Lactic acid starter and probiotic bacteria: a comparative ‘in vitro’ study of probiotic characteristic and biological barrier resistance. *Food Research International*, 36: 895-904.
- Vizoso Pinto MG, Franz CM, Schillinger U, Holzapfel WH (2006). *Lactobacillus* spp. with in vitro probiotic properties from human faeces and traditional fermented products. *International Journal of Food Microbiology*, 109: 205-214.
- Vural T (1998). Probiyotikler. XXVIII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi Özet Kitabı, 33-34.
- Vural T, Çelen E (2005). Gastrointestinal Sistemle Dost Mikroorganizmalar ve Probiyotikler. *Güncel Gastroenteroloji*, 9(3): 115-123.
- Wall R, Fitzgerald G, Hussey S, Ryan T, Murphy B, Ross P, Stanton C (2007). Genomic Diversity of Cultivable *Lactobacillus* Populations Residing In The Neonatal And Adult Gastrointestinal Tract. *FEMS Microbiol Ecol*, 59: 127–137.
- Wiesenfeld HC, Hillier SL, Krohn MA, Landers DV, Swet RL (2003). Bacterial vaginosis is a strong predictor of *Neisseria gonorrhoeae* and *Chlamydia trachomatis* infection. *Clin. Infect. Dis*, 36: 663-668.
- Winn W, Allen S, Janda W, Koneman E, Procop G (2006). *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. Philadelphia: WW Lippincot,
- Xanthopoulos V, Ztaliou I, Gaier W, Tzanetakis N, Litopoulou-Tzanetaki E (1999). Differentiation of lactic acid bacteria isolates from infant faeces by SDS-PAGE and 16S r-RNA-targeted oligonucleotide probe hybridization. *Journal of Applied Microbiology*, 87: 743-749.
- Xanthopoulos V, Litopoulou-Tzanetaki E, Tzanetakis N (2000). Characterization of *Lactobacillus* isolates from infant faeces as dietary adjuncts. *Food Microbiology*, 17: 205-215.
- Xiaodong P, Fenqin C, Tianxing W, Honggang T, Zhanyu Z (2009). The acid, bile tolerance and antimicrobial property of *Lactobacillus acidophilus* NIT. *Food Control*, 20: 598–602.
- Yaşar B, Kurdaş OÖ (2009). Probiyotikler ve Gastrointestinal Sistem, *Güncel Gastroenteroloji*, 13(1): 23-28.

- Yavuzdurmaz H (2007). Isolation, Characterization, Determination of Probiotic Properties of Lactic Acid Bacteria From Human Milk. Master of Science. Izmir Institute of Technology, İzmir.
- Yetişmeyen A (1995). Süt Teknolojisi, Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakülte Yayınları, No:1420, 229s, Ankara.
- Yıldız GG, Öztürk M, Aslım B (2011). Identification of *Lactobacillus* strains from breast-fed infant and investigation of their cholesterol-reducing effects. World J Microbiol Biotechnology, 27: 2397–2406.
- Yılmaz M, Satar M, Atıcı A, Hazır M, Konar A (1996). Prematür ve matür bebek anne sütünün protein, whey proteini, yağ, laktoz, enerji içeriği. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi, 1996(39): 449-456
- Yılsay TÖ, Kurdal E (2000). “Probiyotik süt ürünlerinin beslenme ve sağlık üzerindeki etkisi, VI. Süt ve Süt Ürünleri Sempozyumu (Ed: Demirci, M.), Tekirdağ, 279-286.
- Yiğit T (2009). Süt ve Süt Ürünlerinden Probiyotik Bakterilerinin izolasyonu ve Tanımlanması. Yüksek lisans tezi. Anadolu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Yokokura T, Mutai M (1976). Penicillin resistance and its elimination by treatment with acriflavine in *Lactobacillus fermentum*. Jap. J. Microbiology, 20: 241-242.
- Yoon-Jong L, Won-Kyu Y, Tae-Ryeon H (2003). Identification and screening for antimicrobial activity against *Clostridium difficile* of *Bifidobacterium* and *Lactobacillus* species isolated from healthy infant faeces. International Journal of Antimicrobial Agents, 21: 340-346.
- Young RJ, Huffman S (2003). Probiotic use in children. J Pediatr Health Care, 17: 277-283.
- Yüksekdağ ZN, Beyatlı Y (2003). Kefir Mikroflorası ile Laktik Asit Bakterilerinin Metabolik, Antimikrobiyal ve Genetik Özellikleri. Mikrobiyoloji Dergisi, 1(2): 46-49.
- Yüksekdağ ZN, Beyatlı Y, Aslım B (2004). Determination of some characteristics coccoid forms of lactic acid bacteria isolated from Turkish kefir with natural probiotic. LWT - Food Science and Technology 37(6): 663–667.
- Yüksekdağ ZN (2005). Bazı laktik asit bakterilerinin fizyolojik, biyokimyasal plazmid DNA ve protein profil özelliklerinin incelenmesi. Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, s179, Ankara.
- Zhou JS, Pillidge CJ, Gopal PK, Gill HS (2005). Antibiotic susceptibility profiles of new probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains. Int. J. Food Microbiol., 98; 211-217.
- Zhu WM, Liu M, Wu DQ (2000). Isolation and characterization of a new bacteriocin from *Lactobacillus gasserii* KT7. J Appl Microbiology, 88: 877–886.

EKLER

EK 1 Sekans analizi sonucunda elde edilen 16S rDNA sekansları

>BF 2 nolu izolat

CGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCACAATGGACGCAAGTCTGATGGAGCAACGCCGCGTGAGT
GAAGAAGGCTTTTCGGGTCGTAAAACCTCTGTTGTTGGAGAAGAATGGTCGGCAGAGTAACTGTTGTC
GGCGTGACGGTATCCAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAG
GTGGCAAGCGTTATCCGGATTTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGGCGGTTTTTTAAGTCTGATGTG
AAA

>BF 3 nolu izolat

ACTTACCCCTAATCATCTGTCCCACCTTAGGCGGCTGGCTCCTAAAAGGTTACCCACCGACTTTGG
GTGTTACAACTCTCATGGTGTGACGGGCGGTGTGTACAAGGCCCGGGAACGTATTCACCGCGGCA
TGCTGATCCGCGATTACTAGCGATTCCGACTTCGTGCAGGCGAGTTGCAGCCTGCAGTCCGAACTG
AGAACGGTTTTAAGAGATTTGCTTGCCCTCGCGAGTTCGCGACTCGTTGTACCGTCCATTGTAGCAC
GTGTGTAGCCCAGGTCATAAGGGGCATGATGATCTGACGTCGTCCCACCTTCCTCCGGTTTGTAC
CGGCAGTCTACTAGAGTGCCCAACTTAATGCTGGCAACTAGTAACAAGGGTTGCGCTCGTTGCGG
GACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACACCATGCACCACCTGTCATTGCGTTCCCG
AAGGAAACGCCCTATCTCTAGGGTTGGCGCAAGATGTCAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTAGCT
TCGAATTAACCACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCCTTTGAGTTTCAACCTTGC
GGTCGTACTIONCCAGGCGGAGTGCTTAATGCGTTAGCTCCGGCACTGAAGGGCGGAAACCCTCCAA
C

> BF 6 nolu izolat

GGCGGTGTGTACAAGGCCCGGGAACGTATTCACCGCGGCGTGCTGATCCGCGATTACTAGCGATT
CGACTTCGTGTAGGCGAGTTGCAGCCTACAGTCCGAAGTGAAGAATGGCTTTAAGAGATTAGCTTGA
CCTCGCGGTCTCGCAACTCGTTGTACCATCCATTGTAGCACGTGTGTAGCCCAGGTCATAAGGGGC
ATGATGATTTGACGTCATCCCCACCTTCCTCCGGTTTGTACCGGCAGTCTTACTAGAGTGCCCAA
TAAATGCTGGCAACTAGTCATAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACAC
GAGCTGACGACAACCATGCACCACCTGTCATTTTGCCCCGAAGGGGAAACCTGATCTCTCAGGTG
ATCAAAAGATGTCAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAACCACATGCTCCACCG
CTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCCTTTGAGTTTCAACCTTGCGGTCGTACTIONCCAGGCGGAATGCT
TAATGCGTTAGCTGCGGCACTGAAGGGCGGAAACCCTCCAACACCTAGCATTTCATCGTTT

> **BF 7 nolu izolat**

GGGCCGTAAGGAAGCTATCCACCCCTACTATGATGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCCGGAGCTAA
CGCATTAAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGC
CCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTAATTCGAAGCTACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACA
TCTTTTGCCACCCTAGAGATAGGGTTTTTCCTTCGGGGACAAAATGACAGGTGGTGCATGGTTGTC
GTCAGCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCCGAACGAGCGCAACCCTTGTTACTAGTTGCC
AGCATTTAGTTGGGCACTCTAGTGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGACGACGTC
AAATCATCATGCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGATGGTACAACGAGTTGCGA
GATCGCGAGGGCAAGCTAATCTCTTAAAACCATTCTCAGTTCGGACTGTAGGCTGCAACTCGCCTA
CACGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCACGCCCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGT
ACACACCGCCCGTCACACCATGAGAGTTTGTAAACCCAAAGCCGGTGGGGTAACCCTTTTAGGGG
ACACGAGGCCGTCAAGGGGGGCACAAAAGAATAGGGGTAAAGTTCATCACGGGGTACCCATGAGA
AAAACCTGGCGGGTGAACCCCCCTTAATAA

> **BF 9 nolu izolat**

GTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCCGCAGCTAACGCATTAAGCATTCCGCCTGGGGAGTACGAC
CGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTAATT
CGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCTTTTGATCACCTGAGAGATCAGGTTTCCC
CTTCGGGGGCAAAAATGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTGAGTCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTAA
GTCCCCGAACGAGCGCAACCCTTATGACTAGTTGCCAGCATTTAGTTGGGCACTCTAGTAAGACTG
CCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACCTGGGCTA
CACACGTGCTACAATGGATGGTACAACGAGTTGCGAGACCGCGAGGTCAAGCTAATCTCTTAAAGC
CATTCTCAGTTCGGACTGTAGGCTGCAACTCGCCTAC

> **BF 10 nolu izolat**

GGTGTGACGGGCGGTGTGTACAAGGCCCGGAACGTATTCACCGCGGCATGCTGATCCGCGATTAC
TAGCGATTCCGACTTCGTGCAGGCGAGTTGCAGCCTGCAGTCCGAACTGAGAACGGTTTTAAGAGA
TTTGCTTGCCCTCGCGAGTTCGCGACTCGTTGTACCGTCCATTGTAGCACGTGTGTAGCCCAGGTCA
TAAGGGGCATGATGATCTGACGTGTCCTCCACCTTCTCCGGTTTGTACCCGGCAGTCTCACTAGAG
TGCCCAACTTAATGCTGGCAACTAGTAACAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCT
CACGACAGGACTGACGACGACCATGCACCACCTGTCAATTGCGTTCCCGAAGGAAACGCCCTATCT
CTAGGGTTGGCGCAAGATGTCAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTAGCTTCGAATTAACCACATG
CTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCTTTGAGTTTCAACCTTGCGGTCGTACTIONCCAGGC
GGA

> **BF 13** nolu izolat

TCCTAAAAGGTTACCCACCGACTTTGGGTGTTACAACTCTCATGGTGTGACGGGCGGTGTGTAC
AAGGCCCGGGAACGTATTCACCGCGGCATGCTGATCCGCGATTACTAGCGATTCCGACTTCGTGCA
GGCGAGTTGCAGCTGCAGTCCGAAGTGAACGGTTTTAAGAGATTTGCTTGCCCTCGCGAGTTC
GCGACTCGTTGTACCGTCCATTGTAGCACGTGTGTAGCCAGGTCATAAGGGGCATGATGATCTGA
CGTCGTCCCCACCTTCCCGTTTTGTCACCGGCAGTCTCACTAGAGTGCCCAACTTAATGCTGGCA
ACTAGTAACAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACG
ACCATGCACCACCTGTCATTGCGTTCCCGAAGGAAACGCCCTATCTCTAGGGTTGGCGCAAGATGT
CAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTAGCTTCGAATTAACACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCC
CCCGTCAATTCCTTTGAGTTTCAACCTTGCGGTCTACTCCCCAGGCGGAGT

> **BF 14** nolu izolat

TTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGCG
GTGGAGCATGTGGTTTAATTTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGCGCTTGACATCTTTCGATCA
CCTGAGAGATCAGGTTTCCCTTCGGGGGCAAATGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGT
GTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATGACTAGTTGCCAGCATTTAGT
TGGGCACTCTAGTAAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCAT
GCCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGATGGTACAACGAGGTTGCGAGACCGCGAG
GTCAAGCTAATCTCTTAAAGCCATTCTCAGTTCGGACTGTAGGCTGCAACTCGCCTACACGAAGTC
GGAATCGCTAGTAATCAGCGGATCAGCACGCCCGCGGTGAATACGTTTCCCGGGTCTTGTACACA
CCGCCCCGTCACACCAATGAGAAGTTTGTAACACCCCGAAGCCCGGTGGGCGTAACCCTTTTTAGG
GGAGCCGAGCCCGTCTAAAGTGGGGACAGAATGAA

> **BF 18** nolu izolat

TTCATGGTGTGACGGGCGGTGTGTACAAGGCCCGGGAACGTATTCACCGCGGCATGCTGATCCGC
GATTACTAGCGATTCCGACTTCGTGCAGGCGAGTTGCAGCCTGCAGTCCGAAGTGAACGGTTTT
AAGAGATTTGCTTGCCCTCGCGAGTTCGCGACTCGTTGTACCCGTCATTGTAGCACGTGTGTAGCC
CAGGTCATAAGGGGCATGATGATCTGACGTGTCCTCCACCTTCCCGTTTTGTCACCGGCAGTCTC
ACTAGAGTGCCCAACTTAATGCTGGCAACTAGTAACAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCC
AACATCTCACGACACGAGCTGACGACGACCATGCACCACCTGTCATTGCGTTCCCGAAGGAAACGC
CCTATCTCTAGGGTTGGCGCAAGATGTCAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTAGCTTCGAATTA
CCACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCGTC AATTCTTTGAGTTTCAACCTTGCGGTCTACTC
CCCAGGCGGAGTGC

> **BF 20 nolu izolat**

CCTGAGAGATCAGGTTTCCCCTTCGGGGGCAAATGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGT
GTCGTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATGACTAGTTGCCAGCATTTAGT
TGGGCACTCTAGTAAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCAT
GCCCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGATGGTACAACGAGTTGCGAGACCGCGAGG
TCAAGCTAATCTCTTAAAGCCATTCTCAGTTCCGACTGTAGGCTGCAACTCGCCTACACGAAGTCC
GGAATCGCTAGTAATCGCCGGATCAGCACGCCCCGGTGAATACGTTTCCCGGGTCCCTGTACACA
CCCGCCCCGTCACACCATTGAGAAGTTTGTAAACACCCCGAAGCCGGGTGGGCGTAACCCTTTTTAG
GGGGGCGAGCCCGCCTAAGGTGGGGACAGAATGA

> **BF 23 nolu izolat**

CTCTCATGGTGTGACGGGCGGTGTGTACAAGGCCCGGGAACGTATTCACCGCGGCATGCTGATCCG
CGATTACTAGCGATTCCGACTTCGTGCAGGCGAGTTGCAGCCTGCAGTCCGAACGAGAACGGTTT
TAAGAGATTTGCTTGCCTCGCGAGTTCGCGACTCGTTGTACCGTCCATTGTAGCACGTGTGTAGCC
CAGGTCATAAGGGGCATGATGATCTGACGTTCGTCACCTTCCCTCCGGTTTGTACCGGCAGTCTC
ACTAGAGTGCCCAACTTAATGCTGGCAACTAGTAACAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCC
AACATCTCACGACACGAGCTGACGACGACCATGCACCACCTGTCATTGCGTTCCCGAAGGAAACGC
CCTATCTCTAGGGTTGGCGCAAGATGTCAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTAGCTTCGAATTA
CCACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCGTC AATTCTTTGAGTTTCAACCTTGCGGTCGTA
CTC
CCCAGGCGGAGTGCTTAATGCGTTAGCTCCGGCACTGAAGGGCGGAAACCCTCCAACACCTAGCAC
TCATCGTTTACGGCAT

> **BF 24 nolu izolat**

GCTTCGGGTGTTACAACCTCATGGTGTGACGGGCGGTGTGTACAAGGCCCGGGAACGTATTCACC
GCGGCGTGCTGATCCGCGATTACTAGCGATTCCGACTTCGTGTAGGCGAGTTGCAGCCTACAGTCC
GAACTGAGAATGGCTTTAAGAGATTAGCTTGACCTCGCGGTCTCGCAACTCGTTGTACCATCCATT
GTAGCACGTGTGTAGCCCAGGTCATAAGGGGCATGATGATTTGACGTCATCCCCACCTCCTCCGG
TTTGTACCGGCAGTCTTACTAGAGTGCCCAACTAAATGCTGGCAACTAGTCATAAGGGTTGCGCT
CGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCATGCACCACCTGTCATTT
TGCCCCGAAGGGGAAACCTGATCTCTCAGGTGATCAAAGATGTCAAGACCTGGTAAGGTTCTTC
GCGTTGCTTCGAATTAACCATGCTCC

> **BF 25** nolu izolat

GGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAG
CAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCTTTTGATCACCTGAGAGATCAGGTTTCCCCTTCGG
GGG

> **BF 26** nolu izolat

GCAGCTAACGCATTAAGCATTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTG
ACGGGGGCCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAG
GTCTTGACATCTTTTGATCACCTGAGAGATCAGGTTTCCCCTTCGGGGGCAAAATGACAGGTGGTG
CATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATG
ACTAGTTGCCAGCATTTAGTTGGGCACTCTAGTAAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGG
GGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGATGGTACAA
CGAGTTGCGAGACCGCGAGGTCAAGCTAATCTCTTAAAGCCATTCTCAGTTCGGACTGTAGGCTGC
AACTCGCCTACACGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCACGCCGCGGTGAATACGTTCC
CGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACCA

> **BF 27** nolu izolat

CCTAAAAGGTTACCCACCGACTTTGGGTGTTACAAACTCTCATGGTGTGACGGGCGGTGTGTACA
AGGCCCGGGAACGTATTCACCGCGCATGCTGATCCGCGATTACTAGCGATTCCGACTTCGTGCAG
GCGAGTTGCAGCCTGCAGTCCGAAGTGAAGACGGTTTTAAGAGATTTGCTTGCCCTCGCGAGTTCCG
CGACTCGTTGTACCGTCCATTGTAGCACGTGTGTAGCCCAGGTCATAAGGGGCATGATGATCTGAC
GTCGTCCCCACCTTCTCCGGTTTGTACCGGCAGTCTCACTAGAGTGCCCAACTTAATGCTGGCAA
CTAGTAACAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACGA
CCATGCACCACCTGTCATTGCGTTCCCGAAGGAAACGCCCTATCTCTAGGGTTGGCGCAAGATGTC
AAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTAGCTTCGAATTAACCACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCC
CCGTCAATTCCTTTGAGTTTCAACCTTGCGGTGCTACTCCCCAGGCGGAGTGCTTAATGCGTTAGCT
CCGGCACTGAAGGGCGGAAACCCTCCAACA

> **BF 29 nolu izolat**

GATTGATGGTGCTTGCACCTGATTGATTTTGGTCGCCAACGAGTGGCGGACGGGTGAGTAACACGT
AGGTAACCTGCCCAGAAGCGGGGGACAACATTTGGAAACAGATGCTAATACCGCATAACAGCGTT
GTTCGCATGAACAACGCTTAAAAGATGGCTTCTCGCTATCACTTCTGGATGGACCTGCGGTGCATT
AGCTTGTTGGTGGGGTAACGGCCTACCAAGGCGATGATGCATAGCCGAGTTGAGAGACTGATCGG
CCACAATGGGACTGAGACACGGCCATACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCACAAT
GGGCGCAAGCCTGATGGAGCAACACCGCGTGAGTGAAGAAGGGTTTCGGCTCGTAAAGCTCTGTT
GTAAAGAAGAACACGTATGAGAGTAACTGTTTCATACGTTGACGGTATTTAACCAGAAAGTCACGG
CTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGATTTATTGGGCGTA
AAGAGAGTGCAGGCGGTTTTCTAAGTCTGATGTGAAAGCCTTCGGCTTAACCGGA

> **BF 31 nolu izolat**

AAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTTCGAAGCAACGCGAAGA
ACCTTACCAGGTCTTGACATCTTTTGATCACCTGAGAGATCAGGTTTCCCCTTCGGGGGCAAATGA
CGGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAGATGTTGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCA
ACCCTTATGACTAGTTGCCAGCATTTAGTTGGGCACTCTAGTAAGACTGCCGGTGACAAACCGGAG
GAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGA
TGGTACAACGAGTTGCGAGACCGCGAGGTCAAGCTAATCTCTTAAAGCCATTCTCAGTTCGGACTG
TAGGCTGCAACTCGCTACACGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCAGCCGCGGTGA
ATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGAGAGTTTGTAACACCCGAAGCCGGT
GGCGTAACCCTTTTAGGGAGCGAGCCGTCTAAGGTGGGACAGATG

> **BF 32 nolu izolat**

CTCTCATGGTGTGACGGGCGGTGTGTACAAGGCCCGGGAACGTATTCACCGCGGCATGCTGATCCG
CGATTACTAGCGATTCCGACTTCGTGCAGGCGAGTTGCAGCCTGCAGTCCGAAGTGAACGTTTT
TAAGAGATTTGCTTGCCCTCGCGAGTTCGCGACTCGTTGTACCGTCCATTGTAGCACGTGTGTAGCC
CAGGTCATAAGGGGGCATGGATGAATTCTGACGTCGTCCCCACCCTTCTCCGGGTTTGTACCCGG
GCAGTCTCACTAGAGGTGCCCAACTTAAATGCTGGGCAACTAAGTAACAAAGGGGTTGGCGCTCCG
GTTGCGGGAACCTTAACCCAAACATTCTCACGGACAACCGAGCTGGGACGACCAATGCCACCC
CACCTGGGTCATTGGGCGTTCCCCGAAAGGGAAAACGCCCTTTATCTCTTAAAGGGTTGGGGCGCAA
GAAATGTCAAGACCCTGGGGTAAGGTTTCTTTCGGCGTAAGCTTTCCCGAATTA AAAACCAATG
CCTCCCACCCGGCTTTGTTG

> **BF 34 nolu izolat**

GGTGCTTGCACCTGATTGATTTTGGTCGCCAACGAGTGGCGGACGGGTGAGTAACACGTAGGTAAC
CTGCCCAGAAGCGGGGACAACATTTGAAACAGATGCTAATACCGCATAACAACGTTGTTTCGCAT
GAACAACGCTTAAAAGATGGCTTCTCGCTATCACTTCTGGATGGACCTGCGGTGCATTAGCTTGTTG
GTGGGGTAACGGCCTACCAAGGCGATGATGCATAGCCGAGTTGAGAGACTGATCGGCCACAATGG
GACTGAGACACGGCCATACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCACAATGGGCGCAAG
CCTGATGGAGCAACACCGCGTGAGTGAAGAAGGGTTTCGGCTCGTAAAGCTCTGTTGTTAAAGAAG
AACACGTATGAGAGTAACTGTTTCATACGTTGACGGTATTTAACC

> **BF 35 nolu izolat**

GTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCCGCAGCTAACGCATTAAGCATTCCGCCTGGGGAGTACGAC
CGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATT
CGAAGCAACGCGAAGAACCCTTACCAGGTCTTGACATCTTTTGATCACCTGAGAGATCAGGTTTCCC
CTTCGGGGGCAAAATGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTGAGTCTCGTGCAGTGTGAGATGTTGGGTTAA
GTCCCACAACGAGCGCAACCCTTATGACTAGTTGCCAGCATTTAGTTGGGCACTCTAGTAAGACTG
CCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACCTGGGCTA
CACACGTGCTACAATGGATGGTACAACGAGTTGCGA

> **BF 37 nolu izolat**

TGATGGTGCTTGCACCTGATTGATTTTGGTCGCCAACGAGTGGCGGACGGGTGAGTAACACGTAGG
TAACCTGCCCAGAAGCGGGGACAACATTTGAAACAGATGCTAATACCGCATAACAGCGTTGTTC
GCATGAACAACGCTTAAAAGATGGCTTCTCGCTATCACTTCTGGATGGACCTGCGGTGCATTAGCT
TGTTGGTGGGGTAACGGCCTACCAAGGCGATGATGCATAGCCGAGTTGAGAGACTGATCGGCCAC
AATGGGACTGAGACACGGCCATACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCACAATGGGC
GCAAGCCTGATGGAGCAACACCGCGTGAGTGAAGAAGGGTTTCGGCTCGTAAAGCTCTGTTGTTAA
AGAAGAACACGTATGAGAGTAACTGTTTCATACGTTGACGGTATTTAACCAGAAAGTCACGGCTAAC
TACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGATTTATTGGGCGTAAAGAG
AGTGCAGGCGGTTTTCTAAGTCTGATGTGAAAGCCTTCGGCTTAACCGGAGAAGTGCATCGGAAAC
TGGATAACTTGAGTGCAGAAGAGGGTAGTGGAACCTCATGTGTA

> **BF 38 nolu izolat**

AATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCTGAAGCAACGCGAAGAACCCTT
ACCAGGTCTTGACATCTTTTGATCACCTGAGAGATCAGGTTTCCCCTTCGGGGGCAAATGACGGG
TGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCC
TTATGACTAGTTTGCCAGCATTTAGTTGGGCACTCTAGGTAAGACTGCCGGCTGACAAACCGGCAG
GAAGGTGCGGGATGACGATCAGATCATCATGCCCCCTTATGA

> **BF 41 nolu izolat**

TTCATGGTGTGACGGGCGGTGTGTACAAGGCCCGGGAACGTATTCACCGCGGCATGCTGATCCGC
GATTACTAGCGATTCCGACTTCGTGCAGGCGAGTTGCAGCCTGCAGTCCGAAGTGAAGACGGTTTT
AAGAGATTTGCTTGCCCTCGCGAGTTCGCGACTCGTTGTACCGTCCATTGTAGCACGTGTGTAGCCC
AGGTCATAAGGGGCATGATGATCTGACGTCGTCCCCACCTTCCTCCGTTTTGTCACCGGCAGTCTCA
CTAGAGTGCCCAACTTAATGCTGGCAACTAGTAACAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCA
ACATCTCACGACACGAGCTGACGACGACCATGCACCACCTGTCATTGCGTTCCCGAAGGAAACGCC
CTATCTCTAGGGTTGGCGCAAGATGTCAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTAGCTTCGAATTAAAC
CACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCGTC AATTCTTTGAGTTTCAACCTTGCGGTCTGACTCC
CCAGGCGGAGTGCTTAATGCGTTAGCTCCGGCACTGAAGGGCGGAAACCCTCCAACACCTAGCACT
CATCGTTTACGGCATGGACTA

> **BF 44 nolu izolat**

TGGCGGACGGGTGAGTAACACGTAGGTAACCTGCCAGAAAGCGGGGACAACATTTGGAAACAGA
TGCTAATACCGCATAACAGCGTTGTTTCGCATGAACAACGCTTAAAAGATGGCTTCTCGCTATCACTT
CTGGATGGACCTGCGGTGCATTAGCTTGTGGTGGGGTAACGGCCTACCAAGGCGATGATGCATAG
CCGAGTTGAGAGACTGATCGGCCACAATGGGACTGAGACACGGCCATACTCCTACGGGAGGCAG
CAGTAGGGAATCTTCCACAATGGGCGCAAGCCTGATGGAGCAACACCGCGTGAGTGAAGAAGGGT
TTCGGCTCGTAAAGCTCTGTTGTTA

> **BF 47 nolu izolat**

CATTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAG
CGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCTTTTGAT
CACCTGAGAGATCAGGTTTCCCCTTCGGGGGCAAATGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTC
GTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATGACTAGTTGCCAGCATTTA
GTTGGGCACTCTAGTAAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATC
ATGCCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGATGGTACAACGAGTTGCGAGACCGCGA
GGTCAAGCTAATCTCTTAAAGCCATTCTCAGTTCGGACTGTAGGCTGCAACTCGCCTACACGAAGT
CGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCACGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCG
CCCGTCACACCATGAGAG

> **BF 53 nolu izolat**

TTCATGGTGTGACGGGCGGTGTGTACAAGGCCCGGGAACGTATTCACCGCGGCATGCTGATCCGC
GATTACTAGCGATTCCGACTTCGTGCAGGCGAGTTGCAGCCTGCAGTCCGAACTGAGAACGGTTTT
AAGAGATTTGCTTGCCCTCGCGAGTTCGCGACTCGTTGTACCGTCCATTGTAGCACGTGTGTAGCCC
AGGTCATAAGGGGCATGATGATCTGACGTCGTCCCCACCTTCCTCCGGTTTTGTCACCGGCAGTCTCA
CTAGAGTGCCCAACTTAATGCTGGCAACTAGTAACAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCA
ACATCTCACGACACGAGCTGACGACGACCATGCACCACCTGTCATTGCGTTCCCGAAGGAAACGCC
CTATCTCTAGGGTTGGCGCAAGATGTCAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTAGCTTCGAATTAAC
CACATGCTCCCACCGCTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCTTTGAGTTTCAACCTTGCGGTCGTACTC
CCCAGGCGGAG

> **BF 55 nolu izolat**

AACTCTCATGGTGTGACGGGCGGTGTGTACAAGGCCCGGGAACGTATTCACCGCGGCGTGCTGATC
CGCGATTACTAGCGATTCCGACTTCGTGTAGGCGAGTTGCAGCCTACAGTCCGAACTGAGAATGGC
TTTAAGAGATTAGCTTGACCTCGCGGTCTCGCAACTCGTTGTACCATCCATTGTAGCACGTGTGTAG
CCCAGGTCATAAGGGGCATGATGATTTGACGTCATCCCCACCTTCCTCCGGTTTTGTCACCGGCAGTC
TTACTAGAGTGCCCAACTAAATGCTGGCAACTAGTCATAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAAC
CCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCATGCACCACCTGTCATTTGCCCCGAAGGGGAA
ACCTGATCTCTCAGGTGATCCAAAGATGTCAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTA
CCACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGGCCCGTCAATTCTTTGA

> **BF 56 nolu izolat**

CGGCTTCGGGTGTTACAAACTCTCATGGTGTGACGGGCGGTGTGTACAAGGCCCGGGAACGTATTC
ACCGCGGCGTGCTGATCCGCGATTACTAGCGATTCCGACTTCGTGTAGGCGAGTTGCAGCCTACAG
TCCGAACTGAGAATGGCTTTAAGAGATTAGCTTGACCTCGCGGTCTCGCAACTCGTTGTACCATCC
ATTGTAGCACGTGTGTAGCCCAGGTCATAAGGGGCATGATGATTTGACGTCATCCCCACCTTCCTCC
GGTTTGTACCCGGCAGTCTTACTAGAGTGCCCAACTAAATGCTGGCAACTAGTCATAAGGGTTGCG
CTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCATGCACCACCTGTCAT
TTTGCCCCCGAAGGGGAAACCTGATCTCTCAGGTGATCAAAGATGTCAAGACCTGGTAAGGTTCT
TCGCGTTGCTTCGAATTAACACATGCTCCACCGCTTGTCGGGGCCCCCGTCAATTCCTTTGAGTT
TCAACCTTGCGGTCTACTCCCCAGGCGGAATGCTTAATGCGTTAGCTGCGGCACTGAAGGGCGGA
AACCTCCAACACCTAGCATTTCATCGTTT

> **BF 57 nolu izolat**

GTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGG
TTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCTTTTGATCACCTGAGAGATCAG
GTTTCCCCTTCGGGGGCAAATGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCTGAGATGTT
GGGTTAAGTCCC CGCAACGAGCGCAACCCTTATGACTAGTTGCCAGCATTTAGTTGGGCACTCTAGT
AAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACC
TGGGCTACACACGTGCTACAATGGATGGTACAACGAGTTGCGAGACCGCGAGGTCAAGCTAATCTC
TTAAAGCCATTCTCAGTTCGGACTGTAGGCTGCAACTCGCCTACACGAAGTCGGAATCGCTAGTAA
TCGCGGATCAGCACGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCCGTCACACCATGA
GAG

> **BF 59 nolu izolat**

GAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGAGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGT
GGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCTTTTGATCACCTGAGAGATC
AGGTTTCCCCTTCGGGGGCAAATGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCTGAGATG
TTGGGTTAAGTCCC CGCAACGAGCGCAACCCTTATGACTAGTTGCCGGCATTAGTTGGGCACTCTA
GTAAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGA
CCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGATGGTACAACGAGTTGCGAGACCGCGAGGTCAAGCTAAT
CTCTTAAAGCCATTCTCAGTTCGGACTGTAGGCTGCAACTCGCCTACACGAAGTCGGAATCGCTAG
TAATCGCGGATCAGCACGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCCGTCACACCA
TGAGAGTTTGTAACACCCGAAGCCGGTGGCGTAACCCTTTTAGGGAGCGAGCCGTCTAAGGTGGGA
CAGATGA

> **BF 61 nolu izolat**

GGCTCGCTCCCTAAAAGGGTTACGCCACCGGCTTCGGGTGTTACAAACTCTCATGGTGTGACGGGC
GGTGTGTACAAGGCCCGGGAACGTATTCACCGCGGCGTGCTGATCCGCGATTACTAGCGATTCCGA
CTTCGTGTAGGCGAGTTGCAGCCTACAGTCCGAAGTGAAGATGGCTTTAAGAGATTAGCTTGACCT
CGCGGTCTCGCAACTCGTTGTACCATCCATTGTAGCACGTGTGTAGCCCAGGTCATAAAGGGGCATG
ATGATTTGACGTCATCCCCACCTTCTCCGGTTTGTACCGGCAGTCTTACTAGAGTGCCCAACTAA
ATGCTGGCAACTAGTCATAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAG
CTGACGACAACCATGCACCACCTGTCAATTTGCCCCCGAAGGGGAAACCTGATCTCTCAGGTGATC
AAAAGATGTCAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAACACATGCTCCACCGCTT
GTGCGGGGCCCCCGTCAATTCCTTTGAGTTTCAACCTTGCGGTCGTACTIONCCCCAGGCGGAA

> **BF 62 nolu izolat**

CTCTCATGGTGTGACGGGCGGTGTGTACAAGGCCCGGGAACGTATTCACCGCGGCGTGCTGATCCG
CGATTACTAGCGATTCCGACTTCGTGTAGGCGAGTTGCAGCCTACAGTCCGAAGTGAAGATGGCTT
TAAGAGATTAGCTTGACCTCGCGGTCTCGCAACTCGTTGTACCATCCATTGTAGCACGTGTGTAGCC
CAGGTCATAAAGGGGCATGATGATTTGACGTCATCCCCACCTTCTCCGGTTTGTACCGGCAGTCTT
ACTAGAGTGCCCAACTAAATGCTGGCAACTAGTCATAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCC
AACATCTCACGACAGGCTGACGACAACCATGCACCACCTGTCAATTTGCCCCCGAAGGGGAAAC
CTGATCTCTCAGGTGATCAAAAGATGTCAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTA
CCACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCCTTTGAGTTTCAACCTTGCGGTCGTACTION
CCCAGGCGGAATGCTTAATGCGTTAGCTGCGGCACTGAAGGGCGGAAACCTCCAACACCTAGCAT
TCATC

> **BF 68 nolu izolat**

TGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCCGCAGCTAACGCATTAAGCATTCCGCCTGGGGAGTACGA
CCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAAAT
TCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCTTTTGATCACCTGAGAGATCAGGTTTCC
CCTTCGGGGGCAAAATGACAGGTGGTGCATGGTTGTGTCGTCAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTA
AGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATGACTAGTTGCCAGCATTTAGTTGGGCACTCTAGTAAGACT
GCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACCTGGGCT
ACACACGTGCTACAATGGATGGTACAACGAGTTGCGAGACCGCGAGGTCAAGCTAATCTCTTAAA
GCCATTCTCAGTTCGGACTGTAGGCTGCAACTCGCCTACACGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGCG
GATCAGCACGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTACACCATGAGAGTT
TGTAACACCCGAAGCCGGTGGCGTAACCCTTTTAGGGAGCGAGCCGTCTAAGGTGGGACAGATG

> **BF 69 nolu izolat**

AAAAGGGTTACGCCACCGGCTTCGGGTGTTACAACTCTCATGGTGTGACGGGCGGTGTGTACAAG
GCCCAGGAACGTATTCACCGCGGCGTGCTGATCCGCGATTACTAGCGATTCCGACTTCGTGTAGGC
GAGTTGCAGCCTACAGTCCGAAGTGAAGAATGGCTTTAAGAGATTAGCTTGACCTCGCGGTCTCGCA
ACTCGTTGTACCATCCATTGTAGCACGTGTGTAGCCCAGGTCATAAGGGGCATGATGATTTGACGT
CATCCCCACCTTCCTCCGGTTTGTACCGGCAGTCTTACTAGAGTGCCCAACTAAATGCTGGCAACT
AGTCATAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACC
ATGCCACCTGTCAATTTGCCCCGAAGGGGAAACCTGATCTCTCAGGTGATCAAAAGATGTCAA
GACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAACCACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCCG
TCAATTCCTTTGAGTTTCAACCTGCGGTGCTACTCCCCAGGCGGAATGCTTAATGCGTTAGCTGCG
GCACTGAAGGGCGGAAACCC

> **BF 70 nolu izolat**

CGCTCCCTAAAAGGGTTACGCCACCGGCTTCGGGTGTTACAACTCTCATGGTGTGACGGGCGGTG
TGTACAAGGCCCGGAACGTATTCACCGCGGCGTGCTGATCCGCGATTACTAGCGATTCCGACTT
CGTGTAGGCGAGTTGCAGCCTACAGTCCGAAGTGAAGAATGGCTTTAAGAGATTAGCTTGACCTCGC
GGTCTCGCAACTCGTTGTACCATCCATTGTAGCACGTGTGTAGCCCAGGTCATAAGGGGCATGATG
ATTTGACGTCATCCCCACCTTCCTCCGGTTTGTACCGGCAGTCTTACTAGAGTGCCCAACTAAATG
CTGGCAACTAGTCATAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTG
ACGACAACCATGCACCACCTGTCAATTTGCCCCGAAGGGGAAACCTGATCTCTCAGGTGATCAAA
AGATGTCAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAACCACATGCTCCACCGCTTGTGC
GGGCCCCCGTCAATTCCTTTGAGTTTCAACCTGCGGTGCTACTCCCCAGGCGGAATGCTTAATGCG
TTAGCTGCGGC

> **BF 73 nolu izolat**

TCGCTCCCTAAAAGGGTTACGCCACCGGCTTCGGGTGTTACAACTCTCATGGTGTGACGGGCGG
TGTGTACAAGGCCCGGAACGTATTCACCGCGGCGTGCTGATCCGCGATTACTAGCGATTCCGACT
TCGTGTAGGCGAGTTGCAGCCTACAGTCCGAAGTGAAGAATGGCTTTAAGAGATTAGCTTGACCTCG
CGGTCTCGCAACTCGTTGTACCATCCATTGTAGCACGTGTGTAGCCCAGGTCATAAGGGGCATGAT
GATTTGACGTCATCCCCACCTTCCTCCGGTTTGTACCGGCAGTCTTACTAGAGTGCCCAACTAAAT
GCTGGCAACTAGTCATAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCT
GACGACAACCATGCACCACCTGTCAATTTGCCCCGAAGGGGAAACCTGATCTCTCAGGTGATCAA
AAGATGTCAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAACCACATGCTCCACCGCTTGTG
CGGGCCCCCGTCAATTCCTTTGAGTTTCAACCTGCGGTGCTACTCCCCAGGCGGAATGCTTAATGC
GTTAGCTGCGGCACTGAAGGGCGGAAACCCTCAA

> **BF 74 nolu izolat**

GGTTTCCGCCCTTCAGTGCCGCAGCTAACGCATTAAGCATTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGG
TTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCA
ACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCTTTTGATCACCTGAGAGATCAGGTTTTCCCTTCGGG
GGCAAATGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGC
AACGAGCGCAACCCTTATGACTAGTTGCCAGCATTTAGTTGGGCACTCTAGTAAGACTGCCGGTGA
CAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACCTGGGCTACACACGT
GCTACAATGGATGGTACAACGAGTTGCGAGACCGCGAGGTCAAGCTAATCTCTTAAAGCCATTCTC
AGTTCGGACTGTAGGCTGCAACTCGCCTACACGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCAC
GCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGAGAGTT

> **BF 75 nolu izolat**

ACTTCATGGTGTGACGGGCGGTGTGTACAAGGCCCGGAACGTATTCACCGCGGCATGCTGATCC
GCGATTACTAGCGATTCCGACTTCGTGCAGGCGAGTTGCAGCCTGCAGTCCGAACTGAGAACGGTT
TTAAGAGATTTGCTTGCCCTCGCGAGTTCGCGACTCGTTGTACCGTCCATTGTAGCACGTGTGTAGC
CCAGGTCATAAGGGGCATGATGATCTGACGTCGTCACCTTCCTCCGGTTTGTACCGGCAGTCT
CACTAGAGTGCCCAACTAATGCTGGCAACTAGTAACAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACC
CAACATCTCACGACACGAGCTGACGACGACCATGCACCACCTGTCATTGCGTTCCCGAAGGAAACG
CCCTATCTCTAGGGTTGGCGCAAGATGTCAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTAGCTTCGAATTAA
ACCACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCGTCAATTCCTTTGAGTTTCAACCTTGCGGTGCTACT
CCCCAGGCGGAGTGCTTAATGCGTTAGCTCCGGCACTGAAGGGCGGAAACCCTCCAACACCTAGCA
CTCATCGTTTACGGCAT

> **BF 76 nolu izolat**

TAGACGGCTCGCTCCCTAAAAGGGTTACGCCACCGGCTTCGGGTGTTACAAACTCTCATGGTGTGA
CGGGCGGTGTGTACAAGGCCCGGAACGTATTCACCGCGGCGTGTGATCCGCGATTACTAGCGAT
TCCGACTTCGTGTAGGCGAGTTGCAGCCTACAGTCCGAACTGAGAATGGCTTTAAGAGATTAGCTT
GACCTCGCGGTCTCGCAACTCGTTGTACCATCCATTGTAGCACGTGTGTAGCCCAGGTCATAAGGG
GCATGATGATTTGACGTCATCCCCACCTTCCTCCGGTTTGTACCGGCAGTCTTACTAGAGTGCCCA
ACTAAATGCTGGCAACTAGTCATAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGAC
ACGAGCTGACGACAACCATGCACCACCTGTCATTTTGCSCCGAAGGGGAAACCTGATCTCTCAGG
TGATCAAAAGATGTCAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAACACATGCTCCAC
CGCTTGTGCGGGCCCCGTCAATTCCTTTGAGTTTCAACCTTGCGGTGCTACTCCCCAGGCGGAATG
CTTAATGCGTTAGCTGCGGCACTGAAGGGCGGAAACCCTCC

> **BF 77 nolu izolat**

GGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCAT
GTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCTTTTGATCACCTGAGAGA
TCAGGTTTCCCCTTCGGGGGCAAATGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCTGTGAGA
TGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATGACTAGTTGCCAGCATTAGTTGGGCACTCT
AGTAAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATG
ACCTGGGCTACACACGTGTACAATGGATGGTACAACGAGTTGCGAGACCGCGAGGTCAAGCTAA
TCTCTTAAAGCCATTCTCAGTTCGGACTGTAGGCTGCAACTCGCCTACACGAAGTCGGAATCGCTA
GTAATCGCGGATCAGCACGCCGCGGTGAATACGTTCCCAGG

> **BF 78 nolu izolat**

CTCTCATGGTGTGACGGGCGGTGTGTACAAGGCCCGGGAACGTATTCACCGCGGCGTGCTGATCCG
CGATTACTAGCGATTCCGACTTCGTGTAGGCGAGTTGCAGCCTACAGTCCGAAGTGAAGAATGGCTT
TAAGAGATTAGCTTGACCTCGCGGTCTCGCAACTCGTTGTACCATCCATTGTAGCACGTGTGTAGCC
CAGGTCATAAGGGGCATGATGATTTGACGTCATCCCCACCTTCTCCGGTTTGTACCGGCAGTCTT
ACTAGAGTGCCCAACTAAATGCTGGCAACTAGTCATAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCC
AACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCATGCACCACCTGTCAATTTGCCCCGAAGGGGAAAC
CTGATCTCTCAGGTGATCAAAAGATGTCAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTA
CCACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCTTTGAGTTTCAACCTTGCGGTCGTA
CTC
CCCAGGCGGAATGCTTAATGCGTTAGCTGCGGCACTGAAGGGCGGAAACCTCCAACACCTAGCAT
TCATCG

> **BF 80 nolu izolat**

CTCTCATGGTGTGACGGGCGGTGTGTACAAGGCCCGGGAACGTATTCACCGCGGCGTGCTGATCCG
CGATTACTAGCGATTCCGACTTCGTGTAGGCGAGTTGCAGCCTACAGTCCGAAGTGAAGAATGGCTT
TAAGAGATTAGCTTGACCTCGCGGTCTCGCAACTCGTTGTACCATCCATTGTAGCACGTGTGTAGCC
CAGGTCATAAGGGGCATGATGATTTGACGTCATCCCCACCTTCTCCGGTTTGTACCGGCAGTCTT
ACTAGAGTGCCCAACTAAATGCTGGCAACTAGTCATAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCC
AACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCATGCACCACCTGTCAATTTGCCCCGAAGGGGAAAC
CTGATCTCTCAGGTGATCAAAAGATGTCAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTA
CCACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCTTTGAGTTTCAACCTTGCGGTCGTA
CTC
CCCAGGCGGAATGCTTAATGCGTTAGCTGCGGCACTGAAGGGCGGAAACCTCCAACACCTAGCAT
TCATCGTTTACGG

> **BF 86 nolu izolat**

CTCATGGTGTGACGGGCGGTGTGTACAAGGCCCGGGAACGTATTCACCGCGGCGTGCTGATCCGCG
ATTACTAGCGATTCCGACTTCGTGTAGGCGAGTTGCAGCCTACAGTCCGAACTGAGAATGGCTTTA
AGAGATTAGCTTGACCTCGCGGTCTCGCAACTCGTTGTACCATCCATTGTAGCACGTGTGTAGCCCA
GGTCATAAGGGGCATGATGATTTGACGTCATCCCCACCTTCCTCCGGTTTGTACCGGCAGTCTTAC
TAGAGTGCCCAACTAAATGCTGGCAACTAGTCATAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAA
CATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCATGCACCACCTGTCATTTTGCCCCGAAGGGGAAACCT
GATCTCTCAGGTGATCAAAAGATGTCAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAACC
ACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCCTTTGAGTTTCAA

> **BF 89 nolu izolat**

GGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGC
ATGTGGTTTAATTGCAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCTTTTGATCACCTGAGA
GATCAGGTTTCCCCTTCGGGGGCAAATGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCTGTA
GATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATGACTAGTTGCCAGCATTTAGTTGGGCAC
TCTAGTAAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTT
ATGACCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGATGGTACAACGAGTTGCGAGACCGCGAGGTCAAGC
TAATCTCTTAAAGCCATTCTCAGTTCGGACTGTAG
GCTGCAACTC

> **BF 92 nolu izolat**

GGTGTGTACAAGGCCCGGGAACGTATTCACCGCGGCGTGCTGATCCGCGATTACTAGCGATTCCGA
CTTCGTGTAGGCGAGTTGCAGCCTACAGTCCGAACTGAGAATGGCTTTAAGAGATTAGCTTGACCT
CGCGGTCTCGCAACTCGTTGTACCATCCATTGTAGCACGTGTGTAGCCCAGGTCATAAGGGGCATG
ATGATTTGACGTCATCCCCACCTTCCTCCGGTTTGTACCGGCAGTCTTACTAGAGTGCCCAACTAA
ATGCTGGCAACTAGTCATAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAG
CTGACGACAACCATGCACCACCTGTCATTTTGCCCCGAAGGGGAAACCTGATCTCTCAGGTGATC
AAAAGATGTCAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAACCACATGCTCCACCGCTT
GTGCGGGCCCCCGTCAATTCCTTTGAGTTTCAACCTTGCGGTCGTA TCCCCAGGCGGAATGCTTAA
TGCCTTAGCTGCGGCACTGAAGGGCGGAAACCTCCAACACCTAGCATTATCGTTTACGG

> **BF 96 nolu izolat**

CCGGCTTCGGGTGTTACAAACTCTCATGGTGTGACGGGCGGTGTGTACAAGGCCCGGGAACGTATT
CACCGCGGCGTGCTGATCCGCGATTACTAGCGATTCCGACTTCGTGTAGGCGAGTTGCAGCCTACA
GTCCGAACTGAGAATGGCTTTAAGAGATTAGCTTGACCTCGCGGTCTCGCAACTCGTTGTACCATC
CATTGTAGCACGTGTGTAGCCCAGGTCATAAGGGGCATGATGATTTGACGTCATCCCCACCTTCCTC
CGGTTTGTACCGGCAGTCTTACTAGAGTGCCCAACTAAATGCTGGCAACTAGTCATAAGGGTTGC
GCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCATGCACCACCTGTCA
TTTTGCCCCGAAGGGGAAACCTGATCTCTCAGGTGATCAAAGATGTCAAGACCTGGTAAGGTTC
TTCGCGTTGCTTCGAATTAACCACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCCTTTGAGT
TTCAACCTTGCGGTGCTACTCCCCAGGCGGAATGCTTAATGCGTTAGCTGCGGCACTGAAGGGCGG
AAACCCTCCAACACCTAGCATTTCATCGTTTACGG

> **BF 97 nolu izolat**

AGATCCAAGAACCGCATGGTTCTTGGCTGAAAGATGGCGTAAGCTATCGCTTTTGGATGGACCCGC
GGCGTATTAGCTAGTTGGTGAGGTAATGGCTCACCAAGGCGATGATACGTAGCCGAACTGAGAGG
TTGATCGGCCACATTGGGACTGAGACACGGCCCAAACCTCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCT
TCCACAATGGACGCAAGTCTGATGGAGCAACGCCGCGTGAGTGAAGAAGGCTTTCGGGTCGTA
AAACTCTGTTGTTGGA

> **BF 99 nolu izolat**

AGGCCCGGGAACGTATTCACCGCGGCGTGCTGATCCGCGATTACTAGCGATTCCGACTTCGTGTAG
GCGAGTTGCAGCCTACAGTCCGAACTGAGAATGGCTTTAAGAGATTAGCTTGACCTCGCGGTCTCG
CAACTCGTTGTACCATCCATTGTAGCACGTGTGTAGCCCAGGTCATAAGGGGCATGATGATTTGAC
GTCATCCCCACCTTCCTCCGGTTTGTACCGGCAGTCTTACTAGAGTGCCCAACTAAATGCTGGCAA
CTAGTCATAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAA
CCATGCACCACCTGTCATTTTGCCCCGAAGGGGAAACCTGATCTCTCAGGTGATC

> **BF 100 nolu izolat**

TAGACGGCTCGCTCCCTAAAAGGGTTACGCCACCGGCTTCGGGTGTTACAAACTCTCATGGTGTGA
CGGGCGGTGTGTACAAGGCCCGGGAACGTATTCACCGCGGCGTGTGATCCGCGATTACTAGCGAT
TCCGACTTCGTGTAGGCGAGTTGCAGCCTACAGTCCGAAGTGAATGGCTTTAAGAGATTAGCTT
GACCTCGCGGTCTCGCAACTCGTTGTACCATCCATTGTAGCACGTGTGTAGCCCAGGTCATAAGGG
GCATGATGATTTGACGTCATCCCCACCTTCCCGGTTTGTACCGGCAGTCTTACTAGAGTGCCCA
ACTAAATGCTGGCAACTAGTCATAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGAC
ACGAGCTGACGACAACCATGCACCACCTGTCATTTTGCSCCGAAGGGGAAACCTGATCTCTCAGG
TGATCAAAAGATGTCAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAACACATGCTCCAC
CGCTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCCTTTGAGTTTCAACCTTGCGGTGCTACTCCCCAGGCGGAATG
CTTAATGCGTTAGCTGCGGCACTGAAGG

> **BF 102 nolu izolat**

GTGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCCGCAGCTAACGCATTAAGCATTCCGCCTGGGGAGTACG
ACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAA
TTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCTTTTGATCACCTGAGAGATCAGGTTTC
CCCTTCGGGGGCAAATGACAGGTGGTGCATGGTTGTGTCGTCAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTT
AAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATGACTAGTTGCCAGCATTAGTTGGGCACTCTAGTAAGAC
TGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACCTGGGCT
ACACACGTGCTACAATGGATGGTACAACGAGTTGCGAGACCGCGAGGTCAAGCTAATCTCTTAAA
GCCATTCTCAGTTCGGACTGTAGGCTGCAACTCGCCTACACGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGCG
GATCAGCACGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTACACCATGAGAGTT
TGTAACACCCGAAGCCGGTGGCGTAACCCTTTTAGGGAGCGAGCCGTCTAAGG

> **BF 105 nolu izolat**

CTTAGGCGGCTGGCTCCTAAAAGGGTTACCCACCGACTTTGGGTGTTACAAACTCTCATGGTGTGA
CGGGCGGTGTGTACAAGGCCCGGGAACGTATTCACCGCGGCGTGTGATCCGCGATTACTAGCGAT
TCCGACTTCGTGCAGGCGAGTTGCAGCCTGCAGTCCGAAGTGAACGGTTTTAAGAGATTTGCTT
GCCCTCGCGAGTTTCGCGACTCGTTGTACCGTCCATTGTAGCACGTGTGTAGCCCAGGTCATAAGGG
GCATGATGATCTGACGTCGTCCCCACCTTCCCGGTTTGTACCGGCAGTCTTACTAGAGTGCCCA
ACTTAATGCTGGCAACTAGTAACAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGAC
ACGAGCTGACGACGACCATGCACCACCTGTCATTTGCGTTCCCGAAGGAAACGCCCTATCTTAGGG
TTGGCGCAAGATGTCAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTAGCTTCGAATTAACACATGCTCCAC
CGCTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCCTTTGAGTTTCAACCTTGCGGTGCTACTCCCCAGGCGGAGTG
CTTAATGCGTTAGCTCCGCGCACTGAAGGGCGGAAACCCTCCAAC

> **BF 108 nolu izolat**

CCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACA
TCTTTTGATCACCTGAGAGATCAGGTTTCCCCTTCGGGGGCAAATGACAGGTGGTGCATGGTTGT
CGTCAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATGACTAGTTGG
CAGCATTAGTTGGGCACTCTAGTAAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGT
CAAATCATCATGCCCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGATGGTACAACGAGTTGCG
AGACCGCGAGGTCAAGCTAATCTCTTAAA

> **BF 109 nolu izolat**

CCGGCTTCGGGTGTTACAACTCTCATGGTGTGACGGGCGGTGTGTACAAGGCCCGGGAACGTATT
CACCGCGCGTGCTGATCCGCGATTACTAGCGATTCCGACTTCGTGTAGGCGAGTTGCAGCCTACA
GTCCGAACTGAGAATGGCTTTAAGAGATTAGCTTGACCTCGCGGTCTCGCAACTCGTTGTACCATC
CATTGTAGCACGTGTGTAGCCCAGGTCATAAGGGGCATGATGATTTGACGTCATCCCCACCTTCCTC
CGGTTTGTACCGGCAGTCTTACTAGAGTGCCCAACTAAATGCTGGCAACTAGTCATAAGGGTTGC
GCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCATGCACCACCTGTCA
TTTTGCCCCCGAAGGGGAAACCTGATCTCTCAGGTGATCAAAGATGTCAAGACCTGGTAAGGTTTC
TTCGCGTTGCTTCGAATTAACCACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCCTTTGAGT
TTCAACCTTGCGGTCGTA TCCCCAGGCGGAATGCTTAATGCGTTAGCTGCGGCACTGAAGGGCGG
AAACCCTCCAACACCTAGCATTCATCGTTTACGG

> **BF 111 nolu izolat**

CCGGCTTCGGGTGTTACAACTCTCATGGTGTGACGGGCGGTGTGTACAAGGCCCGGGAACGTATT
CACCGCGCGTGCTGATCCGCGATTACTAGCGATTCCGACTTCGTGTAGGCGAGTTGCAGCCTACA
GTCCGAACTGAGAATGGCTTTAAGAGATTAGCTTGACCTCGCGGTCTCGCAACTCGTTGTACCATC
CATTGTAGCACGTGTGTAGCCCAGGTCATAAGGGGCATGATGATTTGACGTCATCCCCACCTTCCTC
CGGTTTGTACCGGCAGTCTTACTAGAGTGCCCAACTAAATGCTGGCAACTAGTCATAAGGGTTGC
GCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCATGCACCACCTGTCA
TTTTGCCCCCGAAGGGGAAACCTGATCTCTCAGGTGATCAAAGATGTCAAGACCTGGTAAGGTTTC
TTCGCGTTGCTTCGAATTAACCACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCCTTTGAGT
TTCAACCTTGCGGTCGTA TCCCCAGGCGGAATGCTTAATGCGTTAGCTGCGGCACTGAAGGGCGG
AAACCCTCCAACACCTAGCATTCATCGTTTACGG

> **BF 112 nolu izolat**

CTCTCATGGTGTGACGGGCGGTGTGTACAAGGCCCGGGAACGTATTCACCGCGGCGTGCTGATCCG
CGATTACTAGCGATTCCGACTTCGTGTAGGCGAGTTGCAGCCTACAGTCCGAACTGAGAATGGCTT
TAAGAGATTAGCTTGACCTCGCGGTCTCGCAACTCGTTGTACCATCCATTGTAGCACGTGTGTAGCC
CAGGTCATAAGGGGCATGATGATTTGACGTCATCCCCACCTTCTCCGGTTTGTACCCGGCAGTCTT
ACTAGAGTGCCCAACTAAATGCTGGCAACTAGTCATAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCC
AACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCATGCACCACCTGTCATTTTGCSCCCGAAGGGGAAAC
CTGATCTCTCAGGTGATCAAAAGATGTCAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTA
CCACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCTTTGAGTTTCAACCTTGCAGTTCGTA
CCCAGGCGGAATGCTTAATGCGTTAGCTGCGGCACTGAAGGGCGGAAACCTCCAACACCTAGCAT
TCATCGTTTAC

> **BF 117 nolu izolat**

CTCTCATGGTGTGACGGGCGGTGTGTACAAGGCCCGGGAACGTATTCACCGCGGCGTGCTGATCCG
CGATTACTAGCGATTCCGACTTCGTGTAGGCGAGTTGCAGCCTACAGTCCGAACTGAGAATGGCTT
TAAGAGATTAGCTTGACCTCGCGGTCTCGCAACTCGTTGTACCATCCATTGTAGCACGTGTGTAGCC
CAGGTCATAAGGGGCATGATGATTTGACGTCATCCCCACCTTCTCCGGTTTGTACCCGGCAGTCTT
ACTAGAGTGCCCAACTAAATGCTGGCAACTAGTCATAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCC
AACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCATGCACCACCTGTCATTTTGCSCCCGAAGGGGAAAC
CTGATCTCTCAGGTGATCAAAAGATGTCAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTA
CCACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCTTTGAGTTTCAACCTTGCAGTTCGTA
CCCAGGCGGAATGCTTAATGCGTTAGCTGCGGCACTGAAGGGCGGAAACCTCCAACACCTAGCAT
TCATCGTTTACGG

> **BF 119 nolu izolat**

TCTCATGGTGTGACGGGCGGTGTGTACAAGGCCCGGGAACGTATTCACCGCGGCGTGCTGATCCG
GATTACTAGCGATTCCGACTTCGTGTAGGCGAGTTGCAGCCTACAGTCCGAACTGAGAATGGCTT
AAGAGATTAGCTTGACCTCGCGGTCTCGCAACTCGTTGTACCATCCATTGTAGCACGTGTGTAGCCC
AGGTCATAAGGGGCATGATGATTTGACGTCATCCCCACCTTCTCCGGTTTGTACCCGGCAGTCTTA
CTAGAGTGCCCAACTAAATGCTGGCAACTAGTCATAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCA
ACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCATGCACCACCTGTCATTTTGCSCCCGAAGGGGAAACC
TGATCTCTCAGGTGATCAAAAGATGTCAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTA
CACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCTTTGAGTTTCAACCTTGCAGTTCGTA
CCCAGGCGGAATGCTTAATGCGTTTAGCTGCG

> **BF 120 nolu izolat**

TAGACGGCTCGCTCCCTAAAAGGGTTACGCCACCGGCTTCGGGTGTTACAAACTCTCATGGTGTGA
CGGGCGGTGTGTACAAGGCCCGGGAACGTATTCACCGCGGCGTGCTGATCCGCGATTACTAGCGAT
TCCGACTTCGTGTAGGCGAGTTGCAGCCTACAGTCCGAACTGAGAATGGCTTTAAGAGATTAGCTT
GACCTCGCGGTCTCGCAACTCGTTGTACCATCCATTGTAGCACGTGTGTAGCCCAGGTCATAAGGG
GCATGATGATTTGACGTCATCCCCACCTTCCTCCGGTTTTGTCACCGGCAGTCTTACTAGAGTGCCCA
ACTAAATGCTGGCAACTAGTCATAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGAC
ACGAGCTGACGACAACCATGCACCACCTGTCATTTTGCCCCGAAGGGGAAACCTGATCTCTCAGG
TGATCAAAAGATGTCAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAACACATGCTCCAC
CGCTTGTGCGGGCCCCGTCAATTCCTTTGAGTTTCAACCTTGCGGTTCGTACTCCCCAGGCGGAATG
CTTAATGCGTTAGCTGCGGCACTGAAGG

> **BF 122 nolu izolat**

ACAAACTCTCATGGTGTGACGGGCGGTGTGTACAAGGCCCGGGAACGTATTCACCGCGGCATGCTG
ATCCGCGATTACTAGCGATTCCGACTTCGTGCAGGCGAGTTGCAGCCTGCAGTCCGAACTGAGAAC
GGTTTTAAGAGATTTGCTTGCCCTCGCGAGTTCGCGACTCGTTGTACCGTCCATTGTAGCACGTGTG
TAGCCCAGGTCATAAGGGGCATGATGATCTGACGTCGTCCCCACCTTCCTCCGGTTTTGTCACCGGC
AGTCTCACTAGAGTGCCCAACTTAATGCTGGCAACTAGTAACAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACT
TAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACGACCATGCACCACCTGTCATTGCGTTCCCGAAGG
AAACGCCCTATCTCTAGGGTTGGCGCAAGATGTCAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTAGCTTCGA
ATTAACACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCGTCAATTCCTTTGAGTTTCAACCTTGCGGTG
GACTCCCCAGGCGGAGTGCTTAATGCGTTAGCTCCGCGCACTGAAGGGCGGAAACCC

> **BF 123 nolu izolat**

TCGCTCCCTAAAAGGGTTACGCCACCGGCTTCGGGTGTTACAAACTCTCATGGTGTGACGGGCGGT
GTGTACAAGGCCCGGGAACGTATTCACCGCGGCGTGCTGATCCGCGATTACTAGCGATTCCGACTT
CGTGTAGGCGAGTTGCAGCCTACAGTCCGAACTGAGAATGGCTTTAAGAGATTAGCTTGACCTCGC
GGTCTCGCAACTCGTTGTACCATCCATTGTAGCACGTGTGTAGCCCAGGTCATAAGGGGCATGATG
ATTTGACGTCATCCCCACCTTCCTCCGGTTTTGTCACCGGCAGTCTTACTAGAGTGCCCAACTAAATG
CTGGCAACTAGTCATAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTG
ACGACAACCATGCACCACCTGTCATTTTGCCCCGAAGGGGAAACCTGATCTCTCAGGTGATCAAA
AGATGTCAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAACACATGCTCCACCGCTTGTGC
GGGCCCCGTCAATTCCTTTGAGTTTCAACCTTGCGGTTCGTACTCCCCAGGCGGAATGCTTAATGCG
TTAG

> **BF 131 nolu izolat**

CCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGCGGT
GGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCTTTTGATCACC
TGAGAGATCAGGTTTCCCCTTCGGGGGCCAAAATGACAGGTGGTGCATGGTTGTTCGTCAGCTCGTGT
CGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATGACTAGTTGCCAGCATTTAGTTG
GGCACTCTAGTAAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGC
CCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGATGGTACAACGAGTTGCGAGACCGCGAGGTC
AAGCTAATCTCTTAAAGCCATTCTCAGTTCGGACTGTAGGCTGCAACTCGCCTACACGAAGTCGGA
ATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCACGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCG
TCACACCATGAGAGTT

> **BF 132 nolu izolat**

CCCCACCGACTTTGGGTGTTACAAACTCTCATGGTGTGACGGGCGGTGTGTACAAGGCCCGGGAAC
GTATTCACCGCGGCATGCTGATCCGCGATTACTAGCGATTCCGACTTCGTGCAGGCGAGTTGCAGC
CTGCAGTCCGAAGTGAAGACGGTTTTAAGAGATTTGCTTGCCTCGCGAGTTCGCGACTCGTTGTAC
CGTCCATTGTAGCACGTGTGTAGCCCAGGTCATAAGGGGCATGATGATCTGACGTCGTCACCT
TCCTCCGGTTTGTACCGGCAGTCTCACTAGAGTGCCTAACTAATGCTGGCAACTAGTAACAAGG
GTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACGACCATGCACCACC
TGTCATTGCGTTCCCGAAGGAAACGCCCTATCTCTAGGGTTGGCGCAAGATGTCAAGACCTGGTAA
GGTTCTTCGCGTAGCTTCGAATTAACCACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCCTT
TGAGTTTCAACCTTGC GGTCGTA CTCCCCAGGCGGAGTGCTTAATGCGTTAGCTC

> **BF 134 nolu izolat**

CCGGCTTCGGGTGTTACAAACTCTCATGGTGTGACGGGCGGTGTGTACAAGGCCCGGGAACGTATT
CACCGCGGCGTGCTGATCCGCGATTACTAGCGATTCCGACTTCGTGTAGGCGAGTTGCAGCCTACA
GTCCGAAGTGAAGATGGCTTTAAGAGATTAGCTTGACCTCGCGGTCTCGCAACTCGTTGTACCATC
CATTGTAGCACGTGTGTAGCCCAGGTCATAAGGGGCATGATGATTTGACGTCATCCCCACCTTCCTC
CGGTTTGTACCGGCAGTCTTACTAGAGTGCCCAACTAAATGCTGGCAACTAGTCATAAGGGTTGC
GCTCGTTGCGGGACTTAACCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCATGCACCACCTGTCA
TTTTGCCCGAAGGGGAAACCTGATCTCTCAGGTGATCAAAAGATGTCAAGACCTGGTAAGGTTT
TTCGCGTTGCTTCGAATTAACCACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCCTTTGAGT
TTCAACCTTGC GGTCGTA CTCCCCAGGCGGAATGCTTAATGCGTTAGCTGCGGCACTGAAGGGCGG
AAACCTCCAACACCTAGCATTTCATCGTTTACGGCATGGACTACCAGGGTATCTAATCCTG

> **BF 136 nolu izolat**

GGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACC
TTACCAGGTCTTGACATCTTTTGATCACCTGAGAGATCAGGTTTCCCCTTCGGGGGCAAATGACG
GGTGGTGCATGGTTGTCGTGAGCTCGTGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAAC
CCTTATGACTAGTTGCCAGCATTTAGTTGGGCACTCTAGTAAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGA
AGGTGGGGATGACGTCTAATCATCATGCCCTTATGA

> **BF 141 nolu izolat**

GTTACAAACTCTCATGGTGTGACGGGCGGTGTGTACAAGGCCCGGGAACGTATTCACCGCGGCGTG
CTGATCCGCGATTACTAGCGATTCCGACTTCGTGTAGGCGAGTTGCAGCCTACAGTCCGAACCTGAG
AATGGCTTTAAGAGATTAGCTTGACCTCGCGGTCTCGCAACTCGTTGTACCATCCATTGTAGCACGT
GTGTAGCCCAGGTCATAAGGGGCATGATGATTTGACGTCATCCCCACCTTCCTCCGGTTTGTACCCG
GCAGTCTTACTAGAGTGCCCAACTAAATGCTGGCAACTAGTCATAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGA
CTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCATGCACCACCTGTCATTTTGCCCCCGAA
GGGGAAACCTGATCTCTCAGGTGATCAAAAGATGTCAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTC
GAATTAACACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCCTTTGAGTTTCAACCTTGCGG
TCGTACTIONCCAGGCGGAATGCTTAAT

> **BF 143 nolu izolat**

AGGGTTACGCCACCGGCTTCGGGTGTTACAAACTCTCATGGTGTGACGGGCGGTGTGTACAAGGCC
CGGGAACGTATTCACCGCGGCGTGCTGATCCGCGATTACTAGCGATTCCGACTTCGTGTAGGCGAG
TTGCAGCCTACAGTCCGAACCTGAGAATGGCTTTAAGAGATTAGCTTGACCTCGCGGTCTCGCAACT
CGTTGTACCATCCATTGTAGCACGTGTGTAGCCCAGGTCATAAGGGGCATGATGATTTGACGTCAT
CCCCACCTTCCTCCGGTTTGTACCCGGCAGTCTTACTAGAGTGCCCAACTAAATGCTGGCAACTAGT
CATAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCATG
CACCACCTGTCATTTTGCCCCGAAGGGGAAACCTGATCTCTCAGGTGATCAAAAGATGTCAAGAC
CTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAACACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCCGTCA
ATTCCTTTGAGTTTCAACCTTGCGGTGCTACTCCCCAGGCGGAATGCTTAATGCGTTAGCTGCGGCA
CTGAAGGGCGGAAACCCTC

> **BF 145 nolu izolat**

GGGTTACGCCACCGGCTTCGGGTGTTACAAACTCTCATGGTGTGACGGGCGGTGTGTACAAGGCC
GGGAACGTATTCACCGCGGCGTGCTGATCCGCGATTACTAGCGATTCCGACTTCGTGTAGGCGAGT
TGCAGCCTACAGTCCGAACTGAGAATGGCTTTAAGAGATTAGCTTGACCTCGCGGTCTCGCAACTC
GTTGTACCATCCATTGTAGCACGTGTGTAGCCCAGGTCATAAGGGGCATGATGATTTGACGTCATC
CCCACCTTCTCCGGTTTGTACCCGGCAGTCTTACTAGAGTGCCTAACTAAATGCTGGCAACTAGTC
ATAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCATGC
ACCACCTGTCATTTTGCCCCGAAGGGGAAACCTGATCTCTCAGGTGATCAAAAGATGTCAAGACC
TGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAACCACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCCGTCAA
TTCCTTTGAGTTTCAACCTTTCGCGTTCGACTCCCCAGGCGGAATGCTTAATGCGTTAGCTGCGGCAC
TGAAGGGCGGAAACC

> **BF 146 nolu izolat**

GGGTTACGCCACCGGCTTCGGGTGTTACAAACTCTCATGGTGTGACGGGCGGTGTGTACAAGGCC
GGGAACGTATTCACCGCGGCGTGCTGATCCGCGATTACTAGCGATTCCGACTTCGTGTAGGCGAGT
TGCAGCCTACAGTCCGAACTGAGAATGGCTTTAAGAGATTAGCTTGACCTCGCGGTCTCGCAACTC
GTTGTACCATCCATTGTAGCACGTGTGTAGCCCAGGTCATAAGGGGCATGATGATTTGACGTCATC
CCCACCTTCTCCGGTTTGTACCCGGCAGTCTTACTAGAGTGCCTAACTAAATGCTGGCAACTAGTC
ATAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCATGC
ACCACCTGTCATTTTGCCCCGAAGGGGAAACCTGATCTCTCAGGTGATCAAAAGATGTCAAGACC
TGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAACCACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCCGTCAA
TTCCTTTGAGTTTCAACCTTTCGCGTTCGACTCCCCAGGCGGAATGCTTAATGCGTTAGCTGC

> **BF 147 nolu izolat**

CTCTCATGGTGTGACGGGCGGTGTGTACAAGGCCCGGGAACGTATTCACCGCGGCGTGCTGATCCG
CGATTACTAGCGATTCCGACTTCGTGTAGGCGAGTTGCAGCCTACAGTCCGAACTGAGAATGGCTT
TAAGAGATTAGCTTGACCTCGCGGTCTCGCAACTCGTTGTACCATCCATTGTAGCACGTGTGTAGCC
CAGGTCATAAGGGGCATGATGATTTGACGTCATCCCCACCTTCTCCGGTTTGTACCCGGCAGTCTT
ACTAGAGTGCCTAACTAAATGCTGGCAACTAGTCATAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCC
AACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCATGCACCACCTGTCATTTTGCCCCGAAGGGGAAAC
CTGATCTCTCAGGTGATCAAAAGATGTCAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAAC
CCACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCTTTGAGTTTCAACCTTTCGCGTTCGACTC
CCCAGGCGGAATGCTTAATGCGTTAGCTGCGGC

> **BF 149 nolu izolat**

TCCTAAAAGGTTACCCACCGACTTTGGGTGTTACAACTCTCATGGTGTGACGGGCGGTGTGTAC
AAGGCCCGGGAACGTATTCACCGCGGCATGCTGATCCGCGATTACTAGCGATTCCGACTTCGTGCA
GGCGAGTTGCAGCCTGCAGTCCGAACTGAGAACGGTTTTAAGAGATTGCTTGCCCTCGCGAGTTC
GCGACTCGTTGTACCGTCCATTGTAGCACGTGTGTAGCCCAGGTCATAAGGGGCATGATGATCTGA
CGTCGTCCCCACCTTCCCGTTTTGTCACCGGCAGTCTCACTAGAGTGCCCAACTTAATGCTGGCA
ACTAGTAACAAGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACG
ACCATGCACCACCTGTCATTGCGTTCCCGAAGGAAACGCCCTATCTCTAGGGTTGGCGCAAGATGT
CAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTAGCTTCGAATTAACCACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCC
CCCGTCAATTCCTTTGAGTTTCAACCTTGCGGTGCTACTCCCCAGGCGGAGTGCTTAATGCGTTAGC
TCCGGCACTGAAGGGCGGAAACCCTCC

> **BF 154 nolu izolat**

TTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGCG
GTGGAGCATGTGGTTTAATACGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCTTTACGATC
ACCTGAGAGATCAGGTTTCCCCTTCGGGGGCAAAATGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCG
TGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATGACTAGTTGCCAGCATTTAG
TTGGGCACTCTAGTAAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCA
TGCCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGATGGTACAACGAGTTGCGAGACCGCGAG
GTCAAGCTAATCTCTTAAAGCCATTCTCAGTTCGGACTGTAGGCTGCAACTCGCCTACACGAAGTC
GGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCACGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGC
CCGTACACCATGAGAGTTTGTAACACCCGAAGCCGGTGGCGTAACCCTTTTAGGGAGCGAGCCGT
CTAAGGTGGGACAGAT

> **BF 160 nolu izolat**

AGCTAACGCATTAAGCATTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAACTCAAAGGAATTGAC
GGGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGT
CTTGACATCTTTTGATCACCTGAGAGATCAGGTTTCCCCTTCGGGGGCAAAATGACAGGTGGTGC
TGGTTGTCGTCAGCTCGTGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATGAC
TAGTTGCCAGCATTTAGTTGGCACTCTAGTAAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGG
GATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACCTGGGCTACACACGT

> **BF 161 nolu izolat**

AGTACGACCGCAAGGTTGACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTG
GTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCTTTTGATCACCTGAGAGATCA
GGTTTCCCCTTCGGGGGCAAATGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTGAGATGT
TGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATGACTAGTTGCCAGCATTTAGTTGGGCACTCTAG
TAAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGAC
CTGGGCTACACACGTGCTACAATGGATGGTACAACGAGTTGCGAGACCGCGAGGTCAAGCTAATCT
CTTAAAGCCATTCTCAGTTCGGACTGTAGGCTGCAACTCGCCTACACGAAGTCGGAATCGCTAGTA
ATCGCGGATCAGCACGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCGTCACACCATG
AGAGTTTGTAAACCCGAAGCCGGTGGCGTAACCCTTTTAGGGAGCGAGCCGTCTAAGGTGGGAC
AGATGA

> **BF 164 nolu izolat**

TTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGCG
GTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCTTTTGATCA
CCTGAGAGATCAGGTTTCCCCTTCGGGGGCAAATGACGGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGT
GTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATGACTAGTTGCCAGCATTTAGT
TGGGCACTCTAGTAAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCAT
GCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGATGGTACAACGAGTTGCGAGACCGACGA
GGTCAAGCTAATCTGCTTAAAGCCATTCTCATGTTCCGACTGTAGGGCTGCAACTCCGCCTACACG
AAGTCCCGAATCACTTAGTAATCGCGGGATCAGC

> **BF 165 nolu izolat**

CGCTCCCTAAAAGGGTTACGCCACCGGCTTCGGGTGTTACAACTCTCATGGTGTGACGGGCGGTG
TGTACAAGGCCCGGAACGTATTCACCGCGGCGTGCTGATCCGCGATTACTAGCGATTCCGACTTC
GTGTAGGCGAGTTGCAGCCTACAGTCCGAAGTGAATGGCTTTAAGAGATTAGCTTGACCTCGCG
GTCTCGCAACTCGTTGTACCATCCATTGTAGCACGTGTGTAGCCAGGTCATAAGGGGCATGATGA
TTTGACGTCATCCCCACCTTCCTCCGGTTTGTACCGGCAGTCTTACTAGAGTGCCCAACTAAATGC
TGGCAACTAGTCATAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGA
CGACAACCATGCACCACCTGTCATTTTGCCCCGAAGGGGAAACCTGATCTCTCAGGTGATCAAAA
GATGTCAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAACCACATGCTCCACCGCTTGTGCG
GGCCCCCGTCAATTCTTTGAGTTTCAACCTTGCGGTCGTAATCCAGGCGGAATGCTTAATGCGT
TAGCTGCGGCACTGAAGGGCGGAAACCCTCCAACACCTAGCATTTC

> **BF 169 nolu izolat**

GGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCCGCAGCTAACGCATTAAGCATTCCGCCTGGGGAGTACGACCGC
AAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCTGA
AGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCTTTTGATCACCTGAGAGATCAGGTTTCCCCTTC
GGGGGCAAATGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTAAAGTCC
CGCAACGAGCGCAACCCTTATGACTAGTTGCCAGCATTTAGTTGGGCACTCTAGTAAGACTGCCGG
TGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACCTGGGCTACACA
CGTGCTACAATGGATGGTACAACGAGTTGCGAGACCGCGAGGTCAAGCTAATCTCTTAAAGCCATT
CTCAGTTCGGACTGTAGGCTGCAACTCGCTACACGAAGTCGGAATCGTAGTAATCGCGGATCAG
CACGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGAGAGTTTGTAAAC
ACCCGAAGCCGGTGGCGTAACCCTTTTAGGGAGCGAGCCGTCTAAGGTGGAACAGAT

> **BF 173 nolu izolat**

TGCCGCAGCTAACGCATTAAGCATTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGA
ATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCTGAAGCAACGCGAAGAACCTTA
CCAGGTCTTGACATCTTTTGATCACCTGAGAGATCAGGTTTCCCCTTCGGGGGCAAATGACAGGT
GGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCT
TATGACTAGTTGCCAGCATTTAGTTGGGCACTCTAGTAAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGG
TGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGATGGTA
CAACGAGTTGCGAGACCGCGAGGTCAAGCTAATCTCTTAAAGCCATTCTCAGTTCGGACTGTAGGC
TGCAACTCGCTACACGAAGTCGGAATCGTAGTAATCGCGGATCAGCACGCCGCGGTGAATACGT
TCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGAGAGTTTGTAAACACCCGAAGCCGGTGGCGTA
ACCCTTTTAGGGAGCGAGCCGTCTA

> **BF 174 nolu izolat**

AGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCTGAAGCAACGCGAAGAAC
CTTACCAGGTCTTGACATCTTTTGATCACCTGAGAGATCAGGTTTCCCCTTCGGGGGCAAATGACA
GGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAAC
CCTTATGACTAGTTGCCAGCATTTAGTTGGGCACTCTAGTAAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGA
AGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGATG
GTACAACGAGTTGCGAGACCGCGAGGTCAAGCTAATCTCTTAAAGCCATTCTCAGTTCGGACTGTA
GGCTGCAACTCGCTACACGAAGTCGGAATCGTAGTAATCGCGGATCAGCACGCCGCGGTGAAT
ACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGAGAGTTTGTACACCCGAAGCCGGTGGC
GTAACCTTTTAGGGAGCGAGCCG

> **BF 178 nolu izolat**

GGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACC
TTACCAGGTCTTGACATCTTTTGATCACCTGAGAGATCAGGTTTCCCCTTCGGGGGCAAATGACA
GGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTGTCGTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAAC
CCTTATGACTAGTTGCCAGCATTTAGTTGGGCACTCTAGTAAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGA
AGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGATG
GTACAACGAGTTGCGAGACCGCGAGGTCAAGCTAATCTCTTAAAGCCATTCTCAGTTCGGACTGTA
GGCTGCAACTCGCCTACACGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCACGCCGCGGTGAAT
ACGTTCCCAGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGAGAGTTTGTAAACCCGAAGCCGGTGG
CGTAACCCTTTTAGGGAGCGAGCCGTCTAAGGTGGGACAGATGA

> **BF 183 nolu izolat**

GGTTTCCGCCCTTCAGTGCCGCAGCTAACGCATTAAGCATTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGG
TTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCA
ACGCGAAGAACCCTTACCAGGTCTTGACATCTTTTGATCACCTGAGAGATCAGGTTTCCCCTTCGGG
GGCAAATGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTGTCGTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGC
AACGAGCGCAACCCTTATGACTAGTTGCCAGCATTTAGTTGGGCACTCTAGTAAGACTGCCGGTGA
CAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCCTTATGACCTGGGCTACACACGT
GCTACAATGGATGGTACAACGAGTTGCGAGACCGCGAGGTCAAGCTAATCTCTTAAAGCCATTCTC
AGTTCGGACTGTAGGCTGCAACTCGCCTACACGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCAC
GCCGCGGTGAATACGTTCCCAGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGAGAGTTTG

> **BF 184 nolu izolat**

TGCTAATACCGCATAGATCCAAGAACCGCATGGTTCCTGGCTGAAGATGGCGTAAGCTATCGCTTT
TGGATGGACCCGCGGCGTATTAGCTAGTTGGTGAGGTAATGGCTACCAAGGCGATGATACGTAGC
CGAACTGAGAGGTTGATCGGCCACATTGGGACTGAGACACGGCCCAAACCTCTACGGGAGGCAGC
AGTAGGGAATCTTCCACAATGGACGCAAGTCTGATGGAGCAACGCCGCGTGAGTGAAGAAGGCTT
TCGGGTGCTAAAACCTCTGTTGTTGGAGAAGAATGGTCGGCAGAGTAACTGTTGTGCGGCGTGACG

> **BF 186 nolu izolat**

TTACCCACCGACTTTGGGTGTTACAAACTCTCATGGTGTGACGGGCGGTGTGTACAAGGCCCGGG
AACGTATTCACCGCGGCATGCTGATCCGCGATTACTAGCGATTCCGACTTCGTGCAGGCGAGTTGC
AGCCTGCAGTCCGAACCTGAGAACGGTTTTAAGAGATTTGCTTGCCCTCGCGAGTTTCGCGACTCGTT
GTACCGTCCATTGTAGCACGTGTGTAGCCCAGGTCATAAGGGGCATGATGATCTGACGTCGTCCCC
ACCTTCCTCCGGTTTGTACCGGCAGTCTACTAGAGTGCCCAACTTAATGCTGGCAACTAGTAACA
AGGGTTGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACGACCATGCACCAC
CTGTCATTGCGTTCCCGAAGGAAACGCCCTATCTCTAGGGTTGGCGCAAGATGTCAAGACCTGGTA
AGGTTCTTCGCGTAGCTTCGAATTAACCACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCT
TTGAGTTTCAACCTTGC GGTCGTACTCCCCAGGCGGAGTGCTTAATGCGTTAGCTCCGGCACTGAA
GGGCGGAAACCTCCAACACCTAGCACTCATCGTTTACGGT

> **BF 187 nolu izolat**

GCCACCGGCTTCGGGTGTTACAAACTCTCATGGCGTGACGGGCGGTGTGTACAAGGCCCGGGAACG
TATTCACCGCGGCGTGCTGATCCGCGATTACTAGCGATTCCGACTTCGTGTAGGCGAGTTGCAGCCT
ACAGTCCGAACCTGAGAATGGCTTTAAGAGATTAGCTTGACCTCGCGGTCTCGCAACTCGTTGTACC
ATCCATTGTAGCACGTGTGTAGCCCAGGTCATAAGGGGCATGATGATTTGACGTCATCCCCACCTT
CCTCCGGTTTGTACCGGCAGTCTTACTAGAGTGCCCAACTAAATGCTGGCAACTAGTCATAAGGG
TTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCATGCACCACCT
GTCATTTTGGCCCCGAAGGGGAAACCTGATCTCTCAGGTGATCAAAAGATGTCAAGACCTGGTAAG
GTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAACCACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCTTT
GAGTTTCAACCTTGC GGTCGTACTCCCCAGGCGGAATGCTTAATGCGTTAGCTGCGGCACTGAAGG
GCGGAAACCTCCAACACCTAGCATTTCATCGTTTACGGCATGGACTACCAGGGTATCTAATCCTGT
TCGCTACCCATGCTTTCGAGCCTCAGCGTCAGTTACAGACCAGACAGCCGCCTTCGCCACTGGTGTT
CTTCCC

> **BF 188 nolu izolat**

TTACGCCACCGGCTTCGGGTGTTACAAACTCTCATGGTGTGACGGGCGGTGTGTACAAGGCCCGGG
AACGTATTCACCGCGGCGTGCTGATCCGCGATTACTAGCGATTCCGACTTCGTGTAGGCGAGTTGC
AGCCTACAGTCCGAACCTGAGAATGGCTTTAAGAGATTAGCTTGACCTCGCGGTCTCGCAACTCGTT
GTACCATCCATTGTAGCACGTGTGTAGCCCAGGTCATAAGGGGCATGATGATTTGACGTCATCCCC
ACCTTCCTCCGGTTTGTACCGGCAGTCTTACTAGAGTGCCCAACTAAATGCTGGCAACTAGTCATA
AGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCATGCACC
ACCTGTCATTTTGGCCCCGAAGGGGAAACCTGATCTCTCAGGTGATCAAAAGATGTCAAGACCTGG
TAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAACCACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCT
CTTTGAGTTTCAACCTTGC GGTCGTACTCCCCAGGCGGAATGCTTAATGCGTTAGCTGCGGCACT

> **BF 189 nolu izolat**

CACCGGCTTCGGGTGTTACAAACTCTCATGCGTGTGACGGGCGGTGTGTACAAGGCCCGGGAACGT
ATTCACCGCGGCGTGCTGATCCGCGATTACTAGCGATTCCGACTTCGTGTAGGCGAGTTGCAGCCT
ACAGTCCGAACTGAGAATGGCTTTAAGAGATTAGCTTGACCTCGCGGTCTCGCAACTCGTTGTACC
ATCCATTGTAGCACGTGTGTAGCCCAGGTCATAAGGGGCATGATGATTTGACGTCATCCCCACCTT
CCTCCGGTTTGTACCCGGCAGTCTTACTAGAGTGCCCAACTAAATGCTGGCAACTAGTCATAAAGG
TTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCATGCACCACCT
GTCATTTTGCCCCGAAGGGGAAACCTGATCTCTCAGGTGATCAAAAGATGTCAAGACCTGGTAAG
GTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAACCACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCCTTT
GAGTTTCAACCTTGCGGTCGTA TCCCCAGGCGGAATGCTTAATGCGTTAGCTGCGGCACTGAAGG
GCGGAAACCCTCCAACACCTAGCATTTCATCGTTTACGGCATGGACTACCAGGGTATCTAATCCTGT
TCGCTACCCATGCTTTCGAGCCTCAGCGTCAGTT

> **BF 191 nolu izolat**

ACGCCACCGGCTTCGGGTGTTACAAACTCTCATGGTGTGACGGGCGGTGTGTACAAGGCCCGGGAA
CGTATTCACCGCGGCGTGCTGATCCGCGATTACTAGCGATTCCGACTTCGTGTAGGCGAGTTGCAG
CCTACAGTCCGAACTGAGAATGGCTTTAAGAGATTAGCTTGACCTCGCGGTCTCGCAACTCGTTGT
ACCATCCATTGTAGCACGTGTGTAGCCCAGGTCATAAGGGGCATGATGATTTGACGTCATCCCCAC
CTTCCTCCGGTTTGTACCCGGCAGTCTTACTAGAGTGCCCAACTAAATGCTGGCAACTAGTCATAAG
GGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCATGCACCAC
CTGTCATTTTGCCCCGAAGGGGAAACCTGATCTCTCAGGTGATCAAAAGATGTCAAGACCTGGTA
AGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAACCACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCCT
TTGAGTTTCAACCTTGCGGTCGTA TCCCCAGGCGGAATGCTTAATGCGTTAGCTGCGGCACTGAA
GGGCGGAAACCCTCCAACACCTAGCATTTCATCGTTTACGGCATGGACTACCAGGGTATCTAATCCT
G

> **BF 193 nolu izolat**

CGGTGTGTACAAGGCCCGGGAACGTATTCACCGCGGCGTGCTGATCCGCGATTACTAGCGATTCCG
ACTTCGTGTAGGCGAGTTGCAGCCTACAGTCCGAACTGAGAATGGCTTTAAGAGATTAGCTTGACC
TCGCGGTCTCGCAACTCGTTGTACCATCCATTGTAGCACGTGTGTAGCCCAGGTCATAAGGGGCAT
GATGATTTGACGTCATCCCCACCTTCCTCCGGTTTGTACCCGGCAGTCTTACTAGAGTGCCCAACTA
AATGCTGGCAACTAGTCATAAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGA
GCTGACGACAACCATGCACCACCTGTCATTTTGCCCCGAAGGGGAAACCTGATCTCTCAGGTGAT
CAAAAGATGTCAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAACCACATGCTCCACCGCT
TGTGCGGGCCCCCGTCAATTCCTTTGAGTTTCAACCTTGCGGTCGTA TCCCCAGGCGGAATGCTTA
ATGCGTTAGCTGCGGCACTGAAGGGCGGAAACCCTCCAACACCTAGCATTTCATCGTTTACGGCATG
GACTACCAGGG

> **BF 194 nolu izolat**

ACGCCACCGGCTTCGGGTGTTACAAACTCTCATGGTGTGACGGGCGGTGTGTACAAGGCCCGGGAA
CGTATTCACCGCGGCGTGCTGATCCGCGATTACTAGCGATTCCGACTTCGTGTAGGCGAGTTGCAG
CCTACAGTCCGAACTGAGAATGGCTTTAAGAGATTAGCTTGACCTCGCGGTCTCGCAACTCGTTGT
ACCATCCATTGTAGCACGTGTGTAGCCCAGGTCATAAGGGGCATGATGATTTGACGTCATCCCCAC
CTTCCTCCGGTTTGTACCCGGCAGTCTTACTAGAGTGCCCAACTAAATGCTGGCAACTAGTCATAAG
GGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCATGCACCAC
CTGTCATTTTGCCCCGAAGGGGAAACCTGATCTCTCAGGTGATCAAAGATGTCAAGACCTGGTA
AGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAACACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCCT
TTGAGTTTCAACCTTGCGGTCGT

> **BF 196 nolu izolat**

ACGCCACCGGCTTCGGGTGTTACAAACTCTCATGGTGTGACGGGCGGTGTGTACAAGGCCCGGGAA
CGTATTCACCGCGGCGTGCTGATCCGCGATTACTAGCGATTCCGACTTCGTGTAGGCGAGTTGCAG
CCTACAGTCCGAACTGAGAATGGCTTTAAGAGATTAGCTTGACCTCGCGGTCTCGCAACTCGTTGT
ACCATCCATTGTAGCACGTGTGTAGCCCAGGTCATAAGGGGCATGATGATTTGACGTCATCCCCAC
CTTCCTCCGGTTTGTACCCGGCAGTCTTACTAGAGTGCCCAACTAAATGCTGGCAACTAGTCATAAG
GGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCATGCACCAC
CTGTCATTTTGCCCCGAAGGGGAAACCTGATCTCTCAGGTGATCAAAGATGTCAAGACCTGGTA
AGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAACACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCCT
TTGAGTTTCAACCTTGCGGTCGTACTCCCCAGGCGGAATGCTTAATGCGTTAGCTGCGGCACTGAA
GGGCGGAAACCTCCAACACCTAGCATTATCGTTTACGGCATGGACTACCAGGGTATCTAATCCT
GTTTCGCTACCCATGCTTTTCGAGCCTCAGCGTCAGTTACAGACCAGACAGCCGCCTTCGCCACTGGT
GTTCTCCATATATCTACGCATTTACCGCT

> **BF 199 nolu izolat**

AGTTCTGATTATTGAAAGGTGCTTGCATCTTGATTTAATTTTGAACGAGTGGCGGACGGGTGAGTA
ACACGTGGGTAACCTGCCCTTAAGTGGGGGATAACATTTGGAAACAGATGCTAATACCGCATAAAT
CCAAAAACCGCATGGTTCTTGGCTGAAAGATGGCGTAAGCTATCGCTTTTGGATGGACCCCGGCG
TATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACGGCTCACCAAGGCAATGATACGTAGCCGAAGTGAAGGTTGAT
CGGCCACATTGGGACTGAGACACGGCCAAACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCAC
AATGGACGCAAGTCTGATGGAGCAACGCCGCTGAGTGAAGAAGGCTTTCGGGTCTGAAAACCTCT
GTTGTTGGAGAAGAATGGTCGGCAGAGTAACTGTTGTCGGCGTGACGGTATCCAACCAGAAAGCC
ACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGATTTATTGGG
CGTAAAGCGAGCGCAGGCGGTTTTTTAAGTCTGATGTGAAAGCCCTCGGCTTAACCGAGGAAGTGC
ATCGGAAACTGGGAAACTTGAGTGCAGAAGAGGACAGTGGAACTCCATGTGTAGCGGTGAAATGC
GTAGATATATGGAAGAACACCAGTGGCGAAAGCGGCTGTCTGGTCTGTAAGTACGCTGAGGCTC
GAAAGCATGGGTAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCATGCCGTAACGATGAATGCTAGG
TGTTGGAGGGTTTTCCGCCCTTCAGTGCCGAGCTAACGCATTAAGCATTCCGCCTGGGGAGTACGA
CCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAAAT
TCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCTTTTGATCACCTGAGAGATCAGGTTTCC
CCTTCGGGGGCAAATGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTAA
AGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATGACTAGTTGCCAGCATTTAGTTGGGCACTCTAGTAAGACT
GCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGACCTGGGCT
ACACACGTGCTACAATGGATGGTACAACGAGTTGCGAGACCGCGAGGTCAAGCTAATCTCTTAAA
GCCATTCTCAGTTCGGACTGTAGGCTGCAACTCGCCTACACGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGCG
GATCAGCACGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCC

> **BF 200 nolu izolat**

GGGTTACGCCACCGGCTTCGGGTGTTACAACTCTCATGGTGTGACGGGCGGTGTGTACAAGGCC
GGGAACGTATTCACCGCGGCGTGCTGATCCGCGATTACTAGCGATTCCGACTTCGTGTAGGCGAGT
TGCAGCCTACAGTCCGAAGTGAAGTGGCTTTAAGAGATTAGCTTGACCTCGCGGTCTCGCAACTC
GTTGTACCATCCATTGTAGCACGTGTGTAGCCCAGGTCATAAGGGGCATGATGATTTGACGTCATC
CCCACCTTCCCGGTTTTGTCACCGGCAGTCTTACTAGAGTGCCCAACTAAATGCTGGCAACTAGTC
ATAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCATGC
ACCACCTGTCATTTTGCCCCGAAGGGGAAACCTGATCTCTCAGGTGATCAAAGATGTCAAGACC
TGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAACCACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCCGTCAA
TTCCTTTGAGTTTCAACCTTGCGGTCGTACTCCCCAGGCGGAATGCTTAATGCGTTAGCTGCGGCAC
TGAAGGGCGGAAACCTCCAACACCTAGCATTTCATCGTTTACGGCATGGACTACCAGGGTATCTAA
TCCTGTTGCTACCCATGCTTT

> **BF 201 nolu izolat**

ACGCCACCGGCTTCGGGTGTTACAAACTCTCATGGTGTGACGGGCGGTGTGTACAAGGCCCGGGAA
CGTATTCACCGCGGCGTGCTGATCCGCGATTACTAGCGATTCCGACTTCGTGTAGGCGAGTTGCAG
CCTACAGTCCGAAGTGAATGGCTTTAAGAGATTAGCTTGACCTCGCGGTCTCGCAACTCGTTGT
ACCATCCATTGTAGCACGTGTGTAGCCCAGGTCATAAGGGGCATGATGATTTGACGTCATCCCCAC
CTTCCTCCGGTTTGTACCGGCAGTCTTACTAGAGTGCCAACTAAATGCTGGCAACTAGTCATAAG
GGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCATGCACCAC
CTGTCATTTTGGCCCCGAAGGGGAAACCTGATCTCTCAGGTGATCAAAGATGTCAAGACCTGGTA
AGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAACACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCT
TTGAGTTTCAACCTTTCGGTTCGTACTCCCCAGGCGGAATGCTTAATGCGTTAGCTGCGGC
ACTGAAGGGCGGAAACCTCCAACACCTAGCATTTCATCGTTTACGGCATGGACTACCAGGGTATCT
AATCCTGTTTCGCTACCCATGCTTTTCGAGCCTCAGCGTCAGTTACAGACCAGACAGCCGCCTTCGCCA
CTGGTGTCTTCCATATATCTACGCATTTACCGCTACACATGGAGTTCCACTGTCTCTTCTGCACT
CAAGTTTCCAGTTTCCGATGCGCTTCTCGGTTAAGCCGAGGGCTTTCACATCAGACTTAAAAAAC
CGCCTGCGCTCGCTTACGCCAATAAATCCGGATAACGCTTGCCACCTACGTATTACCGCGGCTGC
TGGCACGTAGTTAGCCGTGGCTTCTGGTTGGATACCGTCACGCCGACAACAGTTACTCTGCCGAC
CATTCTTCTCCAACAACAGAGTTTTACGACCCGAAAGCCTTCTTCACTCACGCGGCGTTGCTCCATC
AGACTTTCGCTCCATTGTGGAAGATTCCCTACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTTTGGGCCGTGTCTCAGT
CCCAATGTGGCCGATCAACCTCTCAGTTCGGCTACGTATCATCGCCTTGGTGAGCCATTACCTCACC
AACTAGCTAATACGCCGCGGGTCCATCCAAAAGCGATAGCTTACGCCATCTTTCAGCCAAGAACCA
TGCGGTTCTTGGATCTATGCGGTATTAGCATCTGTTTCCAAATGTTATCCCCACTTAAGGGCAGGT
TACCACGTGTTACTCACCCGTCCGCCACTCGTTCCATG

> **BF 203 nolu izolat**

GACTTTGGGTGTTACAAACTCTCATGGTGTGACGGGCGGTGTGTACAAGGCCCGGGAAACGTATTCA
CCGCGGCATGCTGATCCGCGATTACTAGCGATTCCGACTTCGTGCAGGCGAGTTGCAGCCTGCAGT
CCGAAGTGAACGGTTTTAAGAGATTTGCTTGCCCTCGCGAGTTCGCGACTCGTTGTACCGTCCAT
TGTAGCACGTGTGTAGCCCAGGTCATAAGGGGCATGATGATCTGACGTCGTCCCCACCTTCTCCG
GTTTGTACCGGCAGTCTCACTAGAGTGCCCAACTTAATGCTGGCAACTAGTAACAAGGGTTGCGC
TCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACGACCATGCACCACCTGTCATT
GCGTTCCCGAAGGAAACGCCCTATCTCTAGGGTTGGCGCAAGATGTCAAGACCTGGTAAGGTTCTT
CGCGTAGCTTCGAATTAACACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCTTTGAGTTT
CAACCTTTCGGTTCGTACTCCCCAGGCGGAGTGCTTAATGCGTTAGCTCCGGCACTGAAGG
GCGGAAACCTCCAACACCTAGCACTCATCGTTTACGGCATGGACTACCAGGGTATCTAATCCTGT
TCGCTACCCATGCTTTC

> **BF 205 nolu izolat**

ACCGACTTTGGGTGTTACAAACTCTCATGGTGTGACGGGCGGTGTGTACAAGGCCCGGGAACGTAT
TCACCGCGGCATGCTGATCCGCGATTACTAGCGATTCCGACTTCGTGCAGGCGAGTTGCAGCCTGC
AGTCCGAACTGAGAACGGTTTTAAGAGATTTGCTTGCCCTCGCGAGTTCGCGACTCGTTGTACCGTC
CATTGTAGCACGTGTGTAGCCCAGGTCATAAGGGGCATGATGATCTGACGTGTCCTCCACCTTCT
CCGTTTTGTCACCGGCAGTCTCACTAGAGTGCCAACTTAATGCTGGCAACTAGTAACAAGGGTTG
CGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACGACCATGCACCACCTGTC
ATTGCGTTCCCGAAGGAAACGCCCTATCTCTAGGGTTGGCGCAAGATGTCAAGACCTGGTAAGGTT
CTTCGCGTAGCTTCGAATTAACACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCCTTTGAG
TTTCAACCTTGCGGTGCTACTCCCAGGCGGAGTGCTTAATGCGTTAGCTCCGGCACTGAAGGGCG
GAAACCTCCAACACCTAGCACTCATCGTTTACGGCATGGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTCC
CTACCCATGCTTTCGAGTCTCAGCGTCAGTTGCA

> **BF 206 nolu izolat**

CCGACTTTGGGTGTTACAAACTCTCTGGTGTGACGGGCGGTGTGTACAAGGCCCGGGAACGTATTC
ACCGCGGCATGCTGATCCGCGATTACTAGCGATTCCGACTTCGTGCAGGCGAGTTGCAGCCTGCAG
TCCGAACTGAGAACGGTTTTAAGAGATTTGCTTGCCCTCGCGAGTTCGCGACTCGTTGTACCGTCCA
TTGTAGCACGTGTGTAGCCCAGGTCATAAGGGGCATGATGATCTGACGTGTCCTCCACCTTCTCTCC
GGTTTTGTCACCGGCAGTCTCACTAGAGTGCCAACTTAATGCTGGCAACTAGTAACAAGGGTTGCG
CTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACGACCATGCACCACCTGTCAT
TGCCTTCCCGAAGGAAACGCCCTATCTCTAGGGTTGGCGCAAGATGTCAAGACCTGGTAAGGTTCT
TCGCGTAGCTTCGAATTAACACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCCTTTGAGTT
TCAACCTTGCGGTGCTACTCCCAGGCGGAGTGCTTAATGCGTTAGCTCCGGCACTGAAAGGGCGG
AAACCTCCAACACCTAGCACTCATCGTTTACGGCATGGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTTCGCT
ACCCATGCTTTCGAGTCTCAGCGTCAGTTGCAGACCAGGTAGCCGCCTTCGCCACTGGTGTTCTTCC
ATATATCTACGCATTCCACCGCTACACATGGAGTTCCACTACCCTCTTCTGCACTCAAGTTATCCAG
TTTCCGATGCACTTCTCCGGTTAAGCCGAAGGCTTTCACATCAGACTTAGAAAACCGCCTGCACTCT
CTTTACGCCAATAAATCCGGATAACGCTTGCCACCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGTAGTT
AGCCGTGACTTTCTGGTTAAATACCGTCAACGTATGAACAGTTACTCTCATACTGTTCTTCTTTAA
CAACAGAGCTTTACGAGCCGAAACCTTCTTCACTCACGCGGTGTTGCTCCATCAGGCTTGCGCC
ATTGTGGAAGATTCCCTACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTATGGGCCGTGTCTCAGTCCCATTGTGGCC
GATCAGTCTCTCAACTCGGCTATGCATCATCGCCTTGGTAGGCCGTTACCCACCAACAAGCTAAT
GCACCGCAGGTCCATCCAGAAGTGATAGCGAGAAGCCATCTTTAAGCGTTGTTTCATGCGAACAAC
GCTGTTATGCGGTATTAGCATCTGTTTCCAAATGTTGTCCCCCGCTTCTGGGCAGGTTACCTACGTG
TTACTACCCGTCCGCCACT

> BF 210 nolu izolat

GCGCGAATTTTAACTTAGGCGGAATTTCCCGAACCTTTCGGTGCCAGGGCCGGAGTTTGCCAAGG
CCCTGGCAGGTCCGAAACTGAGAACGGGTTTTAAGAGATTTGCTTGCCCTCGCGAGTTCGCGACTC
GTTGTACCGTCCATTGTAGCACGTGTGTAGCCAGGTCATAAGGGGCATGATGATCTGACGTCGTC
CCCACCTTCCCTCCGGTTTTGTCACCGGCAGTCTCACTAGAGTGCCCAACTTAATGCTGGCAACTAGTA
ACAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACGACCATGC
ACCACCTGTCATTGCGTTCCCGAAGGAAACGCCCTATCTCTAGGGTTGGCGCAAGATGTCAAGACC
TGGTAAGGTCTTCGCGTAGCTTCGAATTAACACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCGTCATC
CTTGAGTTCAACCTGCGGTCGTACTCCCCAGGCGGAGTGCTTAAATGCGTTAGCTCCGGCACTGAA
GGGCGGAAACCTCCCAACACCTAGCACTCATCGTTTACGGCATGGACTACCAGGGTATCTAATCC
TGTTGCTACCCATGCTTTCGAGTCTCAGCGTCAGTTGCAGACCAGGTAGCCGCCTTCGCCACTGGT
GTTCTTCCATATATCTACGCATTCCACCGCTACACATGGAGTTCCACTACCCTCTTCTGCACTCAAG
TTATCCAGTTTCCGATGCACTTCTCCGGTTAAGCCGAAGGCTTTCACATCAGACTTAGAAAACCGCC
TGCACTCTCTTTACGCCCAATAAATCCGGATAACGCTTGCCACCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGC
ACGTAGTTAGCCGTGACTTTCTGGTTAAATACCGTCAACGTATGAACAGTTACTCTCATACTGTTT
TTCTTTAACAACAGAGCTTTACGAGCCGAAACCTTCTTCACTCACGCGGTGTTGCTCCATCAGGCT
TGCGCCCATGTGGAAGATTCCCTACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTATGGGCCGTGTCTCAGTCCCAT
TGTGGCCGATCAGTCTCTCAACTCGGCTATGCATCATCGCCTTGGTAGGCCGTTACCCACCAACAA
GCTAATGCACCGCAGGTCCATCCAGAAGTGATAGCGAGAAGCCATCTTTAAGCGTTGTTTCATGCG
ACAACGCTGTTATGCGGTATTAGCATCTGTTTCCAAATGTTGTCCCCGCTTCTGGGCAGGTTACC
TACGTGTTACTACCCGTCCGCCACTCGTTGGCGACCAAAATCAATCAGGTGCAAGCACCATCAAT
CAATTGGGC

> **BF 211 nolu izolat**

AAAACGCGGTTAATTTTCCACCCCGCCGGGGCGCGGTGTGCCTGAAATTCCCGGCCGGGAAATTT
AACCTTAGGCCGGAATTTCCCGGACCTTTCGGTTGTTAGGGCCGGAGGTTTGCCAGGCCCTTACAA
GGTTCCGAAACTGAGAAATGGCTTTTAAGAGATTAGCTTGACCTCGCGGTCTCGCAACTCGTTGTA
CCATCCATTGTAGCACGTGTGTAGCCCAGGTCATAAGGGGCATGATGATTTGACGTCATCCCCACC
TTCCTCCGGTTTGTACCCGGCAGTCTTACTAGAGTGCCCAACTAAATGCTGGCAACTAGTCATAAG
GGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCATGCACCAC
CTGTCATTTTGCCCCGAAGGGGAAACCTGATCTCTCAGGTGATCAAAGATGTCAAGACCTGGTA
AGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAACCACATGCTCACGCTGTGGCGGGCCCCCGTCAATCCCTTG
AGTTTCAACCTTGCGGTCGTAATCCAGGCGGAATGCTTAATGCGTTAGCTGCGGCACTGAAGGG
CGGAAACCCTCCAACACCTAGCATTATCGTTTACGGCATGGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTC
GCTACCCATGCTTTCGAGCCTCAGCGTCAGTTACAGACCAGACAGCCGCTTTCGCCACTGGTGTTC
TCCATATATCTACGCATTTACCCGCTACACATGGAGTTCCACTGTCTCTTCTGCACTCAAGTTTCCC
AGTTTCCGATGCACTTCTCGGTTAAGCCGAGGGCTTTCACATCAGACTTAAAAAACCGCCTGCGC
TCGCTTACGCCAATAAATCCGGATAACGCTTGCCACCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGT
AGTTAGCCGTGGCTTCTGTTGGATACCGTCACGCCGACAACAGTTACTCTGCCGACCATTCTTCT
CCAACAACAGAGTTTACGACCCGAAAGCCTTCTTCACTCACGCGGCGTTGCTCCATCAGACTTGC
GTCCATTGTGGAAGATTCCTACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTTTGGGCCGTGTCTCAGTCCCAATGT
GGCCGATCAACCTCTCAGTTCGGCTACGTATCATTGCCTTGGTGAGCCGTTACCTACCAACTAGCT
AATACGCCGCGGGTCCATCCAAAAGCGATAGCTTACGCCATCTTTCAGCCAAGAACCATGCGGTTT
TTGGATTTATGCGGTATTAGCATCTGTTTCCAAATGTTATCCCCACTTAAGGGCAGGTTACCCACG
TGTTACTCACCC

> **BF 214 nolu izolat**

CGGTGTGTACAAGGCCCGGGAACGTATTCACCGCGGCATGCTGATCCGCGATTACTAGCGATTCCG
ACTTCGTGCAGGCGAGTTGCAGCCTGCAGTCCGAACTGAGAACGGTTTTAAGAGATTTGCTTGCC
TCGCGAGTTCGCGACTCGTTGTACCGTCCATTGTAGCACGTGTGTAGCCCAGGTCATAAGGGGCAT
GATGATCTGACGTGTCCTCCACCTTCTCCGGTTTGTACCCGGCAGTCTCACTAGAGTGCCCAACTT
AATGCTGGCAACTAGTAACAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGA
GCTGACGACGACCATGCACCACCTGTCATTGCGTTCCCGAAGGAAACGCCCTATCTCTAGGGTTGG
CGCAAGATGTCAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTAGCTTTCGAATTAACCACATGCTCCACCGCT
TGTGCGGGCCCCCGTCAATTCCTTTGAGTTTCAACCTTGCGGTCTGACTCCCCAGGCGGAGTGCTTA
ATGCGTTAGCTCCGGCACTGAAGGGCGGAAACCCTCCAACACCTAGCACTCATCGTTTACGGCATG
GACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTTCGCTACCCATGCTTTC

> BF 215 nolu izolat

ACGCCACCGGCTTCGGGTGTTACAAACTCTCATGGTGTGACGGGCGGTGTGTACAAGGCCCGGGAA
CGTATTCACCGCGGCGTGCTGATCCGCGATTACTAGCGATTCCGACTTCGTGTAGGCGAGTTGCAG
CCTACAGTCCGAACTGAGAATGGCTTTAAGAGATTAGCTTGACCTCGCGGTCTCGCAACTCGTTGT
ACCATCCATTGTAGCACGTGTGTAGCCCAGGTCATAAGGGGCATGATGATTTGACGTCATCCCCAC
CTTCCTCCGGTTTGTACCCGGCAGTCTTACTAGAGTGCCAACTAAATGCTGGCAACTAGTCATAAG
GGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCATGCACCAC
CTGTCATTTTGGCCCCGAAGGGGAAACCTGATCTCTCAGGTGATCAAAGATGTCAAGACCTGGTA
AGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAACACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCCT
TTGAGTTTCAACCTTTCGGTTCGTACTCCCCAGGCGGAATGCTTAATGCGTTAGCTGCGGCACTGAA
GGGCGGAAACCTCCAACACCTAGCATTATCGTTTACGGCATGGACTACCAGGGTATCTAATCCT
GTTCGCTACCATGCTTTTCGAGCCTCAGCGTCAGTTACAGACCAGACAGCCGCTTCGCCACTGGTGTT
CTTCCCATATATCTACGCATTTACCGCTACACATGGAGTTTCCACTGTCTCTTCTGCACTCAAGTT
TCCCAGTTTCCGATGCACTTCCTCGGTTAAGCCGAGGGCTTTCACATCAGACTTAAAAAACCGCCTG
CGCTCGCTTTACGCCAATAAATCCGGATAACGCTTGCCACCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCA
CGTAGTTAGCCGTGGCTTTCTGGTTGGATACCGTCACGCCGACAACAGTTACTCTGCCGACCATTCT
TCTCCAACAACAGAGTTTTACGACCCGAAAGCCTTCTTCACTCACGCGGCGTTGCTCCATCAGACTT
GCGTCCATTGTGGAAGATTCCCTACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTTTGGGCCGTGTCTCAGTCCCAAT
GTGGCCGATCAACCTCTCAGTTCGGCTACGTATCATTGCCTTGGTGAGCCGTTACCTACCAACTAG
CTAATACGCCGCGGGTCCATCCAAAAGCGATAGCTTACGCCATCTTTCAGCCAAGAACCATGCGGT
TCTTGGATTTATGCGGTATTAGCATCTGTTTCCAAATGTTATCCCCACTTAAGGGCAGGTTACCCA
CGTGTTACTCACCCGTCC

> BF 217 nolu izolat

CCGACTTTGGGTGTTACAAACTCTCATGGTGTGACGGGCGGTGGGTACAAGGCCCGGGAACGTATT
CACCGCGGCATGCTGATCCGCGATTACTAGCGATTCCGACTTCGTGCAGGCGAGTTGCAGCCTGCA
GTCCGAAGTGAAGAACGGTTTTAAGAGATTTGCTTGCCCTCGCGAGTTCGCGACTCGTTGTACCGTCC
ATTGTAGCACGTGTGTAGCCCAGGTCATAAGGGGCATGATGATCTGACGTCGTCCCCACCTTCCTC
CGGTTTGTACCGGCAGTCTCACTAGAGTGCCCAACTTAATGCTGGCAACTAGTAACAAGGGTTGC
GCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACGACCATGCACCACCTGTCA
TTGCGTTCCCGAAGGAAACGCCCTATCTCTAGGGTTGGCGCAAGATGTCAAGACCTGGTAAGGTTT
TTCGCGTAGCTTCGAATTAACCACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCCTTTGAGT
TTCAACCTTGCGGTCGTAATCCCCAGGCGGAGTGCTTAATGCGTTAGCTCCGGCACTGAAGGGCGG
AAACCCTCCAACACCTAGCACTCATCGTTTACGGCATGGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTCGCT
ACCCATGCTTTCGAGTCTCAGCGTCAGTTGCAGACCAGGTAGCCGCCTTCGCCACTGGTGTTCTTCC
ATATATCTACGCATTCCACCGCTACACATGGAGTTCCACTACCCTCTTCTGCACTCAAGTTATCCAG
TTTCCGATGCACTTCTCCGGTTAAGCCGAAGGCTTTCACATCAGACTTAGAAAACCGCCTGCACTCT
CTTTACGCCCAATAAATCCGGATAACGCTTGCCACCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGTAGTT
AGCCGTGACTTTCTGGTTAAATACCGTCAACGTATGAACAGTTACTCTCATACGTGTTCTTTTAA
CAACAGAGCTTTACGAGCCGAAACCCTTCTTCACTCACGCGGTGTTGCTCCATCAGGCTTGCGCC
ATTGTGGAAGATTCCCTACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTATGGGCCGTGTCTCAGTCCCATTGTGGCC
GATCAGTCTCTCAACTCGGCTATGCATCATCGCCTTGGTAGGCCGTTACCCACCAACAAGCTAAT
GCACCGCAGGTCCATCCAGAAGTGATAGCGAGAAGCCATCTTTAAGCGTTGTTTCATGCGAACAAC
GTTGTTATGCGGTATTAGCATCTGTTTCCAAATGTTGTCCCCCGCTTCTGGGCAGGTTACCTACGTG
TACTCACCCGTCCGCCACTCGTTGGCGACCAAAATCAATCAGGTGCAAGCACCATCAATCAA

> **BF 218 nolu izolat**

GGTGTGACGGGCGGTGTGTACAAGGCCCGGGAACGTATTCACCGCGGCGTGCTGATCCGCGATTAC
TAGCGATTCCGACTTCGTGTAGGCGAGTTGCAGCCTACAGTCCGAACTGAGAATGGCTTTAAGAGA
TTAGCTTGACCTCGCGGTCTCGCAACTCGTTGTACCATCCATTGTAGCACGTGTGTAGCCCAGGTCA
TAAGGGGCATGATGATTTGACGTCATCCCCACCTTCTCCGGTTTGTACCGGCAGTCTTACTAGAG
TGCCCAACTAAATGCTGGCAACTAGTCATAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCT
CACGACACGAGCTGACGACAACCATGCACCACCTGTCATTTTTGCCCCGAAGGGGAAACCTGATCT
CTCAGGTGATCAAAGATGTCAAGACCTGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAACCACATG
CTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCCGTCAATTCTTTGAGTTTCAACCTTGCGGTCGTACTCCCCAGGC
GGAATGCTTAATGCGTTAGCTGCGGCACTGAAGGGCGGAAACCCTCCAACACCTAGCATTTCATCGT
TTACGGCATGGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTGCTACCCATGCTTTCGAGCCTCAGCGTCAGT
TACAGACCAGACAGCCGCTTCGCCACTGGTGTCTTCCATATATCTACGCATTTACCGCTACACA
TGGAGTTCCACTGTCTCTTCTGCACTCAAGTTTCCAGTTTCCGATGCGCTTCCTCGGTTAAGCCG
AGGGCTTTCACATCAGACTTAAAAAACCGCCTGCGCTCGCTTTACGCCCAATAAATCCGGATAACG
CTTGCCACCTACGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGTAGTTAGCCGTGGCTTTCTGGTTGGATACCGT
CACGCCGACAACAGTTACTCTGCCGACCATTCTTCTCCAACAACAGAGTTTTACGACCCGAAAGCC
TTCTTCACTCACGCGGCGTTGCTCCATCAGACTTGCCTCATTGTGGAAGATTCCCTACTGCTGCCT
CCCCTAGGAGTTTGGGCCGTGTCTCAGTCCCAATGTGGCCGATCAACCTCTCAGTTCGGCTACGTAT
CATCGCCTTGGTGAGCCATTACCTCACCAACTAGCTAATACGCCGCGGGTCCATCCAAAAGCGATA
GCTTACGCCATCTTTCAGCCAAGAACCATGCGGTTCTTGGATCTATGCGGTATTAGCATCTGTTTCC
AAATGTTATCCCCACTTAAGGGCAGGTTACCCACGTGTTACTCACCC

ÖZGEÇMİŞ

24 Mayıs 1984 tarihinde Bağdat'da doğdu. Lise öğrenimini 2002 yılında Malkara Anadolu Lisesi'nde tamamladı. 2003 yılında Trakya Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü'nde başladığı öğrenimini 2007 yılında bitirdi. Aynı yıl Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı'nda başladığı Yüksek Lisans öğrenimini 2009 yılında tamamladı. 2009 Yılında doktora eğitimine başladı. Halen Namık Kemal Üniversitesi Sağlık Yüksekokulu Beslenme ve Diyetetik Bölümünde Öğretim Görevlisi olarak çalışmaktadır.