



MARMARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**LİKEN ÖZÜTLERİNİN *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*
QUORUM SENSİNG MEKANİZMASI VE BİYOFİLM
FORMU ÜZERİNE ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ**

İPEK TÜRKMENOĞLU

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Biyoloji Anabilim Dalı

Biyoloji Programı

DANIŞMAN

Prof. Dr. Nüzhet Cenk SESAL

İSTANBUL, 2022



MARMARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**LİKEN ÖZÜTLERİNİN *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*
QUORUM SENSİNG MEKANİZMASI VE BİYOFİLM
FORMU ÜZERİNE ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ**

İPEK TÜRKMENOĞLU

520117022

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Biyoloji Anabilim Dalı

Biyoloji Programı

DANIŞMAN

Prof. Dr. Nüzhet Cenk SESAL

İSTANBUL, 2022



MARMARA UNIVERSITY
INSTITUTE FOR GRADUATE STUDIES
IN PURE AND APPLIED SCIENCES



**DETERMINING THE EFFECTS OF LICHEN EXTRACTS
ON *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* QUORUM SENSING
MECHANISM AND BIOFILM FORM**

İPEK TÜRKMENOĞLU

520117022

MASTER THESIS

Department of Biology

Biology Program

Thesis Supervisor

Prof. Dr. Nüzhet Cenk SESAL

ISTANBUL, 2022

TEŞEKKÜR

Lisans ve yüksek lisans sürecinde, bilgi ve tecrübelerini paylaşarak çalışmalarında yardımcı olan değerli danışmanım Prof. Dr. Nüzhet Cenk SESAL’a teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Tez çalışmalarında laboratuvarlarını kullanma imkânı sunan değerli hocalarım Prof. Dr. Bülent Oktay AKKOYUNLU ve Doç. Dr. Murat ERDEM’e teşekkürlerimi sunarım.

Çalışma süresince yol göstericiliğiyle desteğini ve sevgisini hissettiğim değerli hocam Doç. Dr. Didem BERBER’e teşekkür ederim.

Tez çalışmalarında bilgileriyle destek olan Dr. Birkan AÇIKGÖZ ve Dr. Barış GÖKALSIN’a teşekkür ederim. Bu süreçte yardımları ve destekleri için arkadaşlarım Elif YAMAN, Elif YEDİKARDEŞ, Orçun TOKSÖZ, Jenya DURSUN ve bütün SesalLab üyelerine teşekkür ederim. Lisans hayatımdan beri hem arkadaş hem de çalışma partneri olarak destek ve sevgisini esirgemediğim yanımda olan Arhun Ali BALKAN’a çok teşekkür ederim.

Hayatım boyunca her anımda sevgileri ve destekleriyle yanımda olan, seçimlerimi destekleyip arkamda durarak varlıklarından güç aldığım canım annem Melek Sema TÜRKMENOĞLU ve canım babam Mucip TÜRKMENOĞLU’na sevgi, saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Nisan / 2022

İpek TÜRKMENOĞLU

İÇİNDEKİLER	SAYFA
TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
SEMBOLLER	vii
KISALTMALAR	viii
ŞEKİL LİSTESİ	ix
TABLO LİSTESİ	xi
1. GİRİŞ	1
1.1. Biyofilm Oluşumu	3
1.2. Quorum Sensing Mekanizması	4
1.3. <i>Staphylococcus aureus</i>	5
1.3.1. Morfolojisi ve özellikleri	5
1.3.2. Biyofilm formu	6
1.3.3. Quorum sensing mekanizmaları	7
1.4. Quorum Sensing ve Biyofilm İnhibisyonu	8
1.5. Likenlerin Kullanımları	9
2. MATERYAL ve YÖNTEM	11
2.1. Materyal	11
2.1.1. Bakteri suşları	11
2.1.2. Kullanılan sarf ve kimyasallar	11
2.1.3. Kullanılan cihazlar	13
2.1.4. Besiyerlerinin hazırlanması	14
2.1.4.1. Sıvı Besiyeri–Tryptic Soy Broth (TSB) Besiyeri	14
2.1.4.2. Katı Besiyeri–Tryptic Soy Broth (TSA) Besiyeri	14
2.1.4.3. Sıvı Minimal Besiyeri–M9 Minimal Besiyeri	15

2.2. Yöntem	15
2.2.1. Likenlerin temini ve muhafazası	15
2.2.2. Çalışmalarda test edilen liken türleri	15
2.2.2.1. <i>Usnea chaetophora</i> Stirt.	15
2.2.2.2. <i>Hypogymnia physodes</i> (L.) Nyl.	16
2.2.2.3. <i>Evernia prunastri</i> (L.) Ach.	16
2.2.2.4. <i>Bryoria capillaris</i> (Ach.) Brodo & D. Hawksw.	16
2.2.2.5. <i>Pseudevernia furfuracea</i> (L.) Zopf.	17
2.2.2.6. <i>Ramalina fraxinea</i> (L.) Ach.	17
2.2.3. Liken özütünün eldesi	17
2.2.4. Bakteri suşlarının temini, çoğaltılması ve saklanması	18
2.2.5. Liken özütlerinin <i>S. aureus</i> ATCC25923 yabancı tip suşunda büyüme eğrilerine etkilerinin belirlenmesi (MİK)	19
2.2.6. Liken özütlerinin <i>S. aureus</i> biyosensör suşlarında anti-QS etkinliklerinin belirlenmesi	19
2.2.7. Liken özütlerinin <i>S. aureus</i> ATCC25923 yabancı tip suşunda anti-biyofilm etkinliklerinin belirlenmesi	20
3. BULGULAR ve TARTIŞMA	22
3.1. Bulgular	22
3.1.1. Liken özütlerinin <i>S. aureus</i> ATCC25923 yabancı tip suşunda büyüme eğrilerine etkileri (MİK)	22
3.1.2. Liken özütlerinin <i>S. aureus</i> P2 Lac biyosensör suşunda anti-QS etkileri	26
3.1.3. Liken özütlerinin <i>S. aureus</i> P3 Lac biyosensör suşunda anti-QS etkileri	30
3.1.4. Liken özütlerinin <i>S. aureus</i> ATCC25923 yabancı tip suşunda anti-biyofilm etkileri	33
3.2. Tartışma	37

4. SONUÇLAR	41
KAYNAKLAR	42
ÖZGEÇMİŞ	



ÖZET

LİKEN ÖZÜTLERİNİN *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* QUORUM SENSİNG MEKANİZMASI VE BİYOFİLM FORMU ÜZERİNE ETKİLERİNİN BELİRLENMESİ

Antibiyotiklere direnç gösteren fırsatçı patojen bakterilerin giderek yaygınlaşması sonucu kronik enfeksiyonların sayısı artmakta ve insan sağlığı ciddi sorunlarla karşılaşmaktadır. Hastalık Kontrol ve Korunma Merkezleri (CDC) tarafından yayınlanan 2019 yılı raporuna göre, ABD'de her yıl 2.8 milyondan fazla antibiyotiğe dirençli enfeksiyon vakalarının meydana geldiği ve bunun sonucunda 35.000'den fazla insanın hayatını kaybettiği bildirilmektedir. *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), dünyada gıda ve yoğun bakım ünitelerinden kaynaklı olarak toplum ve hastane yoluyla enfeksiyonlara yol açan önemli mikroorganizmalardan biri olduğu bilinmektedir. Quorum Sensing (QS) mekanizmasının, virülans üretimi ve biyofilm oluşumu yoluyla savunma mekanizmalarının aktivasyonuna yanıt olarak gen ekspresyon modelini değiştiren bakteriyel bir iletişim süreci olduğu literatürde bildirilmektedir. QS sistemlerinin doğal bileşiklerle inhibisyonu, geleneksel antibiyotiklere alternatif bir yaklaşım olabilmektedir. Liken özütlerinden biyoaktif metabolit üretme potansiyeli, yeni doğal ilaçlar için dikkat çekmektedir. Bu çalışmada, *S. aureus*'a karşı liken özütlerinin QS ve biyofilm inhibisyon potansiyeli araştırılmıştır. Bursa–Alaçam yöresinden liken örnekleri toplanmıştır ve aseton çözücüsü ile ekstre edilmiştir. Belirli konsantrasyonlarda test edilmiştir. *S. aureus* P2 *Lac-gfp* ve P3 *Lac-gfp* biyosensör suşları ile *S. aureus* ATCC25923 yabanıl tip suşu, QS ve biyofilm deneyleri için kullanılmıştır. Biyosensör suşlarda anti-QS ve yabanıl suşta anti-biyofilm için inhibisyon oranları incelendiğinde ortak olarak *Usnea chaetophora*, *Hypogymnia physodes* ve *Pseudevernia furfuracea* liken özütlerinin etkili olduğu görülmüştür. Liken özütleri gibi doğal bileşiklerin taranması, gelecekteki QS inhibitör ilaçları için fırsatlar sağlayabileceği düşünülmektedir.

ABSTRACT

DETERMINING THE EFFECTS OF LICHEN EXTRACTS ON *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* QUORUM SENSING MECHANISM AND BIOFILM FORM

As opportunistic pathogenic bacteria resistant to antibiotics become more widespread, the number of chronic infections is increasing, and human health is facing serious problems. According to the 2019 report published by the Center for Disease Control and Prevention, it is reported that more than 2.8 million antibiotic-resistant infections occur in the USA every year, and more than 35.000 people die as a result. *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) is known to be one of the important microorganisms that cause infections in the community and hospital, originating from food and intensive care units in the world. *S. aureus* is one of the important microorganisms that cause community and hospital infections. It is specified in literary sources that QS mechanism is a bacterial communication process that leads to changes in gene expression such as producing virulence factors and forming biofilm as a response to the activation of the organism's defense mechanism. Blocking the QS mechanism with natural sources can be an alternative to antibiotics. Metabolite productions from lichens are noteworthy for new natural remedies. In this study, the QS and biofilm inhibition potential of lichen extracts against *S. aureus* was investigated. Lichen samples were collected from Bursa region and extracted with acetone solvent. Tested at specific concentrations. *S. aureus* biomonitor strains *P2 Lac-gfp* and *P3 Lac-gfp* and wild type strain *S. aureus* ATCC25923 were used for QS and biofilm experiments. When the inhibition rates for anti-QS and anti-biofilm were examined, *Usnea chaetophora*, *Hypogymnia physodes* and *Pseudevernia furfuracea* lichen extracts were found to be effective. It is envisaged that natural compounds such as lichen extracts may be opportunities for new QS inhibitory agents.

SEMBOLLER

°C	: Santigrat Derece
%	: Yüzde
G	: Gram
mg	: Miligram
µg	: Mikrogram
L	: Litre
mL	: Mililitre
µl	: Mikrolitre
nm	: Nanometre
NaCl	: Sodyum Klorür
MgSO₄	: Magnezyum Sülfat
CaCl₂	: Kalsiyum Klorür

KISALTMALAR

Agr	: Aksesuar Gen Düzenleyici (Accessory Gene Regulator)
AHL	: Açıl Homoserin Lakton (Acyl Homoserine Lactone)
AI	: Otoindüktör (Autoinducer)
AIP	: Otoindüktör Peptit (Autoinducer Peptide)
ATCC	: Amerikan Tip Kültür Koleksiyonu (American Type Culture Collection)
CDC	: Hastalık Kontrol ve Korunma Merkezleri (Centers for Disease Control and Prevention)
DMSO	: Dimetil Sülfoksit
DNA	: Deoksiribonükleik asit (Deoxyribonucleic acid)
ECM	: Ekstrasellüler Matriks (Extracellular Matrix)
eDNA	: Çevresel DNA (Environmental DNA)
FTS	: Fizyolojik Tuzlu Su
GFP	: Yeşil Floresan Protein (Green Fluorescent Protein)
ica	: İntersellüler Adezin (Intercellular Adhesin)
MİK	: Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (Minimum Inhibition Concentration)
MRSA	: Metisilin Dirençli <i>Staphylococcus aureus</i> (Methicillin Resistant <i>S. aureus</i>)
OD	: Optik Yoğunluk (Optical Density)
OECD	: Ekonomik Kalkınma ve İş Birliği Örgütü (Organisation for Economic Co-operation and Development)
PIA	: Polisakkarit İntersellüler Adezin (Polysaccharide Intercellular Adhesin)
PNAG	: N-asetil- β -1-6-glikozamin (Poly-acetyl-glucosamine)
QS	: Salt Yoğunluk Algılama (Quorum Sensing)
QSI	: Salt Yoğunluk Algılama İnhibitörü (Quorum Sensing Inhibitor)
RFU	: Göreli Floresans Birimleri (Relative Fluorescence Units)
RNA	: Ribonükleik Asit (Ribonucleic Acid)
Sa	: Saat
UV	: Ultraviyole (Ultraviolet)
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization)

ŞEKİL LİSTESİ	SAYFA
Şekil 1.1. Biyofilm formu aşamaları	4
Şekil 1.2. Gram– negatif ve Gram– pozitif bakterilerin sinyal yolları	5
Şekil 1.3. Biyofilm operonunun şeması	7
Şekil 1.4. Biyofilm yapı moleküllerinin kimyasal formülleri	7
Şekil 1.5. <i>S. aureus</i> QS sinyal yolağı	8
Şekil 2.1. <i>Usnea chaetophora</i> likeni genel görünümü	15
Şekil 2.2. <i>Hypogymnia physodes</i> likeni genel görünümü	16
Şekil 2.3. <i>Evernia prunastri</i> likeni genel görünümü	16
Şekil 2.4. <i>Bryoria capillaris</i> likeni genel görünümü	16
Şekil 2.5. <i>Pseudevernia furfuracea</i> likeni genel görünümü	17
Şekil 2.6. <i>Ramalina fraxinea</i> likeni genel görünümü	17
Şekil 2.7. Liken örneklerinin özüt aşamaları–1	18
Şekil 2.8. Liken örneklerinin özüt aşamaları–2	18
Şekil 2.9. Deney dilüsyon uygulama şeması	21
Şekil 3.1. MİK grafik örneğı	22
Şekil 3.2. Farklı konsantrasyonlarda <i>Usnea chaetophora</i> liken özütü uygulanmış <i>S. aureus</i> ATCC25923 suşuna ait büyüme eğrisi	23
Şekil 3.3. Farklı konsantrasyonlarda <i>Hypogymnia physodes</i> liken özütü uygulanmış <i>S. aureus</i> ATCC25923 suşuna ait büyüme eğrisi	23
Şekil 3.4. Farklı konsantrasyonlarda <i>Evernia prunastri</i> liken özütü uygulanmış <i>S. aureus</i> ATCC25923 suşuna ait büyüme eğrisi	24
Şekil 3.5. Farklı konsantrasyonlarda <i>Bryoria capillaris</i> liken özütü uygulanmış <i>S. aureus</i> ATCC25923 suşuna ait büyüme eğrisi	24
Şekil 3.6. Farklı konsantrasyonlarda <i>Pseudevernia furfuracea</i> liken özütü uygulanmış <i>S. aureus</i> ATCC25923 suşuna ait büyüme eğrisi	25
Şekil 3.7. Farklı konsantrasyonlarda <i>Ramalina fraxinea</i> liken özütü uygulanmış <i>S. aureus</i> ATCC25923 suşuna ait büyüme eğrisi	25
Şekil 3.8. QS grafik örneğı	26
Şekil 3.9. Farklı konsantrasyonlarda <i>Usnea chaetophora</i> liken özütü uygulanmış <i>S. aureus</i> P2 Lac biyosensör suşuna ait floresans/absorbans eğrileri	27
Şekil 3.10. Farklı konsantrasyonlarda <i>Hypogymnia physodes</i> liken özütü uygulanmış <i>S. aureus</i> P2 Lac biyosensör suşuna ait floresans/absorbans eğrileri	27
Şekil 3.11. Farklı konsantrasyonlarda <i>Evernia prunastri</i> liken özütü uygulanmış <i>S. aureus</i> P2 Lac biyosensör suşuna ait floresans/absorbans eğrileri	28

Şekil 3.12. Farklı konsantrasyonlarda <i>Bryoria capillaris</i> liken özütü uygulanmış <i>S. aureus</i> P2 Lac biyosensör suşuna ait floresans/absorbans eğrileri	28
Şekil 3.13. Farklı konsantrasyonlarda <i>Pseudevernia furfuracea</i> liken özütü uygulanmış <i>S. aureus</i> P2 Lac biyosensör suşuna ait floresans/absorbans eğrileri	29
Şekil 3.14. Farklı konsantrasyonlarda <i>Ramalina fraxinea</i> liken özütü uygulanmış <i>S. aureus</i> P2 Lac biyosensör suşuna ait floresans/absorbans eğrileri	29
Şekil 3.15. Farklı konsantrasyonlarda <i>Usnea chaetophora</i> liken özütü uygulanmış <i>S. aureus</i> P3 Lac biyosensör suşuna ait floresans/absorbans eğrileri	30
Şekil 3.16. Farklı konsantrasyonlarda <i>Hypogymnia physodes</i> liken özütü uygulanmış <i>S. aureus</i> P3 Lac biyosensör suşuna ait floresans/absorbans eğrileri	30
Şekil 3.17. Farklı konsantrasyonlarda <i>Evernia prunastri</i> liken özütü uygulanmış <i>S. aureus</i> P3 Lac biyosensör suşuna ait floresans/absorbans eğrileri	31
Şekil 3.18. Farklı konsantrasyonlarda <i>Bryoria capillaris</i> liken özütü uygulanmış <i>S. aureus</i> P3 Lac biyosensör suşuna ait floresans/absorbans eğrileri	31
Şekil 3.19. Farklı konsantrasyonlarda <i>Pseudevernia furfuracea</i> liken özütü uygulanmış <i>S. aureus</i> P3 Lac biyosensör suşuna ait floresans/absorbans eğrileri	32
Şekil 3.20. Farklı konsantrasyonlarda <i>Ramalina fraxinea</i> liken özütü uygulanmış <i>S. aureus</i> P3 Lac biyosensör suşuna ait floresans/absorbans eğrileri	32
Şekil 3.21. Biyofilm grafik örneği	33
Şekil 3.22. Farklı konsantrasyonlarda <i>Usnea chaetophora</i> liken özütü uygulanmış <i>S. aureus</i> ATCC25923 yabanıl tip suşuna ait biyofilm yüzdeleri	34
Şekil 3.23. Farklı konsantrasyonlarda <i>Hypogymnia physodes</i> liken özütü uygulanmış <i>S. aureus</i> ATCC25923 yabanıl tip suşuna ait biyofilm yüzdeleri	34
Şekil 3.24. Farklı konsantrasyonlarda <i>Evernia prunastri</i> liken özütü uygulanmış <i>S. aureus</i> ATCC25923 yabanıl tip suşuna ait biyofilm yüzdeleri	35
Şekil 3.25. Farklı konsantrasyonlarda <i>Bryoria capillaris</i> liken özütü uygulanmış <i>S. aureus</i> ATCC25923 yabanıl tip suşuna ait biyofilm yüzdeleri	35
Şekil 3.26. Farklı konsantrasyonlarda <i>Pseudevernia furfuracea</i> liken özütü uygulanmış <i>S. aureus</i> ATCC25923 yabanıl tip suşuna ait biyofilm yüzdeleri	36
Şekil 3.27. Farklı konsantrasyonlarda <i>Ramalina fraxinea</i> liken özütü uygulanmış <i>S. aureus</i> ATCC25923 yabanıl tip suşuna ait biyofilm yüzdeleri	36

TABLO LİSTESİ**SAYFA****Tablo 2.1.** Çalışmada kullanılan liken özütleri ve konsantrasyonları**18****Tablo 2.2.** Çalışmada kullanılan *Staphylococcus aureus* suşları**19****Tablo 3.1.** Liken özütlerinin deney sonuçları**37**

1. GİRİŞ

Antibiyotikler, mikroorganizmaların neden olduğu enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde kullanılan, klinik araştırmalar için önemli ilaçlardır. Antibiyotiklerin keşfi ile enfeksiyon hastalıklarına bağlı morbidite (hasta olma oranı) ve mortalitede (ölüm oranı) oranları azalmaktadır. Bununla birlikte mikroorganizmaların direnç kazandığı ve enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde etkisini kaybettiği görülmektedir. Antibiyotiklerin, bakterileri öldürme ya da üremelerini durdurma etkilerini kaybetmeleri antibiyotik direnci olarak bilinmektedir. Artan antibiyotik direncinin temelinde aşırı antibiyotik kullanımı, gereksiz reçeteleme, gıda ve hayvancılıkta yaygın antibiyotik kullanımı ve yeni antibiyotiklerin geliştirilmesindeki güçlüklerin yattığı belirtilmektedir (Ventola, 2015). Antibiyotiklerin yanlış, yaygın ve gereksiz kullanımı, enfeksiyon hastalıklarının tedavisini her geçen gün daha da zorlaştırmaktadır. Ekonomik Kalkınma ve İş Birliği Örgütü (OECD), antibiyotik direncinin küresel bağlamda yaklaşık 700.000 kişinin ölümüne neden olduğunu ve mevcut direnç seviyesinin %40 oranında artması durumunda bu sayının 9.5 milyona ulaşabileceğini tahmin etmektedir (OECD, 2016).

Dünyada ve ülkemizde antibiyotiklerin yaygın ve de yanlış kullanımlarına bağlı olarak bakterilerde hızla artan bir antibiyotik direnci meydana gelmektedir (Mohr, 2016). Avrupa'da her yıl antibiyotiğe dirençli bakterilerden kaynaklı gerçekleşen enfeksiyonlardan dolayı 25.000 kişinin yaşamını yitirdiği bildirilmektedir (ECDC–EMEA, 2009). Hastalık Kontrol ve Korunma Merkezleri (CDC) tarafından yayınlanan 2019 yılı raporuna göre, ABD'de her yıl 2.8 milyondan fazla antibiyotiğe dirençli enfeksiyon vakalarının meydana geldiği ve bunun sonucunda 35.000'den fazla insanın hayatını kaybettiği bildirilmektedir (CDC, 2019). Dolayısıyla antibiyotiklere direnç gösteren patojenlerin yaygınlaşması sonucu risk faktörü yüksek enfeksiyonların sayısının giderek artması ile insan sağlığı ciddi sorunlarla karşılaşmaktadır (Neufeld ve ark., 2017).

Dünya çapında yüksek dağılım gösterebilen *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*)'un, fırsatçı patojen bakteri türlerinden biri olduğu bilinmektedir. Stafilokoklar doğada çok yaygın olarak bulunan Gram–pozitif, fakültatif anaerob (oksijen yokluğunda yaşayabilen) bakteriler olup enfeksiyon etkeni olarak en sık karşımıza çıkan bakterilerden olduğu bildirilmektedir. *S. aureus*, hastane ve toplum kaynaklı enfeksiyonlara önemli bir kaynak oluşturmaktadır. Deri ve yumuşak doku

enfeksiyonları, bakteriyemi (kan dolaşımında bakterilerin varlığı), endokardit (kalbin iç zarında veya kalp kapakçıklarında iltihaplanma), menenjit (beyin ve omurilik zarında iltihaplanma), perikardit (kalp dış zarında iltihap), pulmoner enfeksiyonların en önemli etkenlerindendir. *S. aureus* ayrıca antimikrobiyal ajanlara karşı geliştirdiği direnç mekanizmalarıyla önem kazanmaktadır (Randrianirina ve ark., 2007).

ABD Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi, çoğu kritik enfeksiyonun %65'inin bakterilerin oluşturduğu biyofilmler tarafından kaynaklandığını belirtmektedir (Hall–Stoodley ve ark., 2004; Lewis, 2007). *S. aureus*'un neden olduğu kronik biyofilm ile ilişkili enfeksiyonlar, özellikle kalıcı tıbbi cihazlarla ilişkili olduğunda, sıklıkla morbidite ve mortalitede önemli artışlara yol açmaktadır (Moormeier ve Bayles, 2017). Bakteriler, biyofilm oluşturmak için proteinler, karbonhidratlar ve/veya hücre dışı DNA'dan (eDNA) oluşan, kendi ürettikleri bir hücre dışı matris (ECM) üretirler; bu hücreleri, düşmanca veya aşırı ortamlarda hayatta kalmayı kolaylaştıran yapışkan bir matris içinde kaplamaktadırlar (Flemming ve Wingender, 2001).

S. aureus dâhil olmak üzere birçok bakteri sahip oldukları biyofilm formuna dönüşebilme yeteneği ile çeşitli zorlu ortamlarda hayatta kalabilmektedir. Biyofilm formu oluşumunun Quorum Sensing (QS) mekanizması ile bağlantılı bir süreç olduğu literatürde belirtilmektedir (Carlier ve ark., 2014). QS mekanizmasında bakteriler otoindüktör olarak adlandırılan spesifik sinyal molekülleri salgılamaktadır. Popülasyon yoğunluğunun artmasıyla, salgılanan spesifik sinyal moleküllerinin sayısında artış gözlenmektedir. Ortamda birikmeye devam eden sinyal molekülleri belli bir eşik sınırını aştıktan sonra, hücrelerle etkileşime girmektedir (Solano ve ark., 2014).

Stafilokoklarda, bakteriyel yoğunluğu algılama ve genetik adaptasyonlarla yanıt verme yeteneği, Aksesuar gen düzenleyici (Agr) adı verilen bir ana sistemden kaynaklanmaktadır. Agr QS sistemi, transkripsiyonu sırasıyla P2 ve P3 promotörleri tarafından yönlendirilen RNAII ve RNAIII olmak üzere iki farklı transkripsiyonel birimden oluşmaktadır (Le ve Otto, 2015). RNAII lokusu; agrB, agrD, agrC ve agrA olmak üzere dört gen içermektedir. Agr'nin hücre dışı sinyali, agrD'nin kodladığı ve tiyolakton yapısı içeren otoindüktör peptid (AIP) olarak adlandırılan bir peptid öncüsüdür (Ji ve ark., 1995). AgrB, türe bağlı olarak olgun AIP'yi işlemektedir ve beş amino asit tiyolakton halkası olan yedi ila dokuz amino asitli bir peptide aktarmaktadır. AIP, fosfatı AgrA'ya dönüştüren bir oto–kinaz reseptörü olan AgrC'yi aktive etmektedir.

Fosfo–AgrA, fenolde çözünür modüllerini (bir peptid toksin ailesi) kodlayan genlerin ve bir düzenleyici RNA, RNAlII kodlayan bir genin ekspresyonunu aktive etmektedir (Le ve Otto, 2015).

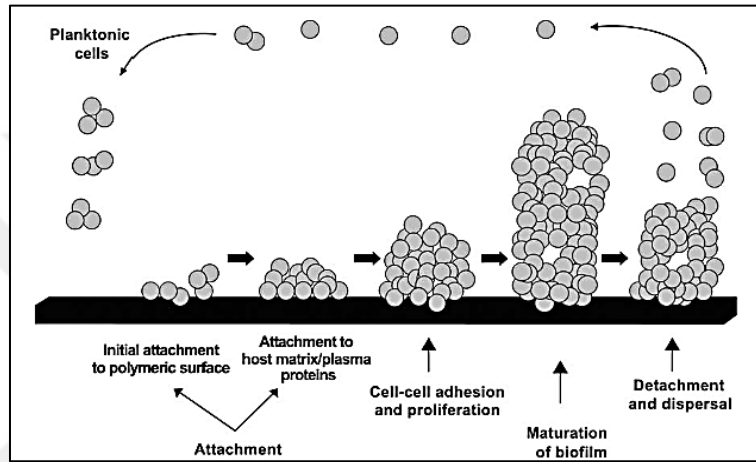
Patojen bakterilerde antibiyotik direncinin giderek artması sonucunda bu türlerin meydana getirdikleri hastalıkların tedavisinde yetersiz kalınmasının global bir sorun haline gelmesinden dolayı yeni tedavi stratejilerine ihtiyaç duyulmaktadır (Fuqua ve Greenberg, 2002). Son yıllarda uygulanan antivirölans tedavi yaklaşımlarından biri olan QS sisteminin inhibisyonunu (QSI) sağlayacak inhibitör moleküllerin belirlenmesinin önemli bir aşama olduğu düşünülmektedir. Literatürde çeşitli QSI moleküllerin doğal kaynaklardan örneğin bitki, liken ve alg gibi elde edilebildiği veya sentetik olarak üretilbildiği görülmektedir. İlaç hammaddesi geliştirilmesinde sentezlenen doğal bileşikler önemli yer tutmaktadır.

Mantarlar ve alglerin bir araya gelerek oluşturduğu ürün olan likenler, liken maddeleri olarak isimlendirilen ve likene has sekonder metabolitleri sentezlemektedirler (Huneck, 1999). Likenler çevresel koşullara uyum sağlama ve savunma aracı olarak bu ürettikleri metabolitleri kullanmaktadırlar (Çobanoğlu ve ark., 2016). Metabolizmaları sonucu açığa çıkan ve antimikrobiyal etkiye sahip bu maddeler izole haldeki mantar ve algde bulunmamaktadır (Harmala ve ark., 1992). Özellikle bu maddeler Gram–pozitif bakterilerde, Gram–negatif bakterilere oranla daha etkili olmaktadır. Ülkemizde, son yıllarda liken kimyasının, antimikrobiyal, antioksidan gibi biyolojik aktivitelerinin araştırıldığı çalışmalar artmaktadır.

1.1. Biyofilm Oluşumu

Hastalıkların büyük çoğunluğunun biyofilm oluşturan bakterilerden kaynaklandığı bilinmektedir. Planktonik bakterilerin (yüzeye bağlı olmadan serbest halde yaşayan) neden olduğu enfeksiyonlar genellikle antibiyotikle tedavi edilebilirken, biyofilm formuna sahip bakterilerin antibiyotiklere karşı 1000–3000 kat daha fazla dirençli olmaktadır (Mohammed ve Huang, 2007; Kalia, 2013). Biyofilm formları, bakterileri birbirine ve yüzeye bağlayan matrikse gömülü bakterilerden oluşmaktadır (Hmelo, 2017). Matriks yapısı; proteinler, karbonhidratlar ve/veya hücre dışı DNA’dan üretilmektedir. Bu sayede hücrelerin stresli veya aşırı ortamlarda hayatta kalması sağlanabilmektedir (Flemming ve Wingender, 2001). Biyofilm oluşumu bakteri türleri

arasında farklılık gösterse de temel ardışık aşamalardan oluşmaktadır. (i) bağlanma, (ii) birikim/olgunlaşma ve (iii) ayrılma/dağılma (O'Toole ve ark., 2000; Hall-Stoodley ve ark., 2004; Kostakiti ve ark., 2013). Biyofilm tabakası normal immün (bağışıklık) cevabı önlemekte ve antibiyotiklerin penetrasyonunu (hücre içine alınımı) bozmaktadır. Bu nedenle biyofilm oluşturan bakterilerin neden olduğu enfeksiyonların ortadan kaldırılması zorlaşmaktadır (Costerton ve ark.,1999; Stewart ve Costerton, 2001; Donlan ve Costerton, 2002).

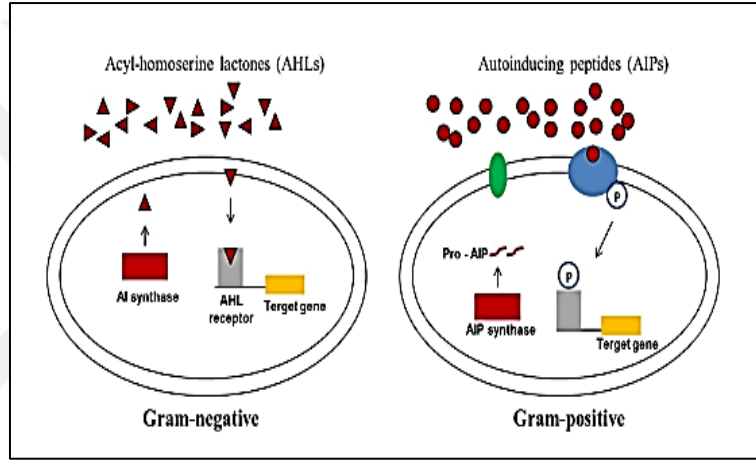


Şekil 1.1. Biyofilm formu aşamaları. 1) Bakterinin yüzeye tutunması, 2) Hücrelerin yüzeye bağlanmaları, 3) Mikro kolonilerin oluşması, 4) Mikro kolonilerin olgunlaşması, 5) Farklı bölgelere koloni oluşturulmak üzere hücrelerin biyofilm formundan kopması. (Speziale ve ark., 2008).

1.2. Quorum Sensing Mekanizması

Birçok bakterinin virülans faktörlerinin ve biyofilm oluşumunun Quorum Sensing (QS) mekanizmalarıyla ilişkili olduğu bilinmektedir (Mukherjee ve ark., 2017). QS, bakterilerin hücre yoğunluğuna ve ortama göre davranışlarını uyarladıkları bir mekanizmadır (Rémy ve ark., 2018). Bu mekanizmada mikroorganizma–mikroorganizma ve konakçı–mikroorganizma etkileşimleri olmak üzere davranışları koordine ve senkronize etmek için QS sinyalleri kullanılmaktadır (Popenfort ve Bassler, 2016). QS sinyal molekülleri otoindüktör (AI) olarak adlandırılmaktadır. Bakteri popülasyonu arttıkça sinyal moleküllerinin yoğunluğu da artmaktadır. Sinyal molekülleri belli bir eşik sınırını aştıkça etkileşime girerek, QS mekanizmasını aktive etmektedir (Solano ve ark., 2014).

QS sinyal molekülleri bakteriler arasında farklılık göstermektedir. Gram–negatif bakterilerde QS mekanizması Açıl Homoserin Lakton (AHL) adı verilen sinyal molekülleri ile yürütülmektedir. Gram–pozitif bakterilerde ise Otoindüktör Peptit (AIP) adı verilen kısa oligopeptitler (iki ve/veya daha fazla sayıda aminoasit içeren peptit yapısı) tarafından yürütülmektedir (Altınok ve ark., 2018). Belirtilen sinyal molekülleri ile aktive ettikleri QS mekanizmaları sayesinde bakteriler pigment üretimi, motilite (hareket yeteneği), biyofilm oluşumu ve virülans faktörleri gibi patojeniteye (hastalık yapma yeteneği) neden olan işlemleri yapmalarını sağlamaktadır (Rutherford ve Bassler, 2012).



Şekil 1.2. Gram– negatif ve Gram– pozitif bakterilerin sinyal yolları (Méndez–Vilas , 2011).

1.3. *Staphylococcus aureus*

1.3.1. Morfolojisi ve özellikleri

Staphylococcaceae familyasına ait olan *Staphylococcus aureus*, familyanın en patojen türüdür. Gram–pozitif, kok (küre) şeklinde ve fakültatif anaerob (oksijen yokluğunda yaşayabilen) özellikte olup 7–48 °C arasında üreyebilen bir bakteridir. İnsan ve hayvanların solunum sistemi ile sindirim sistemlerinde kommensal (bir organizmanın üzerinde veya içerisinde yaşayan ancak zarar vermeyen organizma) olarak bulunmasına karşın enfeksiyon ve besin zehirlenmelerinde bu patojene sıklıkla rastlanmaktadır (Sağlam ve Şeker, 2016). Çeşitli ortam şartlarına oldukça dayanıklı ve çevresel kaynaklarda yaygın bulunmaktadır. *S. aureus* yapay kalp kapakçıkları ve eklem

protezleri gibi tıbbi ekipmanlarda bulunabilmesinin yanı sıra su ve süt ürünlerinde de bulunarak gıda zehirlenmelerinde de saptanmaktadır (McConoughey ve ark., 2014).

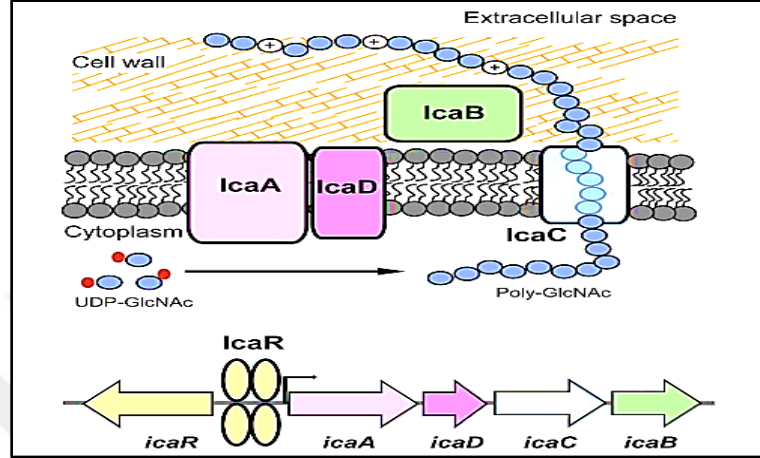
Neden olduğu rahatsızlıklar arasında sepsis (kan zehirlenmesi), bakteriyemi (kan dolaşımında bakterilerin varlığı), pnömoni (akciğer yangısı), endokardit (kalbin iç zarında veya kalp kapakçıklarında iltihaplanma) ve metastatik (sıçramalı) enfeksiyonlar gibi hastalıklar ya da toksin kaynaklı toksik şoklar görülebilmektedir (Yalaz ve ark., 2004). Tedavileri için geliştirilmiş olan metisilin antibiyotiğine direnç oluşturarak Metisilin Dirençli *S. aureus* (MRSA) bakterileri hayatımızda görülmektedir (Özen, 2011).

1.3.2. Biyofilm formu

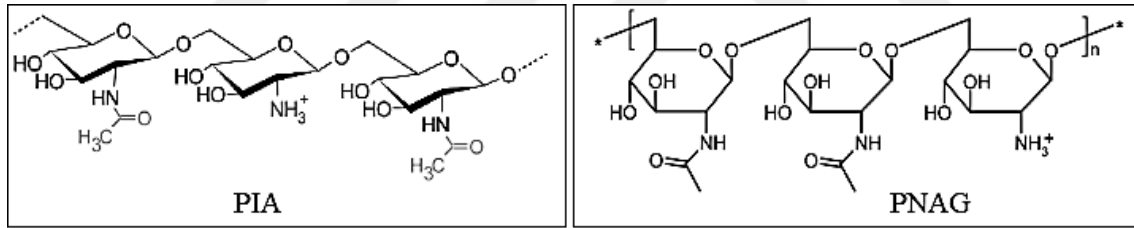
Kronik enfeksiyonlar ve direnç kazanımları *Staphylococcus aureus*' un biyofilm oluşturma yeteneği ile ilişkilendirilmektedir. Özellikle yapay kalp kapakçıkları ve eklem protezleri gibi tıbbi cihazlarda biyofilm oluşturarak kronik enfeksiyonlara neden olmasıyla sıklıkla morbidite (hasta olma oranı) ve mortalitede (ölüm oranı) önemli artışlara yol açmaktadır (Ribeiro ve ark., 2012; McConoughey ve ark., 2014; Moormeier & Bayles, 2017). Biyofilm çalışmaları, *S. aureus* biyofilmlerinin kalın hücre katmanları halinde olgunlaşarak sonrasında ayrılma mekanizmalarının tetiklendiğini ve alt popülasyonlarının mikro koloniler oluşturarak dağıldığını göstermektedir (Yarwood ve ark., 2004; Horswill, 2008; Periasamy ve ark., 2012).

S. aureus'larda *icaADBC* adı verilen operon (gen kümesi) bulunmaktadır. Bu operon Polisakkarit İnterselüler Adezin (PIA) ve N-asetil- β -1-6-glikozamin (PNAG) maddelerinden oluşmuş, poli-N-süksinil- β -1-6-glikozamin (PIA-PNAG) adı verilen tutunma matriksini üretmektedir (Cramton, 1999; Kiedrowski, 2011; Szveda, 2012; Szczuka, 2013). PIA maddesi hücrelerin yüzeye ve birbirlerine yapışmasını sağlarken, PNAG maddesi ise biyofilm tabakasının ana bileşenini oluşturmaktadır. *icaA* geni PNAG maddesinin sentezinde görev alan N-asetilglikozamil transferaz enzimini kodlamasında ve ekspresyonunda (protein yapılarına dönüşme süreçleri) görev almaktadır. *icaD* geni ise enzimin maksimum ekspresyonunu sağlamaktadır (Gad, 2009). Yapılan çalışmalarda *icaA* ve *icaD* geni arasında bağlantı olduğu tespit edildiği bildirilmektedir. Tek başına düşük aktivite gösterirken, birlikte işlevsel olduklarında aktivitede belirgin artış gözlenmektedir. Operonda yer alan diğer gen olan *icaC* geni

Polisakkarit İnterselüler Adezini (PIA) ifade ettiği düşünülürken, *icaB* geninin tam olarak işlevi bilinmemektedir (Gad ve ark., 2009). Bununla birlikte *icaB* geninin bazı kaynaklara göre PNAG maddesinin miktarını ayarlama dolaylı görev aldığı bildirilmektedir (Cerca ve ark., 2007).



Şekil 1.3. Biyofilm operonunun şeması (Nguyen ve ark., 2020).



Şekil 1.4. Biyofilm yapı moleküllerinin kimyasal formülleri (Gökçen ve ark., 2013; Nguyen ve ark., 2020).

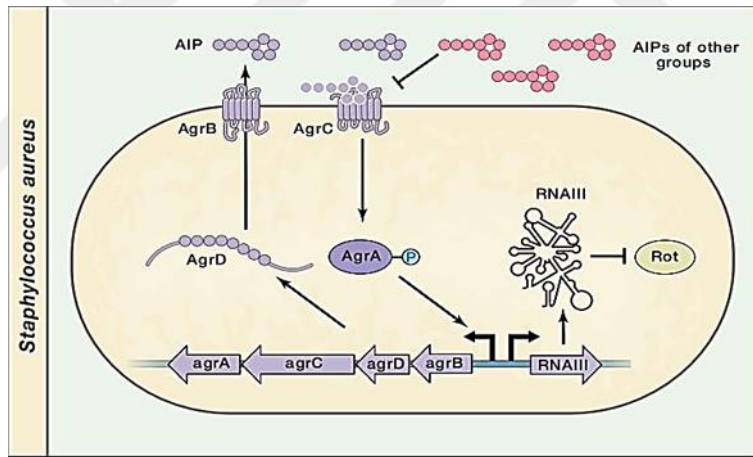
1.3.3. Quorum sensing mekanizmaları

Stafilokoklar bulundukları ortama otoindüktör (AI) adı verilen molekülleri salgılamaktadır. Bu moleküllerin yoğunluğu belli bir eşiği geçtiğinde Quorum Sensing (QS) mekanizması aktive olmaktadır. Stafilokoklarda QS mekanizması, aksesuar gen düzenleyici (Agr) sistemle düzenlenmektedir. Agr sistemi; P2 ve P3 promotörlerini içermektedir.

P2 promotörü *agrB*, *agrD*, *agrC* ve *agrA* ürünlerini oluşturan RNA II'yi kodlamaktadır (Yarwood ve ark., 2004; Novick ve Geisinger, 2008). P3 promotörü ise *Staphylococcus aureus*' ta yoğunluğa bağlı olarak virülans faktörlerini oluşturan ve

patojeniteyi düzenleyen RNA III'ü kodlamaktadır (Janzon ve Arvidson, 1990; Morfeldt ve ark., 1995; Novick ve Geisinger, 2008; Svenningsen, 2018). RNA III hücre adezyon (yapışma) ve rot (toksin baskılayıcı) proteinlerinin mRNA çevirilerini bloke eder.

P2 promotörü tarafından oluşturulan dört ürün gerçek sinyalizasyonu gerçekleştirmektedir. *AgrD*, öncül otoindüktör peptid (pro-AIP) molekülünü kodlamaktadır. *AgrB*, pro-AIP'yi işleyip olgun AIP'ye dönüştürmektedir ve hücrel boşluğa taşımaktadır. *AgrD* ve *agrB* sinyal molekülünü üretmek için birlikte çalışmaktadır (Novick ve Geisinger, 2008; Le ve Otto, 2015). Hücrel boşlukta zamanla biriken AIP molekülü sensör bir kinaz olan *agrC*'ye bağlanmaktadır (Peng ve ark., 1988; Lina ve ark., 1998; Novick ve Geisinger, 2008). Birikim sonrası *agrC*, bir yanıt düzenleyici olan *agrA* 'yı fosforile ederek fosfo-*agrA*'ya dönüştürmektedir. Fosfo-*agrA*, P2 ve P3 promotörlerine bağlanarak döngüyü yeniden başlatmaktadır (Novick, 2003; Novick ve Geisinger, 2008; Le ve Otto, 2015).



Şekil 1.5. *S. aureus* QS sinyal yolağı (Eickhoff ve Bassler, 2018).

1.4. Quorum Sensing ve Biyofilm İnhibisyonu

Küresel antimikrobiyal direnç sorunu ve çoğu enfeksiyonun nedeni olarak bakteriyel biyofilm oluşturma'nın önemi nedeniyle, anti-biyofilm aktivitesine sahip yeni biyoaktif bileşiklere ihtiyaç gerekmektedir (Balkan, 2020; Mishra ve Muthukaliannan, 2022). Günümüzde bakteriyel biyofilm ilişkili enfeksiyonları tedavi etmek için kullanılan antibiyotiklerin uygun olmayan klinik tepkileri ve hızlı bozulmaları bulunmaktadır (Davies, 2003). Biyofilm enfeksiyonlarını tedavi etmek için kullanılan çeşitli teknikler arasında faj aracılı eradikasyon, Quorum Sensing İnhibitörleri (QSI) ve

diğer fiziksel yöntemler bulunmaktadır (Ivanova ve ark., 2017).

QS mekanizması, yapıştırılan yüzeyde virülans, yeterlilik ve biyofilm oluşumu dahil olmak üzere farklı süreçleri düzenlemektedir (Queck ve ark., 2008). QS sistemi, bakteriye virülans faktörlerini ve patojeniteyi düzenlemekte görev almaktadır ve salgılanmış sinyal molekülleri üretip serbest bırakmaktadır (Abisado ve ark., 2018). Sinyal molekülleri aracılığıyla QS sistemi aktivasyonu, patojenik bakterilerde antibiyotik direnci geliştiren biyofilm oluşumuna yol açmaktadır (Lee ve ark., 2014).

QS, patojenin virülans faktörlerini ve biyofilm üretimini düzenlemektedir. Mikrobiyal hücrelerin popülasyon yoğunluğundaki artış, mikroorganizmalar arasında hücre–hücre iletişimini mümkün kılmaktadır ve bu da QS sinyali ile sonuçlanmaktadır. Farklı virülans düzenleyici faktörlerin üretimini ve biyofilm oluşumunu düzenlemektedir (Paluch ve ark., 2020; Mishra ve Muthukaliannan, 2022).

Virülansla ilgili genler, QS mekanizmaları tarafından düzenlenmektedir. QS mekanizması bakterilerin virülans faktörünü kontrol ettiğinden, yeni tedavi yöntemlerini bulmak için ana hedef olarak kabul edilmektedir (Svenningsen, 2018). Biyofilmi engelleyebilecek etkili QSI bileşiklerinin bulunması, antibiyotiklerin veya ilaçların antimikrobiyal direncini azaltmaktadır (Lee ve ark., 2014; Abisado ve ark., 2018).

1.5. Likenlerin Kullanımları

Farmasötik hammaddelerin geliştirilmesi için bitkiler veya bunlardan elde edilen doğal veya yarı sentetik ürünler tercih edilmektedir. Bitkiler gibi likenler de eski çağlardan beri tıbbi özellikleri nedeniyle birçok hastalığın tedavisinde kullanılmıştır. Likenler, çok yönlü kullanımları olan değerli kaynaklardır. Antik çağlardan beri sadece halk hekimliğinde değil, dünyanın birçok ülkesinde gıda, kozmetik, baharat ve boyalarda bilinmekte ve kullanılmaktadır (Balkan, 2020).

Likenler biyotik ve abiyotik streslere maruz kalmaktadır ve sekonder metabolitlerin üretimi ile bu durumlarla başa çıkmaktadır (Deduke ve ark., 2012; Fernandez–Morianio ve ark., 2016). Likenler metabolizmalarının bir sonucu olarak yaklaşık 1050 sekonder metabolite sahip olduğu bildirilmektedir (Shukla ve ark., 2010; Çobanoğlu ve ark., 2016). Literatürlerde yer alan çalışmalar, hastalıkların önlenmesinde kullanılan likenlerin iyileştirici özelliklerinin asidik özelliklere sahip sekonder metabolit bileşenlerinden kaynaklandığını göstermektedir (Açıkgöz ve ark., 2013; Nguyen ve ark.,

2014). Bu metabolitlerin antimikrobiyal, antibakteriyel, anti-QS, anti-biyofilm, antikanser, antioksidan, antifungal, antitümör, antiviral ve enzim inhibe edici özellikleri gibi çok çeşitli alanlarda yüksek aktiviteleri literatürdeki çalışmalarda sunulmaktadır (Bhattarai ve ark., 2008; Guo ve ark., 2008; Paudel ve ark., 2012; Açıkgöz ve ark., 2013; Özenoğlu ve ark., 2013; Nguyen ve ark., 2014; Schinkovitz ve ark., 2014; Basile ve ark., 2015; Nithyanand ve ark., 2015; Pathak ve ark., 2015; Yang ve ark., 2015; Emsen ve ark., 2016; Gunasekaran ve ark., 2016; Jain ve Jain, 2016; Oran ve ark., 2016; Saeed, 2016; Shrestha ve ark., 2016; Studzińska-Sroka ve ark., 2016; Xu ve ark., 2016; Özyiğitoğlu ve ark., 2017; Yang ve ark., 2018; Gökalsın ve ark., 2019).

Tıbbi özellikleri nedeniyle antik çağlardan beri dünyada birçok hastalığın tedavisinde kullanılan likenler, yeni anti-QS ve anti-biyofilm moleküllerin keşfinde kullanılabilecek önemli bir biyokaynak grubu olarak kabul edilmektedir. Liken ekstraktlarından biyoaktif metabolitler üretme potansiyeli, yeni QSI doğal ilaçlar için oldukça dikkat çekmektedir.

Bu doğrultuda çalışmamızın amacı antibiyotiklere alternatif olabilecek QSI moleküllerini/özütlerini saptayarak yeni yaklaşım için biyokaynak olarak kazandırılmak istenmektedir.

- Likenlerin temini. Zengin sekonder metabolit içeriğine sahip olması nedeniyle potansiyel inhibe edici etkiye sahip olabileceği düşünülmüştür.
- Liken özütlerinin eldesi. İçerdiği sekonder metabolitleri yoğun şekilde elde etmek amacıyla aseton çözücüsü ile özütü elde edilmiştir.
- Liken özütlerinin büyüme eğrilerine etkilerinin belirlenmesi. Antibiyotiğin aksine öldürmeden iletişim kesilmek istendiğinden öldürücü etkilerinin olup/olmadığı belirlenmiştir.
- Liken özütlerinin anti-QS / anti-biyofilm etkinliklerinin belirlenmesi. Öldürücü etki göstermeyen konsantrasyonlardaki liken özütlerinin QS yolağındaki etkileri ve buna bağlı olarak biyofilm miktarlarındaki değişimleri gözlemlenmiştir.

2. MATERYAL ve YÖNTEM

2.1. Materyal

2.1.1. Bakteri suşları

1. *Staphylococcus aureus* ATCC25923 (Yabanıl Tip)
2. *Staphylococcus aureus* P2 *Lac-gfp* (Biyosensör Suş)
3. *Staphylococcus aureus* P3 *Lac-gfp* (Biyosensör Suş)

2.1.2. Kullanılan sarf ve kimyasallar

1. Tryptic soy broth (TSB) besiyeri (Sigma–Almanya)
2. Tryptic soy agar (TSA) besiyeri (Sigma–Almanya)
3. M9 minimal besiyeri (Amresco–ABD)
4. Bacto agar (BD–BD)
5. Nitril eldiven (Broche–Türkiye)
6. Portüp (Sinanson–Türkiye)
7. Cam deney tüpleri (Sinanson–Türkiye)
8. Kapsenberg tüp kapakları (Sinanson–Türkiye)
9. Bek alevi
10. Platin öze
11. Cam bağıt
12. Ayırma hunisi (Sinanson–Türkiye)
13. Cam huni (Sinanson–Türkiye)
14. Şilifli cam balon (Isolab–Türkiye)
15. Erlen (Isolab–Türkiye)
16. Otoklav şişesi (Sinanson–Türkiye)
17. Porselen havan ve tokmak (Isolab–Türkiye)

18. Plastik petri kapları (Fıratmed–Türkiye)
19. 96 kuyucuklu siyah mikrolaka (Thermo–ABD)
20. 96 kuyucuklu şeffaf mikrolaka (TPP–İsviçre)
21. Filtre (Whatman–İngiltere)
22. Pipet ucu (Rainin–ABD)
23. Spektrofotometre küveti (Hellma–Almanya)
24. Santrifüj tüpleri (Isolab–Türkiye)
25. Portüp (Isolab–Türkiye)
26. Alüminyum folyo (Koroplast–Türkiye)
27. Distile su
28. Etanol (Merck–ABD)
29. Aseton (Merck–ABD)
30. Asetik asit (Merck–ABD)
31. DMSO / Dimetil sülfoksit (C_2H_6OS) (Merck–ABD)
32. Gliserol (Isolab–Türkiye)
33. Kloramfenikol (Eczacıbaşı–Türkiye)
34. Kazamino asit (BD–ABD)
35. Tiyamin (Duchefa–Hollanda)
36. Glukoz (Merck–ABD)
37. Magnezyum sülfat (Merck–ABD)
38. Kalsiyum klorür (Merck–ABD)
39. Sodyum klorür (Merck–ABD)
40. Kristal viyole (Sigma–Almanya)

2.1.3. Kullanılan cihazlar

1. **Dijital Hassas Terazı (Ohaus-A.B.D.):** Besiyeri, özüt ve antibiyotik hazırlamada katı malzemelerin tartımı için kullanılmıştır.
2. **Rotary Evaporatör (Heidolph-Almanya):** Liken özütlerinin eldesinde fazla çözücüyü uçurmak için kullanılmıştır.
3. **Distile Su Cihazı (Millipore-A.B.D.):** Besiyeri, özüt ve antibiyotik hazırlamalarında kullanılmıştır.
4. **Manyetik Karıştırıcı (WiseStir-Almanya):** Besiyerleri ve kimyasalların homojenizasyonunda kullanılmıştır.
5. **Mikrodalga Fırın (Phillips-Almanya):** Besiyerleri hazırlanması için kullanılmıştır.
6. **Otoklav (Nüve-Türkiye):** Besiyerlerinin ve cam malzemelerin sterilizasyonu için kullanılmıştır.
7. **Mikropipetler (Thermo-A.B.D.):** Besiyerleri, kimyasallar ve bakteri kültürlerinin aktarımlarında kullanılmıştır.
8. **pH Metre (Thermo-A.B.D.):** Besiyerlerinin ve kimyasalların pH ayarlamasında kullanılmıştır.
9. **Steril Güvenlik Kabini (Faster ve Esco-İtalya ve Singapur):** Kimyasalların ve özütlerin hazırlanması ile deneylerin gerçekleştirilmesinde kullanılmıştır.
10. **Buzdolabı (Siemens-Almanya):** Besiyerlerin, özütlerin ve kimyasalların +4 °C’de muhafazaları için kullanılmıştır.
11. **Derin Dondurucu (Vestel-Türkiye):** Bakterilerin -20°C’de muhafazaları için kullanılmıştır.
12. **Ultra Derin Dondurucu (Esco-Singapur):** Bakterilerin -80°C’de uzun süre muhafazaları için kullanılmıştır.
13. **Vorteks (Heidolph-Almanya):** Bakteri kültürlerinin, kimyasalların ve özütlerin çalkalanmasında kullanılmıştır.

- 14. Spektrofotometre (Beckman Coulter-A.B.D.):** Bakteri kültürlerinin optik yoğunluklarının ölçümünde kullanılmıştır.
- 15. İnkübatör (Mettler-Almanya):** Bakteri suşlarının inkübasyonu için kullanılmıştır.
- 16. Mikroplaka İnkübatörü (BioTek-A.B.D.):** Bakterilerin deney sırasında inkübasyonu için kullanılmıştır.
- 17. Mikroplaka Okuyucu ve Görüntüleyici (BioTek-A.B.D.):** Bakterilerin deney ölçümleri için kullanılmıştır.
- 18. Mikroplaka Yıkayıcı (BioTek-A.B.D.):** Bakterilerin biyofilm deneyleri için kullanılmıştır.

2.1.4. Besiyerlerinin hazırlanması

2.1.4.1. Sıvı Besiyeri - Tryptic Soy Broth (TSB) Besiyeri

- 17 g Kazeinden Pepton
- 3 g Soyadan Pepton
- 2,5 g Glikoz Monohidrat
- 5 g Sodyum Klorit
- 2,5 g Dipotasyum Fosfat

30 g TSB toz besiyerinden tartılarak bir miktar distile suda çözündürüldükten sonra hacmi 1000 mL'ye tamamlanmıştır. Otoklavda 121 °C'de 15 dakika steril edilmiştir.

2.1.4.2. Katı Besiyeri - Tryptic Soy Agar (TSA) Besiyeri

- 15 g Kazeinden Pepton
- 5 g Soyadan Pepton
- 5 g Sodyum Klorit
- 15 g Agar Agar

40 g TSA toz besiyerinden tartılarak bir miktar distile suda çözündürüldükten sonra hacmi 1000 mL'ye tamamlanmıştır. Otoklavda 121 °C'de 15 dakika steril edilmiştir.

2.1.4.3. Sıvı Minimal Besiyeri - M9 Minimal Besiyeri

- 6 g Disodyum Fosfat
- 3 g Potasyum Fosfat
- 0,5 g Sodyum Klorit
- 1 g Amonyum Klorür

10,5 g M9 toz besiyerinden tartılarak bir miktar distile suda çözdürüldükten sonra hacmi 1000 mL'ye tamamlanmıştır. Otoklavda 121 °C'de 15 dakika steril edilmiştir. Sterilizasyon işleminden sonra oda sıcaklığındaki besiyerine %10'luk kazamino asit, %20'lik glukoz, 1M MgSO₄, 1M CaCl₂ ve Tiyamin eklenmiştir. Biyosensör suşlar için 7,5 µg/mL son konsantrasyon olacak şekilde kloramfenikol antibiyotiği eklenmiştir.

2.2. Yöntem

2.2.1. Likenlerin temini ve muhafazası

Bursa–Alaçam yöresinden, 40°05'48"N 29°17'48"E 1681 metre konumundan toplanmış olan çeşitli liken örnekleri Marmara Üniversitesi Biyoloji Bölümü Herbariyumu'ndan temin edilmiştir. Kâğıt zarflarda ve saklama kutularında muhafaza edilmiştir. Tür tayinleri Prof. Dr. Gülşah ÇOBANOĞLU ve ekibi tarafından, Smith çalışması kaynak olarak kullanılarak yapılmıştır (Smith, 1921).

2.2.2. Çalışmalarda test edilen liken türleri

2.2.2.1. *Usnea chaetophora* Stirt.



Parmeliaceae familyasında bulunan bir likendir. Soluk grimsi–yeşil renkleri arasında görülmektedir. Çalılar veya ağaç kabuklarında yetişirler. Ağrı kesici ve ateş düşürücü olarak kullanımları bulunmaktadır (Okuyama ve ark., 1995). Enfeksiyon, ishal durumlarında kullanılırken aynı zamanda ağrı kesici ve mantar önleyici olarak da uygulanmaktadır (Paliya ve ark., 2016). İkincil metabolitler: usnik asit, depsid, depsidones, biskantonlar, terpenoidler, alifatik asitler.

Şekil 2.1. *Usnea chaetophora* likeni genel görünümü (2022).

2.2.2.2. *Hypogymnia physodes* (L.) Nyl.



Parmeliaceae familyasında bulunan bir likendir. Parlak olmayan gri renge sahiptir. Düşük pH'lı ağaç kabukları ve taşlar üzerinde yetişirler. Ağır metallere duyarlılıkları sebebiyle biyoindikatör çalışmalarında kullanılırlar (Hamutoğlu, 2013). İkincil metabolitler: atranorin, kloroatranorin, fizodik asit.

Şekil 2.2. *Hypogymnia physodes* likeni genel görünümü (2022).

2.2.2.3. *Evernia prunastri* (L.) Ach.



Parmeliaceae familyasındaki bir liken türüdür. Yaygın olarak yaprak döken ağaçların ve köknar ve çam gibi kozalaklı ağaçların kabuğunda da bulunur. Rengi kuruyken yeşilden yeşilimsi beyaza, ıslakken koyu zeytin yeşili ile sarı–yeşil arasında değişir. İkincil metabolitler: usnik asit, atranorin, kloroatranorin, evernik asit.

Şekil 2.3. *Evernia prunastri* likeni genel görünümü (2022).

2.2.2.4. *Bryoria capillaris* (Ach.) Brodo & Hawksw.



Parmeliaceae familyasında bulunan bir likendir. Kahverengi–gri renkleri arasında görülmektedir. İğne yapraklı ağaçların üzerinde yetişirler (Öztürk ve ark., 2013). Sıyrık ve yaralarda aynı zamanda ishal durumunda kullanımları bulunmaktadır (Crawford, 2015).

İkincil metabolitler: alektorialik asit, atranorin, barbatolik asit, fumarprotocetrarik asit.

Şekil 2.4. *Bryoria capillaris* likeni genel görünümü (2022).

2.2.2.5. *Pseudevernia furfuracea* (L.) Zopf.



Parmeliaceae familyasında bulunan bir likendir. Üst yüzeyi kadifemsi dokuda ve gri–beyaz tonlarındadır. Alt yüzeyi siyah tonlarındadır (Güvenç ve ark., 2012). Ağaç kabuğu, gövdesi ve dallarında bulunur (Işık, 2021).

İkincil metabolit: benzoik asit, atranorin, oksifizodik asit ve virensik asit.

Şekil 2.5. *Pseudevernia furfuracea* likeni genel görünümü (2022).

2.2.2.6. *Ramalina fraxinea* (L.) Ach.



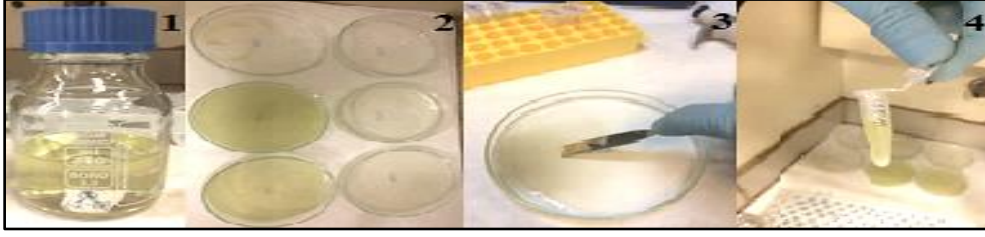
Ramalinaceae familyasında bulunan bir likendir. Gri-yeşil veya yeşilinden siyaha renklerinde görülür (Açıkgöz, 2011). Yapraklı ağaç gövdelerinde, özellikle meşe, kavak ve söğütte yaygındır.

Ramalina fraxinea, kıkırdak likeni olarak bilinir. Renk, soluk yeşilden sarı–griye, beyaz–griye kadar değişir.

Şekil 2.6. *Ramalina fraxinea* likeni genel görünümü (2022).

2.2.3. Liken özütünün eldesi

Likenler 10’ar g tartılarak küçük parçalar haline getirilmiştir. 100’er mL aseton eklenmiş ve 24 saat karanlıkta bekletilmiştir. Bekletilen örnekler filtre kağıtları ile süzülerek katı artıklarından ayrılmış ve sıvı kısımları petrilere aktararak çözücünün ortamdan uzaklaşması için bekletilmiştir. Net ağırlıkları belirlenerek üzerlerine stok konsantrasyonları 16 ile 32 mg/mL olacak şekilde %100 dimetil sülfoksit (DMSO) ilave edilmiştir. Hazırlanan özütler 0.45 µm’lik filtrelerden geçirilerek steril edilmiştir ve kullanılıncaya kadar +4 °C’de muhafaza edilmiştir.



Şekil 2.7. Liken örneklerinin özüt aşamaları–1. 1. Aseton çözücüsü ile muamele, 2. Steril cam petrilere aktarma, 3. Steril spatül ile kuru özüt eldesi, 4. Tüplere dağıtım.



Şekil 2.8. Liken örneklerinin özüt aşamaları –2.

Tablo 2.1. Çalışmada uygulanan liken özütleri ve konsantrasyonları.

Likenler	Çözücü	Stok (mg/mL)	İlk Doz (µg/mL)
<i>Hypogymnia physodes</i>	Aseton	32	80
<i>Evernia prunastri</i>	Aseton	32	80
<i>Bryoria capillaris</i>	Aseton	32	80
<i>Ramalina fraxinea</i>	Aseton	32	80
<i>Usnea chaetophora</i>	Aseton	16	80
<i>Pseudevernia furfuracea</i>	Aseton	16	80

Kuru özütlerin üzerlerine kademeli olarak dimetil sülfoksit ilave edilmiştir. Çözünebilir en yüksek konsantrasyonlar stok değerleri olarak Tablo 2.1.’de verilmektedir. Deney uygulamalarında kullanılmak üzere %2’ye seyreltilmiştir. Bazı liken özütlerinde hidrofobik özelliklerinden dolayı çökelti oluşmuştur. Bundan dolayı miktarlar tekrardan düzenlenerek ilk doz ortak olacak şekilde ayarlanmıştır.

2.2.4. Bakteri suşlarının temini, çoğaltılması ve saklanması

Çalışmada kullanılan biyosensör bakteri suşları Londra Imperial Üniversitesi, Lynn Burchell ve Prof. Sivaramesh Wigneshweraraj tarafından, *Staphylococcus aureus* ATCC25923 suşu Sesal Lab. bünyesinde temin edilmiştir. Bakteri stok kültürleri -80 °C’de ve gliserol içerisinde muhafaza edilmiştir. Stok bakteri kültürlerinden TSB

besiyerlerine ardı ardına 2 kez pasaj alınmıştır.

Tablo 2.2. Çalışmada kullanılan *Staphylococcus aureus* suşları.

<i>S. aureus</i>	Suş	Açıklama
	ATCC25923	Yabancıl tip (Wild type)
	<i>P2 LAC-gfp</i>	USA300 _{agr} IR <i>P2-GFP</i> pCL55 _{agr} IR <i>P2-GFP</i> USA300 _{WT} (Wigneshweraraj ve ark., 2013)
	<i>P3 LAC-gfp</i>	USA300 _{agr} IR <i>P3-GFP</i> pCL55 _{agr} IR <i>P3-GFP</i> USA300 _{WT} (Wigneshweraraj ve ark., 2013)

2.2.5. Liken özütlerinin *S. aureus* ATCC25923 yabancı tip suşunda büyüme eğrilerine etkilerinin belirlenmesi (MİK)

S. aureus ATCC25923 suşu kullanılarak liken özütlerinin anti-bakteriyel etkileri, mikrolaka okuyucu ile TSB besiyerinde, 37 °C’de 16 saat süresince OD 450nm absorbans ölçümleri gerçekleştirilerek belirlenmiştir. Mikrolakaların kuyucuklarına TSB besiyeri eklenmiştir. İlk kuyucuklara Tablo 2.1.’de belirtilen konsantrasyonlarda liken özütlerinin %2 seyreltilmiş halleri eklenip pipetaj işlemi yapılarak kuyucuklardan bir sonraki kuyucuğa aktarılmıştır. Aynı işlem tekrarlanarak seri dilüsyon gerçekleştirilmiştir. Seri dilüsyon yapılarak her bir özüt grubunun ½ oranında azalan konsantrasyonları elde edilmiştir. Negatif kontrol olarak seçilen kuyucuklara özüt ilavesi yapılmamıştır. Bakteri suşu 1 McFarland (yaklaşık 3x10⁸ kob/mL) standardına ayarlanarak kör olarak belirlenen kuyucuklar hariç bütün kuyucuklara eklenmiştir. Kör grubu olarak TSB besiyeri, negatif kontrol grubu olarak TSB besiyeri ile bakteri süspansiyonu kullanılmıştır. Bakterilerin büyüme miktarlarını gözlemlemek için OD 450nm absorbans ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Bu deneylerde pozitif kontrol olarak kloramfenikol antibiyotiği kullanılmıştır.

2.2.6. Liken özütlerinin *S. aureus* biyosensör suşlarında anti-QS etkinliklerinin belirlenmesi

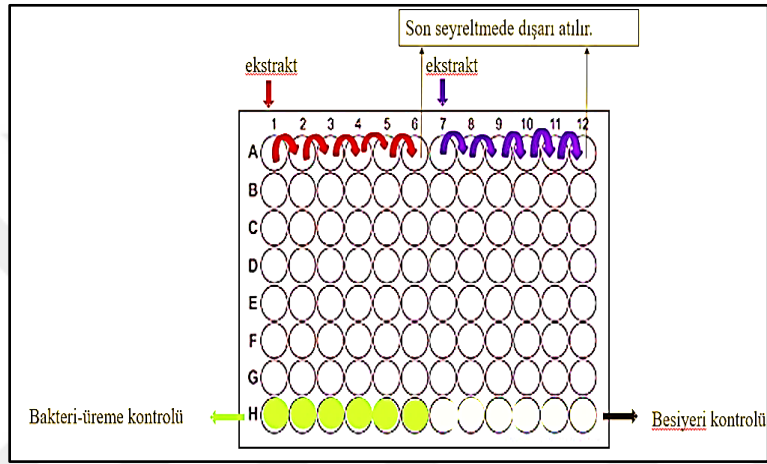
96 kuyucuklu optik siyah mikrolakalar ile mikrolaka okuyucu kullanılarak, seri mikrodilüsyon yöntemiyle, çalışmada elde edilen özütlerin QS inhibisyon testleri gerçekleştirilmiştir. Mikrolakaların hazırlanışında kuyucuklara M9 minimal besiyeri

eklenmiştir. İlk kuyucuklara Tablo 2.1.'de belirtilen konsantrasyonlarda liken özütlerinin %2 seyreltilmiş halleri eklenip pipetaj işlemi yapılarak kuyucuklardan bir sonraki kuyucuğa aktarılmıştır. Aynı işlem tekrarlanarak seri dilüsyon gerçekleştirilmiştir. Seri dilüsyon yapılarak her bir özüt grubunun ½ oranında azalan konsantrasyonları elde edilmiştir. Negatif kontrol olarak seçilen kuyucuklara özüt ilavesi yapılmamıştır. Biyosensör suşlar 1 McFarland (yaklaşık 3×10^8 kob/mL) standardına ayarlanarak kör olarak belirlenen kuyucuklar hariç bütün kuyucuklara eklenmiştir. Kör grubu olarak M9 minimal besiyeri, negatif kontrol grubu olarak M9 besiyeri ile bakteri süspansiyonu kullanılmıştır. Biyosensör suşların GFP ekspresyon miktarları mikrolaka okuyucu ile 37 °C'de 16 saat süresince 485nm eksitasyon ve 535nm emisyon dalga boylarındaki floresans ölçümleri ile büyüme miktarlarını gözlemlemek için ise OD 450nm absorbans ölçümleri gerçekleştirilmiştir.

2.2.7. Liken özütlerinin *S. aureus* ATCC25923 yabancı tip suşunda anti-biyofilm etkinliklerinin belirlenmesi

Liken özütlerinin *S. aureus* ATCC25923 suşu biyofilm formu üzerine inhibisyonu testleri 96 kuyucuklu şeffaf mikrolakalar kullanılarak seri mikrodilüsyon yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. Mikrolakaların kuyucuklarına TSB besiyeri eklenmiştir. İlk kuyucuklara Tablo 2.1.'de belirtilen konsantrasyonlarda liken özütlerinin %2 seyreltilmiş halleri eklenip pipetaj işlemi yapılarak kuyucuklardan bir sonraki kuyucuğa aktarılmıştır. Aynı işlem tekrarlanarak seri dilüsyon gerçekleştirilmiştir. Seri dilüsyon yapılarak her bir özüt grubunun ½ oranında azalan konsantrasyonları elde edilmiştir. Negatif kontrol olarak seçilen kuyucuklara özüt ilavesi yapılmamıştır. *S. aureus* ATCC25923 bakteri suşu OD 625nm: 0.02 olacak şekilde spektrofotometrede ayarlanmış ve kör olarak belirlenen kuyucuklar hariç bütün kuyucuklara eklenmiştir. Kör grubu olarak TSB besiyeri, negatif kontrol grubu olarak TSB besiyeri ile bakteri süspansiyonu kullanılmıştır. Mikrolakalar 37 °C'de 24 saat süresince inkübe edilmiştir. 24 saatlik inkübasyonun sonunda mikrolakalardaki tüm kuyucuklar planktonik bakteri hücrelerinin uzaklaştırılması için boşaltılmış ve steril FTS ile yıkanmıştır. Yıkanan mikrolakalar 60 °C'de 30 dakika süresince kurumaya bırakılmıştır. İşlem sonrasında mikrolakaların her bir kuyucuklarına %0,1'lik kristal viyole solüsyonu eklenmiş ve 37 °C'de 10 dakika süresince karanlık ortamda

bekletilmiştir. Bekleme süresi tamamlandığında fazla boyanın ortamdan uzaklaştırılması için mikrolakalar distile su ile yıkanmış ve 60 °C’de 30 dakika süresince kurumaya bırakılmıştır. Mikrolakalar kuruduktan sonraki aşamada tüm kuyucuklara içerlerinde yer alan kristal viyole solüsyonunu çözüp absorbans ölçümü sağlayabilmek amacıyla asetik asit eklenmiştir. *S. aureus* ATCC25923 suşunun biyofilm formu üzerine inhibisyon testleri multimod mikrolaka okuyucu cihazı kullanılarak OD 590nm’de absorbans ölçümleri alınarak gerçekleştirilmiştir.



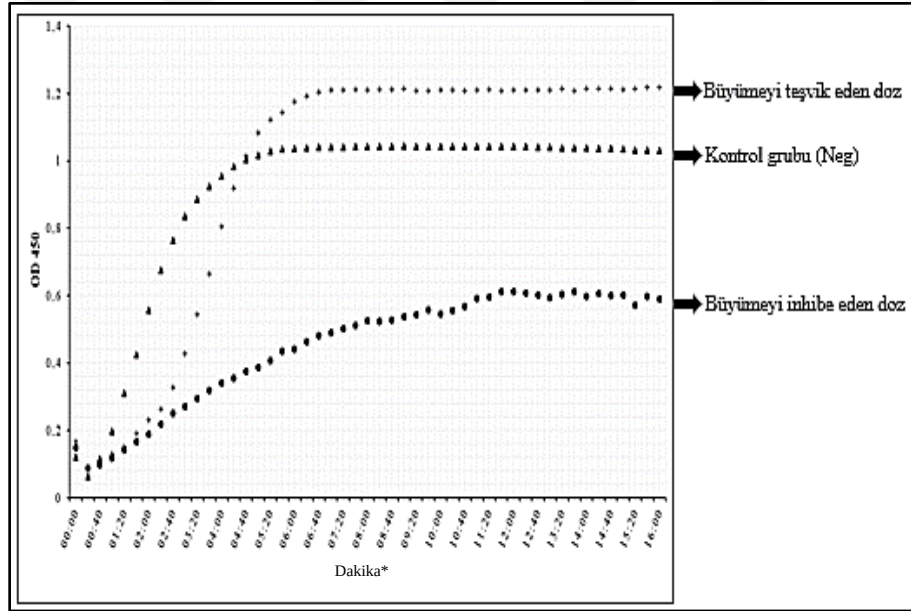
Şekil 2.9. Deney dilüsyon uygulama şeması.

3. BULGULAR ve TARTIŞMA

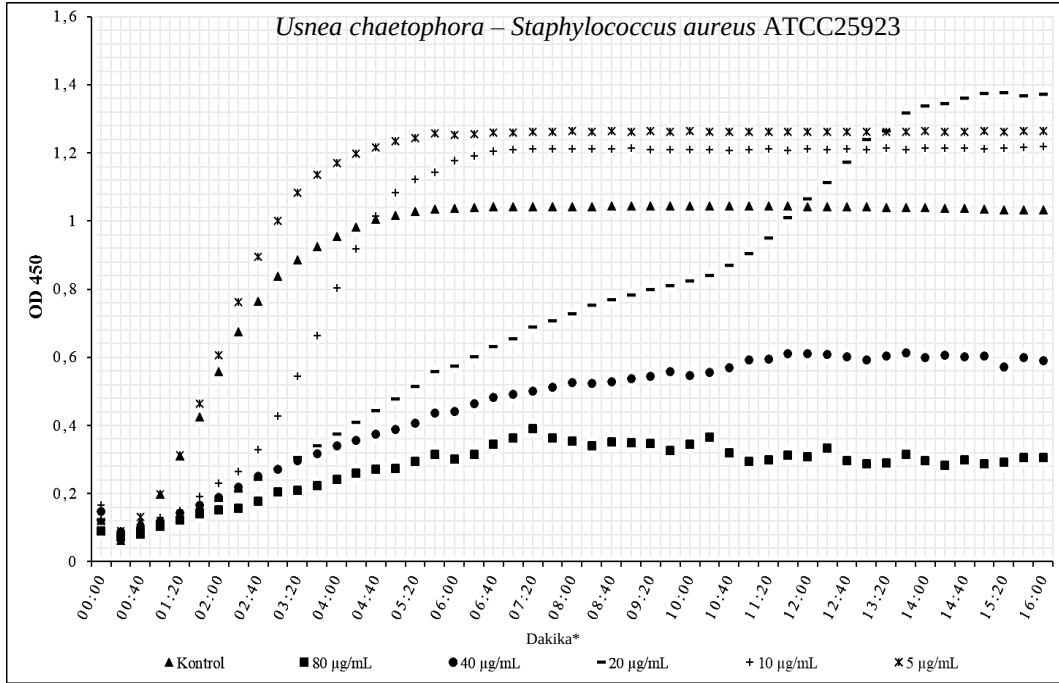
3.1. Bulgular

3.1.1. Liken özütlerinin *S. aureus* ATCC25923 yabancı tip suşunda büyüme eğrilerine etkileri (MİK)

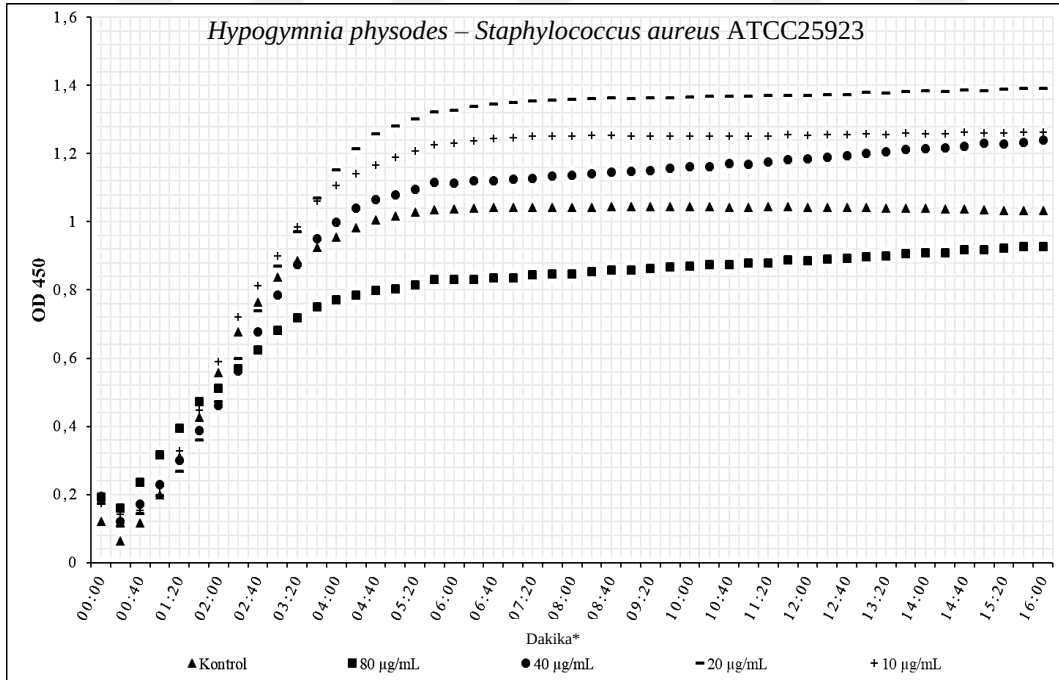
Usnea chaetophora, *Hypogymnia physodes*, *Evernia prunastri*, *Bryoria capillaris*, *Pseudevernia furfuracea* ve *Ramalina fraxinea* likenlerinin ilk dozları 80 µg/mL olan aseton özütleri *Staphylococcus aureus* ATCC25923 yabancı tip suşuna uygulanmıştır. OD 450nm’de büyüme eğrileri üzerindeki etkilerine bakılmıştır. Kontrol grubuna göre düşük OD değerine sahip olan örnekler gerçekleşen inhibisyon miktarını belirtmektedir (Şekil 3.1.).



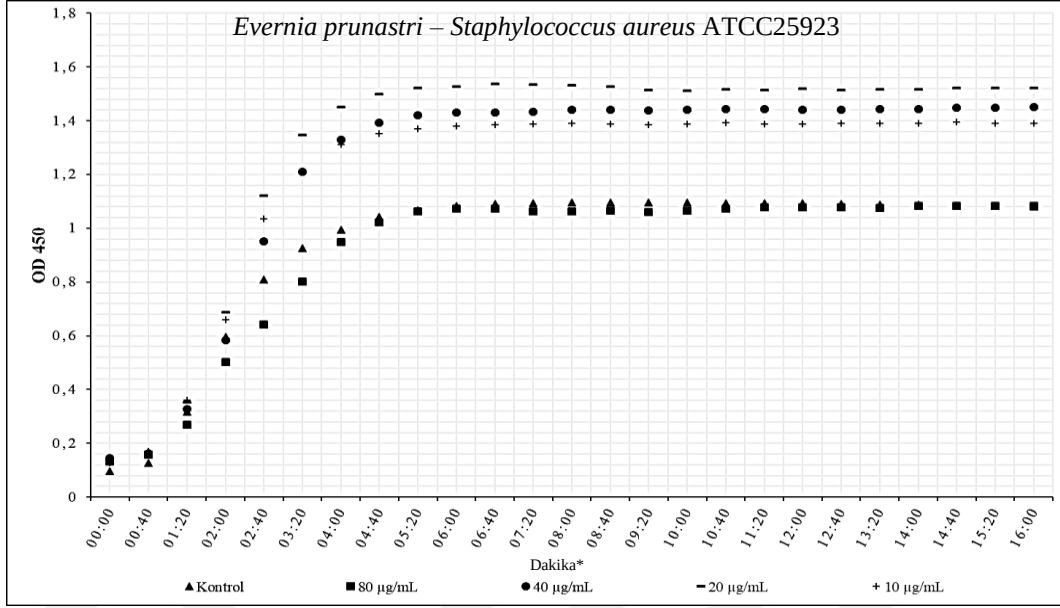
Şekil 3.1. MİK grafik örneği.



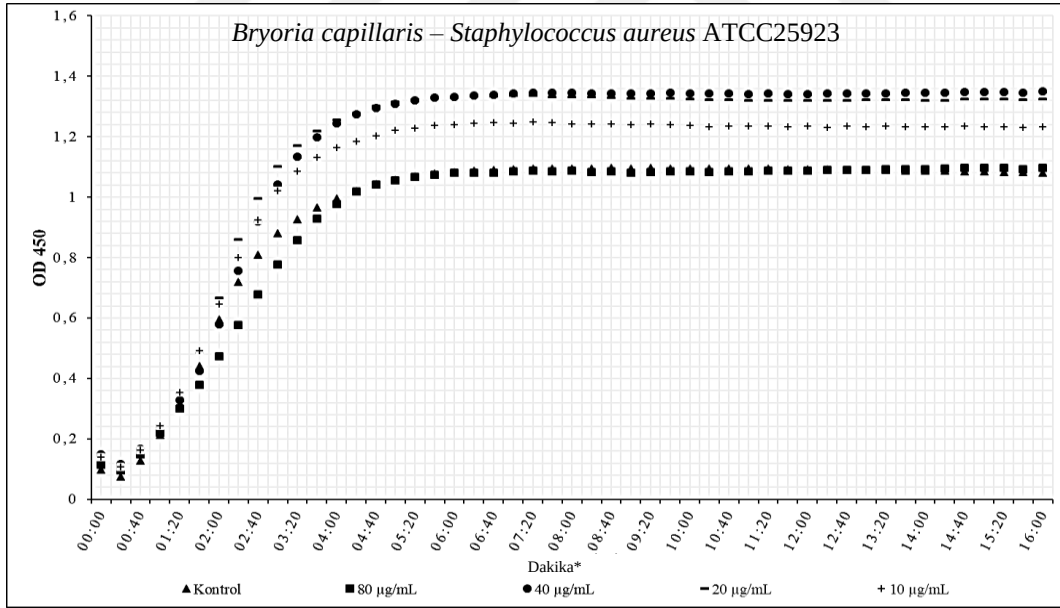
Şekil 3.2. Farklı konsantrasyonlarda *Usnea chaetophora* liken özütü uygulanmış *S. aureus* ATCC25923 suşuna ait büyüme eğrisi. Kontrol grubuna özüt eklenmemiştir. (*birim 20dk).



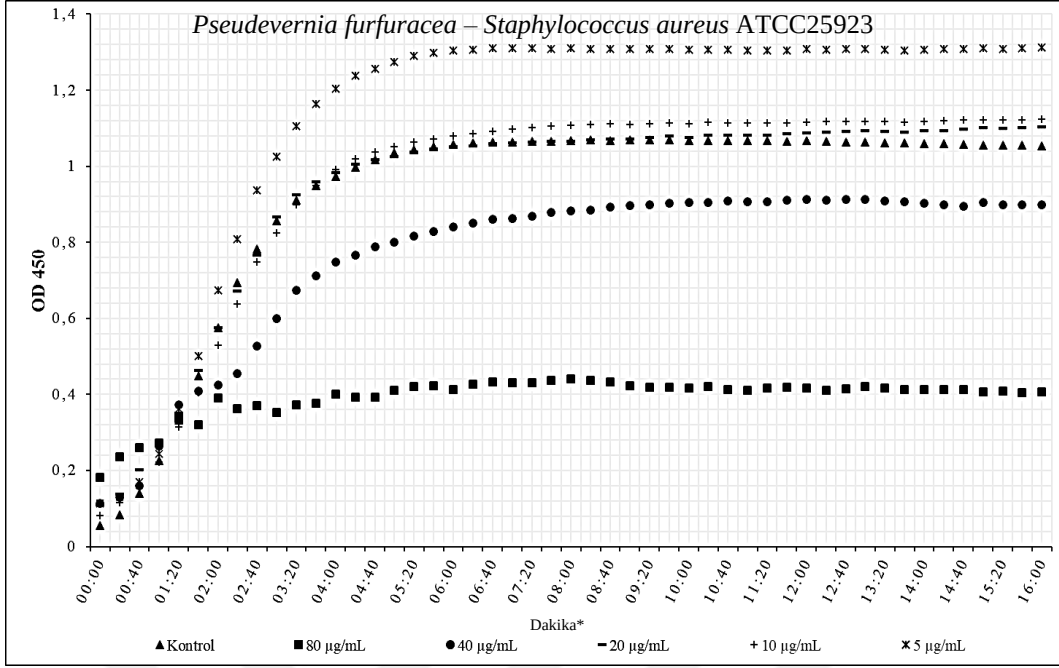
Şekil 3.3. Farklı konsantrasyonlarda *Hypogymnia physodes* liken özütü uygulanmış *S. aureus* ATCC25923 suşuna ait büyüme eğrisi. Kontrol grubuna özüt eklenmemiştir. (*birim 20dk).



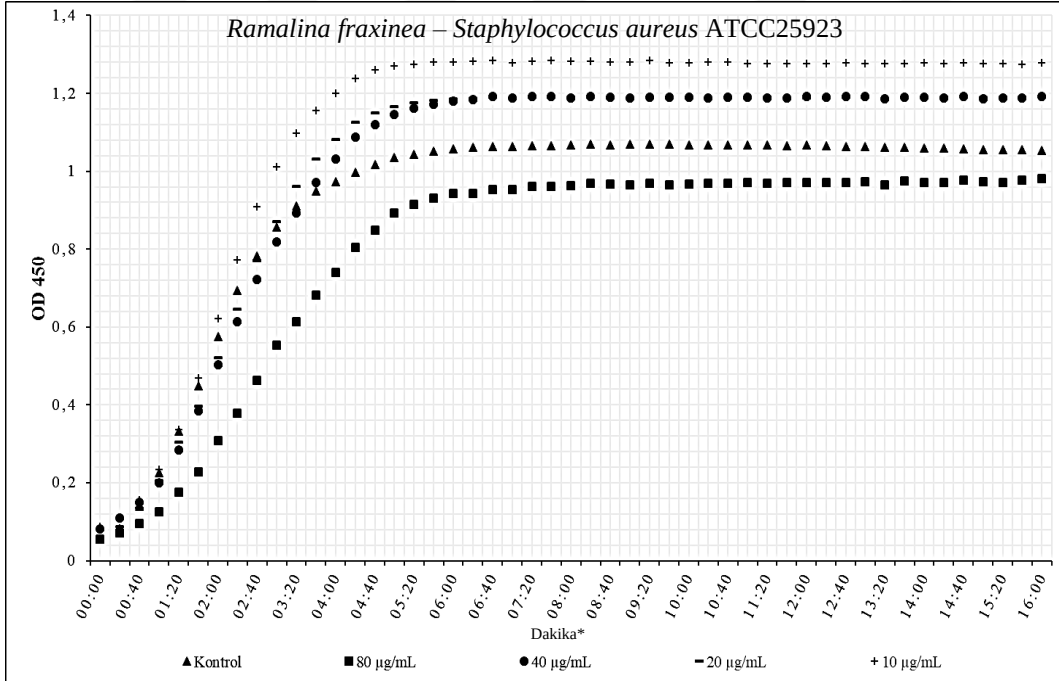
Şekil 3.4. Farklı konsantrasyonlarda *Evernia prunastri* liken özütü uygulanmış *S. aureus* ATCC25923 suşuna ait büyüme eğrisi. Kontrol grubuna özüt eklenmemiştir. (*birim 20dk).



Şekil 3.5.: Farklı konsantrasyonlarda *Bryoria capillaris* liken özütü uygulanmış *S. aureus* ATCC25923 suşuna ait büyüme eğrisi. Kontrol grubuna özüt eklenmemiştir. (*birim 20dk).



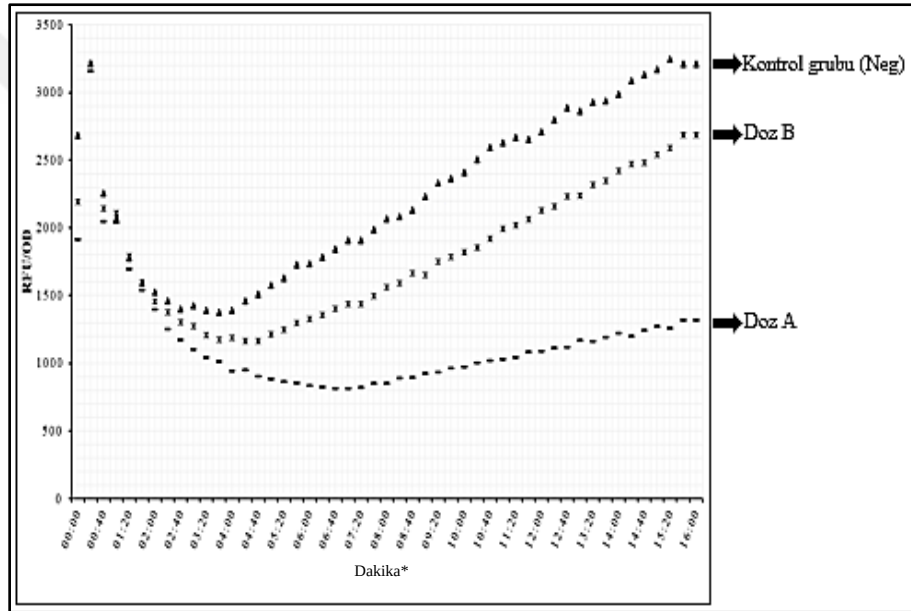
Şekil 3.6. Farklı konsantrasyonlarda *Pseudevernia furfuracea* liken özütü uygulanmış *S. aureus* ATCC25923 suşuna ait büyüme eğrisi. Kontrol grubuna özüt eklenmemiştir. (*birim 20dk).



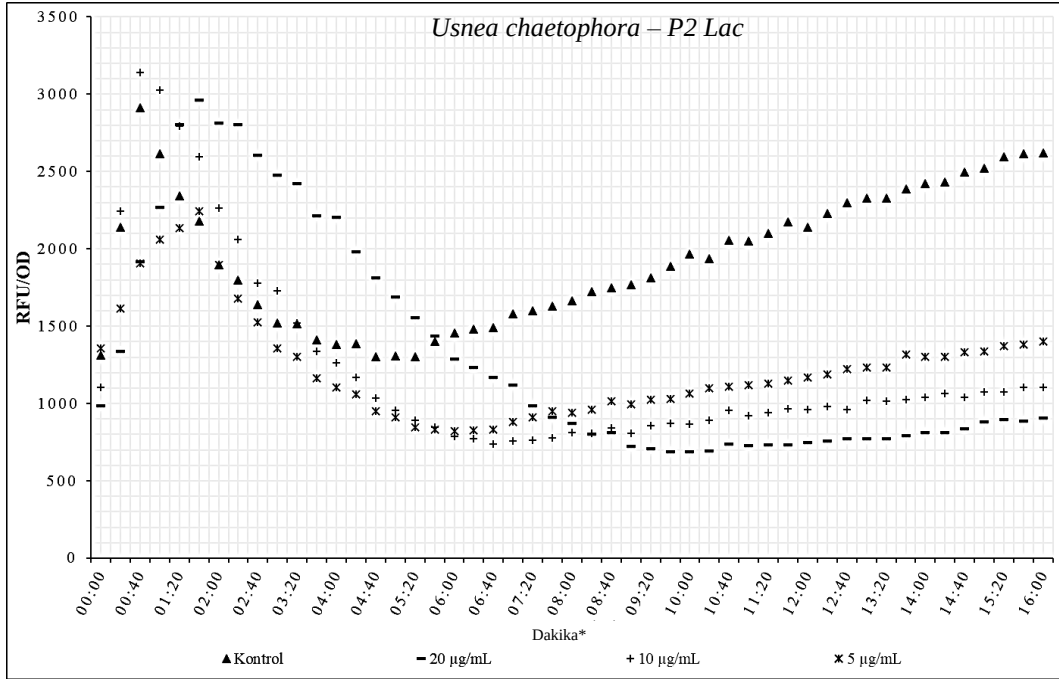
Şekil 3.7. Farklı konsantrasyonlarda *Ramalina fraxinea* liken özütü uygulanmış *S. aureus* ATCC25923 suşuna ait büyüme eğrisi. Kontrol grubuna özüt eklenmemiştir. (*birim 20dk).

3.1.2. Liken özütlerinin *S. aureus* P2 Lac biyosensör suşunda anti-QS etkileri

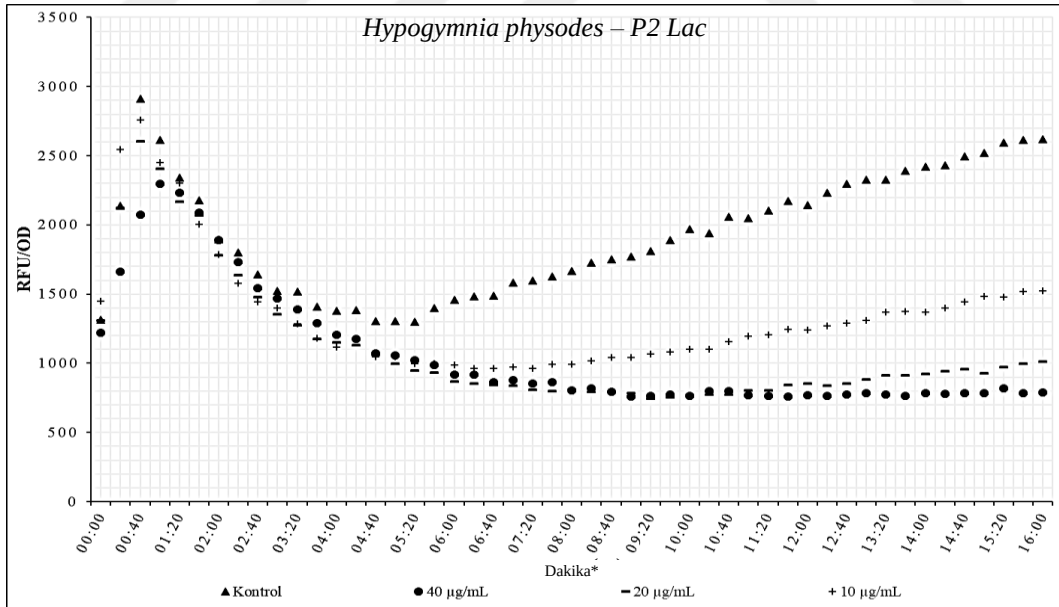
Usnea chaetophora, *Hypogymnia physodes*, *Evernia prunastri*, *Bryoria capillaris*, *Pseudevernia furfuracea* ve *Ramalina fraxinea* likenlerinin aseton özütlerinin büyüme eğrilerine etki etmeyen dozları *S. aureus* biyosensör suşlarına uygulanmıştır. GFP ekspresyon miktarları 485nm (eksitasyon) ve 535nm (emisyon)'de floresans ölçümleri ile büyüme miktarlarını gözlemlemek için ise OD 450nm'de bakılmıştır. Kontrol grubuna göre düşük floresans/absorbans değerine sahip olan örnekler gerçekleşen inhibisyon miktarını belirtmektedir (Şekil 3.8.).



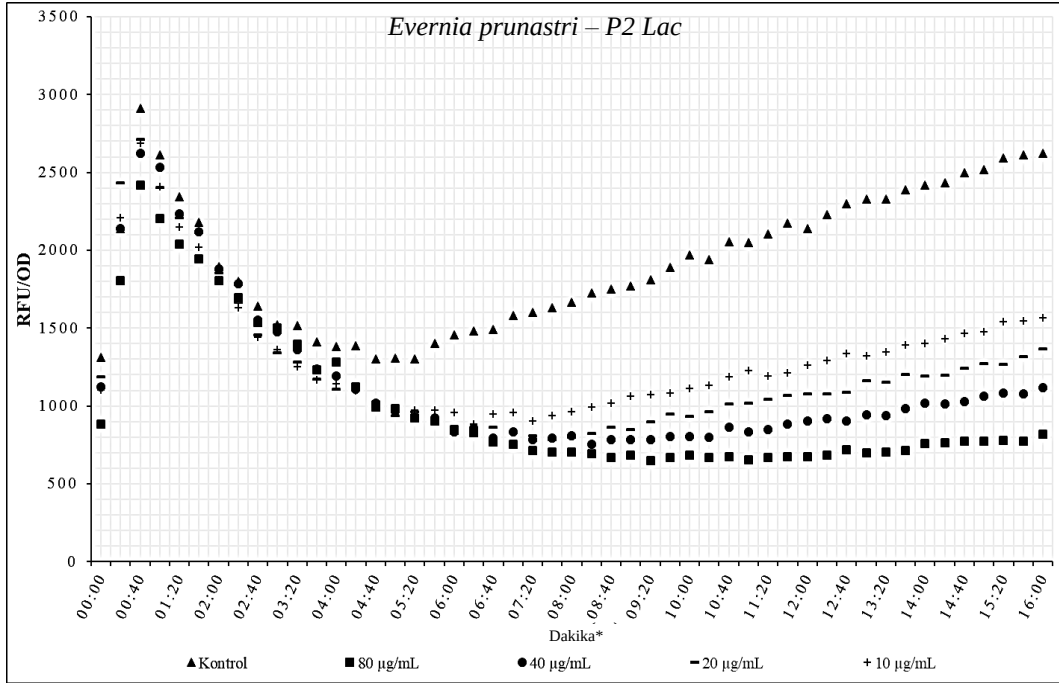
Şekil 3.8. QS grafik örneği.



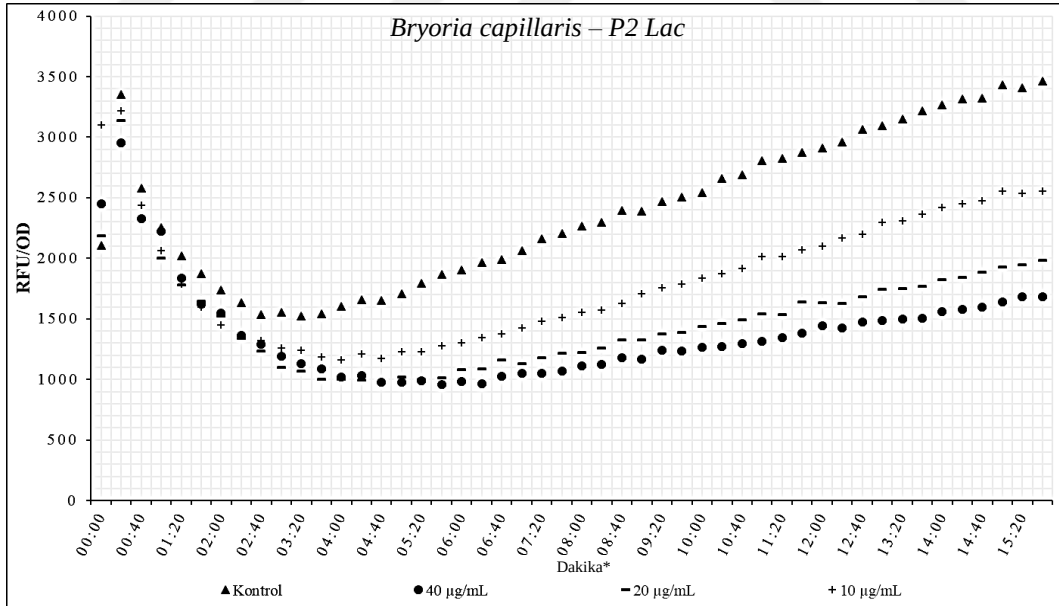
Şekil 3.9. Farklı konsantrasyonlarda *Usnea chaetophora* liken özütü uygulanmış *S. aureus* P2 Lac biyosensör suşuna ait floresans/absorbans eğrileri. Kontrol grubuna özüt eklenmemiştir. (*birim 20dk).



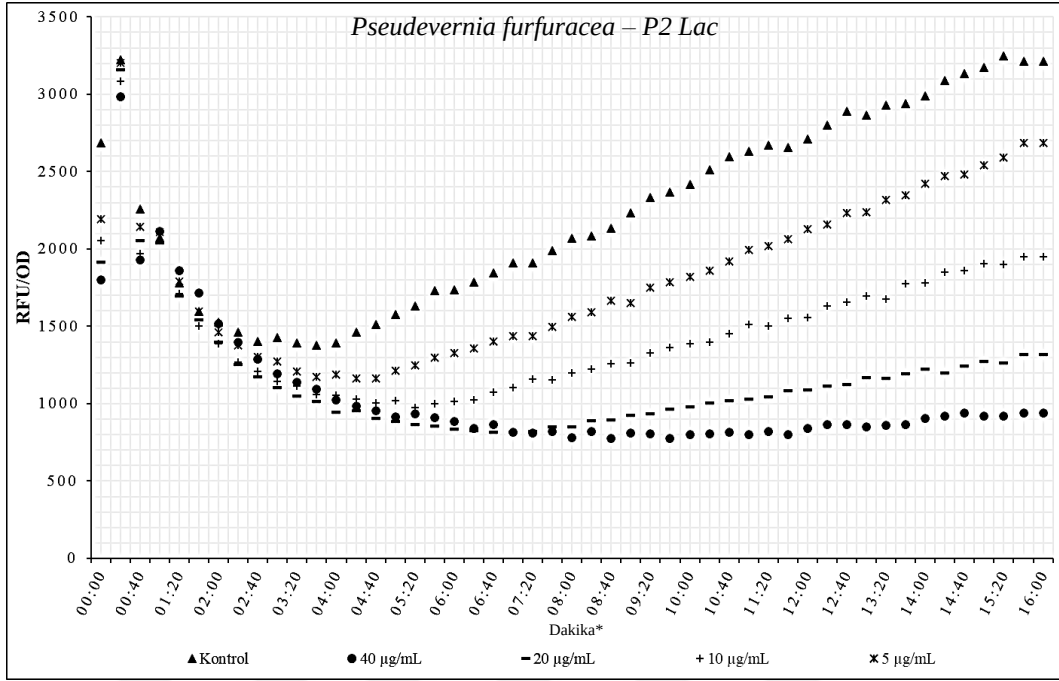
Şekil 3.10. Farklı konsantrasyonlarda *Hypogymnia physodes* liken özütü uygulanmış *S. aureus* P2 Lac biyosensör suşuna ait floresans/absorbans eğrileri. Kontrol grubuna özüt eklenmemiştir. (*birim 20dk).



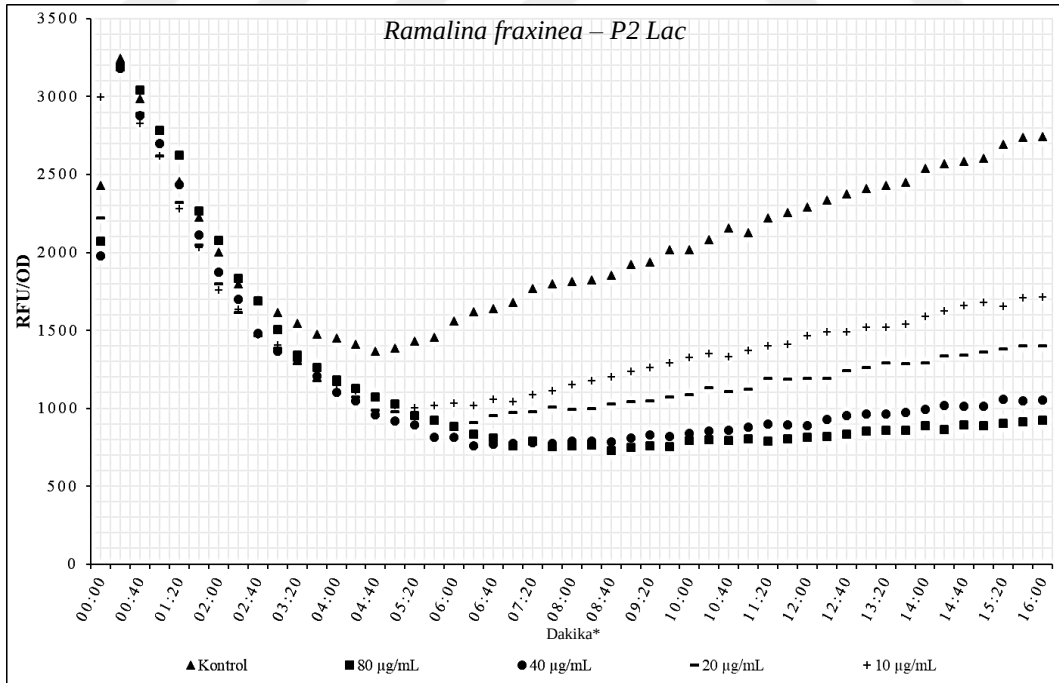
Şekil 3.11. Farklı konsantrasyonlarda *Evernia prunastri* liken özütü uygulanmış *S. aureus* P2 Lac biyosensör suşuna ait floresans/absorbans eğrileri. Kontrol grubuna özüt eklenmemiştir. (*birim 20dk).



Şekil 3.12. Farklı konsantrasyonlarda *Bryoria capillaris* liken özütü uygulanmış *S. aureus* P2 Lac biyosensör suşuna ait floresans/absorbans eğrileri. Kontrol grubuna özüt eklenmemiştir. (*birim 20dk).

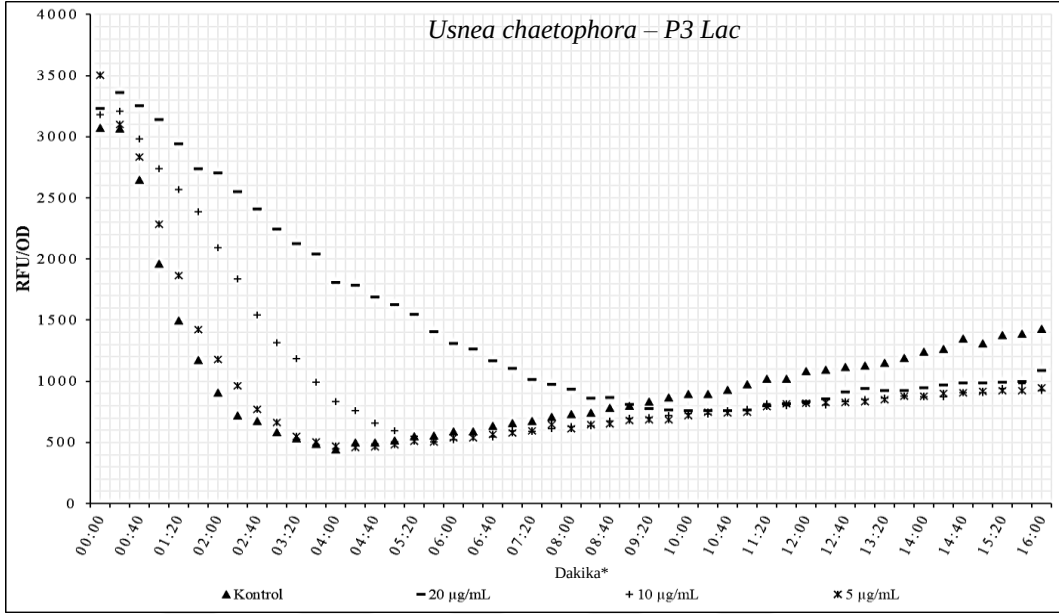


Şekil 3.13. Farklı konsantrasyonlarda *Pseudevernia furfuracea* liken özütü uygulanmış *S. aureus* P2 Lac biyosensör suşuna ait floresans/absorbans eğrileri. Kontrol grubuna özüt eklenmemiştir. (*birim 20dk).

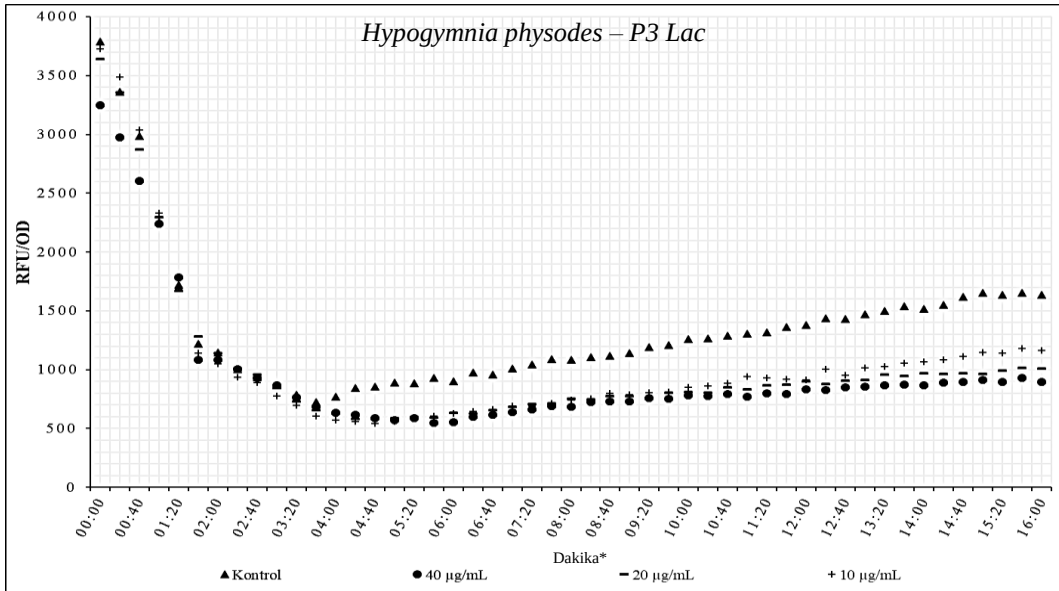


Şekil 3.14. Farklı konsantrasyonlarda *Ramalina fraxinea* liken özütü uygulanmış *S. aureus* P2 Lac biyosensör suşuna ait floresans/absorbans eğrileri. Kontrol grubuna özüt eklenmemiştir. (*birim 20dk).

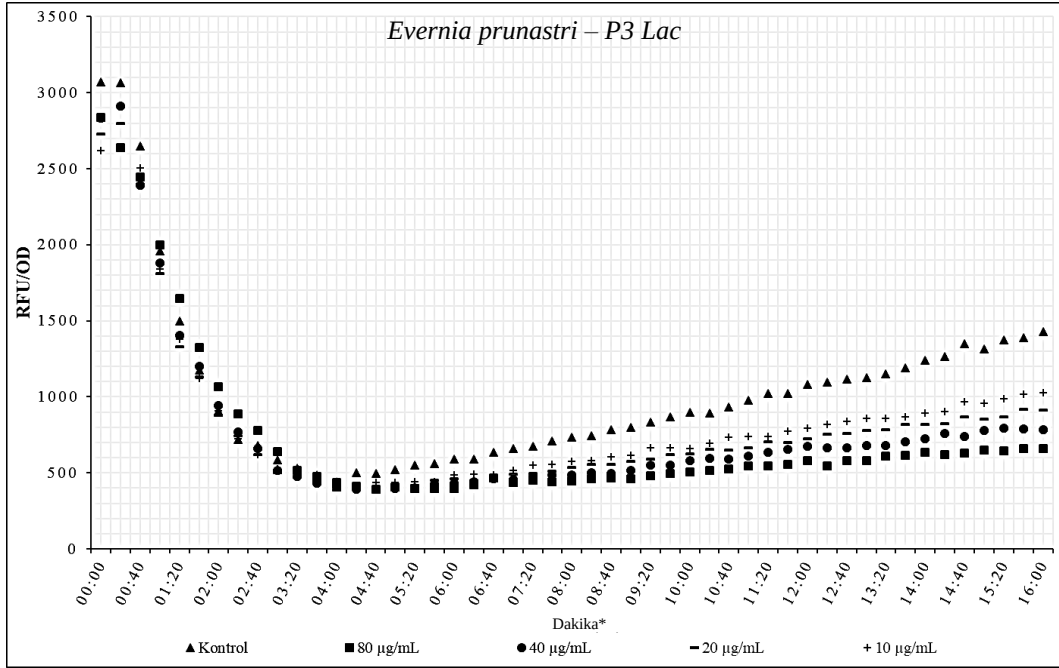
3.1.3. Liken özütlerinin *S. aureus* P3 Lac biyosensör suşunda anti-QS etkileri



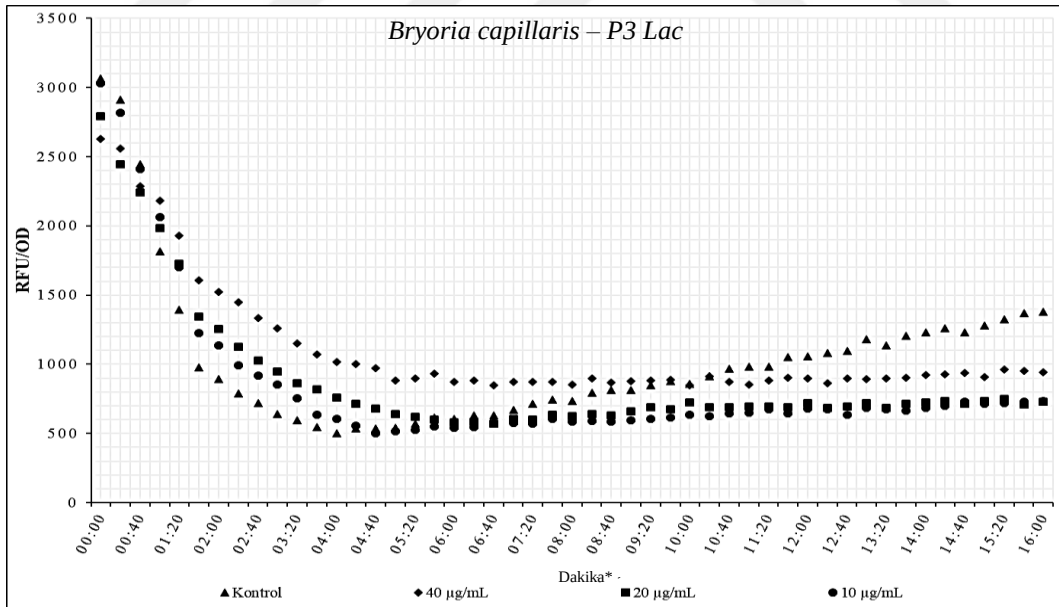
Şekil 3.15. Farklı konsantrasyonlarda *Usnea chaetophora* liken özütü uygulanmış *S. aureus* P3 Lac biyosensör suşuna ait floresans/absorbans eğrileri. Kontrol grubuna özüt eklenmemiştir. (*birim 20dk).



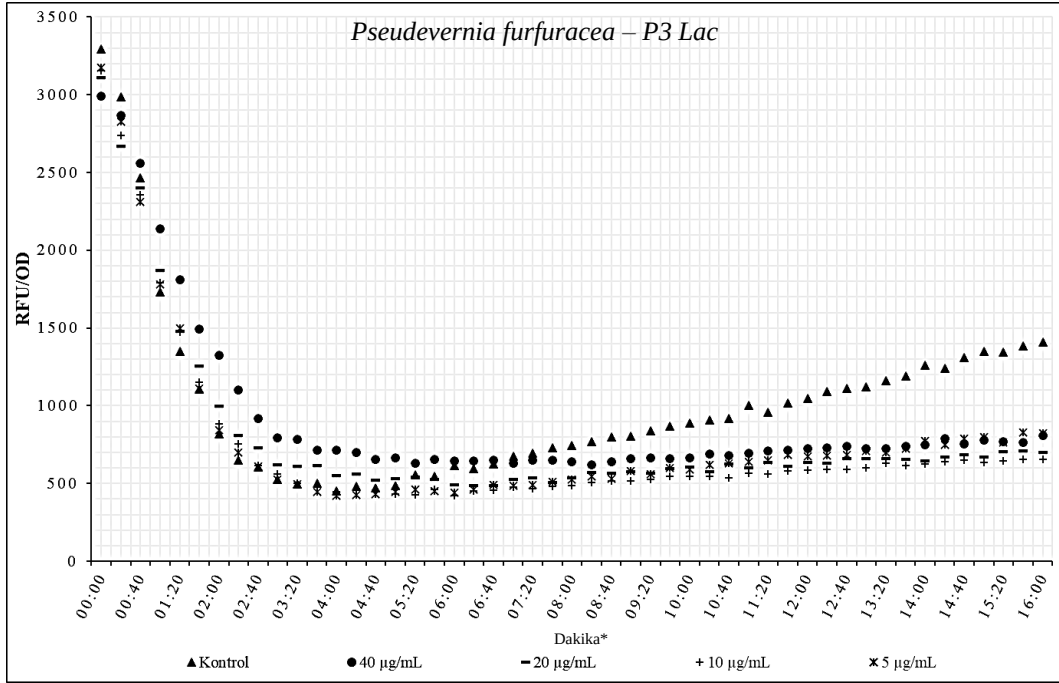
Şekil 3.16. Farklı konsantrasyonlarda *Hypogymnia physodes* liken özütü uygulanmış *S. aureus* P3 Lac biyosensör suşuna ait floresans/absorbans eğrileri. Kontrol grubuna özüt eklenmemiştir. (*birim 20dk).



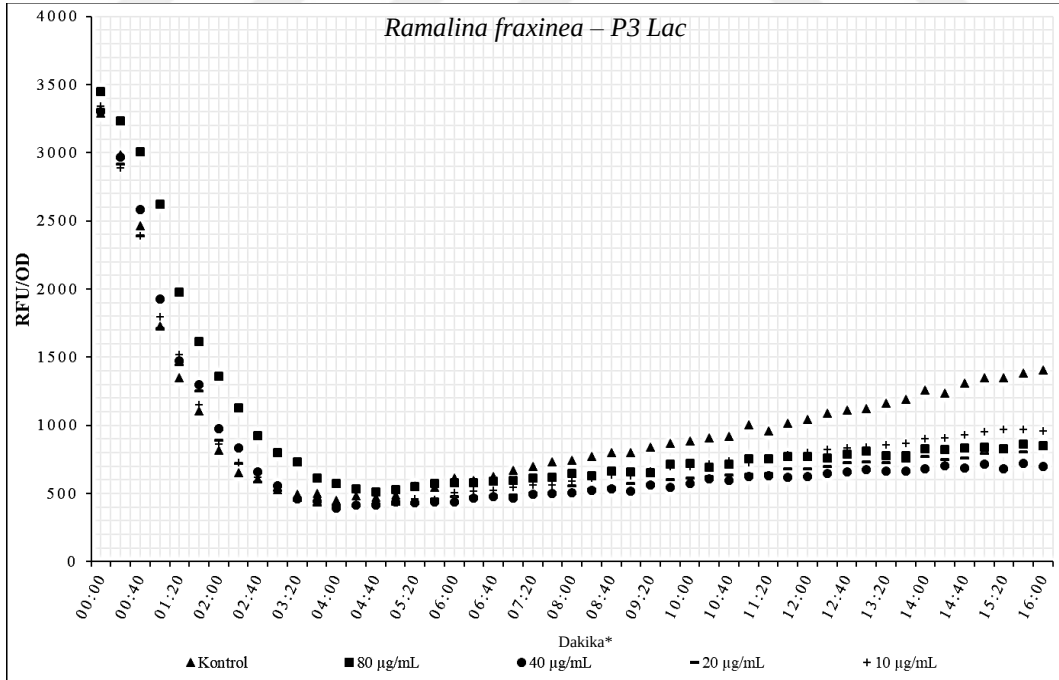
Şekil 3.17. Farklı konsantrasyonlarda *Evernia prunastri* liken özütü uygulanmış *S. aureus* P3 Lac biyosensör suşuna ait floresans/absorbans eğrileri. Kontrol grubuna özüt eklenmemiştir. (*birim 20dk).



Şekil 3.18. Farklı konsantrasyonlarda *Bryoria capillaris* liken özütü uygulanmış *S. aureus* P3 Lac biyosensör suşuna ait floresans/absorbans eğrileri. Kontrol grubuna özüt eklenmemiştir. (*birim 20dk).



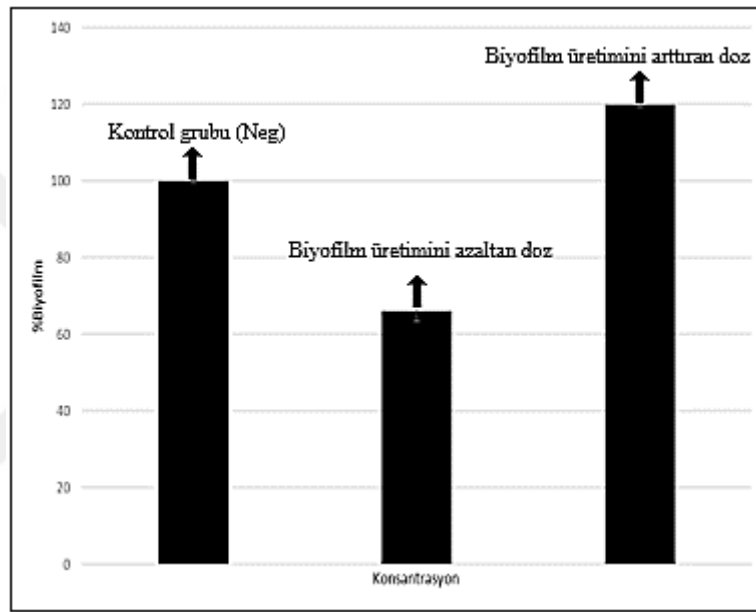
Şekil 3.19. Farklı konsantrasyonlarda *Pseudevernia furfuracea* liken özütü uygulanmış *S. aureus* P3 Lac biyosensör suşuna ait floresans/absorbans eğrileri. Kontrol grubuna özüt eklenmemiştir. (*birim 20dk).



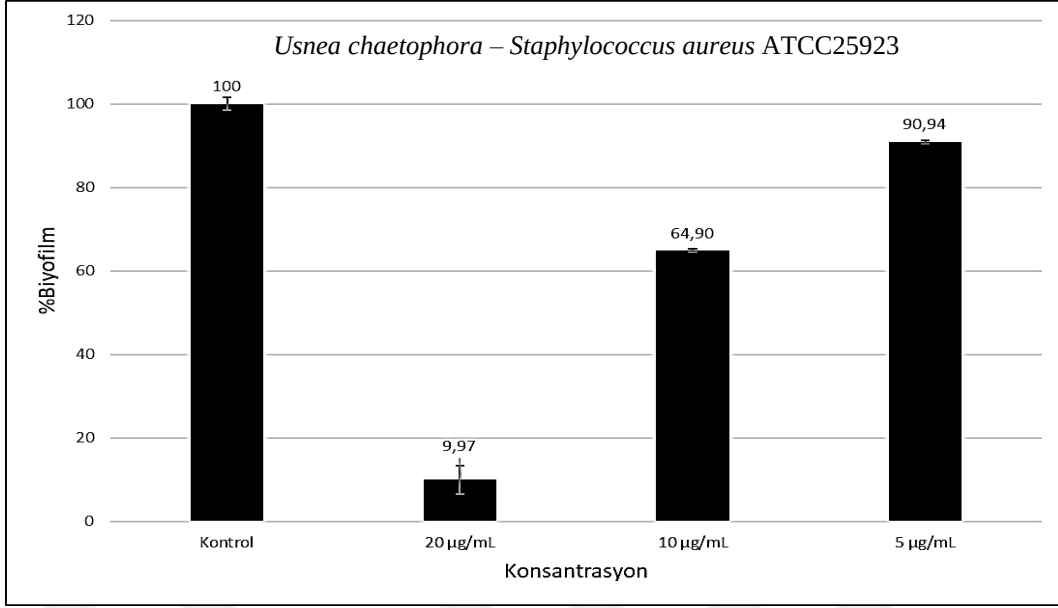
Şekil 3.20. Farklı konsantrasyonlarda *Ramalina fraxinea* liken özütü uygulanmış *S. aureus* P3 Lac biyosensör suşuna ait floresans/absorbans eğrileri. Kontrol grubuna özüt eklenmemiştir. (*birim 20dk).

3.1.4. Liken özütlerinin *S. aureus* ATCC25923 yabancı tip suşunda anti-biyofilm etkileri

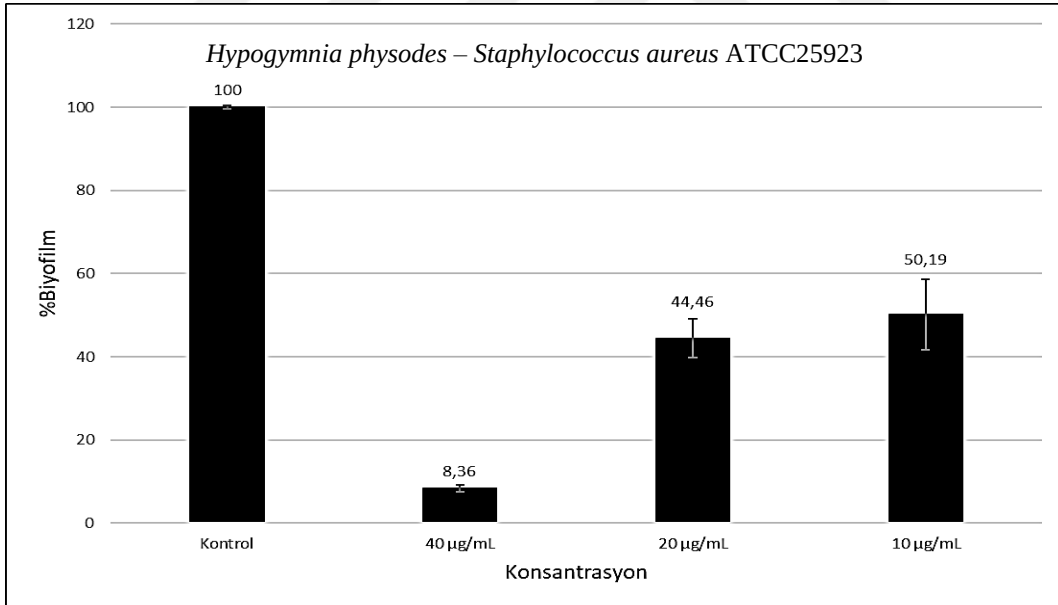
Usnea chaetophora, *Hypogymnia physodes*, *Evernia prunastri*, *Bryoria capillaris*, *Pseudevernia furfuracea* ve *Ramalina fraxinea* likenlerinin aseton özütlerinin büyüme eğrilerine etki etmeyen dozları *Staphylococcus aureus* ATCC25923 yabancı tip suşuna uygulanmıştır. OD 590nm’de biyofilm formu üzerine etkilerine bakılmıştır. Kontrol grubuna göre düşük OD değerine sahip olan örnekler gerçekleşen inhibisyon miktarını belirtmektedir (Şekil 3.21.).



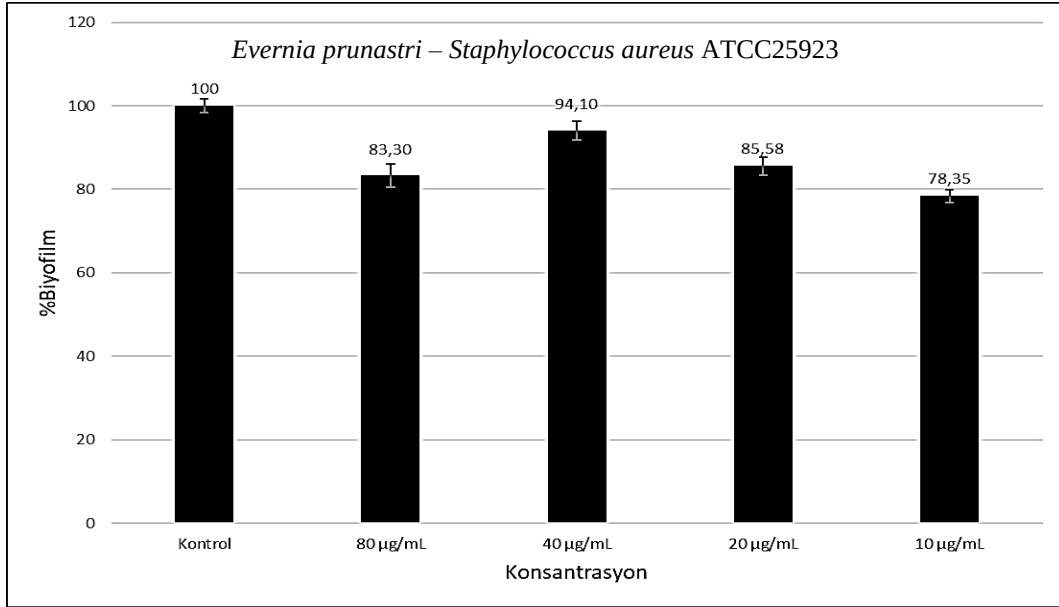
Şekil 3.21.: Biyofilm grafik örneği.



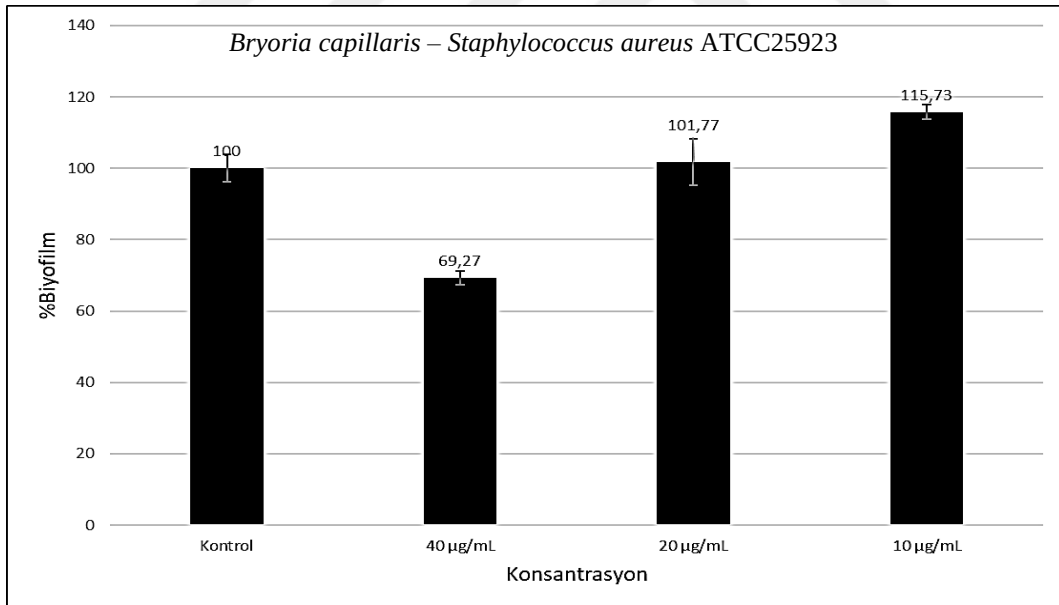
Şekil 3.22. Farklı konsantrasyonlarda *Usnea chaetophora* liken özütü uygulanmış *S. aureus* ATCC25923 yabancı tip suşuna ait biyofilm yüzdeleri. Kontrol grubuna özüt eklenmemiştir.



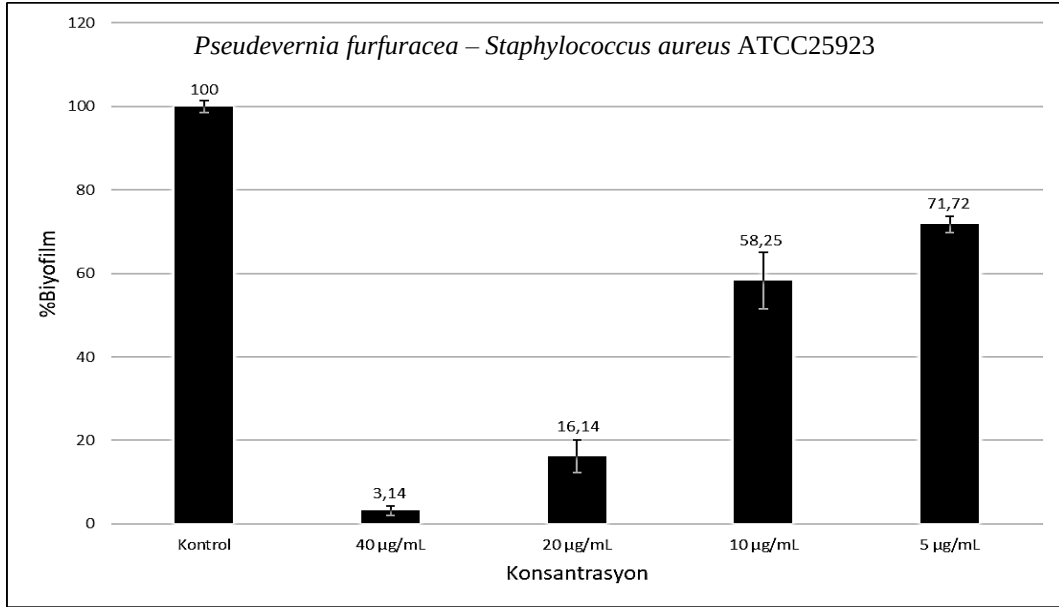
Şekil 3.23. Farklı konsantrasyonlarda *Hypogymnia physodes* liken özütü uygulanmış *S. aureus* ATCC25923 yabancı tip suşuna ait biyofilm yüzdeleri. Kontrol grubuna özüt eklenmemiştir.



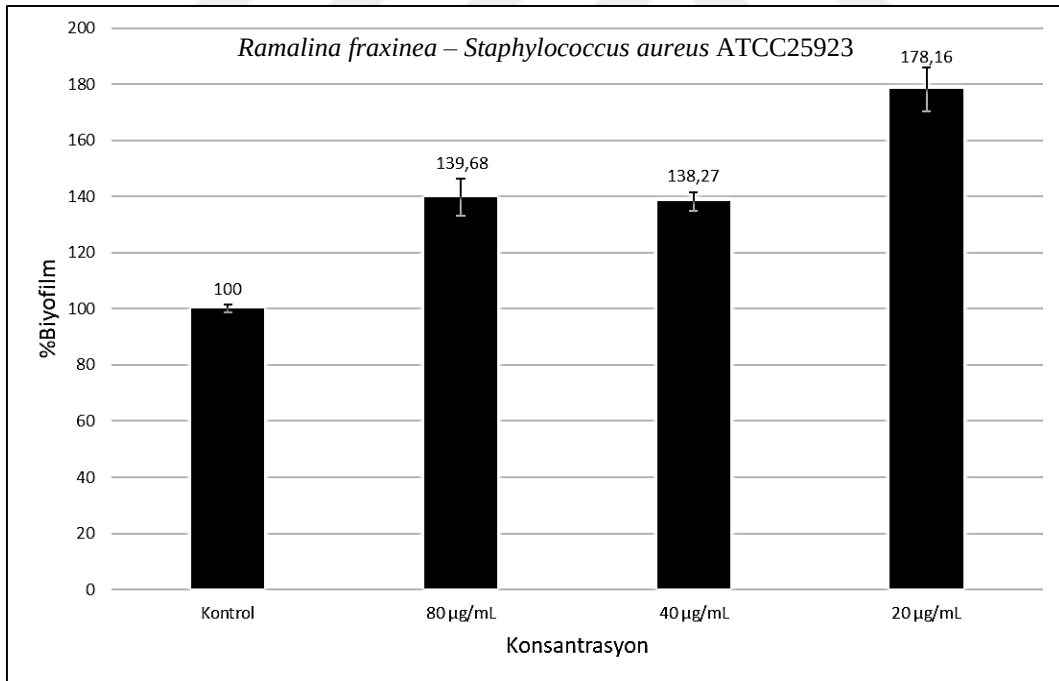
Şekil 3.24. Farklı konsantrasyonlarda *Evernia prunastri* liken özütü uygulanmış *S. aureus* ATCC25923 yabancı tip suşuna ait biyofilm yüzdeleri. Kontrol grubuna özüt eklenmemiştir.



Şekil 3.25. Farklı konsantrasyonlarda *Bryoria capillaris* liken özütü uygulanmış *S. aureus* ATCC25923 yabancı tip suşuna ait biyofilm yüzdeleri. Kontrol grubuna özüt eklenmemiştir.



Şekil 3.26. Farklı konsantrasyonlarda *Pseudevernia furfuracea* liken özütü uygulanmış *S. aureus* ATCC25923 yabancı tip suşuna ait biyofilim yüzdeleri. Kontrol grubuna özüt eklenmemiştir.



Şekil 3.27. Farklı konsantrasyonlarda *Ramalina fraxinea* liken özütü uygulanmış *S. aureus* ATCC25923 yabancı tip suşuna ait biyofilim yüzdeleri. Kontrol grubuna özüt eklenmemiştir.

Tablo 3.1. Liken özütlerinin deney sonuçları.

Liken	<i>S. aureus</i> ATCC25923 MİK OD 450nm % İnhibisyon	<i>P2 Lac-gfp</i> QS RFU/OD % İnhibisyon	<i>P3 Lac-gfp</i> QS RFU/OD % İnhibisyon	<i>S. aureus</i> ATCC25923 Biyofilm OD 590nm % İnhibisyon
<i>Pseudevernia furfuracea</i>	%58.49 ¹ %20.52 ²	%70.74 ² %58.98 ³ %39.32 ⁴	%42.50 ² %50.14 ³ %53.58 ⁴	%96.86 ² %83.86 ³ %41.74 ⁴
<i>Hypogymnia physodes</i>	%14.17 ¹	%69.97 ² %61.39 ³ %41.80 ⁴	%45.04 ² %38.22 ³ %28.83 ⁴	%91.64 ² %55.59 ³ %49.81 ⁴
<i>Usnea chaetophora</i>	%70.19 ¹ %53.80 ²	%65.45 ³ %57.81 ⁴ %46.50 ⁵	%23.79 ³ %35.26 ⁴ %33.52 ⁵	%90.02 ³ %35.10 ⁴ %9.06 ⁵
<i>Evernia prunastri</i>	%7.08 ¹	%68.84 ¹ %57.44 ² %47.83 ³	%53.61 ¹ %45.14 ² %35.87 ³	%16.70 ¹ %5.90 ² %14.42 ³
<i>Ramalina fraxinea</i>	%16.66 ¹	%66.33 ¹ %61.58 ² %49.01 ³	%39.33 ¹ %50.29 ² %41.18 ³	%-39.68 ¹ %-38.27 ² %-78.16 ³
<i>Bryoria capillaris</i>	%6.44 ¹	%50.68 ² %42.79 ³ %25.49 ⁴	%46.72 ² %34.41 ³ %19.46 ⁴	%30.73 ² %-1.77 ³ %-15.73 ⁴

80µg/mL⁽¹⁾, 40µg/mL⁽²⁾, 20µg/mL⁽³⁾, 10µg/mL⁽⁴⁾, 5µg/mL⁽⁵⁾

3.2. Tartışma

Antibiyotiklerin gereksiz ve yanlış kullanımlarına bağlı olarak ortaya çıkan antibiyotik direnci, günümüzde sağlık açısından en büyük tehditlerden biridir (WHO, 2020). Hastalık Kontrol ve Korunma Merkezleri (CDC) tarafından yayınlanan 2019 yılı raporuna göre, ABD'de her yıl 2.8 milyondan fazla antibiyotiğe dirençli enfeksiyon vakalarının meydana geldiği ve bunun sonucunda 35.000'den fazla insanın hayatını kaybettiği bildirilmektedir (CDC, 2019). Antibiyotik direnci oluşumu süresince patojen bakterilere dayanıklılık sağlayan biyofilm formunun üretiminin, QS mekanizması ile düzenlendiği yapılan çalışmalarda belirtilmektedir (Paluch ve ark., 2020; Mishra ve Muthukaliannan, 2022). Yapılan çalışmalar doğrultusunda QS mekanizmasının inhibisyonunu sağlayacak QSI özellikte materyal ve/veya metabolitlerin bulunmasıyla soruna alternatif çözüm bulunabileceği düşünülmektedir (Brackman ve ark., 2015; Pérez-Pérez ve ark., 2017).

QSI moleküller sentetik olarak üretilebildiği gibi bitki, liken ve alg gibi doğal kaynaklardan da elde edilebilmektedir. Likenlerin çevreye uyum sağlama ve savunma amacıyla ürettikleri metabolitlerin; antibakteriyal, anti-biyofilm ve antikanser gibi özellikler göstermesi sebebiyle, yapılan çalışmalarda QS ve biyofilm inhibisyonu için

potansiyel taşıdıkları belirtilmektedir (Nithyanand ve ark., 2015; Studzińska-Sroka ve ark., 2016; Xu ve ark., 2016; Gökalsın ve ark., 2020).

Belirtilen çıkış noktaları doğrultusunda zengin sekonder metabolit içeriğine sahip liken grubuna ait altı tür likenin anti-QS ve anti-biyofilm etkinlikleri çalışılmıştır. Bu çalışmada *Usnea chaetophora*, *Hypogymnia physodes*, *Evernia prunastri*, *Bryoria capillaris*, *Pseudevernia furfuracea* ve *Ramalina fraxinea* türleri QSI özellikleri açısından araştırılmıştır.

Araújo ve arkadaşları, *Usnea* türü likenlerden saflaştırdıkları usnik asitin metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA) bakterilerine karşı yüksek etkili olduklarını rapor etmişlerdir (Araújo ve ark., 2015). Kosanić ve arkadaşları, *Pseudevernia furfuraceae*'den elde edilen aseton özütlerinin, *S. aureus*'a karşı orta derecede azaltıcı etki gösterdiğini literatüre bildirmişlerdir (Kosanić ve ark., 2013). Shcherbakova ve arkadaşları, *Evernia prunastri*'den elde edilen hekzan, diklorometan ve asetonitril özütlerinin, çeşitli oranlarda *S. aureus*'a karşı inhibisyon aktivitelerinin olduğunu literatüre bildirmektedirler (Shcherbakova ve ark., 2021). Çobanoğlu ve arkadaşları, *B. capillaris*'in *S. aureus*'a karşı öldürücü etki göstermediğini bildirmiştir (Çobanoğlu ve ark., 2006). Bu bilgiler doğrultusunda yukarıda belirtilmiş olan altı liken türünün aseton özütlerinin *S. aureus* yabancıl tip suşunda büyüme eğrilerine etkileri saptanarak MİK konsantrasyonları belirlenmiştir. Belirlenen konsantrasyonların inhibisyon yüzdelere göre QS ve biyofilm deneylerinde bir ve/veya iki doz altı ile başlanılmıştır. Çalışmamızda *Usnea chaetophora* ve *Pseudevernia furfuracea* liken aseton özütlerinin 80 µg/mL konsantrasyonlarının *S. aureus* ATCC25923 suşunda büyüme eğrileri üzerinde sırasıyla %70.19 ve %58.59 oranında etkili oldukları gözlenmiştir (Tablo 3.1.). Diğer liken türlerinin 80 µg/mL konsantrasyonunda yaklaşık %20'nin altında inhibisyon gösterdiği ve bütün liken türlerinde 80 µg/mL konsantrasyonun altındaki dozların farklı oranlarda büyümelerini teşvik ettiği görülmüştür. Literatür ile çalışmamız arasındaki farklılıkların seçilen suş tipi ve uygulanan doz farklılıklarından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Antibiyotik direncine neden olan biyofilm formunun, QS mekanizması ile düzenlendiği literatürde belirtilmektedir. Pompilio ve arkadaşları, *Usnea* cinsi likenlerde yoğun bulunan usnik asidin *agrA* ekspresyonu üzerindeki etkisinin olduğunu göstermişlerdir (Pompilio ve ark., 2016). Sully ve arkadaşları, savirin metabolitinin,

AgrA'nın işlevini bloke ederek *S. aureus*'ta agr quorum algılamasını engellediğini bildirmektedirler (Sully ve ark., 2014). Cech ve arkadaşları, *Ranunculaceae* familyasının bitkisi olan *Hydrastis canadensis* özütlerinin, *S. aureus*'un Agr sinyali sistemini ve α -toksin üretimini engellediği gösterilmiştir (Cech ve ark., 2012). Gökalsın ve Sesal, evernik asit metabolitinin *P. aeruginosa* biyosensör suşları üzerinde anti-QS inhibisyonu gerçekleştirdiklerini bildirmişlerdir (Gökalsın ve Sesal., 2016). Sesal ve arkadaşları, *Ramalina farinacea* aseton özütlerinin *P. aeruginosa* biyosensör suşları üzerinde anti-QS inhibisyonu gerçekleştirdiklerini bildirmişlerdir (Sesal ve ark., 2020). Çalışmamızda *P2 Lac* ve *P3 Lac* biyosensör suşları kullanılarak anti-QS deneyleri yapılmıştır. Genel olarak liken özütlerimiz *P2 Lac* biyosensör suşunda daha yüksek inhibisyonlar göstermiştir (Tablo 3.1.). 20 μ g/mL konsantrasyondaki özütlerimizin *P2 Lac* biyosensör suşu üzerinde %42.79 – %65.45 oranları arasında inhibisyon gözlemlenmiştir. *Usnea chaetophora*, *H. physodes* ve *P. furfuracea* liken özütlerinde sırasıyla %65.45, %61.39 ve %58.98 oranlarında inhibisyon tespit edilmiştir. 20 μ g/mL konsantrasyondaki özütlerimizin *P3 Lac* biyosensör suşu üzerinde ise %50.14 – %23.79 oranları arasında inhibisyon gözlemlenmiştir. *P. furfuracea* liken özütü iki biyosensör suş için ortak bakıldığında genel anti-QS için likenlerin içinde en etkili olan olarak belirtilebilmektedir. Çalışılan liken özütleri *P2* ve *P3* yolaklarında tamamen inhibisyon göstermemiş olsalar da belirli oranlarda inhibisyon gerçekleştirmiş olduklarından dolayı QSI potansiyelli moleküller arasında yer alabileceği düşünülmektedir.

Pompilio ve arkadaşları, atranorinin metisilin dirençli *S. aureus* biyofilmi üzerinde etki gösterdiğini bildirmişlerdir (Pompilio ve ark., 2013). Mitrovic ve arkadaşları, *Pseudevernia furfuracea* liken metanol özütünün *S. aureus* biyofilmi üzerinde etkisini göstermişlerdir (Mitrovic ve ark., 2014). Millot ve arkadaşları, *Evernia prunastri* ekstratının *C. albicans* üzerinde anti-biyofilm aktivitesini belirtirken; Gökalsın ve Sesal'ın çalışmasında da evernik asitin, *P. aeruginosa* biyofilmi üzerinde inhibisyon etkisi olduğu bildirilmiştir (Gökalsın ve Sesal, 2016; Millot ve ark., 2017). Çalışmamızda *Usnea chaetophora* (20 μ g/mL), *Hypogymnia physodes* (40 μ g/mL) ve *Pseudevernia furfuracea* (20 μ g/mL) likenlerinin özütleri sırasıyla %90.02, %91.64 ve %96.86 oranlarında biyofilmi inhibe ettiği görülmüştür. *Evernia prunastri* liken özütü literatürdeki diğer türlerde yapılan çalışmalara kıyasla çok daha düşük oran gözlemlenmiştir. *Bryoria capillaris* ve *Ramalina fraxinea* türlerinin ise biyofilm

üretimini arttırdığı görülmüştür. QS ve biyofilm deney sonuçlarının literatür ile bazı örneklerde farklılıklar göstermesinin; suş farklılıklarından, saf molekül uygulamasından dolayı metabolit yoğunluk farkından ya da farklı polaritedeki çözücülerin kullanılmış olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

QS deneylerinde birbirine yakın inhibisyon değerleri gösteren liken özütlerinin biyofilm deneylerinde tamamen farklı şekilde etki ettikleri görülmüştür. Bu veriler doğrultusunda biyofilm formu oluşumunun temellerinden biri QS mekanizması olsa da yalnız olmadığı ve başka mekanizma/mechanizmalarla desteklendiği düşünülmektedir. QS ve biyofilm deneyleri ortak olarak değerlendirildiğinde *Usnea chaetophora*, *Hypogymnia physodes* ve *Pseudevernia furfuracea* likenlerinin diğer likenlerden daha fazla yüzde inhibisyon sağlaması sebebiyle QSI potansiyeli olarak değerlendirilmektedir. Bu yolla hem bakteriyemi, endokardit, menenjit ve perikardit gibi önemli hastalıklara hem de gıda yoluyla bulaşarak ciddi zehirlenmelere sebep olan *S. aureus* bakterisine doğal bir kaynak olarak alternatif tedavi yaklaşımları için uygun olabileceği düşünülmektedir.

4. SONUÇLAR

Staphylococcus aureus, dünyada toplum ve hastane yoluyla enfeksiyonlara yol açan en önemli etkenlerden biridir. *S. aureus* dâhil olmak üzere birçok bakteri sahip oldukları biyofilm formuna ile çeşitli zorlu ortamlarda hayatta kalabilmektedir. Biyofilm formu oluşumunun Quorum Sensing (QS) mekanizması ile bağlantılı bir süreç olduğu literatürde belirtilmektedir (Carlier & Eberl, 2014). QS sisteminin inhibisyonunu (QSI) sağlayacak inhibitör moleküllerin belirlenmesinin önemli bir aşama olduğu düşünülmektedir. Zengin sekonder metabolit içeriğine sahip doğal kaynak olan likenler bu çalışmalarda önemli yer tutmaktadır. Belirtilen verilere dayanarak, liken özütlerinin *S. aureus* QS ve Biyofilm formuna etkisi araştırılmıştır.

Çalışmamızda;

- *Usnea chaetophora* ve *Pseudevernia furfuracea* liken özütlerinin *S. aureus* büyüme eğrilerinde %50 inhibisyon oranının üzerinde etkili olduğu görülmüştür.
- *Pseudevernia furfuracea* liken özütünün iki biyosensör suş için ortak bakıldığında genel anti-QS için likenlerin içinde en etkili olduğu görülmüştür.
- *Usnea chaetophora*, *Hypogymnia physodes* ve *Pseudevernia furfuracea* liken özütlerinin biyofilmi inhibe ettiği; *Bryoria capillaris* ve *Ramalina fraxinea* türlerinin ise aksine biyofilm formu üretimini teşvik ettikleri görülmüştür.

Ülkemizde, son yıllarda liken kimyasının, antimikrobiyal, antikanser, antioksidan, anti-QS ve anti-biyofilm gibi biyolojik aktivitelerinin araştırıldığı çalışmalar artmaya başlamıştır. Literatür ve çalışma verilerine dayanarak bu liken türlerinin familyalarına ait diğer türlerinin de çalışmalarda iyi sonuçlar verebileceği düşünülmektedir. Ortak sekonder metabolit içeren liken türlerinin farklı sonuçlar verebilmesi nedeniyle metabolitlerin birlikte çalışma etkinlikleri açısından daha detaylı çalışmalar gerekmektedir. QS deneylerinde yakın sonuçlar veren türlerin biyofilm sonuçlarının farklılığı göz önüne alındığında gen düzeyinde çalışmaların yolları açısından daha spesifik sonuçlar verebileceği düşünülmektedir. Güncel yöntemlerle yapılan liken özütlerinin *S. aureus* QS ve biyofilm formuna etkisi konulu bu çalışmamızın sonraki çalışmalara kaynak olacağı ve bilimsel olarak katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Abisado, R. G., Benomar, S., Klaus, J. R., Dandekar, A. A., & Chandler, J. R. (2018). Bacterial quorum sensing and microbial community interactions. *MBio*, 9(3), e02331-17.
2. Açıkgöz, B. (2011). *Ramalina* Cinsine Ait Bazı Liken Türlerinin rDNA ITS Dizi Analizine Göre Moleküler Filogenisi. Yüksek Lisans Tezi, Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
3. Açıkgöz, B., Karaltı, İ., Ersöz, M., Coşkun, Z. M., Çobanoğlu, G., & Sesal, C. (2013). Screening of antimicrobial activity and cytotoxic effects of two *Cladonia* species. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 68(5-6), 191-197.
4. Altınok, Ö., Gürpınar, Ö., & Özgen, E. (2018). Bakteriyel biyofilmler. *Tıp Fakültesi Klinikleri Dergisi*, 1(2), 45-51.
5. Araújo, A. A. S., De Melo, M. G. D., Rabelo, T. K., Nunes, P. S., Santos, S. L., Serafini, M. R., ... & Gelain, D. P. (2015). Review of the biological properties and toxicity of usnic acid. *Natural product research*, 29(23), 2167-2180.
6. Awdhesh Kumar Mishra, R., & Kodiveri Muthukaliannan, G. (2022). Role of microalgal metabolites in controlling quorum-sensing-regulated biofilm. *Archives of Microbiology*, 204(3), 1-13.
7. Balkan, A. A. (2020). *Peltigera* cinsine ait liken ve endolikenik fungus örneklerinin *Pseudomonas aeruginosa* üzerine anti-quorum sensing ve anti-biyofilm etkinliklerinin *in vitro* ve *in siliko* yöntemlerle incelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
8. Basile, A., Rigano, D., Loppi, S., Di Santi, A., Nebbioso, A., Sorbo, S., ... & Bontempo, P. (2015). Antiproliferative, antibacterial and antifungal activity of the lichen *Xanthoria parietina* and its secondary metabolite parietin. *International journal of molecular sciences*, 16(4), 7861-7875.
9. Bhattarai, H. D., Paudel, B., Hong, S. G., Lee, H. K., & Yim, J. H. (2008). Thin layer chromatography analysis of antioxidant constituents of lichens from Antarctica. *Journal of Natural Medicines*, 62(4), 481-484.
10. Boles, B. R., & Horswill, A. R. (2008). Agr-mediated dispersal of *Staphylococcus aureus* biofilms. *PLoS pathogens*, 4(4), e1000052.
11. Brackman, G., & Coenye, T. (2015). Quorum sensing inhibitors as anti-biofilm

- agents. *Current pharmaceutical design*, 21(1), 5-11.
12. Carlier, A., Pessi, G., & Eberl, L. (2014). Microbial Biofilms and Quorum Sensing. *Principles of Plant-Microbe Interactions*, 45–52.
 13. CDC (2013). Antibiotic Resistance Threats in the United States. <http://www.cdc.gov/drugresistance/threat-report-2013/>.
 14. Cech, N. B., Junio, H. A., Ackermann, L. W., Kavanaugh, J. S., & Horswill, A. R. (2012). Quorum quenching and antimicrobial activity of goldenseal (*Hydrastis canadensis*) against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Planta medica*, 78(14), 1556-1561.
 15. Cerca, N., Jefferson, K. K., Maira-Litrán, T., Pier, D. B., Kelly-Quintos, C., Goldmann, D. A., ... & Pier, G. B. (2007). Molecular basis for preferential protective efficacy of antibodies directed to the poorly acetylated form of *staphylococcal* poly-N-acetyl- β -(1-6)-glucosamine. *Infection and immunity*, 75(7), 3406-3413.
 16. Costerton J. W., Stewart P. S., Greenberg E. P. (1999). Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science*, 284(5418), 1318-22.
 17. Cramton, S. E., Gerke, C., Schnell, N. F., Nichols, W. W., & Götz, F. (1999). The intercellular adhesion (ica) locus is present in *Staphylococcus aureus* and is required for biofilm formation. *Infection and immunity*, 67(10), 5427-5433.
 18. Crawford, S. D. (2019). Lichens used in traditional medicine. In *Lichen secondary metabolites* (pp. 31-97). Springer, Cham.
 19. Çobanoğlu, G., Sesal, C., Açıkgöz, B., & Karaltı, İ. (2016). Evaluation of antimicrobial activity of the lichens *Physcia aipolia*, *Xanthoria parietina*, *Usnea florida*, *Usnea subfloridana* and *Melanohalea exasperata*. *Modern Phytomorphology*, 10, 19-24.
 20. Çobanoğlu, G., Sesal, C., Aydın, Y., Morgan, M. O., & Severoğlu, Z. (2006). The antimicrobial and the antifungal effects of some lichens with a potential medical and economic use in Turkey. In *Proceedings of the 4th International Congress of Ethnobotany (ICEB 2005)* (pp. 143-146).
 21. Davies, D. (2003). Understanding biofilm resistance to antibacterial agents. *Nature reviews Drug discovery*, 2(2), 114-122.
 22. Deduke, C., Timsina, B., & Piercey-Normore, M. D. (2012). Effect of

- environmental change on secondary metabolite production in lichen-forming fungi. *International perspectives on global environmental change. InTech*, 197-230.
23. Donlan, R. M., & Costerton, J. W. (2002). Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clinical microbiology reviews*, 15(2), 167-193.
 24. ECDC/EMA, 2009. ECDC/EMA Joint Technical Report: The bacterial challenge: time to react. Stockholm, Sweden.
 25. Eickhoff, M. J., & Bassler, B. L. (2018). SnapShot: bacterial quorum sensing. *Cell*, 174(5), 1328-1328.
 26. Emsen, B., Aslan, A., Togar, B., & Turkez, H. (2016). In vitro antitumor activities of the lichen compounds olivetoric, physodic and psoromic acid in rat neuron and glioblastoma cells. *Pharmaceutical Biology*, 54(9), 1748-1762.
 27. Fernández-Moriano, C., Gómez-Serranillos, M. P., & Crespo, A. (2016). Antioxidant potential of lichen species and their secondary metabolites. A systematic review. *Pharmaceutical Biology*, 54(1), 1-17.
 28. Flemming, H. C., & Wingender, J. (2001). Relevance of microbial extracellular polymeric substances (EPSs)-Part I: Structural and ecological aspects. *Water science and technology*, 43(6), 1-8.
 29. Fuqua, C., & Greenberg, E. P. (2002). Listening in on bacteria: acyl-homoserine lactone signalling. *Nature reviews Molecular cell biology*, 3(9), 685-695.
 30. Gad, G. F. M., El-Feky, M. A., El-Rehewy, M. S., Hassan, M. A., Abolella, H., & Abd El-Baky, R. M. (2009). Detection of icaA, icaD genes and biofilm production by *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* isolated from urinary tract catheterized patients. *The Journal of Infection in Developing Countries*, 3(05), 342-351.
 31. Gökalsın, B., & Sesal, N. C. (2016). Lichen secondary metabolite evernic acid as potential quorum sensing inhibitor against *Pseudomonas aeruginosa*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 32(9), 1-7.
 32. Gökalsın, B., Berber, D., & Sesal, N. C. (2019). *Pseudomonas aeruginosa* quorum sensing and biofilm inhibition. In *Quorum Sensing* (pp. 227-256).
 33. Gökalsın, B., Berber, D., Özyiğitoğlu, G. Ç., Yeşilada, E., & Sesal, N. C. (2020). Quorum sensing attenuation properties of ethnobotanically valuable lichens against *Pseudomonas aeruginosa*. *Plant Biosystems-An International Journal Dealing with*

- all Aspects of Plant Biology*, 154(6), 792-799.
34. Gökçen, A., Vilcinskas, A., & Wiesner, J. (2013). Methods to identify enzymes that degrade the main extracellular polysaccharide component of *Staphylococcus epidermidis* biofilms. *Virulence*, 4(3), 260-270.
 35. Gunasekaran, S., Rajan, V. P., Ramanathan, S., Murugaiyah, V., Samsudin, M. W., & Din, L. B. (2016). Antibacterial and antioxidant activity of lichens *Usnea rubroincta*, *Ramalina dumeticola*, *Cladonia verticillata* and their chemical constituents. *Malaysian Journal of Analytical Sciences*, 20(1), 1-13.
 36. Guo, L., Shi, Q., Fang, J. L., Mei, N., Ali, A. A., Lewis, S. M., ... & Frankos, V. H. (2008). Review of usnic acid and *Usnea barbata* toxicity. *Journal of Environmental Science and Health, Part C*, 26(4), 317-338.
 37. Güvenç, A., Akkol, E. K., Süntar, İ., Keleş, H., Yıldız, S., & Çalış, İ. (2012). Biological activities of *Pseudevernia furfuracea* (L.) Zopf extracts and isolation of the active compounds. *Journal of ethnopharmacology*, 144(3), 726-734.
 38. Hall-Stoodley, L., Costerton, J. W., & Stoodley, P. (2004). Bacterial biofilms: from the natural environment to infectious diseases. *Nature reviews microbiology*, 2(2), 95-108.
 39. Hamutoğlu, R. (2013). *Hypogymnia physodes* Liken Türünde UV Radyasyonları ve Pb+2, Cr+6 Katyonlarının Uygulanması Sonucunda DNA ve DNA Metilasyon Modelindeki Olası Değişimlerin Moleküler Markörler ile Değerlendirilmesi, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.
 40. Härmälä, P., Hiltunen, R., Oksman-Caldentey, K. M., Laakso, T., & Kauppinen, V. (1992). Isolation and in vitro cultivation of lichen algae and their antimicrobial properties. *Fitoterapia*, 63(3), 217-225.
 41. Hmelo, L. R. (2017). Quorum sensing in marine microbial environments. *Annual review of marine science*, 9, 257-281.
 42. Huneck, S. (1999). The significance of lichens and their metabolites. *Die Naturwissenschaften*, 86(12), 559-570.
 43. Işık, Y. (2021). *Pseudevernia furfuracea* L. ve *Usnea florida* L. Liken Özütləri ile Ag Katkılı Metalik Hibrit Nanopartiküllerinin Sentezi, Karakterizasyonu ve Shsy5y Nöroblastoma Sinir Hücrelerine Karşı Toksisitesinin Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.

44. Jain, N., Ådén, J., Nagamatsu, K., Evans, M. L., Li, X., McMichael, B., ... & Chapman, M. R. (2017). Inhibition of curli assembly and *Escherichia coli* biofilm formation by the human systemic amyloid precursor transthyretin. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 114(46), 12184-12189.
45. Jain, P. K., & Jain, A. P. (2016). Effect of lichens on dermal wound healing with possible *Parmotrema reticulatum* antioxidant and antibacterial mechanism. *Asian Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2(1), 10-14.
46. James, E. H., Edwards, A. M., & Wigneshweraraj, S. (2013). Transcriptional downregulation of agr expression in *Staphylococcus aureus* during growth in human serum can be overcome by constitutively active mutant forms of the sensor kinase AgrC. *FEMS microbiology letters*, 349(2), 153-162.
47. Janson, L., & Arvidson, S. (1990). The role of the delta-lysin gene (hld) in the regulation of virulence genes by the accessory gene regulator (agr) in *Staphylococcus aureus*. *The EMBO journal*, 9(5), 1391-1399.
48. Ji, G., Beavis, R. C., & Novick, R. P. (1995). Cell density control of staphylococcal virulence mediated by an octapeptide pheromone. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 92(26), 12055-12059.
49. Kalia, V. C. (2013). Quorum sensing inhibitors: an overview. *Biotechnology advances*, 31(2), 224-245.
50. Kiedrowski, M. R., & Horswill, A. R. (2011). New approaches for treating staphylococcal biofilm infections. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1241(1), 104-121.
51. Koh, K. H., & Tham, F. Y. (2011). Screening of traditional Chinese medicinal plants for quorum-sensing inhibitors activity. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, 44(2), 144-148.
52. Kosanić, M., Manojlović, N., Janković, S., Stanojković, T., & Ranković, B. (2013). *Evernia prunastri* and *Pseudevernia furfuraceae* lichens and their major metabolites as antioxidant, antimicrobial and anticancer agents. *Food and chemical toxicology*, 53, 112-118.
53. Kostakioti, M., Hadjifrangiskou, M., & Hultgren, S. J. (2013). Bacterial biofilms: development, dispersal, and therapeutic strategies in the dawn of the postantibiotic era. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, 3(4), a010306.

54. Le, K. Y., & Otto, M. (2015). Quorum-sensing regulation in *staphylococci*—an overview. *Frontiers in microbiology*, 6, 1174.
55. Lewis, K. (2007). Persister cells, dormancy and infectious disease. *Nature Reviews Microbiology*, 5(1), 48-56.
56. Lina, G., Jarraud, S., Ji, G., Greenland, T., Pedraza, A., Etienne, J., ... & Vandenesch, F. (1998). Transmembrane topology and histidine protein kinase activity of AgrC, the agr signal receptor in *Staphylococcus aureus*. *Molecular microbiology*, 28(3), 655-662.
57. McConoughey, S. J., Howlin, R., Granger, J. F., Manning, M. M., Calhoun, J. H., Shirtliff, M., ... & Stoodley, P. (2014). Biofilms in periprosthetic orthopedic infections. *Future microbiology*, 9(8), 987-1007.
58. Méndez-Vilas, A. (Ed.). (2013). Microbial pathogens and strategies for combating them: science, technology and education. *Formatex Research Center*.
59. Millot, M., Girardot, M., Dutreix, L., Mambu, L., & Imbert, C. (2017). Antifungal and anti-biofilm activities of acetone lichen extracts against *Candida albicans*. *Molecules*, 22(4), 651.
60. Mitrovic, T., Stamenkovic, S., Cvetkovic, V., Radulovic, N., Mladenovic, M., Stankovic, M., ... & Comic, L. (2014). *Platismatia glauca* and *Pseudevernia furfuracea* lichens as sources of antioxidant, antimicrobial and antibiofilm agents. *EXCLI journal*, 13, 938.
61. Mohamed, J. A., & Huang, D. B. (2007). Biofilm formation by enterococci. *Journal of medical microbiology*, 56(12), 1581-1588.
62. Mohr, K.I. (2016). History of Antibiotics Research. Springer International Publishing. *How to Overcome the Antibiotic Crisis*, 237-272.
63. Moormeier, D. E., & Bayles, K. W. (2017). *Staphylococcus aureus* biofilm: a complex developmental organism. *Molecular microbiology*, 104(3), 365-376.
64. Morfeldt, E., Taylor, D. V., Von Gabain, A., & Arvidson, S. (1995). Activation of alpha-toxin translation in *Staphylococcus aureus* by the trans-encoded antisense RNA, RNAIII. *The EMBO journal*, 14(18), 4569-4577.
65. Mukherjee, S., Moustafa, D., Smith, C. D., Goldberg, J. B., & Bassler, B. L. (2017). The RhlR quorum-sensing receptor controls *Pseudomonas aeruginosa* pathogenesis and biofilm development independently of its canonical homoserine lactone

- autoinducer. *PLoS pathogens*, 13(7), e1006504.
66. Nash III, T. H. (2008). Lichen sensitivity to air pollution. *Lichen biology*, 2.
 67. Neufeld, B. H., Neufeld, M. J., Lutzke, A., Schweickart, S. M., & Reynolds, M. M. (2017). Metal–organic framework material inhibits biofilm formation of *Pseudomonas aeruginosa*. *Advanced Functional Materials*, 27(34), 1702255.
 68. Nguyen, T. T., Yoon, S., Yang, Y., Lee, H. B., Oh, S., Jeong, M. H., ... & Kim, H. (2014). Lichen secondary metabolites in *Flavocetraria cucullata* exhibit anti-cancer effects on human cancer cells through the induction of apoptosis and suppression of tumorigenic potentials. *PloS one*, 9(10), e111575.
 69. Nguyen, H. T., Nguyen, T. H., & Otto, M. (2020). The *staphylococcal* exopolysaccharide PIA–Biosynthesis and role in biofilm formation, colonization, and infection. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 18, 3324-3334.
 70. Nithyanand, P., Beema Shafreen, R. M., Muthamil, S., & Karutha Pandian, S. (2015). Usnic acid, a lichen secondary metabolite inhibits Group A *Streptococcus* biofilms. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 107(1), 263-272.
 71. Nithyanand, P., Shafreen, R. M. B., Muthamil, S., & Pandian, S. K. (2015). Usnic acid inhibits biofilm formation and virulent morphological traits of *Candida albicans*. *Microbiological research*, 179, 20-28.
 72. Novick, R. P. (2003). Autoinduction and signal transduction in the regulation of staphylococcal virulence. *Molecular microbiology*, 48(6), 1429-1449.
 73. Novick, R. P., & Geisinger, E. (2008). Quorum sensing in staphylococci. *Annual review of genetics*, 42, 541-564.
 74. OECD. Antimicrobial resistance: Policy Insights [Internet]. [cited 2016 Nov 21]. Available from: <https://www.oecd.org/health/healthsystems/AMR-Policy-InsightsNovember2016.pdf>.
 75. Okuyama, E., Umeyama, K., Yamazaki, M., Kinoshita, Y., & Yamamoto, Y. (1995). Usnic acid and diffractaic acid as analgesic and antipyretic components of *Usnea diffracta*. *Planta medica*, 61(02), 113-115.
 76. Oran, S., Sahin, S., Sahinturk, P., Ozturk, S., & Demir, C. (2016). Antioxidant and antimicrobial potential, and HPLC analysis of stictic and usnic acids of three *Usnea* species from Uludag mountain (Bursa, Turkey). *Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR*, 15(2), 527.

77. O'Toole, G., Kaplan, H. B., & Kolter, R. (2000). Biofilm formation as microbial development. *Annual Reviews in Microbiology*, 54(1), 49-79.
78. Özenoğlu, S., Aydoğdu, G., Dinçsoy, A. B., Taghidizaj, A. A., Derici, K., YILMAZ, E., ... & Cansaran-Duman, D. (2013). Liken sekonder bileşiklerinin farklı insan kanser hücre tipleri üzerine antikanserojenik etkisi. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 70(4), 215-226.
79. Öztürk, A., Yılmaz, S. Ö., & Altun, Z. B. (2013). Şavşat (Artvin) yöresinin bazı liken türleri ve likenlerin ekonomik değerleri. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 18(1-2), 17-24.
80. Özyiğitoğlu, G. Ç., Açıkgöz, B., & Sesal, C. (2017). Lichen secondary metabolites: Synthesis pathways and biological activities. *Acta Biologica Turcica*, 29(4), 150-163.
81. Paliya, B. S., Bajpai, R., Jadaun, V., Kumar, J., Kumar, S., Upreti, D. K., ... & Singh, B. N. (2016). The genus *Usnea*: A potent phytomedicine with multifarious ethnobotany, phytochemistry and pharmacology. *RSC advances*, 6(26), 21672-21696.
82. Paluch, E., Rewak-Soroczyńska, J., Jędrusik, I., Mazurkiewicz, E., & Jermakow, K. (2020). Prevention of biofilm formation by quorum quenching. *Applied microbiology and biotechnology*, 104(5), 1871-1881.
83. Papenfort, K., & Bassler, B. L. (2016). Quorum sensing signal-response systems in Gram-negative bacteria. *Nature Reviews Microbiology*, 14(9), 576-588.
84. Pathak, A., Shukla, S. K., Pandey, A., Mishra, R. K., Kumar, R., & Dikshit, A. (2016). In vitro antibacterial activity of ethno medicinally used lichens against three wound infecting genera of *Enterobacteriaceae*. *Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences*, 86(4), 863-868.
85. Paudel, B., Datta Bhattarai, H., Prasad Pandey, D., Hur, J. S., Gyu Hong, S., Kim, I. C., & Han Yim, J. (2012). Antioxidant, antibacterial activity and brine shrimp toxicity test of some mountainous lichens from Nepal. *Biological research*, 45(4), 387-391.
86. Peng, H. L., Novick, R. P., Kreiswirth, B., Kornblum, J., & Schlievert, P. M. (1988). Cloning, characterization, and sequencing of an accessory gene regulator (agr) in *Staphylococcus aureus*. *Journal of bacteriology*, 170(9), 4365-4372.

87. Pérez-Pérez, M., Jorge, P., Pérez Rodríguez, G., Pereira, M. O., & Lourenço, A. (2017). Quorum sensing inhibition in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms: new insights through network mining. *Biofouling*, 33(2), 128-142.
88. Periasamy, S., Joo, H. S., Duong, A. C., Bach, T. H. L., Tan, V. Y., Chatterjee, S. S., ... & Otto, M. (2012). How *Staphylococcus aureus* biofilms develop their characteristic structure. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(4), 1281-1286.
89. Pompilio, A., Pomponio, S., Di Vincenzo, V., Crocetta, V., Nicoletti, M., Piovano, M., ... & Di Bonaventura, G. (2013). Antimicrobial and antibiofilm activity of secondary metabolites of lichens against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains from cystic fibrosis patients. *Future microbiology*, 8(2), 281-292.
90. Pompilio, A., Riviello, A., Crocetta, V., Di Giuseppe, F., Pomponio, S., Sulpizio, M., ... & Di Bonaventura, G. (2016). Evaluation of antibacterial and antibiofilm mechanisms by usnic acid against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Future microbiology*, 11(10), 1315-1338.
91. Queck, S. Y., Jameson-Lee, M., Villaruz, A. E., Bach, T. H. L., Khan, B. A., Sturdevant, D. E., ... & Otto, M. (2008). RNAIII-independent target gene control by the agr quorum-sensing system: insight into the evolution of virulence regulation in *Staphylococcus aureus*. *Molecular cell*, 32(1), 150-158.
92. Randrianirina, F., Soares, J. L., Ratsima, E., Carod, J. F., Combe, P., Grosjean, P., ... & Talarmin, A. (2007). In vitro activities of 18 antimicrobial agents against *Staphylococcus aureus* isolates from the Institut Pasteur of Madagascar. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 6(1), 1-5.
93. Rémy, B., Mion, S., Plener, L., Elias, M., Chabrière, E., & Daudé, D. (2018). Interference in bacterial quorum sensing: a biopharmaceutical perspective. *Frontiers in pharmacology*, 9, 203.
94. Ribeiro, M., Monteiro, F. J., & Ferraz, M. P. (2012). *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* adhesion to nanohydroxyapatite in the presence of model proteins. *Biomedical Materials*, 7(4), 045010.
95. Rutherford, S. T., & Bassler, B. L. (2012). Bacterial quorum sensing: its role in virulence and possibilities for its control. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, 2(11), a012427.

96. Saeed, A. (2016). Isocoumarins, miraculous natural products blessed with diverse pharmacological activities. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 116, 290-317.
97. Sağlam, D., & Şeker, E. (2016). Food-borne bacterial pathogens. *Kocatepe Veterinary Journal*, 9(2), 105-113.
98. Schinkovitz, A., Kaur, A., Urban, E., Zehl, M., Páchníková, G., Wang, Y., ... & Kopp, B. (2014). Cytotoxic constituents from *Lobaria scrobiculata* and a comparison of two bioassays for their evaluation. *Journal of natural products*, 77(4), 1069-1073.
99. Shcherbakova, A., Strömstedt, A. A., Göransson, U., Gnezdilov, O., Turanov, A., Boldbaatar, D., ... & Koptina, A. (2021). Antimicrobial and antioxidant activity of *Evernia prunastri* extracts and their isolates. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 37(8), 1-14.
100. Shrestha, G., Thompson, A., Robison, R., & St. Clair, L. L. (2016). *Letharia vulpina*, a vulpinic acid containing lichen, targets cell membrane and cell division processes in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Pharmaceutical Biology*, 54(3), 413-418.
101. Shukla, V., Joshi, G. P., & Rawat, M. S. M. (2010). Lichens as a potential natural source of bioactive compounds: a review. *Phytochemistry reviews*, 9(2), 303-314.
102. Smith, A. L. (1921). *Lichens*. University Press.
103. Solano, C., Echeverz, M., & Lasa, I. (2014). Biofilm dispersion and quorum sensing. *Current opinion in microbiology*, 18, 96-104.
104. Speziale, P., Visai, L., Rindi, S., Pietrocola, G., Provenza, G., & Provenzano, M. (2008). Prevention and treatment of *Staphylococcus* biofilms. *Current medicinal chemistry*, 15(30), 3185-3195.
105. Stewart, P. S., & Costerton, J. W. (2001). Antibiotic resistance of bacteria in biofilms. *The lancet*, 358(9276), 135-138.
106. Studzińska-Sroka, E., Piotrowska, H., Kucińska, M., Murias, M., & Bylka, W. (2016). Cytotoxic activity of physodic acid and acetone extract from *Hypogymnia physodes* against breast cancer cell lines. *Pharmaceutical biology*, 54(11), 2480-2485.
107. Sully, E. K., Malachowa, N., Elmore, B. O., Alexander, S. M., Femling, J. K.,

- Gray, B. M., ... & Gresham, H. D. (2014). Selective chemical inhibition of agr quorum sensing in *Staphylococcus aureus* promotes host defense with minimal impact on resistance. *PLoS pathogens*, 10(6), e1004174.
108. Svenningsen, S. L. (2018). Small RNA-based regulation of bacterial quorum sensing and biofilm formation. *Microbiology Spectrum*, 6(4), 6-4.
109. Szczuka, E., Urbańska, K., Pietryka, M., & Kaznowski, A. (2013). Biofilm density and detection of biofilm-producing genes in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains. *Folia microbiologica*, 58(1), 47-52.
110. Szweda P, Schielmann M, Milewski S, Frankowska A, Jakubczak A. (2012). Biofilm production and presence of ica and bap genes in *Staphylococcus aureus* strains isolated from cows with mastitis in the eastern Poland. *Pol J Microbiol*, 61(1), 65-9.
111. Ventola, C. L. (2015). The antibiotic resistance crisis: part 1: causes and threats. *Pharmacy and therapeutics*, 40(4), 277.
112. WHO (2020) Antibiotic resistance. World Health Organization. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antibiotic-resistance>. Accessed 31 Mar 2021.
113. Xu, M., Heidmarsson, S., Olafsdottir, E. S., Buonfiglio, R., Kogej, T., & Omarsdottir, S. (2016). Secondary metabolites from cetrarioid lichens: Chemotaxonomy, biological activities and pharmaceutical potential. *Phytomedicine*, 23(5), 441-459.
114. Yalaz, M., Cetin, H., Akisu, M., Yeniay, B., Tunger, A., & Kultursay, N. (2004). Experience with teicoplanin in the treatment of neonatal *staphylococcal* sepsis. *Journal of international medical research*, 32(5), 540-548.
115. Yang, Y., Bhosle, S. R., Yu, Y. H., Park, S. Y., Zhou, R., Taş, İ., ... & Kim, H. (2018). Tumidulin, a lichen secondary metabolite, decreases the stemness potential of colorectal cancer cells. *Molecules*, 23(11), 2968.
116. Yang, Y., Park, S. Y., Nguyen, T. T., Yu, Y. H., Nguyen, T. V., Sun, E. G., ... & Kim, H. (2015). Lichen secondary metabolite, physciosporin, inhibits lung cancer cell motility. *PloS one*, 10(9), e0137889.
117. Yarwood, J. M., Bartels, D. J., Volper, E. M., & Greenberg, E. P. (2004). Quorum sensing in *Staphylococcus aureus* biofilms. *Journal of bacteriology*, 186(6), 1838-1850.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : İpek TÜRKMENOĞLU
Öğrenim Durumu : Yüksek Lisans

Derece	Alan	Kurum	Mezuniyet Yılı
Ortaöğretim	Sayısal	Yenilevent Anadolu Lisesi	2012
Lisans	Biyoloji Öğretmenliği	Marmara Üniversitesi	2017

Yayınlar

Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler

Türkmenoğlu, İ., Toksöz, O., Berber, D., Çağlayan, P., Birbir, M. & Sesal, N.C. (2022). Antibacterial Properties of Several Lichen Extracts Against Two Moderately Halophilic Bacteria from Salted Sheepskins, *Journal of the American Leather Chemists Association*, 117, 153-163. (Kabul edildi).

Toksöz, O., **Türkmenoğlu, İ.**, Berber, D., Çağlayan, P., Birbir, M., & Sesal, N. C. (2021). Evaluation of Antibacterial Potencies of Eight Lichen Extracts Against Gram-Positive Moderately Halophilic Bacteria. *Johnson Matthey Technology Review*, 67.

Berber, D., İnanç, L., **Türkmenoğlu, İ.**, Toksöz, O., & Sesal, N.C. (2021). Antibacterial Potency for *Mimosa*, *Quebracho* and Essential Oils of *Origanum* Species Against *Acinetobacter pittii*, *Klebsiella pneumoniae* and *Bacillus cereus* from Diabetic Foot Patient. *Journal of the American Leather Chemists Association*. (Kabul edildi).

Berber, D., **Türkmenoğlu, İ.**, & Sesal, N. C. (2020). Antibacterial and Anti-Biofilm Activities of Acetone Extracts of *Usnea* sp. against Mixed Cultures of Bacteria from Soak Liquor Samples and Tank Surfaces. *Journal of the American Leather Chemists Association*, 115(10), 365-372.

Berber, D., **Türkmenoğlu, İ.**, & Sesal, N. C. (2020). Antibacterial Potential of Six Lichen Species against *Enterococcus durans* from Leather Industry. *Johnson Matthey Technology Review*, 64(4).

Berber, D., **Türkmenoğlu, İ.**, Birbir, M., & Sesal, N. C. (2020). Efficacy of *Usnea* sp. Extracts in Preventing Biofilm Formation by *Bacillus* Species Isolated from Soaking Liquor Samples. *Journal of the American Leather Chemists Association*, 115(6), 222-229.

Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında basılan bildiriler

Determining the Effects of Lichen Extracts on *Staphylococcus aureus* Quorum Sensing and Biofilm Form” - Uluslararası Mühendislik ve Doğa Bilimleri Çalışmaları Kongresi - Mayıs 2021 - Poster Sunumu.

“Zeytin Yapraklarından Elde Edilen Aseton ve Etil Asetat Özütlelerinin *Pseudomonas aeruginosa* Üzerine Anti-Quorum Sensing ve Anti-Biyofilm Etkisi” - Uluslararası 38. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Kongresi - Kasım 2018 - Poster Sunumu.

Proje Deneyimi

Bursiyer - 218M320, Glikolitik Enzimlerde Türe Özgü Allosterik İnhibisyon Bölgelerinin Belirlenmesi ve İlaç Tasarımında Kullanımı, 1001 - Araştırma, Burslu, Yürürlükte, ARDEB, MAG - Mühendislik Araştırma Destek Grubu, Projeye Katılma/Ayrılma Tarihleri: 01.12.2019 - 01.02.2021, Proje Başlangıç/Bitiş Tarihleri: 01.03.2019 - 01.09.2022.

Staj Deneyimi

Stajyer Biyoloji Öğretmeni - Beşiktaş Sakıp Sabancı Anadolu Lisesi, Millî Eğitim Bakanlığı, İstanbul / Türkiye. Temmuz 2016 - Haziran 2017.