

***ESCHERICHIA COLI (E. COLI)* BAKTERİSİNİN KEKİK YAĞI VE
BİYOSÜRFEKTAN KULLANIMI İLE ANTİBİYOTİK
ETKİNLİĞİNİN ARTIRILMASININ ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

YEŞİM ARIK

**MERSİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BİYOTEKNOLOJİ
ANABİLİM DALI**

**MERSİN
MAYIS- 2019**

***ESCHERICHIA COLI (E. COLI) BAKTERİSİNİN KEKİK YAĞI VE
BİYOSÜRFEKTAN KULLANIMI İLE ANTİBİYOTİK
ETKİNLİĞİNİN ARTIRILMASININ ARAŞTIRILMASI***

YÜKSEK LİSANS TEZİ

YEŞİM ARIK

**MERSİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

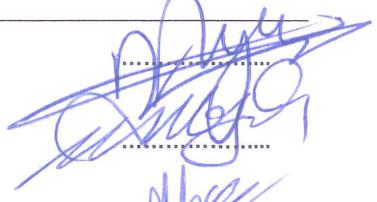


**BİYOTEKNOLOJİ
ANABİLİM DALI**

**Danışman
Prof. Dr. ALİ ÜNYAYAR**

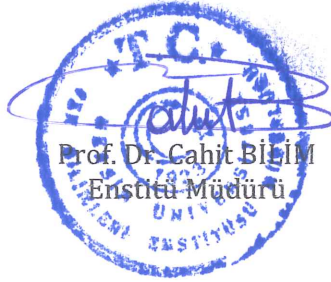
**MERSİN
MAYIS-2019**

ONAY

Yeşim Arık tarafından Prof. Dr. Ali Ünyayar danışmanlığında hazırlanan " *ESCHERICHIA COLI (E. COLI)* BAKTERİSİNİN KEKİK YAĞI VE BİYOSÜRFEKTAN KULLANIMI İLE ANTİBİYOTİK ETKİNLİĞİNİN ARTIRILMASININ ARAŞTIRILMASI " başlıklı çalışma aşağıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından 28/05/2019 tarihinde yapılan Tez Savunma Sınavı sonucunda oy birliği/çokluğu ile Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Görevi	Ünvanı, Adı ve Soyadı	İmza
Başkan	Prof. Dr. Ali ÜNYAYAR	
Üye	Prof. Dr. Mehmet Ali MAZMANCI	
Üye	Doç. Dr. Mine İNCE OCAKOĞLU	
Üye	
Üye	

Yukarıdaki Jüri kararı Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 28./05/2019 tarih ve 2019.26./795 sayılı kararıyla onaylanmıştır.



Bu tezde kullanılan özgün bilgiler, şekil, tablo ve fotoğraflardan kaynak göstermeden alıntı yapmak 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunu hükümlerine tabidir.

ETİK BEYAN

Mersin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliğinde belirtilen kurallara uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada,

- Tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlâk kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- Atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak kullandığımı,
- Kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- Bu tezin herhangi bir bölümünü Mersin Üniversitesi veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı,
- Tezin tüm telif haklarını Mersin Üniversitesi'ne devrettiğimi beyan ederim.

ETHICAL DECLARATION

This thesis is prepared in accordance with the rules specified in Mersin University Graduate Education Regulation and I declare to comply with the following conditions:

- I have obtained all the information and the documents of the thesis in accordance with the academic rules.
- I presented all the visual, auditory and written informations and results in accordance with scientific ethics.
- I refer in accordance with the norms of scientific works about the case of exploitation of others' works.
- I used all of the referred works as the references.
- I did not do any tampering in the used data.
- I did not present any part of this thesis as an another thesis at Mersin University or another university.
- I transfer all copyrights of this thesis to the Mersin University.

28/05/ 2019

İmza / Signature

Yeşim Arık

ÖZET

ESCHERICHIA COLI (E. COLI) BAKTERİSİNİN KEKİK YAĞI VE BİYOSÜRFEKTAN KULLANIMI İLE ANTİBİYOTİK ETKİNLİĞİNİN ARTIRILMASININ ARAŞTIRILMASI

Güncel tıp uygulamalarında antibiyotiklere direnç gelişimi en önemli çözüm bekleyen sorunlardan biridir. Antibiyotiklere direnç gelişimi ile tedavilerin etkinlikleri düşmekte, hasta morbidite ve mortaliteleri oluşmakta ve tedavi maliyetleri artmaktadır. Doğal antibiyoterapi ya da antibiyotiklere destek kimyasallar bu konuda önem taşımaktadır. Çalışmamızda disk diffüzyon yöntemi kullanılarak, kekik yağı ve biosüर्फektan'ın iki tane *Escherichia coli* suşu üzerine direkt antibakteriyel etkisi ve 7 adet antibiyotik ile kombine edilmesinin etkileri araştırılmıştır.

İki adet *Escherichia coli* suşu seçilmiştir(Kontrol suşu *Escherichia coli* ATCC-25922 ve dirençli *Escherichia coli* suşu). Her iki *Escherichia coli* suşu Eosin Methylene Blue agarda üretilmiştir. Üretilen bakterilerin Müller Hinton Agar besiyerine antibiyogram duyarlılık testi için yaygın ekimi yapılmıştır. Birinci aşamada ayrı ayrı kekik yağı ve biosüर्फektan emdirilmiş boş diskler ile antibakteriyel duyarlılık testi yapılmıştır. İkinci aşamada 7 adet farklı antibiyotik içeren diske 10µL dozda kekik yağı veya biosüर्फektan emdirilerek kombine edilmesi ile testler tekrarlanmıştır. Elde edilen zon çapları istatistik olarak analiz edilmiştir.

Biosüर्फektan'ın her iki *Escherichia coli* üzerine de direkt antibakteriyel etkisi anlamlı bulunmamıştır. Biosüर्फektan antibiyotik kombinasyonu ile de antibiyotik etkinliğinde anlamlı artış gözlenmemiştir. Kekik yağının her iki bakteriye de direkt antibakteriyel etkisinde anlamlı artış saptanmıştır. Kekik yağı-antibiyotik kombinasyonlarının çoğunda her iki *Escherichia coli* üzerine antibakteriyel etkisinde anlamlı artış saptanmıştır.

Çalışmamızda biosüर्फektanın direkt antimikrobiyal etkisi gösterilememiştir. Kombine antibiyotiklerin etkisini artırıcı etkisi gözlenmemiştir ya da etkisini azaltıcı yönde bir etki gözlenmiştir. Ancak kekik yağı hem direkt antimikrobiyal etki göstermiştir hem de antibiyotiklerden çoğunun etkinliğini artırıcı yönde etki etmiştir. Antibiyotiklere hızlı direnç gelişimi, enfeksiyonlara bağlı morbiditeler ve tedavi maliyetleri göz önüne alındığında; çalışmamızda elde edilen bulgular öncelikli olarak kekik yağının bağırsak ve üriner sistem enfeksiyonlarında tek başına ya da antibiyotiklerle kombine kullanılabileceğini göstermiştir. Çalışmamız ayrıca kekik yağının klinik kullanımı ile ilgili gelecekte yapılacak çalışmalara kaynak teşkil edebileceğini göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: *Escherichia coli*, biosüर्फektan, kekik yağı, antibiyotik, antibakteriyel, sinerji.

Danışman: Prof. Dr, Ali Ünyayar, Mersin Üniversitesi, Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Mersin.

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE INCREASE OF ANTIBIOTIC EFFICACY OF *ESCHERICHIA COLI* (*E. COLI*) BACTERIA BY USING THYME OIL AND BIOSURFACTANT

In current medical applications, development of resistance to antibiotics is one of the most important problem. The efficacy of the treatments is decreased, morbidity and mortality rates of the patients and treatment costs increase with the development of resistance to antibiotics. Natural antibiotherapy or chemicals supporting antibiotics are important in this regard. In our study, the effects of thyme oil and biosurfactants direct antibacterial effects and combined seven antibiotics effects were investigated on *Escherichia coli* species.

Two *Escherichia coli* strains were selected (Control strain *Escherichia coli* ATCC-25922 and resistant strain *Escherichia coli*). Both *Escherichia coli* strains were inoculated into Eosin Methylene Blue agar. The producted bacteria were cultivated by spreading method on Mueller Hinton agar media for the antibiogram susceptibility test. In the first stage, antibacterial susceptibility test was performed by thyme oil and empty disks impregnated with biosurfactant separately. In the second stage, the tests were repeated by combining seven different antibiotic-containing discs with a 10 μ L dose of thyme oil or biosurfactant. The obtained zone diameters were analyzed by statistically.

The direct antibacteria effect of biosurfactant on both two *Escherichia coli* species was not significant. Any significant increase in antibiotic activity was observed with the biosurfactant antibiotic combination. It was detected that thyme oil had a significant increase on direct antibacterial effect on both bacteria. A significant increase in antibacterial effect on both *Escherichia coli* was found in most of the thyme oil-antibiotic combinations.

Direct antimicrobial effect of biosurfactant was not evident in our study. There was any effect of combined antibiotics or they had a decreasing effect. However, thyme oil indicated both direct antimicrobial effect and it increased the activity of most of the other antibiotics. In regard to rapid development of antibiotic resistance and associated morbidities and costs due to infections; the findings of our study have shown that thyme oil can be used alone or combined with antibiotics in the intestinal and urinary tract infections. In addition, our findings can be a guide to the further studies designed for clinical applications.

KeyWords: *Escherichia coli*, biosurfactant, thymeoil, antibiotics, antibacterial, synergy.

Advisor: Dr, Ali Ünyayar, Mersin University, Department of Biotechnology, Mersin, Turkey.

TEŞEKKÜR

Tezin hazırlanmasında katkısı büyük olan değerli danışman hocam Prof. Dr. Ali Ünyayar'a, katkılarından dolayı Dr. Gül Bayram Abiha'ya eğitim hayatım boyunca beni desteklemiş olan kıymetli kayınvalidem Zeynep Arık'a, her zaman yanımda olan, beni her koşulda destekleyen sevgili eşim Atilla Arık'a, biricik oğlum Ayaz Ata Arık'a ve bütün aileme çok teşekkür ederim.



İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İÇ KAPAK	ii
ONAY	iii
ETİK BEYAN	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
TEŞEKKÜR	vii
İÇİNDEKİLER	viii
TABLolar DİZİNİ	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
KISALTMALAR ve SİMGELER	xii
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMALARI	3
2.1. <i>Escherichia coli</i> (<i>E.coli</i>)	3
2.1.1. Morfolojisi ve Boyama Özellikleri	3
2.1.2. Kültür Özellikleri	4
2.1.3. Biyokimyasal Özellikler	4
2.1.4. Epidemiyoloji	5
2.1.5. Laboratuvar Tanısı	6
2.1.6. Tedavi	6
2.2. Biyosümfektanlar	7
2.2.1. Biyosümfektanların Avantajları	8
2.2.2. Biyosümfektanların Antimikrobiyal Özellikleri	9
2.3. Aromatik ve Uçucu Yağlar	9
2.3.1. Aromatik ve Uçucu Yağların sınıflandırılması	10
2.3.1.1. Kimyasal Yapılarına Göre Sınıflandırılması	10
2.3.1.2. Aromatik Özelliklerine Göre Sınıflandırılması	11
2.3.1.3. Farmokolojik ve Terapötik Etkilerine Göre Sınıflandırılması	11
2.3.2. Aromatik ve Uçucu Yağların Antimikrobiyal Etki Mekanizmaları	11
2.3.3. Bitkilerle Tedavi	13
2.3.4. Lamiceae Familyası	13
2.3.4.1. Kekik(<i>Thymus</i>) Bitkisi	14
2.3.5. Antibiyotikler	14
2.3.5.1. Antibiyotik Etki Mekanizmaları	14
2.3.5.2. Antibiyotik Direnci	15
3. MATERYAL ve YÖNTEM	17
3.1. Materyal	17
3.1.1. Kekik yağı	17
3.1.2. L- Rhamnose Monohydrate Çözeltisi	17
3.1.3. Kullanılan Antibiyotikler	18
3.1.4. Örnekler	18
3.1.5. Kullanılan Cihazlar ve Gereçler	19
3.2. Bakteriyolojik Tanı İçin Kullanılan Testler	19
3.2.1. Oksidaz Deneyi	19
3.2.2. Katalaz Deneyi	20
3.2.3. İndol Testi	20
3.2.4. Sitrat Deneyi	20
3.3. Bakteriyolojik Tanı İçin Kullanılan Besiyerleri ve Boyalar	20
3.3.1. % 5 Kanlı Agar'ın Hazırlanması	20

	Sayfa
3.3.2. Eosin Methylene Blue Agar'ın Hazırlanması	21
3.3.3. Mueller Hinton Agar'ın Hazırlanması	21
3.3.4. Mueller Hinton Broth'ın Hazırlanması	21
3.3.5. Besiyerlerinin Kalite Kontrolü	22
3.3.6. Gram Boyama	22
3.4. Yöntem	23
3.4. 1. <i>E.coli</i> Suşlarının Kültürü ve Değerlendirmesi	23
3.5. İstatistik Yöntem	24
4. BULGULAR ve TARTIŞMA	25
4.1. Bulgular	25
4.1.1.Referans Disklerle Biosürefektan ve Kekik Yağı etkinliği	25
4.1.2. Kontrol suş için Antibiyotiklere Ek Biosürefektan Etkinliği	26
4.1.3. Dirençli suş için Antibiyotiklere Ek Biosürefektan Etkinliği	27
4.1.4. Kontrol suş için Antibiyotiklere Ek Kekik Yağı Etkinliği	27
4.1.5. Dirençli suş için Antibiyotiklere Ek Kekik Yağı Etkinliği	28
4.2. Çalışma Örnekleri	30
4.2.1. Dirençli suş için antibiyotik diskleri ve referans disk	30
4.2.2. Dirençli suş için biosürefektan ve kekik yağı eklenmiş referans disk	31
4.2.3. Dirençli suş için biosürefektan eklenmiş Antibiyotik diskleri	32
4.2.4. Dirençli suş için kekik yağı eklenmiş Antibiyotik diskleri	33
4.2.5. Kontrol suş için antibiyotik diskleri ve referans disk	34
4.2.6. Kontrol suş için biosürefektan ve kekik yağı eklenmiş referans disk	35
4.2.7. Kontrol suş için biosürefektan eklenmiş antibiyotik diskleri	36
4.2.8. Kontrol suş için kekik yağı eklenmiş antibiyotik diskleri	37
4.3. Çalışmada Kullanılan Kekik Yağı Analizi Sonuçları	38
4.4. Tartışma	39
5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER	42
KAYNAKLAR	43
ÖZGEÇMİŞ	48

TABLULAR DİZİNİ

	Sayfa
Tablo 2.1. <i>E. coli</i> ile gelişen gastroenteritler	5
Tablo 2.2. Etki mekanizmasına göre antibiyotikler	15
Tablo 3.1. Kekik yağı analizi ekipman ve çalışma koşulları	17
Tablo 3.2. Antibiyotik diskleri, dozları ve inhibisyon zon çapları	18
Tablo 4.1. Referans disklerle biosümfektan ve kekik yağı etkinliği	25
Tablo 4.2. Kontrol suş için antibiyotiklere ek biosümfektan etkinliği	26
Tablo 4.3. Dirençli suş için antibiyotiklere ek biosümfektan etkinliği	27
Tablo 4.4. Kontrol suş için antibiyotiklere ek kekik yağı etkinliği	28
Tablo 4.5. Dirençli suş için antibiyotiklere ek kekik yağı etkinliği	29
Tablo 4.6. Çalışmada kullanılan kekik yağının analiz sonuçları	38



ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 2.1. <i>E. coli</i> bakterisinin 100'lük immersiyon objektifi ile çekilmiş ışık mikroskobu görüntüsü.	3
Şekil 2.2. EMB Agar besiyerinde üreyen <i>E. coli</i> kolonileri	4
Şekil 2.3. Rhamnolipidlerin kimyasal yapıları	7
Şekil 4.1. Dirençli suş için antibiyotik diskleri ve referans disk	30
Şekil 4.2. Dirençli suş için biyosümfektan ve kekik yağı eklenmiş referans disk	31
Şekil 4.3. Dirençli suş için biyosümfektan eklenmiş antibiyotik diskleri	32
Şekil 4.4. Dirençli suş için kekik yağı eklenmiş antibiyotik diskleri	33
Şekil 4.5. Kontrol suş için antibiyotik diskleri ve referans disk	34
Şekil 4.6. Kontrol suş için biyosümfektan ve kekik yağı eklenmiş referans disk	35
Şekil 4.7. Kontrol suş için biyosümfektan eklenmiş antibiyotik diskleri	36
Şekil 4.8. Kontrol suş için kekik yağı eklenmiş antibiyotik diskleri	37

KISALTMALAR ve SİMGELER

Kısaltma/Simge	Tanım
AMP	Ampisilin
<i>B.subtilis</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
EMB	Eosin Methylene Blue
FF	Fosfomisin
CN	Gentamisin
IPM	İmipenem
MHA	Mueller Hinton Agar
CAZ	Seftazidim
CIP	Siprofloksasin
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
SXT	Sulfametoxazol-Trimetrophim
<i>P. aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>

1. GİRİŞ

Enterobacteriaceae ailesi, tıbbi olarak önemli gram negatif basillerin en geniş ve en heterojen topluluğudur. Elli cins ve yüzlerce tür ve alt türü tanımlanmıştır. *Enterobacteriaceae* ailesinde tıbbi olarak önemi olan birçok bakteri türü vardır. *Enterobacteriaceae*, tüm dünyada, toprakta, suda, bitkilerde ve insan ve birçok hayvanın normal bağırsak florasında bulunan, çok yaygın mikroorganizmalardır. *Enterobacteriaceae* ailesinde yer alan bakteri türleri, insanlarda ve hayvanlarda birçok hastalığa neden olabilmektedirler [1]. Bu bakteriler insanda, bakteriyemilerin büyük bir çoğunluğundan sorumludur. Bu bakteriler, ayrıca insanlarda sepsisemi, menenjit, cerrahi yara enfeksiyonları, pnömoni, üriner sistem enfeksiyonları gibi hastalıklara neden olurlar. Bu bakterilerin birçok organ ve doku tutulumları vardır. Bu ailedeki önemli cinslere: *Escherichia*, *Klebsiella*, *Salmonella*, *Shigella*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Yersinia*, *Morganella*, *Serratia*, *Providencia* örnek olarak gösterilebilir [2].

Escherichia, *Enterobacteriaceae* ailesinin üyesidir. *Escherichia coli* (*E. coli*) ilk kez 1885 yılında Alman Bakteriyolog Theodor Escherich tarafından keşfedilmiştir. *E. coli* o zamandan günümüze biyolojik laboratuvar deney ve araştırma için yaygın olarak kullanılmaktadır. *E. coli*, hayvan dışkıında, memelilerin bağırsaklarında ve hatta sıcak su kaynaklarının kenarında bile bulunabilen, fakültatif (aerobik ve anaerobik büyüme) 1.1–1.5 x 2.0–6.0 µm boyutlarında gram (-) basil şeklinde, 1-2 mm çapında S tipi koloniler yapan endosporsuz, karbon kaynağı olarak laktoz ve glikozu kullanan, katalaz (+), oksidaz (-) bakterilerdir. 37°C'de optimum çoğalırlar.

Enterik *E. coli*, virülans özelliklerine bağlı olarak beş kategoriye ayrılabilirler. Bunlar: enterotoksijenik *E. coli* (EPEC), enteropatogenik *E. coli* (EPEC), enteroinvaziv *E. coli* (EIEC), enterohemorajik *E. coli* (EHEC), enteroadherent agregatif *E. coli* (EAaggEC) ve verotoksijenik *E. coli* (VTEC). *E. coli* bağırsak ve bağırsak dışı enfeksiyonlara neden olabilir. Bağırsakta kanlı ishal meydana gelir. Bağırsak dışında; üriner sistem enfeksiyonları, yenidoğan menenjit, pnömoni, septik artrit, deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarına da neden olur [3].

İdrar yolu enfeksiyonları toplumda ve hastane ortamında en sık görülen bakteriyel enfeksiyonlardandır. İdrar yolu enfeksiyonlarından sorumlu bakteriler ve antibiyotiklere duyarlılıklarında zamanla değişiklikler olmaktadır [4]. Bu enfeksiyonlarda en sık görülen etkenin *E. coli* olduğu bilinmektedir.

İdrar yolu enfeksiyonları genellikle antibiyotiklerle tedavi edilmektedir ve bu yüzden dirençli bakterilerin seleksiyonu ve ortaya çıkması için önemli bir potansiyel kaynaktır [5]. Hastane kaynaklı birçok üriner sistem enfeksiyonları vakasında potansiyel patojenlerin sıklığına, antimikrobiyal direnç oranlarına ve hastalığın ciddiyetine bakılarak başlangıçta

ampirik antibiyotik tedavisi uygulanmaktadır. Antibiyotik kullanımı ve direnç arasındaki ilişkinin bilinmesine rağmen, lokal direnç oranları, seleksiyon ve direnç konusunda yeterli bilgilere sahip olunmaması nedeniyle, uygun olmayan ampirik tedaviler seçilebilmektedir [6]. Ampirik tedavide sık kullanılan antibiyotiklere karşı direnç oranlarının yüksek olduğu artık bilinmektedir [7]. İdrar yolu enfeksiyonlarında, ampirik tedavi vermek yerine etkenin ve antibiyotik duyarlılığının belirlenerek ona göre tedaviye başlanmasının gerekliliği daha da önemli hale gelmiştir.

Biyosürefektanlar çeşitli mikroorganizmalar tarafından üretilen yüzey aktif moleküllerdir. Mikrobiyal olarak üretilen bu bileşikler, birbirine karışmayan iki sıvı faz arasındaki yüzey ve arayüzey gerilimini azaltırlar [8]. Biyosürefektanlar ucuz hammadde kullanılarak üretildikleri için ulaşılabilirlikleri yüksektir, ayrıca doğal hammaddeden üretildikleri için çevreye zarar vermezler. Biyosürefektanların kullanımının desteklenmesi hem ülke ekonomisi açısından hem de dünyamızın geleceği açısından önemlidir.

Bitkisel tedavinin tarihi insan varlığı kadar eskilere dayanmakla birlikte günümüzde de geçerliliğini korumaktadır. Bitkiler birçok enfeksiyonda iyileştirici ve antiseptik amaçlı olarak kullanılmaktadır. Aromatik ve uçucu yağları antibakteriyel aktiviteye sahip bitkilerin bakteriyel kaynaklı insan hastalıklarının kontrolünde etkili olabileceği düşünülmektedir. Aromatik ve uçucu yağlar biyolojik ürünler olduğundan ve elde edilmeleri sırasında kimyasal maddeler kullanılmadığından çevre kirliliğine neden olmazlar. Bu nedenle kullanımının teşvik edilmesi önemlidir.

Hastane kaynaklı idrar yolları enfeksiyonlarına sebep olan mikroorganizmalar içinde en sık rastlanan *E. coli* bakterisi ile mücadelede kullanılan antibiyotiklerin etkinliğinin artırılması için bu tez kapsamında organik yapıda olan kekik yağı ve biyosürefektanın kullanımının araştırılması hedeflenmiştir. Biyosürefektanlar ve aromatik uçucu yağlar insan sağlığına zarar vermemeleri ve hem ucuz hem de kolay ulaşılabilir olmaları nedeniyle antibiyotiklere yardımcı ve/veya alternatif olabilirler.

Sonuçların olumlu olması halinde, *E. coli*'nin neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde kullanılan antibiyotik dozunun azaltılabileceği ön görülmektedir.

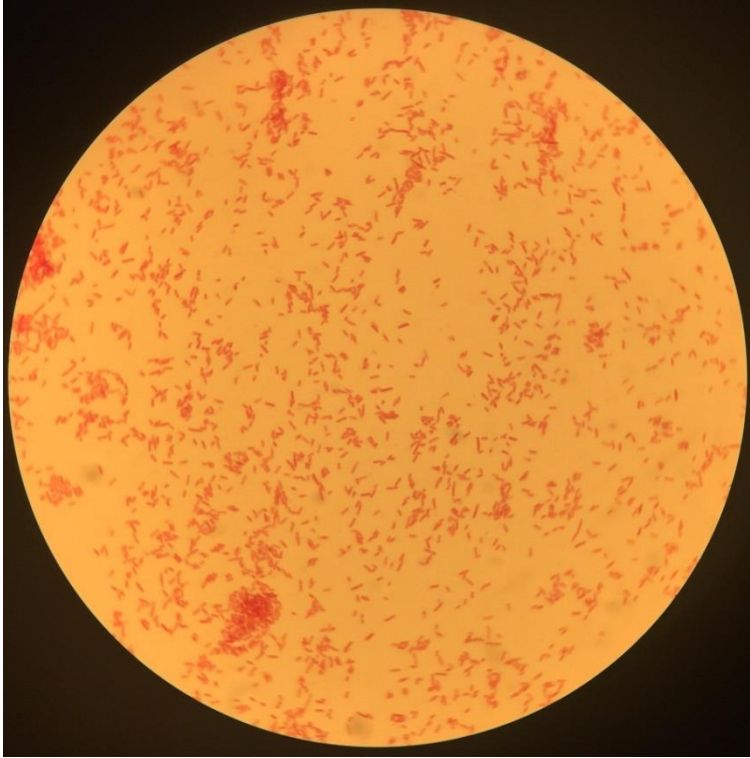
2. KAYNAK ARAŞTIRMALARI

2.1. *Escherichia coli*(*E. coli*)

E. coli, *Escherichia* cinsinin en önemli ve en sık görülen türüdür. Bu mikroorganizma gastroenterit, üriner sistem enfeksiyonu, menenjit ve sepsis gibi birçok hastalığa neden olur. Ancak bazı serotiplerin virulansı daha fazladır. Örneğin, *E. coli* O-157 en fazla hemorajik kolit yapan etkindir [9].

2.1.1. Morfolojisi ve Boyama Özellikleri

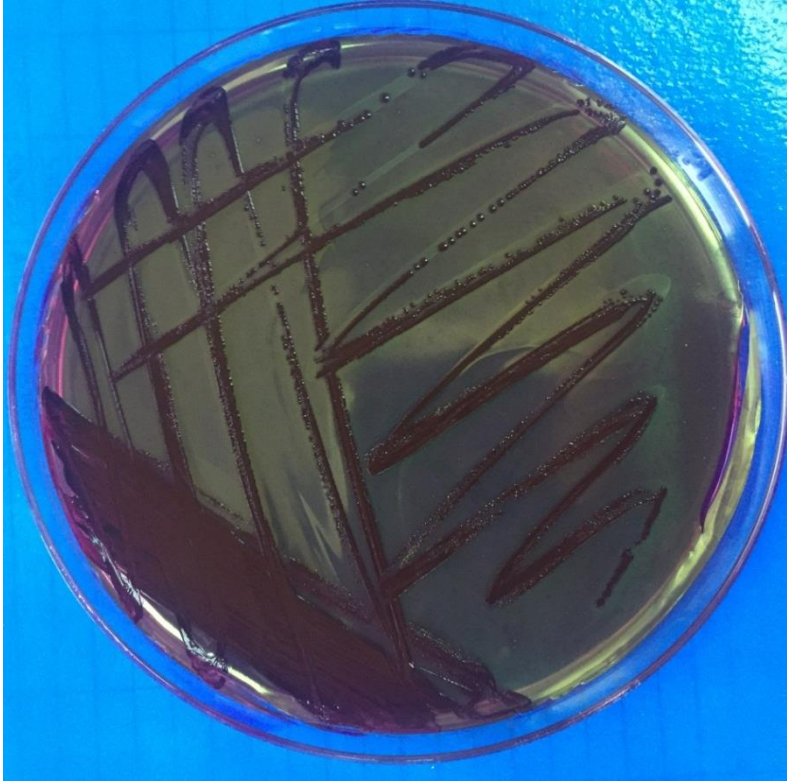
E. coli yaklaşık olarak 2-6 µm boyunda, 1. 0-1. 5 µm eninde, düz, uçları yuvarlak basil şeklindedir. Kültürlerde koka benzer küçük, kısa şekilleri veya uzun, dallanan şekilleri bulunabilir (Şekil 2. 1.). Yavaş hareket ederler. Peritriş kırpikleri vardır. Hareketsiz suşları da vardır. Bazı suşları kapsüllüdür. Bakteriyolojik boyalarla iyi boyanır ve gram (-) bakterilerdir [10].



Şekil 2. 1. *E. coli* bakterisinin 100'lük objektif ile çekilmiş ışık mikroskobu görüntüsü.

2.1.2. Kültür Özellikleri

E. coli; kan, serum, glikoz gibi maddeler eklenmeyen besiyerlerinde kolay üretilir. En iyi üreme ısısı 37°C ve pH'sı 7-7.2'dir. Buyyonda, peptonlu suda bol ürer, homojen bulanıklık meydana gelir. Kanlı agarda hafif nemli görümlü, 1-2 mm çapında gri koloniler yapar. EMB agarda laktoz (+) 2-3 mm çapında metalik koloniler meydana getirirler [10]. EMB agarda üreyen *E.coli* kolonileri Şekil 2. 2. 'de gösterilmektedir.



Şekil 2. 2. EMB agar besiyerinde üreyen *E. coli* kolonileri.

2.1.3. Biyokimyasal Özellikler

E. coli glikoz, laktoz, trehaloz ve ksilozu fermente eder. H₂S, DNAaz, üreaz veya fenilalanindeaminaz oluşturmaz. Potasyum siyanid (KCN) varlığında üremez. Karbon kaynağı olarak sitrati kullanmaz, asetati kullanılabilir. IMVIC testi (++--) dir [10].

2.1.4. Epidemiyoloji

Gastrointestinal sistemde çok sayıda *E. coli* bulunur. Fırsatçı patojen olarak bilinen bu bakteriler bağırsak dışına çıktığı zaman çoğu *E. coli* gastrointestinal ve ekstraintestinal hastalık yapabilirler. Bunun nedeni plazmid aracılı patojenite adacağı ya da bakteriyofaj DNA'sı kökenli özel virulans faktörüne sahip olmalarıdır [10].

E. coli'nin patojen olarak etkinliği şu faktörlerle açıklanabilir:

- Sepsiste en sık izole edilen gram (-) bakteridir.
- Toplum ve hastane kaynaklı üriner sistem enfeksiyonunun etkenidir.
- Gelişmekte olan ülkelerde en önemli gastroenterit etkenidir.

Gastroenterit yapan *E. coli* suşları beş büyük gruba ayrılır; ilk üç grup ince bağırsağı tutup *sekretuvar diyare* yaparken, son iki grup primer olarak kalın bağırsağı tutmaktadır. Bu gruplar Tablo 2. 1.'de gösterilmiştir[10].

Tablo 2.1. *E. coli* ile gelişen gastroenteritler[10].

Organizma adı	Etkilenen organ	Hastalık	Patogenez
Enterotoksijenik <i>E. coli</i> (EPEC)	İnce bağırsak	Turist diyaresi; gelişmiş ülkelerde infant diyaresi, sulu diyare, kusma, kramplar, bulantı, ateş	Plazmid kontrolünde ısıya dayanıklı /dayanaksız enterotoksinler sıvı-elektrolit aşırı salınımını artırır.
Enteropatojenik <i>E. coli</i> (EPEC)	İnce bağırsak	Gelişmemiş ülkelerde infant diyaresi; sulu diyare ve kusma, dışkıda kan görülmez.	Plazmid kontrolünde, normal mikrovillus yapısının bozulması ile gelişen A/E histopatolojisi malabsorbsiyon ve diyare ile sonuçlanır.
Enteroagregatif <i>E. coli</i> (EAEC)	İnce bağırsak	Gelişmemiş ülkelerde infant diyaresi, sulu diyare, kusma, dehidratasyon ve ateş meydana gelir.	Plazmid kontrolünde, çomakların agregatif tutunması, mikrovilluslarda kısalma, mononükleer infiltrasyon ve hemoraji, sıvı emiliminde azalma görülür.

Enterohemorajik <i>E. coli</i> (EHEC)	Kalın bağırsak	Sulu ishali takiben kanlı ishal, (hemorajik kolit) abdominal kramplar, ateş çok az ya da yok; Hemolitik üremik sendrom'a ilerleyebilir	Sitotoksik <i>Shiga</i> toksinleri (Stx-1, Stx-2) kontrolünde protein sentezinin bozulması; A/E lezyonları ile intestinal mikrovillus harabiyeti, emilimin azalması
Enteroinvazif <i>E. coli</i> (EIEC)	Kalın bağırsak	Gelişmekte olan ülkelerde görülür; ateş, kramp, sulu diyare ve dizanteriye dönüşebilir.	Plazmid kontrolünde bağırsak epitelyum hücrelerinin invazyon ve harabiyeti

2.1.5. Laboratuvar Tanısı

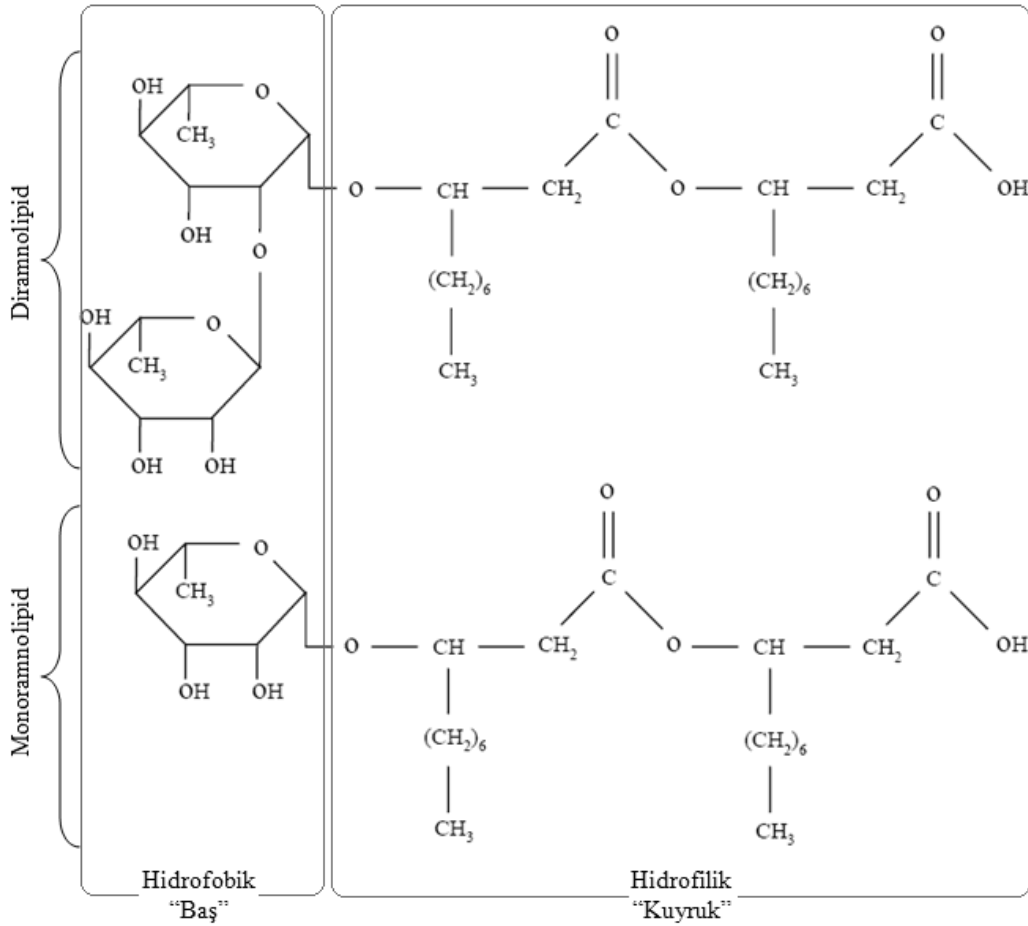
Enfeksiyon tipine göre dışkı, idrar, kan, BOS, sürüntü örnekleri incelenir. Preparatlarda gram (-) basillerin görülmesi, tanı için yeterli değildir. EMB agar ve kanlı agarda tipik koloniler oluşturan bakterilerin identifikasyonu için biyokimyasal özellikleri, IMVIC reaksiyonu, hareket durumu incelenir. Polivalan *E. coli* O antiserumları ile lam aglütinasyonları yapılarak, sero grubu belirlenir. İzole edilen bakterilerin biyokimyasal özelliklerinin araştırılması için, ticari olarak hazırlanmış mikroyöntemler de kullanılabilir [10].

2.1.6. Tedavi

E. coli üriner sistem enfeksiyonlarının çok büyük bir kısmından sorumludur. Bu hastalığın tedavisinde en çok trimetoprim-sulfametoksazol (SXT), siprofloksasin, beta-laktam grubu antibiyotikler kullanılmaktadır. Bu hastalıkların tedavisinde kültür sonucu beklenmeden tedaviye başlanması *E. coli* suşlarında giderek artan direnç oranlarına sebep olmaktadır ve bu hastalıkların tedavisi gün geçtikçe zorlaşmaktadır. Üriner sistem enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılan diğer bir ilaç grubu kinolonlardır. Kinolonların da yaygın olarak kullanılması sonucu bu bakterilerdeki kinolon direnç oranlarının arttığı görülmüştür. Üriner sistem enfeksiyonlarına neden olan *E. coli* suşlarında kinolon ve SXT direnç oranlarının her ikisinin de yüksek olduğu durumlarda fosfomisin ya da nitrofurantoin tedavisi ile de yanıt alındığı bildirilmektedir [11].

2.2. Biyosürfektanlar

Biyosürfektanlar çeşitli mikroorganizmalar tarafından üretilen yüzey aktif moleküllerdir. Mikrobiyal olarak üretilen bu bileşikler, birbirine karışmayan iki sıvı faz arasındaki yüzey ve arayüzey gerilimini azaltırlar. Glikolipitler, lipopeptitler ve lipoproteinler, yağ asitleri, nötral yağlar, fosfolipitler, polimerik ve partikül lipitler gibi kimyasal yapılarla doğada bulunurlar. Bir glikolipid türü olan, ramnoz şekerinden ve yağ asitlerine bağlı karbon moleküllerinden oluşan ramnolipidler, şeker sayesinde hidrofilik özellik taşıırken, yağ asitlerine bağlı karbon molekülleri sayesinde de hidrofobik özellik taşırlar. Rhamnolipidlerin kimyasal yapıları Şekil 2. 3.'de gösterilmiştir [12].



Şekil 2. 3. Rhamnolipidlerin kimyasal yapıları[12].

Çevre dostu olmalarından dolayı sentetik süर्फektanlara göre daha avantajlıdırlar. Genellikle petrol ham maddesinden üretilen kimyasal süर्फektanların aksine, mikrobiyal süर्फektanlar ucuz zirai materyaller kullanılarak üretilir. Bu özellik biyosüर्फektan üretimini ucuz kılmakta ve atık substratların çevreye olan etkilerinin azalmasında önemli rol

oyunmaktadır. Biosürefektanların aşırı sıcaklık, pH ve tuzlulukta stabil olmaları kimyasal olarak sentezlenen sürefektanlara göre ticari olarak üstünlük sağlamaktadır [13].

Klasik uygulamalar dışında [8] biosürefektanların; antibakteriyel, antifungal, antitümör, antimikoplasmik, antiviral ve insektisidal özellikler sergiledikleri belirlenmiştir. Bu moleküller çoklu ilaç dirençli çeşitli patojenlere karşı potansiyel ilaç molekülleri olarak değerlendirilmiştir [13]. Bu gibi avantajlara sahip olmalarına rağmen, hücresele seviyede düşük ürün vermelerinden dolayı ticari olarak yaygın bir şekilde kullanılmamaktadırlar. Bu nedenle üretimi arttırmak için mutant ya da rekombinant suşların kullanım çalışmaları yürütülmektedir. Gelişme ortamı ve çevresel koşulların optimize edilmesiyle üretimde önemli bir artış sağlanmasına rağmen [14], üretimlerinin artmasındaki gerçek buluş yüksek üretici rekombinant ve mutant türlerin kullanılmasıyla sağlanabilmiştir. Bu yüksek üretici suşların kullanımı ve geliştirilmesi ancak üreticilerin genetiğinin anlaşılmasıyla gerçekleşecektir [15].

2.2.1. Biosürefektanların Avantajları

Biosürefektan rolleri arasında, hidrofobik suda çözünmeyen substratların yüzey alanı ve biyoyararlanımının artırılması, ağır metal bağlanması, bakteriyel patogenez, çekirdek algılama ve biyofilm oluşumu sayılabilir [16].

Biosürefektan madde uygulamalarındaki çoğu çalışma, çeşitliliği, çevre dostu yapısı, büyük ölçekli üretim ve seçicilik açısından uygunluğu nedeniyle birçok alanda kullanımlarına odaklanmıştır [17].

Biosürefektanlar mevcut ham maddeden üretilebilirler. Hidrokarbonlar, karbonhidratlar veya lipidler, ayrı veya her birinin bileşimleri karbon kaynağı olarak kullanılabilmesi için üretimde uygulamalara bağlı olarak daha ekonomik bir üretim sağlanabilir [18].

Bazı biosürefektanlar sentetik ilaçlara ve antimikrobiyal ajanlara alternatif olarak etkili terapötik ajanlar olarak kullanılabilir. Biosürefektanlar arasında lipopeptitler, yüksek yüzey aktivitesine ve antimikrobiyal özelliğe sahip olması nedeniyle ilgi çekmektedir. Biosürefektanlar, çeşitli endüstrilere ve işlemlere uygulanabilir etkili yüzey aktif ve biyolojik özelliklere sahip değerli mikrobiyal amfilik moleküllerdir. Mikroorganizmalar, özellikle suyla karışmayan substratlar üzerinde büyüme sırasında kimyasal olarak hazırlanmış geleneksel yüzey aktif maddelere bir alternatif sağlayan bu maddeyi sentezlerler. Yapısal çeşitlilikleri (glikolipitler, lipopeptitler, yağ asitleri, vb.), düşük toksisite ve biyolojik olarak parçalanabilmeleri nedeniyle, bu moleküller, kozmetik, farmasötik olarak yaygın şekilde

kullanılabilir. Ekolojik olarak güvenlidirler. Çeşitli substratlardan, özellikle bitkisel yağlar, damıtma ve mandıra gibi yenilenebilir kaynaklardan üretilebilirler [19].

2.2.2. Biyosürefektanların Antimikrobiyal Özellikleri

Biyosürefektanların antimikrobiyal özellikleri ilk kez *Bacillus subtilis* türleri tarafından sentezlenen lipopeptit yapısında iturin A bileşiklerinde tespit edilmiştir. İturin A grubu dışındaki bileşikler olan Basillomisin D ve Basillomisin LC'nin birçok mikroorganizmaya karşı antimikrobiyal etkisinin olduğu görülmüştür [20].

Paenibacillus türlerinin ürettiği iturin benzeri bileşiklerin fungal hastalıklara karşı etkili olduğu saptanmış ve iturin veya iturin benzeri biyosürefektanların tıpta antifungal madde olarak kullanılabileceği bildirilmiştir [21].

B.subtilis tarafından sentezlenen siklik lipopeptit yapısında surfaktin bileşikler de antimikrobiyal özellikleri saptanan bir biyosürefektan çeşididir. Surfaktinler yapılarında bulunan aminoasitlere göre surfaktin A, B ve C olmak üzere sınıflandırılmaktadırlar [22]. Surfaktinler hücre zarında iyon kanalları oluşturan, fibrin oluşumunu engelleyen, antiviral, antitümör, antibakteriyel, antifungal ve antimikoplazma özelliklerine sahip olan bileşiklerdir. Memeli hücrelerinde mikoplazma enfeksiyonlarının basit, hızlı ve etkili bir şekilde etkisiz hale getirilmesinde kullanılmaktadır [23].

Surfaktin biyosürefektanlar fizyolojik özelliklerinden dolayı plazminojen ve plazmin sistemlerindeki kanın pıhtılaşmasını engellemektedir [24]. Fare akciğerinde kanın pıhtılaşmasını engellemek için yapılan bir çalışmada proürokinazla birlikte surfaktin enjekte edildiğinde kan plazmasının pıhtılaşmasını engellendiği tespit edilmiştir [14].

2.3.Aromatik ve Uçucu Yağlar

Uçucu yağlar kuvvetli koku ve güçlü aromalara sahip bileşiklerdir. Metabolizmada asetat birimlerinden köken alan sekonder metabolitlerdir. Uçucu yağlar bakterilere, funguslara, hatta protistalara karşı oldukça aktiftirler. Bitkilerin çok farklı bölgelerinden elde edilebilen uçucu yağlar bitkilerde hücreler arası iletişim ve hormon gibi önemli görevleri yerine getirirler [25–27]. Uçucu yağlar antiromatizmal, antitusif, diüretik, antienflamatuar, dezenfektan gibi birçok farmakolojik özelliklere sahiptirler. Medikal tedavilerin daha pahalı ve yan etkilerinin çok

olması sebebiyle ve insanların alternatif tedavilere ilgilerinin artmasıyla bitkilerin kendilerinin ya da uçucu yağlarının kullanımları artmıştır.

Aromatik bitkiler veya bunların hammaddelerinden elde edilen uçucu yağ bileşenleri, kuvvetli kokulu ve buharla sürüklenebilen yağsı bileşenlerinin kompleks bir karışımıdır. Buldukları ortamdan su, buhar, kuru destilasyon veya sıkma yoluyla serbest hale gelebilirler. Uçucu yağlar oda sıcaklığında sıvı halde bulunan, kolayca kristalleşebilen terpenoid veya terpenoid olmayan bileşenlere sahiptirler [26, 28–30]. Terpenler ve terpenoidler; monoterpenler, seskiterpenler, triterpenler, alkoller, eterler, aldehitler, esterler ve ketonlardan oluşurlar [25]. Ayrıca terpenoidler, fenil propanoid, yağ asitleri, bunların esterleri veya parçalanma ürünleri şeklinde de olabilirler. Tüm uçucu yağlar hidrokarbonlar ve onların oksijenli türevleridir. Bazı uçucu yağlar azot ve kükürt türevleri içerebildikleri gibi, alkol, asit, ester, epoksit, aldehit, keton, amin, sülfid gibi bileşenler de ihtiva edebilirler. Hücrelerde karbonhidrat ile bağlıdır ve bu durumda glikozidik bağın hidrolizi ile serbest kalırlar [31].

Uçucu yağların antibiyotik etkileri en yaygın bilinen özelliklerindedir. Bakterilere, virüslere ve protozoolara karşı oldukça aktiftirler. Bu yağların büyük kısmının fungusların ve bakterilerin gelişimini durdurduğu bildirilmiştir [25]. Bu yağların bileşenleri birbirlerinden çok farklı olabildiği için antimikrobiyal özellikleri ve yetenekleri de birbirinden farklılık göstermektedir. Ancak, antimikrobiyal özellikten yararlanılarak üretilen ilaçlara karşı mikroorganizmalar zaman içinde dirençlilik kazanabilmektedir. Farklı olarak, antibiyotik dirençliliğine karşın mikroorganizmaların bitkilere karşı direnç kazandığı görülmemektedir. Bu durum bitki veya bitki karışımlarından oluşan drogların önemini kaçınılmaz olarak arttırmaktadır [32].

2.3.1.Aromatik ve Uçucu Yağların Sınıflandırılması

2.3.1.1. Kimyasal Yapılarına Göre Sınıflandırılması

Aromatik ve uçucu yağların bileşimleri her bir bitkinin koşullarına göre farklılık gösterebilmektedir [33]. Uçucu yağların %90' ını oluşturan terpenler, iki veya daha fazla isopren moleküllerinin baş-kuyruk düzenlemeleri yoluyla oluşan hücrenin ikincil metabolit bileşenleridir. Temel yapısal formülü $C_{10}H_{16}$ olup, iki isopren molekülünden bir monoterpen oluşur. C_5H_8 bileşikler hemiterpenlerdir. Uçucu yağların asıl önemli olanları terpenlerin

oksitlenmesiyle oluşan oksijenli türevlerdir. Bunlar yağın kendine özgü koku ve terapötik özelliğini oluşturlar [25, 34].

2.3.1.2. Aromatik Özelliklerine Göre Sınıflandırılması

Aromatik ve uçucu yağlar asit, alkol, ester, aldehit, keton, fenol ve eter gibi organik bileşenlere sahiplerdir. Üç farklı gruba ayrılmaktadırlar.

- Aromatika (çok kokulu ve tadı iyi olanlar)
- Aromatika-aroma (kokulu ve tadı acı olanlar)
- Aromatika-akria (kokulu ve tadı keskin olanlar) [35, 36]

2.3.1.3. Farmakolojik ve Terapötik Etkilerine Göre Sınıflandırılması

Uçucu yağların içeriğinin zenginliğinden dolayı bir uçucu yağ birçok hastalık için kullanılabilir. Uçucu yağlar farmakolojik-terapötik özelliklerine göre farklı gruplarda incelenebilir [36]. Bu kullanım alanları;

- Uyarıcı (stimulan)
- Antiromatizmal
- Balgam söktürücü (ekspektoran)
- Safra söktürücü (kolagog)
- Solucan düşürücü (antihelmintik)
- İltihap azaltıcı (antienflamatuar)
- Dezenfektan, antiseptik ve antibiyotik

2.3.2. Aromatik ve Uçucu Yağların Antimikrobiyal Etki Mekanizmaları

Uçucu yağların doğal bileşikleri bakterilerin hücre duvarını parçalayarak etkili olmaktadır. Uçucu yağ bileşenlerinin bakteri hücre duvarını etkilemesiyle oluşabilecek olayların da hücrenin başka bir bölgesinde benzer şekilde hücre bütünlüğünü bozabileceği görülmüştür [37]. Bitkilerin çok fazla sayıda aromatik bileşikler üretme özellikleri vardır. Bunlar fenolik ve onların oksijene bağlı türlerinden meydana gelen bileşiklerdir. Bugüne dek

ikincil metabolitler olan bu bileşiklerin 12.000 tanesi izole edilebilmiştir. Bu bileşikler bitkinin savunma mekanizması için gereklidir. Koku ve pigment oluşumundan sorumlu olan terpenler, kinonlar ve taninler antimikrobiyal araştırmalarda kullanılmaktadır [25, 37]. Aromatik ve uçucu yağların antimikrobiyal özelliklerini birçok etken değiştirebilmektedir. Bu etkenler yağın konsantrasyonuna, bileşenlerine, konfigürasyonlarına, yan gruplarına ve bu bileşenlerin birbirleriyle olan interaksiyonlarına bağlı olarak değişmektedir. Fenolik bileşikler olarak bilinen karvakrol, eugenol ve timol bileşenlerinin antimikrobiyal özelliklerinin oldukça yüksek olduğu belirtilmektedir. Bu sınıfın üyelerinin hem bakterisidal hem de bakteriyostatik ajanlar olduğu belirtilmektedir. Bu bileşikler bir dereceye kadar suda çözülmüş hallerinde güçlü biçimde aktiftirler. Fenolik yapıdaki karvakrolün hidroksil yan gruplu formu ve metil ester yan gruplu yapısı aktivite bakımından karşılaştırılmıştır. Hidroksil gruplar, farklı bileşikte farklı antimikrobiyal aktivite oluşturmaktadır. Fenol yapıdaki bileşiklerin asetat yan gruplarının antimikrobiyal aktiviteyi arttırdığı belirlenmiştir. Alkollerin de bakteriyostatik etkisinden ziyade bakterisidal etkisi olduğundan vejetatif bakteriler üzerinde protein denatürasyonuna neden olmaktadır. Formaldehit, Glutaraldehit gibi aldehitler bakterilerde elektronegatifliği arttırarak antimikrobiyal etki oluştururlar. Bakteriyostatik ve fungistatik etkinin terpenlerin karbonillenmesiyle arttığı belirlenmiştir. Ayrıca, sterokimyasal yapı da biyoaktivite üzerine etkilidir. α -pinen gibi α -isomer yapılar β -izomerlere göre daha inaktiftirler; cis-izomerleri trans izomerlerine göre daha inaktiftir [38].

Lauraceae familyasına ait bazı bitkilerle yapılan çalışmada antifungal ajanlar araştırılmıştır. En etkili uçucu yağın sırasıyla, *Cinnamomum zeylanicum* (tarçın), *Aniba rosaeodora*, *Sassafras albidum* ve *Laurus nobilis* olduğu belirtilerek bu çalışmada, tarçın uçucu yağının yüksek aktivitesinin, içeriğinde bulunan yüksek trans-sinamaldehyitten kaynaklandığı ve antifungal aktiviteye de içeriğindeki oksijenlenmiş bileşiklerin neden olduğu saptanmıştır [39]. Birçok ilaca karşı yüksek direnç gösteren *Staphylococcus*, *Enterococcus* ve *Pseudomonas* bakterilerine karşı *Ocimum basilicum* uçucu yağının aktif olduğu belirlenmiştir [40].

Bazı uçucu yağların ise çok düşük konsantrasyonlarda bile bakterilere oranla funguslarda daha etkili olduğunu gösteren çalışmalara rastlanmaktadır. Örneğin, α -bisabolol, chamazulen, farnesen gibi seskiterpenik bileşenlerce zengin *Matricaria recutita* uçucu yağının düşük konsantrasyonlarda bile *Aspergillus* ve *Fusarium* türlerinin büyümesini yüksek oranda inhibe ederken, *Helicobacter pylori* bakterisini daha yüksek konsantrasyonlarda inhibe ettiği ortaya çıkarılmıştır [41].

2.3.3. Bitkilerle Tedavi

Bitkilerle tedavi diğer adıyla fitoterapi dünyanın hemen her bölgesinde uzun yıllardır geleneksel olarak kullanılan ve yakın geçmişten beridir de medikal tıbbı destek olarak kullanılan tedavilerdendir. Avrupa'da kullanımı gün geçtikçe artmaktadır. Ülkemizde bitkilerle tedavide kullanım oranı net olarak bilinmese de günümüzde bitkilerle tedaviye ilginin arttığı görülmektedir [42]. Ülkemizdeki hastaların büyük kısmının medikal tedaviyle birlikte bitkisel tedaviyi de yürüttüğü düşünölmektedir.

Ülkemiz dünyadaki zengin florası ile bu durumdan hem ekonomik hem de sağıık açısından faydalanabilecek ölkelerden biridir. Bu durum pahalı ve sentetik ilaçlar yerine bitkilerle tedavinin mümkün olduğuna ya da sentetik ilaçlarla birlikte kullanılarak etkinliğinin artırılmasına olanak sağlamaktadır. Antibakteriyel özelliklere sahip olan bu bitkilerin, bakterilerin sebep olduğu insan enfeksiyonlarında da etkili olarak kullanılabilceğı düşünölmektedir [43].

Ampirik tedavilerin çok tercih edilmesi nedeniyle antiyotiklere direnç artmaya devam etmekte ve bu da mikroorganizmaların sebep olduğú enfeksiyonların tedavisini zorlaştırmaktadır. Bu durum sentetik ilaçlara alternatif olarak tıbbi bitkilerin kullanılabilceğini düşündürmektedir. Antimikrobiyal olarak günümüzde geleneksel olarak kullanılmakta olan bitkiler vardır [44].

2.3.4. *Lamiaceae* Familyası

Lamiaceae familyasına ait aromatik bitkiler arasında, *Thymus* cinsi, yabancı bitkilerin sayısız türü ve çeşitleri için dikkat çekicidir. Bu türlerin çoğı Akdeniz bölgesi için tipiktir [45]. *Thymus* cinsi Türkiye'de 38 tür ile temsil edilir ve cins içindeki endemizm oranı% 53'tür [46]. Bazı *Thymus* türleri yerel olarak "kekik" veya "taş kekik" olarak bilinir ve kurumuş bitkisel kısımları bitkisel çay, çeşni ve halk tıbbında kullanılır. Bazı *Thymus* türleri izomerik fenolik monoterenler timol ve / veya karvakrolün yüksek konsantrasyonunun varlığı ile karakterize edilir [47].

Bu aile üyelerine ait bitkilerdeki uçucu yağ bileşenlerinin bazı mikroorganizmaların gelişimini engelledikleri görölmüştür [32, 48].

2.3.4.1. Kekik (*Thymus*) Bitkisi

Çok yıllık odunsu bir bitkidir. Yaprakları küçük; gövdesi yatay, odunsu ve dikey dallıdır. Boyu 15–50 cm. kadardır. Çimenlik tarla kıyılarında, orman kıyılarında ve çayırlardaki karınca yuvalarının üstünde yer almaktan hoşlanır. Güneş ve sıcak istediği için, toprak sıcaklığının fazla olduğu kayalık ve dağlık bölgelerde çoğalır. Yaz aylarında pembe ya da beyaz renkli çiçekler açar. Dallar çiçek açtığı zaman toplanır. Küçük demetler halinde veya yere serilerek gölge ve havadar yerde kurutulur. Sonra kıyılır veya öğütülür. Akdeniz ülkelerindeki çorak topraklarda, kırlarda ve tepelerde doğal olarak yetişir. Kekik önemli ihraç ürünlerimizden biridir. Türkiye dünya kekik ticaretinin yaklaşık %70'ini elinde tutmaktadır. Türkiye’de kekik olarak tanımlanan *Lamiaceae* (Ballıbabagiller) familyasına ait pek çok hoş kokulu bitki türü bulunmasına rağmen, özellikle uçucu yağı karvakrol ve timol içeren türler “kekik” olarak kabul edilmektedir. Bu türler arasında *Thymus*, *Origanum*, *Satureja*, *Thymbra* ve *Coridothymus* cinsleri hem yayılış olarak hem de ekonomik olarak büyük önem taşımaktadır [49].

2.3.5. Antibiyotikler

Antibiyotikler, mikroorganizmalar üzerinde hücre duvarı, sitoplazmik membran, protein ve nükleik asit sentezlerine engel olarak veya bozarak etki gösteren maddelerdir.

2.3.5.1. Antibiyotik Etki Mekanizmaları

Bakteri hücre duvarının yıkımı: Hücre duvarı sentezi tamamlanmamış bakterileri etkileyerek bakteriyi yok ederler.

Bakteri protein sentezinin inhibisyonu: Bakteri hücrelerinde protein sentezini inhibe ederek bakterisit ve bakteriyostatik etki oluştururlar.

Bakteri Nükleik Asit sentezinin bozulması: Bazıları bakteri genetik yapısını etkilerken konakçı hücre çekirdeğini de etkiler (sitotoksik etki).

Bakteri hücre metabolizmasının bozulması: Bakteri metabolizması için gerekli olan bir maddenin sentezini önleyerek etkili olur. Etki Mekanizmasına Göre Antibiyotikler Tablo 2. 2.’de gösterilmiştir [10].

Tablo 2.2. Etki mekanizmasına göre antibiyotikler[10].

Etki Mekanizması	Antibiyotikler
Bakteri Hücre Duvarının Yıkımı	Beta-laktam Antibiyotikler, Penisilinler, Karbapenemler, Vankomisin, Basitrasin
Bakteri Protein Sentezinin İnhibisyonu	Aminoglikozidler, Tetrasiklinler, Makrolidler, Klindamisin
Bakteri Nükleik Asit Sentezinin Bozulması	Kinolonlar, Rifampin, Metronidazol
Bakteri Hücre Metabolizmasının Bozulması	Sülfonamidler, Dapson, Trimetoprim

2.3.5.2. Antibiyotik Direnci

Antibiyotik direnci; bir mikroorganizma türünün bazı suşlarının antibiyotikten etkilenmemesi ya da antibiyotiğe duyarlı bir suşun çeşitli direnç mekanizmalarından biri ile dirençli hale dönmesi olarak tanımlanır. Kazanılmış antibiyotik direnci ya mikroorganizma kromozomunda oluşan mutasyonlarla ya da dirençli bir mikroorganizmanın direnç genini duyarlı mikroorganizmalara aktarması ile ortaya çıkar. Günümüzde çeşitli antibiyotiklerin toplumda tüketiminin bilinçsizce artması, immün sistemi bozulmuş hastaların sayısında artış olması, kültür sonuçları beklenmeden hastalara antibiyotik tedavisine başlanması, virüslerin neden olduğu birçok hastalığın antibiyotiklerle tedavi edilmeye çalışılması gibi nedenlerle toplumdaki direnç artmaya devam etmektedir.

Üriner sistem enfeksiyonlarının neden olduğu bakterilerin başında gelen *E. coli* tedavisinde kullanılan antibiyotiklere karşı gelişen direnç artmaktadır. Direnç gelişiminde antibiyotiklerin çok kullanıldığı yerler olan hastaneler en büyük nedeni oluşturmaktadırlar [50, 51].

Dünyada giderek artan ve ciddi boyutlara ulaşan dirençli mikroorganizmalar nedeniyle antibiyotiklerin doğru kullanılması çok önemli bir konu haline gelmiştir.

Bugüne kadar *E. coli'* nin neden olduğu hastalıkların ampirik tedavilerinde çok tercih edilen antibiyotiklere karşı direnç gelişimi arttığı için bu antibiyotikler artık işe yaramamaktadırlar. Hastane kaynaklı idrar yolları enfeksiyonlarına sebep olan mikroorganizmalar içinde en sık rastlanan *E. coli* bakterisi ile mücadelede kullanılan antibiyotiklerin etkinliğinin arttırılması için bu tez kapsamında organik yapıda olan kekik yağı ve biyosülfektanın kullanımının araştırılması hedeflenmiştir. Biyosülfektenlar ve aromatik

uçucu yağlar insan sağlığına zarar vermemeleri ve hem ucuz hem de kolay ulaşılabilir olmaları nedeniyle antibiyotiklere alternatif olabilirler. Sonuçların olumlu olması halinde, *E. coli*' yi tedavi ederken kullanılan antibiyotik dozunun azaltılacağı ön görülmektedir.



3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Kekik Yağı

Piyasada kolaylıkla bulunabilecek kekik yağı (Hel-Dem, Türkiye) tercih edilmiştir. Kekik yağının GC-MS analizi Çukurova üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarında yapılmıştır. Ekipman ve çalışma koşulları Tablo 3. 1'de gösterilmiştir.

Tablo 3. 1. Kekik yağı analizi ekipman ve çalışma koşulları.

GC Koşulları	
Sistem	Agilent 7000 series Triple Quad GC/MS
Kolon	(Kullanılan kolon 30 m uzunluktadır. İç çapı 0.25 mmdir. Film kalınlığı 0.2 µmdur. % 5 fenil metil polisiloksan)
Kolon sıcaklığı	50°C' de başlıyor 3°C / dk artışlarla 240°C' ye çıkıyor.
Enjektör	Gerstel çok amaçlı örnekleyici
Enjektör hacmi	1µL (1: 100 v/v örnek: diklorometan)
Giriş sıcaklığı	250° C
Taşıyıcı gaz	Helyum(akış hızı, 1mL/dk)
Bölünmüş akış	40 mL/dk
Bölünme oranı	20

3.1.2. L-Rhamnose Monohydrate Çözeltisi

Tez çalışması kapsamında biyosüpfektan olarak Sigma marka L-Rhamnose monohydrate çözeltisi(Merck, Almanya) (0.1-1 g/ml) kullanılmıştır.

3.1.3. Kullanılan Antibiyotikler

Bioanalyse (İngiltere) marka antibiyotik diskleri kullanıldı. Antibiyotik diskleri, dozları ve inhibisyon zon çapları tablo 3. 2' de gösterilmiştir[52].

Tablo 3.2. Antibiyotik diskleri, dozları ve inhibisyon zon çapları[52].

Antibiyotikler	Doz	Antibiyotik İnhibisyon Zon Çapı(mm)		
		Duyarlı (S)	Orta Duyarlı (I)	Dirençli (R)
Sulfametoxazol- Trimetrophim	25 mcg	≥ 16	11-15	≤ 10
Ampisilin	10 mcg	≥ 17	14-16	≤ 13
Gentamisin	120 mcg	≥ 15	13-14	≤ 12
Fosfomisin	200 mcg	≥ 24	-	≤24
İmipenem	10 mcg	≥ 23	20-22	≤ 19
Siprofloksasin	5 mcg	≥ 21	16-20	≤ 15
Seftazidim	30 mcg	≥ 21	18-20	≤ 17

3.1.4. Örnekler

Çalışmamızda çoklu antibiyotik dirençliliği gösteren *Escherichia coli*(*E. coli*) suşu ve *E. coli* ATCC 25922 çalışmaya alınmıştır.

İzolatların tiplendirilmesi, antibiyotik duyarlılık testleri ve diğer çalışmalar, Mersin Üniversitesi Çevre Mühendisliği bölümü laboratuvarında yapılmıştır.

Çalışma etik kurallara uygun yapılmıştır.

3.1.5. Kullanılan Cihazlar ve Gereçler

Tez çalışması, Mersin Üniversitesi Çevre Mühendisliği bölümü Laboratuvarlarında bulunan araç ve gereçler kullanılarak yapılmıştır.

- Hassas Terazi: Kimyasal maddelerin tartımında hassas terazi (KERN 440-45, Almanya) kullanılmıştır.
- Vorteks (Mekanik Karıştırıcı): İşlemler sırasında örneklerin ve komponentlerinin karıştırılması için Vorteks (Dragon Lab MX-S, Çin) cihazı kullanılmıştır.
- İnkübatör: Ekimi yapılan besiyerlerinin inkübasyonu için statik inkübatör (Ordell, Türkiye) kullanılmıştır.
- Otoklav: Besiyerlerinin ve solüsyonların sterilizasyonu için otoklav (Sanyo, Japonya) kullanılmıştır.
- Steril laminar akımlı güvenlik kabini: İşlemlerin steril bir ortamda gerçekleştirilebilmesi için steril laminar akımlı güvenlik kabini (Faster, İtalya) kullanılmıştır.
- Mikroskop: Gram boyama yapılan preparatların incelenmesi, ışık mikroskopunda (Optech, Amerika) yapılmıştır.
- Derin Dondurucu: Elde edilen örneklerin saklanması için derin dondurucu (Arçelik, Türkiye) kullanılmıştır.
- Otomatik Pipetler: Tek kanallı 20 µL, 200 µL lik Eppendorf (Nichipet EX II, Japonya) marka pipetler kullanıldı. Steril pipet ucu olarak, 20 µL, 200 µL lik filtreli plastik pipet (PhysioCare concept, Hollanda) uçları kullanılmıştır.

3.2. Bakteriyolojik Tamı İçin Kullanılan Testler

3.2.1. Oksidaz Deneyi

TSA'da üretilmiş saf bakteri kolonilerinden öze ile alınarak "N, N Dimetilfenil ve amonyumdiklorit " emdirilmiş 4 nolu Whatman kâğıtları üzerine sürülerek oksidaz aktiviteleri araştırılmıştır. Pembe renk oluşumu oksidaz pozitif, renk değişikliğinin olmaması ise oksidaz negatif olarak değerlendirilmiştir [53].

3.2.2. Katalaz Deneyi

TSA'da üretilmiş saf bakteri kolonilerinden öze ile alınarak temiz bir lam üzerine konulmuştur. Daha sonra üzerine %3'lük H₂O₂ solüsyonundan damlatılarak hava kabarcığı oluşumu gözlenmiştir. Kabarcık oluşumu katalaz (+) olarak değerlendirilmiştir [53].

3.2.3. İndol Testi

Üre besiyerinde geliştirilmiş saf kültür üzerine 1 ml kovaks çözeltisi eklenmiş, karıştırılmış ve tüp kendi halinde bırakılmıştır. En geç 1-2 dakika içinde tüpün üzerinde vişneçürüğü renkli halka oluşması pozitif sonuç olarak değerlendirilmiştir [53].

3.2.4. Sitrat Deneyi

Saf olarak üretilen kolonilerden Simmon's sitrat agar besiyerine iğne uçlu öze ile ekim yapılarak 35°C'de 48 saat inkübe edilmiştir. Mavi renk oluşumu pozitif olarak değerlendirilmiştir [53].

3.3. Bakteriyolojik Tamı İçin Kullanılan Besiyerleri ve Boyalar

3.3.1. % 5 Kanlı Agar'ın Hazırlanması

Mikroorganizmaların üretilmesinde kullanılan bir genel üretim besiyeri olan Kanlı agar (Merck, Almanya) kullanılmıştır. Besiyerleri 90 mm çapındaki steril plastik petrilere 4 mm kalınlığında döküldükten sonra kalite kontrolleri yapılarak, kullanılıncaya kadar +4 °C'de buzdolabında saklanmıştır.

Besiyerinin içeriği:

- Distile su 1 L
- Dehidrate kanlı agar 40 g (Merck, Almanya)
- Kan 40 ml (Besiyeri otoklavlanıp 42 °C'ye geldikten sonra eklenir)

3.3.2. Eosin Methylene Blue Agar'ın (EMB) Hazırlanması

Gram (-) bakterilerin izolasyonu için seçici besiyeri olan EMB agar (Merck, Almanya) kullanılmıştır. Besiyerleri 90 mm çapındaki steril plastik petrilere 4 mm kalınlığında döküldükten sonra kalite kontrolleri yapılarak, kullanılıncaya kadar +4°C'de buzdolabında saklanmıştır.

- Besiyerinin içeriği:
- Distile su 1 L
- Dehidrate EMB agar 37,5 g (Merck, Almanya)

3.3.3. Mueller Hinton Agar'ın (MHA) Hazırlanması

Kontrol suşu ve dirençli suşun antimikrobiyal duyarlılıklarının belirlenmesinde MHA (Merck, Almanya) kullanılmıştır. Besiyerleri 90 mm çapındaki steril plastik petrilere 4 mm kalınlığında döküldükten sonra kalite kontrolleri yapılarak, kullanılıncaya kadar +4 °C'de buzdolabında saklanmıştır.

- Besiyerinin içeriği:
- Distile su 1 L
- Dehidrate MHA agar 38 g (Merck, Almanya)

3.3.4. Mueller Hinton Broth'ın Hazırlanması

Kontrol suşun ve dirençli suşun antimikrobiyal duyarlılıklarının belirlenmesinde ve saklanmasında Mueller Hinton Broth (Merck, Almanya) kullanılmıştır. 5 ml' lik tüplere alınarak otoklavda steril edilmiştir. Kullanılıncaya kadar +4 °C'de buzdolabında saklanmıştır.

Besiyerinin içeriği:

- Distile su 1 L
- 21 g Dehidrate Mueller Hinton Broth (Merck, Almanya)

3.3.5. Besiyerlerinin Kalite Kontrolü

Hazırlanmış olan tüm besiyerlerinin pH ölçümleri petrilere veya tüplere dökülmeden önce yapılmıştır. Besiyerleri bir gece etüvde bekletildikten sonra ekim için kullanılmıştır. Standart bakteri ekimi yapılarak besiyerlerinin kalite kontrolü yapılmıştır.

3.3.6. Gram Boyama

Gram boyamada kullanılan kimyasallar ve içerikleri aşağıda verilmiştir.

Kristal Viyole

- 20 g Kristal viyole (Merck, Almanya)
- 8 g Amonyum oksalat
- 200 ml %96 Etil alkol
- 800 ml Distile su

Lugol

- Stok Lugol (Merck, Almanya)
- 5 g İyod (Merck, Almanya)
- 10 g Potasyum iyodür
- 100 ml Distile su

Sulu Fuksin

- 2 ml Bazik fuksin
- 18 ml Distile su

3.4. Yöntem

3.4. 1. *E.coli* Suşlarının Kültürü ve Değerlendirmesi

Antibiyotik direnci olan *E. coli* suşu ve *E. coli* ATCC 25922 suşu kanlı agar besiyeri ve EMB agar besiyerlerine ekim yapılmıştır. Ekimler 37°C'de 18-24 saat inkübasyondan sonra koloni morfolojileri incelenmiştir. Morfolojik olarak farklılık gösteren her bir koloni ayrı ayrı besiyerlerine alınarak saf kültürler elde edilmiştir. Saf olarak üreyen ve koloni sayısı 10⁵ CFU/ml olanlar çalışmaya alınmıştır. Her örnek ışık mikroskopuyla incelenmiştir. Gram boyama ve klasik biyokimyasal testleri (Katalaz, Oksidaz, Sitrat, İndol) yapılarak bakteri identifikasyonları yapılmıştır. Otomatize bakteri identifikasyon sistemi (VİTEK-2) kullanılmıştır. Bunun için şeffaf plastik deney tüpüne (12x75 mm) 3ml steril tamponlanmış tuzlu su (%0.45–0.50 NaCl, pH 4.5–7.0) konulduktan sonra saf kolonilerden öze ile tüpe aktararak 0.5 McFarland bulanıklığına eşdeğer homojen bakteri süspansiyonları hazırlanmıştır. Hazırlanan tüpe Gram (-) identifikasyon kartı (Vitek-2) takılarak cihazın içine yerleştirilmiştir. Ertesi gün cihaz tarafından üremeler değerlendirilerek bakterinin tanımlaması yapılmıştır.

Antibiyotik duyarlılık testleri CLSI (Clinical Laboratory Standard Institute)[52] önerileri doğrultusunda Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemiyle yapılmıştır. Uygun antibiyotik disklerinin seçiminde CLSI[52] tablolarından yararlanılmıştır. 0.5 McFarland bakteri süspansiyonu hazırlanıp, MHA besiyerine yaygın ekim yapılarak, besiyerlerinin kuruması için oda sıcaklığında(5-10 dk) bekletilmiştir. Kuruma işleminin ardından Sulfametoksazol-Trimetrophim(SXT), Ampisilin(AMP), Gentamisin(CN), Fosfomisin(FF), İmipenem(IPM), Siprofloksasin(CIP), Seftazidim(CAZ) antibiyotik diskleri ve referans disk uygun aralıklarla yerleştirilmiştir.

0.5 McFarland bakteri süspansiyonu hazırlanıp, MHA besiyerine yaygın ekim yapılarak besiyerlerinin kuruması için oda sıcaklığında(5-10 dk) bekletilmiştir. Kuruma işleminin ardından, 10 µL kekik yağı eklenmiş SXT, AMP, CN, FF, IPM, CIP ve CAZ antibiyotik diskleri uygun aralıklarla yerleştirilmiştir.

0.5 McFarland bakteri süspansiyonu hazırlanıp, MHA besiyerine yaygın ekim yapılarak besiyerlerinin kuruması için oda sıcaklığında(5–10 dk) bekletilmiştir. Kuruma işleminin ardından 10 µL biyosürefektan eklenmiş SXT, AMP, CN, FF, IPM, CIP ve CAZ antibiyotik diskleri uygun aralıklarla yerleştirilmiştir.

0.5 McFarland bakteri süspansiyonu hazırlanıp, MHA besiyerine yaygın ekim yapılarak besiyerlerinin kuruması için oda sıcaklığında(5–10 dk) bekletilmiştir. Kuruma işleminin ardından 10 µL biyosürefektan eklenmiş referans disk ve 10 µL kekik yağı eklenmiş referans disk yerleştirilmiştir. Çalışma her seferinde 2 paralel şekilde gerçekleştirilmiştir.

Etüvde 37 °C'de 18–24 saatlik inkübasyon sonrası disklerin çevresinde oluşan zon çapları ölçülerek CLSI 2012 göre değerlendirilmiştir [52].

Elde edilen saf kültürler nutrient broth besiyerinde +4 °C'de daha sonraki kullanımlar için saklanmıştır.

3.5. İstatistik Yöntem

Disk inhibisyon çaplarının elde edildiği veri tablolarındaki uygulama öncesi ve sonrasına ait veriler öncelikle Shapiro-Wilk testi ile normal dağılımları incelenmiştir. Normal dağılım gösteren veriler Student t-test ile analiz edilmiştir. Normal dağılım göstermeyenler Mann-Whitney U test ile analiz edilmiştir. Verilerin hesaplanmasında SPSS paket programı (ver. 20.0 IBM Corp., Armonk, NY, ABD) kullanılmıştır. *P* değeri ≤ 0.05 olanlar anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

4.1. Bulgular

4.1.1. Referans Disklerle Biyosümfektan ve Kekik Yağı Etkinliği

Referans disk uygulanan besiyeri örneklerinde negatif kontrol olarak kullanılan herhangi bir madde eklenmemiş disklerde zon çapı 6 mm olarak ölçülmüştür. Antibiyotik direnci yüksek olan hasta örneğinde 10 µL biyosümfektan eklenmiş olan referans diskte zon çapı 6mm olarak ölçülmüş ve biyosümfektanın herhangi bir etki yapmadığı görülmüştür. 10 µL kekik yağı eklenmiş olan referans diskte zon çapı ortalaması 8. 8 mm olarak ölçülmüş ve kekik yağının olumlu yönde etki yaptığı görülmüştür. *Escherichia coli* (*E. coli*) ATCC 25922 suşu örneğinde 10 µL biyosümfektan eklenmiş olan referans diskte zon çapı 6mm olarak ölçülmüş ve biyosümfektanın herhangi bir etki yapmadığı görülmüştür. 10 µL kekik yağı eklenmiş olan referans diskte zon çapı ortalaması 9. 6 mm olarak ölçülmüş ve kekik yağının olumlu yönde etki yaptığı görülmüştür. Referans disklerle biyosümfektan ve kekik yağı etkinliği Tablo 4. 1'de gösterilmiştir.

Tablo 4.1. Referans disklerle biyosümfektan ve kekik yağı etkinliği.

	Zon çapları (mm)			Anlamlılık (<i>p</i>) *
	Referans disk	Biyosümfektan	Kekik Yağı	
Dirençli		6.0		*1.00
suş	6.0		8.8	§0.00
Kontrol		6.0		*1.00
suşu	6.0		9.6	*0.00

Anlamlı (<0.05) *p* değerleri **kalin** rakamlarla yazıldı.

*Mann Whitney-U test

§Student t-test

4.1.2. Kontrol Suş İçin Antibiyotiklere Ek Biosürefektan Etkinliği

E. coli ATCC 25922 suş örneğinde 10 µL biosürefektan eklenmiş olan Sulfametoxazol-Trimetrophim(SXT), Ampisilin(AMP), Gentamisin(CN), Fosfomisin(FF), İmipenem(IPM), Siprofloksasin(CIP), Seftazidim(CAZ) antibiyotik disklerinin zon çapları ölçülmüştür. Biosürefektanın CN, FF ve CIP antibiyotik diskleri üzerinde olumsuz yönde etki gösterdiği görülmüştür. SXT, AMP, IPM ve CAZ antibiyotik diskleri üzerinde olumlu ya da olumsuz herhangi bir etkisi bulunmadığı görülmüştür. Kontrol suşu için antibiyotiklere ek biosürefektan etkinliği tablo 4. 2 'de gösterilmiştir.

Tablo 4.2. Kontrol suşu için antibiyotiklere ek biosürefektan etkinliği.

Antibiyotik	Antibiyotik (Zon çapı = mm)	Antibiyotik + Biosürefektan (Zon çapı = mm)	Anlamlılık (p)
SXT	26.8	26.6	*0.68
CAZ	29.2	29.6	§0.57
CN	29.2	26.4	* 0.00 †
IPM	28.6	29.2	*0.35
AMP	19.3	19.9	*0.45
FF	31.5	29.6	* 0.03 †
CIP	31.0	29.7	* 0.05 †

Anlamlı (<0.05) p değerleri **kalin** rakamlarla yazıldı.

*Mann Whitney-U test

§Student t-test

†Negatif yönde korelasyon

4.1.3. Dirençli Suş İçin Antibiyotiklere Ek Biosümfektan Etkinliği

Antibiyotik direnci yüksek olan *E. coli* suşunda 10 µL biosümfektan eklenmiş olan SXT, AMP, CN, FF, IPM, CIP ve CAZ antibiyotik disklerinin zon çapları ölçülmüş ve biosümfektanın bu antibiyotik diskleri üzerinde olumlu ya da olumsuz herhangi bir etkisi bulunmadığı görülmüştür. Dirençli suş için antibiyotiklere ek biosümfektan etkinliği Tablo 4. 3' de gösterilmiştir.

Tablo 4.3. Dirençli suş için antibiyotiklere ek biosümfektan etkinliği.

Antibiyotik	Antibiyotik (Zon çapı = mm)	Antibiyotik + Biosümfektan (Zon çapı = mm)	Anlamlılık (p) *
SXT	6.0	6.2	*0.77
CAZ	16.8	17.7	*0.20
CN	23.0	24.0	*0.25
IPM	28.8	28.4	*0.33
AMP	6.0	6.0	*1.00
FF	30.9	29.9	*1.11
CIP	6.0	6.0	*1.00

*Mann Whitney-U test

4.1.4. Kontrol Suş İçin Antibiyotiklere Ek Kekik Yağı Etkinliği

E. coli ATCC 25922 suşu örneğinde 10 µL kekik yağı eklenmiş olan SXT, AMP, CN, FF, IPM, CIP ve CAZ antibiyotik disklerinin zon çapları ölçülmüştür. Kekik yağının SXT, AMP, FF, IPM ve CIP antibiyotik diskleri üzerinde olumlu yönde etki gösterdiği görülmüştür. CN üzerinde olumsuz yönde etki gösterdiği görülmüş, Seftazidim antibiyotik diski üzerinde olumlu ya da olumsuz herhangi bir etkisi bulunmadığı görülmüştür. Kontrol suş için antibiyotiklere ek kekik yağı etkinliği Tablo 4. 4' de gösterilmiştir.

Tablo 4.4. Kontrol suş için antibiyotiklere ek kekik yağı etkinliği.

Antibiyotik	Antibiyotik (Zon çapı = mm)	Antibiyotik + Kekik Yağı (Zon çapı = mm)	Anlamlılık (p)
SXT	26.8	30.9	*0.00 ‡
CAZ	29.2	27.1	*0.35
CN	29.2	25.7	*0.00 †
IPM	28.6	31.6	*0.00 ‡
AMP	19.3	21.1	*0.00 ‡
FF	31.5	34.0	*0.01 ‡
CIP	31.0	33.1	*0.03 ‡

Anlamlı (<0.05) p değerleri **kalin** rakamlarla yazıldı.

*Mann Whitney-U test

‡Pozitif yönde korelasyon

†Negatif yönde korelasyon

4.1.5. Dirençli Suş İçin Antibiyotiklere Ek Kekik Yağı Etkinliği

Antibiyotik direnci yüksek olan *E. coli* suşunda 10 µL kekik yağı eklenmiş olan SXT, AMP, CN, FF, IPM, CIP ve CAZ antibiyotik disklerinin zon çapları ölçülmüştür. Kekik yağının SXT, AMP, FF, CIP antibiyotik diskleri üzerinde olumlu etkisi olduğu görülmüştür. CAZ antibiyotik diskinde olumsuz yönde etki görülmüştür. CN ve IPM antibiyotik diskleri üzerinde olumlu ya da olumsuz herhangi bir etkisi bulunmadığı görülmüştür. Dirençli suş için antibiyotiklere ek kekik yağı etkinliği Tablo 4. 5 'de gösterilmiştir.

Tablo 4.5. Dirençli suş için antibiyotiklere ek kekik yağı etkinliği.

Antibiyotik	Antibiyotik (Zon çapı = mm)	Antibiyotik + Kekik Yağı (Zon çapı = mm)	Anlamlılık (p)*
SXT	6.0	9.9	*0.00#
CAZ	16.8	13.6	*0.00†
CN	23.0	23.7	*0.19
IPM	28.8	28.6	*0.77
AMP	6.0	10.1	*0.00#
FF	30.9	32.7	*0.00#
CIP	6.0	9.9	*0.00#

Anlamlı (<0.05) p değerleri **kalin** rakamlarla yazıldı.

*Mann Whitney-U test

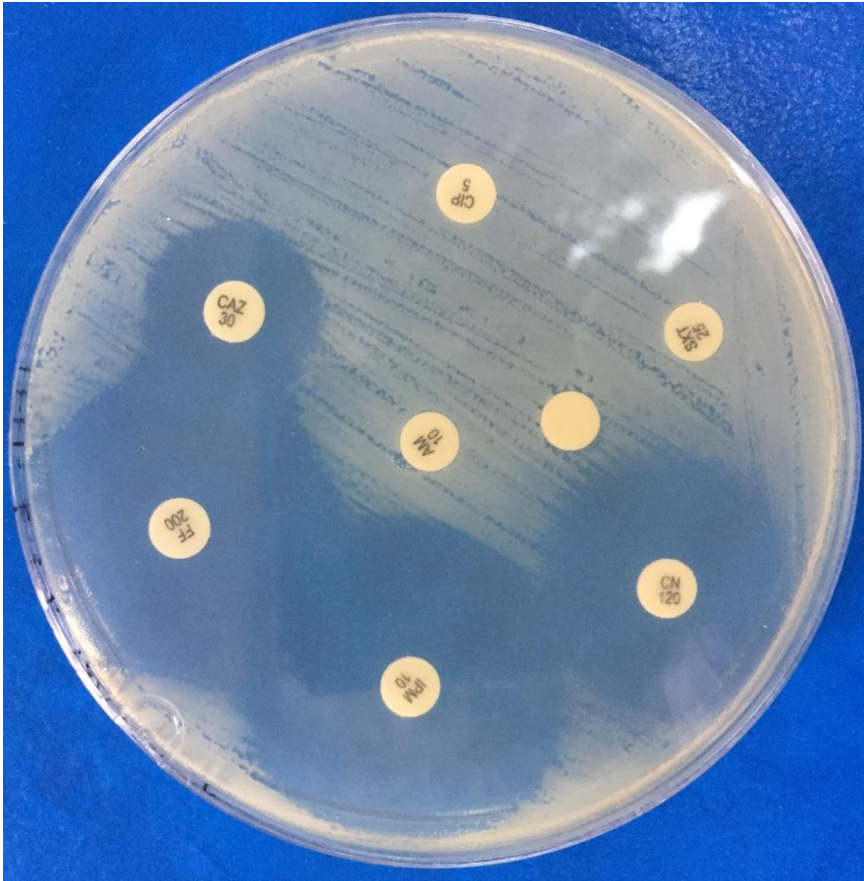
#Pozitif yönde korelasyon

†Negatif yönde korelasyon

4.2.Çalışma Örnekleri

4.2.1. Dirençli Suş İçin Antibiyotik Diskleri ve Referans Disk

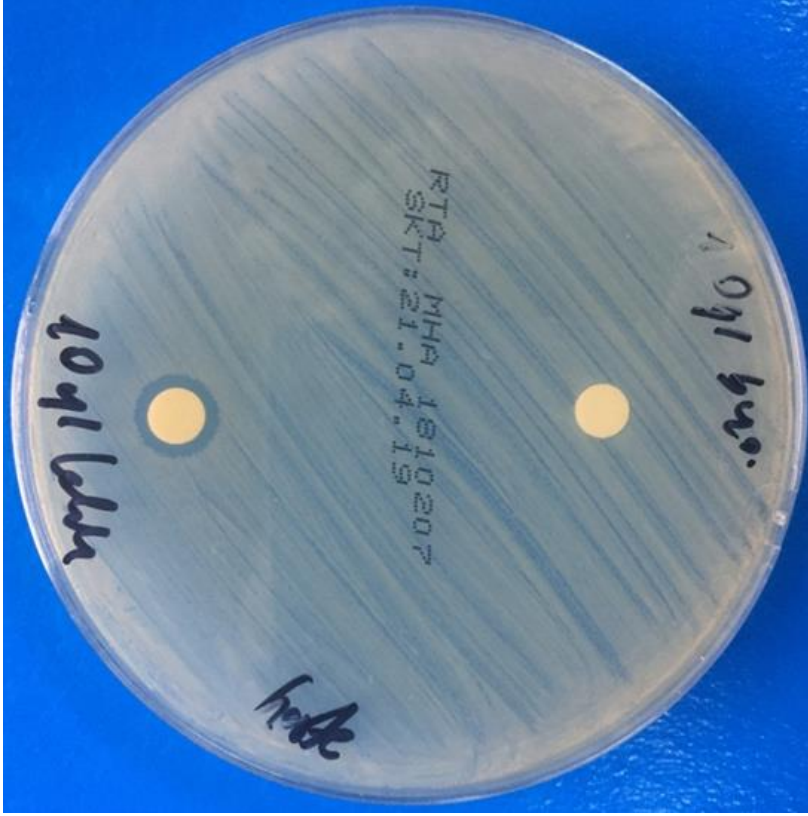
Dirençli suş için herhangi bir madde eklenmemiş SXT, AMP, CN, FF, IPM, CIP ve CAZ antibiyotik diskleri ve referans disk uygulanmış bir çalışma örneği Şekil 4. 1' de gösterilmiştir. FF, CAZ, CN ve IPM antibiyotiklerine duyarlılık gözlenmektedir, AMP, CIP ve SXT antibiyotiklerine direnç gözlenmektedir. Referans diskimizde zon ölçülmemiştir.



Şekil 4. 1. Dirençli suş için antibiyotik diskleri ve referans disk.

4.2.2. Dirençli Suş İçin Biyosümfektan ve Kekik Yağı Eklenmiş Referans Disk

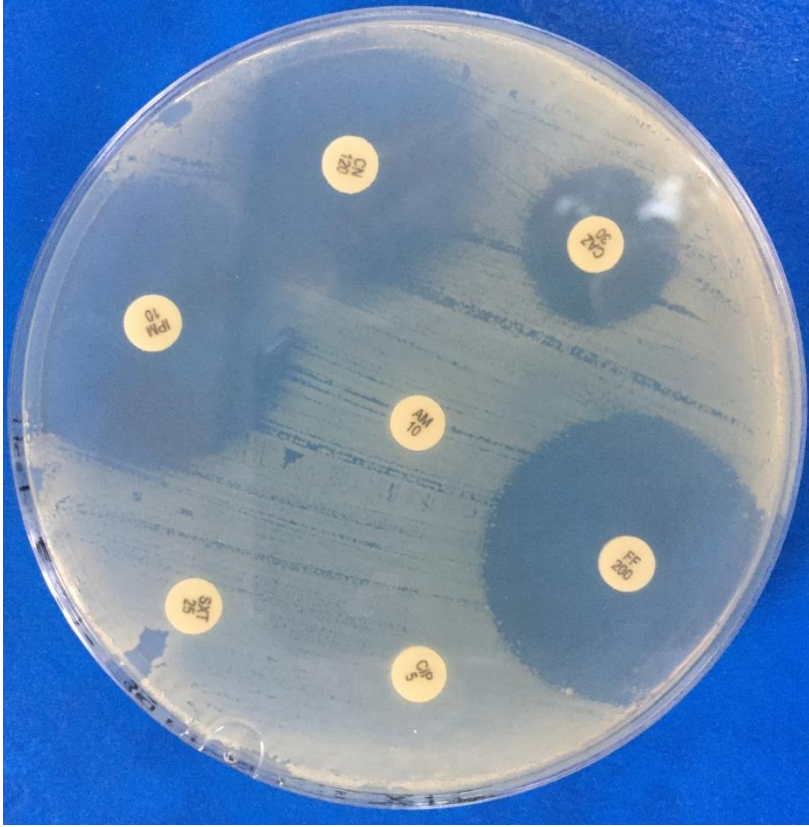
Dirençli suş için 10 µL biyosümfektan eklenmiş referans disk ve 10 µL kekik yağı eklenmiş referans disk uyguladığımız bir çalışma örneği Şekil 4. 2' de gösterilmiştir. Örneğimizde 10 µL biyosümfektan eklenmiş referans diskte zon görülmemiş, 10 µL kekik yağı eklenmiş referans diskte zon görülmektedir.



Şekil 4. 2. Dirençli suş için biyosümfektan ve kekik yağı eklenmiş referans disk.

4.2.3. Dirençli Suş İçin Biosürfektan Eklenmiş Antibiyotik Diskleri

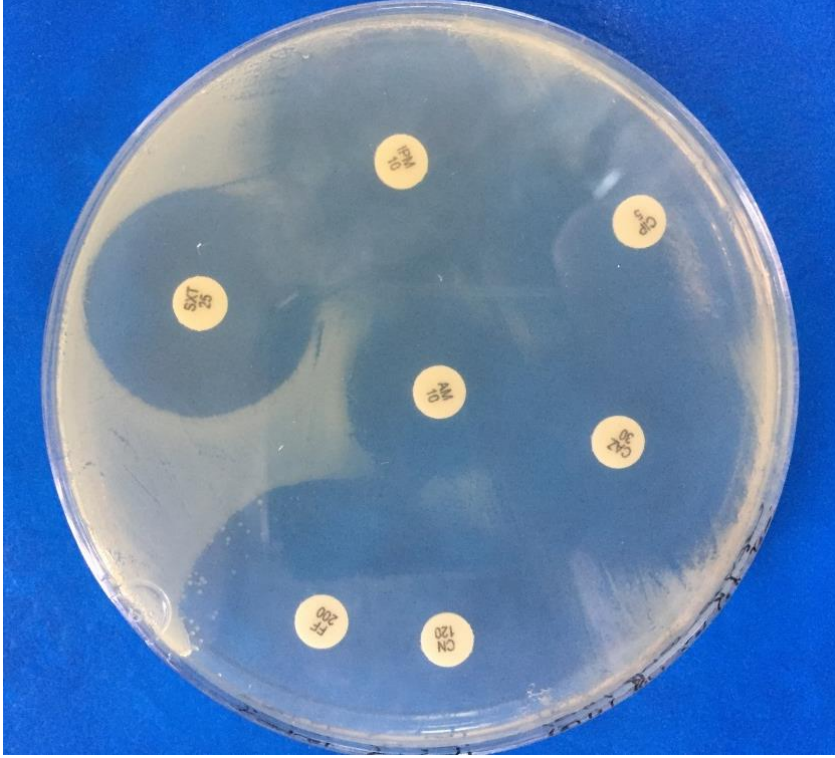
Dirençli suş için 10 µL biosürfektan eklenmiş SXT, AMP, CN, FF, IPM, CIP ve CAZ antibiyotik diskleri uygulanmış bir çalışma örneği Şekil 4. 3 'de gösterilmiştir. Örneğimizde FF, CAZ, CN ve IPM antibiyotiklerine duyarlılık gözlenmektedir. AMP, CIP ve SXT antibiyotiklerine direnç gözlenmektedir.



Şekil 4. 3. Dirençli suş için biosürfektan eklenmiş antibiyotik diskleri.

4.2.4. Dirençli Suş İçin Kekik Yağı Eklenmiş Antibiyotik Diskleri

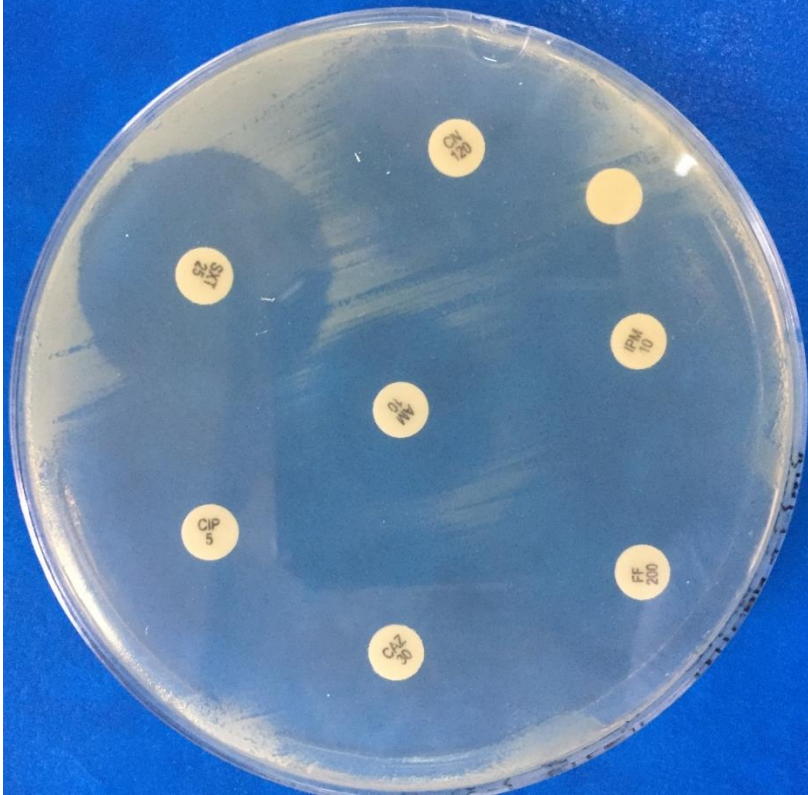
Dirençli suş için 10 µL kekik yağı eklenmiş SXT, AMP, CN, FF, IPM, CIP ve CAZ antibiyotik diskleri uygulanan bir çalışma örneği Şekil 4. 4' de gösterilmiştir. Örneğimizde SXT, AMP, CN, FF, IPM, CIP ve CAZ antibiyotiklerine duyarlılık gözlenmektedir.



Şekil 4. 4. Dirençli suş için kekik yağı eklenmiş antibiyotik diskleri.

4.2.5. Kontrol Suş İçin Antibiyotik Diskleri ve Referans Disk

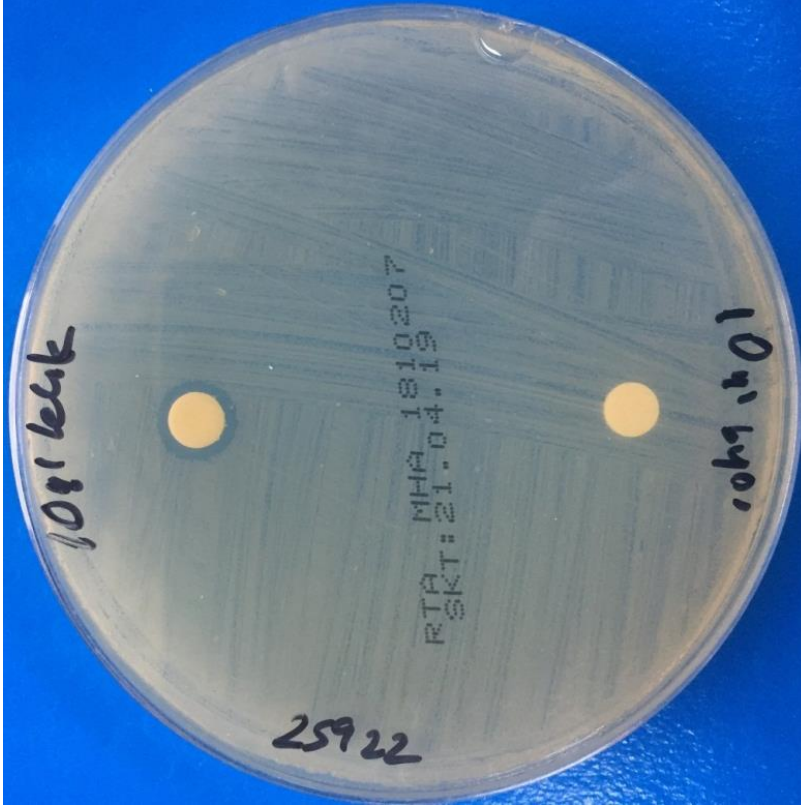
Kontrol *E. coli* suş için herhangi bir madde eklenmemiş SXT, AMP, CN, FF, IPM, CIP ve CAZ antibiyotik diskleri ve referans disk uyguladığımız bir çalışma örneği Şekil 4. 5 'de gösterilmiştir. Örneğimizde SXT, AMP, CN, FF, IPM, CIP ve CAZ antibiyotiklerine karşı duyarlılık gözlenmektedir. Referans diskte zon görülmemektedir.



Şekil 4. 5. Kontrol suş için antibiyotik diskleri ve referans disk.

4.2.6. Kontrol Suş için Biosüpfektan ve Kekik Yağı Eklenmiş Referans Disk

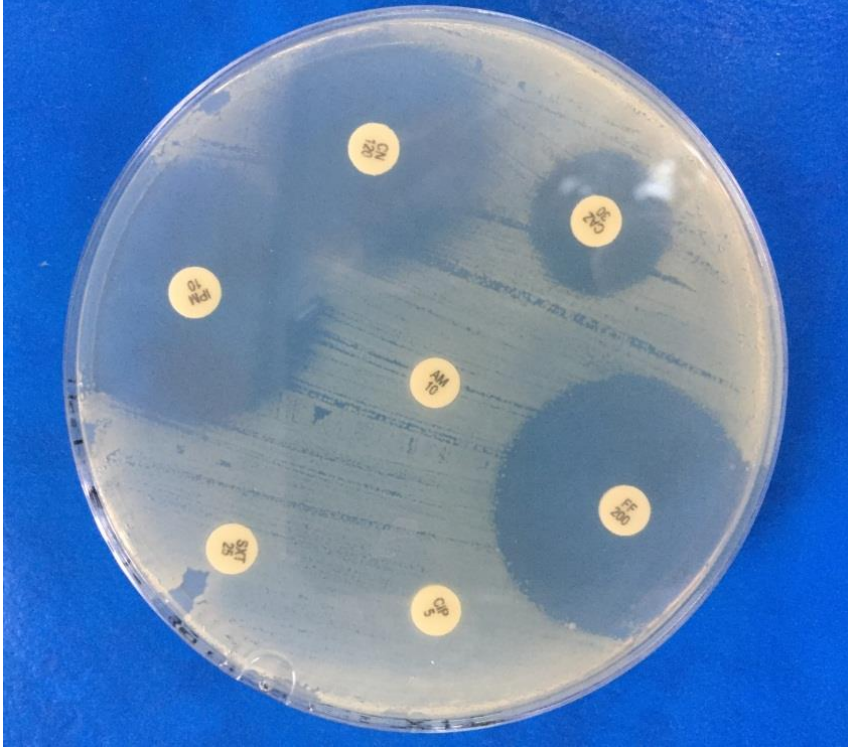
Kontrol *E. coli* suşu için 10 µL biosüpfektan eklenmiş referans disk ve 10 µL kekik yağı eklenmiş referans disk uyguladığımız bir çalışma örneği Şekil 4. 6' da gösterilmiştir. Örneğimizde 10 µL biosüpfektan eklenmiş referans diskte zon görülmemiş, 10 µL kekik yağı eklenmiş referans diskte zon görülmektedir.



Şekil 4. 6. Kontrol *E. coli* için biosüpfektan ve kekik yağı eklenmiş referans disk.

4.2.7. Kontrol Suş İçin Biyosümfektan Eklenmiş Antibiyotik Diskleri

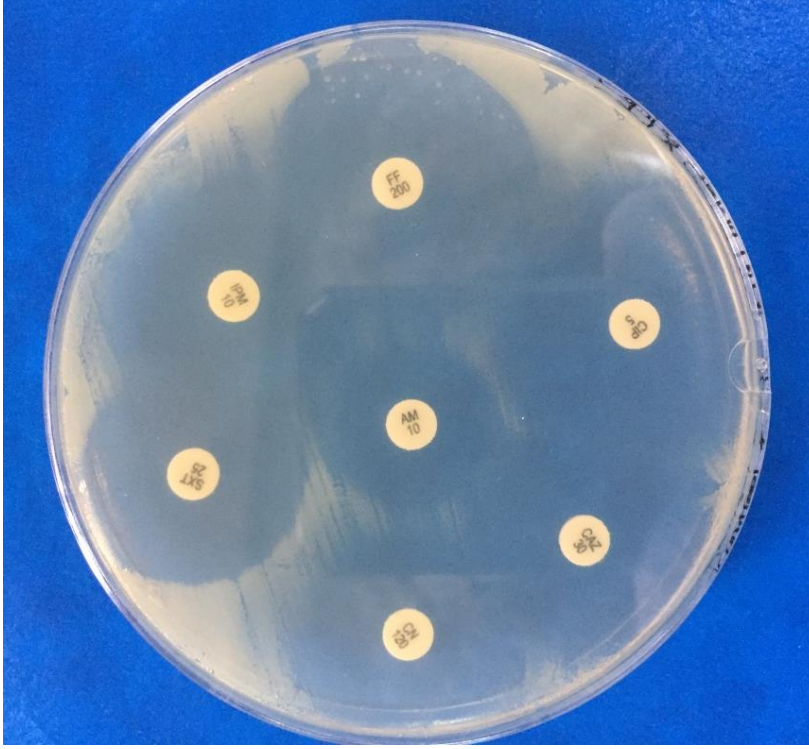
Kontrol *E. coli* suşu için 10 µL biyosümfektan eklenmiş SXT, AMP, CN, FF, IPM, CIP ve CAZ antibiyotik diskleri uyguladığımız bir çalışma örneği Şekil 4. 7 'de gösterilmiştir. Örneğimizde CN, FF, IPM ve CAZ antibiyotiklerine karşı duyarlılık gözlenmiştir. AMP, SXT ve CIP antibiyotiklerine karşı direnç gözlenmiştir.



Şekil 4. 7. Kontrol *E. coli* için biyosümfektan eklenmiş antibiyotik diskleri.

4.2.8. Kontrol Suş İçin Kekik Yağı Eklenmiş Antibiyotik Diskleri

Kontrol *E. coli* suşu için 10 µL kekik yağı eklenmiş SXT, AMP, CN, FF, IPM, CIP ve CAZ antibiyotik disklerini uyguladığımız bir çalışma örneği Şekil 4. 8' de gösterilmiştir. Örneğimizde SXT, AMP, CN, FF, IPM, CIP ve CAZ antibiyotiklerine karşı duyarlılık gözlenmektedir.



Şekil 4. 8. Kontrol *E. coli* için 10 µL kekik yağı eklenmiş antibiyotik diskleri.

4.3. Çalışmada Kullanılan Kekik Yağının Analiz Sonuçları

Kekik yağı bileşenlerinden antibakteriyel etkisi yüksek olan karvakrol/timol oranı % 46.82 oranı ile uygun standartlardadır. Kekik yağı bileşenleri Tablo 4. 6 'da gösterilmiştir.

TABLO 4. 6. Çalışmada kullanılan kekik yağının analiz sonuçları

Bileşenler	Sıra	RT	Skor	Skor (Lib)	Yükseklik	Alan	% Alan
	1	5,16	72,84	72,84	3475977	63526066	2,01
Thujon	2	6,55	94,73	94,73	16196085	35541874	1,12
Alfa-Pinen	3	6,76	94,55	94,55	11549879	26082230	0,82
Kamfen	4	7,21	85,81	85,81	2480563	5946901	0,19
Beta-Pinen	5	8,14	84,2	84,2	1892392	4655056	0,15
Octenol	6	8,23	90,13	90,13	3607260	9801641	0,31
Beta-Mirsen	7	8,66	94,05	94,05	12231325	30422221	0,96
3-Octanol	8	8,81	85,39	85,39	2624671	7389244	0,23
	9	9,11	87	87	2310746	6073444	0,19
Alfa-Terpinen	10	9,57	95,59	95,59	16623123	44052789	1,39
M-Simen	11	9,87	96,16	96,16	104448139	289464622	9,15
D-Limonen	12	10,03	90,76	90,76	4517741	12627745	0,40
Ökaloitol	13	10,12	95,7	95,7	5128125	13882326	0,44
Gama-Terpinen	14	11,22	97,81	97,81	49303046	140997932	4,46
Cis-Sabinenhidrat	15	11,54	95,52	95,52	5877822	17898107	0,57
Terpinolen	16	12,43	77,57	77,57	1685472	6956103	0,22
Trans-Sabinenhidrat	17	12,82	89,84	89,84	1545860	4484302	0,14
Linalool	18	12,96	97,53	97,53	200071079	767163390	24,25
Endo-Borneol	19	15,65	89,31	89,31	2536399	11360678	0,36
Terpinenol	20	16,16	94,51	94,51	4928727	16555304	0,52
Alfa Terpeneol	21	16,75	90,49	90,49	2487472	8893606	0,28
Metil karvakrol	22	19,08	82,98	82,98	1332869	5538827	0,18
Timol	23	21,19	94,88	94,88	5938790	21836436	0,69
Karvakrol/Timol	24	21,64	96,37	96,37	279970010	1481150691	46,82
Karyofillen	25	26,37	98,04	98,04	21877311	80579654	2,55
Humulen	26	27,73	89,58	89,58	2100633	8005294	0,25
Bisiklogermakren/gama- Elemen	27	29,45	80,43	80,43	850046	5003202	0,16
Timokuyinon	28	31,78	83,55	83,55	1802298	7187418	0,23
Karyofil oksit	29	32,73	84,16	84,16	1293008	5977435	0,19
Benzen, 1,1'- sulfonilbiskloro	30	53,45	88,35	88,35	3184445	24547613	0,78

4.4. Tartışma

Sana ve ark. 2018 yılında yapmış oldukları çalışmada *Pseudomonas aeruginosa* C2 den elde ettikleri Rhamnolipid biyosümfektanı ve *Bacillus stratosphericus* A15'den elde ettikleri BS15 biyosümfektanı ile *Staphylococcus aureus*(*S.aureus*) ve *E. coli* üzerinde antibakteriyel özelliklerini araştırmışlardır. Çalışmalarının sonucunda Rhamnolipid biyosümfektanın ve BS15 biyosümfektanın başlangıçtaki bakteri popülasyonununun % 90'ını öldürdüğünü gözlemlemişlerdir [54]. Bizim yaptığımız çalışmada biyosümfektanın *E. coli* üzerinde antibiyotik etkinliğini arttırmadığını, aksine Rhamnolipid biyosümfektanın CN, FF ve CIP antibiyotik diskleri üzerinde olumsuz yönde etki gösterdiğini gözlemlenmiştir. Bu farklılık sümfektanlar arası moleküler farklılıktan ya da bakteri türleri arası farklılıktan kaynaklanabilir.

Rivardo ve ark. 2011 yılında yaptıkları çalışmada, *Bacillus licheniformis* V9T14 tarafından üretilen bir biyosümfektan ile tek başına ve antibiyotiklerle (ampisilin, sefazolin, seftriakson, siprofloksasin, piperasilin, tobramisin ve trimetoprim/sülfametoksazol) kombine ederek *üropatojenik E. coli-CFT073* biyofilmine karşı çeşitli testler yapmışlardır [55]. Test edilen konsantrasyonlarda biyosümfektan tek başına önceden oluşturulmuş biyofilm üzerinde etkili olamamış. Bununla birlikte, tek başına antibiyotik etkisi ile biyosümfektan ile kombinasyon yapıldığında bakteriler üzerinde % 90 azalma göstermiştir. Bu çalışmanın sonuçları, V9T14 biyosümfektanın, antibiyotiklerle birlikte, biyofilm öldürmede antibiyotiklerin etkinliğinde sinerjistik bir artışa yol açtığını ve bazı kombinasyonlarda *E. coli-CFT073* biyofilminin tamamen yok edilmesini sağladığını gözlemlemişlerdir [55]. Bizim çalışmamızda *E. coli* için referans diskte biyosümfektan kullanımı ve antibiyotik diskleri ile kombinasyonunda olumlu bir değişim gözlenmemiştir. Aksine gentamisın, fosfomisin ve siprofloksasin üzerinde negatif etki gözlenmiştir. Sonuçlar arasındaki farklılıklar biyosümfektanın farklılığından kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.

Farag ve ark. 1989 yılında adaçayı, biberiye, çörekotu, kimyon, karanfil ve kekik ile yaptıkları çalışmada bu bitkilere ait uçucu yağ bileşenlerinin bakteri gelişimi üzerine olan etkilerini araştırmışlardır [56]. Çalışmalarında kullandıkları bitkilere ait uçucu yağ bileşenlerini çok düşük dozlarda dahi mikrobiyal gelişimi önlediği, uçucu yağların ve temel bileşenlerinin gram (-) bakteriler üzerine, gram (+) bakterilere oranla daha etkili olduğu tespit edilmiştir. Araştırmada en etkili yağların kekik ve kimyon yağları olduğu belirlenmiştir [56]. Bizim çalışmamızda da kekik yağının gram negatif bir bakteri olan *E. coli* üzerine etkili olduğu görülmüştür. Sonuçlar bu açıdan benzerlik göstermektedir.

Djabou ve ark. 2013 yılında esansiyel yağların antimikrobiyal aktivitelerini araştırdıkları çalışmada, agar kuyucuk difüzyon yöntemi sonucunda elde edilen inhibisyon çaplarını değerlendirmişlerdir [57]. Kekik ve mercanköşk esansiyel yağları diğer yağlara göre daha yüksek antimikrobiyal aktivite gösterirken, her iki mikroorganizmaya karşı en yüksek antimikrobiyal aktiviteyi mercanköşk esansiyel yağı göstermiştir. *E. coli'* ye karşı kekik, mercanköşk çok aktif, kakule, kimyon orta derecede aktif yağlar seçilmiştir. Kekik, mercanköşk, kakule, kimyon esansiyel yağları, *S. aureus'*a karşı ise çok aktif esansiyel yağlar seçilmiştir [57]. Bizim çalışmamızda da elde edilen sonuçlar benzer şekildedir.

Bozin ve ark. 2006 yılında yapmış oldukları çalışmada *Lamiaceae* familyasına ait *Ocimum basilicum*, *Origanum vulgare* ve *Thymus vulgaris* bitki uçucu yağ bileşenlerinin 13 bakteri ve 6 fungus üzerindeki antimikrobiyal etkisine bakılmış ve en yüksek antimikrobiyal etkinin *Origanum vulgare* bitkisinden alınan uçucu yağ bileşenlerinde olduğu belirtilmiştir [58]. Bu uçucu yağlara karşı ise *P. aeruginosa* ve *E. coli* mikroorganizmalarının oldukça dirençli olduğu gözlenmiştir. [58]. Bizim yaptığımız çalışmada ise *E. coli* mikroorganizmalarının; *Lamiaceae* familyasına ait *Thymus* cinsinden elde edilen yağ bileşenlerine karşı duyarlı olduğunu gözlemlenmiştir. Çalışmamız bu yönüyle ilgili çalışmaya göre farklı sonuç bildirmekte ve kekik yağı bileşenlerinin avantajını göz önüne sermektedir.

Bekki'nin 2010 yılında yaptığı uzmanlık tezinde kekik yağının *E. coli* ATCC 25922 suşu üzerinde en etkili antibakteriyel olduğunu göstermiştir [59]. Yazar bu sonuçları mikrodilüsyon ve disk difüzyon metodu ile elde etmiştir. Bizim çalışmamız antibiyotik kombinasyonu olmadan benzer sonuç elde etmiş olup, antibiyotik kombinasyonu ile de antibiyotik etkinliğini artırdığı ek bulgu olarak gözlenmiştir.

Azaz ve ark. 2004 yılında *Thymus* cinsi esansiyel yağları ile ilgili olarak yaptıkları çalışmada, yüksek miktarlarda monoterpen fenollerini içeren yağların test edilen tüm bakteriler üzerinde antibakteriyel aktiviteyi etkilediğini gözlemlemişlerdir [60]. Agar disk difüzyon yöntemine göre, test edilen tüm bakterilerin, kullanılan esansiyel yağlarla inhibe edildiği gözlenmiştir. Işık alanı 2 ila 3 milimetre arasında ölçülürse, uçucu yağların test edilen mikroplarda iyi bir bakterisid etkiye sahip olduğu, ışık alanı 3 milimetreden fazla ise çok etkili olduğu ve ışık alanı yoksa uçucu yağın analiz edilen bakteri üzerinde hiçbir aktiviteye sahip olmadığını ve tedavi için kullanılamayacağını bildirmişlerdir [60]. Bizim çalışmamızda da referans disklere kekik yağı uygulaması ile her iki *E. coli* türü üzerinde ışık alanı 2-3 mm görülmüştür. Antibiyotik kombinasyonu ile de ışık alanının anlamlı şekilde arttığı gözlemlenmiştir.

Turhan'ın 2015 yılında yaptığı tez çalışmasında kekik ve mercanköşk esansiyel yağı 5-10 ve 15 µL dozda uygulaması ile bakteri gelişimini tamamen inhibe ettiğini gözlemlemiştir. *S.aureus* ve *E. coli* üzerine olan antimikrobiyal etkinin çok güçlü olduğu belirlenen yağlara (dereotu, kekik, kakule, kimyon, mercanköşk) 1: 5, 1: 10, 1: 20 oranlarında seyreltme işlemi yapılmıştır. Kekik esansiyel yağının 1:5 seyreltme oranında 12 mm, 1:10 seyreltme oranında 9 mm, 1:20 seyreltme oranında ise 7 mm inhibisyon zonu oluşturduğu gözlenmiştir. Kekik yağının düşük konsantrasyonlarda dahi bakteriler üzerinde antibakteriyel etki gösterdiği gözlenmiştir [61]. Bizim çalışmamızda da 10 µL dozda kekik yağı emdirilmiş disk ile 9.6 mm zon çapı elde edilmişti. Bizim çalışmamız da bu çalışma ile tutarlı sonuç vermiştir.

Azaz ve ark. 2010 yılında *Thymus eigi*'nin kimyasal bileşenleri, antimikrobiyal ve antioksidan özelliklerini araştırdıkları çalışmalarında insan ve gıda kaynaklı mikroorganizmalara karşı test edilen *T. eigi* esansiyel yağlarının antimikrobiyal aktivitesi, inhibisyon zon çapı ve MİK değerlerinin varlığını kalitatif ve kantitatif olarak değerlendirmişlerdir [62]. *E. coli* 25292 ile test edilen *T. Eigi*'nin antimikrobiyal özelliklerinin güçlü olduğunu göstermiştir. Sentetik antimikrobiyal ürünler yerine birçok gıdada mikrofungal ve bakteriyel kontaminasyona karşı koruyucu olarak kullanılabileceğini bildirmişlerdir [62]. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar bizim çalışmamız ile paraleldir.

5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Çalışmamızda disk diffüzyon yöntemi kullanılarak, kekik yağı ve biyosürefektan'ın iki tane *Escherichia coli* (*E. coli*) suşu üzerine direkt antibakteriyel etkisi ve yine aynı iki bakteri suşu üzerine aynı yöntemle 7 adet antibiyotik ile kombine edilmesinin etkileri araştırıldı. Biyosürefektan'ın her iki bakteri suşuna da direkt antibakteriyel etkisi tespit edilemedi. Biyosürefektan antibiyotik kombinasyonu ile de antibiyotik etkinliğinde artma gözlenmedi. Kekik yağının her iki bakteri suşuna da direkt antibakteriyel etkisi saptandı. Kekik yağı-antibiyotik kombinasyonunun da her iki *E. coli* üzerine antibakteriyel etkisinde artış saptandı. Çalışmamız her iki etkiyi karşılaştırmalı yapması ve sık kullanılan önemli antibiyotiklerle ilişkisini göstermesi bakımından da önemliydi. Çalışmamızda biyosürefektan ile ilgili olumsuz bulgular elde edilmiş olmakla birlikte kekik yağı ile ilgili güzel ve cesaret verici sonuçlar elde edilmiştir.

Tıpta antibiyotiklere hızlı direnç gelişimi, enfeksiyonlara bağlı morbiditeler ve tedavi maliyetleri göz önüne alındığında; çalışmamızda elde edilen bulgular öncelikli olarak kekik yağının bağırsak ve üriner sistem enfeksiyonlarında tek başına ya da antibiyotiklerle kombine kullanımını teşvik edici ya da klinik kullanımı ile ilgili çalışmalara kaynak teşkil edebileceğini göstermiştir.

KAYNAKLAR

1. Murray P, Rosenthal K, Pfaller M. (2016) Tıbbi Mikrobiyoloji(A.Us A. Başustaoğlu Çev.) Ankara: Pelikan Yayınevi.
2. Pitout, J D., Loupland, K B. (2008). Extended spectrum β -lactamase-producing *Enterobacteriaceae*: an emerging public-health concern. *Lancet Infect Dis*, 8 (3), 159–166.
3. Betlejewska, K., Hryniewicz, W., Hryniewicz, K., Szczypa, K., Sulikowska, A., Jankowski, K. (2001). Antibiotic susceptibility of bacterial strains isolated from urinary tract infections in Poland. *J Antimicrob Chemother* 47(6), 773-80.
4. Kumamoto, Y., Tsukamoto, T., Matsukawa, M., Kunishima, Y., Watanabe K., Kobayashi Y. ve diğerleri. (2005). Comparative studies on activities of antimicrobial agents against causative organisms isolated from patients with urinary tract infections (2003). III. Secular changes in susceptibility. *Jpn J Antibiot*, 58(6), 557-654.
5. Kutlu, S S., Kutlu, M. (2007). Didim’de üriner sistem infeksiyonlarından izole edilen *E. coli* suşlarının antibiyotik duyarlılığı. *İnfeksiyon Dergi*, 21(2), 81-83.
6. Çetin, H., Öktem, F., Örmeci, A R., Yorgancıgil, B., Yaylı, G. (2006). Çocukluk çağı idrar yolu enfeksiyonlarında *E. coli* ve antibiyotik direnci. *SDÜ Tıp Fak Derg*, 13(2), 12-16.
7. Lin, S. (1996). Biosurfactants: recent advances. *J Chem Technol Biotechnol* 66(2), 109–120.
8. Desai, J D., Banat I M. (1997). Microbial production of surfactants and their commercial potential. *Microbiol Mol Biol Rev*, 61(1), 47-64.
9. Doyle, M P., Schoeni, J L. (1984) Survival and growth characteristics of *Escherichia coli* associated with hemorrhagic colitis. *Appl Environ Microbiol*, 48(4), 855-856.
10. Ustaçelebi, Ş.[Ed.](1999). Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Ankara: Hacettepe Tıp Fakültesi
11. Panos, G Z., Betsi, G I., Falagas, M E. (2006). Systematic review:are antibiotics detrimental or beneficial for the treatment of patients with *Escherichia coli* O157:H7 infection?, *Aliment Pharmacol Ther*, 24(5), 731-742.
12. Wang, S. (2003). Biosurfactant Enhanced Remediation of Heavy Metal Contaminated Soil, Presented in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Master of Applied Science at Concordia University Montreal, Quebec, Canada.
13. Das, P., Mukherjee, S., Sen, R. (2008). Antimicrobial potential of a lipopeptide biosurfactant derived from a marine *Bacillus circulans*. *J Appl Microbiol*, 104(6), 1675-1684.

14. Sen, R., Swaminathan, T. (1997). Application of response-surface methodology to evaluate the optimal environmental conditions for the enhanced production of surfactin. *Appl Microbiol Biotechnol*, 47(4), 358-363.
15. Mukherjee, S., Das, P., Sen, R. (2006). Towards commercial production of microbial surfactants. *Trends Biotechnol*, 24(11), 509-515.
16. Singh, P., Cameotra, S S. (2004). Potential applications of microbial surfactants in biomedical sciences. *Trends Biotechnol*, 22(3), 142-6.
17. Banat, I. M., Makkar, R. S., Cameotra, S. S., (2000). Potential commercial applications of microbial surfactants. *Appl Microbiol Biotechnol*, 53(5), 495-508.
18. Kaya, T., Kariptas, E., Aslım, B. (2007). Biyosüpfektanlar ve Biyoteknolojik Önemi. *Anadolu University journal of science and technology*, 8(2), 325-335.
19. Makkar, R., Cameotra, S. (2002). An update on the use of unconventional substrates for biosurfactant production and their new applications. *Appl Microbiol Biotechnol*, 58(4), 428-434.
20. Moyne, A L., Shelby, R., Cleveland, T E., Tuzun, S. (2001). Bacillomycin D: an iturin with antifungal activity against *Aspergillus flavus*. *J Appl Microbiol*, 90(4), 622-629.
21. Chung, Y R., Kim, C H., Hwang, I., Chun, J. (2000). *Paenibacillus koreensis* sp. nov., a new species that produces an iturin- like antifungal compound. *Int J Syst Evol Microbiol*, 50(4), 1495-1500.
22. Kim, K., Jung, S Y., Lee, D K., Jung, J K., Park, J K., Kim, D K., Lee, C H., ve diğlerleri. (1998). Suppression of inflammatory responses by surfactin, a selective inhibitor of platelet cytosolic phospholipase A2. *Biochem Pharmacol*, 55(7), 975-985.
23. Vollenbroich, D., Pauli, G., Özel, M., Vater, J. (1997). Antimycoplasma properties and application in cell culture of surfactin, a lipopeptide antibiotic from *Bacillus subtilis*. *Appl Environ Microbiol*, 63(1), 44-49.
24. Kikuchi, T., Hasumi, K. (2003). Enhancement of reciprocal activation of prourokinase and plasminogen by the bacterial lipopeptide surfactins and iturin. *Journal of Antibiotics*, 56(1), 34-37.
25. Cowan, M. M. (1999). Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clin Microbiol Rev*, 12(4), 564-582.
26. Çelik, E., Çelik, G Y. (2007). Bitki Uçucu Yağlarının Antimikrobiyal Özellikleri. *Orlab On-line Mikrobiyoloji Dergisi*, 5(2), 1-6.
27. Hanamanthagouda, M S., Kakkalameli, S B., Naik, P M., Nagella, P., Seetharamareddy, H R., Murthy, H N. (2010). Essential oils of *Lavandula bipinnata* and their antimicrobial activities. *Food Chemistry*, 118 (3), 836-839.

28. İşcan, G. (2002). *Umbelliferae* familyasına ait bazı bitki türlerinin uçucu yağlarının antimikrobiyal aktivitelerinin araştırılması. Yayımlanmamış yüksek lisans tezi, Anadolu Üniversitesi, Eskişehir.
29. Cheng, A., Lou, Y., Mao, Y., Lu, S., Wang, L., Chen, X. (2007). Plant Terpenoids: Biosynthesis and Ecological Functions. *Journal of Integrative Plant Biology*, 49(2), 179-186.
30. Pişkin, Ç. (2007). *Lamiaceae* familyasına mensup bazı baharat bitkilerinin antimikrobiyal etkilerinin belirlenmesi. Yayımlanmamış yüksek lisans tezi, Selçuk Üniversitesi, Konya.
31. Türk, M. (2010). Bazı önemli tıbbi bitkilerin kimyasal kompozisyonu ve antioksidan kapasitelerinin belirlenmesinde sub ve süperkritik akışkanların etkisi. Yayımlanmamış doktora tezi, Çukurova Üniversitesi.
32. Toroğlu, S., Çenet, M. (2006). Tedavi amaçlı kullanılan bazı bitkilerin kullanım alanları ve antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi için kullanılan metodlar. *KSÜ. Fen ve Mühendislik Dergisi*, 9(2), 12-21.
33. Durceylan, Z. (2007) Karyofillen Oksit'in *Neurospora crassa* ile Biyotransformasyonunun İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Osmangazi Üniversitesi, Eskişehir.
34. Everest, A., Erdogan E.A., De Martino. L., Mancini, E., Festa, M., De Feo, V.(2013). Chemical composition and in vitro cytotoxic activity of the essential oils of *Stachys rupestris* and *Salvia heldreichiana*, two endemic plants of Turkey. *Nat Prod Commun*, 8(11), 1637-40.
35. Umay, A. (2007). *Lavandula stoechas*, *Melissa officinalis* ve *Tribulus terrestris* bitkilerinin kimyasal içeriklerinin araştırılması. Yayımlanmamış yüksek lisans tezi, Çukurova Üniversitesi, Adana.
36. Hacıoğlu, S. (2006) Bazı *Heracleum L.Umbelliferae* Taksonlarında Uçucu Yağların Antimikrobiyal Aktivitelerinin İncelenmesi. Yayımlanmamış yüksek lisans tezi, Kırıkkale Üniversitesi, Kırıkkale.
37. Silva, N C C., Fernandes, J A. (2010). Biological Properties of Medicinal Plants: A Review of Their Antimicrobial Activity. *J Venom Anim Toxins*, 16(3), 402-413.
38. Dorman, H J., Deans, S G. (2000). Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *J Appl Microbiol*, 88(2), 308-316.
39. Simic, A., Sokovic, M D., Ristic, M., Grujic-Jovanovic, S., Vukojevic, J., Marin, P D. (2004). The chemical composition of some *Lauraceae* essential oils and their antifungal activities. *Phytother Res*, 18(9), 713-717.
40. Opalchenova, G., Obreshkova, D. (2003). Comparative studies on the activity of basil-an essential oil from *Ocimum basilicum L.* against multidrug resistant clinical isolates of

- the genera *Staphylococcus*, *Enterococcus* and *Pseudomonas* by using different test methods. J Microbiol Methods, 54(1), 105-110.
41. Petronilho, S., Maraschin, M., Coimbra, M A., Rocha, S M. (2012). In vitro and in vivo studies of natural products: A challenge for their valuation. The case study of chamomile (*Matricaria recutita* L.), Industrial Crops and Products, 40, 1-12.
42. Durusoy, Ç., Gözel, B. (2007). Ulusal Dermatolojide Bitkisel Tedavi- Fitoterapi. Turk J Dermatol, 1(2), 47-50.
43. Keleş, O., Ak, S., Bakirel, T., Alpınar, K. (2001). Türkiye’de Yetişen Bazı Bitkilerin Antibakteriyel Etkisinin İncelenmesi. Türk J. Vet Anim Sci, 25(4), 36-42.
44. Yarnell, E., Abascal, K. (2004). The Leading Publisher in Biotechnology. Alternative & Complementary Therapies Part 2: Vol. 10(5), 277- 284.
45. Consentino, S., Tuberosa, C I., Pisano, B., Satta, M., Mascia, V., Arzedi, E.ve diğerleri. (1999). In vitro antimicrobial activity and chemical composition of *Sardinian Thymus* essential oils. Lett. Appl. Microbiol. 29(2), 130-135.
46. Tümen, G., Baser, K. H. C., Demirci, B., Ermin, N. (1998). The essential oils of *Satureja coerulea* Janka and *Thymus aznavourii*. Flavour Fragr J, 13(1), 65-67.
47. Baser K H C. (1995), Essential oils from aromatic plants which are used as herbal tea in Turkey. In: Flavours, Fragrance and Essential Oils. Proceedings of the 13th International Congress of Flavours, Fragrances and Essential Oils (Baser K H C ed.). AREP Publications, Istanbul, Turkey, pp. 67-79.
48. Yiğit, N., Benli, M. (2005). Ülkemizde yaygın kullanımı olan kekik (*Thymus vulgaris*) bitkisinin antimikrobiyal aktivitesi. Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi, 3(8), 1-8.
49. Zeytinoğlu, M., Aydın, S., Öztürk, Y., Başer, K H C. (1998). Inhibitory Effects of Carvacrol on DMBA Induced Pulmonary Tumorigenesis in Rats. Acta Pharm Turc, 40(2), 93-98.
50. Töreci, K. (2003). Antibiyotik kullanımı ve direnç ilişkisi. Flora, 8(2), 89-110.
51. Archibald, L., Phillips. L., Monnet, D., McGowan, J. E. Jr., Tenover, F., Gaynes, R., (1997). Antimicrobial resistance in isolates from inpatients and outpatients in the United States: Increasing importance of the intensive care unit. Clin Infect Dis, 24(2), 211-215.
52. Clinical Laboratory Standards Institute. Performance Standards For Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Second Informational Supplement. CLSI. M02-A11 and M07-A9, 2012: 40-61
53. Bilgehan, H. (2009) Klinik Mikrobiyolojik Tanı. İzmir: Barış
54. Sana, S., Datta, S., Biswas, D., Sengupta, D. (2018). Assessment of synergistic antibacterial activity of combined biosurfactants revealed by bacterial cell envelop damage. Biochim Biophys Acta Biomembr, 1860(2), 579-585.

55. Rivardo, F., Martinotti, M G., Turner, R J., Ceri H. (2011). Synergistic effect of lipopeptide biosurfactant with antibiotics against *Escherichia coli* CFT073 biofilm. Int J Antimicrob Agents, 37(4), 324-31.
56. Farag, R.S., Daw, Z.Y., Hewedi, F.M., El-Baroty, G.S.A. (1989). Antimicrobial activity of some Egyptian spice essential oils. Journal of Food Protection, 52(9), 665- 667.
57. Djabou, N., Lorenzi, V., Guinoiseau, E., Andreani, S., Giuliani, M C., Desjobert, J M. ve diğerleri.(2013). Phytochemical composition of *Corsican Teucrium* essential oils and antibacterial activity against foodborne or toxi-infectious pathogens. Food Control, 30(1) , 354-363.
58. Bozin, B., Mımıka-Dukıç, N., Sımın, N. and Anackov, G. (2006). Characterization of the volatile composition of essential oils of some *Lamiaceae* species and the antimicrobial and antioxidant activities of the entire oil. Journal Agricultural and Food Chemistry, 54(5), 1822-1828.
59. Bekki, S. (2010) Kekik yağı, yaban mersini suyu, lahana suyu ve brokoli suyunun *in vitro* koşullarda antibakteriyel ve sitotoksik etkilerinin araştırılması. Yayınlanmamış yüksek lisans tezi, Cumhuriyet Üniversitesi, Sivas.
60. Azaz, A D., Irtem, H A., Kurkcuođlu, M., Baser, K H C. (2004). Composition and the in vitro antimicrobial activities of the essential oils of some *Thymus* species. Z Naturforsch C. 59(1), 75-80.
61. Turhan, D. (2015) Bazı Esansiyel Yağların *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli* Üzerine Antimikrobiyal Etkisinin Araştırılması. Yayınlanmamış yüksek lisans tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi, İstanbul.
62. Azaz, A D., Kucukbay, Z., Celen, S., Kuyumcu, E., Yildiz, B. (2010) Chemical composition, antimicrobial and antioxidant properties of *Thymus eigii* M. Zohary& P. H. Davis essential oil. J Essent Oil Bear Pl. 16(5), 661-671.

ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı :Yeşim Arık

Doğum Tarihi :07.10.1981

E-mail :1602030171003@mersin.edu.tr

Öğrenim Durumu :

Derece	Bölüm/Program	Üniversite	Yıl
Lisans	Biyoloji	Gazi Üniversitesi	2015
Yüksek Lisans	Biyoteknoloji	Mersin Üniversitesi	2019
Doktora			

Görevler :

Görev Ünvanı	Görev Yeri	Yıl