



T.C.
HALIÇ ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK TEZLİ YÜKSEK LİSANS
PROGRAMI

Staphylococcus aureus İZOLATLARININ β -LAKTAM GRUBU
ANTİBİYOTİKLERE KARŞI DUYARLILIKLARININ ASTAKSANTİN
İLE ARTTIRILMASI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Hazırlayan
Berfin DÜZTEPE

Tez Danışmanı
Doç. Dr. Sahra KIRMUSAOĞLU

İSTANBUL
Haziran, 2024



T.C.
HALIÇ ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK TEZLİ YÜKSEK LİSANS
PROGRAMI

Staphylococcus aureus İZOLATLARININ β -LAKTAM GRUBU
ANTİBİYOTİKLERE KARŞI DUYARLILIKLARININ ASTAKSANTİN
İLE ARTTIRILMASI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Hazırlayan
Berfin DÜZTEPE

Tez Danışmanı
Doç. Dr. Sahra KIRMUSAOĞLU

İSTANBUL
Haziran, 2024

LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı Öğrencisi Berfin DÜZTEPE tarafından hazırlanan "*Staphylococcus aureus* İZOLATLARININ β -LAKTAM GRUBU ANTİBİYOTİKLERE KARŞI DUYARLILIKLARININ ASTAKSANTİN İLE ARTTIRILMASI" konulu çalışması jürimizce Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 14/06/2024

Jüri Üyesinin Ünvanı, Adı, Soyadı ve Kurumu:

İmzası

Jüri Üyesi : Doç. Dr. Sahra KIRMUSAOĞLU
Haliç Üniversitesi

Jüri Üyesi : Doç. Dr. Suat SARIBAŞ
İstanbul Üniversitesi/ Cerrahpaşa

Jüri Üyesi : Dr. Öğr. Üy. Deniz KANCA DEMİRCİ
Haliç Üniversitesi

Bu tez yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu'nun kararıyla kabul edilmiştir.

Müdür
Prof. Dr. Nihat İNANÇ

ORJİNALLİK RAPORU

% **10**

BENZERLİK ENDEKSİ

% **8**

İNTERNET KAYNAKLARI

% **2**

YAYINLAR

% **3**

ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	acikbilim.yok.gov.tr İnternet Kaynağı	% 7
2	Submitted to The Scientific & Technological Research Council of Turkey (TUBITAK) Öğrenci Ödevi	% 1
3	Submitted to Mehmet Akif Ersoy Aniversitesi Öğrenci Ödevi	% 1
4	Duygu Nilüfer ÖCAL, İştar DOLAPÇI, Zeynep GENÇTÜRK, Alper TEKELİ. "Vankomisin ve Daptomisinin Koagülaz-Negatif Stafilokok İzolatlarının Oluşturduğu Biyofilm Üzerine İn Vitro Etkisi", Mikrobiyoloji Bulteni, 2017 Yayın	<% 1
5	acikerisim.erbakan.edu.tr İnternet Kaynağı	<% 1
6	www.researchgate.net İnternet Kaynağı	<% 1
7	tez.sdu.edu.tr İnternet Kaynağı	<% 1

14/06/2024

TEZ ETİK BEYANI

Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum “*Staphylococcus aureus* İZOLATLARININ β -LAKTAM GRUBU ANTİBİYOTİKLERE KARŞI DUYARLILIKLARININ ASTAKSANTİN İLE ARTTIRILMASI” başlıklı bu çalışmayı başından sonuna kadar danışmanım Doç. Dr. Sahra KIRMUSAOĞLU’nun sorumluluğunda tamamladığımı, verileri/örnekleri kendim topladığımı, deneyleri ilgili laboratuvarlarda yaptığımı, başka kaynaklardan aldığım bilgileri metinde ve kaynakçada eksiksiz olarak gösterdiğimi, çalışma sürecinde bilimsel araştırma ve etik kurallara uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim.

İmza

Berfin DÜZTEPE

ÖNSÖZ

Yüksek Lisans sürecime adım attığımdan itibaren benimle bu yolda yürüyen, ilgisini ve anlayışını eksik etmeyen, bildiklerini bana aktararak çıktığım akademik yolda bana destek olan tez danışman hocam Sn. Doç. Dr. Sahra KIRMUSAOĞLU'na çok teşekkür ederim.

Deneysel çalışmalarım süresince verdikleri destek için Prof. Dr. Esra KASAPBAŞI, Dr. Öğr. Üy. Deniz KANCA DEMİRCİ ve Ar. Gör. Hatice KURNAZ'a teşekkür ederim.

Çalışmalarım süresince yanımda olup bana destek olan başta Taha DOĞUSOY olmak üzere güzel kalpli laboratuvar arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Bu yolda bana destek olup, hiç yalnız bırakmayan, moralimi her zaman yüksek tutmamı sağlayan, başarılı olacağıma inancı tam olan dostum İpek TANGİL'e teşekkür ederim.

Sürecin her gününde günün raporunu almak için beni bekleyen dedeme, sabahları beni okula uğurlayan anneanneme teşekkürü bir borç bilirim. Desteğini, sevgisini, ilgisini eksik etmeyen teyzem, babaannem, halalarım, dayım ve enişteme teşekkürler.

Bugünlere gelmemi sağlayan, her düştüğümde ayağa kaldırmak için yanımda olan, bana benden daha çok güvenen, her kararımın arkasından benden daha dik duran canım anneme ve canım babama sonsuz teşekkürler, varlığınıza her an minnettarım.

Haliç Üniversitesi'ne katkılarından dolayı teşekkür ederim.

Haziran, 2024

Berfin DÜZTEPE

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

TEZ ETİK BEYANI	i
ÖNSÖZ	ii
İÇİNDEKİLER	iii
KISALTMALAR	vi
SEMBOLLER	viii
TABLO LİSTESİ	ix
ŞEKİL LİSTESİ	xii
ÖZET	xix
ABSTRACT	xxi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Stafilokok Epidemiyolojisi.....	3
2.1.1. Stafilokok Biyofilmlerinin Tıbbi ve Epidemiyolojik Yönden Önemi	3
2.1.2. Stafilokok Biyofilmlerin Patogenezi	5
2.2 Stafilokok Biyofilmleri ve Virülans Faktörleri	6
2.2.1 PIA Bağımlı Biyofilm Oluşumu	6
2.2.2 PIA Bağımsız Biyofilm Oluşumu.....	7
2.3 Biyofilm Oluşum Aşamaları	7
2.3.1 Adhezyon Aşaması	8
2.3.2 Çoğalma/Olgunlaşma Aşaması.....	9
2.3.3 Dağılma Aşaması.....	10
2.4 Biyofilm İçerisinde Bulunan Mikroorganizmalarda Antibiyotik Direnç Mekanizmaları.....	10
2.4.1. Astaksantin (AST)	10
2.4.2. Oksasilin (OX).....	11
2.4.3. Penisilin (P).....	11
2.4.4. Ampisilin (AM)	11
3. GEREÇ ve YÖNTEM	12
3.1. Örneklerin Hazırlanması ve Mikrobiyolojik Analizler	12

3.2. İzolatlarda Antibiyotik Duyarlılıklarının Belirlenmesi	12
3.2.1. Stafilokokların Metisilin Direnç Tanısının Konulması	12
3.2.2. Stafilokok İzolatlarında β -Laktamaz Varlığının İdentifikasyonu	13
3.3. <i>Staphylococcus aureus</i> İzolatlarında Hedef Genlerin İdentifikasyonu	13
3.3.1. Primer Tasarımı	13
3.3.2. Genomik DNA İzolasyonu	13
3.3.3. Kalitatif GZ-PZR Reaksiyonu	14
3.4. Biyofilm Üretiminin Tanımlanması	14
3.4.1. Tüp Metodu (TM)	14
3.4.2. Mikrotitre Plak (MtP) Metodu	15
3.5. Bakteri Solüsyonlarının ve Kimyasalların Hazırlanması	16
3.5.1. Bakteri Solüsyonlarının Hazırlanması	16
3.5.2. Astaksantin Stok Solüsyonu ve Dozlarının Hazırlanması	16
3.5.3. Oksasilin Stok Solüsyonu ve Dozlarının Hazırlanması	16
3.5.4. Ampisilin Stok Solüsyonu ve Dozlarının Hazırlanması	16
3.5.5. Penisilin Stok Solüsyonu ve Dozlarının Hazırlanması	17
3.6. Astaksantin ve β -laktamların MİK ve MBK'lerinin Belirlenmesi	17
3.7. Astaksantin ve β -laktam Kombinasyonlarının Planktonik <i>S. aureus</i> İzolatları Üzerindeki Etkinliklerinin Tanımlanması	17
3.7.1. Dama Tahtası Yöntemi (Checkerboard Metot)	17
3.8. Astaksantin ve β -laktam Kombinasyonlarının <i>S. aureus</i> İzolatlarının Biyofilm Üretiminin Üzerindeki Etkilerinin Belirlenmesi	18
3.8.1 Mikrotitre Plak Metodu (MtP)	18
3.9. Verilerin Analizi	19
4. BULGULAR	20
4.1. Bakterilerin Tanımlanması	20
4.2. <i>S. aureus</i> İzolatlarının Hedef Genlerinin Tespiti	20
4.3. Biyofilm İdentifikasyonu	20
4.3.1. Tüp Metot Sonucu	20
4.3.2. Mikrotitre Plak Metodu (MtP) Sonucu	21
4.4. Astaksantin ve β -laktamların MİK ve MBK Değerlerinin Belirlenmesi	21
4.5. Astaksantin ile β -laktam Kombinasyonlarının Planktonik <i>S. aureus</i> İzolatları Üzerindeki Etkilerinin Analizi	22
4.5.1 Astaksantin ile Oksasilin Kombinasyonlarının Bakteriyel Büyüme Üzerindeki Etkisi	22

4.5.2 Astaksantin ile Ampisilin Kombinasyonlarının Bakteriyel Büyüme Üzerindeki Etkisi	33
4.5.3 Astaksantin ile Penisilin Kombinasyonlarının Bakteriyel Büyüme Üzerindeki Etkisi	43
4.6. Astaksantin ile β -laktam Kombinasyonlarının <i>S. aureus</i> İzolatlarının Biyofilm Üretimi Üzerindeki Etkilerinin Analizi	53
4.6.1 Astaksantin ile Oksasilin Kombinasyonlarının Biyofilm Üretimi Üzerindeki Etkisi	53
4.6.2 Astaksantin ile Ampisilin Kombinasyonlarının Biyofilm Üretimi Üzerindeki Etkisi	77
4.6.3 Astaksantin ile Penisilin Kombinasyonlarının Biyofilm Üretimi Üzerindeki Etkisi	99
5. TARTIŞMA	119
6. SONUÇLAR	122
KAYNAKLAR	123
ÖZGEÇMİŞ.....	130

KISALTMALAR

Abs	: Absorbans
Agr	: Aksesuar gen regülatörü
ATL	: Otolizin
AST	: Astaksantin
Bap	: Biyofilm İlişkili Protein
bMİK	: Biyofilm minimum inhibitör konsantrasyon
CifA	: Kümelenme Faktörü A
CifB	: Kümelenme Faktörü B
CWA	: Hücre Duvarına Bağlı Proteinler
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
ECM	: Ekstraselüler Matriks
eDNA	: Ekstraselüler DNA
EPS	: Ekzopolisakkaritler
EDTA	: Etilendiamin Tetra Asetik Asit
EPS	: Ekstraselüler Polisakkaritler
fnbpA	: Fibronektin-Bağlanma Proteini A
fnbpB	: Fibronektin-Bağlanma Proteini B
FtsZ	: Filament Sıcaklığına Duyarlı Mutant Z
GZ-PZR	: Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu
Ica	: Interselüler Adezin
KNS	: Koagülaz Negatif Stafilokok
MBK	: Minimum Bakterisidal Konsantrasyon
MİK	: Minimum İnhibitör Konsantrasyon
MHA	: Mueller Hinton Agar
MHB	: Mueller Hinton Broth
MRSA	: Metisilin Dirençli <i>Staphylococcus aureus</i>
MSCRAMM	: Yapışkan Matris Moleküllerini Tanıyan Mikrobiyal Yüzey Bileşenleri
MSSA	: Metisilin Duyarlı <i>Staphylococcus aureus</i>
MtP	: Mikrotitre Plak

OD	: Optik Dansite
PBS	: Fosfat Tamponu
PIA	: Polisakkarit Intraselüler Adezin
PNAG	: Poli- β -1,6- N-Asetil Glukozamin
SD	: Standart Sapma
UV	: Ultraviyole
PZR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu



SEMBOLLER

°C	: Santigrat Derece
cfu	: Colony Forming Unit
Dk	: Dakika
G	: Gravite
gr	: Gram
L	: Litre
mg	: Miligram
mL	: Mililitre
mm	: Milimetre
mM	: Milimolar
NaCl	: Sodyum Klorür
ng	: Nanogram
µg	: Mikrogram
nm	: Nanometre
OD	: Optik Dansite
P	: Anlamlılık
Sn	: Saniye
µM	: Mikromolar
µL	: Mikrolitre
β	: Beta
Σ	: Epsilon

TABLO LİSTESİ

Tablo 3.1. Kalitatif GZ-PZR Metodunda Kullanılan Primerler.....	13
Tablo 3.2. GZ-PZR Reaktifleri.....	14
Tablo 3.3. GZ-PZR Koşulları.....	14
Tablo 3.4. Bakteri İzolatlarının Ürettikleri Biyofilm Miktarının Derecelendirmesi...16	
Tablo 4.1. GZ-PZR ile tespit Edilen Genlerin Sonuçları.....	20
Tablo 4.2. <i>S.aureus</i> İzolatlarında belirlenen MİK ve MBK Değerleri.....	22
Tablo 4.3. Astaksantin ve Oksasilin Ajanlarının MSSA1 İzolatının Büyüme Oranına Etkisi.....	24
Tablo 4.4. Astaksantin ve Oksasilin Ajanlarının MSSA2 İzolatının Büyüme Oranına Etkisi.....	26
Tablo 4.5. Astaksantin ve Oksasilin Ajanlarının MRSA3 İzolatının Büyüme Oranına Etkisi.....	28
Tablo 4.6. Astaksantin ve Oksasilin Ajanlarının MRSA4 İzolatının Büyüme Oranına Etkisi.....	30
Tablo 4.7. Astaksantin ve Oksasilin Ajanlarının MRSA5 İzolatının Büyüme Oranına Etkisi.....	32
Tablo 4.8. Astaksantin ve Ampisilin Ajanlarının MSSA1 İzolatının Büyüme Oranına Etkisi.....	34
Tablo 4.9. Astaksantin ve Ampisilin Ajanlarının MSSA2 İzolatının Büyüme Oranına Etkisi.....	36
Tablo 4.10. Astaksantin ve Ampisilin Ajanlarının MRSA3 İzolatının Büyüme Oranına Etkisi.....	38
Tablo 4.11. Astaksantin ve Ampisilin Ajanlarının MRSA4 İzolatının Büyüme Oranına Etkisi.....	40
Tablo 4.12. Astaksantin ve Ampisilin Ajanlarının MRSA5 İzolatının Büyüme Oranına Etkisi.....	42
Tablo 4.13. Astaksantin ve Penisilin Ajanlarının MSSA1 İzolatının Büyüme Oranına Etkisi.....	44

Tablo 4.14. Astaksantin ve Penisilin Ajanlarının MSSA2 İzolatının Büyüme Oranına Etkisi.....	46
Tablo 4.15. Astaksantin ve Penisilin Ajanlarının MRSA3 İzolatının Büyüme Oranına Etkisi.....	48
Tablo 4.16. Astaksantin ve Penisilin Ajanlarının MRSA4 İzolatının Büyüme Oranına Etkisi.....	50
Tablo 4.17. Astaksantin ve Penisilin Ajanlarının MRSA5 İzolatının Büyüme Oranına Etkisi.....	52
Tablo 4.18. Astaksantin ve Oksasilin Ajanlarının MSSA1 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerindeki Etkisi.....	57
Tablo 4.19. Astaksantin ve Oksasilin Ajanlarının MSSA2 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerindeki Etkisi.....	62
Tablo 4.20. Astaksantin ve Oksasilin Ajanlarının MRSA3 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerindeki Etkisi.....	67
Tablo 4.21. Astaksantin ve Oksasilin Ajanlarının MRSA4 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerindeki Etkisi	72
Tablo 4.22. Astaksantin ve Oksasilin Ajanlarının MRSA5 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerindeki Etkisi.....	76
Tablo 4.23. Astaksantin ve Ampisilin Ajanlarının MSSA1 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerindeki Etkisi.....	80
Tablo 4.24. Astaksantin ve Ampisilin Ajanlarının MSSA2 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerindeki Etkisi.....	84
Tablo 4.25. Astaksantin ve Ampisilin Ajanlarının MRSA3 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerindeki Etkisi.....	88
Tablo 4.26. Astaksantin ve Ampisilin Ajanlarının MRSA4 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerindeki Etkisi.....	93
Tablo 4.27. Astaksantin ve Ampisilin Ajanlarının MRSA5 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerindeki Etkisi.....	98
Tablo 4.28. Astaksantin ve Penisilin Ajanlarının MSSA1 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerindeki Etkisi.....	102
Tablo 4.29. Astaksantin ve Penisilin Ajanlarının MSSA2 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerindeki Etkisi.....	106
Tablo 4.30. Astaksantin ve Penisilin Ajanlarının MRSA3 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerindeki Etkisi.....	110

Tablo 4.31. Astaksantin ve Penisilin Ajanlarının MRSA4 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerindeki Etkisi.....	114
Tablo 4.32. Astaksantin ve Penisilin Ajanlarının MRSA5 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerindeki Etkisi.....	118



ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1. Biyofilm İlişkili Enfeksiyonlar.....	4
Şekil 2.2. Planktonik Bakteriler ve Biyofilm Döngüsü	8
Şekil 2.3. Astaksantin'in yapısı.....	10
Şekil 4.1. Tüp Metod Sonuçları.....	21
Şekil 4.2. Astaksantin ve Oksasilin Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MSSA1 İzolatının Büyüme Oranına Etkisi.....	23
Şekil 4.3. Astaksantin ve Oksasilin Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MSSA2 İzolatının Büyüme Oranına Etkisi.....	25
Şekil 4.4. Astaksantin ve Oksasilin Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA3 İzolatının Büyüme Oranına Etkisi.....	27
Şekil 4.5. Astaksantin ve Oksasilin Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA4 İzolatının Büyüme Oranına Etkisi.....	29
Şekil 4.6. Astaksantin ve Oksasilin Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA5 İzolatının Büyüme Oranına Etkisi.....	31
Şekil 4.7. Astaksantin ve Ampisilin Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MSSA1 İzolatının Büyüme Oranına Etkisi.....	33
Şekil 4.8. Astaksantin ve Ampisilin Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MSSA2 İzolatının Büyüme Oranına Etkisi.....	35
Şekil 4.9. Astaksantin ve Ampisilin Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA3 İzolatının Büyüme Oranına Etkisi.....	37
Şekil 4.10. Astaksantin ve Ampisilin Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA4 İzolatının Büyüme Oranına Etkisi.....	39
Şekil 4.11. Astaksantin ve Ampisilin Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA5 İzolatının Büyüme Oranına Etkisi.. ..	41
Şekil 4.12. Astaksantin ve Penisilin Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MSSA1 İzolatının Büyüme Oranına Etkisi.....	43
Şekil 4.13 Astaksantin ve Penisilin Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MSSA2 İzolatının Büyüme Oranına Etkisi.....	45

Şekil 4.14. Astaksantin ve Penisilin Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA3 İzolatının Büyüme Oranına Etkisi.....	47
Şekil 4.15. Astaksantin ve Penisilin Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA4 İzolatının Büyüme Oranına Etkisi.....	49
Şekil 4.16. Astaksantin ve Penisilin Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA5 İzolatının Büyüme Oranına Etkisi.....	51
Şekil 4.17. Astaksantin ve Oksasilin MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MSSA1 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine Etkisi.....	53
Şekil 4.18. Astaksantin ve Oksasilin 1/2 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MSSA1 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine Etkisi.....	54
Şekil 4.19. Astaksantin ve Oksasilin 1/4 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MSSA1 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine Etkisi.....	54
Şekil 4.20. Astaksantin ve Oksasilin 1/8 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MSSA1 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine Etkisi.....	55
Şekil 4.21. Astaksantin ve Oksasilin 1/16 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MSSA1 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine Etkisi.....	55
Şekil 4.22. Astaksantin ve Oksasilin 1/32 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MSSA1 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine Etkisi.....	56
Şekil 4.23. Astaksantin ve Oksasilin MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MSSA2 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine Etkisi.....	58
Şekil 4.24. Astaksantin ve Oksasilin 1/2 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MSSA2 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine Etkisi.....	59
Şekil 4.25. Astaksantin ve Oksasilin 1/4 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MSSA2 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine Etkisi.....	59
Şekil 4.26. Astaksantin ve Oksasilin 1/8 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MSSA2 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine Etkisi.....	60
Şekil 4.27. Astaksantin ve Oksasilin 1/16 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MSSA2 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine Etkisi.....	60
Şekil 4.28. Astaksantin ve Oksasilin 1/32 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MSSA2 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine Etkisi.....	61
Şekil 4.29. Astaksantin ve Oksasilin MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA3 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine Etkisi.....	63
Şekil 4.30. Astaksantin ve Oksasilin 1/2 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA3 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine Etkisi.....	63

- Şekil 4.31.** Astaksantin ve Oksasilin 1/4 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA3 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine Etkisi.....64
- Şekil 4.32.** Astaksantin ve Oksasilin 1/8 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA3 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine Etkisi.....65
- Şekil 4.33.** Astaksantin ve Oksasilin 1/16 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA3 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine Etkisi.....65
- Şekil 4.34.** Astaksantin ve Oksasilin 1/32 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA3 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine Etkisi.....66
- Şekil 4.35.** Astaksantin ve Oksasilin MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA4 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine Etkisi.....68
- Şekil 4.36.** Astaksantin ve Oksasilin 1/2 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA4 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine Etkisi.....69
- Şekil 4.37.** Astaksantin ve Oksasilin 1/4 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA4 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine Etkisi.....69
- Şekil 4.38.** Astaksantin ve Oksasilin 1/8 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA4 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine Etkisi.....70
- Şekil 4.39.** Astaksantin ve Oksasilin 1/16 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA4 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine Etkisi.....70
- Şekil 4.40.** Astaksantin ve Oksasilin 1/32 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA4 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine Etkisi.....71
- Şekil 4.41.** Astaksantin ve Oksasilin MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA5 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine Etkisi.....73
- Şekil 4.42.** Astaksantin ve Oksasilin 1/2 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA5 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine Etkisi.....73
- Şekil 4.43.** Astaksantin ve Oksasilin 1/4 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA5 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine Etkisi.....74
- Şekil 4.44.** Astaksantin ve Oksasilin 1/8 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA5 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine Etkisi.....74
- Şekil 4.45.** Astaksantin ve Oksasilin 1/16 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA5 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine Etkisi.....75
- Şekil 4.46.** Astaksantin ve Oksasilin 1/32 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA5 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine Etkisi.....75
- Şekil 4.47.** Astaksantin ve Ampisilin MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MSSA1 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine Etkisi.....77

Şekil 4.48. Astaksantin ve Ampisilin 1/2 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MSSA1 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine Etkisi.....	77
Şekil 4.49. Astaksantin ve Ampisilin 1/4 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MSSA1 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine Etkisi.....	78
Şekil 4.50. Astaksantin ve Ampisilin 1/8 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MSSA1 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine Etkisi.....	78
Şekil 4.51. Astaksantin ve Ampisilin 1/16 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MSSA1 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine Etkisi.....	79
Şekil 4.52. Astaksantin ve Ampisilin 1/32 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MSSA1 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine Etkisi.....	79
Şekil 4.53. Astaksantin ve Ampisilin MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MSSA2 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine Etkisi.....	81
Şekil 4.54. Astaksantin ve Ampisilin 1/2 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MSSA2 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine Etkisi.....	81
Şekil 4.55. Astaksantin ve Ampisilin 1/4 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MSSA2 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine Etkisi.....	82
Şekil 4.56. Astaksantin ve Ampisilin 1/8 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MSSA2 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine Etkisi.....	82
Şekil 4.57. Astaksantin ve Ampisilin 1/16 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MSSA2 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine Etkisi.....	83
Şekil 4.58. Astaksantin ve Ampisilin 1/32 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MSSA2 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine Etkisi.....	83
Şekil 4.59. Astaksantin ve Ampisilin MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA3 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine Etkisi.....	85
Şekil 4.60. Astaksantin ve Ampisilin 1/2 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA3 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine Etkisi.....	85
Şekil 4.61. Astaksantin ve Ampisilin 1/4 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA3 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine Etkisi.....	86
Şekil 4.62. Astaksantin ve Ampisilin 1/8 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA3 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine Etkisi.....	86
Şekil 4.63. Astaksantin ve Ampisilin 1/16 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA3 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine Etkisi.....	87
Şekil 4.64. Astaksantin ve Ampisilin 1/32 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA3 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine Etkisi.....	87

Şekil 4.65. Astaksantin ve Ampisilin MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA4 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine Etkisi.....	89
Şekil 4.66. Astaksantin ve Ampisilin 1/2 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA4 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine Etkisi.....	89
Şekil 4.67. Astaksantin ve Ampisilin 1/4 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA4 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine Etkisi.....	90
Şekil 4.68. Astaksantin ve Ampisilin 1/8 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA4 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine Etkisi.....	91
Şekil 4.69. Astaksantin ve Ampisilin 1/16 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA4 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine Etkisi.....	91
Şekil 4.70. Astaksantin ve Ampisilin 1/32 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA4 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine Etkisi.....	92
Şekil 4.71. Astaksantin ve Ampisilin MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA5 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine Etkisi.....	94
Şekil 4.72. Astaksantin ve Ampisilin 1/2 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA5 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine Etkisi.....	95
Şekil 4.73. Astaksantin ve Ampisilin 1/4 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA5 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine Etkisi.....	95
Şekil 4.74. Astaksantin ve Ampisilin 1/8 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA5 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine Etkisi.....	96
Şekil 4.75. Astaksantin ve Ampisilin 1/16 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA5 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine Etkisi.....	96
Şekil 4.76. Astaksantin ve Ampisilin 1/32 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA5 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine Etkisi.....	97
Şekil 4.77. Astaksantin ve Penisilin MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MSSA1 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine Etkisi.....	99
Şekil 4.78. Astaksantin ve Penisilin 1/2 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MSSA1 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine Etkisi.....	99
Şekil 4.79. Astaksantin ve Penisilin 1/4 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MSSA1 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine Etkisi.....	100
Şekil 4.80. Astaksantin ve Penisilin 1/8 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MSSA1 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine Etkisi.....	100
Şekil 4.81. Astaksantin ve Penisilin 1/16 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MSSA1 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine Etkisi.....	101

Şekil 4.82. Astaksantin ve Penisilin 1/32 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MSSA1 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine Etkisi.....	101
Şekil 4.83. Astaksantin ve Penisilin MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MSSA2 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine Etkisi.....	103
Şekil 4.84. Astaksantin ve Penisilin 1/2 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MSSA2 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine Etkisi.....	103
Şekil 4.85. Astaksantin ve Penisilin 1/4 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MSSA2 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine Etkisi.....	104
Şekil 4.86. Astaksantin ve Penisilin 1/8 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MSSA2 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine Etkisi.....	104
Şekil 4.87. Astaksantin ve Penisilin 1/16 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MSSA2 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine Etkisi.....	105
Şekil 4.88. Astaksantin ve Penisilin 1/32 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MSSA2 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine Etkisi.....	105
Şekil 4.89. Astaksantin ve Penisilin MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA3 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine Etkisi.....	107
Şekil 4.90. Astaksantin ve Penisilin 1/2 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA3 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine Etkisi.....	107
Şekil 4.91. Astaksantin ve Penisilin 1/4 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA3 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine Etkisi.....	108
Şekil 4.92. Astaksantin ve Penisilin 1/8 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA3 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine Etkisi.....	108
Şekil 4.93. Astaksantin ve Penisilin 1/16 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA3 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine Etkisi.....	109
Şekil 4.94. Astaksantin ve Penisilin 1/32 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA3 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine Etkisi.....	109
Şekil 4.95. Astaksantin ve Penisilin MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA4 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine Etkisi.....	111
Şekil 4.96. Astaksantin ve Penisilin 1/2 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA4 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine Etkisi.....	111
Şekil 4.97. Astaksantin ve Penisilin 1/4 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA4 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine Etkisi.....	112
Şekil 4.98. Astaksantin ve Penisilin 1/8 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA4 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine Etkisi.....	112

- Şekil 4.99.** Astaksantin ve Penisilin 1/16 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA4 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine Etkisi.....**113**
- Şekil 4.100.** Astaksantin ve Penisilin 1/32 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA4 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine Etkisi.....**113**
- Şekil 4.101.** Astaksantin ve Penisilin MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA5 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine Etkisi.....**115**
- Şekil 4.102.** Astaksantin ve Penisilin 1/2 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA5 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine Etkisi.....**115**
- Şekil 4.103.** Astaksantin ve Penisilin 1/4 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA5 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine Etkisi.....**116**
- Şekil 4.104.** Astaksantin ve Penisilin 1/8 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA5 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine Etkisi.....**116**
- Şekil 4.105.** Astaksantin ve Penisilin 1/16 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA5 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine Etkisi.....**117**
- Şekil 4.106.** Astaksantin ve Penisilin 1/32 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA5 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine Etkisi.....**117**

ÖZET

***Staphylococcus aureus* İZOLATLARININ β -LAKTAM GRUBU ANTİBİYOTİKLERE KARŞI DUYARLILIKLARININ ASTAKSANTİN İLE ARTTIRILMASI**

Gram pozitif bakteri olan *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), tipik olarak deri yüzeyinde ve nazofarenkslerde kolonize olmaktadır. Doğrudan temas yoluyla bulaşan *S. aureus* sağlıklı bir cildi enfekte etmez fakat dokulara veya kan dolaşımına girdiğinde çok ciddi enfeksiyonlara sebep olabilmektedir. Biyofilm üretme yeteneğinden dolayı tedavisi zor olan bu bakterilerin neden olduğu enfeksiyonların mortalite ve morbiditesi yüksektir. 1928 yılında A. Fleming tarafından penisilinin bulunmasıyla stafilokokal enfeksiyonlarda kullanılmasından kısa bir süre sonra stafilokokların penisilinaz üretmesiyle beraber tedavide farklı antibiyotikler kullanılmaya başlanmıştır. Metisilinin kullanılmasıyla kısa süre içerisinde metisiline de direnç gösteren *S. aureus* (MRSA) suşları ortaya çıkmış ve bu durum ciddi bir sağlık sorunu haline gelmiştir.

Özellikle MRSA gibi çoklu ilaç direncine sahip olan ve biyofilm üreten suşlarda antibiyotik tedavisinin gittikçe zorlaşmasından dolayı yeni antimikrobiyal ajan ve kombinasyonlarına ihtiyaç duyulmaktadır.

Yapılan bu çalışmada, biyofilm üreten *S. aureus* izolatları üzerinde β -Laktam grubu antibiyotikler ile Astaksantin'in çeşitli doz kombinasyonları ile antibakteriyal ve antibiyofilm etkileri tespit edilmiştir.

Biyofilm üreten *S. aureus* izolatlarının, çoğu antibiyotiklere karşı direnç gösterdiğinden, biyofilm yapılarını inhibe etmek yüksek antibiyotik dozu gerektirdiğinden, çeşitli dozlardaki β -Laktam grubu antibiyotiklerin astaksantin kombinasyonları ile antimikrobiyal ve antibiyofilm duyarlılıkları artırılması amaçlanmıştır. Bu çalışmada biyofilm oluşturan MRSA ve MSSA izolatlarında *mecA* ve *nuc* genlerinin varlığı tespit edilip, izolatlar üzerindeki Astaksantin'in etkili olduğu dozlar ve β -laktam antibiyotiklerin minimum inhibitör konsantrasyonları (MİK), minimum bakterisidal konsantrasyonları (MBK) belirlenerek kombinasyonların planktonik bakteriler üzerindeki etkilerini gözlemek amacıyla Checkerboard

metodu uyarlanarak kullanılmıştır. Astaksantin ile β -laktam antibiyotiklerin kombinasyonlarının, izolatların biyofilm üzerindeki etkisini ölçmek için MtP yöntemi kullanılmıştır. Ajanların kombinasyon uygulamalarının biyofilm oluşumunu etkilediği gözlemlenmiştir.

Çalışmamızın sonuçları incelendiğinde Astaksantin'in belirli dozlarda, antibiyotik duyarlılıklarını artırdığından ve antibiyotik direncini duyarlı hale getirdiği görülmüş olup, biyofilm üretiminde MSSA'larda antibiyotiklerin MİK dozlarını 32 kata kadar indirirken; MRSA'larda MİK dozlarını 2 ile 32 kat arasında düşürmeyi başarmıştır. Bu sonuca bakılarak, Astaksantin ile β -laktam antibiyotiklerin kombinasyon uygulamaları özellikle MRSA kaynaklı biyofilm enfeksiyonları için tedavi opsiyonu olarak düşünülebilir.

Anahtar Kelimeler : *Biyofilm, MRSA, MSSA, Antibiyotik Direnci, Astaksantin.*

ABSTRACT

INCREASING THE SENSITIVITY OF *Staphylococcus aureus* ISOLATES TO β -LACTAM GROUP ANTIBIOTICS WITH ASTAXANTHIN

Staphylococcus aureus (*S. aureus*), a Gram-positive bacteria, typically colonizes the skin surface and nasopharynx. *S. aureus* which transmits through direct contact does not infect healthy skin, but when it enters tissues or the bloodstream, it can cause very serious infections.

Due to its ability to produce biofilms, it is difficult to treat, resulting in high mortality and morbidity. In 1928, penicillin was discovered by A. Fleming and started to be used in staphylococcal infections, but after a short time, resistance began to develop as staphylococci produced penicillinase. With the use of methicillin after penicillin, *S. aureus* strains that are also resistant to methicillin (MRSA) emerged in a short period of time and this situation has become a serious health problem.

New antimicrobial agents and combinations are needed due to the increasing difficulty of antibiotic treatment, especially in multi-drug resistant and biofilm producing strains such as MRSA.

In this study, antibacterial and antibiofilm effects of various dose combinations of β -Lactam group antibiotics and Astaxanthin on biofilm producing *S. aureus* isolates were determined.

Since biofilm-producing *S. aureus* isolates develop resistance to most antibiotics and inhibiting biofilm structures requires high doses of antibiotics, it was aimed to increase the antimicrobial and antibiofilm susceptibility of biofilm-producing *S. aureus* isolates by combining various doses of β -Lactam group antibiotics with astaxanthin. In this study, the presence of *mecA* and *nuc* genes in biofilm-forming MRSA and MSSA isolates were determined, the doses at which Astaxanthin was effective on the isolates and the minimum inhibitory concentrations (MIC) and minimum bactericidal concentrations (MBC) of β -lactam antibiotics were determined and the Checkerboard method was adapted and used to observe the effects of the combinations on planktonic bacteria. MtP method was used to measure the antibiofilm

effect of combinations of astaxanthin and β -lactam antibiotics. It was observed that the combination of the agents affected the biofilm formation.

When the results of our study were examined, it was observed that Astaxanthin, at certain doses, increased antibiotic susceptibility and sensitized antibiotic resistance, decreased the MIC doses of antibiotics up to 32-fold in MSSAs in biofilm production, and decreased the MIC doses between 2 and 32-fold in MRSA. Based on this result, the combination of astaxanthin and β -lactam antibiotics can be considered as a treatment option especially for MRSA-induced biofilm infections.

Keywords : *Biofilm, MRSA, MSSA, Antibiotic Resistance, Astaxanthin.*



1. GİRİŞ

Staphylococcus aureus (*S. aureus*), Gram (+) bakteridir ve tipik olarak deri yüzeyinde ve nazofarenkslerde kolonize olmaktadır. Doğrudan temas yoluyla bulaşan *S. aureus* sağlıklı bir cildi enfekte etmez fakat dokulara veya kan dolaşımına girdiğinde çok ciddi enfeksiyonlara sebep olabilmektedir. Deri ve yumuşak doku enfeksiyonları, endokardit, osteomyelit, septik artrit, bakteriyemi ve ölümcül pnömoni gibi çeşitli hastalıkları tetikleyebilmektedir (Bhattacharya ve ark., 2015; Lee ve ark., 2018; Kırmusaoğlu, 2016; Guo ve ark., 2020).

Penisilin bulunması sonucu stafilokok kaynaklı enfeksiyonların tedavileri için penisilin kullanımı başlamıştır fakat yaygın ve bilinçsiz kullanım nedeniyle penisilin dirençli *S. aureus* suşları görülmüştür. Daha sonra bilim insanları Metisilin adı verilen penisilinaz-dirençli yarı sentetik penisilin'i üreterek tedavide kullanıma sürmüştür. Fakat ilerleyen zamanlarda Metisilin dirençli *S. aureus* (MRSA) suşları ortaya çıkmıştır ve oluşan bu dirençler tedaviyi güçleştirmektedir (Guo ve ark., 2020).

Biyofilm, biyotik veya abiyotik yüzeylere tutunmuş, içinde mikroorganizma bulunduran, yapışkan benzeri glikokaliks yapısına sahip sessil bir multimikrobiyal topluluktur (Miquel ve ark., 2016; Kırmusaoğlu, 2017). Biyofilm içindeki bakteriler fizyolojik olarak planktonik bakterilerden farklı olarak sıcaklık değişimlerine, besin yokluğu gibi çeşitli zorlu koşullara ve daha da önemlisi antibiyotikler gibi tedavi seçeneklerine toleranslı haldedirler (Idrees ve ark., 2021; Zhang ve ark. 2022). Metisilin direnci ve ek olarak *S. aureus*'un biyofilm oluşturma yeteneği sebebiyle tedavisi daha zordur ve bunun sonucu olarak morbiditesi ve mortalitesi yüksektir (Kırmusaoğlu, 2017). Bu durumun önüne geçilebilmesi için stafilokokların biyofilm regülasyonunun moleküler düzeyde iyi anlaşılması önemlidir.

Biyofilm üreten *S. aureus*, ekstrasellüler polimerik madde (EPS) adı verilen karakteristik bir matrikse sahiptir. EPS, polisakaritlerden, teikoik asit, hücre dışı DNA (eDNA) ve stafilokokal protein matriksten oluşur. Biyofilm oluşturmak için iki mekanizma bulunmaktadır. Polisakarit hücre içi adhezin (PIA), *S. aureus* biyofilm oluşumunun ana mekanizması olup, yüzey proteinleri ile de biyofilm oluşturabilmektedir. PIA-bağımlı biyofilm oluşumu *ica*ABCD lokusunu içermektedir.

icaA ve *icaD* ekzopolisakkaritlerin sentezinde sorumlu ana genlerdir. PIA-bağımsız biyofilm oluşumu ise yüzey proteinlerini içerir. Bunlardan bazıları biyofilm-ilişkili protein (Bap), fibronektin bağlayıcı proteinler *fnbpA* ve *fnbpB*, kümelenme faktörleri *clfA* ve *clfB*'dir (Kırmusaoğlu, 2016; Idrees ve ark., 2021).

Biyofilm üreten *S. aureus* izolatlarının antibiyotik dirençleri yüksek olduğundan yapılan bu çalışmada Astaksantin ve β -laktamların ve bu ajanların kombinasyonlarının bakterilerin β -laktamlara karşı duyarlılıklarının artırılması, infeksiyonun ilerlemesinde rolü olan biyofilm regülasyonu üzerindeki etkilerinin mikrobiyolojik ve biyokimyasal metotlar gibi genotipik ve fenotipik deneylerle araştırılması amaçlanmıştır.



2. GENEL BİLGİLER

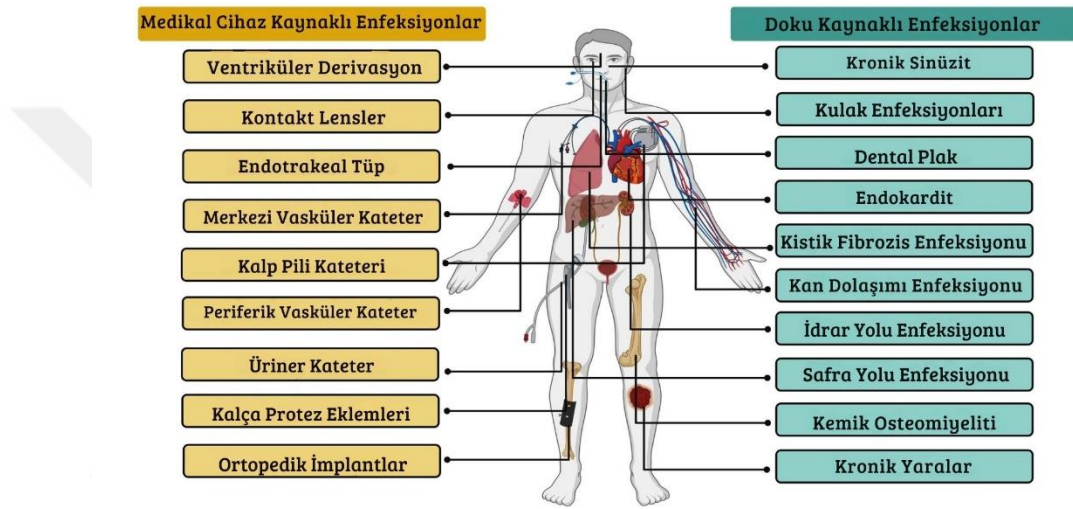
2.1. Stafilokok Epidemiyolojisi

Stafilokok bakterileri ilk defa İskoçyalı cerrah olan Alexander Ogston tarafından 1880 yılında enfekte bölgeden alınan irinden izole edilmiştir. Stafilokoklar mikroskopla incelendiklerinde üzüm salkımları halinde, yuvarlak ve mor şekilde gözlemlendikleri için ismi staphyle (üzüm salkımı) ve kok (dut) kelimelerinden türetilmiştir (Licitra, 2013). 1886'da Alman cerrah Anton J. Rosenbach, iki Stafilokok suşu saf kültürden izole edilmiştir ve bunlardan biri *S. aureus*'tur (Grace ve Fetsch, 2018). Penisilin 1928 yılında Alexander Fleming tarafından bulunmasından sonra stafilokokal enfeksiyonların tedavileri için penisilin kullanımı başlamıştır fakat yaygın ve bilinçsiz kullanım nedeniyle penisilin dirençli *S. aureus* suşları görülmüştür. Bu direncin nedeni penisilinde bulunan β -laktam halkasını parçalayabilen dirençli *S. aureus* suşlarının ürettiği β -laktamaz enzimidir. Daha sonra bilim insanları Metisilin adı verilen penisilinaz-dirençli yarı sentetik penisilin'i üreterek tedavide kullanıma sürmüştür. Fakat ilerleyen zamanlarda Metisilin dirençli *S. aureus* (MRSA) suşları ortaya çıkmıştır. (Guo ve ark., 2020). Sonuç olarak *S. aureus*'un neden olduğu enfeksiyonları tedavi etmek için Penisilin ve Metisilin gibi β -laktam grubu antibiyotiklerin kullanımı, bakterilerin β -laktamaz enzimi üretebilmeleri nedeniyle tehlikeye girmiştir (Foster, 2018).

2.1.1. Stafilokok Biyofilmlerinin Tıbbi ve Epidemiyolojik Yönden Önemi

Stafilokoklar yaygın bir patojen türüdür ve gıdaların yüzeylerinde, hayvan ve insan derilerinde yaygın olarak bulunur. Stafilokoklar, Koagülaz Negatif Stafilokoklar (KNS) ve Koagülaz Pozitif Stafilokoklar (KPS) olarak ikiye ayrılır. Koagülaz, kan plazmasında bulunan fibrinojenin fibrine dönüşmesini katalizleyerek kanın pıhtılaşmasına neden olan enzimdir ve bakterinin patogeneğinde rol oynar. (Plata ve ark., 2019; Zhou ve ark., 2022). KNS'nin neden olduğu enfeksiyonlara klinikte nadir rastlanmaktadır. KNS'ler *S. aureus*'a göre daha az virülans özelliği taşımaktadır (Becker ve ark., 2014).

Gram-pozitif bir kok olan *S. aureus*, koagülaz ve katalaz enzimi üreten kommensal bir bakteridir ve sağlıklı bireylerde nazal boşlukta kolonize olmaktadır. Bireylerin bağışıklık sistemi baskılandığında veya kutanöz ve mukozal bariyerler bozulduğunda apse, impetigo gibi deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarına; ameliyat veya yaralanmalar yoluyla kan dolaşımına girdiklerinde endokardit, osteomyelit, septik artrit, bakteriyemi ve ölümcül pnömoni gibi çeşitli hastalıkları tetikleyebilmektedir (Archer ve ark., 2011; Bhattacharya ve ark., 2015; Kırmusaoğlu, 2017; Guo ve ark., 2020).



Şekil 2.1. Biyofilm İlişkili Enfeksiyonlar

Kaynak : Srinivasan ve ark., 2021.

S. aureus'un patogenezi etkileyen en önemli faktör biyofilm oluşturabilme yeteneğidir. Biyofilm mikroorganizmalara olumsuz çevre şartlarına, antimikrobiyal ajanlara karşı direnç kazandırarak tekrarlayan ve tedavi edilemeyen enfeksiyonlara neden olur (Shukla ve Rao, 2017; Kırmusaoğlu & Kaşıkçı, 2020). Mikroorganizmalar biyotik ve abiyotik yüzeylere tutunarak ekstraselüler polimerik madde (EPS) üretirler böylece biyofilm oluşturabilirler (Bashir ve ark., 2019). Biyofilm ilişkili enfeksiyonlar hastanede yatan ve bağışık sistemi baskılanmış bireylerde önemli bir sorundur. *S. aureus*'un biyofilm ilişkili enfeksiyonları doku-kaynaklı ve medikal cihaz-kaynaklı olarak ikiye ayrılmaktadır. Birincil endişe alanı medikal cihaz-kaynaklı biyofilm ilişkili enfeksiyonlardır. Hastanelerde cerrahi vasküler greftlerin, tıbbi implantların ve protezlerin kullanımının artması sonucu medikal cihaz-kaynaklı biyofilm ilişkili

enfeksiyonlarda artış görülmüştür ve *S. aureus* bu enfeksiyonların büyük bir kısmından sorumludur (O'gara & Humphreys, 2001; Bhattacharya ve ark., 2015).

2.1.2. Stafilokok Biyofilmlerin Patogenezi

Biyofilm oluşturma yeteneği stafilokokların enfeksiyonlarının ana nedenidir. Nazal boşluklar *S. aureus*'un birincil kolonizasyon bölgesidir fakat deride ve dolaşıma girdiğinde akciğer gibi organlardan da kolonize olabilmektedir. Genellikle asemptomatik kolonize olan *S. aureus* kalıcı tıbbi cihazların kontaminasyonu ve diğer enfekte bireylerle temas halinde ciddi enfeksiyonlara sebep olmaktadır (Cheung ve ark., 2021). Bu durumun ana nedeni planktonik bakterilerin konak hücreleri gibi biyotik yüzeylere veya tıbbi cihazlar gibi abiyotik yüzeylere tutunarak, yüzey proteinleri ve ekstraselüler matriksinde bulunan polisakkaritler (ekzopolisakkaritler) yardımıyla kolonize olup biyofilm oluşturmalarıdır (Kırmusaoğlu & Kaşıkçı, 2020). Bu şekilde, daha önce bahsedilen enfeksiyonların yanı sıra idrar yolu, alt solunum yolu, cerrahi alan enfeksiyonlarına ve bakteriyemiye de neden olurlar (Miquel ve ark., 2016). Günümüzde vasküler ve idrar sondaları, protezler, yapay kalp kapakçıkları gibi hastaya implante edilen tıbbi cihazların kullanımındaki artışla beraber biyofilm-ilişkili enfeksiyonların görülme oranında da paralel olarak ciddi artış görülmüştür (Bhattacharya ve ark., 2015).

Oluşan biyofilmler ciddi sorunlara yol açmaktadır çünkü biyofilm içerisinde bulunan bakteriler antimikrobiyal ajanlara, konakçının immün sistemi tepkisine, stres koşullarına doğal olarak dirençlidir (Miquel ve ark., 2016; Hawas ve ark., 2022). Biyofilmlerin oluşturduğu bu dirençten biyofilmi oluşturan mikrobiyal popülasyon ve mikrobiyal popülasyonun yoğunluğu, biyofilmin yapısı gibi birçok faktör sorumludur. Biyofilm içindeki bakteriler metabolizmasında, gen ekspresyonlarında ve protein üretiminde değişiklikler göstererek çevresel koşullara uyum sağlarlar. Bundan dolayı planktonik bakterilere göre metabolizma hızları daha yavaştır. Biyofilm içindeki bakterilerde oluşan bu çevreye adaptasyonları sonucu β -laktamlar ve kinolonlar gibi hedefleri metabolik yollar olan antimikrobiyal ajanlara karşı direnç gösterirler. Biyofilm enfeksiyonu sırasında konakçının bağışıklık tepkileri biyofilm patojenini ortadan kaldıramaz aksine doku hasarını hızlandırır (Miquel ve ark., 2016; Vestby ve ark., 2020).

Planktonik bakterilerin yanı sıra biyofilm içinde düşük bir yüzde de olsa persister hücreler bulunabilmektedir. Persister hücreler biyofilmin oksijenle temas etmeyen ve besine minimum ulaşımı olan hücrelerdir. Bu hücrelerin varlığı biyofilm oluşumunu arttırdığı gibi ilaçlara direnci de artırır (Miquel ve ark., 2016).

Sonuç olarak biyofilm ilişkili enfeksiyonlar tipik olarak yavaş gelişen ve günümüzde en ciddi klinik zorluk olarak görülmektedir (Vestby ve ark., 2020; Hawas ve ark., 2022).

2.2 Stafilokok Biyofilmleri ve Virülans Faktörleri

Biyofilmlerin tespit edilmesinden bu yana birçok klinik enfeksiyonda rol aldığı görülmektedir. Bakteriyel biyofilmler, planktonik bakterilerin bir araya gelerek abiyotik/biyotik bir yüzeylere veya birbirlerine tutunarak kendi ürettikleri matriksin içine gömülü olduğu üç boyutlu, jelimsi, dirençli karmaşık yapılardır (Vestby ve ark., 2020; Hawas ve ark., 2022). Bakterilerin biyofilm oluşturabilme özelliği virülans faktörlerinin en önemlisi olarak kabul edilmektedir. Bu virülans faktörü patojenleri sıcaklık değişimlerine, besinsizliğe, dehidrasyona, konakçının bağışıklık sistemine ve terapötik ilaçlara karşı korur. (Gowrishankar ve ark., 2016; Idrees ve ark., 2021).

Biyofilmler, EPS ve mikrokolonilerden oluşmaktadır. *S. aureus*'un EPS içeriği dirençte rol oynayan ekstraselüler DNA (eDNA), teikoik asitler, polisakkaritler ve yüzey proteinleri gibi polimerik maddelerden oluşur. Aynı zamanda antibiyotikleri degrades eden β -laktamazlar gibi enzimleri depolayan kanallar da bulundurmaktadır. (Kırmusaoğlu, 2017; Idrees ve ark., 2021). *S. aureus* EPS'nin ana bileşeni polisakkarit hücre içi adezinlerdir (PIA) ve kimyasal içerikleri nedeniyle poli- β (1-6)-N-asetilglukozamin (PNAG) adı verilmiştir. PIA'lar kolonizasyon, antimikrobiyallere karşı direnç geliştirme, biyofilm oluşumu, biyofilm-ilişkili enfeksiyonlar ve konak bağışıklığından kaçınma gibi birçok önemli rol oynar (Idrees ve ark., 2021).

S. aureus'ta biyofilm oluşumu iki şekilde gerçekleşir. Temel mekanizma PIA bağımlı biyofilm oluşumudur. PIA bağımsız olan ikinci mekanizma ise yüzey proteinleri yardımıyla biyofilm oluşturur (Kırmusaoğlu & Kaşıkçı, 2020).

2.2.1 PIA Bağımlı Biyofilm Oluşumu

Stafilokokların biyotik veya abiyotik yüzeylere adezyonundan sonra sentezledikleri PIA *icaADBC* lokusu tarafından kontrol edilir. *icaADBC* lokusu *icaA*, *icaD*, *icaB* ve *icaC* genlerinden oluşmaktadır. Sentezledikleri PIA'nın işlevselliği için

dört geninde ekspresyonu gereklidir. *icaA*, PIA oligomerlerini sentezleyen bir N-asetilglukozaminiltransferazdır ve transferaz aktivitesini *icaD* varlığında yüksek etkinlikte gerçekleştirir. *icaA* ve *icaD* plazma transmembranlarında bulunur. *icaC* büyüyen PIA polipeptid zincirini membranın dış yüzeyine transferinde görevlidir. Membran yüzündeyinde bulunan *icaB* ise membranın dış yüzeyine transfer edilen PIA'ya katyonik yük ekleyerek polimerin bakteri yüzeyine bağlanmasını sağlar (Nguyen ve ark., 2020).

2.2.2 PIA Bağımsız Biyofilm Oluşumu

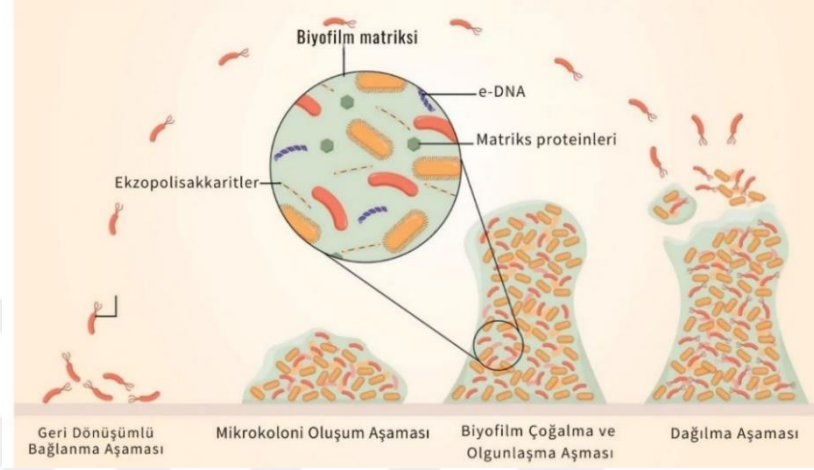
PIA bağımlı biyofilm oluşumu, biyofilm oluşumu için temel mekanizma olarak kabul görülse de yapılan çalışmalarda *ica* lokusu bulunmayan ve/veya *ica* lokusu kaybolduktan sonra bile bazı *S. aureus* suşlarının biyofilm üretimine devam ettiği gözlemlenmiş bunun sonucunda PIA bağımsız biyofilm oluşumu gerçekleştiği saptanmıştır. Bunun sonucunda stafilokoklarda *ica*'dan bağımsız biyofilm oluşumu, biyofilm oluşumu ile hücre duvarıyla ilişkili proteinler, özellikle de Bap, Aap ve Bap-homolog proteini arasında güçlü bir bağlantı olduğunu göstermiştir (O'Gara, 2007; Shukla & Rao, 2017).

Stafilokoklarda bulunan PIA bağımsız biyofilm oluşumu e-DNA'ya ve yüzey proteinlerine dayanmaktadır. Biyofilm gelişimi fibrinojen, fibronektin ve kolajen gibi hücre dışı matrisle bağlanmasıyla başlar. Fibrinojen/fibronektin bağlayıcı proteinler FnbpA ve FnbpB, kümelenme faktörleri ClfA ve ClfB gibi Yapışkan Matris Moleküllerini Tanıyan Mikrobiyal Yüzey Bileşenleri (MSCRAMM'ler) biyofilm oluşumunda önemli role sahip adezinlerdir. e-DNA biyofilm için yapısal destek sağlar ve hücreden hücreye/hücreden yüzeye yapışmada rol oynamaktadır (Rosenthal ve ark., 2014).

2.3 Biyofilm Oluşum Aşamaları

Biyofilm oluşumu, Stafilokok'ların biyotik veya abiyotik yüzeylere yapışarak PIA-bağımlı veya PIA bağımsız şekilde bağlanarak mikrokoloniler şeklinde çoğalması ile başlar (Idrees ve ark., 2021). Çoğalmayla beraber koloni içerisinde bulunan bakteriler ekstraselüler polimerik madde (EPS) üreterek tamamen olgunlaşmış bir biyofilm oluşturur. Belirli bir hücre yoğunluğuna ulaşıldığında, ekstraselüler matris yapısının bozularak biyofilm içindeki bakterilerin serbest kalması ve distal bölgelerde kolonize olmak üzere bozunması için bir mekanizma tetiklenir. Böylece biyofilm içine

gömülmüş bakteriler serbest kalarak distal bölgelerde biyofilm gelişimini yeniden başlatır. Bu şekilde bakteriler bir konak içerisinde kolaylıkla yayılırlar. *S. aureus* biyofilm gelişimi; (1) adhezyon aşaması, (2) çoğalma/olgunlaşma aşaması, (3) dağılma aşaması olmak üzere üç temel aşamada gerçekleşmektedir (Şekil 2.2) (Moormeier & Bayles, 2017; Kırmusaoğlu, 2016).



Şekil 2.2. Planktonik bakteriler ve biyofilm döngüsü.

Kaynak : Barker, 2023.

2.3.1 Adhezyon Aşaması

Ortam koşulları biyofilm oluşturmak için elverişli olduğunda planktonik *S. aureus*'lar adhezyon için biyotik veya abiyotik yüzeylere çeşitli hücre duvarına bağlı (CWA) proteinleri ve matris bileşenlerini tanıyıp bağlanan mikrobiyal yüzey bileşenleri (MSCRAMM) kullanarak tutunur. Bu tutunma sonucu hücre – hücre adhezyonu ile oluşan agregasyon ile devam eder (Moormeier & Bayles, 2017; Kırmusaoğlu, 2016).

Planktonik *S. aureus*'un abiyotik yüzeylere tutunması hücre duvar teikoik asidi (WTA), lipoteikoik asidi (LTA), biyofilm-ilişkili protein (Bap) , otolizinler AtlA ve AtlE gibi yüzeyde bulunan bileşenlerine bağlıyken; konak hücreleri gibi biyotik yüzeylere tutunması fibrinojen/fibronektin bağlayıcı proteinler FnBPA ve FnBPB ve kümelenme faktörleri clfA ve clfB gibi proteinlerine bağlıdır (Kırmusaoğlu, 2016). Bahsedilen bu CWA proteinler grubunun bir kısmı yapışkan matris moleküllerini tanıyan mikrobiyal yüzey bileşenleridir (MSCRAMM'ler) ve bu proteinler hücre yapışmasını ve erken biyofilm gelişimini başlatmakla ilişkilendirilmişlerdir (Schilcher & Horswill, 2020; Zheng ve ark., 2021). Adhezyon aşaması gerçekleştiğinde biyofilm

oluşması için ‘Quorum sensing’ sisteminden gelecek yanıtı ihtiyaç duyulmaktadır. Quorum sensing (QS), otoindüktör (AI) peptidler adı verilen sinyal moleküllerinin aracılık ettiği bakteriler arasındaki bir iletişim şeklidir ve bakterilerin üretilen hücre dışına sekrete ettiği otoindüktör peptidler belirli bir konsantrasyona ulaştığında, spesifik reseptörlerine bağlanıp, biyofilm gen ifadelerinin indüklenmesine veya baskılanmasına neden olur (Sousa ve ark., 2017). QS’in PSM (Fenolde Çözülen Modülün) peptidlerini düzenleyerek biyofilm yapışmasında, dağılmasında ve çoğalmasında rol oynadığı görülmüştür (Moormeier & Bayles, 2018).

2.3.2 Çoğalma/Olgunlaşma Aşaması

Bağlanmanın ardından, stafilokokal biyofilm ekzopolisakkarit polisakkarit hücreler arası adezin (PIA), teikoik asitler, proteinler ve eDNA’dan oluşan bir hücre dışı matrisin üretilmesiyle biyofilmin çoğalması ve olgunlaşması gerçekleşir. Bu aşamada, biyofilmin daha derin katmanlarına besin iletimini kolaylaştırmak için kanallar ve mantar şekilli yapılar oluşur (Le ve ark., 2014).

S. aureus biyofilminin çoğalması, göçü ve olgunlaşmasında Aur, Bap, CcpA, icaA ve cidA gibi daha fazla protein veya düzenleyici gen bu süreçlerde yer almaktadır (Zheng ve ark., 2021). PIA bağımlı biyofilm oluşumunda icaADBC operonu ve bu operonun transkibe edilen PIA molekülü sorumludur. PIA bağımsız oluşumda ise ebps, FnbpA, FnbpB, clfA ve clfB gibi çeşitli yüzey proteinleri görev alır (Kırmusaoğlu, 2016).

Bir yüzeye yapıştıktan sonra ve yeterli bir besin kaynağının varlığında, yapışan *S. aureus* hücreleri bölünmeye ve birikmeye başlayacaktır. Bununla birlikte, içine gömülecek bir EPS üretilmeden önce, yeni oluşan yavru hücreler, özellikle sıvı akışıyla ilişkili kesme kuvvetlerinin varlığında, ayrılmaya karşı savunmasızdır. Bu olgunlaşmamış biyofilmin stabilitesini korumak için, *S. aureus* hücrelerinin hücreler arası etkileşimleri stabilize etmeye yardımcı olan çeşitli faktörler ürettiği bilinmektedir. Çoğalma aşaması olarak adlandırdığımız bu hücre bölünmesi ve birikimi zamanıdır (Moormeier & Bayles 2017).

Biyofilmin temel yapısı EPS çeşitli bakterilerin bir araya gelerek mikrokoloniler oluşturması sırasında oluşturulur. Mikrokoloniler oluşuktan sonra, çeşitli genetik düzenlemeler ve dış faktörlerin etkisiyle beraber biyofilm yapısı kalınlaşmaya ve büyümeye devam eder (Peng ve ark.,2023).

2.4.2. Oksasilin (OX)

B- laktam antibiyotik grubundan olan Oksasilinler, penisilin formundadır ve yarı sentetik penisilinaz enzimine dirençlidir. Bakterinin hücre duvarında bulunan penisilin bağlayıcı proteinlere (PBP'ler) bağlanabilme yeteneği olan Oksasilin, peptidoglikan sentezini inhibe eder ve böylece hücrenin lizisine neden olur (Best ve ark., 1974).

S. aureus'un oluşturduğu enfeksiyonlara karşı kullanılmakta olan Oksasiline suşlar zamanla direnç geliştirmiştir. Metisiline dirençli *S. aureus*'larda Oksasilin dirençli olarak kabul edilmektedir (Foster, 2017).

2.4.3. Penisilin (P)

Penisilin 1940'lı yılların başında çeşitli Stafilokokal enfeksiyonların tedavisi için kullanıma başlamasından sonra Penisiline dirençli *S. aureus* suşları görülmeye başlanmıştır. Bunun nedeninin Penisilin'deki β -laktam bağımlı hidrolize eden ve ilacın antibakteriyel aktivitesini yok eden bir β -laktamaz olduğu keşfedilmiştir (Foster, 2017).

Penisilin hücredeki hedefi bifonksiyonel transglükolilaz-transpeptidaz PBP2'dir. Penisilin transpeptidaza bağlanarak onu geri dönüşümsüz olarak inaktif hale getirir ve bu şekilde peptidoglikan tabakasını yıkarken yenisinin oluşumunu da engeller (Chambers & Sachdeva, 2016).

2.4.4. Ampisilin (AM)

Ampisilin, aminopenisilin olarak kabul edilen bir β -laktam antibiyotığıdır ve Penisilin ile aynı çalışma mekanizmasına sahiptir. Penisilin direnci oluşmasından sonra kullanıma sunulan antibiyotiklerden biri olan Ampisilin, PBP'lere bağlanarak peptidoglikan oluşumunu engelleyerek hücrenin bütünlüğünü bozar ve lizise neden olur (Tipper, 1979).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Örneklerin Hazırlanması ve Mikrobiyolojik Analizler

Yapılan bu çalışmada, stoğumuzda bulunan bakterilerden biyofilm oluşturan 1 metisiline duyarlı, 3 metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* izolatları (MSSA2, MRSA3, MRSA4, MRSA5) ve kontrol olarak ATCC 29213 (MSSA1) suşu kullanılmıştır.

Çalışma başlangıcına kadar –80 °C’de (Haier Biomedical) stoklanan örnekler alınarak içerisinde %2 NaCl ve %1 Glikoz bulunan Mueller Hinton Broth (MHB; Merck) büyüme ortamına inokülasyonundan sonra 37 °C’de 24 saat inkübe (NUVE, EN 500) edildi (Saginur ve ark., 2006). İnkübasyon sonunda Mueller Hinton Agar (MHA, Merck) besiyerine pasajlanıp, 37°C’de 24 saat boyunca inkübe edilmiştir. Bu sürenin sonunda üreyen bakterilerin kanlı ve mannitol salt agarda koloni ve mikroskopik morfofijileri incelenerek; mat sarımsı gri renkte ve β-hemoliz oluşturan koloniler, katalaz ve koagülaz enzimleri gibi identifikasyonda kullanılan metotlar uygulandı.

3.2. İzolatlarda Antibiyotik Duyarlılıklarının Belirlenmesi

3.2.1. Stafilokokların Metisilin Direnç Tanısının Konulması

Stafilokokların metisilin dirençleri bulunup bulunmadığını tespit etmek için Kirby-Bauer disk difüzyon metodu kullanıldı (CLSI, 2013). Deneyde kullanılacak bakteri süspansiyonları 0.5 McFarland’a ayarlandı (1.10^8 cfu/mL) (Biosan, DEN-1 Densitometer). Hazırlanan bakteri solüsyonlarının eküvyon çubuğu ile Mueller Hinton Agar besiyerine inokülasyonu sağlandı.

Bakteri inokülasyonu sağlanan MHA besiyerinin yüzeyine 30µg sefoksitin diski (Oxoid) yerleştirilerek, bu kültür bir gün boyunca 37 °C’de inkübe edildi. Sefoksitin diski etrafında oluşan zon çapları 21 mm’e eşit ve küçük ise metisilin dirençli, 22 mm’e eşit ve büyük ise metisilin duyarlı olarak tanımlanmıştır (CLSI,2013).

3.2.2. Stafilokok İzolatlarında β -Laktamaz Varlığının İdentifikasyonu

Stafilokok izolatlarında β -laktamaz varlığının bulunup bulunmadığını tespit etmek için nitrosefin diski (171024N, Oxoid) kullanıldı. Lamın üst kısmına 1 damla deiyozite su konularak suyun üstüne nitrosefin diski yerleştirildi. Daha sonra Stafilokok kolonisi öze ile alınarak disk üzerine yerleştirildi. Diskteki değişikliğin olup olmadığını gözlemlenmesi için 1 saat beklendi. Kırmızı renk alan diskler β -laktamaz pozitif, sarı renkte kalarak renk değiştirmeyen diskler β -laktamaz negatif belirlendi (CLSI, 2013).

3.3. *Staphylococcus aureus* İzolatlarında Hedef Genlerin İdentifikasyonu

S. aureus izolatlarının Astaksantin ile β -laktam antibiyotiklerine duyarlılığın artırılması amaçlanan bu çalışmada türe özgü 16S-rRNA ve nuc gibi genlerin yanı sıra metisilin direncini belirten mecA genlerinin bulunup bulunmadığı DNA izolasyonu ve sonrasında gerçek zamanlı-polimeraz zincir reaksiyonu (GZ-PZR) tespiti gerçekleştirildi.

3.3.1. Primer Tasarımı

Aşağıdaki çizelgede verilen primer dizileri Kalitatif GZ-PZR metodunda kullanıldı. Primerlerin tasarımı için Primer BLAST ve Primer3 programları kullanıldı. Primerler, Prizma Laboratuvar Ürünleri San. Ve Tic. Ltd. Şti. (Türkiye) tarafından sentezlendi.

Tablo 3.1. Kalitatif GZ-PZR metodunda kullanılan primerler.

GEN İSİMLERİ	PRİMER SEKANSLARI
<i>16S-rRNA</i>	İleri Primer 5'-CGTGCTACAATGGACAATACAAA-3' Geri Primer 5'-ATCTACGATTACTAGCGATTCCA-3'
<i>mecA</i>	İleri Primer 5'-CATGAACAAGAAGAGCCCGC-3' Geri Primer 5'-AGCGTCTACGCCATCTTCAC-3'
<i>nuc</i>	İleri Primer 5'-CGTCAAGGCTTGGCTAAAGTT -3' Geri Primer 5'-GCGTTGTCTTCGCTCCAA -3'

3.3.2. Genomik DNA İzolasyonu

Mueller Hinton Agar (MHA) besiyerine inoküle edilen bakteriler inkübasyon sonrasında stafilokok kolonilerinden eküvyon çubuğu yardımıyla içinde MHB bulunan tüplere ekimi gerçekleştirildi. Tüpler 37°C'de 24 saat inkübe edildikten

sonrasında Tris-EDTA NaCl-Triton-X100 (TENT) yöntemiyle DNA izolasyonu gerçekleştirildi.

3.3.3. Kalitatif GZ-PZR Reaksiyonu

Çalışmada kullanılacak stafilokokların DNA izolasyonunda çalışılması planlanan genlerin varlığını tespit etmek için GZ-PZR gerçekleştirildi (BIO-RAD, CFX Connect Realtime System, ABD). Genlerinin anlatımlarının tespit edilmesinde “SYBR-Green I” boyası kullanılarak üretici firmanın protokolü uygulandı.

Tablo 3.2. GZ-PZR Reaktifleri.

Reaktifler	Stok Konsantrasyonları	Hacim (µL)
SensiFAST™ SYBR® No-ROX Kit	2X	10
Primer (İleri)	10 µM	1
Primer (Geri)	10 µM	1
Deoksiriboz Nükleik Asit	20 ng/µL	2
Su	-	6

Tablo 3.3. GZ-PZR koşulları.

Aşama	Sıcaklık	Süre	Döngü Sayısı
Polimerazın Aktivasyonu	95 °C	5 dk.	
1.Aşama: Denatürasyon	95 °C	10 sn.	
2.Aşama: Bağlanma	60°C	10 sn.	45
3.Aşama: Uzama	72°C	30 sn.	
Erime Eğrisinin Analizi	65-95 °C	5 sn.	

3.4. Biyofilm Üretiminin Tanımlanması

3.4.1. Tüp Metodu (TM)

Mikroorganizmaların biyofilm üretip üretmediğini tespit etmek için kalitatif yöntem tüp metodu TM kullanıldı (Christensen, 1985). -80 °C’de saklanan bakteriler izolatları alınarak %2 NaCl ve %1 Glikoz içeren Mueller Hinton sıvı besiyeri (MHB, Merck) bulunduran steril polistiren deney tüplerine aktararak yoğunluk 0.5 McFarland (1×10^8 cfu/mL) olacak şekilde ayarlandı. Bu tüpler 24 saat 37 °C’ de inkübatörde inkübasyona bırakıldı (Saginur ve ark., 2006; Stepanovic ve ark., 2007). İnkübasyon sonunda tüplerin içerisine safranin boyası (Naroteks) eklenerek tüp

duvarlarında bakterilerin oluşturduğu biyofilmler boyanmış oldu. 1 saat boyunca safranin tüp içerisinde bekletildikten sonra, tüp içerisindeki boya aspire edildi. Biyofilm içeren tüpler steril fosfat tamponu (PBS, Gibco) ile 2 kez yandıktan sonra kuruması için ters çevrilerek bırakıldı. Tüpler kuruduktan sonra tüplerin duvar ve dip kısımlarının boyanması aynı zamanda üst yüzeyden gözlemlenen halka bakterinin biyofilm ürettiğini göstermektedir (Christensen, 1985).

3.4.2. Mikrotitre Plak (MtP) Metodu

%2 NaCl ve %1 Glikoz bulunduran MHB kullanılarak yoğunluğu 0.5 McFarland'a (1×10^8 cfu/mL) ayarlanan bakteri süspansiyonları ilk test tüpünde konsantrasyon 5.10^6 cfu/mL olacak şekilde 20 kat (1/20) dilüe edildi (Saginur ve ark., 2006; Stepanović ve ark., 2007). Daha sonra sıvı besiyerinden 180 µL ve hazırlanan bakteri solüsyonundan 5.10^6 cfu/mL 20 µL alınarak 96 kuyucuklu polistren mikrotitre plaklara (Isolab) sırasıyla dağıtıldı. Böylece kuyucuklardaki bakterinin son konsantrasyonu 5.10^5 cfu/mL olacak şekilde hazırlandı (1/10 kat dilüsyon). Hazırlanan mikrotitre plaklar bir gün boyunca 37 °C'de inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında planktonik bakteriler aspire edildi ve plaklar 2 kez PBS (Gibco) ile yıkandı. Yıkama işlemi sonrası plaklar oda ısısında bırakılarak kurutuldu. Kuruyan mikrotitre plaklarda bulunan her kuyucuk 150 µL metanol kullanılarak 20 dakika fikse edildi. Fiksasyondan sonra kuyucuklar 150 µL safranin (Naroteks) ile boyandı (Christensen ve ark., 1985). Boyama sonrası 15 dakika sonunda safranin aspire edilerek plaklar yeniden 2 kez PBS (Gibco) ile yıkandı. Yıkama işlemi sonrasında plaklar oda ısısında kurumaya bırakıldı. Kurutulan bu plaklar 570 nanometre absorbansta MtP okuyucuda okutuldu (Multiskan GO Microplate Spectrophotometer, Thermo Scientific). Negatif kontrol için blank (%2 NaCl ve %1 Glikoz bulunduran MHB) kullanıldı. Örneklerin ürettiği biyofilm miktarı belirlenerek karşılaştırma yapmak için ODc'ler belirlendi ve Tablo 3.4'e göre derecelendirildi (Christensen ve ark., 1985; Ocal ve ark., 2017; Kırmusaoğlu, 2019).

$$ODc = OD_{\text{ort(negatif kontrol)}} + 3 \times SD_{\text{negatif kontrol}}$$

$$OD_{\text{izolat}} = OD_{\text{ortalama}} - ODc$$

Tablo.3.4. Bakteri İzolatlarının Ürettikleri Biyofilm Miktarının Derecelendirmesi

$OD \leq OD_c$	Negatif	Biyofilm Üretmeyen
$OD_c < OD \leq 2 \times OD_c$	+	Zayıf Biyofilm
$2 \times OD_c < OD \leq 4 \times OD_c$	++	Orta Biyofilm
$4 \times OD_c < OD$	+++	Güçlü Biyofilm

3.5. Bakteri Solüsyonlarının ve Kimyasalların Hazırlanması

3.5.1. Bakteri Solüsyonlarının Hazırlanması

%2 NaCl ve %1 Glikoz içeren MHB kullanılarak yoğunluğu 0.5 McFarland'a (1×10^8 cfu/mL) ayarlanan bakteri süspansiyonları ilk test tüpünde konsantrasyon $5 \cdot 10^6$ cfu/mL olacak şekilde 20 kat (1/20) dilüe edildi (Saginur ve ark., 2006; Stepanović ve ark., 2007). Daha sonra bu bakteri solüsyonları tekli ajan uygulamaları için son konsantrasyonu $5 \cdot 10^5$ cfu/mL olacak şekilde 10 kat (1/10) dilüe edilerek hazırlandı (NCCLS, 1999).

3.5.2. Astaksantin Stok Solüsyonu ve Dozlarının Hazırlanması

Astaksantin, Sigma Aldrich (7542-45-2 – 50 mg) firmasından temin edildi. Çalışmada kullanılmak üzere 1,024 mg/mL ana stok hazırlandı ve hazırlanan stok membran filtre (CLS431222, Sigma-Aldrich) kullanılarak steril edildi. Çalışma için 0,512 – 0,0000031 mg/mL aralığında çift kat dilüsyon yapılarak Astaksantin dozları hazırlandı.

3.5.3. Oksasilin Stok Solüsyonu ve Dozlarının Hazırlanması

Oksasilin, Sigma Aldrich (28221-5G) firmasından temin edildi. Çalışmada kullanılmak üzere 16,384 mg/mL ana stok hazırlandı ve hazırlanan stok membran filtreden (CLS431222, Sigma-Aldrich) kullanılarak steril edildi. Çalışma için 8,192 mg/mL – 0,0000039 mg/mL aralığında çift kat dilüsyon yapılarak oksasilin dozları hazırlandı.

3.5.4. Ampisilin Stok Solüsyonu ve Dozlarının Hazırlanması

Ampisilin, Sigma Aldrich (69523 – 5G) firmasından temin edildi. Çalışmada kullanılmak üzere 16,384 mg/mL ana stok hazırlandı ve hazırlanan stok membran filtreden (CLS431222, Sigma-Aldrich) kullanılarak steril edildi. Çalışma için 8,192

mg/mL – 0,0000039 mg/mL aralığında çift kat dilüsyon yapılarak ampisilin dozları hazırlandı.

3.5.5. Penisilin Stok Solüsyonu ve Dozlarının Hazırlanması

Penisilin, Sigma Aldrich (69578 – 5G) firmasından temin edildi. Çalışmada kullanılmak üzere 16,384 mg/mL ana stok hazırlandı ve hazırlanan stok membran filtreden (CLS431222, Sigma-Aldrich) kullanılarak steril edildi. Çalışma için 8,192 mg/mL – 0,0000039 mg/mL aralığında çift kat dilüsyon yapılarak penisilin dozları hazırlandı.

3.6. Astaksantin ve β -laktamların MİK ve MBK'lerinin Belirlenmesi

%2 NaCl ve %1 Glikoz içeren MHB kullanılarak yoğunluğu 0.5 McFarland'a (1×10^8 cfu/mL) ayarlanan bakteri süspansiyonları ilk test tüpünde konsantrasyon 5.10^6 cfu/mL olacak şekilde 20 kat (1/20) dilüe edildi (Saginur ve ark., 2006; Stepanović ve ark., 2007). Astaksantin (AST), Oksasilin (OX), Ampisilin (AM) ve Penisilin (P) için hazırlanan solüsyonlar ana stoklar solüsyonlarının 2 kat dilüsyonları yapıp, Astaksantin için 16 doz; Ampisilin, Oksasilin ve Penisilin için 22 doz olacak şekilde hazırlandı. MİK dozlarının belirlenmesi için her kuyucuğa 180 μ L Astaksantin ve bakterilerin her kuyucuğun son konsantrasyonları 5.10^5 cfu/mL olması için 20 μ L bakteri solüsyonu (5.10^6 cfu/mL) eklendi. Aynı metot bakterilerin Oksasilin, Ampisilin ve Penisilin MİK dozlarını saptamak için tekrarlandı. Hazırlanan tüm mikrotitre plaklar bir gün boyunca 37 °C'de inkübatörde bekletildi. CLSI standartlarına göre bakteriyel büyümenin gözlemlenmediği kuyucuk konsantrasyonu minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK) olarak tanımlandı. Belirlenen örnek ve örneğin üst MİK dozlarından 30 μ L MHA bulunduran petriye inoküle edilerek 24 saatlik süre boyunca 37 °C'de inkübatörde bırakıldı. İnkübasyon sonrasında üreme görülmeyen en düşük konsantrasyon dozu minimum bakterisidal konsantrasyon (MBK) tanımlandı (CLSI, 2013).

3.7. Astaksantin ve β -laktam Kombinasyonlarının Planktonik *S. aureus* İzolatları Üzerindeki Etkinliklerinin Tanımlanması

3.7.1. Dama Tahtası Yöntemi (Checkerboard Metot)

Checkerboard metodu yardımıyla Astaksantin ve β -laktam antibiyotiklerin kombinasyon etkinliklerine incelendi. 96 kuyucuklu steril polistren mikrotitre plakları

dama tahtası yönteminde kullanılmak üzere her izolat için önceden belirlenen antibiyotik MİK değerlerine ve Astaksantin'in önceden belirlenen dozlarına göre oluşturuldu. İki kat dilüsyonu sağlanarak elde edilmiş bu dozların 32 kat alt dozları ve 4 kat üst dozları kullanıldı. %2 NaCl ve %1 Glikoz içeren MHB kullanılarak yoğunluğu 0.5 McFarland'a (1×10^8 cfu/mL) ayarlanan bakteri süspansiyonları ilk test tüpünde konsantrasyon 5.10^6 cfu/mL olacak şekilde 20 kat (1/20) dilüe edildi (Saginur ve ark., 2006; Stepanović ve ark., 2007). Kullanılan her izolat için plağın her sütununa Çizelge'de verilen dozlar dağıtıldı. Her AST – OX kombinasyonu için her sütuna 90 µL Oksasilin her satıra 90 µL Astaksantin konuldu. Hazırlanan bakteri örnekleri mikrotitre plaktaki kuyucuklara son bakteri konsantrasyonu 5.10^5 cfu/mL olacak şekilde 20 µL dağıtıldı. Bakteri üremesini gözlemleyerek karşılaştırma yapmak için 180 µL steril deiyonize su ve 20 µL bakteri solüsyonu kullanıldı. Aynı adımlar AST – AM ve AST – P kombinasyonları için tekrarlandı. Mikrotitre plaklar 37 °C de 24 saat boyunca inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında kullanılan tüm izolatlar için her satır ve sütunun MİK değerleri belirlendi. Böylelikle Checkerboard metodu uyarlanarak antibiyotiklerin MİK dozlarının etkinliğinin Astaksantin ile kaç kat alt-MİK dozlarına indirilebildiği gözlemlendi.

Ek olarak, ajanların alt-Miklerinin, tek ajan ve kombine ajan uygulamalarının, izolatlar üzerinde bakteriyel büyümeye yaptığı etkiyi gözlemleyebilme amacıyla MHA besiyerine 30 µL ekilerek, 37 °C'de bir gün boyunca inkübe edildi. Bu süre sonundan koloniler sayılarak logaritmik birimlere çevrildi. Çalışma, 2 biyolojik tekrar ve 3 teknik tekrar olarak tekrarlandı. Stafilokok izolatlarının büyüme oranları ve tekrar verilerin ortalaması ve standart sapması alınarak değerlendirildi.

3.8. Astaksantin ve β-laktam Kombinasyonlarının *S. aureus* İzolatlarının Biyofilm Üretiminin Üzerindeki Etkilerinin Belirlenmesi

3.8.1 Mikrotitre Plak Metodu (MtP)

Astaksantin ve β-laktam kombinasyonlarının biyofilm üzerindeki etkilerinin gözlemlenmesi için Christensen Metot'tan uyarlanan mikrotitre plak yöntemi kullanıldı. Bu yöntemde kullanılan ajan konsantrasyonları antibiyotiklerin MİK değerlerine göre belirlenirken Astaksantin için belirli bir doz aralığı referans alındı. İki kat dilüe edilerek hazırlanmış bu dozların 32 kat alt ve 4 kat üst dozları kullanıldı . %2

NaCl ve %1 Glikoz içeren MHB kullanılarak yoğunluğu 0.5 McFarland'a (1×10^8 cfu/mL) ayarlanan bakteri süspansiyonları ilk test tüpünde konsantrasyon 5.10^6 cfu/mL olacak şekilde 20 kat (1/20) dilüe edildi (Saginur ve ark., 2006; Stepanović ve ark., 2007). Kullanılan her izolat için her sütuna Çizelge'de verilen dozlar dağıtıldı. Her AST – OX kombinasyonu için her sütuna 90 µL Oksasilin her satıra 90 µL Astaksantin konuldu. Hazırlanan bakteri örnekleri mikrotitre plaktaki kuyucuklara son bakteri konsantrasyonu 5.10^5 cfu/mL olacak şekilde 20 µL dağıtıldı. Bakteri üreme kontrolü olarak 180 µL sterilizasyonu sağlanmış deiyonize su ve 20 µL bakteri solüsyonu kullanıldı. Blank için bir kuyuya 180 µL sterilizasyonu sağlanmış deiyonize su ile 20 µL MHB eklendi. Aynı adımlar Astaksantin – Ampisilin ve Astaksantin – Penisilin kombinasyonları için tekrarlandı. Plaklar 37 °C'de, bir gün boyunca inkübe edildi. 24 saat sonunda planktonik olan bakteriler aspire edilip boşaltılan kuyular 150 µL metanol ile 15 dakika fikse edildi. Daha sonra kuyular boşaltılara 150 µL safranin eklendikten sonra 15 dakika bekletilip kuyulardaki biyofilmlerin boyanması sağlandı. 15 dakika sonunda kuyular 2 kez fosfat tamponu ile yıkanarak kurumaya bırakıldı.

Kuruyan plaklar 570 nm absorbansta MtP okuyucuda okutuldu. 2 biyolojik tekrar, 3 teknik tekrar olarak bu çalışma tekrarlandı.

3.9. Verilerin Analizi

Yapılan çalışmada MtP ve Checkerboard yöntemi kullanılarak elde edilen verilerin ortalamaları ve standart sapmaları hesaplandı. Çalışma 2 biyolojik, 3 teknik tekrar olarak gerçekleştirildi. IBM SPSS Statistic 24 programı verilerin istatistik değerlendirmeleri için kullanıldı. Veri analizinde, gruplar arasında (kontrol ve uygulamalar) anlam olup olmadığını tespit etmek için Friedman test kullanıldı. Hangi gruplar arasında anlam olduğunu belirlemek için de Tukey'in Post testi kullanılarak Tek Yönlü ANOVA analizi gerçekleştirildi. P değeri $0,05 \leq$ olan veriler istatistiksel olarak anlamlı olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Bakterilerin Tanımlanması

Stoktaki bakteriler Metisilin dirençli *S. aureus* (MRSA) ve Metisilin duyarlı *S. aureus* (MSSA) olduğu tespit edilen 4 bakteri örneği ile gerçekleştirildi. ATCC 29213 MSSA (MSSA1) kontrol suşu olarak kullanıldı. Çalışmalarda MSSA2, MRSA3, MRSA4, MRSA5 olmak üzere 4 klinik bakteri izolatu kullanıldı.

4.2. *S. aureus* İzolatlarının Hedef Genlerinin Tespiti

S. aureus izolatlarının hedeflenen genlerin varlığı Yöntem 3.3.2’de belirtilen adımlar izlenerek GZ-PZR ile belirlendi. Tespit edilen sonuçlar aşağıdaki tabloda verilmiştir (Tablo 4.1).

Tablo 4.1. GZ-PZR ile Tespit Edilen Genlerin Sonuçları.

GEN	MSSA1	MSSA2	MRSA 3	MRSA 4	MRSA5
<i>16S-rRNA</i>	Tespit Edildi.	Tespit Edildi.	Tespit Edildi.	Tespit Edildi.	Tespit Edildi.
<i>nuc</i>	Tespit Edildi.	Tespit Edildi.	Tespit Edildi.	Tespit Edildi.	Tespit Edildi.
<i>mecA</i>	Tespit Edilmedi.	Tespit Edilmedi.	Tespit Edildi.	Tespit Edildi.	Tespit Edildi.

4.3. Biyofilm İdentifikasyonu

4.3.1. Tüp Metot Sonucu

S. aureus izolatlarına uygulanan Tüp Metodunun sonucu Şekil 4.1’de gösterilmiştir. İzolatlardaki biyofilm tüpün dibinde ve duvarlarında gözlemlenmiştir. Soldan sağa doğru ilk üç tüp MRSA’lara ait olup sırasıyla MRSA 5, MRSA 3, MRSA 4 izolatları, son iki tüp MSSA’lara ait olup sırasıyla MSSA 2, MSSA 1 izolatlarıdır.



Şekil 4.1. Tüp Metot Sonuçları (Soldan Sağa sırasıyla 1. Tüp (MRSA5), 2. Tüp (MRSA 3), 3. Tüp (MRSA 4), 4. Tüp (MSSA 1), 5. Tüp (MSSA 2)).

4.3.2. Mikrotitre Plak Metodu (MtP) Sonucu

MtP metodu kullanılarak bakteri izolatlarında biyofilm oluşumu gözlemlendi. Plaklarda izolatlar biyofilm oluşturduktan sonra gözlemlenmesi için safranin boyası kullanılarak boyanan plaklar kuruduktan sonra spektrofotometre cihazı ile 570 nm ölçülerek absorbans değerleri not edildi. Not edilen değerler Yöntem 3.4.2’de belirtilen denkleme göre OD değerlerinin hesaplanması sonucu MSSA 1 orta derecede, MSSA 2 orta derecede, MRSA 3 güçlü derecede, MRSA4 güçlü derecede ve MRSA 5 güçlü derecede biyofilm oluşturduğu gözlemlendi.

4.4. Astaksantin ve β -laktamların MİK ve MBK Değerlerinin Belirlenmesi

Yapılan çalışma sonucunda Astaksantin’in MRSA ve MSSA izolatlarında en etkili olduğu değerlerin 0,512 mg/mL – 0,004 arasında olduğu gözlemlenmiştir. Oksasilin uygulanan izolatlarda MİK değerleri 1,024 mg/mL – 0,0000156 mg/mL arasındayken; MBK değerleri 2,048 mg/mL – 0,000125 mg/mL arasındadır. Ampisilin uygulanan izolatlarda MİK değerleri 1,024 mg/mL – 0,0000625 mg/mL arasındayken; MBK değerleri 4,096 mg/mL – 0,00025 mg/mL arasındadır. Penisilin uygulanan izolatlarda MİK değerleri 0,512 mg/mL – 0,0000156 mg/mL arasındayken; MBK değerleri 1,024 mg/mL – 0,000125 mg/mL arasındadır (Tablo 4.2).

Tablo 4.2. *S. aureus* İzolatlarında belirlenen MİK ve MBK Değerleri

Bakteri İzolatları	Antimikrobiyal Ajan	MİK (mg/mL)	MBK (mg/mL)
MSSA1	AST	TEM	TEM
	OX	0,000156	0,0005
	AM	0,002	0,008
	P	0,004	0,032
MSSA2	AST	TEM	TEM
	OX	0,000156	0,000125
	AM	0,000625	0,00025
	P	0,000156	0,000125
MRSA3	AST	TEM	TEM
	OX	0,256	1,024
	AM	0,004	0,064
	P	0,004	0,064
MRSA4	AST	TEM	TEM
	OX	1,024	2,048
	AM	1,024	4,096
	P	0,512	1,024
MRSA5	AST	TEM	TEM
	OX	0,256	2,048
	AM	0,128	0,256
	P	0,256	0,512

AST : Astaksantin, OX: Oksasilin, AM: Ampisilin, P: Penisilin, TEM: Tespit Edilemedi.

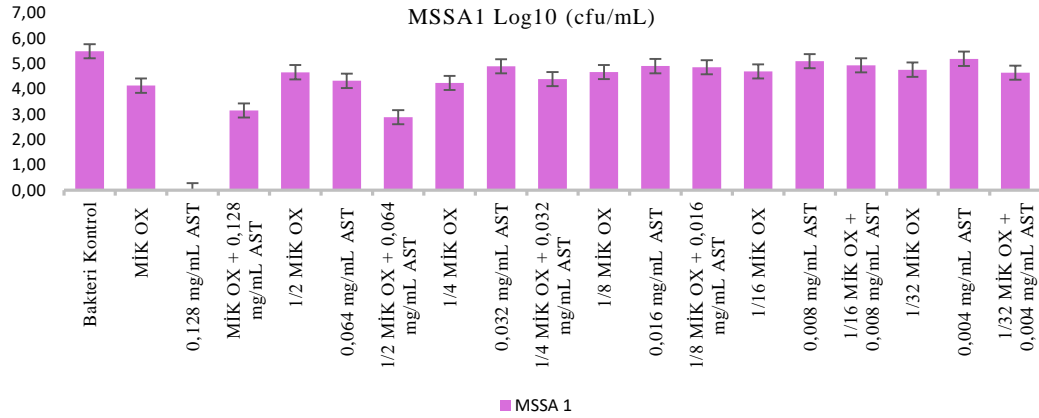
4.5. Astaksantin ile β -laktam Kombinasyonlarının Planktonik *S. aureus* İzolatları Üzerindeki Etkilerinin Analizi

4.5.1 Astaksantin ile Oksasilin Kombinasyonlarının Bakteriyel Büyüme Üzerindeki Etkisi

4.5.1.1 MSSA1

Astaksantin ve Oksasilinin MSSA1 izolatının tüm dozlarındaki tek ve kombinasyon uygulamalarının bakterinin büyüme oranına herhangi anlamlı bir etkisi gözlemlenmemiştir ($p>0,05$) (Tablo 4.3; Şekil 4.2).

MİK OX – 0,128 mg/mL AST ve 1/2 MİK OX ile 0,064 mg/mL AST kombinasyon dozlarının MSSA1 izolatının büyüme etkisine MİK OX ve 1/2 MİK OX dozlarının tek başına etkisine göre sırasıyla 1,11 log birim ve 1,77 log birim daha fazla inhibe ettiği görülmüştür ($p>0,05$) (Tablo 4.3; Şekil 4.2).



Şekil 4.2. Astaksantin ve Oksasilinin Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MSSA1 İzolatının Büyüme Oranına etkisi. AST : Astaksantin, OX: Oksasilin.

1/4 MİK OX ile 0,032 mg/mL AST, 1/8 MİK OX ile 0,016 mg/mL AST ve 1/16 MİK OX ile 0,008 mg/mL AST kombinasyon dozlarının MSSA1 izolatının büyüme etkisine ¼ MİK OX, 1/8 MİK OX ve 1/16 MİK OX dozlarının tek başına etkisine göre sırasıyla 0,15 log birim, 0,20 log birim ve 0,24 log birim arttırdığını göstermiştir ($p>0,05$) (Tablo 4.3; Şekil 4.2).

1/32 MİK OX ile 0,0004 mg/mL AST kombinasyon dozu ise 1/32 MİK OX dozunun tek başına etkisine göre izolatın büyümesini 0,12 log birim azalttığı gözlemlenmiştir ($p>0,05$) (Tablo 4.3; Şekil 4.2).

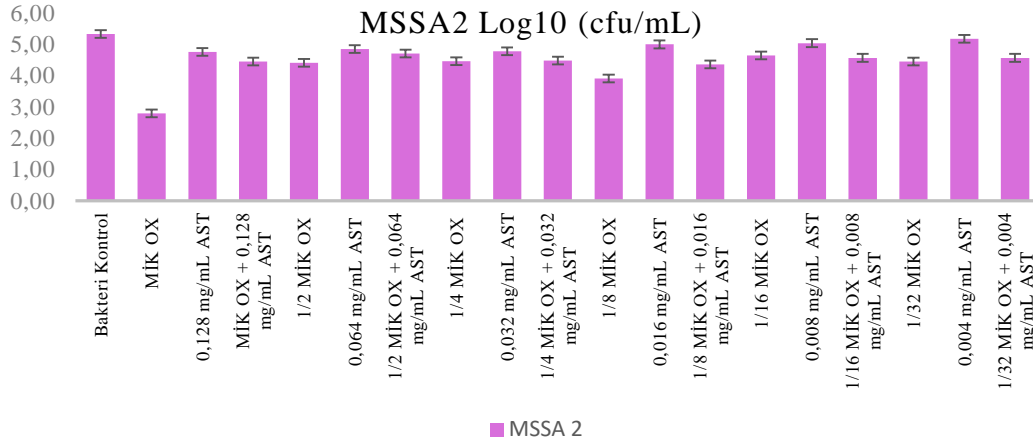
Tablo 4.3. Astaksantin ve Oksasilin Ajanlarının MSSA1 İzolatının Büyüme Oranına Etkisi.

MSSA1	AJAN UYGULAMALARI	Log (cfu/mL) ORT ± SD	P
	BAKTERİ KONTROL	5,48^a ± 0,008	
	MİK OX	4,12 ^a ± 0,097	
MİK OX 0,128 mg/mL AST	0,128 mg/mL AST	0,00 ^a ± 0,00	0,112
	MİK OX - 0,128 mg/mL AST	3,014 ^a ± 0,02	
	1/2 MİK OX	4,65 ^a ± 0,044	
1/2 MİK OX 0,064 mg/mL AST	0,064 mg/mL AST	4,31 ^a ± 0,75	0,241
	1/2 MİK OX - 0,064 mg/mL AST	2,88 ^a ± 0,014	
	1/4 MİK OX	4,23 ^a ± 0,09	
1/4 MİK OX 0,032 mg/mL AST	0,032 mg/mL AST	4,88 ^a ± 0,08	0,308
	1/4 MİK OX - 0,032 mg/mL AST	4,38 ^a ± 0,01	
	1/8 MİK OX	4,66 ^a ± 0,034	
1/8 MİK OX 0,016 mg/mL AST	0,016 mg/mL AST	4,888 ^a ± 0,046	0,145
	1/8 MİK OX - 0,016 mg/mL AST	4,858 ^a ± 0,011	
	1/16 MİK OX	4,68 ^a ± 0,064	
1/16 MİK OX 0,008 mg/mL AST	0,008 mg/mL AST	5,088 ^a ± 0,005	0,112
	1/16 MİK OX - 0,008 mg/mL AST	4,92 ^a ± 0,03	
	1/32 MİK OX	4,75 ^a ± 0,11	
1/32 MİK OX 0,004 mg/mL AST	0,004 mg/mL AST	5,177 ^a ± 0,058	0,112
	1/32 MİK OX - 0,0004 mg/mL AST	4,63 ^a ± 0,172	

Aynı harfler gruplar arasında anlamlı fark olmadığını göstermektedir (p>0,05). AST: Astaksantin, OX: Oksasilin, MİK: Minimum İnhibitör Konsantrasyon, AB:Antibiyotik, Ort: Ortalama, SD: Standart Sapma.

4.5.1.2 MSSA2

Astaksantin ve Oksasilinin MSSA2 izolatının tüm dozlarındaki tek ve kombinasyon uygulamalarının bakterinin büyüme oranına herhangi anlamlı bir etkisi gözlemlenmemiştir ($p>0,05$) (Tablo 4.4 Şekil 4.3).



Şekil 4.3. Astaksantin ve Oksasilinin Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MSSA2 İzolatının Büyüme Oranına etkisi. AST : Astaksantin, OX: Oksasilin.

MİK OX ile 0,128 mg/mL ve 1/2 MİK OX ile 0,064 mg/mL kombinasyon dozlarının MSSA2 izolatının büyüme etkisine MİK OX ve 1/2 MİK OX dozlarının tek başına etkisine göre sırasıyla 1,65 log birim ve 0,29 log birim arttırdığını göstermiştir ($p>0,05$) (Tablo 4.4; Şekil 4.3).

1/4 MİK OX ile 0,032 mg/mL AST ve 1/8 MİK OX ile 0,016 mg/mL AST kombinasyon dozlarının MSSA2 izolatının büyüme etkisine ¼ MİK OX ve 1/8 MİK OX dozlarının tek başına etkisine göre sırasıyla 0,02 log birim ve 0,45 log birim ve 0,24 log birim arttırdığını göstermiştir ($p>0,05$) (Tablo 4.4; Şekil 4.3).

1/16 MİK OX ile 0,008 mg/mL AST kombinasyon dozunun MSSA2 izolatının büyüme etkisini 1/16 MİK OX tek dozuna oranla 0,09 log birim azalttığı gözlemlenmiştir ($p>0,05$) (Tablo 4.4; Şekil 4.3).

1/32 MİK OX ile 0,0004 mg/mL AST kombinasyon dozu ise 1/32 MİK OX dozunun tek başına etkisine göre izolatın büyümesini 0,12 log birim arttırdığı gözlemlenmiştir ($p>0,05$) (Tablo 4.4; Şekil 4.3).

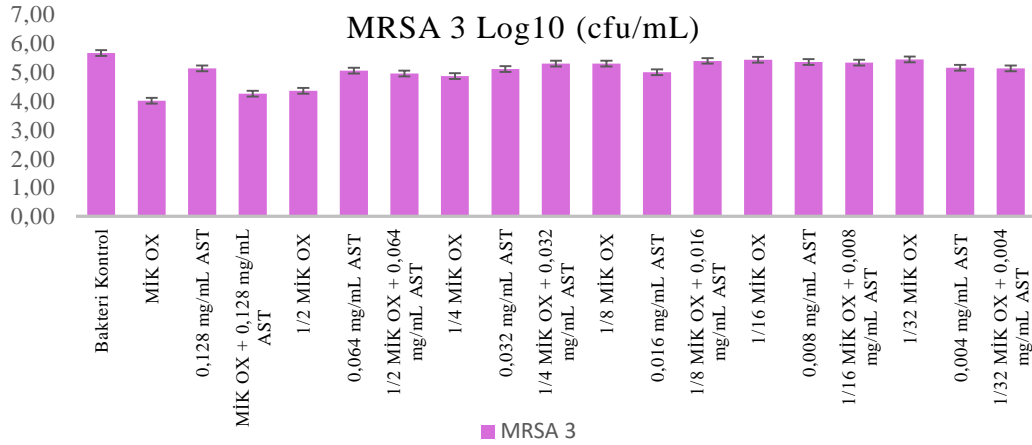
Tablo 4.4. Astaksantin ve Oksasilin Ajanlarının MSSA2 İzolatının Büyüme Oranına Etkisi.

	AJAN UYGULAMALARI	Log (cfu/mL) ORT ± SD	P
MSSA2	BAKTERİ KONTROL	5,32^a ± 0,06	
	MİK OX	2,789 ^a ± 0,05	
MİK OX 0,128 mg/mL AST	0,128 mg/mL AST	4,753 ^a ± 0,036	0,896
	MİK OX - 0,128 mg/mL AST	4,447 ^a ± 0,166	
	1/2 MİK OX	4,405 ^a ± 0,40	
1/2 MİK OX 0,064 mg/mL AST	0,064 mg/mL AST	4,846 ^a ± 0,19	0,494
	1/2 MİK OX - 0,064 mg/mL AST	4,700 ^a ± 0,023	
	1/4 MİK OX	4,454 ^a ± 0,167	
1/4 MİK OX 0,032 mg/mL AST	0,032 mg/mL AST	4,77 ^a ± 0,026	0,615
	1/4 MİK OX - 0,032 mg/mL AST	4,47 ^a ± 0,44	
	1/8 MİK OX	3,90 ^a ± 0,026	
1/8 MİK OX 0,016 mg/mL AST	0,016 mg/mL AST	4,99 ^a ± 0,03	0,308
	1/8 MİK OX - 0,016 mg/mL AST	4,35 ^a ± 0,014	
	1/16 MİK OX	4,647 ^a ± 0,117	
1/16 MİK OX 0,008 mg/mL AST	0,008 mg/mL AST	5,03 ^a ± 0,07	0,753
	1/16 MİK OX - 0,008 mg/mL AST	4,558 ^a ± 0,009	
	1/32 MİK OX	4,44 ^a ± 0,15	
1/32 MİK OX 0,004 mg/mL AST	0,004 mg/mL AST	5,166 ^a ± 0,07	0,241
	1/32 MİK OX - 0,0004 mg/mL AST	4,558 ^a ± 0,009	

Aynı harfler gruplar arasında anlamlı fark olmadığını göstermektedir (p>0,05). AST: Astaksantin, OX: Oksasilin, MİK: Minimum İnhibitör Konsantrasyon, Ort: Ortalama, SD: Standart Sapma.

4.5.1.3 MRSA3

Astaksantin ve Oksasilinin MRSA3 izolatının tüm dozlarındaki tek ve kombinasyon uygulamalarının bakterinin büyüme oranına herhangi anlamlı bir etkisi gözlemlenmemiştir ($p>0,05$) (Tablo 4.5 Şekil 4.4).



Şekil 4.4. Astaksantin ve Oksasilinin Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA3 İzolatının Büyüme Oranına etkisi. AST : Astaksantin, OX: Oksasilin.

MİK OX ile 0,128 mg/mL ve 1/2 MİK OX ile 0,064 mg/mL kombinasyon dozlarının MRSA3 izolatının büyüme etkisine MİK OX ve 1/2 MİK OX dozlarının tek başına etkisine göre sırasıyla 0,24 log birim ve 0,61 log birim arttırdığını göstermiştir ($p>0,05$) (Tablo 4.5; Şekil 4.4).

1/4 MİK OX ile 0,032 mg/mL AST ve 1/8 MİK OX ile 0,016 mg/mL AST kombinasyon dozlarının MRSA3 izolatının büyüme etkisine 1/4 MİK OX ve 1/8 MİK OX dozlarının tek başına etkisine göre sırasıyla 0,34 log birim ve 0,08 log birim arttırdığını göstermiştir ($p>0,05$) (Tablo 4.5; Şekil 4.4).

1/16 MİK OX ile 0,008 mg/mL AST VE 1/32 MİK OX ile 0,0004 mg/mL AST kombinasyon dozunun MRSA 3 izolatının büyüme etkisini 1/16 MİK OX ve 1/32 MİK OX tek dozuna oranla sırasıyla 0,10 log ve 0,31 log birim azalttığı gözlemlenmiştir ($p>0,05$) (Tablo 4.5; Şekil 4.4).

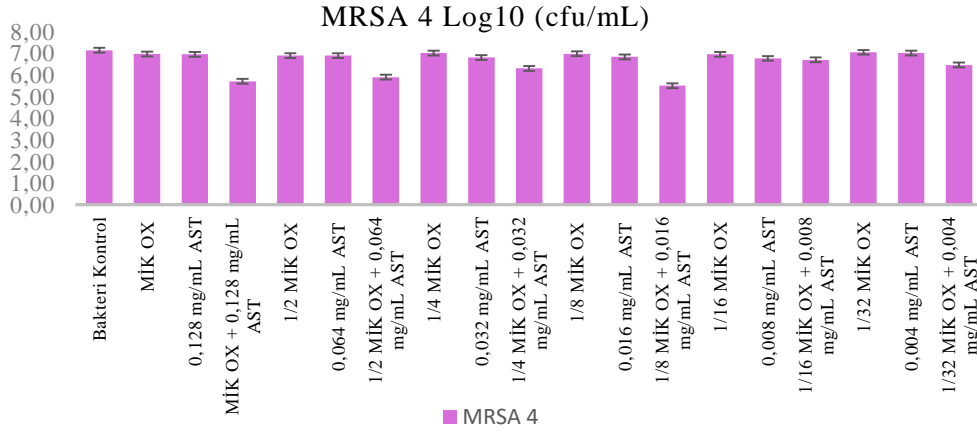
Tablo 4.5. Astaksantin ve Oksasilin Ajanlarının MRSA3 İzolatının Büyüme Oranına Etkisi.

	AJAN UYGULAMALARI	Log (cfu/mL) ORT ± SD	P
MRSA3	BAKTERİ KONTROL	5,661^a ± 0,011	
	MİK OX	4,0052 ^a ± 0,048	
MİK OX 0,128 mg/mL AST	0,128 mg/mL AST	5,133 ^a ± 0,011	0,615
	MİK OX - 0,128 mg/mL AST	4,254 ^a ± 0,001	
	1/2 MİK OX	4,354 ^a ± 0,025	
1/2 MİK OX 0,064 mg/mL AST	0,064 mg/mL AST	5,051 ^a ± 0,104	0,145
	1/2 MİK OX - 0,064 mg/mL AST	4,946 ^a ± 0,17	
	1/4 MİK OX	4,86 ^a ± 0,119	
1/4 MİK OX 0,032 mg/mL AST	0,032 mg/mL AST	5,114 ^a ± 0,016	0,145
	1/4 MİK OX - 0,032 mg/mL AST	5,295 ^a ± 0,103	
	1/8 MİK OX	5,301 ^a ± 0,00	
1/8 MİK OX 0,016 mg/mL AST	0,016 mg/mL AST	4,968 ^a ± 0,066	0,392
	1/8 MİK OX - 0,016 mg/mL AST	5,388 ^a ± 0,055	
	1/16 MİK OX	5,425 ^a ± 0,038	
1/16 MİK OX 0,008 mg/mL AST	0,008 mg/mL AST	5,346 ^a ± 0,005	0,753
	1/16 MİK OX - 0,008 mg/mL AST	5,330 ^a ± 0,026	
	1/32 MİK OX	5,439 ^a ± 0,019	
1/32 MİK OX 0,004 mg/mL AST	0,004 mg/mL AST	5,148 ^a ± 0,04	0,112
	1/32 MİK OX - 0,0004 mg/mL AST	5,125 ^a ± 0,02	

Aynı harfler gruplar arasında anlamlı fark olmadığını göstermektedir (p>0,05). AST: Astaksantin, OX: Oksasilin, MİK: Minimum İnhibitör Konsantrasyon, Ort: Ortalama, SD: Standart Sapma.

4.5.1.4 MRSA4

Astaksantin ve Oksasilinin MRSA4 izolatının tüm dozlarındaki tek ve kombinasyon uygulamalarının bakterinin büyüme oranına herhangi anlamlı bir etkisi gözlemlenmemiştir ($p>0,05$) (Tablo 4.6 Şekil 4.5).



Şekil 4.5. Astaksantin ve Oksasilinin Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA4 İzolatının Büyüme Oranına etkisi. AST : Astaksantin, OX: Oksasilin.

MİK OX ile 0,128 mg/mL ve 1/2 MİK OX ile 0,064 mg/mL kombinasyon dozlarının MRSA4 izolatının büyüme etkisine MİK OX ve 1/2 MİK OX dozlarının tek başına etkisine göre sırasıyla 1,25 log birim ve 0,99 log birim büyüme oranını azalttığını göstermiştir ($p>0,05$) (Tablo 4.6; Şekil 4.5).

1/4 MİK OX ile 0,032 mg/mL AST ve 1/8 MİK OX ile 0,016 mg/mL AST kombinasyon dozlarının MRSA4 izolatının büyüme etkisine 1/4 MİK OX ve 1/8 MİK OX dozlarının tek başına etkisine göre sırasıyla 0,70 log birim ve 1,48 log birim büyüme oranını azalttığını göstermiştir ($p>0,05$) (Tablo 4.6; Şekil 4.5).

1/16 MİK OX ile 0,008 mg/mL AST ve 1/32 MİK OX ile 0,0004 mg/mL AST kombinasyon dozunun MRSA4 izolatının büyüme etkisini 1/16 MİK OX ve 1/32 MİK OX tek dozuna oranla sırasıyla 0,25 log ve 0,59 log birim azalttığı gözlemlenmiştir ($p>0,05$) (Tablo 4.6; Şekil 4.5).

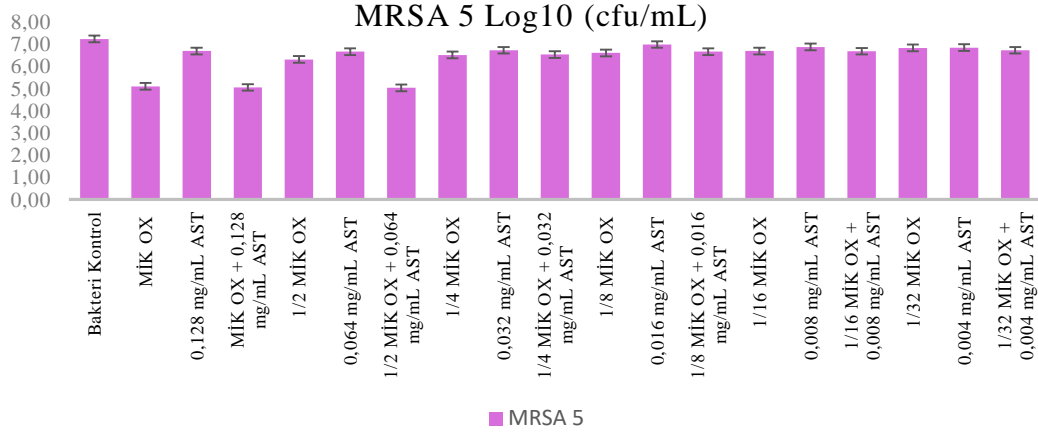
Tablo 4.6. Astaksantin ve Oksasilin Ajanlarının MRSA4 İzolatının Büyüme Oranına Etkisi.

	AJAN UYGULAMALARI	Log (cfu/mL) ORT ± SD	P
MRSA4	BAKTERİ KONTROL	7,126^a ± 0,036	
	MİK OX	6,956 ^a ± 0,05	
MİK OX 0,128 mg/mL AST	0,128 mg/mL AST	6,9502 ^a ± 0,006	0,145
	MİK OX - 0,128 mg/mL AST	5,7058 ^a ± 0,102	
	1/2 MİK OX	6,8872 ^a ± 0,083	
1/2 MİK OX 0,064 mg/mL AST	0,064 mg/mL AST	6,8982 ^a ± 0,047	0,145
	1/2 MİK OX - 0,064 mg/mL AST	5,8934 ^a ± 0,051	
	1/4 MİK OX	7,0065 ^a ± 0,085	
1/4 MİK OX 0,032 mg/mL AST	0,032 mg/mL AST	6,7993 ^a ± 0,01	0,112
	1/4 MİK OX - 0,032 mg/mL AST	6,3039 ^a ± 0,037	
	1/8 MİK OX	6,9715 ^a ± 0,013	
1/8 MİK OX 0,016 mg/mL AST	0,016 mg/mL AST	6,831 ^a ± 0,01	0,112
	1/8 MİK OX - 0,016 mg/mL AST	5,5015 ^a ± 0,048	
	1/16 MİK OX	6,95 ^a ± 0,017	
1/16 MİK OX 0,008 mg/mL AST	0,008 mg/mL AST	6,762 ^a ± 0,016	0,112
	1/16 MİK OX - 0,008 mg/mL AST	6,6923 ^a ± 0,045	
	1/32 MİK OX	7,0366 ^a ± 0,052	
1/32 MİK OX 0,004 mg/mL AST	0,004 mg/mL AST	7,0131 ^a ± 0,058	0,112
	1/32 MİK OX - 0,0004 mg/mL AST	6,4527 ^a ± 0,061	

Aynı harfler gruplar arasında anlamlı fark olmadığını göstermektedir (p>0,05). AST: Astaksantin, OX: Oksasilin, MİK: Minimum İnhibitör Konsantrasyon, Ort: Ortalama, SD: Standart Sapma.

4.5.1.5 MRSA5

Astaksantin ve Oksasilinin MRSA5 izolatının tüm dozlarındaki tek ve kombinasyon uygulamalarının bakterinin büyüme oranına herhangi anlamlı bir etkisi gözlemlenmemiştir ($p>0,05$) (Tablo 4.7 Şekil 4.6).



Şekil 4.6. Astaksantin ve Oksasilinin Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA5 İzolatının Büyüme Oranına etkisi. AST : Astaksantin, OX: Oksasilin.

MİK OX ile 0,128 mg/mL ve 1/2 MİK OX ile 0,064 mg/mL kombinasyon dozlarının MRSA5 izolatının büyüme etkisine MİK OX ve 1/2 MİK OX dozlarının tek başına etkisine göre sırasıyla 0,05 log birim ve 1,29 log birim büyüme oranını azalttığını göstermiştir ($p>0,05$) (Tablo 4.7; Şekil 4.6).

1/4 MİK OX ile 0,032 mg/mL AST ve 1/8 MİK OX ile 0,016 mg/mL AST kombinasyon dozlarının MRSA5 izolatının büyüme etkisine 1/4 MİK OX ve 1/8 MİK OX dozlarının tek başına etkisine göre sırasıyla 0,03 log birim ve 0,06 log birim büyüme oranını arttırdığını göstermiştir ($p>0,05$) (Tablo 4.7; Şekil 4.6).

1/16 MİK OX ile 0,008 mg/mL AST kombinasyonunun ve 1/16 MİK OX dozlarının MRSA5 izolatının büyüme oranına etkisi arasında bir fark yokken 1/32 MİK OX ile 0,0004 mg/mL AST kombinasyon dozunun 1/32 MİK OX tek dozuna oranla izolatın büyümesini 0,12 log birim azalttığı gözlemlenmiştir ($p>0,05$) (Tablo 4.7; Şekil 4.6).

Tablo 4.7. Astaksantin ve Oksasilin Ajanlarının MRSA5 İzolatının Büyüme Oranına Etkisi.

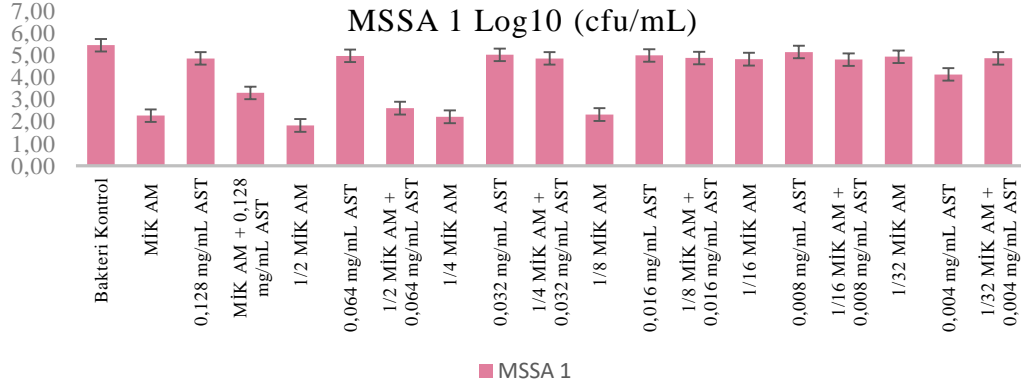
	AJAN UYGULAMALARI	Log (cfu/mL) ORT ± SD	P
MRSA5	BAKTERİ KONTROL	7,2257^a ± 0,061	
	MİK OX	5,0992 ^a ± 0,161	
MİK OX 0,128 mg/mL AST	0,128 mg/mL AST	6,6867 ^a ± 0,021	0,615
	MİK OX - 0,128 mg/mL AST	5,0496 ^a ± 0,09	
	1/2 MİK OX	6,3162 ^a ± 0,086	
1/2 MİK OX 0,064 mg/mL AST	0,064 mg/mL AST	6,6549 ^a ± 0,045	0,615
	1/2 MİK OX - 0,064 mg/mL AST	5,026 ^a ± 0,058	
	1/4 MİK OX	6,5058 ^a ± 0,048	
1/4 MİK OX 0,032 mg/mL AST	0,032 mg/mL AST	6,7148 ^a ± 0,04	0,345
	1/4 MİK OX - 0,032 mg/mL AST	6,5340 ^a ± 0,88	
	1/8 MİK OX	6,6028 ^a ± 0,043	
1/8 MİK OX 0,016 mg/mL AST	0,016 mg/mL AST	6,975 ^a ± 0,055	0,241
	1/8 MİK OX - 0,016 mg/mL AST	6,6560 ^a ± 0,027	
	1/16 MİK OX	6,6931 ^a ± 0,068	
1/16 MİK OX 0,008 mg/mL AST	0,008 mg/mL AST	6,8682 ^a ± 0,007	1,00
	1/16 MİK OX - 0,008 mg/mL AST	6,6818 ^a ± 0,020	
	1/32 MİK OX	6,8338 ^a ± 0,064	
1/32 MİK OX 0,004 mg/mL AST	0,004 mg/mL AST	6,8438 ^a ± 0,045	0,753
	1/32 MİK OX - 0,0004 mg/mL AST	6,7164 ^a ± 0,045	

Aynı harfler gruplar arasında anlamlı fark olmadığını göstermektedir ($p>0,05$). AST: Astaksantin, OX: Oksasilin, MİK: Minimum İnhibitör Konsantrasyon, Ort: Ortalama, SD: Standart Sapma.

4.5.2 Astaksantin ile Ampisilin Kombinasyonlarının Bakteriyel Büyüme Üzerindeki Etkisi

4.5.2.1 MSSA1

Astaksantin ve Ampisilin MSSA1 izolatının tüm dozlarındaki tek ve kombinasyon uygulamalarının bakterinin büyüme oranına herhangi anlamlı bir etkisi gözlemlenmemiştir ($p>0,05$) (Tablo 4.8 Şekil 4.7).



Şekil 4.7. Astaksantin ve Ampisilin Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MSSA1 İzolatının Büyüme Oranına etkisi. AST : Astaksantin, AM: Ampisilin.

MİK AM ile 0,128 mg/mL AST, 1/2 MİK AM ile 0,064 mg/mL AST, 1/4 MİK AM ile 0,032 mg/mL AST, 1/8 MİK AM ile 0,016 mg/mL AST kombinasyon dozlarında antibiyotiklerin tek başına uygulanan dozlarına göre sırasıyla 1,03 log birim, 0,58 log birim, 2,63 log birim ve 0,55 log birim MSSA1 izolatının bakteriyel büyüme oranında artma gözlemlenmiştir ($p>0,05$) (Tablo 4.8; Şekilde 4.7).

1/16 MİK AM ile 0,008 mg/MI AST ve 1,32 MİK AM ile 0,004 mg/MI AST kombinasyon uygulanan MSSA1 izolatının bakteriyel büyümesi antibiyotiklerin tek dozlarına oranla sırasıyla 0,03 log birim ve 0,07 log birim azaldığı gözlemlenmiştir ($p>0,05$) (Tablo 4.8; Şekilde 4.7).

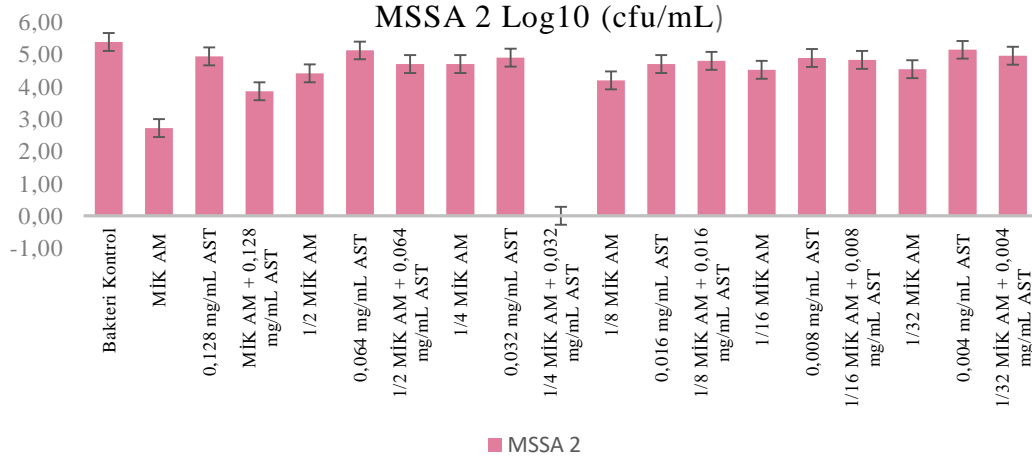
Tablo 4.8. Astaksantin ve Ampisilin Ajanlarının MSSA1 İzolatının Bakteriyel Büyüme Oranına Etkisi.

AJAN UYGULAMALARI		Log (cfu/mL) ORT ± SD	P
MSSA1	BAKTERİ KONTROL	5,44^a ± 0,028	
	MİK AM	2,26 ^a ± 0,06	
MİK AM 0,128 mg/mL AST	0,128 mg/mL AST	4,835 ^a ± 0,015	0,112
	MİK AM ile 0,128 mg/mL AST	3,29 ^a ± 0,24	
	1/2 MİK AM	1,824 ^a ± 0,00	
1/2 MİK AM 0,064 mg/mL AST	0,064 mg/mL AST	4,962 ^a ± 0,034	0,112
	1/2 MİK AM - 0,064 mg/mL AST	2,60 ^a ± 0,10	
	1/4 MİK AM	2,213 ^a ± 0,125	
1/4 MİK AM 0,032 mg/mL AST	0,032 mg/mL AST	5,012 ^a ± 0,06	0,112
	1/4 MİK AM - 0,032 mg/mL AST	4,84 ^a ± 0,03	
	1/8 MİK AM	2,313 ^a ± 0,69	
1/8 MİK AM 0,016 mg/mL AST	0,016 mg/mL AST	4,985 ^a ± 0,021	0,145
	1/8 MİK AM - 0,016 mg/mL AST	4,869 ^a ± 0,19	
	1/16 MİK AM	4,813 ^a ± 0,016	
1/16 MİK AM 0,008 mg/mL AST	0,008 mg/mL AST	5,13 ^a ± 0,001	0,12
	1/16 MİK AM - 0,008 mg/mL AST	4,789 ^a ± 0,05	
	1/32 MİK AM	4,923 ^a ± 0,11	
1/32 MİK AM 0,004 mg/mL AST	0,004 mg/mL AST	4,12 ^a ± 0,023	0,112
	1/32 MİK AM - 0,0004 mg/mL AST	4,85 ^a ± 0,03	

Aynı harfler gruplar arasında anlamlı fark olmadığını göstermektedir (p>0,05). AST: Astaksantin, AM: Ampisilin, MİK: Minimum İnhibitör Konsantrasyon, Ort: Ortalama, SD: Standart Sapma.

4.5.2.2 MSSA2

Astaksantin ve Ampisilinin MSSA2 izolatının tüm dozlarındaki tek ve kombinasyon uygulamalarının bakterinin büyüme oranına herhangi anlamlı bir etkisi gözlemlenmemiştir ($p>0,05$) (Tablo 4.9 Şekil 4.8).



Şekil 4.8. Astaksantin ve Ampisilinin Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MSSA2 İzolatının Büyüme Oranına etkisi. AST : Astaksantin, AM: Ampisilin.

MİK AM ile 0,128 mg/mL AST ve 1/2 MİK AM ile 0,064 mg/mL AST kombinasyon dozlarında antibiyotiklerin tek başına uygulanan dozlarına göre sırasıyla 1,14 log birim ve 0,30 log birim MSSA2 izolatının bakteriyel büyüme oranında artma gözlemlenmiştir ($p>0,05$) (Tablo 4.9 Şekil 4.8).

1/4 MİK AM ile 0,032 mg/mL AST kombinasyon dozu antibiyotiğin tek başına uygulamasına göre bakteriyel büyümeyi 4,68 log birim indirerek sıfırladığı gözlemlenmiştir ($p>0,05$) (Tablo 4.9 Şekil 4.8).

1/8 MİK AM ile 0,016 mg/mL AST, 1/16 MİK AM ile 0,008 mg/mL AST ve 1,32 MİK AM ile 0,004 mg/mL AST kombinasyon uygulanan MSSA2 izolatının bakteriyel büyümesi antibiyotiklerin tek dozlarına oranla sırasıyla 0,60 log birim, 0,29 log birim ve 0,42 log birim arttırdığı gözlemlenmiştir ($p>0,05$) (Tablo 4.9; Şekil 4.8)

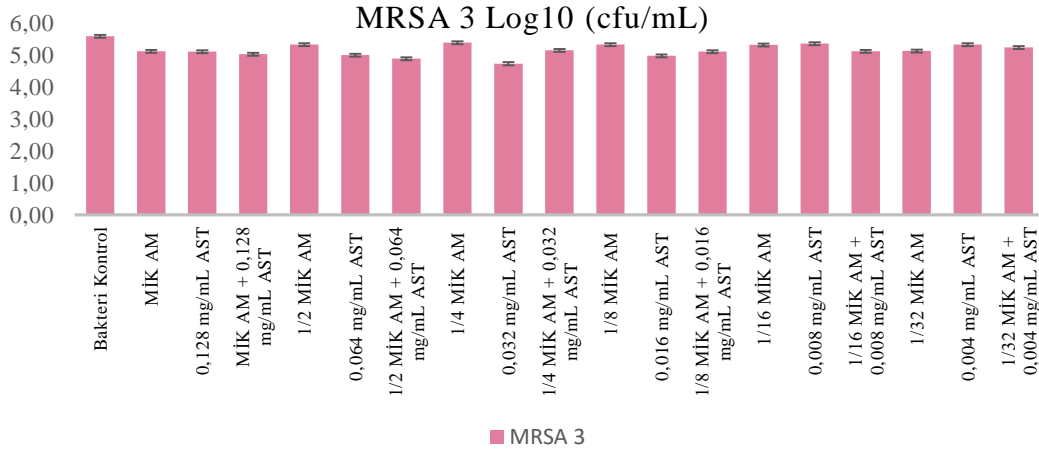
Tablo 4.9. Astaksantin ve Ampisilin Ajanlarının MSSA2 İzolatının Bakteriyel Büyüme Oranına Etkisi.

AJAN UYGULAMALARI		Log (cfu/mL) ORT ± SD	P
MSSA2	BAKTERİ KONTROL	5,367 ^a ± 0,007	
	MİK AM	2,72 ^a ± 0,117	
MİK AM 0,128 mg/mL AST	0,128 mg/mL AST	4,948 ^a ± 0,27	0,896
	MİK AM - 0,128 mg/mL AST	3,863 ^a ± 0,29	
	1/2 MİK AM	4,41 ^a ± 0,13	
1/2 MİK AM 0,064 mg/mL AST	0,064 mg/mL AST	5,118 ^a ± 0,11	0,145
	1/2 MİK AM - 0,064 mg/mL AST	4,71 ^a ± 0,04	
	1/4 MİK AM	4,682 ^a ± 0,064	
1/4 MİK AM 0,032 mg/mL AST	0,032 mg/mL AST	4,90 ^a ± 0,02	0,241
	1/4 MİK AM - 0,032 mg/mL AST	0,00 ^a ± 0,00	
	1/8 MİK AM	4,195 ^a ± 0,13	
1/8 MİK AM 0,016 mg/mL AST	0,016 mg/mL AST	4,72 ^a ± 0,064	0,615
	1/8 MİK AM - 0,016 mg/mL AST	4,79 ^a ± 0,11	
	1/16 MİK AM	4,525 ^a ± 0,01	
1/16 MİK AM 0,008 mg/mL AST	0,008 mg/mL AST	4,89 ^a ± 0,086	0,562
	1/16 MİK AM - 0,008 mg/mL AST	4,835 ^a ± 0,02	
	1/32 MİK AM	4,541 ^a ± 0,032	
1/32 MİK AM 0,004 mg/mL AST	0,004 mg/mL AST	5,14 ^a ± 0,11	0,308
	1/32 MİK AM - 0,0004 mg/mL AST	4,958 ^a ± 0,09	

Aynı harfler gruplar arasında anlamlı fark olmadığını göstermektedir (p>0,05). AST: Astaksantin, AM: Ampisilin, MİK: Minimum İnhibitör Konsantrasyon, Ort: Ortalama, SD: Standart Sapma.

4.5.2.3 MRSA3

Astaksantin ve Ampisilin MRSA3 izolatının tüm dozlarındaki tek ve kombinasyon uygulamalarının bakterinin büyüme oranına herhangi anlamlı bir etkisi gözlemlenmemiştir ($p>0,05$) (Tablo 4.10 Şekil 4.9).



Şekil 4.9. Astaksantin ve Ampisilin Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA3 İzolatının Büyüme Oranına etkisi. AST : Astaksantin, AM: Ampisilin.

MİK AM ile 0,128 mg/mL AST ve 1/2 MİK AM ile 0,064 mg/mL AST kombinasyon dozlarında antibiyotiklerin tek başına uygulanan dozlarına göre sırasıyla 0,08 log birim ve 0,44 log birim MRSA3 izolatının bakteriyel büyüme oranında azalma gözlemlenmiştir. 1/4 MİK AM ile 0,032 mg/mL AST kombinasyon dozu antibiyotiğin tek başına uygulamasına göre bakteriyel büyümeyi 0,24 log birim indirerek azalttığı gözlemlenmiştir ($p>0,05$) (Tablo 4.10 Şekil 4.9).

1/8 MİK AM ile 0,016 mg/mL AST ve 1/16 MİK AM ile 0,008 mg/mL AST kombinasyon dozlarının MRSA3 izolatında antibiyotiklerin tek dozlarına oranla sırasıyla 0,22 log birim ve 0,20 log birim azalttığı gözlenirken 1/32 MİK AM ile 0,004 mg/mL AST kombinasyon uygulanan MRSA3 izolatının bakteriyel büyümesi tek doz antibiyotk uygulamasına göre 0,11 log birim artmıştır ($p>0,05$) (Tablo 4.10 Şekil 4.9).

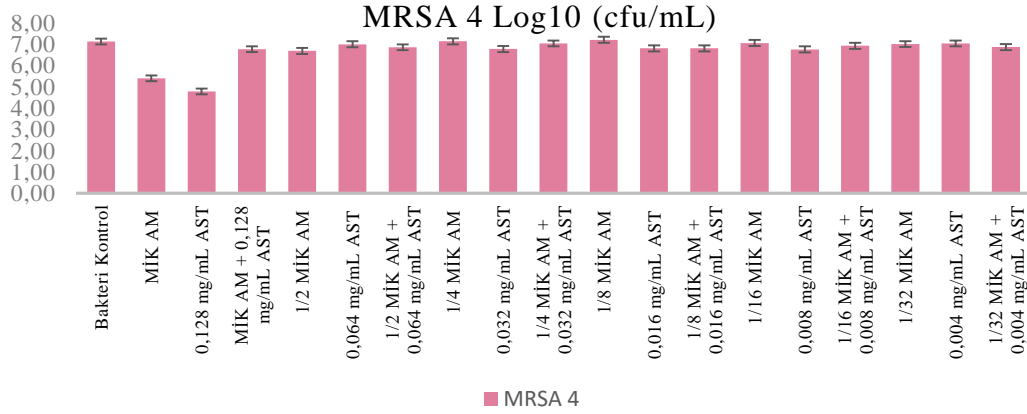
Tablo 4.10. Astaksantin ve Ampisilin Ajanlarının MRSA3 İzolatının Bakteriyel Büyüme Oranına Etkisi.

AJAN UYGULAMALARI		Log (cfu/mL) ORT ± SD	P
MRSA3	BAKTERİ KONTROL	5,592^a ± 0,039	
	MİK AM	5,123 ^a ± 0,262	
MİK AM 0,128 mg/mL AST	0,128 mg/mL AST	5,111 ^a ± 0,02	0,494
	MİK AM - 0,128 mg/mL AST	5,034 ^a ± 0,048	
	1/2 MİK AM	5,329 ^a ± 0,014	
1/2 MİK AM 0,064 mg/mL AST	0,064 mg/mL AST	5,003 ^a ± 0,08	0,896
	1/2 MİK AM - 0,064 mg/mL AST	4,889 ^a ± 0,033	
	1/4 MİK AM	5,385 ^a ± 0,07	
1/4 MİK AM 0,032 mg/mL AST	0,032 mg/mL AST	4,730 ^a ± 0,293	0,896
	1/4 MİK AM - 0,032 mg/mL AST	5,146 ^a ± 0,007	
	1/8 MİK AM	5,333 ^a ± 0,07	
1/8 MİK AM 0,016 mg/mL AST	0,016 mg/mL AST	4,977 ^a ± 0,032	0,241
	1/8 MİK AM - 0,016 mg/mL AST	5,115 ^a ± 0,152	
	1/16 MİK AM	5,317 ^a ± 0,27	
1/16 MİK AM 0,008 mg/mL AST	0,008 mg/mL AST	5,362 ^a ± 0,009	0,494
	1/16 MİK AM - 0,008 mg/mL AST	5,117 ^a ± 0,012	
	1/32 MİK AM	5,129 ^a ± 0,036	
1/32 MİK AM 0,004 mg/mL AST	0,004 mg/mL AST	5,335 ^a ± 0,048	0,615
	1/32 MİK AM - 0,0004 mg/mL AST	5,235 ^a ± 0,006	

Aynı harfler gruplar arasında anlamlı fark olmadığını göstermektedir (p>0,05). AST: Astaksantin, AM: Ampisilin, MİK: Minimum İnhibitör Konsantrasyon, Ort: Ortalama, SD: Standart Sapma.

4.5.2.4 MRSA4

Astaksantin ve Ampisilin MRSA4 izolatının tüm dozlarındaki tek ve kombinasyon uygulamalarının bakterinin büyüme oranına herhangi anlamlı bir etkisi gözlemlenmemiştir ($p>0,05$) (Tablo 4.11 Şekil 4.10).



Şekil 4.10 Astaksantin ve Ampisilin Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA4 İzolatının Büyüme Oranına etkisi. AST : Astaksantin, AM: Ampisilin.

MİK AM ile 0,128 mg/mL AST ve 1/2 MİK AM ile 0,064 mg/mL AST kombinasyon dozlarında antibiyotiklerin tek başına uygulanan dozlarına göre sırasıyla 1,36 log birim ve 0,17 log birim MRSA4 izolatının bakteriyel büyüme oranında artma gözlemlenmiştir. 1/4 MİK AM ile 0,032 mg/mL AST kombinasyon dozu antibiyotiğin tek başına uygulamasına göre bakteriyel büyümeyi 0,09 log birim indirerek azalttığı gözlemlenmiştir ($p>0,05$) (Tablo 4.11 Şekil 4.10).

1/8 MİK AM ile 0,016 mg/mL AST ve 1/16 MİK AM ile 0,008 mg/mL AST kombinasyon dozlarının MRSA4 izolatında antibiyotiklerin tek dozlarına oranla sırasıyla 0,36 log birim ve 0,12 log birim azalttığı gözlenirken 1/32 MİK AM ile 0,004 mg/mL AST kombinasyon uygulanan MRSA4 izolatının bakteriyel büyümesi tek doz antibiyotik uygulamasına göre 0,16 log birim azalmıştır ($p>0,05$) (Tablo 4.11 Şekil 4.10).

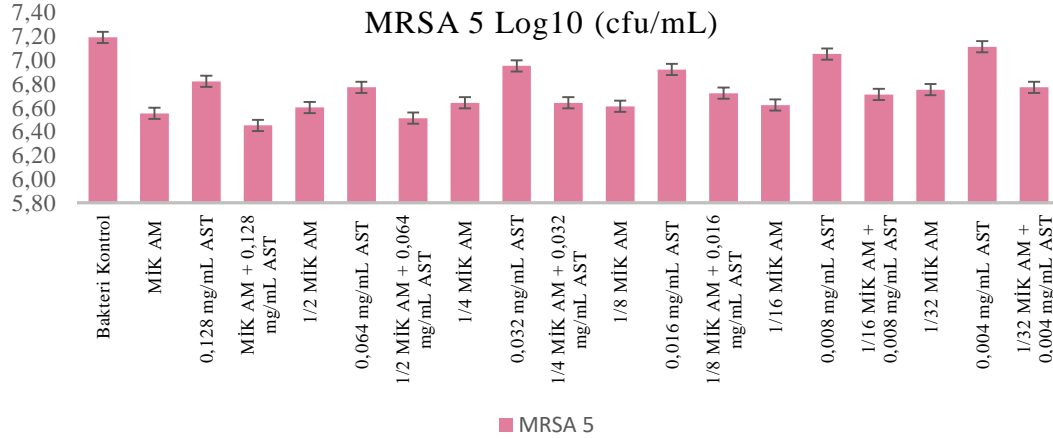
Tablo 4.11. Astaksantin ve Ampisilin Ajanlarının MRSA4 İzolatının Bakteriyel Büyüme Oranına Etkisi.

AJAN UYGULAMALARI		Log (cfu/mL) ORT ± SD	P
MRSA4	BAKTERİ KONTROL	7,124^a ± 0,038	
	MİK AM	5,389 ^a ± 0,125	
MİK AM 0,128 mg/mL AST	0,128 mg/mL AST	4,777 ^a ± 0,034	0,112
	MİK AM - 0,128 mg/mL AST	6,7562 ^a ± 0,041	
	1/2 MİK AM	6,6784 ^a ± 0,29	
1/2 MİK AM 0,064 mg/mL AST	0,064 mg/mL AST	6,995 ^a ± 0,047	0,145
	1/2 MİK AM - 0,064 mg/mL AST	6,852 ^a ± 0,005	
	1/4 MİK AM	7,1178 ^a ± 0,010	
1/4 MİK AM 0,032 mg/mL AST	0,032 mg/mL AST	6,7657 ^a ± 0,018	0,145
	1/4 MİK AM - 0,032 mg/mL AST	7,0298 ^a ± 0,052	
	1/8 MİK AM	7,1899 ^a ± 0,069	
1/8 MİK AM 0,016 mg/mL AST	0,016 mg/mL AST	6,801 ^a ± 0,032	0,112
	1/8 MİK AM - 0,016 mg/mL AST	6,8203 ^a ± 0,05	
	1/16 MİK AM	7,047 ^a ± 0,010	
1/16 MİK AM 0,008 mg/mL AST	0,008 mg/mL AST	6,753 ^a ± 0,036	0,241
	1/16 MİK AM - 0,008 mg/mL AST	6,92 ^a ± 0,313	
	1/32 MİK AM	6,9955 ^a ± 0,058	
1/32 MİK AM 0,004 mg/mL AST	0,004 mg/mL AST	7,0303 ^a ± 0,043	0,145
	1/32 MİK AM - 0,0004 mg/mL AST	6,8568 ^a ± 0,078	

Aynı harfler gruplar arasında anlamlı fark olmadığını göstermektedir (p>0,05). AST: Astaksantin, AM: Ampisilin, MİK: Minimum İnhibitör Konsantrasyon, Ort: Ortalama, SD: Standart Sapma.

4.5.2.5 MRSA5

Astaksantin ve Ampisilin MRSA5 izolatının tüm dozlarındaki tek ve kombinasyon uygulamalarının bakterinin büyüme oranına herhangi anlamlı bir etkisi gözlemlenmemiştir ($p>0,05$) (Tablo 4.12 Şekil 4.11).



Şekil 4.11. Astaksantin ve Ampisilin Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA5 İzolatının Büyüme Oranına etkisi. AST : Astaksantin, AM: Ampisilin.

MİK AM ile 0,128 mg/mL AST ve 1/2 MİK AM ile 0,064 mg/mL AST kombinasyon dozlarında antibiyotiklerin tek başına uygulanan dozlarına göre sırasıyla 0,16 log birim ve 0,09 log birim MRSA5 izolatının bakteriyel büyüme oranında artma gözlemlenmiştir. 1/4 MİK AM ile 0,032 mg/mL AST kombinasyon dozu antibiyotiğin tek başına uygulamasına göre bakteriyel büyümede bir değişiklik olmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 4.12 Şekil 4.11).

1/8 MİK AM ile 0,016 mg/mL AST ve 1/16 MİK AM ile 0,008 mg/mL AST kombinasyon dozlarının MRSA5 izolatında antibiyotiklerin tek dozlarına oranla sırasıyla 0,11 log birim ve 0,09 log birim arttırdığı gözlenirken 1/32 MİK AM ile 0,004 mg/mL AST kombinasyon uygulanan MRSA5 izolatının bakteriyel büyümesi tek doz antibiyotk uygulamasına göre 0,03 log birim arttırmıştır ($p>0,05$) (Tablo 4.12 Şekil 4.11).

Tablo 4.12. Astaksantin ve Ampisilin Ajanlarının MRSA5 İzolatının Bakteriyel Büyüme Oranına Etkisi.

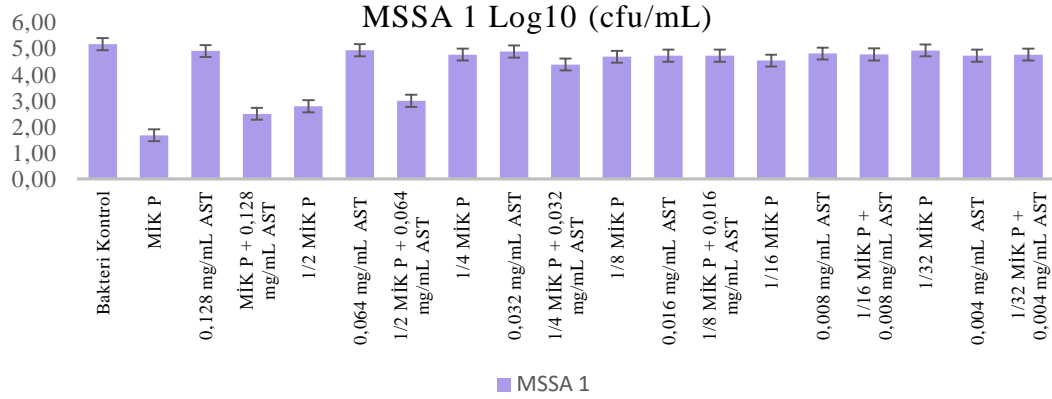
	AJAN UYGULAMALARI	Log (cfu/mL) ORT ± SD	P
MRSA5	BAKTERİ KONTROL	7,1851^a ± 0,013	
	MİK AM	6,551 ^a ± 0,099	
MİK AM 0,128 mg/mL AST	0,128 mg/mL AST	6,8167 ^a ± 0,068	0,494
	MİK AM - 0,128 mg/mL AST	6,4536 ^a ± 0,03	
	1/2 MİK AM	6,603 ^a ± 0,094	
1/2 MİK AM 0,064 mg/mL AST	0,064 mg/mL AST	6,7705 ^a ± 0,038	0,753
	1/2 MİK AM - 0,064 mg/mL AST	6,5122 ^a ± 0,16	
	1/4 MİK AM	6,6391 ^a ± 0,079	
1/4 MİK AM 0,032 mg/mL AST	0,032 mg/mL AST	6,9507 ^a ± 0,004	0,241
	1/4 MİK AM - 0,032 mg/mL AST	6,6389 ^a ± 0,021	
	1/8 MİK AM	6,6049 ^a ± 0,048	
1/8 MİK AM 0,016 mg/mL AST	0,016 mg/mL AST	6,9177 ^a ± 0,005	0,753
	1/8 MİK AM - 0,016 mg/mL AST	6,7199 ^a ± 0,01	
	1/16 MİK AM	6,6163 ^a ± 0,025	
1/16 MİK AM 0,008 mg/mL AST	0,008 mg/mL AST	7,0449 ^a ± 0,043	0,896
	1/16 MİK AM - 0,008 mg/mL AST	6,7069 ^a ± 0,025	
	1/32 MİK AM	6,7450 ^a ± 0,011	
1/32 MİK AM 0,004 mg/mL AST	0,004 mg/mL AST	7,1046 ^a ± 0,004	0,494
	1/32 MİK AM - 0,0004 mg/mL AST	6,7668 ^a ± 0,033	

Aynı harfler gruplar arasında anlamlı fark olmadığını göstermektedir (p>0,05). AST: Astaksantin, AM: Ampisilin, MİK: Minimum İnhibitör Konsantrasyon, Ort: Ortalama, SD: Standart Sapma.

4.5.3 Astaksantin ile Penisilin Kombinasyonlarının Bakteriyel Büyüme Üzerindeki Etkisi

4.5.3.1 MSSA1

Astaksantin ve Penisilin MSSA1 izolatının tüm dozlarındaki tek ve kombinasyon uygulamalarının bakterinin büyüme oranına herhangi anlamlı bir etkisi gözlemlenmemiştir ($p>0,05$) (Tablo 4.13 Şekil 4.12).



Şekil 4.12. Astaksantin ve Penisilin Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MSSA1 İzolatının Büyüme Oranına etkisi. AST : Astaksantin, P: Penisilin.

MİK P ile 0,128 mg/mL AST ve 1/2 MİK P ile 0,064 mg/mL AST kombinasyon dozlarında antibiyotiklerin tek başına uygulanan dozlarına göre sırasıyla 0,82 log birim ve 0,22 log birim MSSA1 izolatının bakteriyel büyüme oranında artma gözlemlenmiştir. 1/4 MİK P ile 0,032 mg/mL AST kombinasyon dozu antibiyotigin tek başına uygulamasına göre bakteriyel büyümede 0,38 log birim azalma gözlemlenmiştir ($p>0,05$) (Tablo 4.13 Şekil 4.12).

1/8 MİK AM ile 0,016 mg/mL AST ve 1/16 MİK AM ile 0,008 mg/mL AST kombinasyon dozlarının MSSA1 izolatında antibiyotiklerin tek dozlarına oranla sırasıyla 0,04 log birim ve 0,24 log birim arttırdığı gözlenirken 1/32 MİK P ile 0,004 mg/mL AST kombinasyon uygulanan MSSA1 izolatının bakteriyel büyümesi tek doz antibiyotik uygulamasına göre 0,16 log birim azaltmıştır ($p>0,05$) (Tablo 4.13 Şekil 4.12).

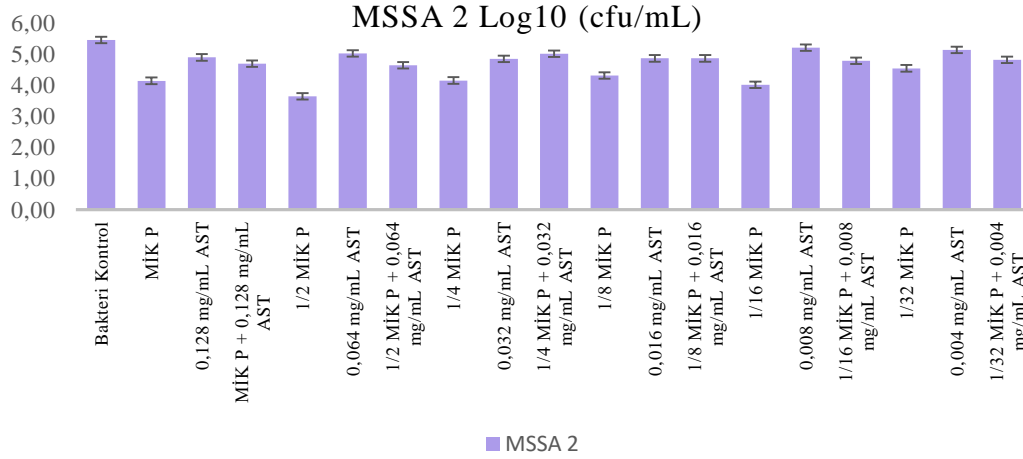
Tablo 4.13. Astaksantin ve Penisilin Ajanlarının MSSA1 İzolatının Bakteriyel Büyüme Oranına Etkisi.

AJAN UYGULAMALARI		Log (cfu/mL) ORT ± SD	P
MSSA1	BAKTERİ KONTROL	5,164^a ± 0,04	
	MİK P	1,673 ^a ± 0,21	
MİK P 0,128 mg/mL AST	0,128 mg/mL AST	4,908 ^a ± 0,008	0,112
	MİK P - 0,128 mg/mL AST	2,491 ^a ± 0,02	
	1/2 MİK P	2,78 ^a ± 0,43	
1/2 MİK P 0,064 mg/mL AST	0,064 mg/mL AST	4,929 ^a ± 0,012	0,145
	1/2 MİK P - 0,064 mg/mL AST	2,998 ^a ± 0,003	
	1/4 MİK P	4,757 ^a ± 0,02	
1/4 MİK P 0,032 mg/mL AST	0,032 mg/mL AST	4,884 ^a ± 0,012	0,112
	1/4 MİK P - 0,032 mg/mL AST	4,38 ^a ± 0,177	
	1/8 MİK P	4,678 ^a ± 0,103	
1/8 MİK P 0,016 mg/mL AST	0,016 mg/mL AST	4,726 ^a ± 0,057	0,308
	1/8 MİK P - 0,016 mg/mL AST	4,721 ^a ± 0,074	
	1/16 MİK P	4,527 ^a ± 0,39	
1/16 MİK P 0,008 mg/mL AST	0,008 mg/mL AST	4,81 ^a ± 0,018	0,145
	1/16 MİK P - 0,008 mg/mL AST	4,767 ^a ± 0,002	
	1/32 MİK P	4,918 ^a ± 0,16	
1/32 MİK P 0,004 mg/mL AST	0,004 mg/mL AST	4,719 ^a ± 0,049	0,112
	1/32 MİK P - 0,0004 mg/mL AST	4,761 ^a ± 0,024	

Aynı harfler gruplar arasında anlamlı fark olmadığını göstermektedir (p>0,05). AST: Astaksantin, P: Penisilin, MİK: Minimum İnhibitör Konsantrasyon, Ort: Ortalama, SD: Standart Sapma.

4.5.3.2 MSSA2

Astaksantin ve Penisilin MSSA2 izolatının tüm dozlarındaki tek ve kombinasyon uygulamalarının bakterinin büyüme oranına herhangi anlamlı bir etkisi gözlemlenmemiştir ($p>0,05$) (Tablo 4.14 Şekil 4.13).



Şekil 4.13. Astaksantin ve Penisilin'in Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MSSA2 İzolatının Büyüme Oranına etkisi. AST : Astaksantin, P: Penisilin.

MİK P ile 0,128 mg/mL AST ve 1/2 MİK P ile 0,064 mg/mL AST kombinasyon dozlarında antibiyotiklerin tek başına uygulanan dozlarına göre sırasıyla 0,55 log birim ve 1,00 log birim MSSA2 izolatının bakteriyel büyüme oranında artma gözlemlenmiştir. 1/4 MİK P ile 0,032 mg/mL AST kombinasyon dozu antibiyotiğin tek başına uygulamasına göre bakteriyel büyümede 0,85 log birim artma gözlemlenmiştir ($p>0,05$) (Tablo 4.14 Şekil 4.13).

1/8 MİK AM ile 0,016 mg/mL AST ve 1/16 MİK AM ile 0,008 mg/mL AST kombinasyon dozlarının MSSA2 izolatında antibiyotiklerin tek dozlarına oranla sırasıyla 0,55 log birim ve 0,83 log birim arttırdığı gözlenirken 1/32 MİK P ile 0,004 mg/mL AST kombinasyon uygulanan MSSA2 izolatının bakteriyel büyümesi tek doz antibiyotik uygulamasına göre 0,27 log birim arttırmıştır ($p>0,05$) (Tablo 4.14 Şekil 4.13).

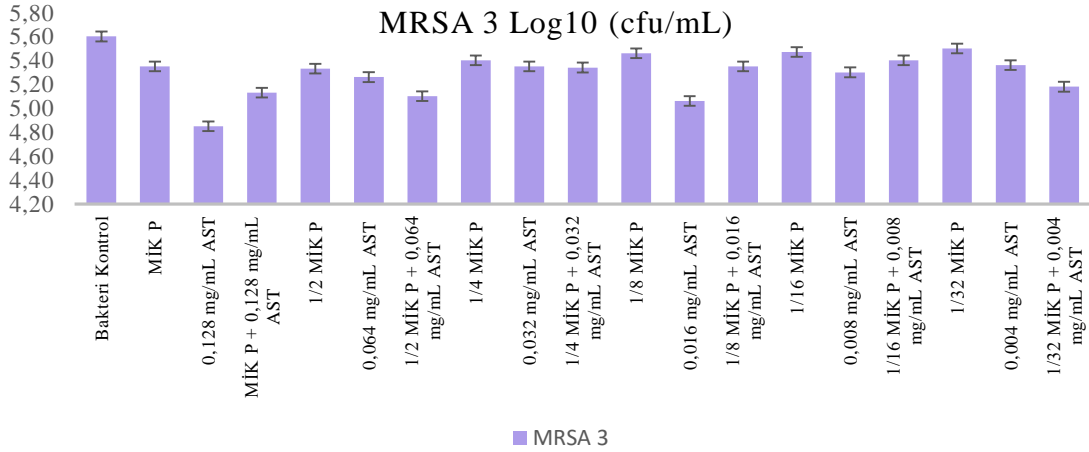
Tablo 4.14 Astaksantin ve Penisilin Ajanlarının MSSA2 İzolatının Bakteriyel Büyüme Oranına Etkisi.

AJAN UYGULAMALARI		Log (cfu/mL) ORT ± SD	P
MSSA2	BAKTERİ KONTROL	5,44^a ± 0,054	
	MİK P	4,128 ^a ± 0,81	
MİK P 0,128 mg/mL AST	0,128 mg/mL AST	4,885 ^a ± 0,131	0,145
	MİK P - 0,128 mg/mL AST	4,678 ^a ± 0,31	
	1/2 MİK P	3,635 ^a ± 0,297	
1/2 MİK P 0,064 mg/mL AST	0,064 mg/mL AST	5,014 ^a ± 0,02	0,896
	1/2 MİK P - 0,064 mg/mL AST	4,636 ^a ± 0,14	
	1/4 MİK P	4,145 ^a ± 0,044	
1/4 MİK P 0,032 mg/mL AST	0,032 mg/mL AST	4,835 ^a ± 0,015	0,145
	1/4 MİK P - 0,032 mg/mL AST	5,007 ^a ± 0,21	
	1/8 MİK P	4,305 ^a ± 0,005	
1/8 MİK P 0,016 mg/mL AST	0,016 mg/mL AST	4,846 ^a ± 0,295	0,241
	1/8 MİK P - 0,016 mg/mL AST	4,852 ^a ± 0,112	
	1/16 MİK P	4,002 ^a ± 0,002	
1/16 MİK P 0,008 mg/mL AST	0,008 mg/mL AST	5,190 ^a ± 0,02	0,241
	1/16 MİK P - 0,008 mg/mL AST	4,835 ^a ± 0,116	
	1/32 MİK P	4,53 ^a ± 0,57	
1/32 MİK P 0,004 mg/mL AST	0,004 mg/mL AST	5,116 ^a ± 0,035	0,615
	1/32 MİK P - 0,0004 mg/mL AST	4,803 ^a ± 0,015	

Aynı harfler gruplar arasında anlamlı fark olmadığını göstermektedir (p>0,05). AST: Astaksantin, P: Penisilin, MİK: Minimum İnhibitör Konsantrasyon, Ort: Ortalama, SD: Standart Sapma.

4.5.3.3 MRSA3

Astaksantin ve Penisilin MRSA3 izolatının tüm dozlarındaki tek ve kombinasyon uygulamalarının bakterinin büyüme oranına herhangi anlamlı bir etkisi gözlemlenmemiştir ($p>0,05$) (Tablo 4.15 Şekil 4.14).



Şekil 4.14. Astaksantin ve Penisilin Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA3 İzolatının Büyüme Oranına etkisi. AST : Astaksantin, P: Penisilin.

MİK P ile 0,128 mg/mL AST ve 1/2 MİK P ile 0,064 mg/mL AST kombinasyon dozlarında antibiyotiklerin tek başına uygulanan dozlarına göre sırasıyla 0,22 log birim ve 0,23 log birim MRSA3 izolatının bakteriyel büyüme oranında azalma gözlemlenmiştir. 1/4 MİK P ile 0,032 mg/mL AST kombinasyon dozu antibiyotigin tek başına uygulamasına göre bakteriyel büyümede 0,07 log birim azalma gözlemlenmiştir ($p>0,05$) (Tablo 4.15 Şekil 4.14).

1/8 MİK AM ile 0,016 mg/mL AST ve 1/16 MİK AM ile 0,008 mg/mL AST kombinasyon dozlarının MRSA3 izolatında antibiyotiklerin tek dozlarına oranla sırasıyla 0,11 log birim ve 0,07 log birim azalttığı gözlenirken 1/32 MİK P ile 0,004 mg/mL AST kombinasyon uygulanan MRSA3 izolatının bakteriyel büyümesi tek doz antibiyotik uygulamasına göre 0,34 log birim azalmıştır ($p>0,05$) (Tablo 4.15 Şekil 4.14).

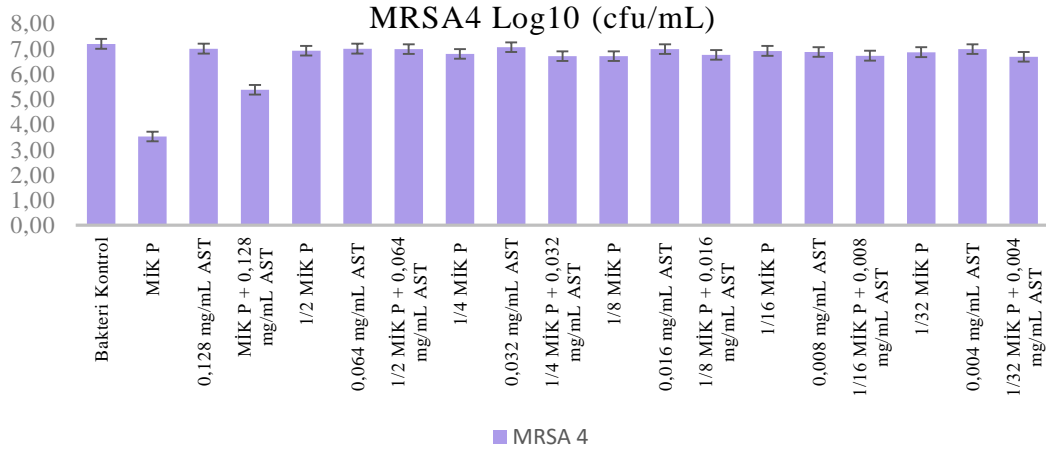
Tablo 4.15. Astaksantin ve Penisilin Ajanlarının MRSA3 İzolatının Bakteriyel Büyüme Oranına Etkisi.

	AJAN UYGULAMALARI	Log (cfu/mL) ORT ± SD	P
MRSA3	BAKTERİ KONTROL	5,60^a ± 0,05	
	MİK P	5,352 ^a ± 0,023	
MİK P 0,128 mg/mL AST	0,128 mg/mL AST	4,85 ^a ± 0,036	0,615
	MİK P - 0,128 mg/mL AST	5,13 ^a ± 0,023	
	1/2 MİK P	5,3324 ^a ± 0,005	
1/2 MİK P 0,064 mg/mL AST	0,064 mg/mL AST	5,261 ^a ± 0,056	0,241
	1/2 MİK P - 0,064 mg/mL AST	5,102 ^a ± 0,144	
	1/4 MİK P	5,412 ^a ± 0,02	
1/4 MİK P 0,032 mg/mL AST	0,032 mg/mL AST	5,355 ^a ± 0,00	0,494
	1/4 MİK P - 0,032 mg/mL AST	5,347 ^a ± 0,002	
	1/8 MİK P	5,462 ^a ± 0,004	
1/8 MİK P 0,016 mg/mL AST	0,016 mg/mL AST	5,063 ^a ± 0,088	0,392
	1/8 MİK P - 0,016 mg/mL AST	5,350 ^a ± 0,025	
	1/16 MİK P	5,472 ^a ± 0,007	
1/16 MİK P 0,008 mg/mL AST	0,008 mg/mL AST	5,315 ^a ± 0,03	0,494
	1/16 MİK P - 0,008 mg/mL AST	5,403 ^a ± 0,069	
	1/32 MİK P	5,518 ^a ± 0,065	
1/32 MİK P 0,004 mg/mL AST	0,004 mg/mL AST	5,362 ^a ± 0,009	0,18
	1/32 MİK P - 0,0004 mg/mL AST	5,179 ^a ± 0,003	

Aynı harfler gruplar arasında anlamlı fark olmadığını göstermektedir (p>0,05). AST: Astaksantin, P: Penisilin, MİK: Minimum İnhibitör Konsantrasyon, Ort: Ortalama, SD: Standart Sapma.

3.5.3.4 MRSA4

Astaksantin ve Penisilin MRSA4 izolatının tüm dozlarındaki tek ve kombinasyon uygulamalarının bakterinin büyüme oranına herhangi anlamlı bir etkisi gözlemlenmemiştir ($p>0,05$) (Tablo 4.16 Şekil 4.15).



Şekil 4.15. Astaksantin ve Penisilin'in Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA4 İzolatının Büyüme Oranına etkisi. AST : Astaksantin, P: Penisilin.

MİK P ile 0,128 mg/mL AST ve 1/2 MİK P ile 0,064 mg/mL AST kombinasyon dozlarında antibiyotiklerin tek başına uygulanan dozlarına göre sırasıyla 0,16 log birim ve 0,06 log birim MRSA4 izolatının bakteriyel büyüme oranında azalma gözlemlenmiştir. 1/4 MİK P ile 0,032 mg/mL AST kombinasyon dozu antibiyotiğin tek başına uygulamasına göre bakteriyel büyümede 0,07 log birim azalma gözlemlenmiştir ($p>0,05$) (Tablo 4.16 Şekil 4.15).

1/8 MİK AM ile 0,016 mg/mL AST ve 1/16 MİK AM ile 0,008 mg/mL AST kombinasyon dozlarının MRSA4 izolatında antibiyotiklerin tek dozlarına oranla sırasıyla 0,15 log birim ve 0,017 log birim azalttığı gözlenirken 1/32 MİK P ile 0,004 mg/mL AST kombinasyon uygulanan MRSA4 izolatının bakteriyel büyümesi tek doz antibiyotk uygulamasına göre 0,18 log birim azalmıştır ($p>0,05$) (Tablo 4.16 Şekil 4.15).

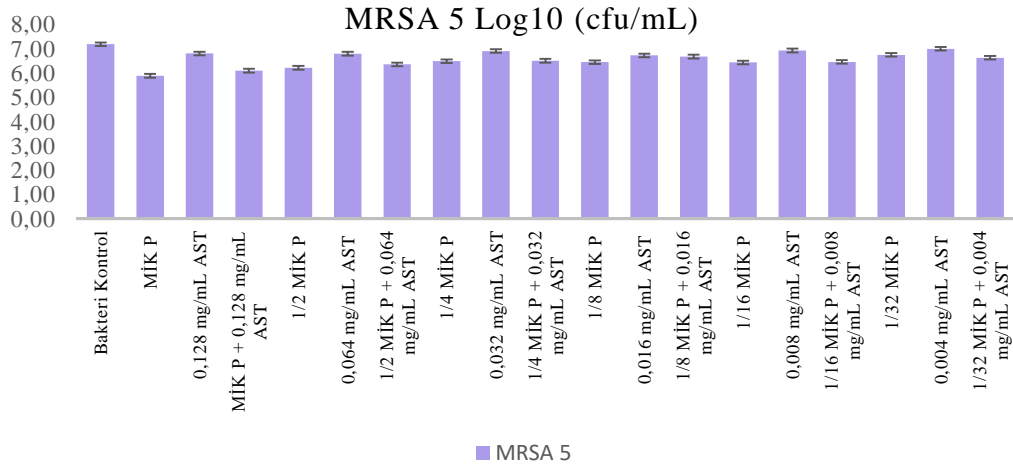
Tablo 4.16. Astaksantin ve Penisilin Ajanlarının MRSA4 İzolatının Bakteriye Büyüme Oranına Etkisi.

	AJAN UYGULAMALARI	Log (cfu/mL) ORT ± SD	P
MRSA4	BAKTERİ KONTROL	7,1909^a ± 0,042	
	MİK P	3,5228 ^a ± 0,0	
MİK P 0,128 mg/mL AST	0,128 mg/mL AST	7,002 ^a ± 0,06	0,112
	MİK P - 0,128 mg/mL AST	5,366 ^a ± 0,123	
	1/2 MİK P	6,9225 ^a ± 0,110	
1/2 MİK P 0,064 mg/mL AST	0,064 mg/mL AST	7,008 ^a ± 0,065	0,241
	1/2 MİK P - 0,064 mg/mL AST	6,98 ^a ± 0,03	
	1/4 MİK P	6,7853 ^a ± 0,01	
1/4 MİK P 0,032 mg/mL AST	0,032 mg/mL AST	7,0585 ^a ± 0,024	0,112
	1/4 MİK P - 0,032 mg/mL AST	6,714 ^a ± 0,034	
	1/8 MİK P	6,8955 ^a ± 0,083	
1/8 MİK P 0,016 mg/mL AST	0,016 mg/mL AST	6,9795 ^a ± 0,134	0,112
	1/8 MİK P - 0,016 mg/mL AST	6,748 ^a ± 0,029	
	1/16 MİK P	6,905 ^a ± 0,07	
1/16 MİK P 0,008 mg/mL AST	0,008 mg/mL AST	6,873 ^a ± 0,15	0,145
	1/16 MİK P - 0,008 mg/mL AST	6,724 ^a ± 0,004	
	1/32 MİK P	6,8596 ^a ± 0,035	
1/32 MİK P 0,004 mg/mL AST	0,004 mg/mL AST	6,978 ^a ± 0,064	0,112
	1/32 MİK P - 0,0004 mg/mL AST	6,6755 ^a ± 0,064	

Aynı harfler gruplar arasında anlamlı fark olmadığını göstermektedir (p>0,05). AST: Astaksantin, P: Penisilin, MİK: Minimum İnhibitör Konsantrasyon, Ort: Ortalama, SD: Standart Sapma.

4.5.3.5 MRSA5

Astaksantin ve Penisilin MRSA5 izolatının tüm dozlarındaki tek ve kombinasyon uygulamalarının bakterinin büyüme oranına herhangi anlamlı bir etkisi gözlemlenmemiştir ($p>0,05$) (Tablo 4.17 Şekil 4.16).



Şekil 4.16. Astaksantin ve Penisilin'in Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA5 İzolatının Büyüme Oranına etkisi. AST : Astaksantin, P: Penisilin.

MİK P ile 0,128 mg/mL AST ve 1/2 MİK P ile 0,064 mg/mL AST kombinasyon dozlarında antibiyotiklerin tek başına uygulanan dozlarına göre sırasıyla 0,21 log birim ve 0,14 log birim MRSA5 izolatının bakteriyel büyüme oranında artma gözlemlenmiştir. 1/4 MİK P ile 0,032 mg/mL AST kombinasyon dozu antibiyotiğin tek başına uygulamasına göre bakteriyel büyümede bir farklılık gözlemlenmemiştir ($p>0,05$) (Tablo 4.17 Şekil 4.16).

1/8 MİK AM ile 0,016 mg/mL AST ve 1/16 MİK AM ile 0,008 mg/mL AST kombinasyon dozlarının MRSA5 izolatında antibiyotiklerin tek dozlarına oranla sırasıyla 0,23 log birim ve 0,03 log birim arttırdığı gözlenirken 1/32 MİK P ile 0,004 mg/mL AST kombinasyon uygulanan MRSA5 izolatının bakteriyel büyümesi tek doz antibiyotk uygulamasına göre 0,11 log birim azalmıştır ($p>0,05$) (Tablo 4.17 Şekil 4.16).

Tablo 4.17. Astaksantin ve Penisilin Ajanlarının MRSA5 İzolatının Bakteriyel Büyüme Oranına Etkisi.

	AJAN UYGULAMALARI	Log (cfu/mL) ORT ± SD	P
MRSA5	BAKTERİ KONTROL	7,1815^a ± 0,018	
	MİK P	5,8768 ^a ± 0,11	
MİK P 0,128 mg/mL AST	0,128 mg/mL AST	6,7964 ^a ± 0,069	0,112
	MİK P - 0,128 mg/mL AST	6,0932 ^a ± 0,092	
	1/2 MİK P	6,2107 ^a ± 0,059	
1/2 MİK P 0,064 mg/mL AST	0,064 mg/mL AST	6,7858 ^a ± 0,054	0,753
	1/2 MİK P - 0,064 mg/mL AST	6,3469 ^a ± 0,179	
	1/4 MİK P	6,4782 ^a ± 0,122	
1/4 MİK P 0,032 mg/mL AST	0,032 mg/mL AST	6,9007 ^a ± 0,064	0,145
	1/4 MİK P - 0,032 mg/mL AST	6,4749 ^a ± 0,085	
	1/8 MİK P	6,4360 ^a ± 0,188	
1/8 MİK P 0,016 mg/mL AST	0,016 mg/mL AST	6,7172 ^a ± 0,195	0,392
	1/8 MİK P - 0,016 mg/mL AST	6,665 ^a ± 0,107	
	1/16 MİK P	6,4262 ^a ± 0,065	
1/16 MİK P 0,008 mg/mL AST	0,008 mg/mL AST	6,9195 ^a ± 0,091	0,896
	1/16 MİK P - 0,008 mg/mL AST	6,4503 ^a ± 0,123	
	1/32 MİK P	6,7345 ^a ± 0,082	
1/32 MİK P 0,004 mg/mL AST	0,004 mg/mL AST	6,9926 ^a ± 0,010	0,145
	1/32 MİK P - 0,0004 mg/mL AST	6,6238 ^a ± 0,128	

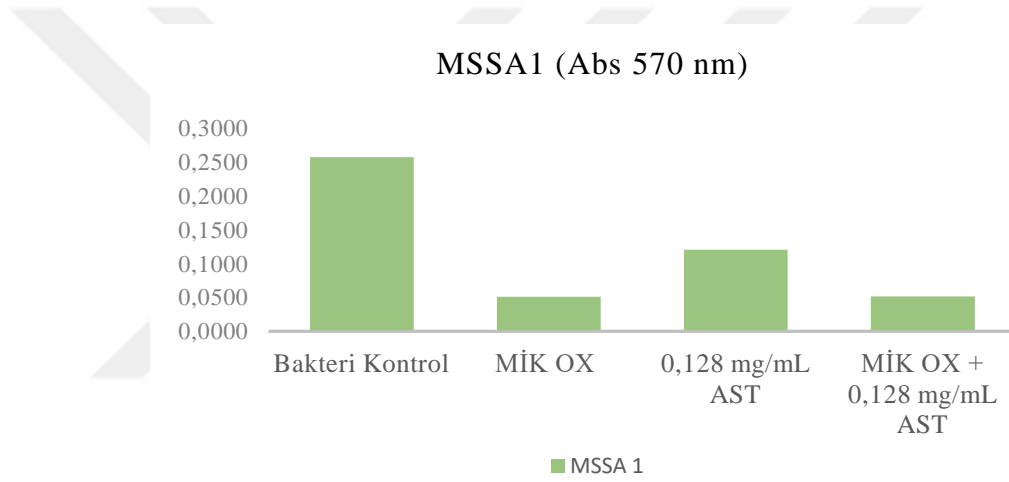
Aynı harfler gruplar arasında anlamlı fark olmadığını göstermektedir (p>0,05). AST: Astaksantin, P: Penisilin, MİK: Minimum İnhibitör Konsantrasyon, Ort: Ortalama, SD: Standart Sapma.

4.6. Astaksantin ile β -laktam Kombinasyonlarının *S. aureus* İzolatlarının Biyofilm Üretimi Üzerindeki Etkilerinin Analizi

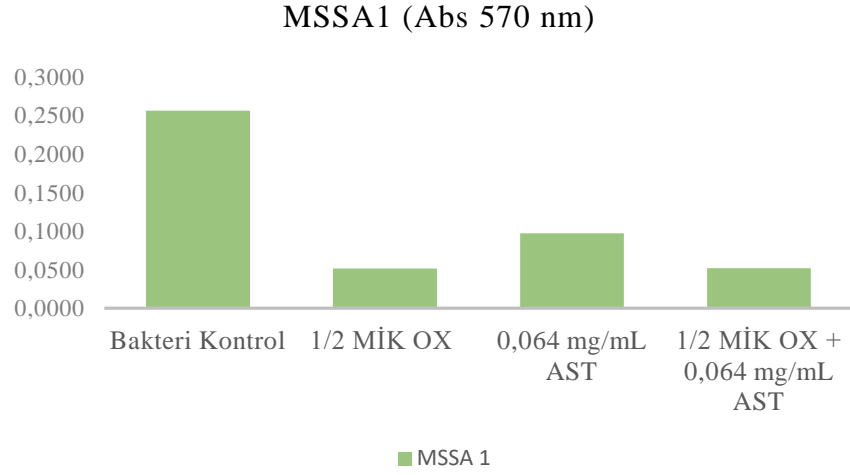
4.6.1 Astaksantin ile Oksasilin Kombinasyonlarının Biyofilm Üretimi Üzerindeki Etkisi

4.6.1.1 MSSA1

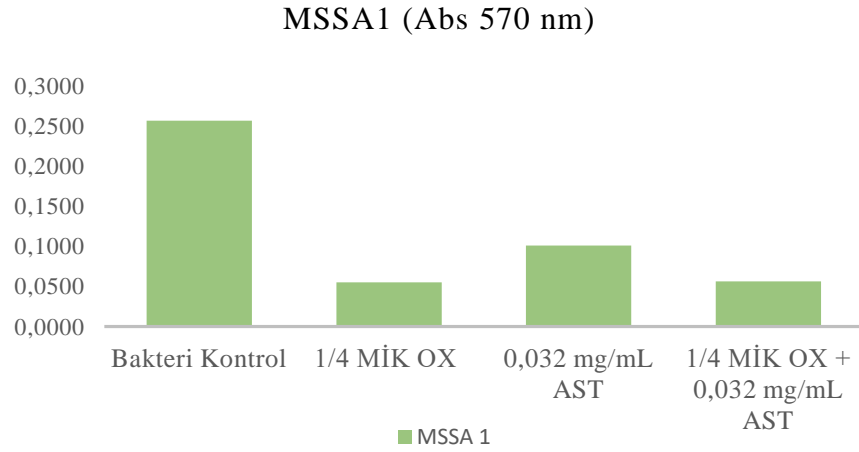
MİK OX ile 0,128 mg/mL AST, 1/2 MİK OX ile 0,064 mg/ mL AST, 1/4 MİK OX ile 0,032 mg/mL AST ve 1/8 MİK OX ile 0,016 mg/ mL AST kombinasyon dozlarının MSSA1 izolatının biyofilm üretimi etkisi üzerinde oksasilinin MİK, 1/2 MİK, 1/4 MİK ve 1/8 MİK tekli dozları arasında fark edilir bir değişiklik gözlemlenmemiştir ($p \leq 0,05$) (Tablo 4.18; Şekil 4.17, Şekil 4.18, Şekil 4.19, Şekil 4.20).



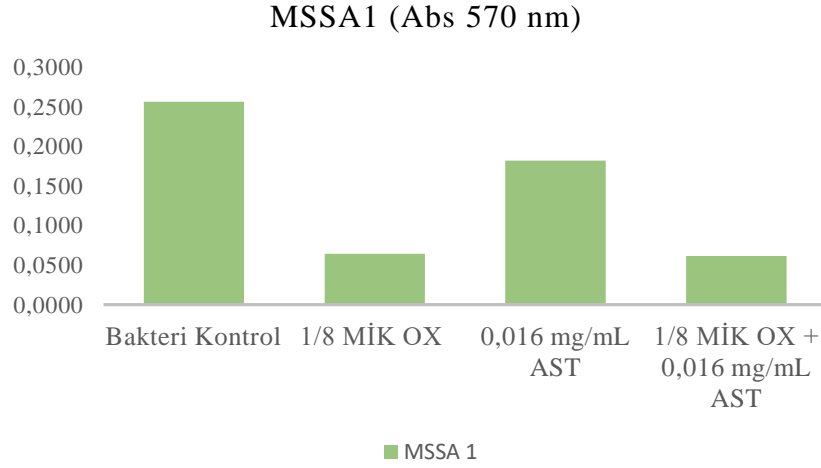
Şekil 4.17. Astaksantin ve Oksasilin MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MSSA1 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine etkisi. AST : Astaksantin, OX: Oksasilin



Şekil 4.18. Astaksantin ve Oksasilin 1/2 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MSSA1 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine etkisi. AST : Astaksantin, OX: Oksasilin

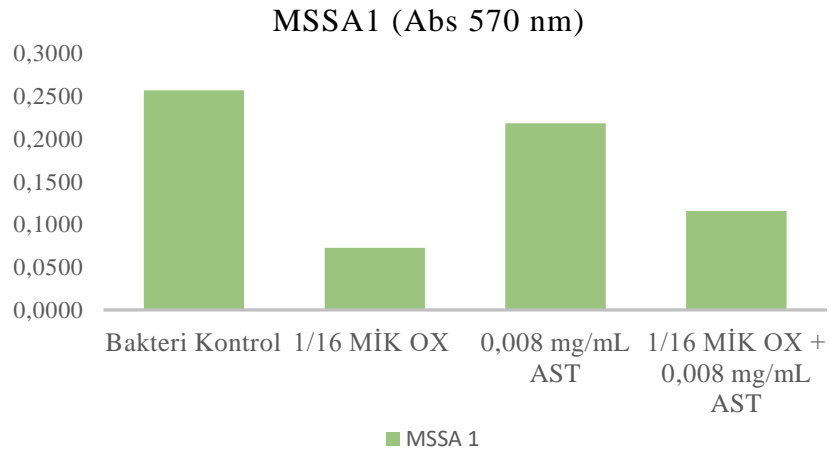


Şekil 4.19. Astaksantin ve Oksasilin 1/4 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MSSA1 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine etkisi. AST : Astaksantin, OX: Oksasilin

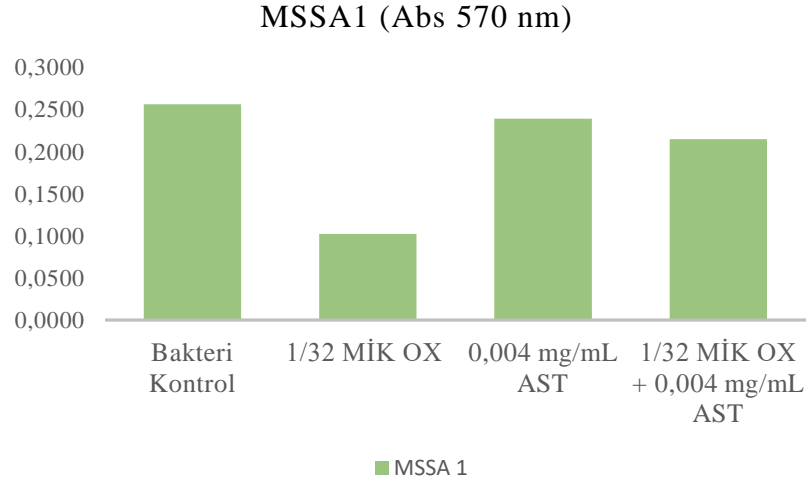


Şekil 4.20. Astaksantin ve Oksasilin 1/8 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MSSA1 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine etkisi. AST : Astaksantin, OX: Oksasilin

1/16 MİK OX ile 0,008 mg/mL AST ve 1/32 MİK OX ile 0,004 mg/mL AST kombinasyonlarının MSSA1 izolatının biyofilm üretimi üzerinde inhibitör etkisinin oksasilinin tekli dozlarının inhibitör etkisinden daha az olduğu gözlemlenmiştir ($p \leq 0,05$) (Tablo 4.18; Şekil 4.21, Şekil 4.22).



Şekil 4.21. Astaksantin ve Oksasilin 1/16 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MSSA1 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine etkisi. AST : Astaksantin, OX: Oksasilin



Şekil 4.22. Astaksantin ve Oksasilin 1/32 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MSSA1 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine etkisi. AST : Astaksantin, OX: Oksasilin

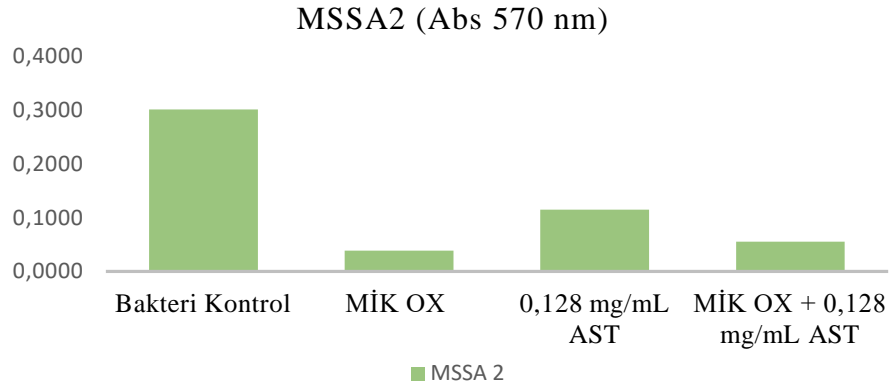
Tablo 4.18. Astaksantin ve Oksasilin Ajanlarının MSSA1 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerindeki Etkisi.

AJAN UYGULAMALARI		OD 570 nm ORT ± SD	P
MSSA1	BAKTERİ KONTROL	0,2563^a ± 0,009	
	MİK OX	0,0499 ^b ± 0,001	
MİK OX 0,128 mg/mL AST	0,128 mg/mL AST	0,1038 ^c ± 0,006	0,042*
	MİK OX - 0,128 mg/mL AST	0,0516 ^{db} ± 0,002	
	1/2 MİK OX	0,0513 ^b ± 0,001	
1/2 MİK OX 0,064 mg/mL AST	0,064 mg/mL AST	0,0971 ^c ± 0,003	0,042*
	1/2 MİK OX - 0,064 mg/mL AST	0,0518 ^{db} ± 0,002	
	1/4 MİK OX	0,0548 ^b ± 0,001	
1/4 MİK OX 0,032 mg/mL AST	0,032 mg/mL AST	0,1007 ^c ± 0,003	0,042*
	1/4 MİK OX - 0,032 mg/mL AST	0,0561 ^{db} ± 0,004	
	1/8 MİK OX	0,0643 ^b ± 0,003	
1/8 MİK OX 0,016 mg/mL AST	0,016 mg/mL AST	0,1821 ^c ± 0,002	0,029*
	1/8 MİK OX - 0,016 mg/mL AST	0,0615 ^{db} ± 0,003	
	1/16 MİK OX	0,0726 ^b ± 0,009	
1/16 MİK OX 0,008 mg/mL AST	0,008 mg/mL AST	0,2179 ^c ± 0,007	0,042*
	1/16 MİK OX - 0,008 mg/mL AST	0,1153 ^d ± 0,007	
	1/32 MİK OX	0,1022 ^b ± 0,001	
1/32 MİK OX 0,004 mg/mL AST	0,004 mg/mL AST	0,2389 ^c ± 0,005	0,029*
	1/32 MİK OX - 0,0004 mg/mL AST	0,2148 ^d ± 0,002	

Her farklı harf gruplar arasında anlamlı fark olduğunu göstermektedir ($p \leq 0,05$). AST: Astaksantin, OX: Oksasilin, MİK: Minimum İnhibitör Konsantrasyon, OD: Optik Dansite, Ort: Ortalama, SD: Standart Sapma. * : Friedman testinin anlamlı olduğunu ifade eder.

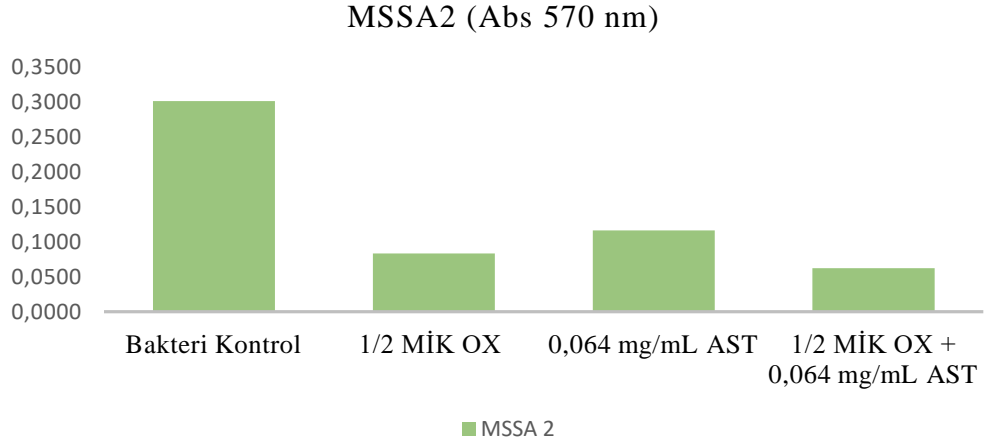
4.6.1.2 MSSA2

MİK OX ile 0,128 mg/mL AST kombinasyon dozunun izolatın biyofilm üretimi üzerindeki inhibe edici etkisinin MİK OX dozunun tekli uygulamasına oranla daha az olduğu gözlemlenmiştir ($p \leq 0,05$) (Tablo 4.19; Şekil 4.23).

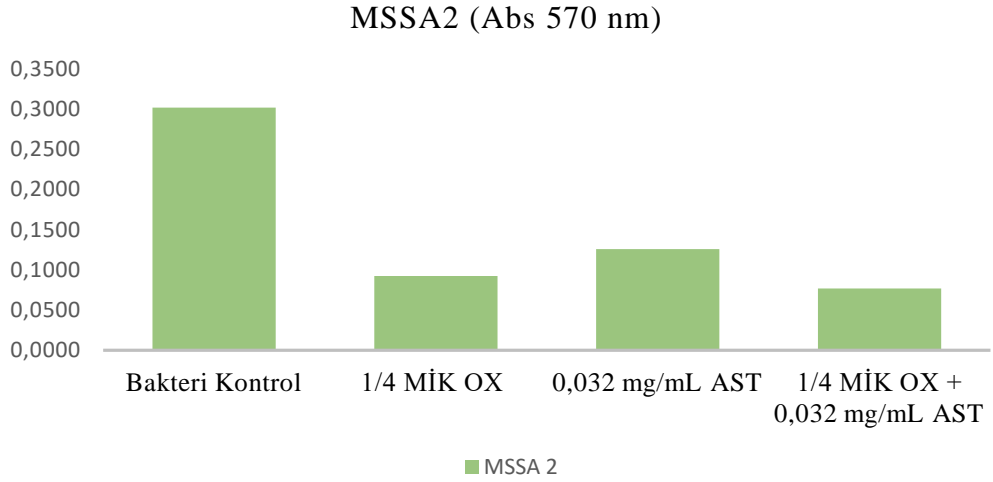


Şekil 4.23. Astaksantin ve Oksasilin MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MSSA2 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine etkisi. AST : Astaksantin, OX: Oksasilin

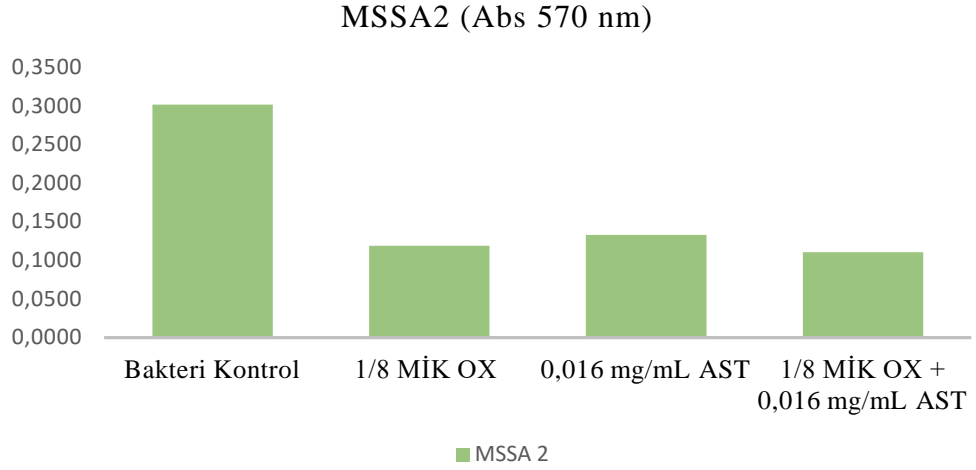
1/2 MİK OX ile 0,064 mg/ mL AST, 1/4 MİK OX ile 0,032 mg/mL AST, 1/8 MİK OX ile 0,016 mg/ mL AST, 1/16 MİK OX ile 0,008 mg/mL AST ve 1/32 MİK OX ile 0,004 mg/mL AST kombinasyon dozlarının MSSA2 izolatının biyofilm üretimi etkisi üzerinde oksasilinin 1/2 MİK, 1/4 MİK, 1/8 MİK, 1/16 MİK ve 1/32 tekli dozları arasında fark edilir bir değişiklik gözlemlenmemiştir ($p \leq 0,05$) (Tablo 4.19; Şekil 4.24, Şekil 4.25, Şekil 4.26, Şekil 4.27, Şekil 4.28).



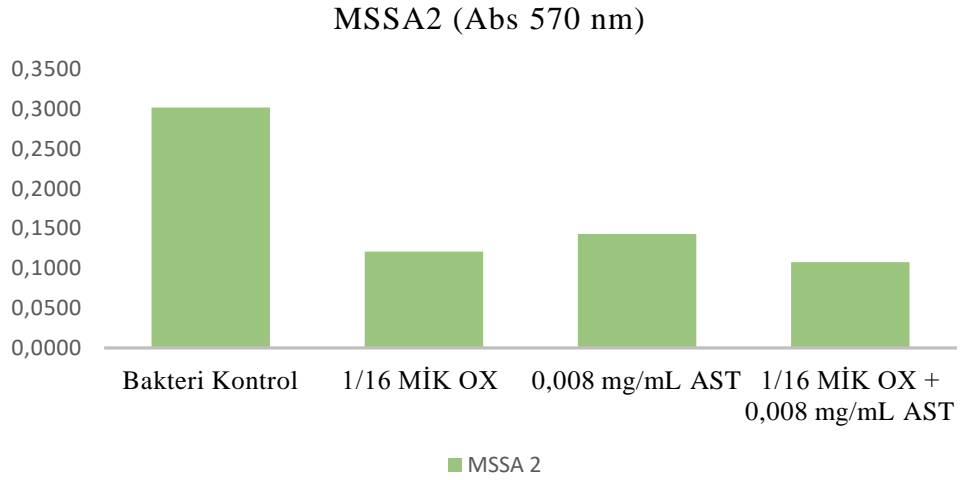
Şekil 4.24. Astaksantin ve Oksasilin 1/2 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MSSA2 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine etkisi. AST : Astaksantin, OX: Oksasilin



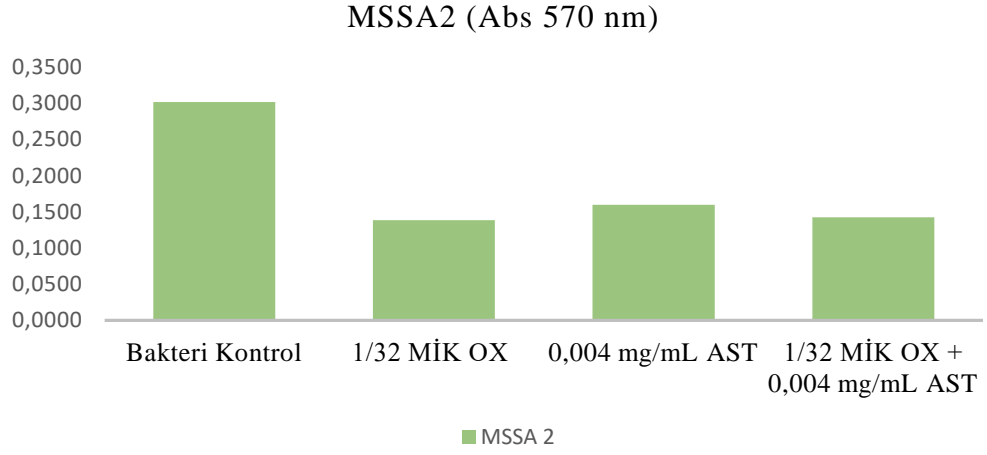
Şekil 4.25. Astaksantin ve Oksasilin 1/4 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MSSA2 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine etkisi. AST : Astaksantin, OX: Oksasilin



Şekil 4.26. Astaksantin ve Oksasilin 1/8 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MSSA2 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine etkisi. AST : Astaksantin, OX: Oksasilin



Şekil 4.27. Astaksantin ve Oksasilin 1/16 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MSSA2 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine etkisi. AST : Astaksantin, OX: Oksasilin



Şekil 4.28. Astaksantin ve Oksasilin 1/32 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MSSA2 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine etkisi. AST : Astaksantin, OX: Oksasilin

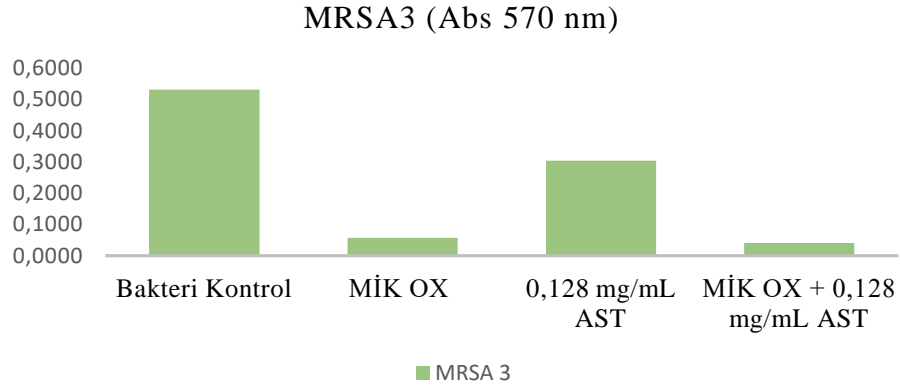
Tablo 4.19. Astaksantin ve Oksasilin Ajanlarının MSSA2 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerindeki Etkisi.

AJAN UYGULAMALARI		OD 570 nm ORT ± SD	P
MSSA2	BAKTERİ KONTROL	0,3018^a ± 0,144	
	MİK OX	0,0388 ^b ± 0,001	
MİK OX 0,128 mg/mL AST	0,128 mg/mL AST	0,1150 ^c ± 0,005	0,029*
	MİK OX - 0,128 mg/mL AST	0,0551 ^d ± 0,005	
	1/2 MİK OX	0,0833 ^b ± 0,005	
1/2 MİK OX 0,064 mg/mL AST	0,064 mg/mL AST	0,1163 ^c ± 0,004	0,029*
	1/2 MİK OX - 0,064 mg/mL AST	0,0623 ^{db} ± 0,011	
	1/4 MİK OX	0,0924 ^b ± 0,007	
1/4 MİK OX 0,032 mg/mL AST	0,032 mg/mL AST	0,1257 ^c ± 0,007	0,029*
	1/4 MİK OX - 0,032 mg/mL AST	0,0767 ^{db} ± 0,001	
	1/8 MİK OX	0,1187 ^b ± 0,004	
1/8 MİK OX 0,016 mg/mL AST	0,016 mg/mL AST	0,1329 ^{cb} ± 0,004	0,042*
	1/8 MİK OX - 0,016 mg/mL AST	0,1104 ^{dbc} ± 0,003	
	1/16 MİK OX	0,1210 ^b ± 0,007	
1/16 MİK OX 0,008 mg/mL AST	0,008 mg/mL AST	0,1431 ^c ± 0,008	0,042*
	1/16 MİK OX - 0,008 mg/mL AST	0,1078 ^{db} ± 0,007	
	1/32 MİK OX	0,1384 ^b ± 0,001	
1/32 MİK OX 0,004 mg/mL AST	0,004 mg/mL AST	0,1597 ^c ± 0,006	0,029*
	1/32 MİK OX - 0,0004 mg/mL AST	0,1425 ^{dbc} ± 0,005	

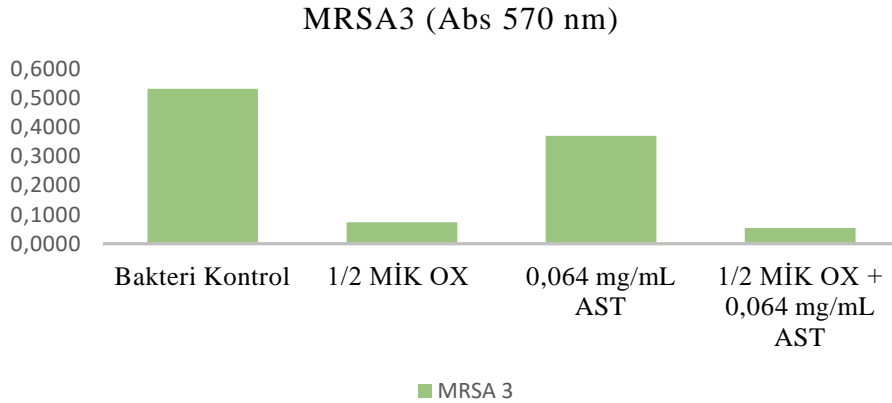
Her farklı harf gruplar arasında anlamlı fark olduğunu göstermektedir ($p \leq 0,05$). AST: Astaksantin, OX: Oksasilin, MİK: Minimum İnhibitör Konsantrasyon, OD: Optik Dansite Ort: Ortalama, SD: Standart Sapma. *: Friedman testinin anlamlı olduğunu ifade eder.

4.6.1.3 MRSA3

MİK OX ile 0,128 mg/mL AST ve 1/2 MİK OX ile 0,064 mg/ mL AST kombinasyon uygulamalarının izolatın biyofilm üretimi üzerindeki inhibe edici etkisi MİK OX ve 1/2 MİK OX dozlarının tekli uygulamaları ile aynı derecede olduğu gözlemlenmiştir ($p \leq 0,05$) (Tablo 4.20; Şekil 4.29, Şekil 4.30).

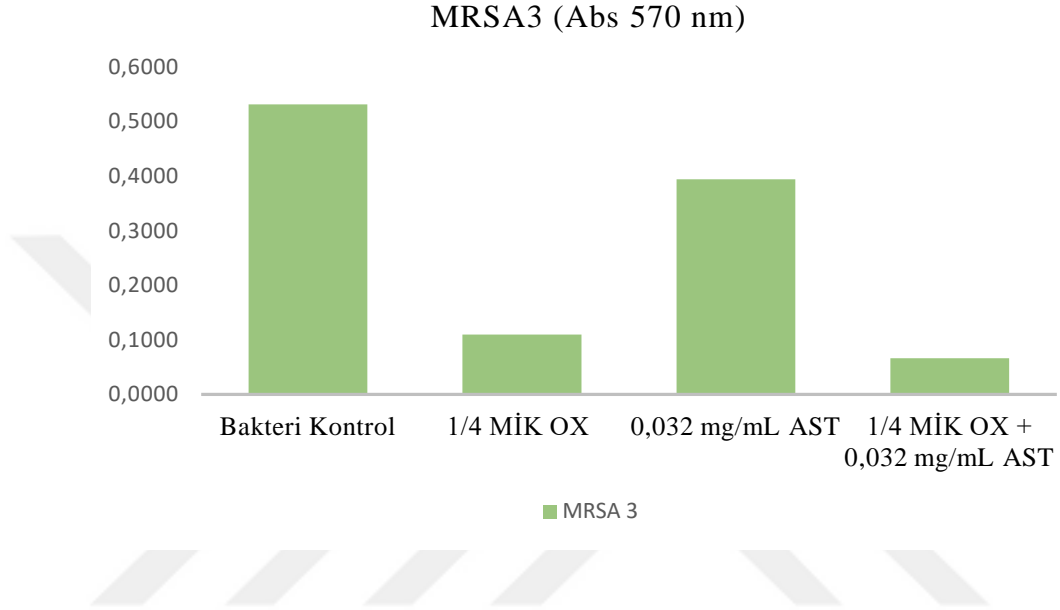


Şekil 4.29. Astaksantin ve Oksasilin MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA3 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine etkisi. AST : Astaksantin, OX: Oksasilin

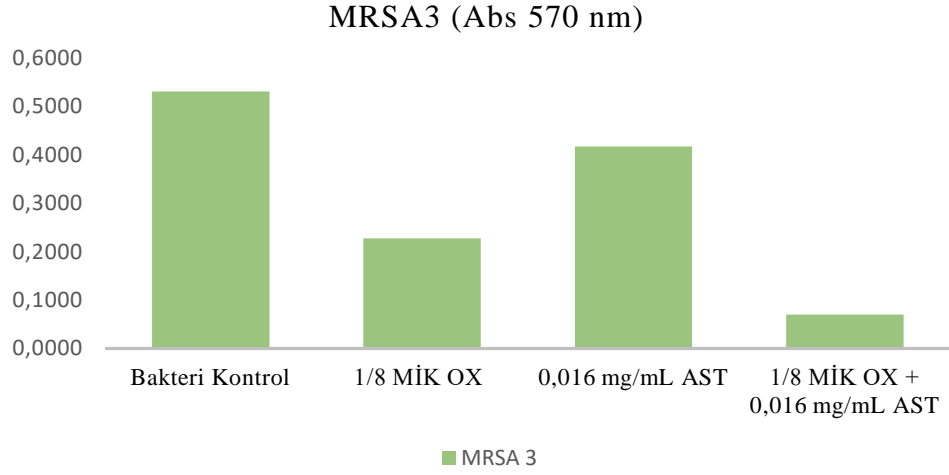


Şekil 4.30. Astaksantin ve Oksasilin 1/2 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA3 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine etkisi. AST : Astaksantin, OX: Oksasilin

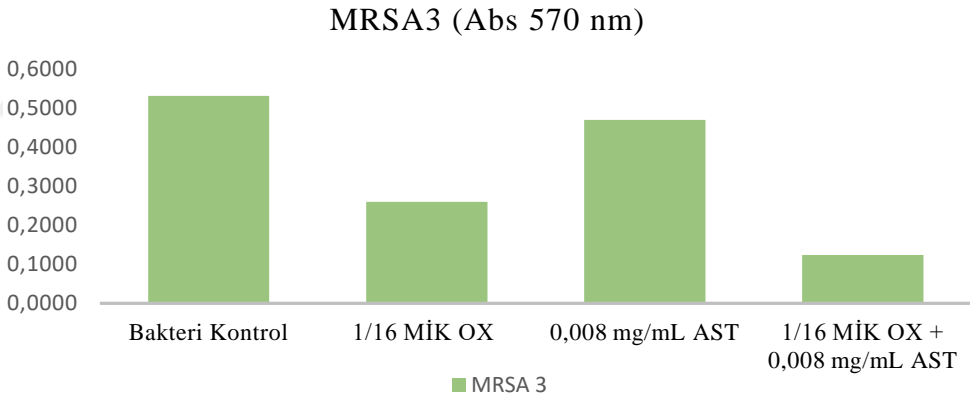
1/4 MİK OX ile 0,032 mg/mL AST, 1/8 MİK OX ile 0,016 mg/ mL AST, 1/16 MİK OX ile 0,008 mg/mL AST ve 1/32 MİK OX ile 0,004 mg/mL AST kombinasyon dozlarının tekli 1/4 MİK OX, 1/8 MİK OX, 1/16 MİK OX ve 1/32 MİK OX uygulamalarına oranla biyofilm üretimi üzerindeki inhibe edici etkisinin daha fazla olduğu gözlemlenmiştir ($p \leq 0,05$) (Tablo 4.20; Şekil 4.31, Şekil 4.32, Şekil 4.33, Şekil 4.34).



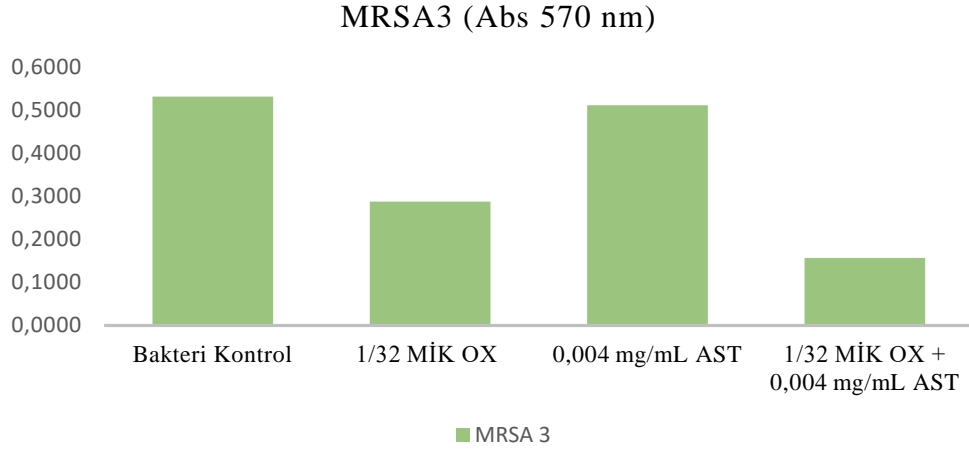
Şekil 4.31. Astaksantin ve Oksasilin 1/4 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA3 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine etkisi. AST : Astaksantin, OX: Oksasilin



Şekil 4.32. Astaksantin ve Oksasilin 1/8 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA3 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine etkisi. AST : Astaksantin, OX: Oksasilin



Şekil 4.33. Astaksantin ve Oksasilin 1/16 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA3 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine etkisi. AST : Astaksantin, OX: Oksasilin



Şekil 4.34. Astaksantin ve Oksasilin 1/32 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA3 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine etkisi. AST : Astaksantin, OX: Oksasilin

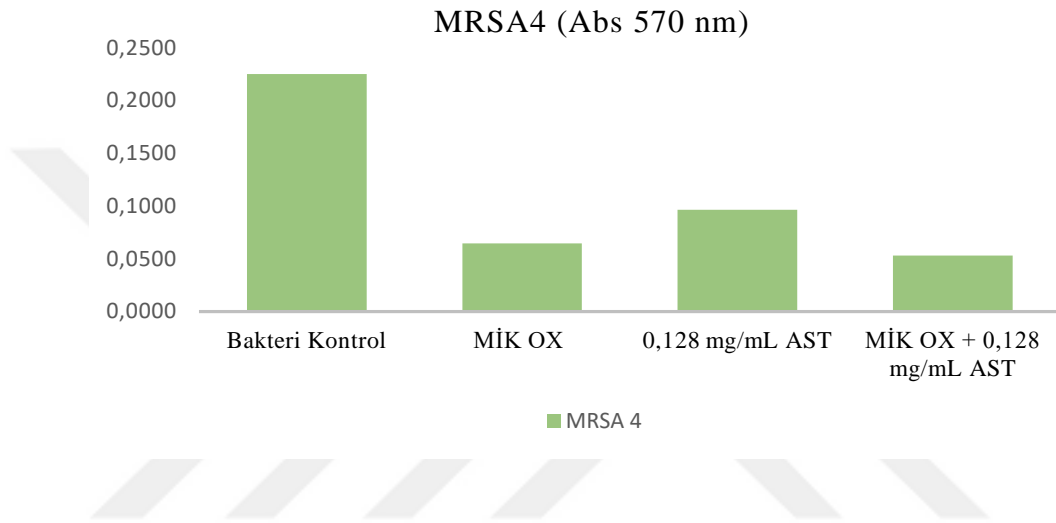
Tablo 4.20. Astaksantin ve Oksasilin Ajanlarının MRSA3 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerindeki Etkisi.

AJAN UYGULAMALARI		OD 570 nm ORT ± SD	P
MRSA3	BAKTERİ KONTROL	0,5317^a ± 0,020	
	MİK OX	0,0576 ^b ± 0,000	
MİK OX 0,128 mg/mL AST	0,128 mg/mL AST	0,3042 ^c ± 0,011	0,029*
	MİK OX - 0,128 mg/mL AST	0,0410 ^{db} ± 0,007	
	1/2 MİK OX	0,0758 ^b ± 0,010	
1/2 MİK OX 0,064 mg/mL AST	0,064 mg/mL AST	0,3708 ^c ± 0,021	0,029*
	1/2 MİK OX - 0,064 mg/mL AST	0,0538 ^{db} ± 0,007	
	1/4 MİK OX	0,1099 ^b ± 0,006	
1/4 MİK OX 0,032 mg/mL AST	0,032 mg/mL AST	0,3941 ^c ± 0,015	0,029*
	1/4 MİK OX - 0,032 mg/mL AST	0,0666 ^d ± 0,005	
	1/8 MİK OX	0,2274 ^b ± 0,015	
1/8 MİK OX 0,016 mg/mL AST	0,016 mg/mL AST	0,4175 ^c ± 0,021	0,029*
	1/8 MİK OX - 0,016 mg/mL AST	0,0701 ^d ± 0,007	
	1/16 MİK OX	0,2603 ^b ± 0,01	
1/16 MİK OX 0,008 mg/mL AST	0,008 mg/mL AST	0,4704 ^c ± 0,018	0,029*
	1/16 MİK OX - 0,008 mg/mL AST	0,1238 ^d ± 0,009	
	1/32 MİK OX	0,2876 ^b ± 0,007	
1/32 MİK OX 0,004 mg/mL AST	0,004 mg/mL AST	0,5122 ^a ± 0,007	0,042*
	1/32 MİK OX - 0,0004 mg/mL AST	0,1569 ^c ± 0,011	

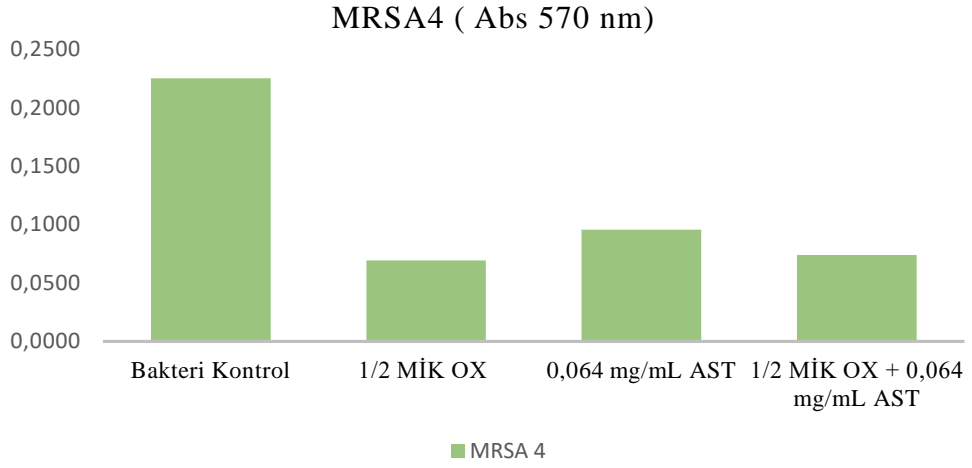
Her farklı harf gruplar arasında anlamlı fark olduğunu göstermektedir ($p \leq 0,05$). AST: Astaksantin, OX: Oksasilin, MİK: Minimum İnhibitör Konsantrasyon, OD: Optik Dansite Ort: Ortalama, SD: Standart Sapma.* : Friedman testinin anlamlı olduğunu ifade eder.

4.6.1.4 MRSA4

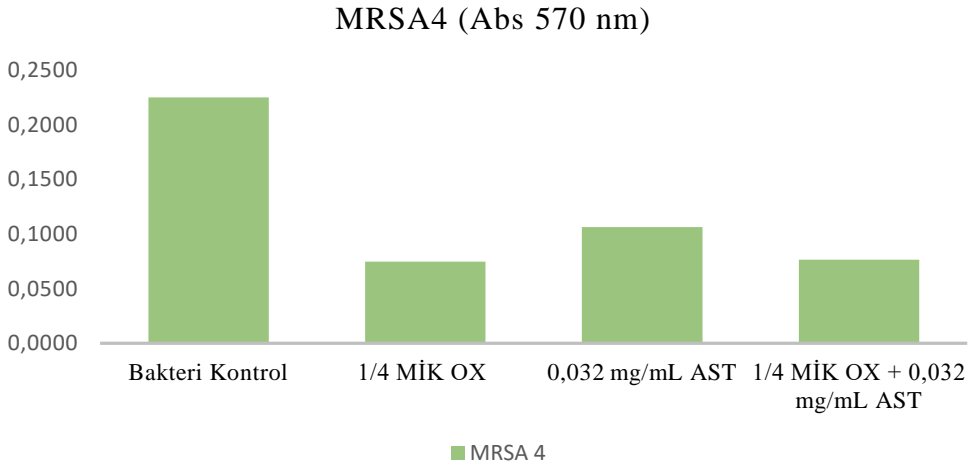
MİK OX ile 0,128 mg/mL AST, 1/2 MİK OX ile 0,064 mg/ mL AST, 1/4 MİK OX ile 0,032 mg/mL AST ve 1/8 MİK OX ile 0,016 mg/ mL AST kombinasyon dozlarının izolatın biyofilm üretimi üzerindeki inhibe edici etkisi MİK OX, 1/2 MİK OX, 1/4 MİK OX ve 1/8 MİK OX dozlarının tekli uygulamaları ile aynı olduğu görülmüştür ($p \leq 0,05$) (Tablo 4.21; Şekil 4.35, Şekil 4.36, Şekil 4.37, Şekil 4.38).



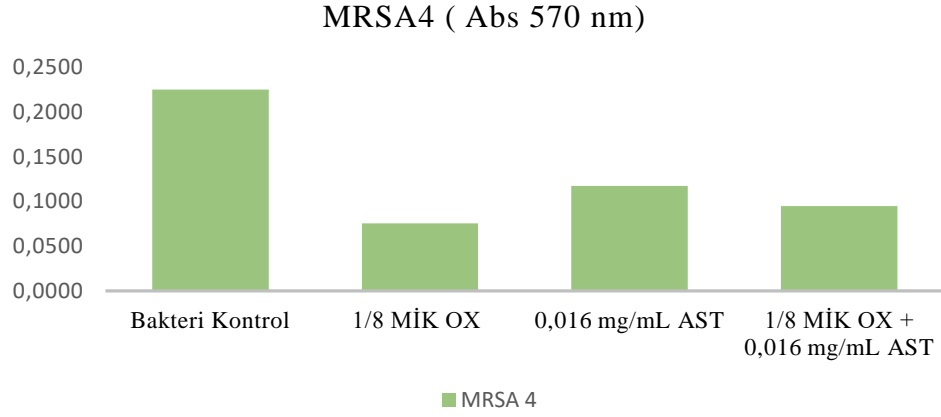
Şekil 4.35. Astaksantin ve Oksasilin MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA4 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine etkisi. AST : Astaksantin, OX: Oksasilin.



Şekil 4.36. Astaksantin ve Oksasilin 1/2 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA4 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine etkisi. AST : Astaksantin, OX: Oksasilin



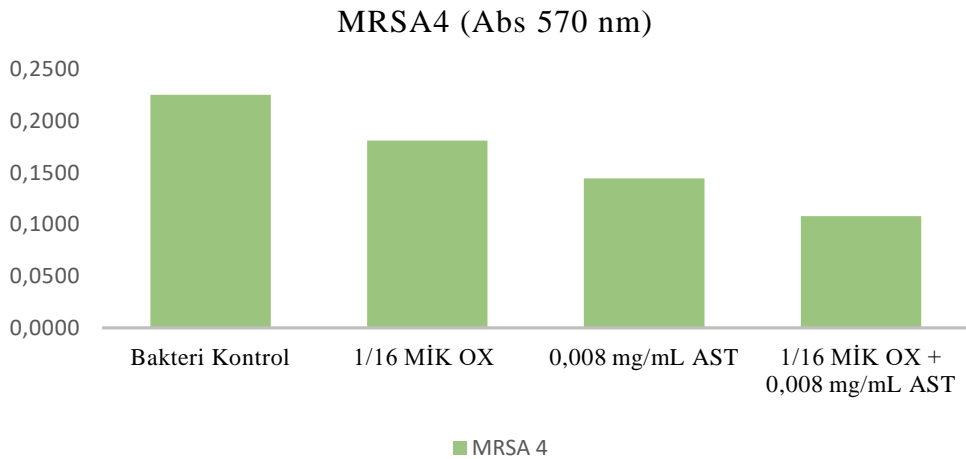
Şekil 4.37. Astaksantin ve Oksasilin 1/4 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA4 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine etkisi. AST : Astaksantin, OX: Oksasilin



Şekil 4.38 Astaksantin ve Oksasilin 1/8 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA4 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine etkisi. AST :

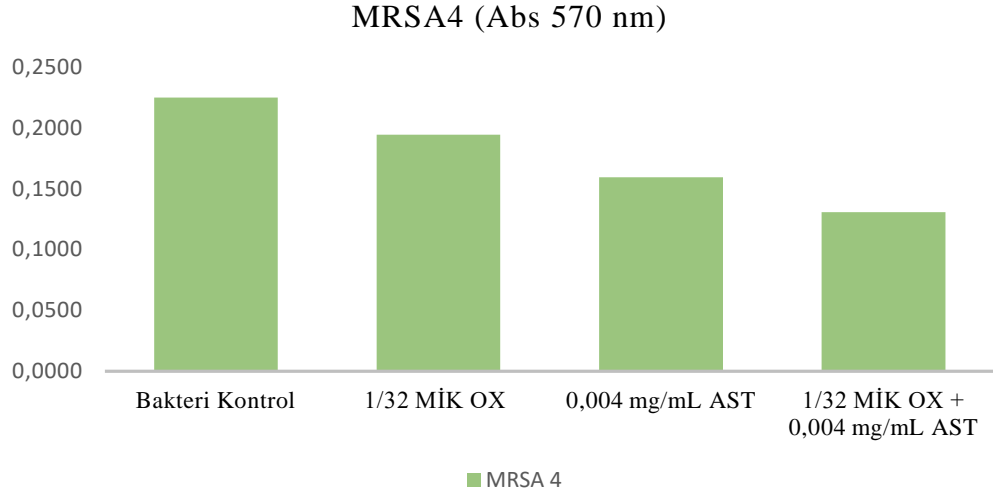
Astaksantin, OX: Oksasilin

1/16 MİK OX ile 0,008 mg/mL AST ve 1/32 OX ile 0,004 mg/mL AST kombinasyon dozlarının biyofilm üretimi üzerinde inhibe edici etkisinin 1/16 MİK ve 1/32 MİK OX tekli dozlarına göre daha fazla olduğu gözlemlenmiştir ($p \leq 0,05$) (Tablo 4.21; Şekil 4.39, Şekil 4.40).



Şekil 4.39 Astaksantin ve Oksasilin 1/16 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA4 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine etkisi. AST :

Astaksantin, OX: Oksasilin



Şekil 4.40. Astaksantin ve Oksasilin 1/32 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA4 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine etkisi. AST : Astaksantin, OX: Oksasilin

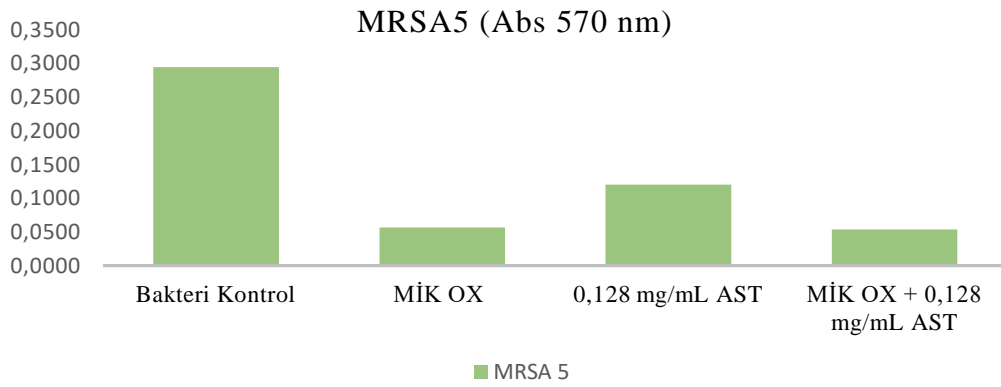
Tablo 4.21. Astaksantin ve Oksasilin Ajanlarının MRSA4 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerindeki Etkisi.

AJAN UYGULAMALARI		OD 570 nm ORT ± SD	P
MRSA4	BAKTERİ KONTROL	0,2252^a ± 0,010	
	MİK OX	0,0645 ^b ± 0,003	
MİK OX 0,128 mg/mL AST	0,128 mg/mL AST	0,0965 ^c ± 0,006	0,017*
	MİK OX - 0,128 mg/mL AST	0,0530 ^{db} ± 0,006	
	1/2 MİK OX	0,0693 ^b ± 0,008	
1/2 MİK OX 0,064 mg/mL AST	0,064 mg/mL AST	0,0958 ^c ± 0,000	0,029*
	1/2 MİK OX - 0,064 mg/mL AST	0,0740 ^{db} ± 0,003	
	1/4 MİK OX	0,0748 ^b ± 0,007	
1/4 MİK OX 0,032 mg/mL AST	0,032 mg/mL AST	0,1064 ^c ± 0,006	0,029*
	1/4 MİK OX - 0,032 mg/mL AST	0,0765 ^{db} ± 0,003	
	1/8 MİK OX	0,0756 ^b ± 0,01	
1/8 MİK OX 0,016 mg/mL AST	0,016 mg/mL AST	0,1173 ^{cb} ± 0,01	0,029*
	1/8 MİK OX - 0,016 mg/mL AST	0,0948 ^{dbc} ± 0,006	
	1/16 MİK OX	0,1809 ^b ± 0,006	
1/16 MİK OX 0,008 mg/mL AST	0,008 mg/mL AST	0,1443 ^c ± 0,01	0,029
	1/16 MİK OX - 0,008 mg/mL AST	0,1078 ^d ± 0,004	
	1/32 MİK OX	0,1946 ^b ± 0,009	
1/32 MİK OX 0,004 mg/mL AST	0,004 mg/mL AST	0,1596 ^c ± 0,008	0,029*
	1/32 MİK OX - 0,0004 mg/mL AST	0,1309 ^d ± 0,009	

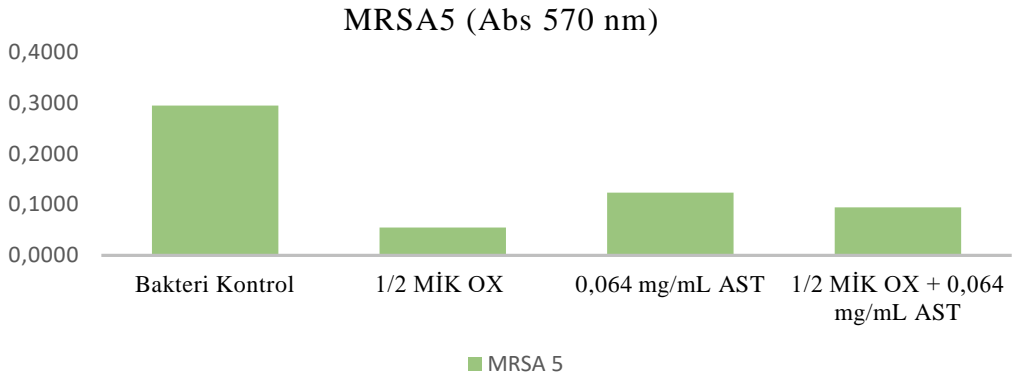
Her farklı harf gruplar arasında anlamlı fark olduğunu göstermektedir ($p \leq 0,05$). AST: Astaksantin, OX: Oksasilin, MİK: Minimum İnhibitör Konsantrasyon, OD: Optik Dansite Ort: Ortalama, SD: Standart Sapma.

4.6.1.5 MRSA5

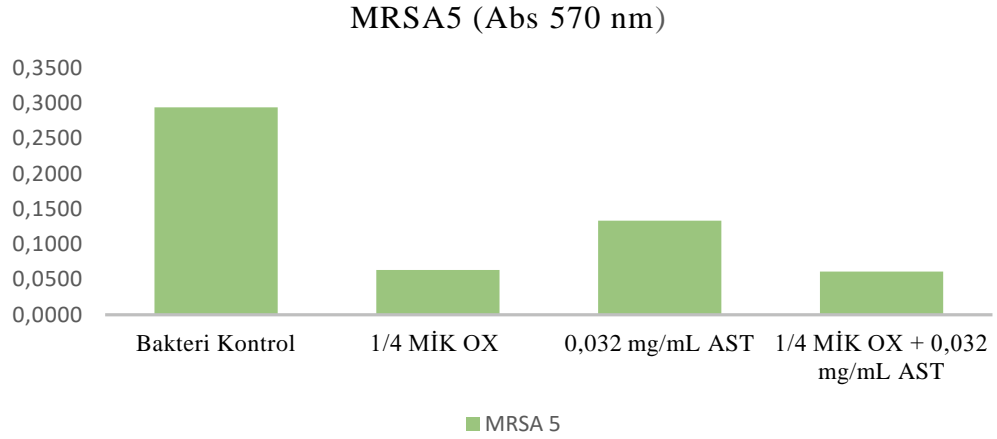
MİK OX ile 0,128 mg/mL AST, 1/4 MİK OX ile 0,032 mg/mL AST ve 1/8 MİK OX ile 0,016 mg/ mL AST kombinasyon dozlarının izolatın biyofilm üretimi üzerindeki inhibe edici etkisi MİK OX, 1/4 MİK OX ve 1/8 MİK OX dozlarının tekli uygulamaları ile aynı olduğu gözlemlenirken 1/2 MİK OX ile 0,064 mg/ mL AST kombinasyon dozunun biyofilm üretimi üzerindeki inhibe edici etkisinin tekli MİK dozuna göre daha az olduğu görülmüştür ($p \leq 0,05$) (Tablo 4.22; Şekil 4.41, Şekil 4.42, Şekil 4.43, Şekil 4.44).



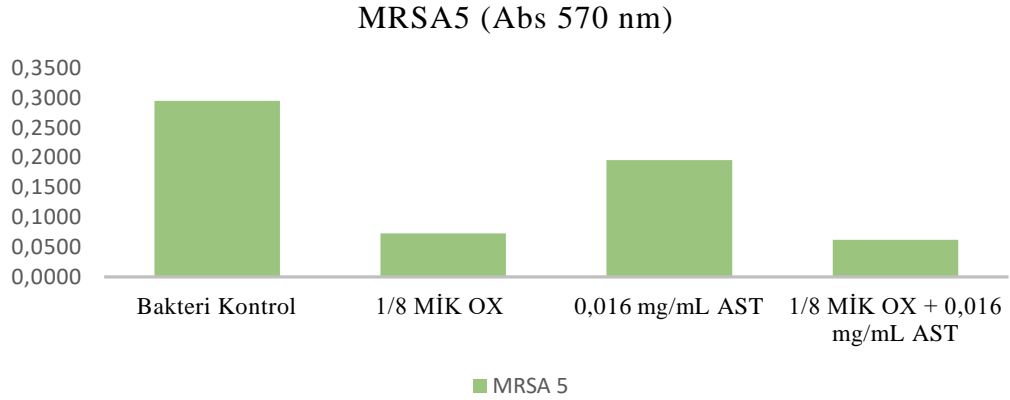
Şekil 4.41. Astaksantin ve Oksasilin MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA5 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine etkisi. AST : Astaksantin, OX: Oksasilin



Şekil 4.42. Astaksantin ve Oksasilin 1/2 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA5 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine etkisi. AST : Astaksantin, OX: Oksasilin



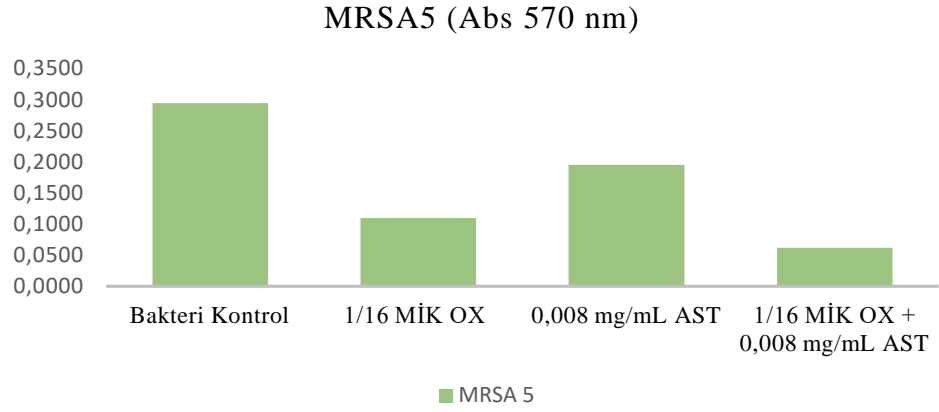
Şekil 4.43. Astaksantin ve Oksasilin 1/4 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA5 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine etkisi. AST : Astaksantin, OX: Oksasilin



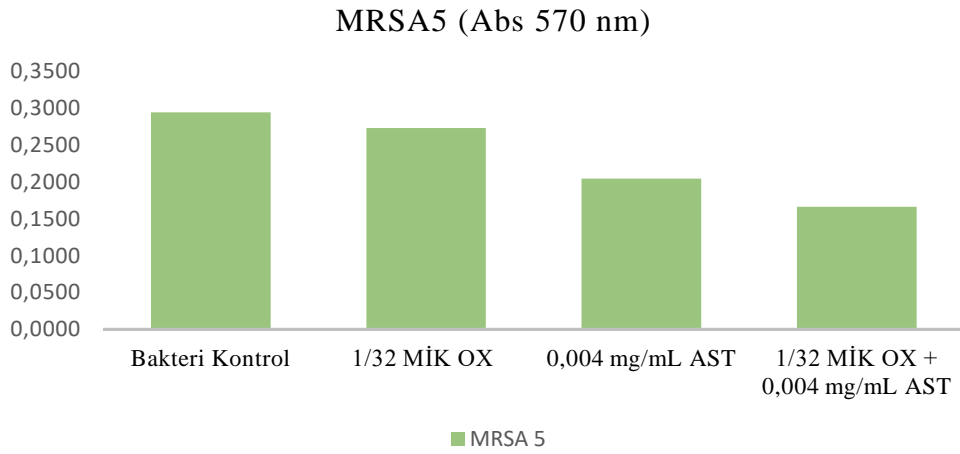
Şekil 4.44. Astaksantin ve Oksasilin 1/8 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA5 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine etkisi. AST : Astaksantin, OX: Oksasilin

1/16 MİK OX ile 0,008 mg/mL AST ve 1/32 OX ile 0,004 mg/mL AST kombinasyon dozlarının MRSA5 izolatının biyofilm üretimi üzerinde inhibitör

etkisinin 1/16 MİK ve 1/32 MİK OX tekli dozlarına göre daha fazla olduğu gözlemlenmiştir ($p \leq 0,05$) (Tablo 4.22; Şekil 4.45, Şekil 4.46).



Şekil 4.45. Astaksantin ve Oksasilin 1/16 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA5 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine etkisi. AST : Astaksantin, OX: Oksasilin



Şekil 4.46. Astaksantin ve Oksasilin 1/32 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA5 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine etkisi. AST : Astaksantin, OX: Oksasilin

Tablo 4.22. Astaksantin ve Oksasilin Ajanlarının MRSA5 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerindeki Etkisi.

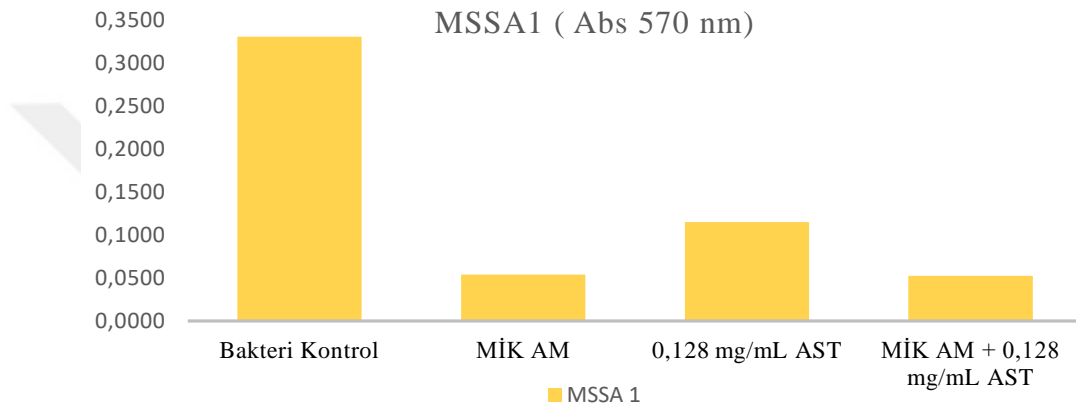
AJAN UYGULAMALARI		OD 570 nm ORT ± SD	P
MRSA5	BAKTERİ KONTROL	0,2945^a ± 0,007	
	MİK OX	0,0568 ^b ± 0,001	
MİK OX 0,128 mg/mL AST	0,128 mg/mL AST	0,1201 ^c ± 0,000	0,029*
	MİK OX - 0,128 mg/mL AST	0,0539 ^{db} ± 0,001	
	1/2 MİK OX	0,0547 ^b ± 0,004	
1/2 MİK OX 0,064 mg/mL AST	0,064 mg/mL AST	0,1235 ^c ± 0,011	0,029*
	1/2 MİK OX - 0,064 mg/mL AST	0,0946 ^d ± 0,001	
	1/4 MİK OX	0,0634 ^b ± 0,003	
1/4 MİK OX 0,032 mg/mL AST	0,032 mg/mL AST	0,1338 ^c ± 0,007	0,029*
	1/4 MİK OX - 0,032 mg/mL AST	0,0612 ^{db} ± 0,000	
	1/8 MİK OX	0,0727 ^b ± 0,006	
1/8 MİK OX 0,016 mg/mL AST	0,016 mg/mL AST	0,1954 ^c ± 0,006	0,042*
	1/8 MİK OX - 0,016 mg/mL AST	0,0620 ^{db} ± 0,000	
	1/16 MİK OX	0,1099 ^b ± 0,006	
1/16 MİK OX 0,008 mg/mL AST	0,008 mg/mL AST	0,1954 ^c ± 0,006	0,029*
	1/16 MİK OX - 0,008 mg/mL AST	0,0738 ^d ± 0,000	
	1/32 MİK OX	0,2730 ^a ± 0,005	
1/32 MİK OX 0,004 mg/mL AST	0,004 mg/mL AST	0,2044 ^b ± 0,005	0,029*
	1/32 MİK OX - 0,0004 mg/mL AST	0,1662 ^c ± 0,000	

Her farklı harf gruplar arasında anlamlı fark olduğunu göstermektedir ($p \leq 0,05$). AST: Astaksantin, OX: Oksasilin, MİK: Minimum İnhibitör Konsantrasyon, OD: Optik Dansite, Ort: Ortalama, SD: Standart Sapma. * : Friedman testinin anlamlı olduğunu ifade eder.

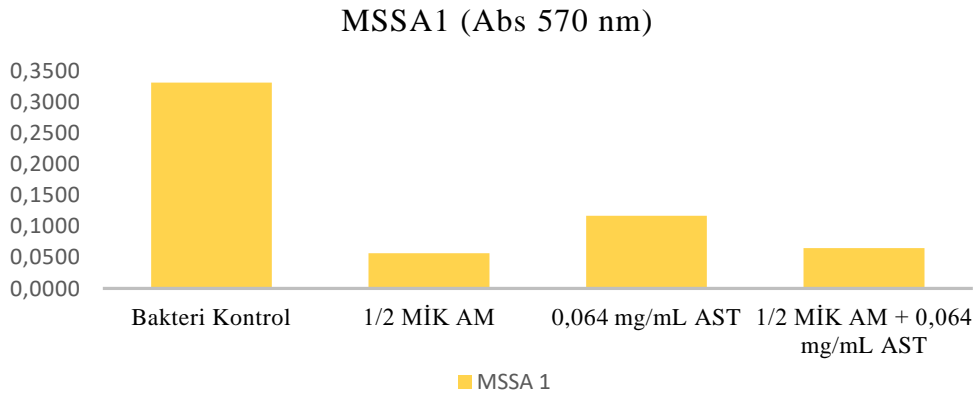
4.6.2 Astaksantin ile Ampisilin Kombinasyonlarının Biyofilm Üretimi Üzerindeki Etkisi

4.6.2.1 MSSA1

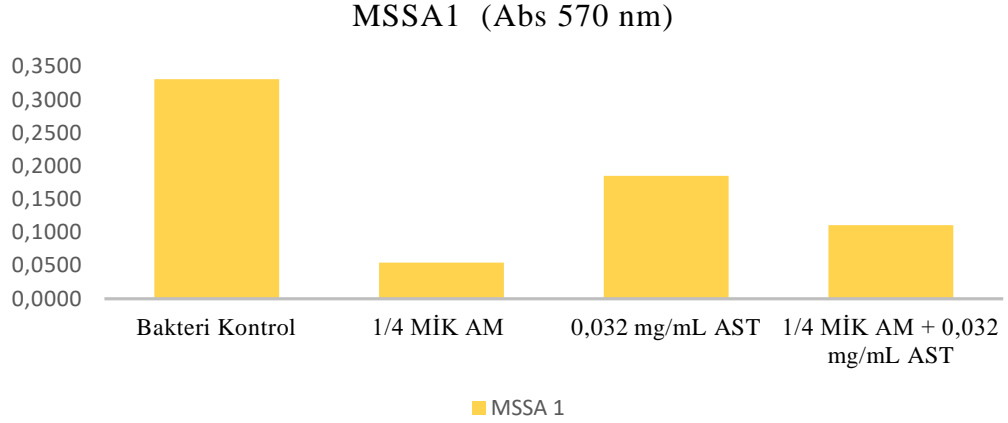
MİK AM ile 0,128 mg/mL AST, 1/2 MİK AM ile 0,064 mg/ mL AST ve 1/4 MİK AM ile 0,032 mg/mL AST kombinasyon dozlarının MSSA1 izolatının biyofilm üretimi etkisi üzerinde ampisilin MİK, 1/2 MİK ve 1/4 MİK tekli dozları arasında fark edilir bir değişiklik gözlemlenmiştir ($p \leq 0,05$) (Tablo 4.23; Şekil 4.47, Şekil 4.48, Şekil 4.49).



Şekil 4.47. Astaksantin ve Ampisilin MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MSSA1 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine etkisi. AST : Astaksantin, AM: Ampisilin

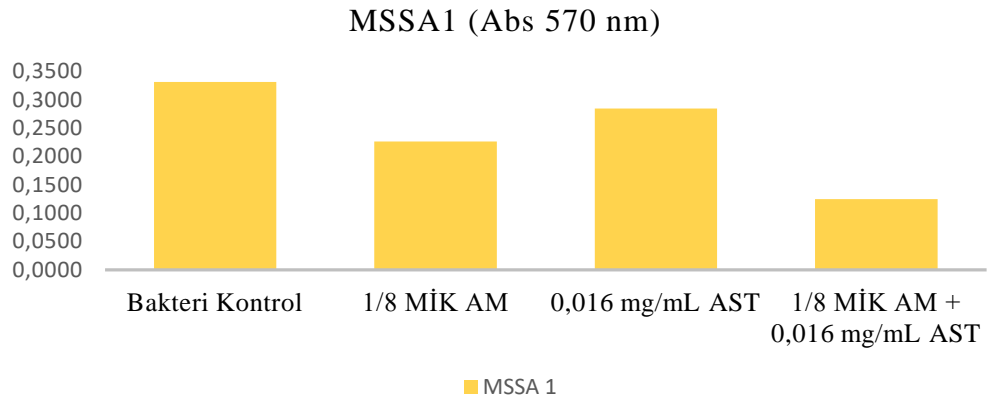


Şekil 4.48. Astaksantin ve Ampisilin 1/2 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MSSA1 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine etkisi. AST : Astaksantin, AM: Ampisilin

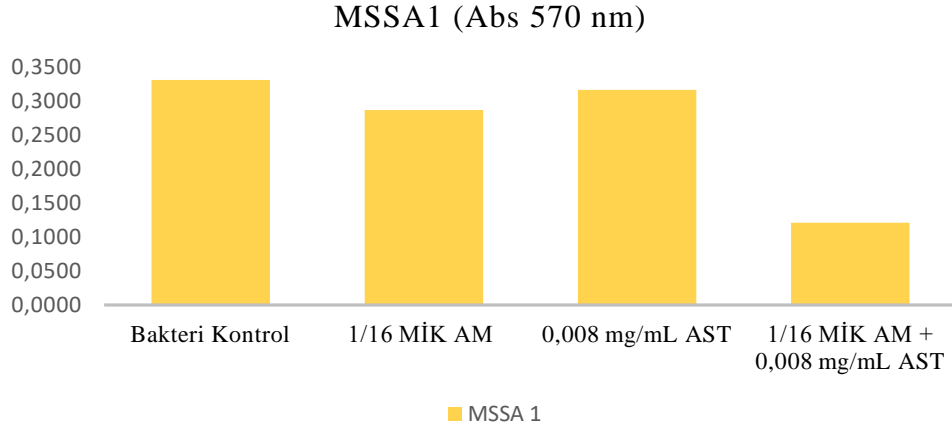


Şekil 4.49. Astaksantin ve Ampisilin'in 1/4 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MSSA1 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine etkisi. AST : Astaksantin, AM: Ampisilin

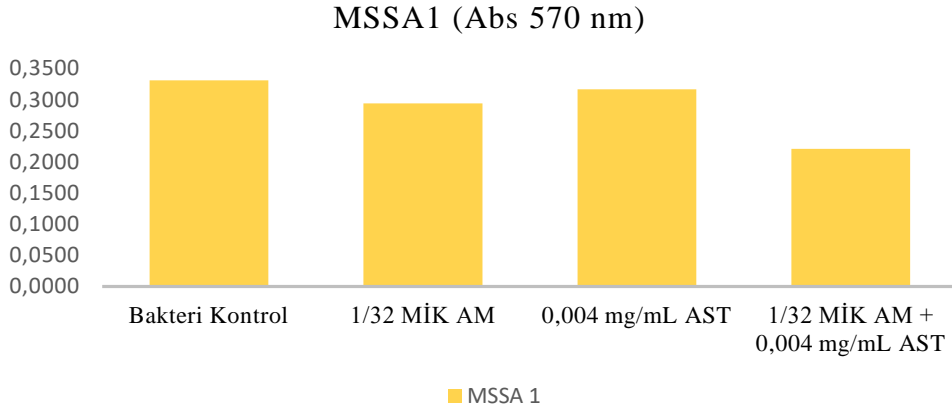
1/8 MİK AM ile 0,016 mg/ mL AST, 1/16 MİK AM ile 0,008 mg/mL AST ve 1/32 MİK AM ile 0,004 mg/mL AST kombinasyon dozunun MSSA1 izolatının biyofilm üretimi üzerindeki inhibitör etkisinin ampisilin'in 1/8 MİK, 1/16 MİK ve 1/32 MİK tekli dozlarına oranla daha etkili olduğu gözlemlenmiştir ($p \leq 0,05$) (Tablo 4.23; Şekil 4.50, Şekil 4.51, Şekil 4.52).



Şekil 4.50. Astaksantin ve Ampisilin'in 1/8 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MSSA1 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine etkisi. AST : Astaksantin, AM: Ampisilin



Şekil 4.51. Astaksantin ve Ampisilinin 1/16 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MSSA1 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine etkisi. AST : Astaksantin, AM: Ampisilin



Şekil 4.52. Astaksantin ve Ampisilinin 1/32 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MSSA1 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine etkisi. AST : Astaksantin, AM: Ampisilin

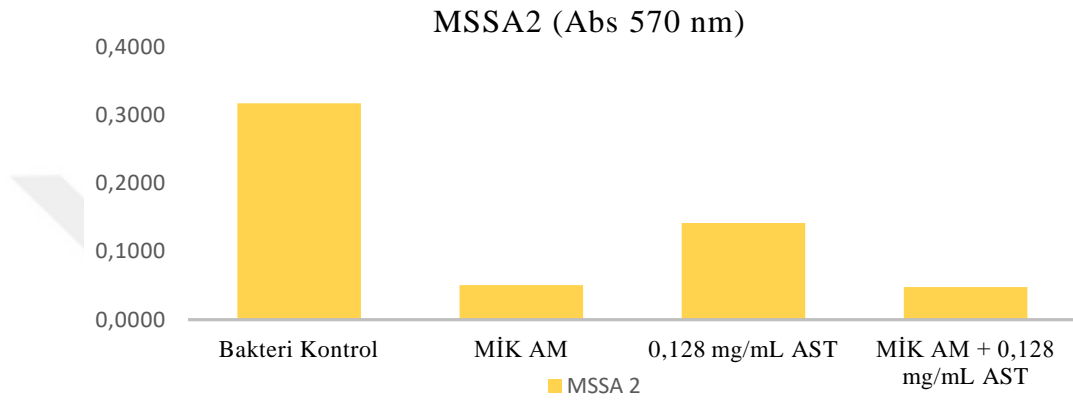
Tablo 4.23. Astaksantin ve Ampisilin Ajanlarının MSSA1 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerindeki Etkisi.

AJAN UYGULAMALARI		OD 570 nm ORT ± SD	P
MSSA 1	BAKTERİ KONTROL	0,3312^a ± 0,189	
	MİK AM	0,0540 ^b ± 0,003	
MİK AM 0,128 mg/mL AST	0,128 mg/mL AST	0,1153 ^c ± 0,004	0,042*
	MİK AM - 0,128 mg/mL AST	0,0525 ^{db} ± 0,000	
	1/2 MİK AM	0,0568 ^b ± 0,003	
1/2 MİK AM 0,064 mg/mL AST	0,064 mg/mL AST	0,1168 ^c ± 0,006	0,042*
	1/2 MİK AM - 0,064 mg/mL AST	0,0649 ^{db} ± 0,005	
	1/4 MİK AM	0,0544 ^b ± 0,005	
1/4 MİK AM 0,032 mg/mL AST	0,032 mg/mL AST	0,1853 ^c ± 0,003	0,042*
	1/4 MİK AM - 0,032 mg/mL AST	0,1108 ^d ± 0,005	
	1/8 MİK AM	0,2266 ^b ± 0,005	
1/8 MİK AM 0,016 mg/mL AST	0,016 mg/mL AST	0,2847 ^c ± 0,005	0,029*
	1/8 MİK AM - 0,016 mg/mL AST	0,1248 ^d ± 0,012	
	1/16 MİK AM	0,2870 ^b ± 0,006	
1/16 MİK AM 0,008 mg/mL AST	0,008 mg/mL AST	0,3166 ^a ± 0,009	0,042*
	1/16 MİK AM - 0,008 mg/mL AST	0,1215 ^c ± 0,000	
	1/32 MİK AM	0,2939 ^b ± 0,003	
1/32 MİK AM 0,004 mg/mL AST	0,004 mg/mL AST	0,3169 ^{ab} ± 0,004	0,029*
	1/32 MİK AM - 0,0004 mg/mL AST	0,2212 ^c ± 0,010	

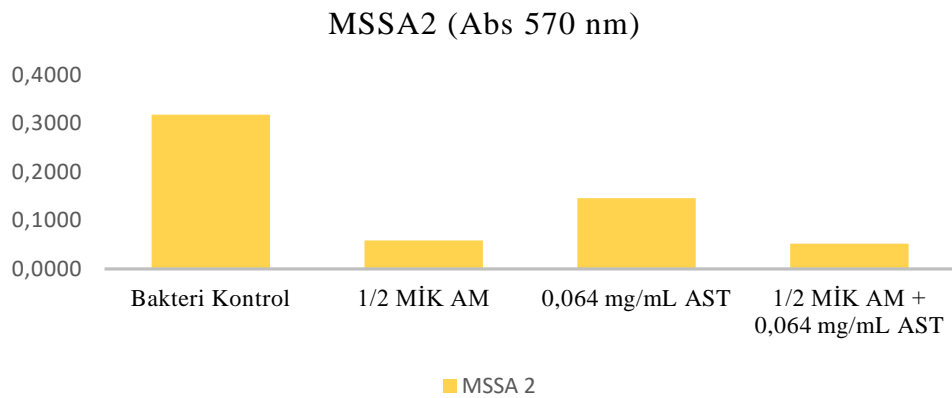
Her farklı harf gruplar arasında anlamlı fark olduğunu göstermektedir ($p \leq 0,05$). AST: Astaksantin, AM: Ampisilin, MİK: Minimum İnhibitör Konsantrasyon, OD: Optik Dansite, Ort: Ortalama, SD: Standart Sapma. * : Friedman testinin anlamlı olduğunu ifade eder.

4.6.2.2 MSSA2

MİK AM ile 0,128 mg/mL AST ve ½ MİK AM ile 0,064 mg/ mL AST kombinasyon dozlarının MSSA2 izolatının biyofilm üretimi etkisi üzerinde ampisilinin MİK ve 1/2 tekli dozları arasında fark edilir bir değişiklik gözlemlenmiştir ($p \leq 0,05$) (Tablo 4.24; Şekil 4.53, Şekil 4.54).

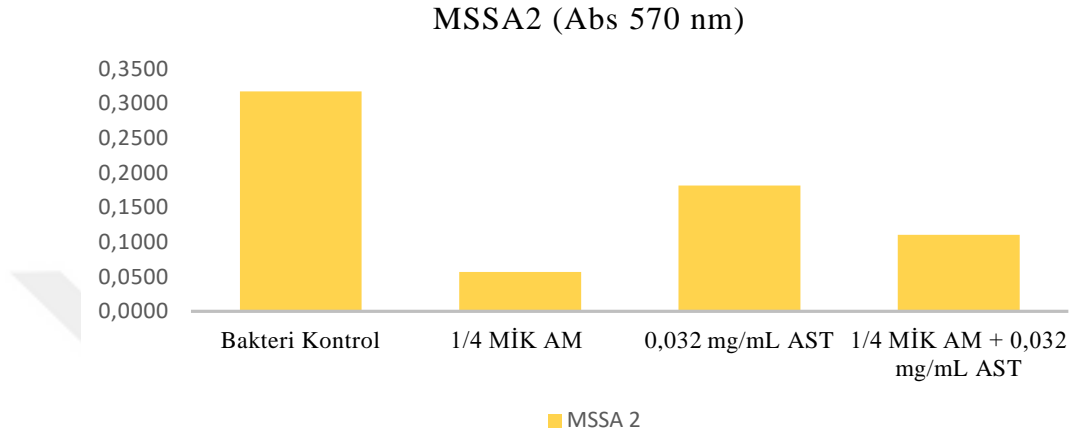


Şekil 4.53. Astaksantin ve Ampisilinin MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MSSA2 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine etkisi. AST : Astaksantin, AM: Ampisilin

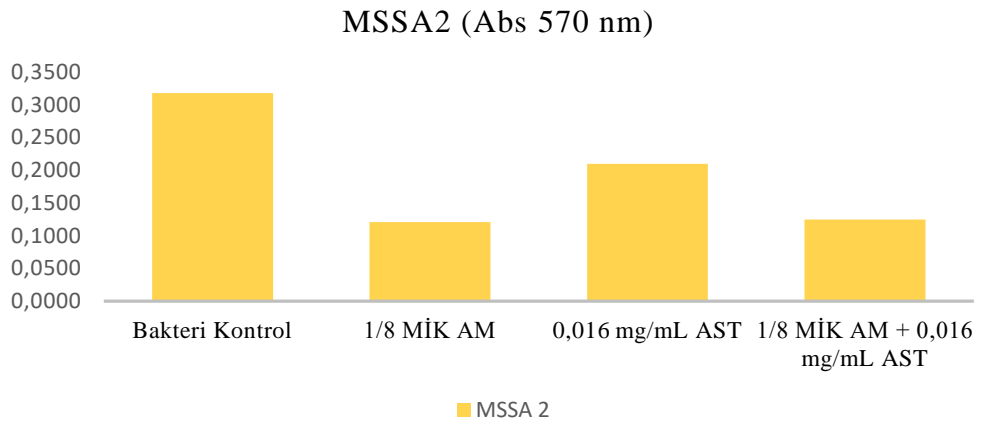


Şekil 4.54. Astaksantin ve Ampisilinin 1/2 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MSSA2 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine etkisi. AST : Astaksantin, AM: Ampisilin

1/4 MİK AM ile 0,0032 AST ve 1/8 MİK AM ile 0,016 mg/ mL AST kombinasyon dozlarının MSSA1 izolatının biyofilm üretiminin ampisilinin 1/4 MİK ve 1/8 tekli dozuna oranla daha fazla olduğu gözlemlenmiştir ($p \leq 0,05$) (Tablo 4.24; Şekil 4.55, Şekil 4.56).

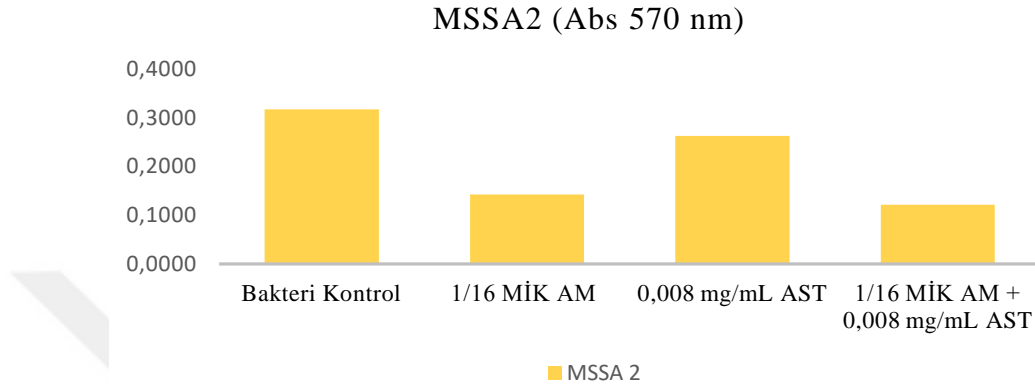


Şekil 4.55. Astaksantin ve Ampisilinin 1/4 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MSSA2 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine etkisi. AST : Astaksantin, AM: Ampisilin

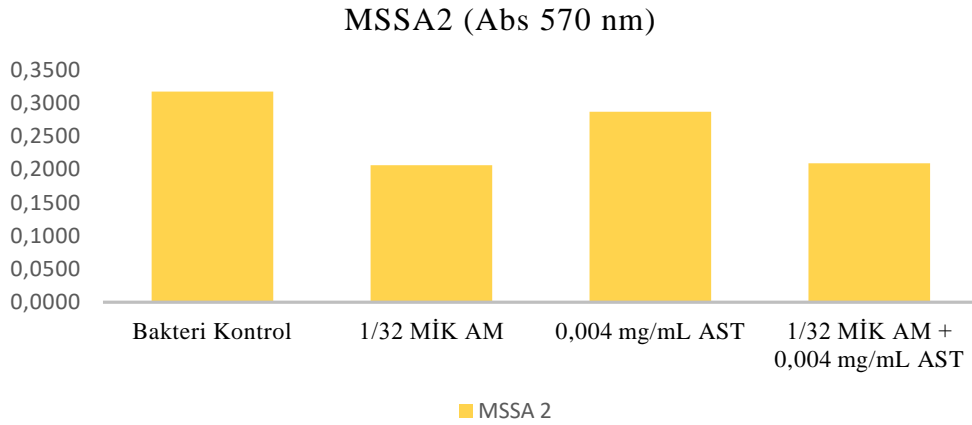


Şekil 4.56. Astaksantin ve Ampisilinin 1/8 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MSSA2 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine etkisi. AST : Astaksantin, AM: Ampisilin

1/16 MİK ve 1/32 MİK AM dozları ile buz dozların Astaksantin ile kombinasyon uygulamalarının biyofilm üretimi üzerindeki inhibitör etkisi arasında fark edilir bir değişiklik gözlemlenmemiştir ($p \leq 0,05$) (Tablo 4.24; Şekil 4.57, Şekil 4.58).



Şekil 4.57. Astaksantin ve Ampisilin'in 1/16 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MSSA2 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine etkisi. AST : Astaksantin, AM: Ampisilin



Şekil 4.58. Astaksantin ve Ampisilin'in 1/32 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MSSA2 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine etkisi. AST : Astaksantin, AM: Ampisilin

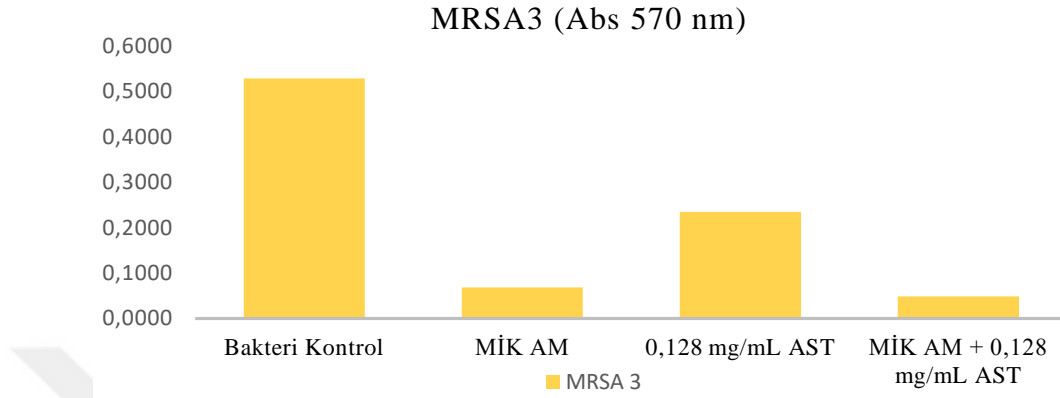
Tablo 4.24. Astaksantin ve Ampisilin Ajanlarının MSSA2 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerindeki Etkisi.

AJAN UYGULAMALARI		OD 570 nm ORT ± SD	P
MSSA2	BAKTERİ KONTROL	0,3176^a ± 0,008	
	MİK AM	0,0511 ^b ± 0,003	
MİK AM 0,128 mg/mL AST	0,128 mg/mL AST	0,1419 ^c ± 0,005	0,042*
	MİK AM - 0,128 mg/mL AST	0,0483 ^{db} ± 0,01	
	1/2 MİK AM	0,0586 ^b ± 0,007	
1/2 MİK AM 0,064 mg/mL AST	0,064 mg/mL AST	0,1458 ^c ± 0,009	0,032*
	1/2 MİK AM - 0,064 mg/mL AST	0,0524 ^{db} ± 0,007	
	1/4 MİK AM	0,0569 ^b ± 0,005	
1/4 MİK AM 0,032 mg/mL AST	0,032 mg/mL AST	0,1817 ^c ± 0,01	0,029*
	1/4 MİK AM - 0,032 mg/mL AST	0,1106 ^d ± 0,006	
	1/8 MİK AM	0,1208 ^b ± 0,003	
1/8 MİK AM 0,016 mg/mL AST	0,016 mg/mL AST	0,2096 ^c ± 0,007	0,029*
	1/8 MİK AM - 0,016 mg/mL AST	0,1683 ^d ± 0,005	
	1/16 MİK AM	0,1428 ^b ± 0,005	
1/16 MİK AM 0,008 mg/mL AST	0,008 mg/mL AST	0,2628 ^c ± 0,01	0,042*
	1/16 MİK AM - 0,008 mg/mL AST	0,1388 ^{db} ± 0,006	
	1/32 MİK AM	0,2062 ^b ± 0,006	
1/32 MİK AM 0,004 mg/mL AST	0,004 mg/mL AST	0,2872 ^c ± 0,010	0,042*
	1/32 MİK AM - 0,0004 mg/mL AST	0,2093 ^{db} ± 0,011	

Her farklı harf gruplar arasında anlamlı fark olduğunu göstermektedir ($p \leq 0,05$). AST: Astaksantin, AM: Ampisilin, MİK: Minimum İnhibitör Konsantrasyon, OD: Optik Dansite, Ort: Ortalama, SD: Standart Sapma. * : Friedman testinin anlamlı olduğunu ifade eder.

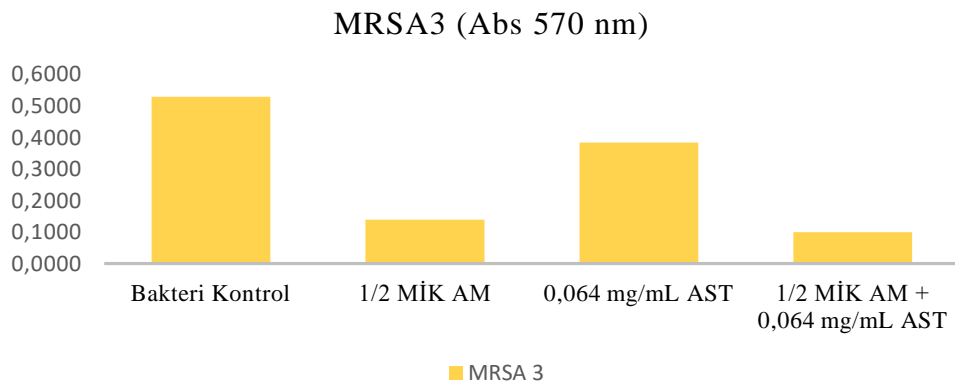
4.6.2.3 MRSA3

MİK AM ile 0,128 mg/mL AST kombinasyon dozu MRSA3 izolatının biyofilm üretimi etkisi üzerinde ampisilin MİK tekli dozu arasında fark edilir bir değişiklik gözlemlenmiştir ($p \leq 0,05$) (Tablo 4.25; Şekil 4.59).



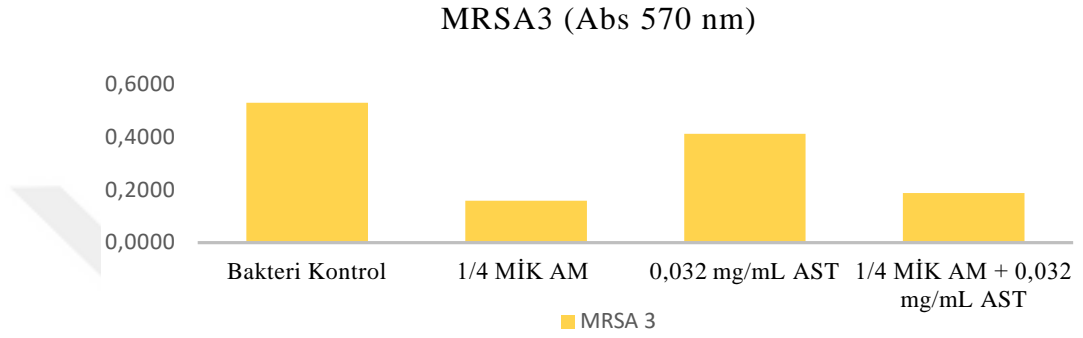
Şekil 4.59. Astaksantin ve Ampisilin MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA3 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine etkisi. AST : Astaksantin, AM: Ampisilin

1/2 MİK AM ile 0,064 mg/ mL AST kombinasyon dozu biyofilm üretimi üzerindeki inhibitör etkisi tekli 1/2 MİK AM dozuna göre daha başarılıdır ($p \leq 0,05$) (Tablo 4.25; Şekil 4.60).

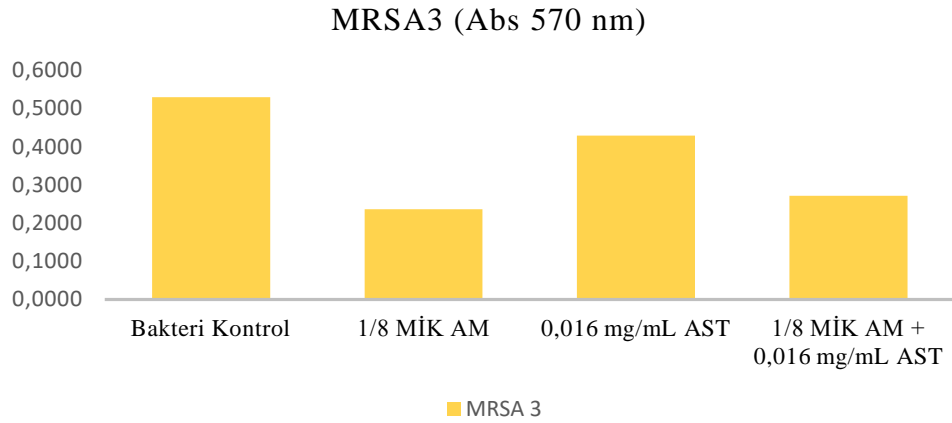


Şekil 4.60. Astaksantin ve Ampisilin 1/2 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA3 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine etkisi. AST : Astaksantin, AM: Ampisilin

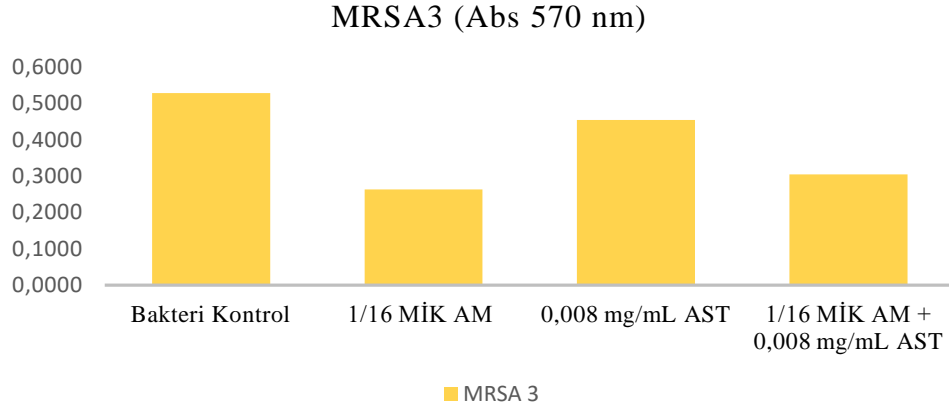
1/4 MİK AM ile 0,0032 AST, 1/8 MİK AM ile 0,016 mg/ mL AST, 1/16 MİK ile 0,008 mg/mL AST ve 1/32 MİK AM ile 0,004 mg/mL AST kombinasyon dozlarının MRSA3 izolatının biyofilm üretimi üzerindeki inhibitör etkisi ampisilinin tekli MİK doz uygulamalarına oranla daha az olduğu gözlemlenmiştir ($p \leq 0,05$) (Tablo 4.25; Şekil 4.61, Şekil 4.62, Şekil 4.63, Şekil 4.64).



Şekil 4.61. Astaksantin ve Ampisilinin 1/4 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA3 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine etkisi. AST : Astaksantin, AM: Ampisilin

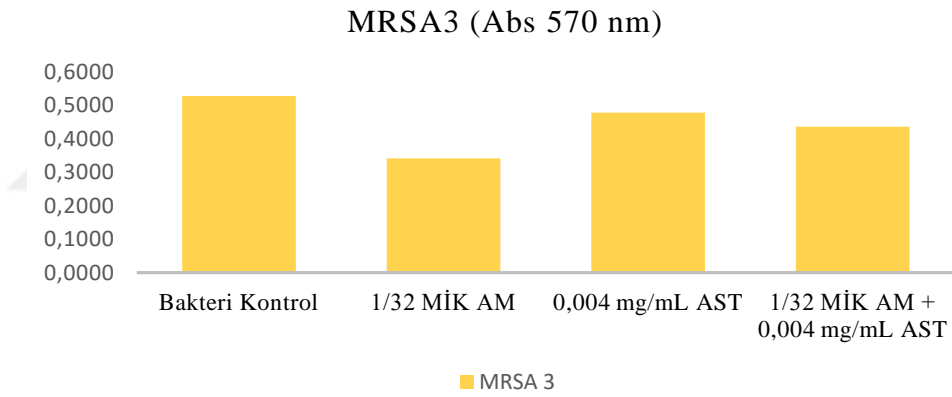


Şekil 4.62. Astaksantin ve Ampisilinin 1/8 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA3 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine etkisi. AST : Astaksantin, AM: Ampisilin



Şekil 4.63. Astaksantin ve Ampisilin'in 1/16 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA3 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine etkisi. AST :

Astaksantin, AM: Ampisilin



Şekil 4.64. Astaksantin ve Ampisilin'in 1/32 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA3 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine etkisi. AST :

Astaksantin, AM: Ampisilin

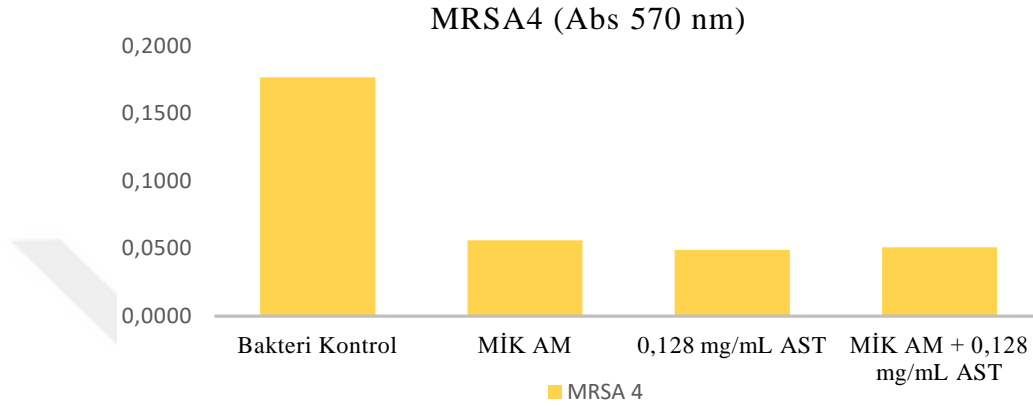
Tablo 4.25. Astaksantin ve Ampisilin Ajanlarının MRSA3 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerindeki Etkisi.

AJAN UYGULAMALARI		OD 570 nm ORT ± SD	P
MRSA 3	BAKTERİ KONTROL	0,5291^a ± 0,015	
	MİK AM	0,0687 ^b ± 0,008	
MİK AM 0,128 mg/mL AST	0,128 mg/mL AST	0,2348 ^c ± 0,010	0,029*
	MİK AM - 0,128 mg/mL AST	0,0496 ^{db} ± 0,005	
	1/2 MİK AM	0,1364 ^b ± 0,015	
1/2 MİK AM 0,064 mg/mL AST	0,064 mg/mL AST	0,3837 ^c ± 0,011	0,029*
	1/2 MİK AM - 0,064 mg/mL AST	0,1002 ^d ± 0,006	
	1/4 MİK AM	0,1578 ^b ± 0,005	
1/4 MİK AM 0,032 mg/mL AST	0,032 mg/mL AST	0,4115 ^c ± 0,009	0,029*
	1/4 MİK AM - 0,032 mg/mL AST	0,1876 ^d ± 0,011	
	1/8 MİK AM	0,2360 ^b ± 0,012	
1/8 MİK AM 0,016 mg/mL AST	0,016 mg/mL AST	0,4292 ^c ± 0,01	0,029*
	1/8 MİK AM - 0,016 mg/mL AST	0,2715 ^d ± 0,005	
	1/16 MİK AM	0,2634 ^b ± 0,006	
1/16 MİK AM 0,008 mg/mL AST	0,008 mg/mL AST	0,4569 ^c ± 0,011	0,029*
	1/16 MİK AM - 0,008 mg/mL AST	0,3046 ^d ± 0,005	
	1/32 MİK AM	0,3420 ^b ± 0,009	
1/32 MİK AM 0,004 mg/mL AST	0,004 mg/mL AST	0,4788 ^c ± 0,011	0,029*
	1/32 MİK AM - 0,0004 mg/mL AST	0,4369 ^d ± 0,01	

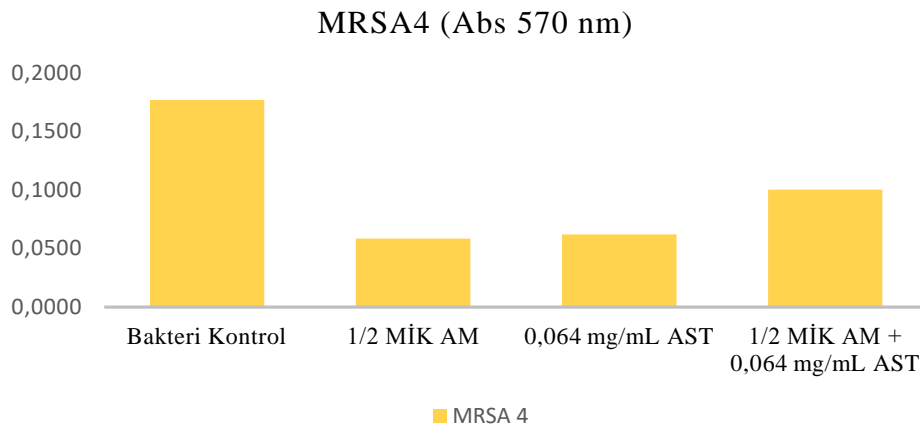
Her farklı harf gruplar arasında anlamlı fark olduğunu göstermektedir ($p \leq 0,05$). AST: Astaksantin, AM: Ampisilin, MİK: Minimum İnhibitör Konsantrasyon, OD: Optik Dansite, Ort: Ortalama, SD: Standart Sapma. * : Friedman testinin anlamlı olduğunu ifade eder.

4.6.2.4 MRSA4

MİK AM ile 0,128 mg/mL AST ve 1/2 MİK AM ile 0,064 mg/mL AST kombinasyon dozlarının MRSA4 izolatının biyofilm üretimi inhibitör etkisi ampisilinin MİK ve 1/2 MİK tekli dozları ile aynı olduğu görülmüştür ($p \leq 0,05$) (Tablo 4.26; Şekil 4.65, Şekil 4.66).

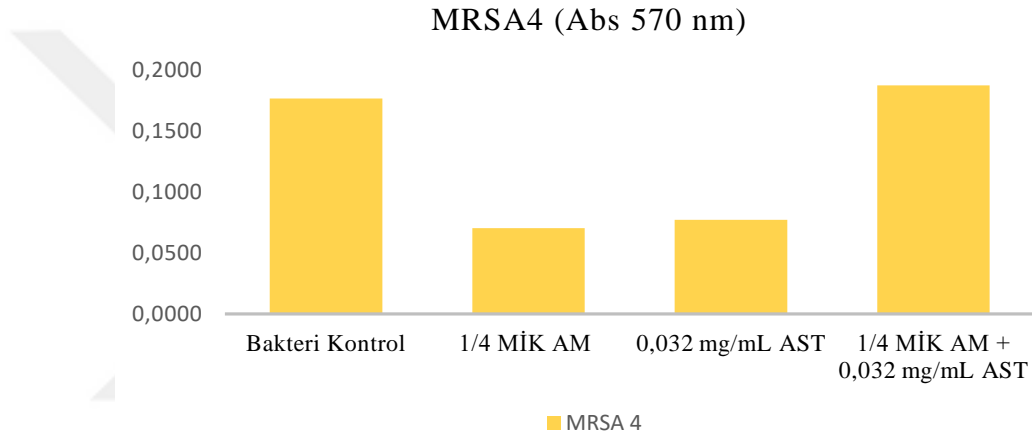


Şekil 4.65. Astaksantin ve Ampisilinin MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA4 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine etkisi. AST : Astaksantin, AM: Ampisilin

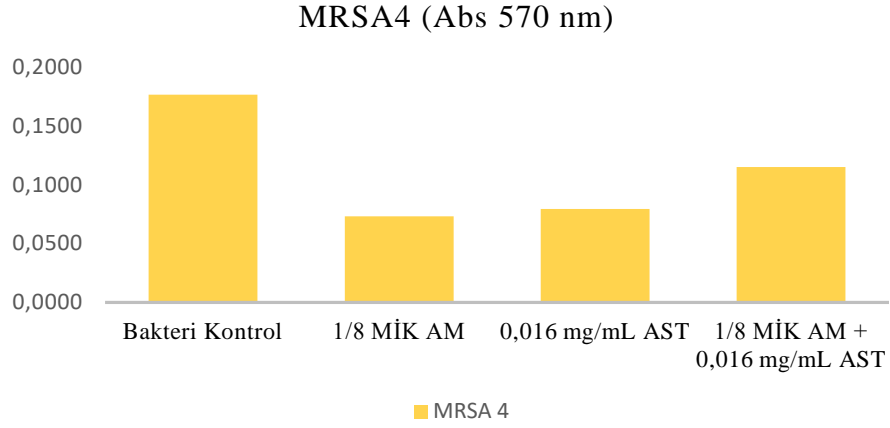


Şekil 4.66. Astaksantin ve Ampisilinin 1/2 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA4 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine etkisi. AST : Astaksantin, AM: Ampisilin

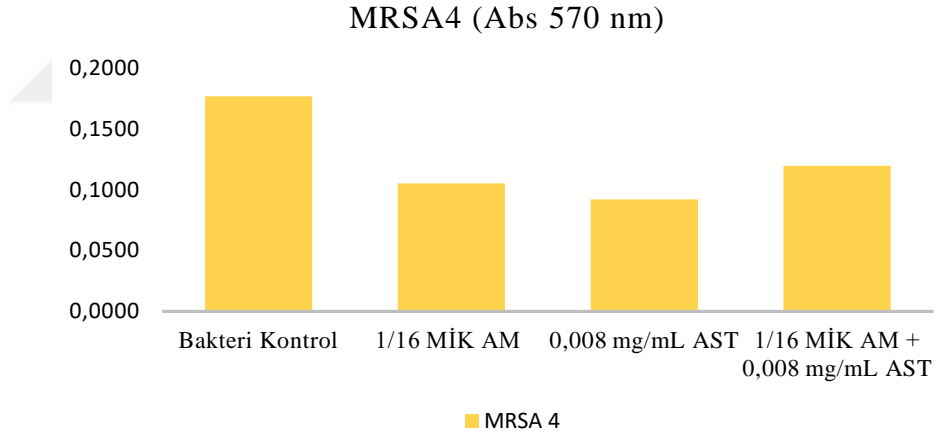
1/4 MİK AM ile 0,0032 AST, 1/8 MİK AM ile 0,016 mg/ mL AST ve 1/16 MİK ile 0,008 mg/mL AST kombinasyon dozları biyofilm üretimini üzerindeki inhibitör etkisi antibiyotığın tekli 1/4 MİK, 1/8 MİK ve 1/16 MİK dozlarına göre daha az olduğu gözlemlenmiştir. 1/32 MİK AM ile 0,04 mg/mL AST kombinasyon dozunun MRSA4 izolatının biyofilm üretimi inhibitör etkisi ampisilinin ve astaksantin tekli doz uygulamaları arasında fark gözlemlenmemiştir ($p \leq 0,05$) (Tablo 4.26; Şekil 4.67, Şekil 4.68, Şekil 4.69, Şekil 4.70).



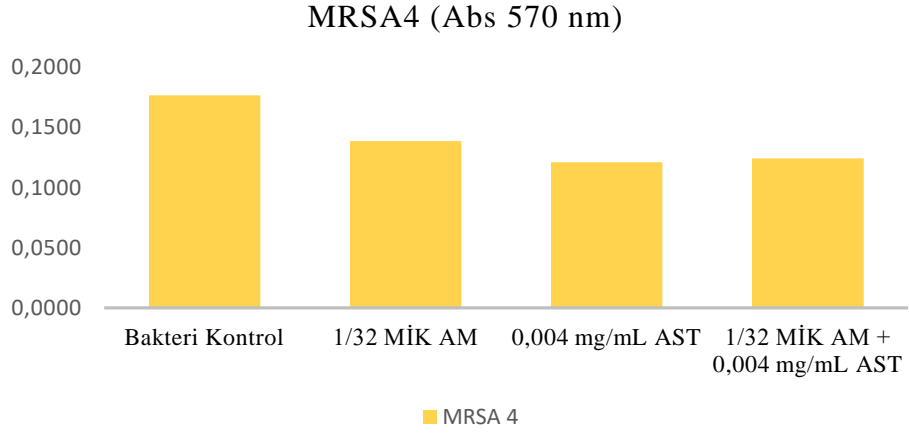
Şekil 4.67. Astaksantin ve Ampisilinin 1/4 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA4 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine etkisi. AST : Astaksantin, AM: Ampisilin



Şekil 4.68. Astaksantin ve Ampisilinin 1/8 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA4 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine etkisi. AST : Astaksantin, AM: Ampisilin



Şekil 4.69. Astaksantin ve Ampisilinin 1/16 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA4 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine etkisi. AST : Astaksantin, AM: Ampisilin



Şekil 4.70. Astaksantin ve Ampisilin 1/32 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA4 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine etkisi. AST : Astaksantin, AM: Ampisilin

Tablo 4.26. Astaksantin ve Ampisilin Ajanlarının MRSA4 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerindeki Etkisi.

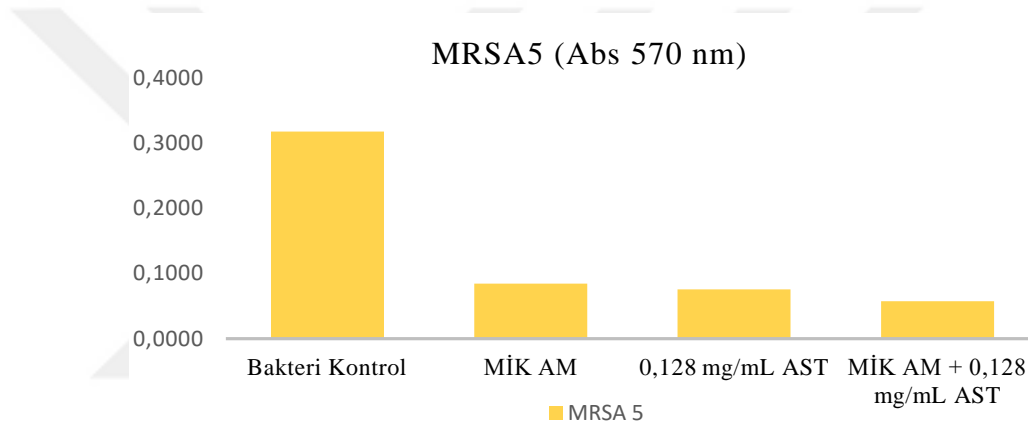
AJAN UYGULAMALARI		OD 570 nm ORT ± SD	P
MRSA 4	BAKTERİ KONTROL	0,1768^a ± 007	
	MİK AM	0,0561 ^b ± 0,000	
MİK AM 0,128 mg/mL AST	0,128 mg/mL AST	0,0489 ^c ± 0,006	0,042*
	MİK AM - 0,128 mg/mL AST	0,0508 ^{db} ± 0,005	
	1/2 MİK AM	0,0583 ^b ± 0,001	
1/2 MİK AM 0,064 mg/mL AST	0,064 mg/mL AST	0,0620 ^{cb} ± 0,000	0,029*
	1/2 MİK AM - 0,064 mg/mL AST	0,0550 ^{dbc} ± 0,000	
	1/4 MİK AM	0,0704 ^b ± 0,002	
1/4 MİK AM 0,032 mg/mL AST	0,032 mg/mL AST	0,0772 ^{cb} ± 0,002	0,029*
	1/4 MİK AM - 0,032 mg/mL AST	0,0846 ^{dc} ± 0,003	
	1/8 MİK AM	0,0732 ^b ± 0,000	
1/8 MİK AM 0,016 mg/mL AST	0,016 mg/mL AST	0,0794 ^{cb} ± 0,01	0,042*
	1/8 MİK AM - 0,016 mg/mL AST	0,1151 ^d ± 0,001	
	1/16 MİK AM	0,1051 ^b ± 0,000	
1/16 MİK AM 0,008 mg/mL AST	0,008 mg/mL AST	0,0919 ^c ± 0,003	0,029*
	1/16 MİK AM - 0,008 mg/mL AST	0,1195 ^d ± 0,004	
	1/32 MİK AM	0,1388 ^b ± 0,000	
1/32 MİK AM 0,004 mg/mL AST	0,004 mg/mL AST	0,1211 ^c ± 0,000	0,042*
	1/32 MİK AM - 0,0004 mg/mL AST	0,1244 ^{dbc} ± 0,011	

Her farklı harf gruplar arasında anlamlı fark olduğunu göstermektedir ($p \leq 0,05$). AST: Astaksantin, AM: Ampisilin, MİK: Minimum İnhibitör Konsantrasyon, OD: Optik Dansite, Ort: Ortalama, SD: Standart Sapma. * : Friedman testinin anlamlı olduğunu ifade eder.

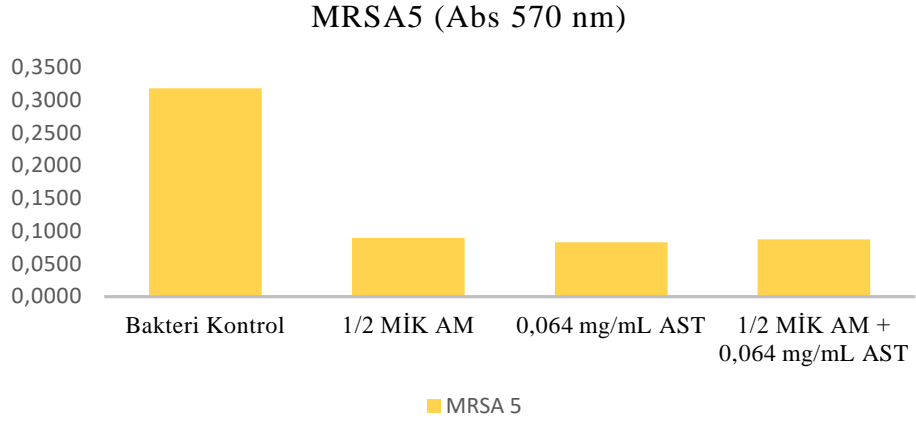
4.6.2.5 MRSA5

MİK AM ile 0,128 mg/mL AST, 1/4 MİK AM ile 0,032 mg/mL AST, 1/8 MİK AM ile 0,016 mg/ mL AST, 1/16 MİK ile 0,008 mg/mL AST ve 1/32 MİK AM ile 0,004 mg/mL AST kombinasyon dozlarının MRSA5 izolatının biyofilm üretimini ampisilinin MİK, 1/4 MİK, 1/8 MİK, 1/16 MİK ve 1/32 MİK tekli doz uygulamalarına azalttığı gözlemlenmiştir.

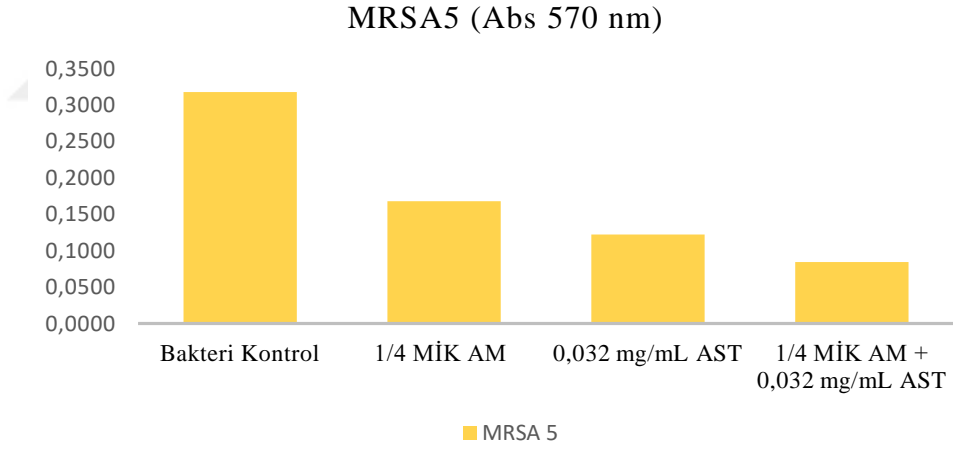
1/2 MİK AM ile 0,064 mg/mL AST kombinasyonu dozunun biyofilm üretimi üzerindeki inhibitör etkisi 1/2 MİK AM dozu ile aynı olduğu gözlemlenmiştir ($p \leq 0,05$) (Tablo 4.27; Şekil 4.71, Şekil 4.72, Şekil 4.73, Şekil 4.74, Şekil 4.75, Şekil 4.76).



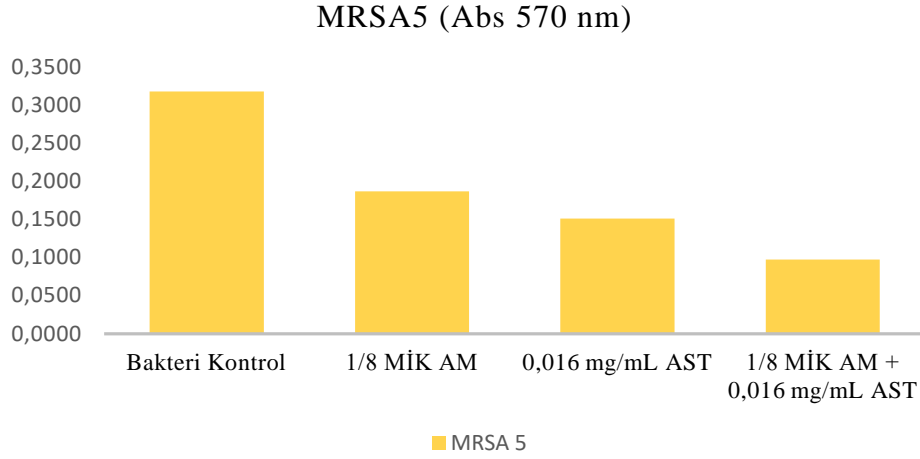
Şekil 4.71. Astaksantin ve Ampisilinin MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA5 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine etkisi. AST : Astaksantin, AM: Ampisilin



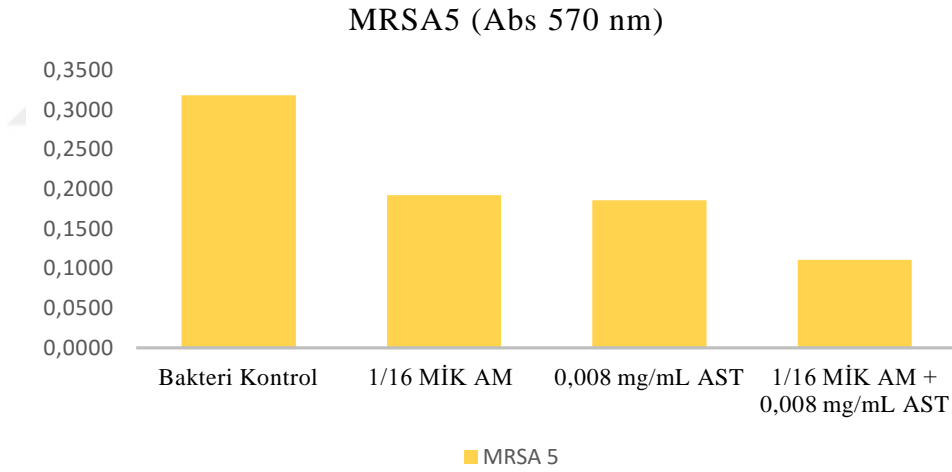
Şekil 4.72. Astaksantin ve Ampisilinin 1/2 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA5 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine etkisi. AST : Astaksantin, AM: Ampisilin



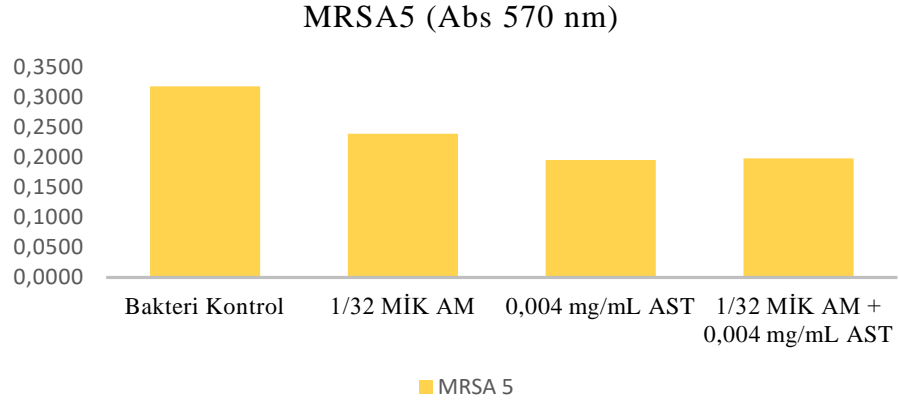
Şekil 4.73. Astaksantin ve Ampisilinin 1/4 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA5 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine etkisi. AST : Astaksantin, AM: Ampisilin



Şekil 4.74. Astaksantin ve Ampisilin 1/8 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA5 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine etkisi. AST : Astaksantin, AM: Ampisilin



Şekil 4.75. Astaksantin ve Ampisilin 1/16 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA5 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine etkisi. AST : Astaksantin, AM: Ampisilin



Şekil 4.76. Astaksantin ve Ampisilin 1/32 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA5 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine etkisi. AST : Astaksantin, AM: Ampisilin

Tablo 4.27. Astaksantin ve Ampisilin Ajanlarının MRSA5 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerindeki Etkisi.

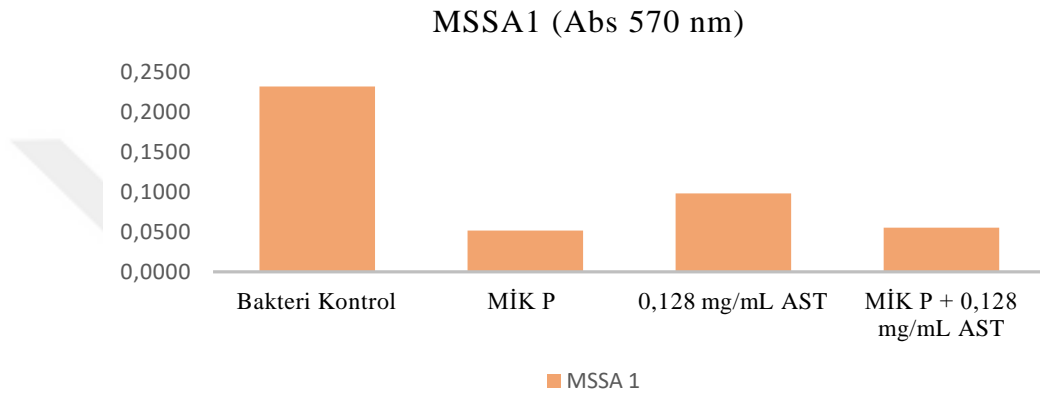
AJAN UYGULAMALARI		OD 570 nm ORT ± SD	P
MRSA 5	BAKTERİ KONTROL	0,3181^a ± 0,008	
	MİK AM	0,0845 ^b ± 0,000	
MİK AM 0,128 mg/mL AST	0,128 mg/mL AST	0,0759 ^{cb} ± 0,006	0,029*
	MİK AM - 0,128 mg/mL AST	0,0576 ^d ± 0,001	
	1/2 MİK AM	0,0897 ^b ± 0,001	
1/2 MİK AM 0,064 mg/mL AST	0,064 mg/mL AST	0,0831 ^{cb} ± 0,001	0,029*
	1/2 MİK AM - 0,064 mg/mL AST	0,0871 ^{dbc} ± 0,000	
	1/4 MİK AM	0,1682 ^b ± 0,001	
1/4 MİK AM 0,032 mg/mL AST	0,032 mg/mL AST	0,1222 ^{cb} ± 0,000	0,029*
	1/4 MİK AM - 0,032 mg/mL AST	0,0844 ^d ± 0,000	
	1/8 MİK AM	0,1872 ^b ± 0,001	
1/8 MİK AM 0,016 mg/mL AST	0,016 mg/mL AST	0,1513 ^c ± 0,008	0,029*
	1/8 MİK AM - 0,016 mg/mL AST	0,0976 ^d ± 0,001	
	1/16 MİK AM	0,1922 ^b ± 0,000	
1/16 MİK AM 0,008 mg/mL AST	0,008 mg/mL AST	0,1858 ^{cb} ± 0,001	0,029*
	1/16 MİK AM - 0,008 mg/mL AST	0,1108 ^d ± 0,001	
	1/32 MİK AM	0,2394 ^b ± 0,006	
1/32 MİK AM 0,004 mg/mL AST	0,004 mg/mL AST	0,1957 ^c ± 0,000	0,029*
	1/32 MİK AM - 0,0004 mg/mL AST	0,1985 ^{dc} ± 0,000	

Her farklı harf gruplar arasında anlamlı fark olduğunu göstermektedir ($p \leq 0,05$). AST: Astaksantin, AM: Ampisilin, MİK: Minimum İnhibitör Konsantrasyon, OD: Optik Dansite, Ort: Ortalama, SD: Standart Sapma. * : Friedman testinin anlamlı olduğunu ifade eder.

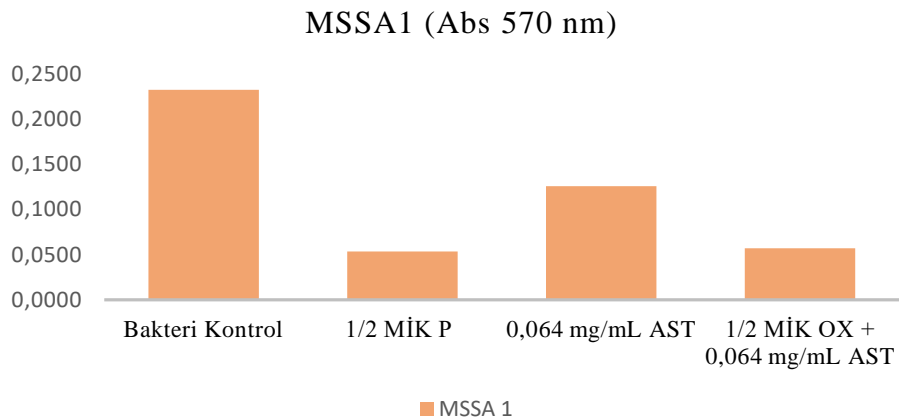
4.6.3 Astaksantin ile Penisilin Kombinasyonlarının Biyofilm Üretimi Üzerindeki Etkisi

4.6.3.1 MSSA1

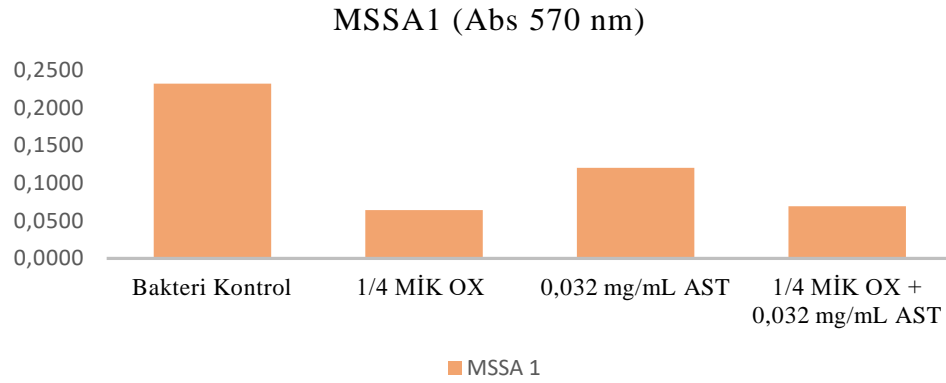
MİK P ile 0,128 mg/mL AST, 1/2 MİK P ile 0,064 mg/ mL AST ve 1/4 MİK P ile 0,032 mg/mL AST kombinasyon dozlarının MSSA1 izolatının biyofilm üretimi üzerindeki inhibitör etkisi ile penisilin MİK, 1/2 MİK ve 1/4 MİK tekli dozlarının inhibitör etkisi arasında fark edilir bir değişiklik gözlemlenmemiştir ($p \leq 0,05$) (Tablo 4.28; Şekil 4.77, Şekil 4.78, Şekil 4.79).



Şekil 4.77. Astaksantin ve Penisilin MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MSSA1 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine etkisi. AST : Astaksantin, P: Penisilin.

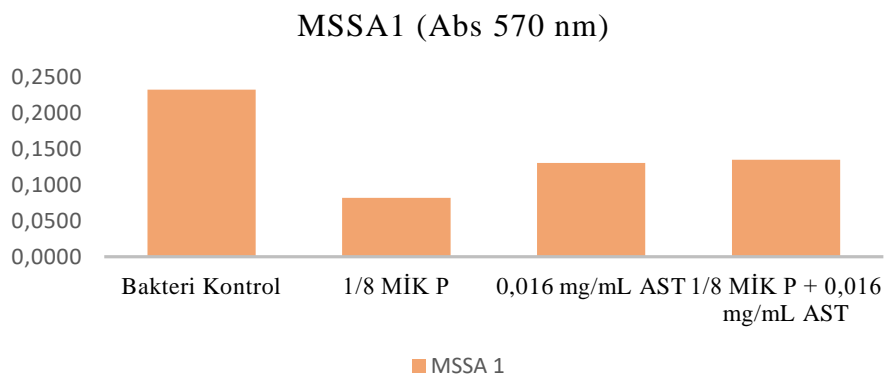


Şekil 4.78. Astaksantin ve Penisilin 1/2 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MSSA1 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine etkisi. AST : Astaksantin, P: Penisilin.

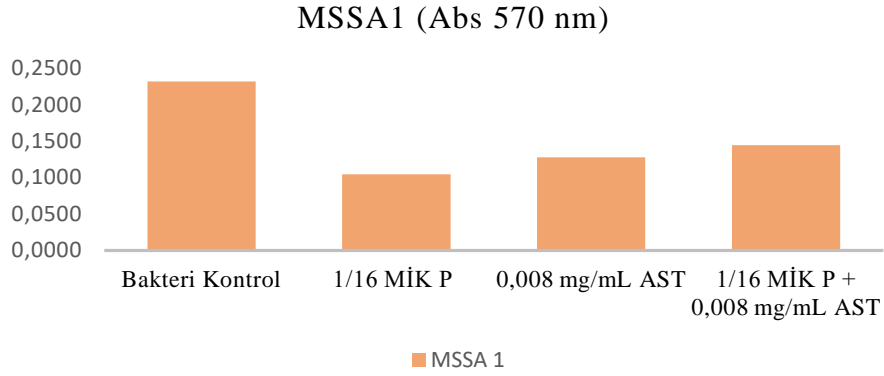


Şekil 4.79. Astaksantin ve Penisilin 1/4 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MSSA1 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine etkisi. AST : Astaksantin, P: Penisilin.

1/8 MİK P ile 0,016 mg/ mL AST, 1/16 MİK P ile 0,008 mg/mL AST ve 1/32 MİK P ile 0,004 mg/mL AST kombinasyon dozlarının MSSA1 izolatının biyofilm üretimi üzerindeki inhibitör etkisi penisilin tekli 1/8 MİK, 1/16 MİK ve 1/32 MİK dozlarına oranla daha az olduğu gözlemlenmiştir ($p \leq 0,05$) (Tablo 4.28; Şekil 4.80, Şekil 4.81, Şekil 4.82).

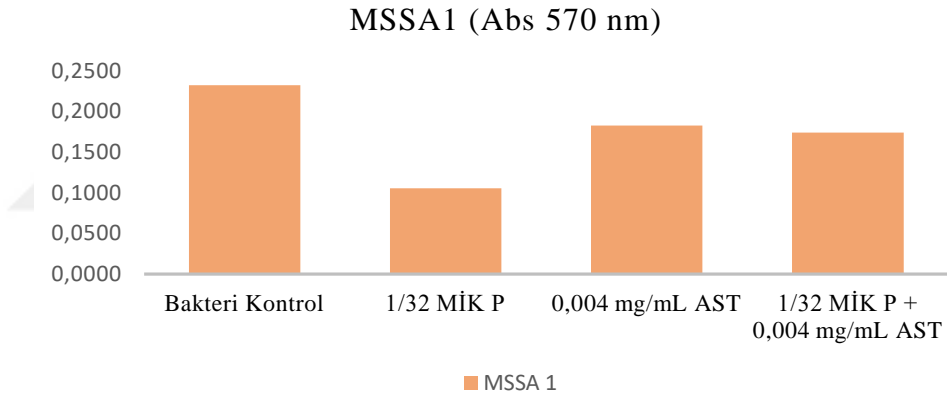


Şekil 4.80. Astaksantin ve Penisilin 1/8 dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MSSA1 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine etkisi. AST : Astaksantin, P: Penisilin.



Şekil 4.81. Astaksantin ve Penisilin 1/16 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MSSA1 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine etkisi. AST :

Astaksantin, P: Penisilin.



Şekil 4.82. Astaksantin ve Penisilin 1/32 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MSSA1 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine etkisi. AST :

Astaksantin, P: Penisilin.

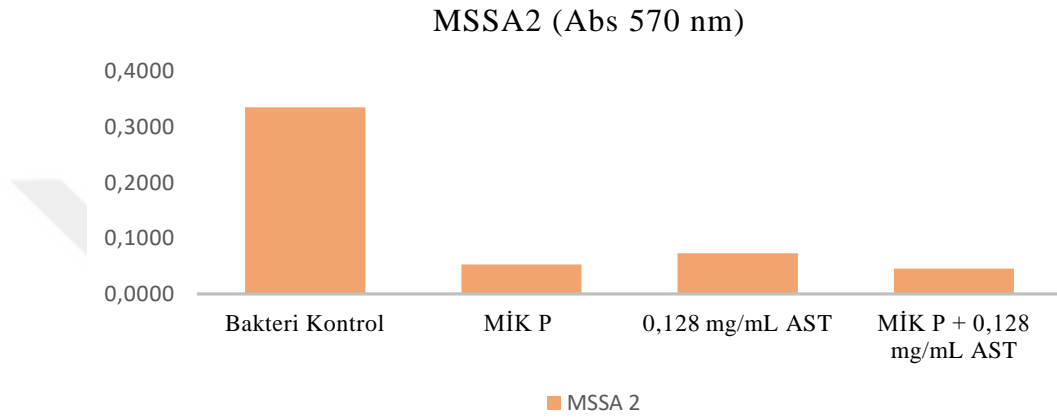
Tablo 4.28. Astaksantin ve Penisilin Ajanlarının MSSA1 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerindeki Etkisi.

AJAN UYGULAMALARI		OD 570 nm ORT ± SD	P
MSSA 1	BAKTERİ KONTROL	0,2321^a ± 0,008	
	MİK P	0,0519 ^b ± 0,001	
MİK P 0,128 mg/mL AST	0,128 mg/mL AST	0,0983 ^c ± 0,001	0,029*
	MİK P - 0,128 mg/mL AST	0,0553 ^d ± 0,004	
	1/2 MİK P	0,0535 ^b ± 0,002	
1/2 MİK P 0,064 mg/mL AST	0,064 mg/mL AST	0,1257 ^c ± 0,001	0,042*
	1/2 MİK P - 0,064 mg/mL AST	0,0571 ^{db} ± 0,004	
	1/4 MİK P	0,0644 ^b ± 0,001	
1/4 MİK P 0,032 mg/mL AST	0,032 mg/mL AST	0,1206 ^c ± 0,005	0,029*
	1/4 MİK P - 0,032 mg/mL AST	0,0692 ^{db} ± 0,006	
	1/8 MİK P	0,0818 ^b ± 0,006	
1/8 MİK P 0,016 mg/mL AST	0,016 mg/mL AST	0,1304 ^c ± 0,000	0,029*
	1/8 MİK P - 0,016 mg/mL AST	0,1346 ^{dc} ± 0,001	
	1/16 MİK P	0,1045 ^b ± 0,001	
1/16 MİK P 0,008 mg/mL AST	0,008 mg/mL AST	0,1276 ^c ± 0,01	0,029*
	1/16 MİK P - 0,008 mg/mL AST	0,1446 ^{dc} ± 0,004	
	1/32 MİK P	0,1056 ^b ± 0,001	
1/32 MİK P 0,004 mg/mL AST	0,004 mg/mL AST	0,1824 ^c ± 0,006	0,029*
	1/32 MİK P - 0,0004 mg/mL AST	0,173 ^{dc} ± 0,005	

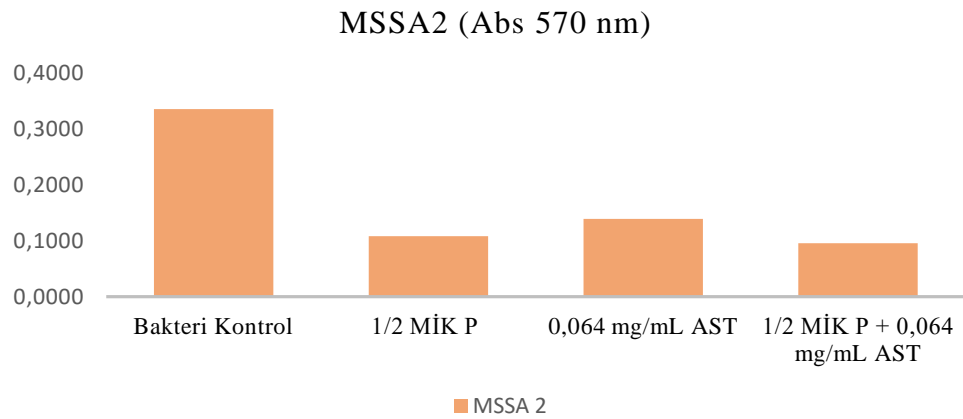
Her farklı harf gruplar arasında anlamlı fark olduğunu göstermektedir (p≤0,05). AST: Astaksantin, P: Penisilin, MİK: Minimum İnhibitör Konsantrasyon, OD: Optik Dansite, Ort: Ortalama, SD: Standart Sapma. * : Friedman testinin anlamlı olduğunu ifade eder.

4.6.3.2 MSSA2

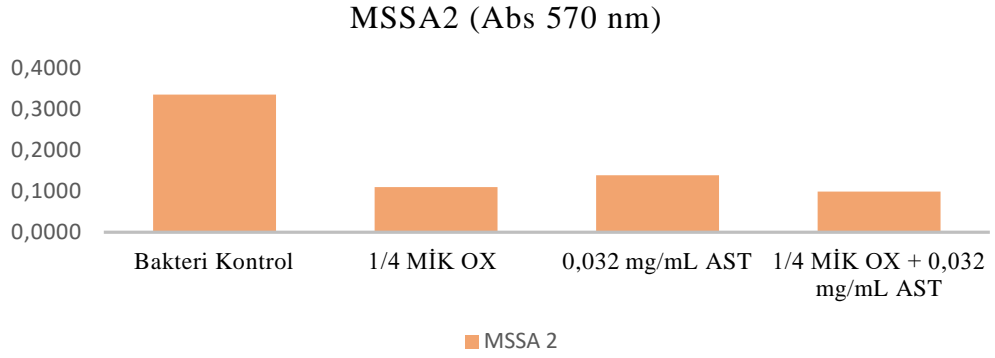
1/32 MİK P ile 0,004 mg/mL AST kombinasyon dozunun MSSA2 izolatının biyofilm üretimi üzerindeki inhibitör etkisininin 1/32 MİK P dozuna oranla daha az olduğu gözlemlenirken uygulanan diğer kombinasyonların sonuçlarının antibiyotığın tek doz uygulamalarıyla aynı oranda etki ettiği gözlemlenmiştir ($p \leq 0,05$) (Tablo 4.29; Şekil 4.83, Şekil 4.84, Şekil 4.85, Şekil 4.86, Şekil 4.87, Şekil 4.88).



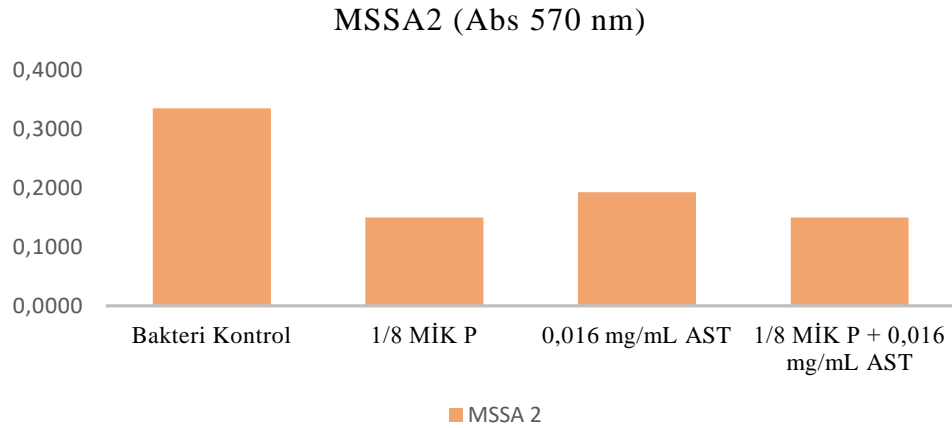
Şekil 4.83. Astaksantin ve Penisilin MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MSSA2 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine etkisi. AST : Astaksantin, P: Penisilin.



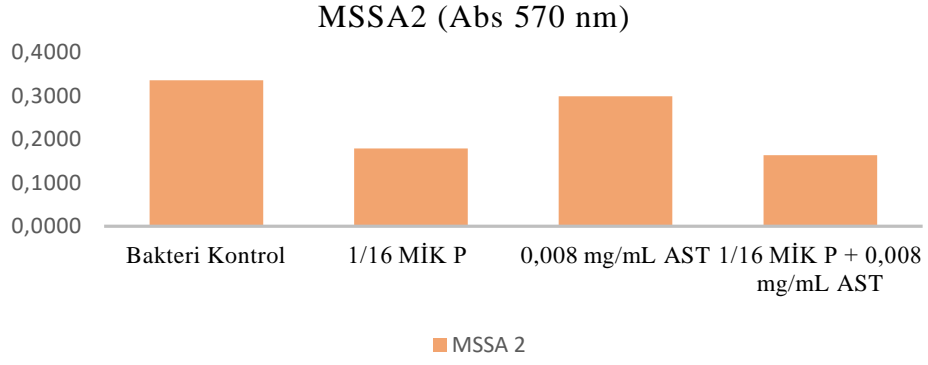
Şekil 4.84. Astaksantin ve Penisilin 1/2 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MSSA2 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine etkisi. AST : Astaksantin, P: Penisilin.



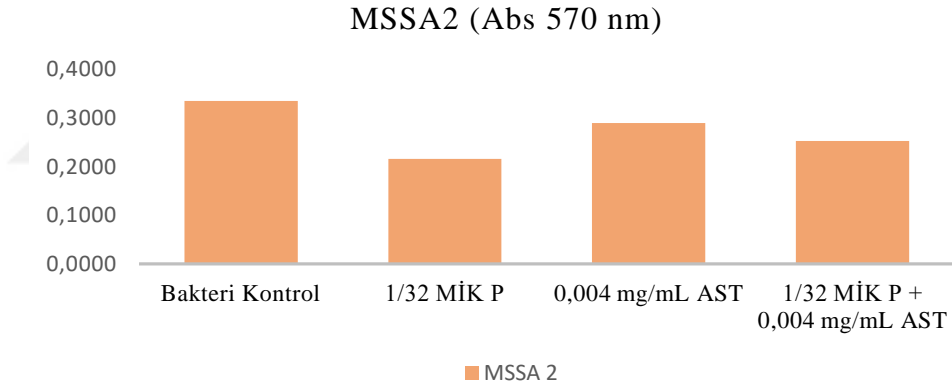
Şekil 4.85. Astaksantin ve Penisilin 1/4 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MSSA2 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine etkisi. AST : Astaksantin, P: Penisilin.



Şekil 4.86. Astaksantin ve Penisilin 1/8 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MSSA2 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine etkisi. AST : Astaksantin, P: Penisilin.



Şekil 4.87. Astaksantin ve Penisilin 1/16 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MSSA2 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine etkisi. AST : Astaksantin, P: Penisilin.



Şekil 4.88. Astaksantin ve Penisilin 1/32 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MSSA2 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine etkisi. AST : Astaksantin, P: Penisilin.

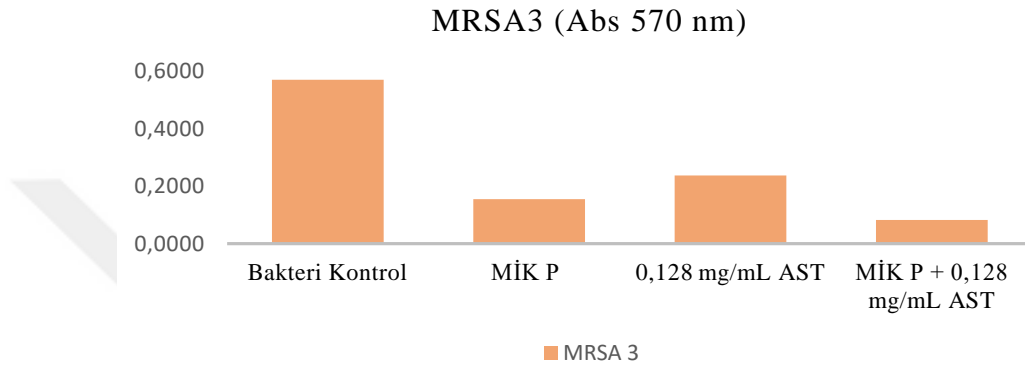
Tablo 4.29. Astaksantin ve Penisilin Ajanlarının MSSA2 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerindeki Etkisi.

AJAN UYGULAMALARI		OD 570 nm ORT ± SD	P
MSSA 2	BAKTERİ KONTROL	0,3357^a ± 0,01	
	MİK P	0,0532 ^b ± 0,003	
MİK P 0,128 mg/mL AST	0,128 mg/mL AST	0,0729 ^c ± 0,008	0,029*
	MİK P - 0,128 mg/mL AST	0,0455 ^d ± 0,006	
	1/2 MİK P	0,1081 ^b ± 0,007	
1/2 MİK P 0,064 mg/mL AST	0,064 mg/mL AST	0,1391 ^c ± 0,007	0,029*
	1/2 MİK P - 0,064 mg/mL AST	0,0956 ^d ± 0,067	
	1/4 MİK P	0,1100 ^b ± 0,004	
1/4 MİK P 0,032 mg/mL AST	0,032 mg/mL AST	0,1391 ^c ± 0,007	0,029*
	1/4 MİK P - 0,032 mg/mL AST	0,0989 ^{db} ± 0,012	
	1/8 MİK P	0,1500 ^b ± 0,001	
1/8 MİK P 0,016 mg/mL AST	0,016 mg/mL AST	0,1931 ^c ± 0,000	0,029*
	1/8 MİK P - 0,016 mg/mL AST	0,1499 ^{db} ± 0,000	
	1/16 MİK P	0,1788 ^b ± 0,006	
1/16 MİK P 0,008 mg/mL AST	0,008 mg/mL AST	0,2988 ^c ± 0,006	0,042*
	1/16 MİK P - 0,008 mg/mL AST	0,1632 ^d ± 0,010	
	1/32 MİK P	0,2161 ^b ± 0,011	
1/32 MİK P 0,004 mg/mL AST	0,004 mg/mL AST	0,2902 ^c ± 0,000	0,029*
	1/32 MİK P - 0,0004 mg/mL AST	0,2533 ^d ± 0,006	

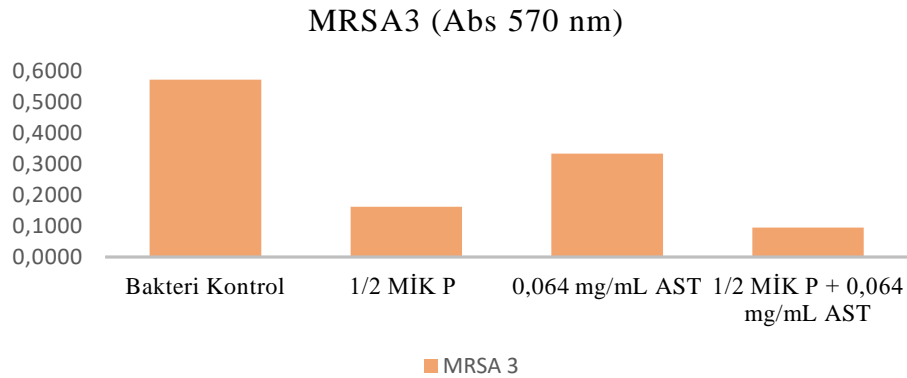
Her farklı harf gruplar arasında anlamlı fark olduğunu göstermektedir (p≤0,05). AST: Astaksantin, P: Penisilin, MİK: Minimum İnhibitör Konsantrasyon, OD: Optik Dansite, Ort: Ortalama, SD: Standart Sapma. * : Friedman testinin anlamlı olduğunu ifade eder.

4.6.3.3 MRSA3

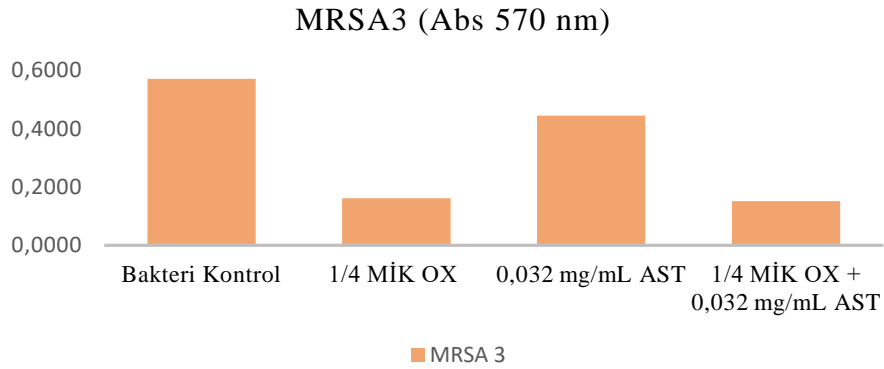
MİK P ve 1/2 MİK P tekli dozlarının MRSA3 izolatının biyofilm üretimi üzerindeki inhibitör etkisi kombinasyon dozlarına oranla daha fazla olduğu gözlemlenmiştir. 1/4 MİK P ile 0,064 mg/ mL AST kombinasyon dozunun biyofilm üretimi üzerindeki inhibitör etkisi tekli 1/4 MİK P dozuyla aynı seviyededir ($p \leq 0,05$) (Tablo 4.30; Şekil 4.89, Şekil 4.90, Şekil 4.91).



Şekil 4.89. Astaksantin ve Penisilin MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA3 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine etkisi. AST : Astaksantin, P: Penisilin.

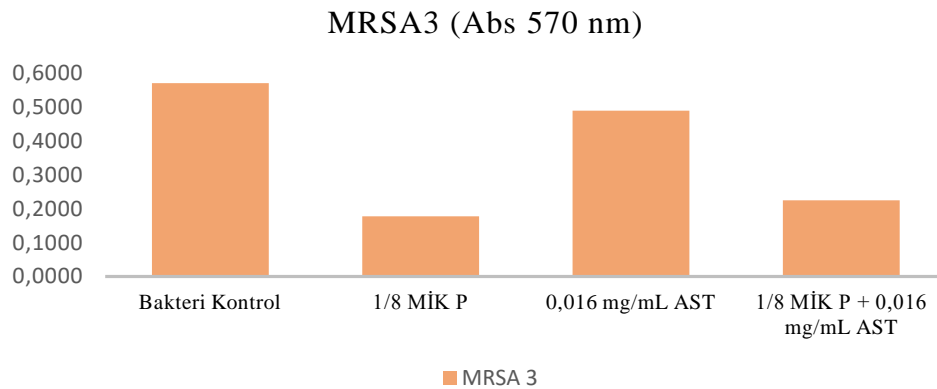


Şekil 4.90. Astaksantin ve Penisilin 1/2 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA3 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine etkisi. AST : Astaksantin, P: Penisilin.

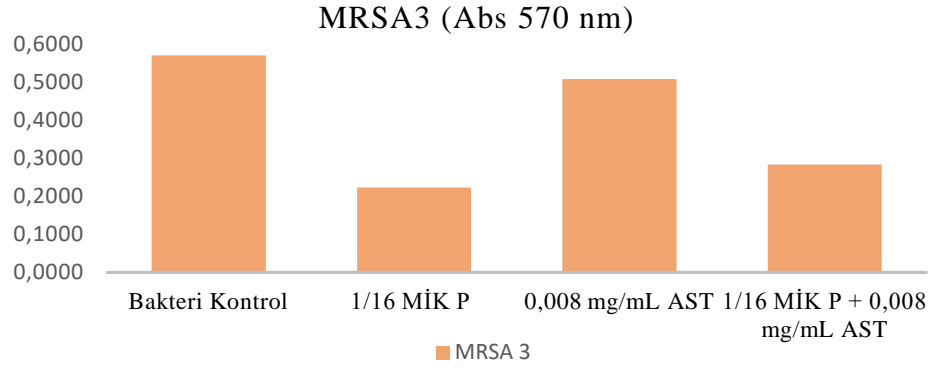


Şekil 4.91. Astaksantin ve Penisilin 1/4 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA3 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine etkisi. AST : Astaksantin, P: Penisilin.

1/8 MİK P ile 0,016 mg/mL AST, 1/16 MİK ile 0,008 mg/mL AST ve 1/32 MİK AM ile 0,004 mg/mL AST kombinasyon dozlarının MRSA3 izolatının biyofilm üretimi üzerindeki etkisinin penisilin tekli doz uygulamalarına oranla daha az olduğu gözlemlenmiştir ($p \leq 0,05$) (Tablo 4.30; Şekil 4.91, Şekil 4.92, Şekil 4.93).

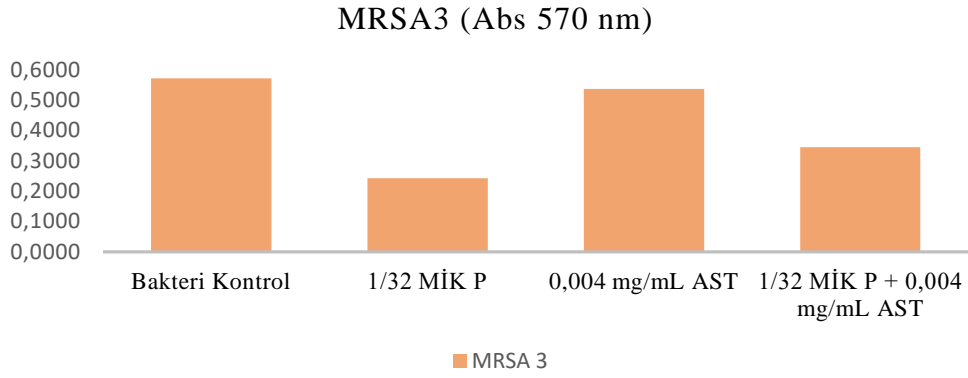


Şekil 4.92. Astaksantin ve Penisilin 1/8 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA3 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine etkisi. AST : Astaksantin, P: Penisilin.



Şekil 4.93. Astaksantin ve Penisilin 1/16 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA3 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine etkisi. AST :

Astaksantin, P: Penisilin.



Şekil 4.94. Astaksantin ve Penisilin 1/32 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA3 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine etkisi. AST :

Astaksantin, P: Penisilin.

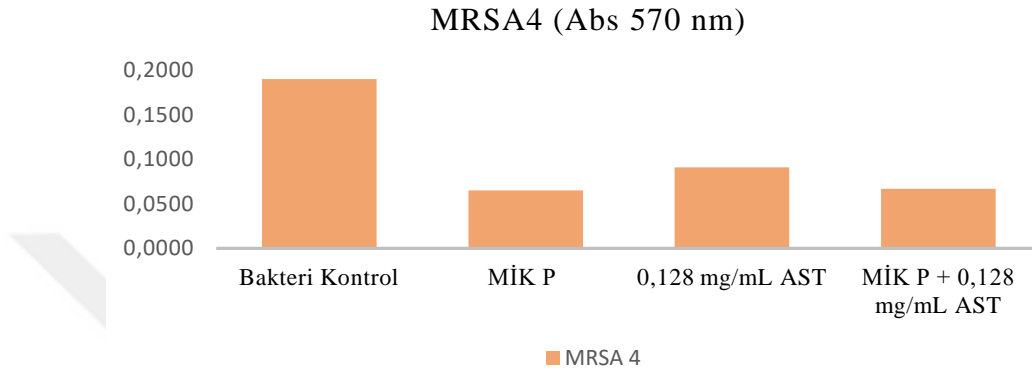
Tablo 4.30. Astaksantin ve Penisilin Ajanlarının MRSA3 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerindeki Etkisi.

AJAN UYGULAMALARI		OD 570 nm ORT ± SD	P
MRSA 3	BAKTERİ KONTROL	0,5713^a ± 0,011	
	MİK P	0,1555 ^b ± 0,011	
MİK P 0,128 mg/mL AST	0,128 mg/mL AST	0,2373 ^c ± 0,007	0,029*
	MİK P - 0,128 mg/mL AST	0,0826 ^d ± 0,006	
	1/2 MİK P	0,1622 ^b ± 0,006	
1/2 MİK P 0,064 mg/mL AST	0,064 mg/mL AST	0,3334 ^c ± 0,020	0,029*
	1/2 MİK P - 0,064 mg/mL AST	0,0947 ^d ± 0,013	
	1/4 MİK P	0,1620 ^b ± 0,007	
1/4 MİK P 0,032 mg/mL AST	0,032 mg/mL AST	0,4451 ^c ± 0,01	0,029*
	1/4 MİK P - 0,032 mg/mL AST	0,1515 ^{db} ± 0,012	
	1/8 MİK P	0,1776 ^b ± 0,009	
1/8 MİK P 0,016 mg/mL AST	0,016 mg/mL AST	0,4897 ^c ± 0,006	0,029*
	1/8 MİK P - 0,016 mg/mL AST	0,2253 ^{db} ± 0,006	
	1/16 MİK P	0,2236 ^b ± 0,012	
1/16 MİK P 0,008 mg/mL AST	0,008 mg/mL AST	0,5085 ^c ± 0,006	0,029*
	1/16 MİK P - 0,008 mg/mL AST	0,2838 ^d ± 0,010	
	1/32 MİK P	0,2425 ^b ± 0,006	
1/32 MİK P 0,004 mg/mL AST	0,004 mg/mL AST	0,5368 ^c ± 0,016	0,029*
	1/32 MİK P - 0,0004 mg/mL AST	0,3448 ^d ± 0,010	

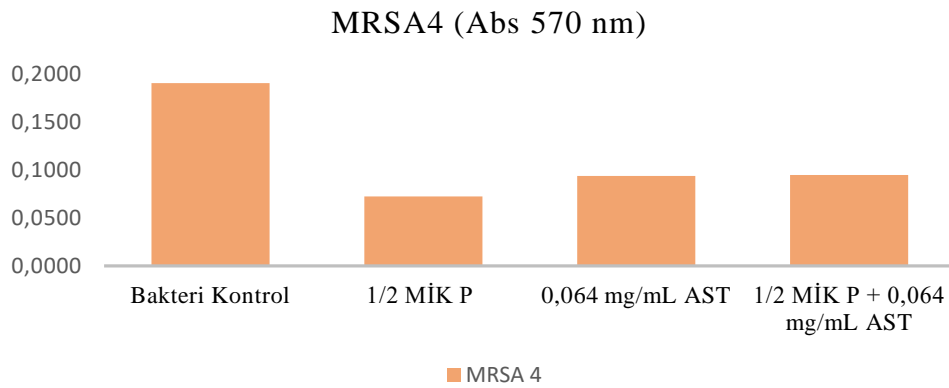
Her farklı harf gruplar arasında anlamlı fark olduğunu göstermektedir (p≤0,05). AST: Astaksantin, P: Penisilin, MİK: Minimum İnhibitör Konsantrasyon, OD: Optik Dansite, Ort: Ortalama, SD: Standart Sapma. * : Friedman testinin anlamlı olduğunu ifade eder.

4.6.3.4 MRSA4

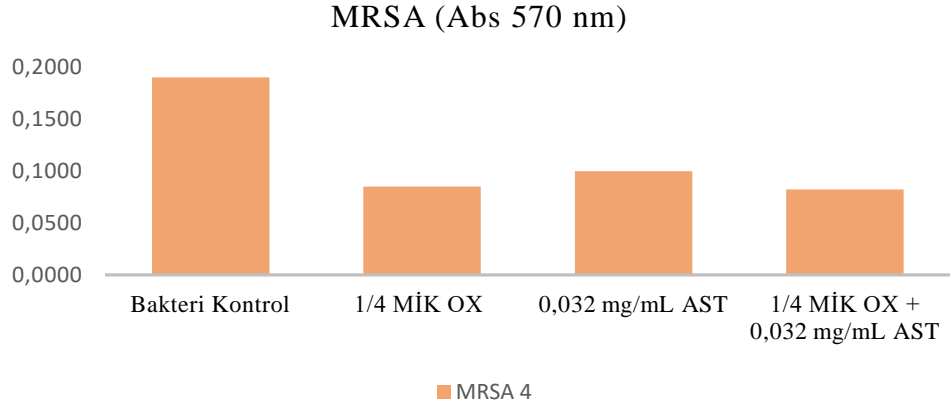
MİK P ile 0,128 mg/mL AST, ½ MİK P ile 0,064 mg/mL AST, ¼ MİK P ile 0,0032 AST, ve 1/16 MİK P ile 0,008 mg/mL AST kombinasyon dozlarının MRSA4 izolatının biyofilm üretimi inhibitör etkisi penisilin tekli dozları ile aynı olduğu görülmüştür ($p \leq 0,05$) (Tablo 4.31; Şekil 4.94, Şekil 4.95, Şekil 4.96, Şekil 4.98).



Şekil 4.95. Astaksantin ve Penisilin MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA4 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine etkisi. AST : Astaksantin, P: Penisilin.

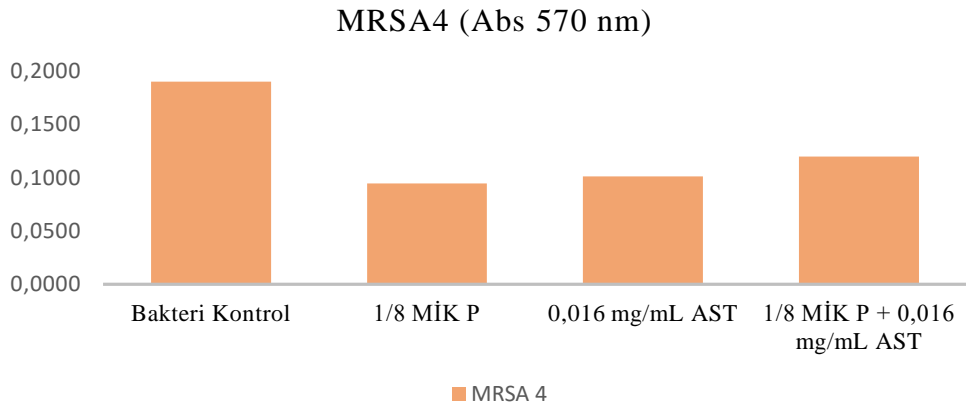


Şekil 4.96. Astaksantin ve Penisilin 1/2 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA4 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine etkisi. AST : Astaksantin, P: Penisilin.

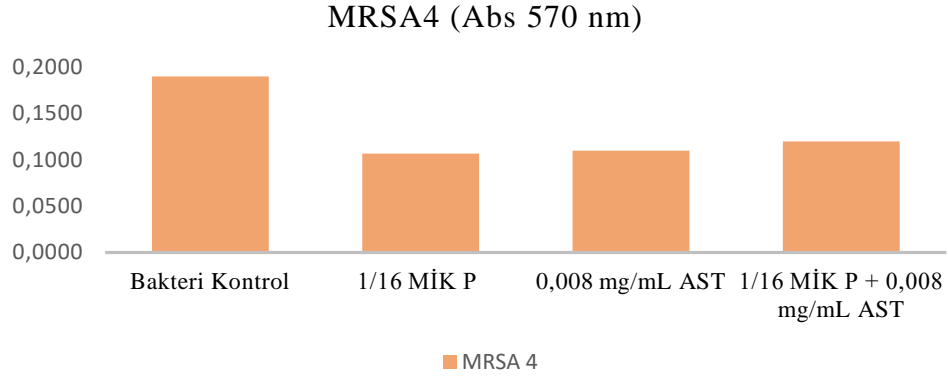


Şekil 4.97. Astaksantin ve Penisilin 1/4 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA4 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine etkisi. AST : Astaksantin, P: Penisilin.

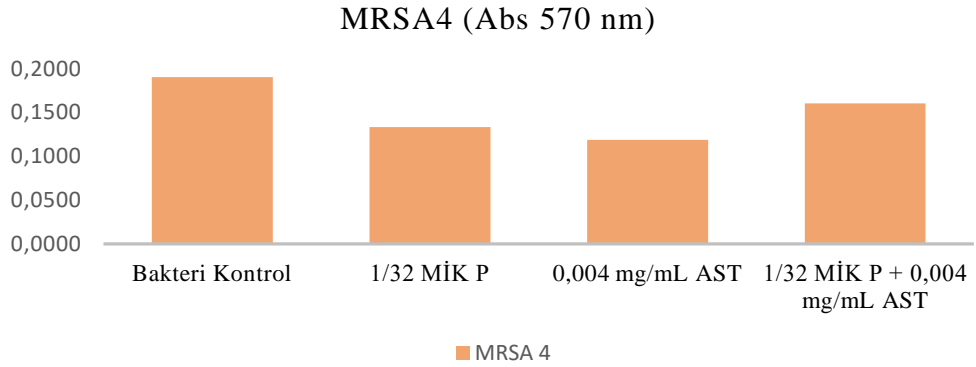
1/8 MİK P ile 0,016 mg/mL AST ve 1/32 MİK P ile 0,04 mg/mL AST kombinasyon dozlarının MRSA4 izolatının biyofilm üretimi üzerindeki inhibitör etkisi penisilin ve astaksantin tekli doz uygulamaları göre daha az etkili olduğu gözlemlenmiştir ($p \leq 0,05$) (Tablo 4.31; Şekil 4.97, Şekil 4.99).



Şekil 4.98 Astaksantin ve Penisilin 1/8 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA4 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine etkisi. AST : Astaksantin, P: Penisilin.



Şekil 4.99. Astaksantin ve Penisilin 1/16 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA4 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine etkisi. AST : Astaksantin, P: Penisilin.



Şekil 4.100. Astaksantin ve Penisilin 1/32 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA4 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine etkisi. AST : Astaksantin, P: Penisilin.

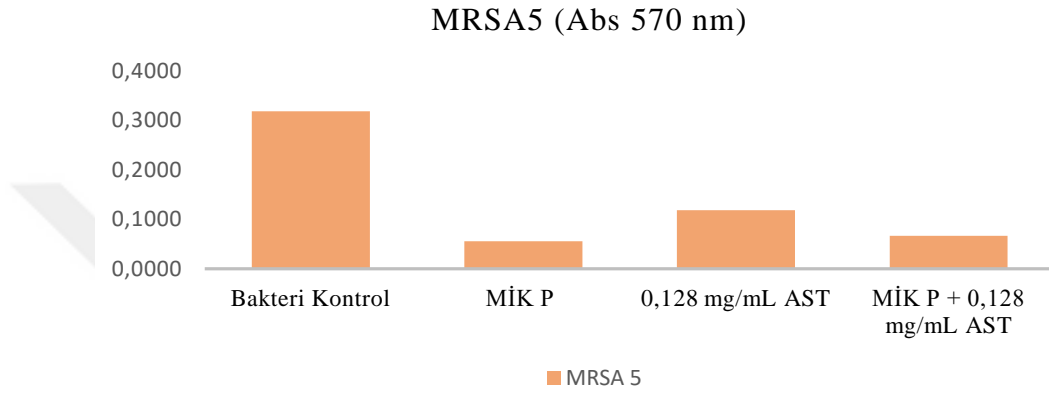
Tablo 4.31. Astaksantin ve Penisilin Ajanlarının MRSA4 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerindeki Etkisi.

AJAN UYGULAMALARI		OD 570 nm ORT ± SD	P
MRSA 4	BAKTERİ KONTROL	0,1903^a ± 0,001	
	MİK P	0,0652 ^b ± 0,004	
MİK P 0,128 mg/mL AST	0,128 mg/mL AST	0,0911 ^c ± 0,002	0,042*
	MİK P - 0,128 mg/mL AST	0,0668 ^{db} ± 0,006	
	1/2 MİK P	0,0723 ^b ± 0,005	
1/2 MİK P 0,064 mg/mL AST	0,064 mg/mL AST	0,0936 ^c ± 0,005	0,029*
	1/2 MİK P - 0,064 mg/mL AST	0,0708 ^{db} ± 0,009	
	1/4 MİK P	0,0851 ^b ± 0,006	
1/4 MİK P 0,032 mg/mL AST	0,032 mg/mL AST	0,1000 ^{cb} ± 0,000	0,042*
	1/4 MİK P - 0,032 mg/mL AST	0,0823 ^{dbc} ± 0,010	
	1/8 MİK P	0,0946 ^b ± 0,007	
1/8 MİK P 0,016 mg/mL AST	0,016 mg/mL AST	0,1012 ^{cb} ± 0,009	0,042*
	1/8 MİK P - 0,016 mg/mL AST	0,1200 ^{cb} ± 0,006	
	1/16 MİK P	0,1068 ^b ± 0,004	
1/16 MİK P 0,008 mg/mL AST	0,008 mg/mL AST	0,1101 ^{cb} ± 0,009	0,029*
	1/16 MİK P - 0,008 mg/mL AST	0,1200 ^{db} ± 0,009	
	1/32 MİK P	0,1334 ^b ± 0,007	
1/32 MİK P 0,004 mg/mL AST	0,004 mg/mL AST	0,1188 ^{cb} ± 0,005	0,029*
	1/32 MİK P - 0,0004 mg/mL AST	0,1605 ^d ± 0,001	

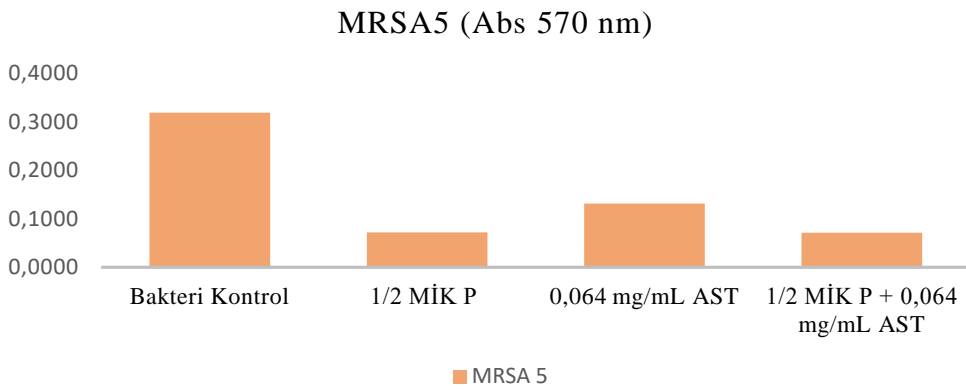
Her farklı harf gruplar arasında anlamlı fark olduğunu göstermektedir (p≤0,05). AST: Astaksantin, P: Penisilin, MİK: Minimum İnhibitör Konsantrasyon, OD: Optik Dansite, Ort: Ortalama, SD: Standart Sapma. * : Friedman testinin anlamlı olduğunu ifade eder.

4.6.3.5 MRSA5

MİK P ile 0,128 mg/mL AST kombinasyon dozunun MRSA5 izolatının biyofilm üretimi üzerindeki inhibitör etkisi MİK P dozuna oranla daha az etkili olduğu görülmüştür ($p \leq 0,05$). 1/2 MİK P ile 0,064 mg/mL AST kombinasyon dozunun izolatın biyofilm üretimi üzerindeki inhibitör etkisi ile penisilin 1/2 MİK tek dozu uygulaması arasında fark edilir bir değişiklik gözlemlenmiştir ($p \leq 0,05$) (Tablo 4.32; Şekil 4.100, Şekil 4.101).

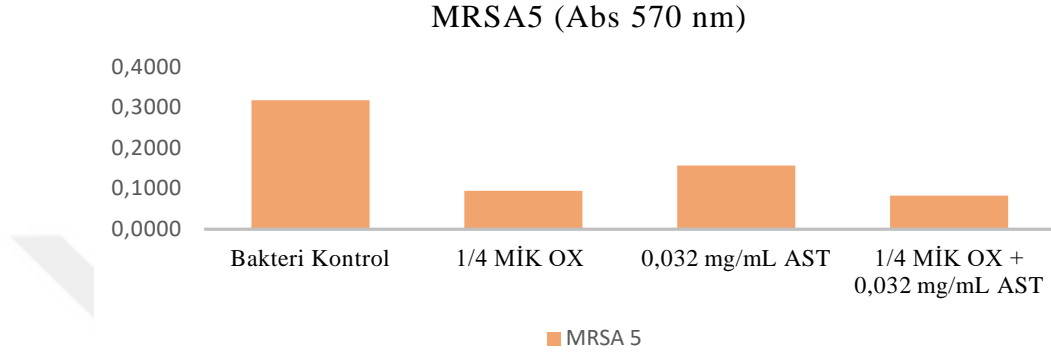


Şekil 4.101. Astaksantin ve Penisilin MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA5 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine etkisi. AST : Astaksantin, P: Penisilin.

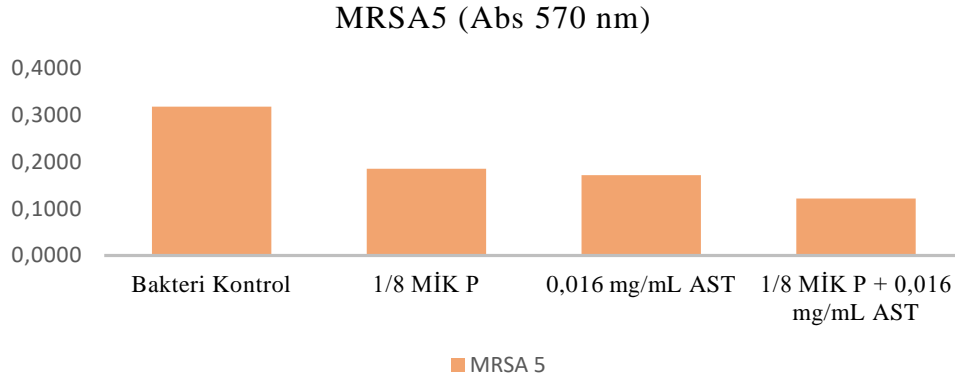


Şekil 4.102. Astaksantin ve Penisilin 1/2 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA5 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine etkisi. AST : Astaksantin, P: Penisilin.

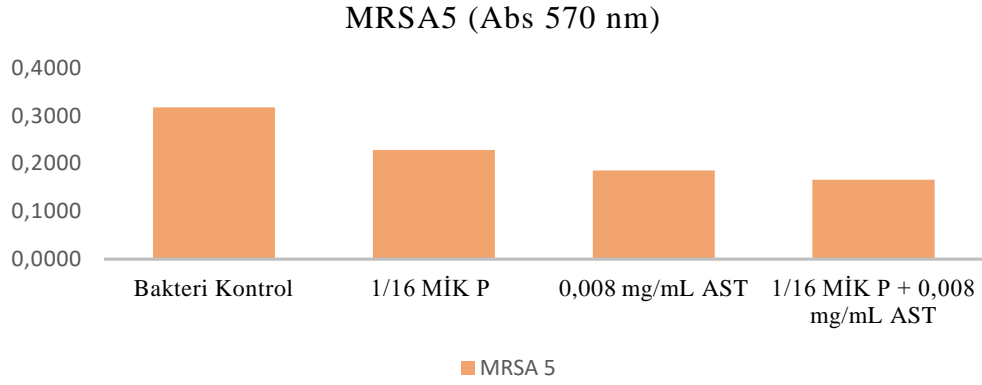
1/4 MİK P ile 0,032 mg/mL AST, 1/8 MİK P ile 0,016 mg/ mL AST, 1/16 MİK P ile 0,008 mg/mL AST ve 1/32 MİK P ile 0,004 mg/mL AST kombinasyon dozlarının MRSA5 izolatının biyofilm üretimi üzerindeki inhibitör etkisinin penisilin MİK, 1/4 MİK, 1/8 MİK, 1/16 MİK ve 1/32 MİK tekli doz uygulamalarına göre fazla gözlemlenmiştir ($p \leq 0,05$) (Tablo 4.32; Şekil 4.102, Şekil 4.103, Şekil 4.104, Şekil 4.105).



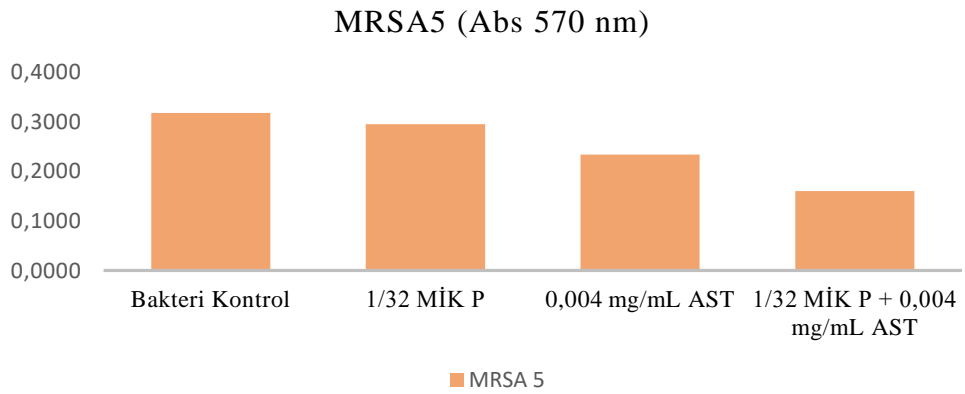
Şekil 4.103. Astaksantin ve Penisilin 1/4 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA5 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine etkisi. AST : Astaksantin, P: Penisilin.



Şekil 4.104. Astaksantin ve Penisilin 1/8 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA5 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine etkisi. AST : Astaksantin, P: Penisilin.



Şekil 4.105. Astaksantin ve Penisilin 1/16 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA5 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine etkisi. AST : Astaksantin, P: Penisilin.



Şekil 4.106. Astaksantin ve Penisilin 1/32 MİK dozunun Tek ve Kombinasyon Uygulamalarının MRSA5 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerine etkisi. AST : Astaksantin, P: Penisilin.

Tablo 4.32. Astaksantin ve Penisilin Ajanlarının MRSA5 İzolatının Biyofilm Üretimi Üzerindeki Etkisi.

AJAN UYGULAMALARI		OD 570 nm ORT ± SD	P
MRSA 5	BAKTERİ KONTROL	0,3181^a ± 0,001	
	MİK P	0,0556 ^b ± 0,000	
MİK P 0,128 mg/mL AST	0,128 mg/mL AST	0,1187 ^c ± 0,0001	0,029*
	MİK P - 0,128 mg/mL AST	0,0631 ^d ± 0,002	
	1/2 MİK P	0,0720 ^b ± 0,001	
1/2 MİK P 0,064 mg/mL AST	0,064 mg/mL AST	0,1311 ^c ± 0,006	0,042*
	1/2 MİK P - 0,064 mg/mL AST	0,0668 ^d ± 0,011	
	1/4 MİK P	0,0948 ^b ± 0,001	
1/4 MİK P 0,032 mg/mL AST	0,032 mg/mL AST	0,1569 ^c ± 0,006	0,029*
	1/4 MİK P - 0,032 mg/mL AST	0,0782 ^d ± 0,000	
	1/8 MİK P	0,1852 ^b ± 0,001	
1/8 MİK P 0,016 mg/mL AST	0,016 mg/mL AST	0,1719 ^c ± 0,008	0,029*
	1/8 MİK P - 0,016 mg/mL AST	0,1219 ^d ± 0,002	
	1/16 MİK P	0,2289 ^b ± 0,000	
1/16 MİK P 0,008 mg/mL AST	0,008 mg/mL AST	0,1859 ^c ± 0,007	0,029*
	1/16 MİK P - 0,008 mg/mL AST	0,1662 ^d ± 0,011	
	1/32 MİK P	0,2953 ^b ± 0,006	
1/32 MİK P 0,004 mg/mL AST	0,004 mg/mL AST	0,2340 ^c ± 0,01	0,029*
	1/32 MİK P - 0,0004 mg/mL AST	0,2585 ^d ± 0,005	

Her farklı harf gruplar arasında anlamlı fark olduğunu göstermektedir (p≤0,05). AST: Astaksantin, P: Penisilin, MİK: Minimum İnhibitör Konsantrasyon, OD: Optik Dansite, Ort: Ortalama, SD: Standart Sapma. * : Friedman testinin anlamlı olduğunu ifade eder.

5. TARTIŞMA

S. aureus doku kaynaklı ve medikal-cihaz kaynaklı enfeksiyonlardan sorumludur. Biyotik ve abiyotik yüzeylere yapışarak biyofilm oluşturabilme özelliği sebebiyle tedavisi oldukça zordur. *S. aureus*, sebep olduğu enfeksiyonlarını önlemek için kullanılan antibiyotiklere çeşitli nedenlerden dolayı dirençli hale gelerek dikkat çekici bir sağlık sorunu olmaktadır. Biyofilm üretme yeteneğine sahip *S. aureus*'lar kan dolaşımına girdiğinde deri ve yumuşak doku enfeksiyonları, endokardit, osteomyelit, septik artrit, bakteriyemi ve ölümcül pnömoni gibi çeşitli hastalıkları tetikleyerek insan hayatını tehdit etmektedir.

Günümüze kadar yapılan çalışmalarda çeşitli antimikrobiyal ilaçların *S. aureus* üzerindeki etkisi araştırılmış ve çeşitli antibiyotiklerle kombinasyonları denenerek antibiyotik duyarlılığın artırılması hedeflenmiştir. Günümüzde tedavilerde kullanılmakta olan Ampisilin, Oksasilin ve Penisilin β -laktam antibiyotiklerinin antimikrobiyal etkinlikleri ile ilgili çeşitli araştırmalar literatürde mevcuttur (Liu ve ark., 2000; Velasco ve ark., 2005; Kaplan ve ark., 2012; Cheng ve ark., 2016). Yine literatür tarandığında Astaksantin'in antimikrobiyal etkinliklerine bakılmasına karşın antibiyotiklerin duyarlılıkları üzerindeki etkilerinin araştırılmadığı görülmüştür.

Astaksantin'in antioksidan etkinliği, lutein, likopen, β -karoten ve C vitamini gibi halihazırda bulunan antioksidan moleküllerin etkinliklerinden daha fazla olduğu görülmektedir (Ambati ve ark., 2014; Oh ve ark., 2020). Stafilokokal biyofilm ile ilgili yapılan bir başka çalışmada C vitaminin MİK'leri 0,256 mg/mL – 0,032 mg/mL aralığında olduğu görülmüş, bu veriler göz önüne alınarak yapılan çalışmamızda kullanılan Astaksantin'in doz aralığı 0,512 mg/mL – 0,000125 mg/mL olarak belirlenmiştir (Kırmusaoglu & Kasikci, 2020). Checkerboard ve MtP deneyleri 0,512 mg/mL – 0,002 mg/mL dozlar aralığında gerçekleştirilmiştir. Çalışmamızda Astaksantin'in MİK değeri belirlenememiştir. Daha önce yapılan çalışmalarda Astaksantin'in MİK'lerinin 0,016 mg/mL – 0,001 mg/mL aralığında olduğu görülmüştür (Aribisala ve ark., 2021; Karpinski ve ark., 2021, Haasbroek ve ark., 2022).

Çalışmamızda planktonik bakterilerin β -laktam antibiyotiklere karşı duyarlılıklarının Astaksantin'in ile anlamlı olarak arttırılmadığı gözlemlenmiştir. β -laktam antibiyotiklerin *S. aureus*'ların biyofilm üretimi üzerindeki inhibitör etkisinin Astaksantin ile arttırıldığı gözlemlenmiştir.

Biyofilm içerisindeki düşük pH nedeniyle, Astaksantin'in biyofilm üretimi üzerindeki inhibitör etkinliğinin planktonik bakterilerdeki göre yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Bakterinin oluşturduğu biyofilm bulunduğu ortamın pH'ına uyum sağlar. Ortam asidik ise biyofilmin matris pH'ı da asidik olur ve asidik biyofilm

olarak adlandırılır. Ortam pH'ı bazik ise biyofilm matriks pH'ı da bazik olur ve alkalifilik biyofilm olarak adlandırılır (Charles ve ark., 2022). Aynı zamanda biyofilm içerisindeki düşük oksijen seviyeleri nedeniyle anaerobik solunum ve ortama salınan metabolik ürünlerin yeterince temizlenmesi sonucu bu bölgenin düşük pH'ı ile sonuçlanır (Behbahani ve ark., 2022). Literatür tarandığında Astaksantin etkinliğinin düşük pH'ta daha etkili olduğu görülmüştür (Ambati ve ark., 2014). Bunun bir sonucu olarak, biyofilm matriksinin asidikliğinden dolayı, biyofilm üretiminde, düşük pH'ta Astaksantin'in inhibitör aktivitesi daha fazladır.

Astaksantin ile Ampisilinin tek ve kombinasyon uygulamalarının MSSA1 izolatının biyofilm üretimi üzerindeki inhibitör etkisine bakıldığında 1/8 MİK AM ile 0,016 mg/mL AST, 1/16 MİK AM ile 0,008 mg/mL ve 1/32 MİK AM ile 0,004 mg/mL AST kombinasyon uygulamalarının tek ajan uygulamalarına göre çok daha etkili olduğu görülmüştür ($p \leq 0,05$).

Astaksantin ile Ampisilinin tek ve kombinasyon uygulamalarının MRSA3 izolatının biyofilm üretimi üzerindeki inhibitör etkisine bakıldığında 1/2 MİK AM ile 0,064 mg/mL AST kombinasyon uygulamasının tek ajan uygulamalarına göre çok daha etkili olduğu görülmüştür.

Astaksantin ile Oksasilinin tek ve kombinasyon uygulamalarının MRSA3 izolatının biyofilm üretimi üzerindeki inhibitör etkisine bakıldığında 1/4 MİK OX ile 0,032 mg/mL AST, 1/8 MİK OX ile 0,016 mg/mL AST, 1/16 MİK OX ile 0,008 mg/mL ve 1/32 MİK OX ile 0,004 mg/mL AST kombinasyon uygulamasının tek ajan uygulamalarına göre çok daha etkili olduğu görülmüştür ($p \leq 0,05$).

Astaksantin ile Penisilinin tek ve kombinasyon uygulamalarının MRSA3 izolatının biyofilm üretimi üzerindeki inhibitör etkisine bakıldığında MİK P ile 0,128 mg/mL AST ve 1/2 MİK P ile 0,064 mg/mL AST kombinasyon uygulamalarının tek ajan uygulamalarına göre çok daha etkili olduğu görülmüştür ($p \leq 0,05$).

Astaksantin ile Oksasilinin tek ve kombinasyon uygulamalarının MRSA4 izolatının biyofilm üretimi üzerindeki inhibitör etkisine bakıldığında 1/16 MİK OX ile 0,008 mg/mL ve 1/32 MİK OX ile 0,004 mg/mL AST kombinasyon uygulamasının tek ajan uygulamalarına göre çok daha etkili olduğu görülmüştür ($p \leq 0,05$).

Astaksantin ile Ampisilinin tek ve kombinasyon uygulamalarının MRSA5 izolatının biyofilm üretimi üzerindeki inhibitör etkisine bakıldığında MİK AM ile 0,128 mg/mL AST, 1/4 MİK AM ile 0,032 mg/mL AST, 1/8 MİK AM ile 0,016 mg/mL AST, 1/16 MİK AM ile 0,008 mg/mL ve 1/32 MİK AM ile 0,004 mg/mL AST kombinasyon uygulamalarının tek ajan uygulamalarına göre çok daha etkili olduğu görülmüştür ($p \leq 0,05$).

Astaksantin ile Oksasilinin tek ve kombinasyon uygulamalarının MRSA5 izolatının biyofilm üretimi üzerindeki inhibitör etkisine bakıldığında 1/16 MİK OX ile 0,008 mg/mL ve 1/32 MİK OX ile 0,004 mg/mL AST kombinasyon uygulamasının tek ajan uygulamalarına göre çok daha etkili olduğu görülmüştür ($p \leq 0,05$).

Astaksantin ile Penisilin tek ve kombinasyon uygulamalarının MRSA5 izolatının biyofilm üretimi üzerindeki inhibitör etkisine bakıldığında 1/4 MİK P ile 0,032 mg/mL AST, 1/8 MİK P ile 0,016 mg/mL AST, 1/16 MİK P ile 0,008 mg/mL ve 1/32 MİK P ile 0,004 mg/mL AST kombinasyon uygulamalarının tek ajan uygulamalarına göre çok daha etkili olduğu görülmüştür ($p \leq 0,05$).

Çalışmamızda, Astaksantin MRSA izolatlarının β -Laktamlara karşı duyarlılıklarını MSSA izolatlarına göre daha fazla artırdığı görülmüştür ($p \leq 0,05$). Bunun nedeninin MRSA izolatlarının β -laktam varlığında salgıladıkları β -laktamazların ortam pH'ını daha da asidikleştirerek Astaksantin'in metabolik aktivitesini arttırdığı düşünülmektedir. Aynı zamanda yapılan bir çalışmada *Enterococcus faecalis*'in ortamdaki β -laktam'ların varlığında ROS'u (Reaktif Oksijen Türleri) arttığını göstermiştir. ROS artması ortamdaki oksijenin düşmesine neden olarak hücre pH'ını asidikleştirir. β -laktam'ların varlığında ROS'un artması *Eschericia coli*'de yapılan çalışmada da gözlemlenmiştir (Leger ve ark., 2019; Wong ve ark., 2022; Behbahani ve ark., 2022). Bu durumun da Astaksantin'in MRSA üzerindeki aktivitesinin daha etkili olması için ortam hazırladığı düşünülmektedir.

6. SONUÇLAR

Gram pozitif bir bakteri olan *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), sağlıklı bir cildi enfekte etmez fakat dokulara ve/veya kan dolaşımına girdiğinde çok ciddi enfeksiyonlara sebebiyet verir. Biyofilm üretme yeteneği sayesinde tedavisi zor olmakta, bunun sonucu olarak mortalite ve morbiditesi yüksektir. Stafilokokal enfeksiyonların tedavisinde β -laktam grubu antibiyotikler kullanılmaktadır. Ancak günümüzde yaygın ve gereksiz antibiyotik kullanımıyla beraber dirençli suşlar geliştiren *S. aureus* kaynaklı enfeksiyonların tedavisi zorlaşmış ve bu durum ciddi bir sağlık sorunu haline gelmiştir. Bundan dolayı metisilin dirençli *S. aureus*'ların (MRSA) tedavileri için yeni antimikrobiyal ajanların bulunması önemlidir.

Yapılan tez çalışmasında *S. aureus* izolatlarını inhibe etmek ve biyofilm üretimini durdurmak için Astaksantin ile β -laktam grubu antibiyotiklerin tek ve kombinasyonları uygulanmıştır. Planktonik bakteriler üzerinde antibiyotikler ile Astaksantin'in tek ve kombinasyon uygulamaları sonucunda anlamlı bir farklılık gözlemlenmemiştir.

Astaksantin ve β -laktam grubu antibiyotiklerin tek ve kombinasyonlarının biyofilm üretimini azaltmada belirli dozlarda etkili olduğu gözlemlenirken Astaksantin'in Oksasilin ile kombinasyonlarının biyofilm üretimini azaltmada daha başarılı olduğu gözlemlenmiştir.

Astaksantin ve β -laktam grubu antibiyotiklerin kombinasyon uygulamalarının biyofilm üretimi yapan MRSA izolatlarında MSSA izolatlarına göre daha başarılı olduğu görülmüştür.

Genel olarak 1/16 MİK ve 1/32 MİK antibiyotik dozlarındaki biyofilm üretiminin Astaksantin kombinasyonu ile azaldığı gözlemlenmiştir. Kısacası Astaksantin biyofilm üretiminde MSSA'larda antibiyotiklerin MİK dozlarını 32 kata kadar indirirken; MRSA'larda MİK dozlarını 2 ile 32 kat arasında düşürmeyi başarmıştır. Bu sonuçlara bakılarak hem MRSA kaynaklı biyofilm enfeksiyonlarında, *S.aureus* izolatlarının antibiyotiklere karşı duyarlılıklarını arttırıp biyofilm üretimlerini inhibe etmek için hem de proflaktik tedavi için Astaksantin'in tedavi opsiyonu olarak hastalara uygulanabileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Ambati, R. R., Phang, S. M., Ravi, S., & Aswathanarayana, R. G.** (2014). Astaxanthin: sources, extraction, stability, biological activities and its commercial applications--a review. *Marine drugs*, 12(1), 128–152. <https://doi.org/10.3390/md12010128>
- Archer, N. K., Mazaitis, M. J., Costerton, J. W., Leid, J. G., Powers, M. E., & Shirtliff, M. E.** (2011). Staphylococcus aureus biofilms: properties, regulation, and roles in human disease. *Virulence*, 2(5), 445-459.
- Aribisala, J. O., Nkosi, S., Idowu, K., Nurain, I. O., Makolomakwa, G. M., Shode, F. O., & Sabiu, S.** (2021). Astaxanthin-Mediated Bacterial Lethality: Evidence from Oxidative Stress Contribution and Molecular Dynamics Simulation. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2021, 7159652. <https://doi.org/10.1155/2021/7159652>
- Barker, H.** (2023, 1 Haziran). *Holly Barker's headshot..* Erişim tarihi: 7 Haziran 2024, <https://www.the-scientist.com/infographic-stages-of-biofilm-formation-71140> adresinden erişildi.
- Bashir, A., Farid, N., Ali, K., & Fatima, K.** (2019). Development of Biofilms for Antimicrobial Resistance. In Pathogenic Bacteria. IntechOpen.
- Becker, K., Heilmann, C., & Peters, G.** (2014). Coagulase-negative staphylococci. *Clinical microbiology reviews*, 27(4), 870-926.
- Behbahani, S. B., Kiridena, S. D., Wijayaratna, U. N., Taylor, C., Anker, J. N., & Tzeng, T. J.** (2022). pH variation in medical implant biofilms: Causes, measurements, and its implications for antibiotic resistance. *Frontiers in microbiology*, 13, 1028560. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1028560>

- Best, G. K., Best, N. H., & Koval, A. V.** (1974). Evidence for participation of autolysins in bactericidal action of oxacillin on *Staphylococcus aureus*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 6(6), 825-830.
- Bhattacharya, M., Wozniak, D. J., Stoodley, P., & Hall-Stoodley, L.** (2015). Prevention and treatment of *Staphylococcus aureus* biofilms. *Expert review of anti-infective therapy*, 13(12), 1499-1516.
- Chambers, H. F., & Sachdeva, M.** (1990). Binding of beta-lactam antibiotics to penicillin-binding proteins in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *The Journal of infectious diseases*, 161(6), 1170–1176. <https://doi.org/10.1093/infdis/161.6.1170>
- Charles, C. J., Rout, S. P., Jackson, B. R., Boxall, S. A., Akbar, S., & Humphreys, P. N.** (2022). The evolution of alkaliphilic biofilm communities in response to extreme alkaline pH values. *MicrobiologyOpen*, 11, e1309. <https://doi.org/10.1002/mbo3.1309>
- Cheng, M. P., René, P., Cheng, A. P., & Lee, T. C.** (2016). Back to the Future: Penicillin-Susceptible *Staphylococcus aureus*. *The American Journal of Medicine*, 129(12), 1331–1333. doi:10.1016/j.amjmed.2016.01.048
- Cheung, G. Y., Bae, J. S., & Otto, M.** (2021). Pathogenicity and virulence of *Staphylococcus aureus*. *Virulence*, 12(1), 547-569.
- Christensen, G.D., Simpson, W. A., Younger, J. J., Baddour, L. M., Barrett, F. F., Melton, D. M. & Beachey, E. H.** (1985). Adherence of coagulase-negative staphylococci to plastic tissue culture plates: A quantitative model for the adherence of staphylococci to medical devices. *Journal of Clinical Microbiology*, 22(6): 996-1006.
- CLSI.** (2013) Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twentythird informational supplement. Wayne PA: Clinical and Laboratory Standards Institute. CLSI document M100-S123.
- Dolma, T., Mukherjee, R., Pati, B. K., & De, U. K.** (2014). *Acute Phase Response and Neutrophils : Lymphocyte Ratio in Response to Astaxanthin in Staphylococcal Mice Mastitis Model. Journal of Veterinary Medicine, 2014, 1–5.* doi:10.1155/2014/147652

- Foster, T. J.** (2017). *Antibiotic resistance in Staphylococcus aureus. Current status and future prospects. FEMS Microbiology Reviews, 41(3), 430–449.* doi:10.1093/femsre/fux007
- Foster, T. J.** (2018). Can β -Lactam Antibiotics Be Resurrected to Combat MRSA? Trends in Microbiology. doi:10.1016/j.tim.2018.06.005
- Gowrishankar, S., Kamaladevi, A., Balamurugan, K., & Pandian, S. K.** (2016). In vitro and in vivo biofilm characterization of methicillin-resistant Staphylococcus aureus from patients associated with pharyngitis infection. *BioMed research international, 2016.*
- Grace, D. & Fetsch, A.** (2018). Staphylococcus aureus —A Foodborne Pathogen. *Staphylococcus Aureus, 3–10.* doi:10.1016/b978-0-12-809671-0.00001-2
- Guo, Y., Song, G., Sun, M., Wang, J. & Wang, Y.** (2020). Prevalence and Therapies of Antibiotic-Resistance in Staphylococcus aureus. *Front. Cell. Infect. Microbiol. 10:107.* doi: 10.3389/fcimb.2020.00107
- Haasbroek, K., Yagi, M., & Yonei, Y.** (2022). Staphylococcus aureus Biofilm Inhibiting Activity of Advanced Glycation Endproduct Crosslink Breaking and Glycation Inhibiting Compounds. *Antibiotics (Basel, Switzerland), 11(10), 1412.* <https://doi.org/10.3390/antibiotics11101412>
- Hawas, S., Verderosa, A. D., & Totsika, M.** (2022). Combination therapies for biofilm inhibition and eradication: a comparative review of laboratory and preclinical studies. *Frontiers in cellular and infection microbiology, 12, 850030.*
- Hussain, H. I., Aqib, A. I., Seleem, M. N., Shabbir, M. A., Hao, H., Iqbal, Z., Kulyar, M. F, Zaheer, T & Li, K.** (2021). *Genetic basis of molecular mechanisms in β -lactam resistant gram-negative bacteria. Microbial Pathogenesis, 158, 105040.* doi:10.1016/j.micpath.2021.105040
- Idrees, M., Sawant, S., Karodia, N., & Rahman, A.** (2021). Staphylococcus aureus Biofilm: Morphology, Genetics, Pathogenesis and Treatment Strategies. *International Journal of Environmental Research and Public Health, 18(14), 7602.* doi:10.3390/ijerph18147602

- Kaplan, J. B., Izano, E. A., Gopal, P., Karwacki, M. T., Kim, S., Bose, J. L., Bayles, K. W., & Horswill, A. R.** (2012). Low levels of β -lactam antibiotics induce extracellular DNA release and biofilm formation in *Staphylococcus aureus*. *mBio*, 3(4), e00198-12.
- Karpiński, T. M., Ożarowski, M., Alam, R., Lochyńska, M., & Stasiewicz, M.** (2021). What Do We Know about Antimicrobial Activity of Astaxanthin and Fucoxanthin?. *Marine drugs*, 20(1), 36. <https://doi.org/10.3390/md20010036>
- Kirmusaoglu S.** (2019) The Methods for Detection of Biofilm and Screening Antibiofilm Activity of Agents. In: *Antimicrobials, Antibiotic Resistance, Antibiofilm Strategies and Activity Methods*. Ed: Kirmusaoglu S. IntechOpen, London, p: 99-115. ISBN: 978-1-78985-790-0. doi: 10.5772/intechopen.84411.
- Kirmusaoglu, S.** (2017). MRSA and MSSA: The mechanism of methicillin resistance and the influence of methicillin resistance on biofilm phenotype of *Staphylococcus aureus*. *The Rise of Virulence and Antibiotic Resistance in Staphylococcus aureus*; Enany, S., Ed, 25-41.
- Kirmusaoglu, S., & Kaşıkçı, H.** (2020). Identification of ica-dependent biofilm production by *Staphylococcus aureus* clinical isolates and antibiofilm effects of ascorbic acid against biofilm production. *Journal of Clinical Pathology*, 73(5), 261-266.
- Kirmusaoglu, S.** (2016). *Staphylococcal Biofilms: Pathogenicity, Mechanism and Regulation of Biofilm Formation by Quorum-Sensing System and Antibiotic Resistance Mechanisms of Biofilm-Embedded Microorganisms*. *Microbial Biofilms - Importance and Applications*. doi:10.5772/62943
- Lee, A. S., De Lencastre, H., Garau, J., Kluytmans, J., Malhotra-Kumar, S., Peschel, A., & Harbarth, S.** (2018). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Nature reviews Disease primers*, 4(1), 1-23.
- Léger, L., Budin-Verneuil, A., Cacaci, M., Benachour, A., Hartke, A., & Verneuil, N.** (2019). β -Lactam Exposure Triggers Reactive Oxygen Species Formation in *Enterococcus faecalis* via the Respiratory Chain Component DMK. *Cell reports*, 29(8), 2184–2191.e3. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2019.10.080>
- Licitra, G.,** (2013). Etymologia: *Staphylococcus*. *Emerg. Infect. Dis.* 19 (9), 1553. <http://dx.doi.org/10.3201/eid.1909.ET1909>.

- Liu, I. X., Durham, D. G., & Richards, R. M.** (2000). Baicalin synergy with beta-lactam antibiotics against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and other beta-lactam-resistant strains of *S. aureus*. *The Journal of pharmacy and pharmacology*, 52(3), 361–366. <https://doi.org/10.1211/0022357001773922>
- Miquel, S., Lagrèfeuille, R., Souweine, B., & Forestier, C.** (2016). Anti-biofilm activity as a health issue. *Frontiers in microbiology*, 7, 592.
- Moody, J.** (2004) Susceptibility tests to evaluate synergism. In: Isenberg H.D., editor. *Clinical Microbiology Procedures Handbook*. ASM Press; Washington DC, pp. 5.12.1–5.12.23.
- Moormeier, D. E., & Bayles, K. W.** (2017). *Staphylococcus aureus* biofilm: a complex developmental organism. *Molecular Microbiology*, 104(3), 365–376. doi:10.1111/mmi.13634
- NCCLS.** (1999) Methods for determining bactericidal activity of antimicrobial agent; approved guideline. Wayne PA, NCCLS, NCCLS document M26-A.
- Nguyen, H. T. 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.
- O’Gara, J. P.** (2007). Ica and beyond: biofilm mechanisms and regulation in *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus aureus*. *FEMS Microbiol. Lett.* 270: 179–188.
- Öcal, D. N., Dolapçı, İ., Gençtürk, Z., & Tekeli, A.** (2017). Vankomisin ve daptomisinin koagülaz-negatif *Stafilokok* izolatlarının oluşturduğu biyofilm üzerine in vitro etkisi. *Mikrobiyol Bul*, 51(3), 220-35.
- Oh, S., Kim, Y. J., Lee, E. K., Park, S. W., & Yu, H. G.** (2020). Antioxidative Effects of Ascorbic Acid and Astaxanthin on ARPE-19 Cells in an Oxidative Stress Model. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 9(9), 833. <https://doi.org/10.3390/antiox9090833>
- Peng, Q., Tang, X., Dong, W., Sun, N., & Yuan, W.** (2022). A Review of Biofilm Formation of *Staphylococcus aureus* and Its Regulation Mechanism. *Antibiotics (Basel, Switzerland)*, 12(1), 12. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12010012>

- Plata, K., Rosato, A. E. & Wegrzyn G.** (2009). Staphylococcus aureus as an infectious agent: overview of biochemistry and molecular genetics of its pathogenicity. *Acta Biochimica Polonica*, 56(4):597–612.
- Saginur R, Stdenis M, Ferris W, Aaron SD, Chan F, Lee C, Ramotar K.** (2006). Multiple combination bactericidal testing of staphylococcal biofilms from implant-associated infections. In *Antimicrob Agents Chemother*, 50(1): 55–61.
- Schilcher, K., & Horswill, A. R.** (2020). Staphylococcal Biofilm Development: Structure, Regulation, and Treatment Strategies. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 84(3). doi:10.1128/membr.00026-19
- Shukla, S. K., & Rao, T. S.** (2017). Staphylococcus aureus biofilm removal by targeting biofilm-associated extracellular proteins. *The Indian journal of medical research*, 146(Suppl 1), S1.
- Sousa, S., Feliciano, J., Pita, T., Guerreiro, S., & Leitão, J.** (2017). *Burkholderia cepacia* Complex Regulation of Virulence Gene Expression: A Review. *Genes*, 8(1), 43. doi:10.3390/genes8010043
- Srinivasan, R., Santhakumari, S., Poonguzhali, P., Geetha, M., Dyavaiah, M., & Xiangmin, L.** (2021). Bacterial Biofilm Inhibition: A Focused Review on Recent Therapeutic Strategies for Combating the Biofilm Mediated Infections. *Frontiers in microbiology*, 12, 676458. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.676458>
- Stepanović, S., Vuković, D., Hola, V., Bonaventura, G. D., Djukić, S., Ćirković, I. & Ruzicka F.** (2007) Quantification of biofilm in microtiter plates: Overview of testing conditions and practical recommendations for assessment of biofilm production by staphylococci. *APMIS.*, 115(8): 891-9.
- Tipper, D. J.** (1979). Mode of Action of β -Lactam Antibiotics. *Reviews of Infectious Diseases*, 1(1), 1-6.
- Velasco, D., del Mar Tomas, M., Cartelle, M., Beceiro, A., Perez, A., Molina, F., Moure, R., Villanueva, R., & Bou, G.** (2005). Evaluation of different methods for detecting methicillin (oxacillin) resistance in Staphylococcus aureus. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, 55(3), 379–382.

- Vestby, L. K., Grønseth, T., Simm, R., & Nesse, L. L.** (2020). Bacterial Biofilm and its Role in the Pathogenesis of Disease. *Antibiotics*, 9(2), 59. doi:10.3390/antibiotics9020059
- Wang, X., Willen, R., & Wadstrom, T.** (2000). Astaxanthin-Rich Algal Meal and Vitamin C Inhibit *Helicobacter pylori* Infection in BALB/cA Mice. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 44(9), 2452–2457.
- Wong, F., Stokes, J. M., Bening, S. C., Vidoudez, C., Trauger, S. A., & Collins, J. J.** (2022). Reactive metabolic byproducts contribute to antibiotic lethality under anaerobic conditions. *Molecular cell*, 82(18), 3499–3512.e10. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2022.07.009>
- Zhang, M., Han, W., Gu, J., Qiu, C., Jiang, Q., Dong, J., Lei, L. & Li, F.** (2022). Recent advances on the regulation of bacterial biofilm formation by herbal medicines. *Frontiers in Microbiology*, 13, 1039297.
- Zheng, J., Shang, Y., Wu, Y., Wu, J., Chen, J., Wang, Z., Sun, X., Xu, G., Deng, Q., Qu, D. & Yu, Z.** (2021). Diclazuril Inhibits Biofilm Formation and Hemolysis of *Staphylococcus aureus*. *ACS Infectious Diseases*, 7(6), 1690–1701. doi:10.1021/acsinfecdis.1c00030
- Zhou, B., Ye, Q., Chen, M., Li, F., Xiang, X., Shang, Y., Wang, C., Zhang, J., Xue, L., Wang, J., Wu, S., Pang, R., Ding, Y. & Wu, Q.** (2022). Novel species-specific targets for real-time PCR detection of four common pathogenic *Staphylococcus* spp. *Food Control*, 131, 108478. doi:10.1016/j.foodcont.2021.108478

ÖZGEÇMİŞ

Ad Soyad : Berfin DÜZTEPE

Öğrenim Durumu :

- **Lisans** : 2020, Haliç Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik
- **Lisans** : 2021, Haliç Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Bilgisayar Mühendisliği
- **Yüksek Lisans** : 2022 – , Haliç Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Moleküler Biyoloji ve Genetik.

Mesleki Deneyim ve Ödüller :

- **Gozen Institute, Moleküler Biyolog** Haz 2021 – Haz 2022

Gozen Enstitüsü'nde Türkiye'de ilk olan vegan deri XYLOZEN™ laboratuvar üretiminde önderlik etmek.

Mikroorganizmaları kullanarak bakteriyel selüloz üretme sürecine liderlik etmek.

Bakteriyel selülozun vegan deriye dönüştürülmesi için kimyasal süreçleri yönetmek.

Daha iyi deri için kültürel ortamı optimize etmek.

Veri analizi yapmak.

Bilimsel literatürü okumak ve analiz etmek.

Genel laboratuvar görevlerinin yerine getirilmesi, kayıt tutma, stok kontrolü.

- **Ümran Çelik Boru San. Tic. Ltd. Şti.,Stajyer Mühendis** Eyl 2020 – Ekim 2020

Fabrikadaki makineler için yazılım sistemlerinin tasarımına ve geliştirilmesine yardımcı olmak.

Fabrikadan gönderilen hasarlı bilgisayarların bakımını yapmak.

PC donanımını/yazılımını kurmak.

Ağ donanımı ve yazılımının kurması.

Virüs korumasının tüm bilgisayarlarda çalışmasını sağlamak.

Fabrika web sitelerinin tasarımının yapılması ve geliştirmesi.