

ÇANKIRI KARATEKİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

BAĞDAT İLİNDE YANIK VE YARALARDAN İZOLE EDİLEN
ANTİBİYOTİKLERE DİRENÇLİ *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*'YA KARŞI
BAZI BİTKİ EKSTRAKTLARININ ETKİNLİĞİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Raya Riyadh Salman AL-RUBAYE

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ÇANKIRI
2024

Her hakkı saklıdır

TEZ ONAYI

Raya Riyadh Salman AL-RUBAYE tarafından hazırlanan “**Bağdat İlinde Yanık ve Yaralardan İzole Edilen Antibiyotiklere Dirençli *Pseudomonas aeruginosa*'ya Karşı Bazı Bitki Ekstraktlarının Etkinliğinin Değerlendirilmesi**” adlı tez çalışması 16/07/2024 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Doç. Dr. Tarkan YORULMAZ

Eş Danışman : Prof. Dr. Taghreed Khudhur MOHAMMED

Jüri Üyeleri :

Başkan : Prof. Dr. Tamer KEÇELİ
Biyoloji Anabilim Dalı
Çankırı Karatekin Üniversitesi

Üye : Doç. Dr. Tarkan YORULMAZ
Biyoloji Anabilim Dalı
Çankırı Karatekin Üniversitesi

Üye : Doç.Dr. Kubilay TOYRAN
Biyoloji Anabilim Dalı
Çankırı Karatekin Üniversitesi

Üye : Doç. Dr. Mustafa YAVUZ
Biyoloji Anabilim Dalı
Akdeniz Üniversitesi

Üye : Doç. Dr.Serdar GÖZÜTOK
Yaban Hayatı ve Ekoloji Anabilim Dalı
Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi

Yukarıdaki sonucu onaylarım

Prof. Dr. Hamit ALYAR

Enstitü Müdürü

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Çankırı Karatekin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğine göre hazırlamış olduğum “**Bağdat İlinde Yanık ve Yaralardan İzole Edilen Antibiyotiklere Dirençli *Pseudomonas aeruginosa*'ya Karşı Bazı Bitki Ekstraktlarının Etkinliğinin Değerlendirilmesi**” konulu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı, tezin içerdiği yenilik ve sonuçları başka bir yerden almadığımı, tezde kullandığım eserleri usulüne göre kaynak olarak gösterdiğimi, tezin Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü’nden başka bir bilim kuruluna akademik amaç ve unvan almak amacıyla vermediğimi ve bu çalışmanın Çankırı Karatekin Üniversitesi tarafından kullanılan “Bilimsel İntihal Tespit Programı”yla tarandığını, “intihal içermediğini” beyan ederim. Çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması halinde ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçlara razı olduğumu bildiririm. Çankırı Karatekin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca gereğinin yapılmasını arz ederim (16/07/2024).

Raya Riyadh Salman AL-RUBAYE

ÖZET

Doktora Tezi

BAĞDAT İLİNDE YANIK VE YARALARDAN İZOLE EDİLEN ANTİBİYOTİKLERE DİRENÇLİ *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*'YA KARŞI BAZI BİTKİ EKSTRAKTLARININ ETKİNLİĞİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Raya Riyadh Salman AL-RUBAYE

Çankırı Karatekin Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Tarkan YORULMAZ
Eş Danışman: Prof. Dr. Taghreed Khudhur MOHAMMED

Antimikrobiyal direnç dünya çapında insan sağlığı için ciddi bir tehdittir. Yeni bir antibiyotiği keşif aşamasından pazara sunmanın maliyeti yüksek ve yatırım getirisi düşüktür. Buna ek olarak, yeni antibiyotiklerin geliştirilmesi 1950'lerdeki altın keşif çağından bu yana önemli ölçüde yavaşlamıştır. Bitkiler, gelecekteki keşif hattını beslemek için kullanılabilecek çeşitli biyoaktif ikincil metabolitler üretir. Birçok çalışma, antibakteriyel özelliklere sahip bitkilerin ve bitki doğal ürünlerinin belirli yönlerine odaklanmıştır. Bu çalışmanın amacı, *Pseudomonas aeruginosa*'yı uygun yanık ve yaralardan, sürüntü örneklerinden izole etmek, tanımlamak ve bu önemli bakteriyel patojeni incelemek, VITEK 2 sistemini kullanarak *Pseudomonas aeruginosa*'da antibiyotik direncini incelemek, seçilmiş Irak bitkilerinin üç çözücü ekstraktının yanık ve yaralardan izole edilen çok dirençli *P. aeruginosa*'ya karşı antimikrobiyal aktivitelerini araştırmaktır. Sonuçlar, metanol özütü ile test edilen antibiyotikler arasında sinerjik bir etki olduğunu göstermektedir. *P. aeruginosa* bakterisi üzerinde en yüksek öldürücü etkiyi gösteren antibiyotikler sırasıyla amikasin, gentamisin ve seftazidimidir. Disk difüzyon yöntemi kullanılarak, *Ficus sycomorus* kabuğunun etanolik ekstresi *P. aeruginosa*'ya karşı en yüksek aktiviteyi göstermiştir. Minimum inhibitör konsantrasyon sonuçları, test edilen tüm bitki ekstraktlarının *P. aeruginosa*'ya karşı antibakteriyel aktiviteye sahip olduğunu, bitki ekstraktlarının ekstraksiyon yöntemine bağlı olarak mikroorganizmaların büyümesini engellemek için farklı sinerjik yeteneklere sahip olduğunu, *C. citruss* ekstraktının test edilen tüm antibiyotiklerle sinerjik bir etki gösterdiğini, ancak *Ziziphus spina-christi* ekstraktının test edilen antibiyotiklerin çoğu ile antagonistik aktivite gösterdiğini göstermiştir.

2024, 77 sayfa

ANAHTAR KELİMELE: *Cymbopogon citruss*, *Citrus aurantifolia*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Ziziphus spina-christi*

ABSTRACT

PhD Thesis

EVALUATION OF THE EFFICACY OF SOME PLANT EXTRACTS AGAINST *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* AFTER BEING RESISTANT TO ANTIBIOTICS, ISOLATED FROM BURN AND WOUND IN BAGHDAD PROVINCE

Raya Riyadh Salman AL-RUBAYE

Çankırı Karatekin University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology

Advisor: Assoc. Prof. Dr. Tarkan YORULMAZ
Co-Advisor: Prof. Dr. Taghreed Khudhur MOHAMMED

Antimicrobial resistance is a serious threat to human health worldwide. The cost of bringing a new antibiotic from discovery to market is high and the return on investment is low. In addition, the development of new antibiotics has slowed dramatically since the golden age of discovery in the 1950s. Plants produce a variety of bioactive secondary metabolites that could be used to fuel the future discovery pipeline. Many studies have focused on specific aspects of plants and plant natural products with antibacterial properties. The aim of this study is to isolate and identify *Pseudomonas aeruginosa* from appropriate burns and wounds, swab samples and study this important bacterial pathogen, To study antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa* using the VITEK 2 system, To investigate the antimicrobial activities of three solvent extracts of selected Iraqi plants against multi-resistant *P. aeruginosa* isolated from burns and wounds. The results show a synergistic effect between the methanol extract and the antibiotics tested. The antibiotics that have shown the highest lethal effect on *P. aeruginosa* bacteria are amikacin, gentamicin and ceftazidime, respectively, Using the disc diffusion method, the ethanolic extract of *Ficus sycomorus* bark showed the highest activity against *P. aeruginosa*. The minimum inhibitory concentration results showed that all the plant extracts tested had antibacterial activity against *P. aeruginosa*, the plant extracts had different synergistic abilities to inhibit the growth of microorganisms depending on the extraction method, the extract of *C. citrus* showed a synergistic effect with all the antibiotics tested, but the extract of *Ziziphus spina-christi* showed antagonistic activity with most of the antibiotics tested.

2024, 77 pages

Keywords: *Cymbopogon citratus*, *Citrus aurantifolia*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Ziziphus spina-christi*

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Tez danışmanım Doç. Dr. Tarkan YORULMAZ'a sabrı, rehberliği ve anlayışı için teşekkür ederim.

Raya Riyadh Salman AL-RUBAYE

Çankırı, Mayıs 2024



İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT	ii
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER	iv
SİMGELER DİZİNİ	vi
KISALTMALAR DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ.....	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ.....	3
2.1 Şifalı Bitkiler.....	3
2.1.1 <i>Citrus aurantifolia</i>	4
2.1.2 <i>Ziziphus spina-christi</i>	8
2.1.3 <i>Cymbopogon citratus</i>	10
2.2 Bitki Özleri.....	15
2.3 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	17
2.3.1 Bakterilerin isimlendirilmesi ve sınıflandırılması	17
2.3.2 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 'nın genel özellikleri	17
2.3.3 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> genomu	18
2.3.4 Epidemiyoloji	19
2.3.5 Patogeneze	20
2.3.6 Virülans faktörleri.....	21
2.3.7 <i>P.aeruginosa</i> 'nın antibiyotiklere direnci.....	22
2.4 Bitki Ekstraktlarının Antibakteriyel Aktivitesi	24
2.4.1 <i>C. aurantifolia</i> 'nın antibakteriyel aktiviteleri	24
2.4.2 <i>Ziziphus spina-christi</i> 'nin antimikrobiyal aktiviteleri	25
2.4.3 <i>Cymbopogon citratus</i> 'un antimikrobiyal aktiviteleri	26
3. MATERYAL VE METOT	27
3.1 Materyal	27
3.1.1 Bitki örneği toplama	27

3.1.2 Bakteriler.....	27
3.2 Yöntemler.....	28
3.2.1 Reaktiflerin hazırlanması	28
3.2.2 Kültür ortamının hazırlanması	29
3.2.3 Bakteriyel izolatların tanımlanması.....	32
3.2.4 VITEK-2 sistemi	34
3.2.5 Bitki ekstraktının hazırlanması.....	34
3.2.6 Bitki ekstraktlarının standart konsantrasyonlarının hazırlanması.....	35
3.2.7 İnokulum hazırlanması	35
3.2.8 Antibiyotik aktivite analizi	35
3.2.9 Bitki özleri aktivite analizi	36
3.2.10 Bitki ekstraktı ve antibiyotikler arasındaki etkileşim	37
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	38
4.1 <i>P. aeruginosa</i> 'nın İzolasyonu ve Teşhisi.....	38
4.2 Antibiyotik Aktivitesinin Değerlendirilmesi.....	40
4.3 Bitki Ekstraktlarının Biyoaktivitesinin Değerlendirilmesi	42
4.3.1 Kuyu difüzyon yöntemi	42
4.3.2 Disk difüzyon yöntemi.....	42
4.4 Mikrodilüsyon Yöntemi Kullanılarak Tek Başına Bitki Ekstraktlarının Minimum İnhibitör Konsantrasyonu.....	45
4.5 Sinerjistik Etkinin Değerlendirilmesi.....	48
4.5.1 Bitki ekstraktı ve antibiyotiklerin sinerjistik etkisi.....	48
4.5.2 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 'ya karşı metanolik ekstraksiyon ve antibiyotikler	48
4.5.3 Etanol ekstraksiyonu ve antibiyotikler	50
4.5.4 Sulu ekstraksiyon ve antibiyotikler.....	52
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	55
KAYNAKLAR	56
ÖZGEÇMİŞ.....	77

SİMGELER DİZİNİ

°C	Derece santigrat
g	Gram
µg	Mikrogram
µL	Mikrolitre
mg	Miligram
mL	Mililitre
mm	Milimetre
%	Yüzde



KISALTMALAR DİZİNİ

DNA	Deoksiriboz nükleik asit
DSÖ	Dünya sağlık örgütü
EF2	Elongasyon faktörü 2
KF	Kistik fibrozis
RNA	Ribonükleik asid
T3SS	Tip III sekresyon sistemi



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1	<i>Citrus aurantifolia</i> 'nın (a) saplarının genel morfolojisi ; (b) yapraklar; (c) farklı aşamalarındaki beyaz çiçekler; (d) olgun sarı ve olgunlaşmamış yeşil meyveler; ve (e) tohumlar (Galovičová <i>et al.</i> 2022)	5
Şekil 2.2	(a) <i>Ziziphus spina-christi</i> L.; (b) yapraklar; (c) çiçek.....	10
Şekil 2.3	<i>Cymbopogon citratus</i> bitkisi (Tajidin <i>et al.</i> 2012)	13
Şekil 4.1	Bazı antibiyotiklerin <i>P. aeruginosa</i> 'ya karşı inhibisyon bölgesi (mm)	41
Şekil 4.2	<i>Ziziphus spina-christi</i> (kabuk) ekstraktının <i>P. aeruginosa</i> 'ya karşı etkisi.....	43
Şekil 4.3	<i>Citrus aurantifolia</i> ekstraktının <i>P. aeruginosa</i> 'ya karşı etkisi.....	44
Şekil 4.4	<i>Cymbopogon citratus</i> ekstraktının <i>P. aeruginosa</i> 'ya karşı etkisi	44
Şekil 4.5	<i>Ziziphus spina-christi</i> ekstraktının <i>P. aeruginosa</i> 'ya karşı MİK değeri	46
Şekil 4.6	<i>Citrus aurantifolia</i> ve <i>Cymbopogon citratus</i> ekstraktının <i>P. aeruginosa</i> 'ya karşı MİK değeri.....	47
Şekil 4.7	<i>Ziziphus spina-christi</i> 'nin Ceftazidim ile kombinasyonunun <i>P. aeruginosa</i> üzerindeki etkisi.....	53
Şekil 4.8	<i>Cymbopogon citratus</i> 'un Gentamisin ile kombinasyonunun <i>P. aeruginosa</i> üzerindeki etkisi.....	54
Şekil 4.9	<i>Ziziphus spina-christi</i> 'nin Sephaleksin ile kombinasyonunun <i>P. aeruginosa</i> üzerindeki etkisi.....	54

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1	<i>Cymbopogon citratus</i> 'un yaygın isimleri (Coelho <i>et al.</i> 2016).....	11
Çizelge 2.2	<i>Cymbopogon</i> cinsine dahil olan türlerden bazıları (Lawal <i>et al.</i> 2017).....	11
Çizelge 2.3	<i>P. aeruginosa</i> çekirdek gen seti	19
Çizelge 2.4	<i>P. aeruginosa</i> virülans faktörleri ve rolleri.....	21
Çizelge 3.1	Çalışmada kullanılan bitkiler	27
Çizelge 3.2	Antibiyotik listesi.....	28
Çizelge 3.3	McFarland nefelometre standartları.....	37
Çizelge 4.1	İzolasyon kaynağına göre <i>P. aeruginosa</i> izolatlarının sayısı ve yüzdeleri	38
Çizelge 4.2	<i>P. aeruginosa</i> 'ya karşı antibiyotik aktivitesinin değerlendirilmesi.....	40
Çizelge 4.3	Bitki ekstraktlarının <i>Pseudomonas aeruginosa</i> üzerinde kuyu difüzyon yöntemi ve disk difüzyon yöntemi ile antimikrobiyal aktivitesi	43
Çizelge 4.4	Bitki ekstraktlarının <i>P. aeruginosa</i> 'ya karşı minimum inhibitör konsantrasyonları	46
Çizelge 4.5	33 numaralı izolat için antibakteriyel ilaçların metanolik bitki ekstraktları ile <i>P. aeruginosa</i> üzerindeki sinerjistik etkileri	49
Çizelge 4.6	59 numaralı izolat için antibakteriyel ilaçların metanolik bitki ekstraktları ile <i>P. aeruginosa</i> üzerindeki sinerjistik etkileri	49
Çizelge 4.7	77 numaralı izolat için antibakteriyel ilaçların metanolik bitki ekstraktları ile <i>P. aeruginosa</i> üzerindeki sinerjistik etkileri	50
Çizelge 4.8	33 numaralı izolat için antibakteriyel ilaçların etanolik bitki ekstraktları ile <i>P. aeruginosa</i> üzerindeki sinerjistik etkileri	51
Çizelge 4.9	59 numaralı izolat için antibakteriyel ilaçların etanolik bitki ekstraktları ile <i>P. aeruginosa</i> üzerindeki sinerjistik etkileri	51
Çizelge 4.10	77 numaralı izolat için antibakteriyel ilaçların etanolik bitki ekstraktları ile <i>P. aeruginosa</i> üzerindeki sinerjistik etkileri	51
Çizelge 4.11	33 numaralı izolat için antibakteriyel ilaçların sulu bitki özleri ile sinerjistik etkileri	52
Çizelge 4.12	59 numaralı izolat için antibakteriyel ilaçların sulu bitki özleri ile sinerjistik etkileri	53
Çizelge 4.13	77 numaralı izolat için antibakteriyel ilaçların sulu bitki özleri ile sinerjistik etkileri	53

1. GİRİŞ

Günümüzde mevcut antibiyotiklere karşı bakteriyel direncin gelişmesi, yeni antibakteriyel ajanların araştırılması ihtiyacını doğurmuştur. *Pseudomonas aeruginosa* gibi gram-negatif bakteriler esas olarak ameliyat sonrası yara enfeksiyonlarından sorumludur (Benayache *et al.* 2001) ve özellikle bağışıklık savunması zayıf olan hastalarda yaşamı tehdit eden çok çeşitli akut ve kronik enfeksiyonlara neden olur. Kistik fibrozis (KF) hastalarında morbidite ve mortalitenin ana nedeni olması ve hastanede yatan hastaları etkileyen önde gelen nozokomiyal patojenlerden biri olması nedeniyle özellikle önem taşımaktadır (Moradali *et al.* 2017).

Farklı antibiyotikler farklı patojen organizmalar üzerinde inhibitör aktivite gösterirler (Chanda and Rakholiya 2011). İnsan patojen mikroorganizmalarında, bulaşıcı hastalıkların tedavisinde yaygın olarak kullanılan ticari antimikrobiyal ilaçların gelişigüzel kullanılması nedeniyle çoklu ilaç direnci gelişmiştir. Antibiyotik direncinin gelişimi, bakterilerin antibiyotiklerle ilişkisinin spesifik doğası, antibakteriyel ajanların kullanımı, konakçı özellikleri ve çevresel faktörleri içeren çok faktörlüdür. Bu durum bilim adamlarını yeni antimikrobiyal kemoterapötik ajanlar olarak çeşitli kaynaklardan yeni antimikrobiyal maddeler aramaya zorlamıştır, ancak sentetik ilaçların üretim maliyeti yüksektir ve bitki kökenli ilaçlarla karşılaştırıldığında olumsuz etkiler üretirler (Abiramasundari *et al.* 2011).

Bu antimikrobiyal maddeler doğal kökenli olup çevreye etkilerinin az olduğu ve biyolojik mücadele ajanı olarak kullanılabileceği düşünülmektedir. Ancak bazı şifalı bitkiler bazı nedenlerden dolayı geniş uygulama alanı bulamamıştır ve bazen 'unutulmuş bitkiler' olarak anılmaktadır. Gıda katkı maddeleri, fonksiyonel gıdaların bileşenleri, bitki hastalıklarının önlenmesi ve nutrasötiklerin yanı sıra diğer uygulamalar için kullanılabilecek doğal içeriklere yönelik artan talep dikkate alındığında, 'Unutulan bitkilerin' modern bilimsel analiz yöntemleri kullanılarak uygulanabilirliği ve faydaları değerlendirilerek yenilenmesi mantıklıdır (Rahman *et al.* 2011). Her ne kadar farmakolojik endüstriler son otuz yılda çok sayıda yeni antibiyotik üretmiş olsa da

mikroorganizmaların bu ilaçlara karşı direnci artmıştır. Genel olarak bakteriler, terapötik ajan olarak kullanılan ilaçları aktarma ve direnç kazanma konusunda genetik yeteneğe sahiptirler (Nascimento *et al.* 2000).

Antibiyotiklere dirençli bu mikroplardan Metisiline dirençli *Pseudomonas aeruginosa* da her yerde bulunabilmesi, nemli ortamlarda hayatta kalabilmesi ve birçok antibiyotik ve antiseptiklere karşı direnci nedeniyle hastane enfeksiyonlarına neden olmaktadır. Temel sorun, farklı antimikrobiyal ajan sınıflarına dirençli, çoklu ilaca dirençli *P. aeruginosa* suşlarının ortaya çıkmasıdır. Belki de bu yüksek derecede çoklu ilaç direnci, çoklu antimikrobiyal ajanlara direnç sağlayan antibiyotik akış sistemlerinin varlığıyla ilişkilidir (Adwan *et al.* 2009).

Bazı bitkiler insan bakteriyel patojenlerine karşı önemli bir etki gösterir. Ancak günümüzde bitki ekstraktları antimikrobiyal veya sistemik antibiyotik olarak nadiren kullanılmaktadır ve bu, özellikle gram-negatif bakterilere karşı düşük aktivite düzeylerine bağlı olabilir (Adwan 2008).

Bu bağlamda, seçilen bölgedeki komplike yanık ve yaraların nedeni olarak *Pseudomonas aeruginosa*'nın rolünü değerlendirmek ve hastaların uzun süre hastanede kalma sorununun üstesinden gelmeye çalışılması, Uygun yanık ve yaralardan *Pseudomonas aeruginosa*'nın izolasyonu ve tanımlanması, sürüntü örnekleri ve bu önemli bakteriyel patojenin incelenmesi, *Pseudomonas aeruginosa*'da antibiyotik direncinin VITEK 2 sistemi kullanılarak incelenmesi, Irak'ta doğal olarak yetişen bazı bitkilerin üç solvent ekstraktının yanıklardan ve yaralardan izole edilen çoklu ilaca dirençli *P. aeruginosa*'ya karşı antimikrobiyal aktivitelerini araştırılması çalışmanın başlıca amaçları arasında yer almaktadır.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1 Şifalı Bitkiler

Tıbbi bileşiklerin kaynağı olan bitkiler, eski çağlardan beri insan sağlığının korunmasında baskın bir rol oynamaya devam etmektedir. Dünya Sağlık Örgütü'ne (DSÖ) göre bitki ekstraktları veya aktif bileşenleri dünya nüfusunun %80'inin geleneksel tedavilerinde halk ilacı olarak kullanılmaktadır. Tüm modern klinik ilaçların %50'den fazlası doğal ürün kökenlidir (Kirbağ *et al.* 2009, Ogidi and Emaikwu 2023).

Vitaminler (A, C, E ve K), karotenoidler, terpenoidler, flavonoidler, polifenoller, alkaloidler, tanenler, saponinler, pigmentler, enzimler ve mineraller gibi fitokimyasallar antimikrobiyal ve antioksidan aktiviteye sahiptir (Madhuri and Pandey 2009).

Pek çok fitokimyasalın spesifik işlevi hâlâ belirsizdir; ancak önemli sayıda çalışma bunların bitki/zararlı/hastalık etkileşiminde rol oynadığını göstermiştir. Bitki ekstraktlarının ve fitokimyasalların antimikrobiyal taraması, antimikrobiyal ilaç keşfi için bir başlangıç noktasını temsil eder. Fitokimyasal çalışmalar, yeni ve gelişmiş tekniklerin gelişmesi nedeniyle bitki bilimcilerinin dikkatini çekmiştir. Bu teknikler, ilaç endüstrisi için ek hammadde kaynaklarının araştırılmasında önemli bir rol oynamıştır (Shakeri *et al.* 2012).

Tıbbi bitkiler antibakteriyel aktivitelere yol açan immünomodülatör ve antioksidan özelliklere sahiptir. Ayrıca, hem spesifik olmayan hem de spesifik bağışıklığı uyarak çok yönlü immünomodülatör aktiviteye sahip oldukları bilinmektedir (Pandey and Chawdhry 2006).

Her ikisi de bilinen antimikrobiyal özelliklere sahip olan bitki ekstraktlarının ve fitokimyasalların kullanımı, terapötik tedavilerde büyük önem taşıyabilir. Son birkaç yılda bu etkinliği kanıtlamak için farklı ülkelerde çok sayıda çalışma yapılmıştır. Birçok bitki, bitkinin sekonder metabolizmasında sentezlenen bileşiklerden kaynaklanan

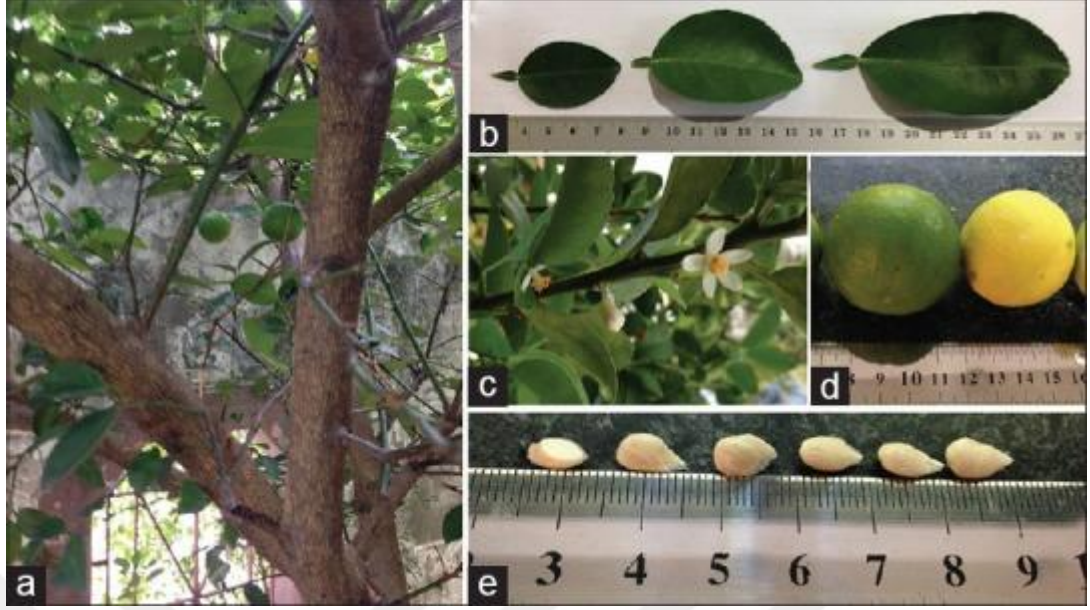
antimikrobiyal özelliklerinden dolayı kullanılmaktadır (Nascimento *et al.* 2000, Ashraf *et al.* 2023).

Filistin'de birçok hastalığın tedavisi için tanımlanmış çok sayıda şifalı bitki bulunmaktadır. Bitkisel tıp, Filistin kültürünün ayrılmaz bir parçası olarak kabul edilir ve mevcut halk sağlığında çok önemli ve vazgeçilmez bir rol oynar. Filistin'in tepeleri ve dağları 2600'den fazla bitki türüyle kaplıdır ve bunların 700'den fazlası şifalı bitki veya bitkisel pestisit olarak kullanımlarıyla dikkat çekmektedir (Jaradat 2005). Aşağıda, klinik olarak izole edilmiş bazı bakterilere karşı etkisi araştırılan bazı şifalı bitkiler yer almaktadır.

2.1.1 *Citrus aurantifolia*

2.1.1.1 Bitki tanımı

C. aurantifolia, 3-5 m yüksekliğe kadar büyüeyebilen çok yıllık, yaprak dökmeyen bir ağaçtır (Şekil 2.1) (Galovičová *et al.* 2022). Gövde: düzensiz ince dallıdır ve 1 cm veya daha kısa, kısa ve sert keskin dikenlere veya dikenlere sahiptir. Yapraklar: alternatif, eliptik ila oval, 4,5-6,5 cm uzunluğunda ve 2,5-4,5 cm genişliğinde, kenarlarında küçük yuvarlak dişlere sahiptir. Yaprak sapları 1-2 cm uzunluğunda ve dar kanatlıdır. Çiçekler: kısa ve koltuk altı salkımları, az sayıda beyaz ve kokulu çiçek taşırlar. Yapraklar 5, dikdörtgen ve 10-12 mm uzunluğundadır. Meyveleri: yeşil, yuvarlak, çapı 3-5 cm, olgunlaştığında sarı renktedir (Manner *et al.* 2006, Enejoh *et al.* 2015). Tüm narenciye meyveleri aynı anatomik yapılara sahiptir. Şekil 2.1: (a) flavedo meyvenin dış kısmıdır ve adından da anlaşılacağı gibi birçok flavonoid içerir. Dış hücre duvarı meyvenin su kaybını önlemek için balmumu ve kütinden oluşur; (b) albedo, flavedo katmanının altındaki beyaz süngerimsi kısımdır; (c) yaklaşık 8-11 glandüler segment sunan karpal membranlar veya septum, genellikle aynı hizadadır ve (c) yumuşak merkezi çekirdeğin etrafında yer alır; (d) meyve suyu keseleri sarı-yeşil hamur kesecikleridir ve (e) tohumlar küçük, dolgun, oval, soluk ve beyaz embriyolu pürüzsüzdür (Rivera-Cabrera *et al.* 2010).



Şekil 2.1 *Citrus aurantifolia*'nın (a) saplarının genel morfolojisi ; (b) yapraklar; (c) farklı aşamalarda beyaz çiçekler; (d) olgun sarı ve olgunlaşmamış yeşil meyveler; ve (e) tohumlar (Galovičová *et al.* 2022)

2.1.1.2 Taksonomik sınıflandırma

C. aurantifolia'nın taksonomisi,

- Krallık (*Plantae*);
- Alt Krallık (*Tracheobionta*);
- Üst bölüm (*Spermatophyta*);
- Bölüm (*Magnoliophyta*);
- Sınıf (*Magnoliopsida*);
- Alt sınıf (*Rosidae*);
- Takım (*Sapindales*);
- Familya (*Rutaceae*);
- Cins (*Citrus*);
- Tür (*C. aurantifolia*) olarak belirlenmiştir (Dugo and Di Giacomo 2002, Liu *et al.* 2012).

2.1.1.3 İsimlendirme

C. aurantifolia, Hindistan ve Çin dahil olmak üzere Asya ve Güneydoğu Asya'nın tropikal ve subtropikal bölgelerine özgüdür ve Kuzey Afrika, Avrupa ve dünya çapında tanıtılmıştır (Rivera-Cabrera *et al.* 2010). *C. aurantifolia*'nın yerel adı lime (İngilizce), limah (Arapça), jeruk alit (Bali), zhi qiao (Çince), lemmetje (Hollandaca), citronnier (Fransızca), limone (Almanca), Kagzi-nimbu (Hintçe), jeruk nipis (Endonezya), lima acida (İtalyanca), jeruk pecel (Java), kroch chhmaa muul (Khmer), jeruk neepis (Malay), lamoentsji (Hollanda), limoo (Farsça), dayap (Filipinler), limao galego (Portekizce), lima agria (İspanyolca), taporo (Tahiti), campalam (Tamil), moli laimi (Tonga), manao (Tayca) ve chanh ta (Vietnam) olarak da bilinir (Manner *et al.* 2006).

2.1.1.4 Fitokimyasal maddeler

C. aurantifolia aşağıdaki aktif fitokimyasal maddeleri içerir:

- apigenin, hesperetin, kaempferol, nobiletin, quercetin ve rutin dahil olmak üzere flavonoidler (Berhow *et al.* 1994, Kawaii *et al.* 1999, Caristi *et al.* 2003, Aranganathan *et al.* 2008, Lee *et al.* 2011, Loizzo *et al.* 2012)
- flavonlar (Piccinelli *et al.* 2008)
- flavanonlar (Peterson *et al.* 2006) ve naringenin (Arul and Subramanian 2013)
- triterpenoid (Jayaprakasha *et al.* 2008)
- limonoidler (Poulose *et al.* 2005).

Ek olarak, Lota *et al.* (2002) çeşitli limon türlerinin meyve kabuğu yağlarında en az 62, yaprak yağlarında ise 59 uçucu bileşik bildirmiştir. Meyve kabuğu yağlarında limonen ana uçucu bileşen olmuş, bunu terpinen, pinen ve sabinen izlemiştir. Yaprak yağlarında limonen, pinen ve sabinen ana bileşenler olurken, bunu sitronelal, geranial, linalool ve neral takip etmiştir. Turunçgillerden elde edilen biyoaktif bileşikler birçok ülkede rapor edilmiştir, örneğin İtalya'da Spadaro *et al.* (2012) *C. aurantifolia*'nın meyve esansiyel yağlarını limonen (%59), β -pinen (%16), γ -terpinen (%9) ve sitral (%5) olarak

belirlemiştir. Aynı zamanda Costa *et al.* (2014), *C. aurantifolia*'nın meyve esansiyel yağlarını limonen (%54), γ -terpinen (%17), β -pinen (%13), terpinolen (%1), a-terpineol (%0,5) ve sitral (%3) olarak bildirmiştir. Nijerya'da Okwu and Emenike (2006) beş çeşit narenciye türünün fitokimyasal ve vitamin içeriğini belirlemiştir; *C. sinensis*, *C. reticulata*, *C. limonum*, *C. aurantifolia* ve *C. grandis*. 100 g narenciyede biyoaktif bileşiklerin varlığı; alkaloidler (0,4 mg), flavonoidler (0,6 mg), fenoller (0,4 mg), tanenler (0,04 mg), askorbik asitler (62 mg), riboflavin (0,1 mg), tiamin (0,2 mg) ve niasin (0,5 mg) olarak tespit edilmiştir. Ayrıca, Okwu and Emenike (2007)'nin de dahil olduğu aynı araştırmacı grubu bu narenciye meyvelerinin ham protein (%18), ham lif (%8), karbonhidrat (%78), nem (%6), ham lipit (%6), kül (%8) içerdiğini de bildirmiştir. Meyvede tespit edilen en önemli mineraller arasında kalsiyum (%3), fosfor (%0,4), potasyum (%1), magnezyum (%0,6) ve sodyum (%0,4) yer alır. Lawal *et al.* (2014) *C. aurantifolia*'nın yaprak esansiyel yağının limonen (%45) ve sardunya (%38) içerdiğini bildirmiştir. Tayvan'da Wang *et al.* (2007) turunçgillerden elde edilen kimyasal maddelerin hesperidin, majör flavanon (6 mg/g), naringin (2 mg/g), diosmin, majör flavon (0,7 mg/g), kaempferol, ana flavanol (1 mg/g), klorojenik asit, ana fenolik asit (0,1 mg/g), β -kriptoksantin, ana karotenoid (7 μ g/g) ve β -karoten (4 μ g/g), pektin (87 mg/g) olarak tespit etmiştir. Meksika'da, Sandoval-Montemayor *et al.* (2012), *C. aurantifolia* meyve kabuklarının 44 uçucu bileşikten oluştuğunu bildirmiştir; örneğin dimetoksikumarin (%16), siklopentanedion (%9), metoksisikloheksan (%8), korilon (%7), palmitik asit (%7), dimetoksipsoralen (%6), a-terpineol (%6) ve umbelliferon (%5) olarak belirlenmiştir.

2.1.1.5 Geleneksel kullanımlar

Çeşitli literatür taramalarında *C. aurantifolia*'nın geleneksel kullanımları veya fitokimyasal özellikleri antibakteriyel, (Aibinu *et al.* 2007, Nwankwo *et al.* 2015, Pathan *et al.* 2012) antidiyabetik, (Daniels 2006, Karimi and Nasab 2014) antifungal, (Dongmo *et al.* 2009, Tagoe *et al.* 2009, Balamurugan 2014) antihipertansif, (Souza *et al.* 2011) anti-enflamasyon, (Dongmo *et al.* 2013) anti-lipidemi, (Yaghmaie *et al.* 2011, Ezekwesili-Ofili and Gwacham 2015) antioksidan, (Reddy *et al.* 2012, Kumari *et al.* 2013) anti-parazitik, (Abdelqader *et al.* 2012, Enejoh *et al.* 2014, Enejoh *et al.* 2015,

Domínguez-Vigil *et al.* 2015) ve antiplatelet (Piccinelli *et al.* 2008) aktiviteler olarak tanımlanmıştır. Kardiyovasküler, (Yamada *et al.* 2011) hepatik, (Gokulakrishnan *et al.* 2009) osteoporoz (Shalaby *et al.* 2011) ve ürolitiazis (Tosukhowong *et al.* 2008, Anggraini 2015) hastalıklarının tedavisinde kullanılır ve doğurganlık artırıcı olarak işlev görür (Okon and Etim 2014). Ayrıca, böcek ilacı aktivitesi için kullanılabilir (Effiom *et al.* 2012, Soonwera 2015).

2.1.2 *Ziziphus spina-christi*

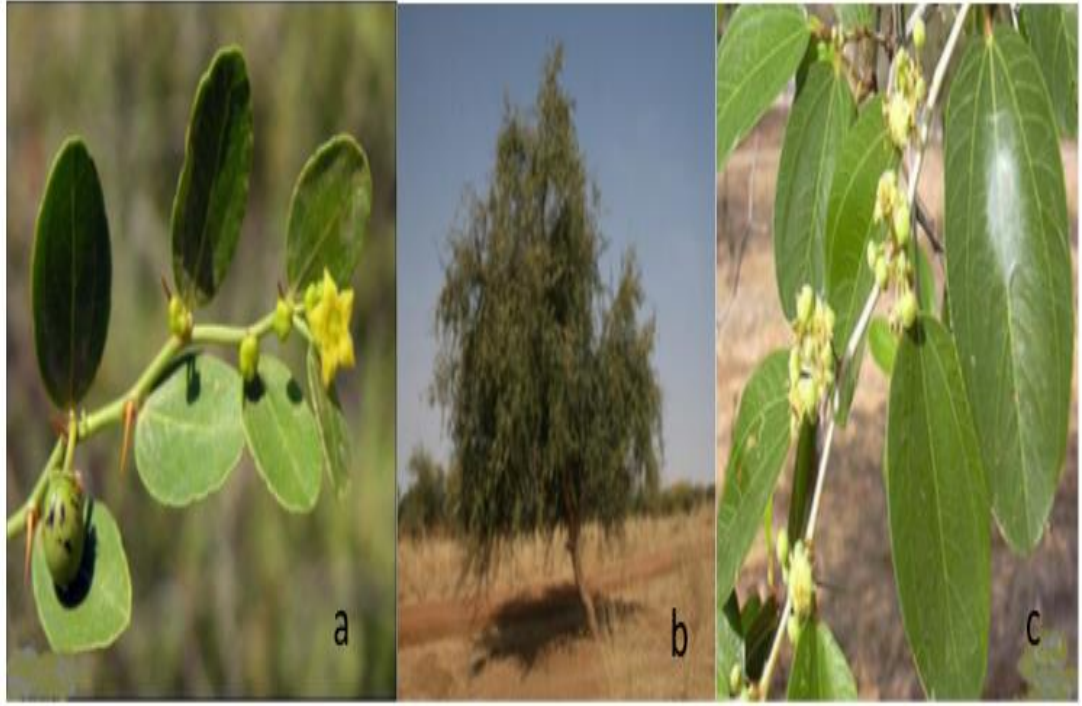
Ziziphus spina-christi (Rhamnaceae familyası, Rosales takımı), genellikle İsa'nın dikenli hünnapı olarak bilinen yabani bir ağaçtır. Rhamnaceae familyası, özellikle sıcak bölgelerde olmak üzere dünyaya yayılmış 52 cins ve 925 tür içerir. Yaprak döken, yaprak dökmeyen ağaç ve çalılardan oluşan *Ziziphus* türleri, kuruluğa ve sıcağa tolerans gösteren yaklaşık 100-170 türden oluşur. Bitkiler genellikle kuru bölgelerde, çöllerde, yarı çöl bataklıklarında, savanlarda ve vadilerde yetişir (Yossef *et al.* 2011). Ağaç, Asya'nın Doğu ve Güney bölgelerinde ve Orta Doğu bölgesinde yetiştirilmektedir. Arapçada genellikle meyvelere aynı ağaç adı verilmiştir (Saied *et al.* 2008). Suudi Arabistan gibi çoğu Arap ülkesinde, *Ziziphus spina-christi* ağacına yaygın olarak Sidr (Kuran'daki sedde ağaçlarıyla ilgili) adı verilirken meyvesine Nabka adı verilir (Adzu *et al.* 2002, Michel *et al.* 2011). Bu Sidr ağacı cennet ağaçlarından biridir. Tarihi, tıbbi ve dini değerleri olan Arap Yarımadası'nda dikilen en önemli yerli ağaç türlerinden biridir. Ağaçtan Kur'an-ı Kerim'de dört yerde bahsedilmektedir (Sebe Suresi, Necm Suresi ve Vakıa Suresi). Bu da bu ağacın büyük önem taşıdığını göstermiştir (Sameera and Mandakini 2015, Khafagi *et al.* 2006).

Ziziphus spina-christi, bitkiyi en büyük besin kaynaklarından biri haline getiren çok sayıda besin bileşeni içerir. Bitki, Orta Doğu'da geleneksel tıpta, esas olarak meyveleri, tohumları, yaprakları, kökleri ve kabuğundan yararlanılmaktadır. *Ziziphus spina-christi*'nin meyvesi küçük, turuncu-sarı renkte ve dikenli dallara sahiptir (Temerk *et al.* 2017) ve bu durum önemli besin bileşenleri açısından zengin bir kaynak olarak değerlendirilmektedir (Hamza *et al.* 2015). Kuru meyveler enerji bileşikleri açısından zengindir (%80,6 karbonhidratlar: nişasta, sakaroz, glikoz ve fruktoz) (Saied *et al.* 2008,

Nour *et al.* 1987). Ayrıca 100 gram kurutulmuş meyvede 0,9 gram yağ, 4,8 gram protein, 140 mg kalsiyum, 0,13 mg riboflavin, 0,04 mg tiamin ve 3,7 mg niasin bulunmaktadır. Meyve ayrıca yüksek miktarda C vitamini (98 mg) içerir; bu, çilek (59 mg), portakal (50 mg) ve üzümde (38 mg) bulunanlarla karşılaştırıldığında çok daha büyük bir miktardır. Meyvelerin zengin miktarda polifenol (24,62 mg/g gallik asit eşdeğeri kuru ekstrakt) içerdiği rapor edilmiştir. Fenolik bileşikler, serbest radikallere karşı temizleme aktivitesine sahip olan önemli doğal antioksidanlardır (Liu *et al.* 2011, Awah *et al.* 2012, Karimi *et al.* 2010, Weidner *et al.* 2012).

Ziziphus spina-christi tohumları %28,5 yağ (çoğunlukla linoleik ve linolenik asit) ve %18,6 protein (çoğunlukla kükürt açısından zengin amino asitler) içerir (Nazif 2002). Tohumlar sakinleştirici etkiye sahiptir ve hamileliğe bağlı bulantı, kusma ve karın rahatsızlığını gidermek için kullanılabilir. *Ziziphus spina-christi* kök kabuğunun antifungal, antibakteriyel ve sitotoksik etkilere sahip olduğu işaretlenmiştir (Ads *et al.* 2017). *Ziziphus spina-christi* kök kabuğunun antibakteriyel özelliklerini inceleyen bir çalışma, kök kabuğunun yanıkları, yaraları, mide rahatsızlığını ve idrar yolu enfeksiyonunu tedavi etmedeki etkinliğini ortaya koymuştur (Mohammed *et al.* 2012). Bitkinin yaprakları önemli miktarda kalsiyum, demir ve magnezyum içerir. Geleneksel olarak göz hastalığı, atopik dermatit, bronşit, cilt hastalığı, ülser ve yaraların tedavisinde kullanılırlar (Ghafoor *et al.* 2012, Huang *et al.* 2017, Soliman *et al.* 2017).

Ziziphus spina-christi, çoğunlukla siklopeptid, alkaloidler (spinanine A), tanenler, steroller (β sitosterol), peptid, flavonoidler (rutin ve kersetin), saponinler (betulinik ve kinetik asit), triterpenoidler, sapogeninler, kersetin ve triterpenik asitler olmak üzere çeşitli fitokimyasal biyoaktif bileşenlere sahiptir (Abalaka *et al.* 2010, Farmani *et al.* 2016, Kadioglu *et al.* 2016, Abu-Taleb *et al.* 2011, Guo *et al.* 2011, Suleiman 2015). *Ziziphus spina-christi* yaprağının özütü (christanin A, B, C ve D) olarak bilinen dört saponin glikozit içerir (Nazif 2002) (Şekil 2.2).



Şekil 2.2 (a) *Ziziphus spina-christi* L.; (b) yapraklar; (c) çiçek

2.1.3 *Cymbopogon citratus*

Limon otu (*Poaceae*), eşit şekilde dağılmış ve tropik bölgelerde (Francisco *et al.* 2011), Güney ve Orta Amerika'da (Bensabab *et al.* 2015) bulunan, hoş tadı ve tedavi edici özellikleri nedeniyle yaygın olarak kullanılan çok yıllık bir çimdir (Bensabab *et al.* 2015, Coelho *et al.* 2016). Yaygın olarak limon otu veya *citronella* olarak bilinir ancak dağılımı nedeniyle çeşitli adları vardır (Çizelge 2.1). *Cymbopogon*, Yunanca kayık sakalı anlamına gelen “kymbe - pogon” (çiçek başak yapısı nedeniyle) ve *citratus* (Latince) limon kokulu yapraklar anlamına gelen kelimedenden türemiştir (Shah *et al.* 2011).

Gramineae familyasının bir parçasıdır. Bulgular 55'ten fazla tür bildirmiştir (Çizelge 2.2). Yaklaşık üç tür *Cymbopogon citratus* (Batı Hindistan otu), *Cymbopogon flexuosus* (Doğu Hindistan veya Malabar otu) ve *Cymbopogon pendulus* (Jammu otu) geniş çapta dağılmıştır (Lawal *et al.* 2017, Chowdury *et al.* 2015, Kouame *et al.* 2016, Clement *et al.* 2015).

Çizelge 2.1 *Cymbopogon citratus*'un yaygın isimleri (Coelho *et al.* 2016)

Ülke	İsim
Brezilya	Capim-cidrao, capim-santo
Mısır	Limon otu
İngiltere	Limon otu, şaşı, sitronella
Etiyopya	Tej-sar
Fransa	Citronelle
Hintçe	Verveine, sera
Hindistan	Gandhabene
Endonezya	Sereh
İtalya	Cimbopogone, sitronella
Malezya	Sakumau
Meksika	Zakat limonu
Myanmar	Sabalin
Nijerya	Fil otu
Peru	Yerba luisa
Filipinler	Tanglad
İspanya	Hierba limonu
Sri Lanka	Sereh
İsveç	Ağaç kavunu otu
Tayland	Ta-khrai
Türkiye	Limon otu
Amerika Birleşik Devletleri	Esans çıkarılan bir Güney Asya otu
Vietnam	Sa chanh
Çin	Xiang mao

Çizelge 2.2 *Cymbopogon* cinsine dahil olan türlerden bazıları (Lawal *et al.* 2017)

Türler	Menşei ülke
<i>Cymbopogon ambiguus</i>	Avustralya, Timor
<i>Cymbopogon annamensis</i>	Yunnan, Laos, Vietnam, Tayland
<i>Cymbopogon bhutanicus</i>	Butan
<i>Cymbopogon bombycinus</i>	Avustralya
<i>Cymbopogon caesius</i>	Sahra Altı Afrika, Hindistan Yarımadası, Yemen, Afganistan, Madagaskar, Komorlar
<i>Cymbopogon calcicola</i>	Tayland, Kedah
<i>Cymbopogon calciphilus</i>	Tayland
<i>Cymbopogon cambojiensis</i>	Tayland, Kamboçya, Vietnam
<i>Cymbopogon citratus</i>	Sri Lanka, Nijerya, Güneydoğu Asya, Kuzeydoğu ve Güney Hindistan
<i>Cymbopogon clandestinus</i>	Tayland, Myanmar, Andaman adaları
<i>Cymbopogon coloratus</i>	Myanmar, Vietnam
<i>Cymbopogon commutatus</i>	Sahel, Doğu Afrika, Irak, İran, Hindistan, Pakistan, Afganistan
<i>Cymbopogon densiflorus</i>	Orta ve güney-orta Afrika
<i>Cymbopogon dependens</i>	Avustralya

2.1.3.1 Taksonomi

- Krallık: *Plantae*,
- Bölüm: *Magnoliophyta*,
- Sınıf: *Liliopsida*,
- Ordo: *Poales*,
- Aile: *Poaceae*,
- Cins: *Cymbopogon Spreng*,
- Tür: *C. citratus*

2.1.3.2 Botaniksel sınıflandırma

Cymbopogon citratus, minik uzun ve iğne benzeri yaprakları olan çok yıllık bir bitkidir (Şekil 2.3). Kayış benzeri yapraklar yaklaşık 1,3-2,5 cm genişliğinde ve 0,9 cm uzunluğundadır, gevşek uçları vardır ve sitral ve yüksek neral ve aldehit sardunya içeriği nedeniyle topraklandığında narenciye aromasıyla parlak mavimsi yeşil renktedir (Tajidin *et al.* 2012). Yaprak ayası yaklaşık 18-36 cm olup paralel damarlanma ve gösterişli düşme özelliklerine sahiptir. Çiçek veya salkım (çeşitler) üretmezler. Çiçek durumu yaklaşık 30-60 cm olup kısmi çiçeklenme için eşleştirilmiş başak salkımları içerir. Bitki verimli kümeler halinde büyür ve sırasıyla yaklaşık 1,8 m yüksekliğe ve 1,2 m genişliğe ulaşabilir (Chanthai *et al.* 2012). Kuru yaprak, habitatlarına, genetik farklılıklara ve tarımsal uygulamalara bağlı olarak değişen biyoaktif kimyasal bileşenlere sahip yaklaşık %1-2 oranında uçucu yağ içerir (Carlson *et al.* 2001, Paviani *et al.* 2006).



Şekil 2.3 *Cymbopogon citratus* bitkisi (Tajidin *et al.* 2012)

2.1.3.3 Çoğalma

Bitki, kümelerin bölünmesi (Akhila 2010) veya vejetatif yollarla genetik klonlar yoluyla çoğaltılır. Genetik çoğaltma, yağ verimi ve miktarında tutarsızlığa, bozulmaya ve azalmaya neden olabilir (Akhila 2010). Bitki sabit nemli, verimli, kumlu-tınlı topraklarda (pH 2-12) iyi yetişir (Weiss 1997).

2.1.3.4 Geleneksel önem

Asya, Güney Amerika ve Afrika kıtalarında yaprakları geleneksel olarak çay veya kaynatma olarak kullanılmaktadır. Yaprak, bitkinin anti-enflamatuar, antiseptik, anti-dispeptik ve ateş düşürücü etkilerini, antispazmodik, analjezik, antipiretik, sakinleştirici, anti-hermetik ve diüretik özelliklerini belirleyen hayati biyoaktif bileşikler içerir (Ademuyiwa *et al.* 2015, Tajidin *et al.* 2012). Parfüm, yerel sabunlar, mum ve diğer böcek kovucular gibi çeşitli ürünlerde deodorant görevi görürler (Tajidin *et al.* 2012, Dutta *et al.* 2016). Asya ve Afrika ülkelerinin bir kısmında yılan ve sürüngen kovucu olarak kullanılmıştır.

2.1.3.5 Ekonomik önemi

Sitral, genariol, α -oksobisabolen ve mirsen gibi uçucu yağlar, sabun ve deterjan, gıda, içecek, parfüm, kozmetik ve şekerleme endüstrilerinde önemli hammaddelerdir (Avoseh *et al.* 2015, Rani 2012).

2.1.3.6 Bitki kimyası

Şifalı bitkilerin tedavi edici potansiyeli fitokimyasalların veya ikincil metabolitlerin varlığıyla ilişkilendirilebilir. Bu bileşikler tıbbi bitkilerde eşit olarak yayılmıştır. Fitosteroller, antosiyanin, amino asitler, organik asit, fenolik bileşikler, uçucu bileşenler, yağ asitleri, fumesol, flavonoidler, izovaleranik aldehit, metilheptenon, valerik esterler, L-linanol, furfurol, izopulegol, p-kumarik asit gibi önemli bileşikler *C. citratus*'tan izole edilmiş ve karakterize edilmiştir (Rahim *et al.* 2013, Paula *et al.* 2014, Moore-Neibel *et al.* 2012).

2.1.3.7 Uçucu yağlar

Cymbopogon citratus yaprağı yüksek oranda uçucu yağ içerir (Brügger *et al.* 2019, Piaru *et al.* 2012). Sitral (terpenoid ve geranial karışımı), mikren, genariol, sitronellol (cymbopogonol ve cymbopogone) ve α -oksobisabolen içerir. İçerikleri bitki türlerine ve coğrafi konuma bağlı olarak değişir (Batı Hindistan limon otunda %12-15, Doğu Hindistan'da %10-13) (Ranitha *et al.* 2014). Sitral bitkinin aroma oluşumunda önemlidir (Karimi and Nasab 2014, Dongmo *et al.* 2009). Neointermediol (%7,2), selina-6-en-4-ol (%27,8), α -cadinol (%8,2), metheptenon (%1,2), eudesma-7(11)-en-4-ol (%5,3), 3,7-dimetil-1,3,6-oktatrien (%0,58), dekanal (%0,25) ve naftalen (%0,79) gibi başlıca bileşenler tespit edilmiştir (Costa *et al.* 2013, Farhang *et al.* 2013). Son analizler elemol (%41), β -eudesmol (%45), cubebol (%4,7), humulene (%4) (129), sitral asetat, sitral dietilasetal (Bharti *et al.* 2013, Kumar *et al.* 2013), verbenone, sabinene, geranyl asetat, citronella (Soares *et al.* 2013), mentha-1(7), limonene (%19,33), 8-dien-2-ol cis (%17,34), mentha-2,8-dien-1-oltrans-para (%13,91), mentha-1(7),8-dien-2-ol trans

(%13,95) ve mentha-2,8-dien-1-ol cis-para (%8,10) belirlenmiştir (Farhang *et al.* 2013, Nanon *et al.* 2014).

2.1.3.8 Fitokimyasal bileşenler

C. citratus'un niteliksel ve niceliksel fitokimyasal taraması, bitkinin tedavi edici gücüyle bağlantılı olabilecek önemli biyoaktif kimyasal bileşikler ortaya çıkarmaktadır (Oladeji *et al.* 2020). Ketonlar, alkoller, fenoller, terpenler, flavonoidler, saponinler, steroidler, tanenler, alkaloidler, sardunya, terpernoidler, polifenoller, esterler, aldehit ve yağ asitleri gibi biyoaktif bileşenler izole edilmiş ve analiz edilmiştir (Shah *et al.* 2011, Asif and Khodadadi 2013). Literatürlere göre *C. citratus*'taki en önemli bileşikler, bitkinin belirgin terapötik ve farmakolojik aktivitelerine katkıda bulunan uçucu yağ ve flavonoidlerdir (Roriz *et al.* 2014, Zannou *et al.* 2015).

2.2 Bitki Özleri

Birçok bitkinin yaprakları, çiçekleri ve kökleri toksik kimyasal bileşikler içerdiğinden, bitki özleri patojenin büyümesini ve gelişmesini baskılayan birden fazla etkili madde içerir (Ramírez-Chávez *et al.* 2000). Bu bitkilerden biri de *Rutaceae* familyasına ait *Citrus aurantifolia* (Christm.)'dır, yoğun, düzensiz dallanmış bir ağaçtır. Gövde ve odun kahverengi renkte, dalların üzerinde kısa sert dikenler var. Yapraklar keskin, eliptik, oval veya dikdörtgendir, koyu yeşil renktedir ve dar yaprak saplarıyla dönüşümlüdür. Çiçekler beyaz renkli olup, yaprakların köşelerinden yukarı doğru çıkmaktadır. Meyvesi yuvarlak, yeşil-sarı renkte, ince kabuklu, sulu, hoş kokulu ve çok asitli, küçük çekirdeklidir (Aliyu 2006). *Citrus aurantifolia* yaprak ekstraktının etkili bileşiklerini tespit etmek amacıyla Akinnibosun and Edionwe (2015) tarafından yapılan bir çalışmada Saponinler, Flavonoidler, Steroidler, Alkaloidler, Tanen, Kardiyak, glikozitler ve İndirgeyici şekerler içerdiği bulunmuştur.

Sidr yapraklarının (*Zizphus spina-christi*) ekstraktlarının alkaloidler, flavonoidler, fenoller, reçineler, saponinler ve büzücü maddeler gibi aktif maddeler içerdiği

kanıtlanmıştır (Al-Hajami 2006). Sidr yapraklarının ekstraktının kimyasal incelemesiyle, en önemlisi Quecitrin olan alkaloidlerin, saponinlerin ve flavonoid maddelerin varlığı bulunmuştur (Al-Otaibi 2007). Apigenin-7-0-glucoide, Rutin, Sidr bitkisinin soğuk alkollü ve sulu ekstraktının aktif maddelerinin farklı bakteri türleri *Escherichia coli*, *Klebsiella* sp, *Staphylococcus*, *Streptococcus feacalis*'in büyümesini engellemedeki inhibitör etkisini araştırmak için yapılan bir çalışmada, bu ekstraktların büyümeyi engellemede etkili bir etkiye sahip olduğunu göstermiştir. *Streptococcus feacalis* için en yüksek ortalama inhibisyon çapı 200 mg/mL konsantrasyonda 20 mm iken, *Klebsiella* bakterileri için en düşük inhibisyon çapı alkollü ve soğuk su ekstraktında 100 mg/mL konsantrasyonda 8 mm olmuştur. Sidr bitkisinin soğuk ve alkollü sulu ekstraktının ön inceleme sonuçlarında temsil edilen etkili maddeler: Flavonidler, Alkaloidler, Tanenler, Terpenoid olarak belirlenmiştir. Sidr bitkisinin sulu ve alkollü ekstresinin *Scopulariopsis brevicaulis*, *Microsporum gypseum*, *Trichophyton mentagrophytes* ve *Microsporum cani* dahil olmak üzere dermatofit türlerinin büyümesi üzerinde inhibitör bir etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (Bandar et al. 2009).

Limon otu olarak bilinen *Cymbopogon citratus*, Güneydoğu Asya ve Afrika'da popüler olan tropikal bir bitkidir. Limon otu Poaceae familyasına aittir. Bu ailenin limon aroması verdiği bilinmektedir. Bitki, Asya ve Hindistan'daki tropikal bölgelerde yetişen uzun çok yıllık bir bitki olarak kabul edilir. Bitki yemek pişirme amacıyla kullanılır. Bir dizi sağlık yararları ve tıbbi faydaları vardır ve antibakteriyel ve antifungal özelliklerin yanı sıra antibakteriyel ajanlar ile karakterizedir. Metabolik enzimleri ve fonksiyonları etkileyen membranlara ve hücre duvarlarına zarar vererek hücre yapısına zarar verdiği için etkilidir, çünkü limon otu esas olarak neral; (terpen), geranial, caryophyllene, geraniol, cis-verbenol, cis-carveol içerir (Deshmukh et al. 2010), bu cins, parfüm üretiminde de kullanılan yaklaşık 55 tür içerir (Parrotta 2001). Uçucu yağlar içerdiği için bakterilere karşı da etkili olduğu kanıtlanmıştır, bu nedenle konserve gıdalarda kullanılmıştır (Soetjipto 2018) ve limon otu etkili bir madde olarak sitral bakımından zengin uçucu yağlar içerir. Limon otu, çoğu mikroorganizmanın zararlı etkisini önlemede önemli bir rol oynayan tunnis, alkaloidler ve glikozitler içerir (Al-Kanzawi et al. 2006, Ramírez-Chávez et al. 2000).

2.3 *Pseudomonas aeruginosa*

2.3.1 Bakterilerin isimlendirilmesi ve sınıflandırılması

P. aeruginosa, *Pseudomonadaceae* ailesinin bir üyesi olan bir proteobakteridir. 1882 yılında Fransız bakteriyolog ve kimyager Carle Gessard tarafından, sargıları mavi ve yeşil olan askerlerin yaralarında keşfedilmiş (Moore and Flaws 2011), o zamanlar *Bacillus pyocyaneas* olarak adlandırılmış (Lyczak *et al.* 2000), daha sonra *Pseudomonas pyocyaneas* olarak adlandırılmış ve son olarak *Pseudomonas aeruginosa* (Lister *et al.* 2009) olarak yeniden adlandırılmıştır.

P. aeruginosa, tamamı *Pseudomonas* cinsine giren yaklaşık 140 tür içeren *Pseudomonadaceae* familyasında bulunur. Bu cinsin 25'ten fazla türü insan enfeksiyonlarına neden olmaktadır ve bunların çoğu fırsatçı enfeksiyonlardır (Stover *et al.* 2000). Sınıflandırma için iki sistem bulunmaktadır: Birinci sistem morfolojik özelliklere dayanmaktadır. İkinci sistem ise DNA ve RNA arasındaki benzerliklere dayanmaktadır (Al-Qasi 2012). Bergey'in metodolojik bakteriyoloji yöntemine göre bakteriyostatik bakterilerin bilimsel sınıflandırması aşağıdaki gibidir (Todar 2004):

- Krallık: Bakteriler
- Filum: Proteobakteriler
- Sınıf: *Gamma Proteobacteria*
- Ordo: *Pseudomonadales*
- Familya: *Pseudomonadaceae*
- Cins: *Pseudomonas*
- Tür: *P. aeruginosa*

2.3.2 *Pseudomonas aeruginosa*'nın genel özellikleri

P. aeruginosa Gram negatif ve her yerde bulunan bir çevresel bakteridir. Özellikle bağışıklık savunması zayıf olan hastalarda, yaşamı tehdit eden çok çeşitli akut ve kronik

enfeksiyonlara neden olabilen fırsatçı bir insan patojenidir. Kistik fibrozis (KF) hastalarında morbidite ve mortalitenin ana nedeni olması ve geniş bir yelpazedeki antibiyotiklere doğal olarak dirençli olmasına rağmen hastanede yatan hastaları etkileyen önde gelen nozokomiyal patojenlerden biri olması nedeniyle özel bir öneme sahiptir (2).

Bu Gram-negatif bakteri yapısı 0,5-0,8 µm x 1,5-3 µm çubuk şeklindedir ve mobilizasyon için bir kamçıya sahiptir. Kendisini Gram-negatif bakterilerin çoğundan ayıran *P. aeruginosa*, oksidaz reaksiyonu açısından pozitifdir. Üstelik laktozu kalıcı olarak fermente edemez. *P. aeruginosa* suda, bitkilerde, toprakta ve hayvanların epidermisinde bulunur. Doğada genellikle suda yüzen bir plankton veya biyofilm olarak, aynı fenotipi ve ortak kimyasal özellikleri paylaşan bakteri kümeleri olarak bulunur. Benzersiz bir şekilde, *P. aeruginosa* çeşitli sıcaklıklarda ve seyrek beslenmede gelişip hayatta kalabilir. Önceki çalışmalarda bakterinin, değişen ortamlara uyum sağlamada avantaj sağlayan damıtılmış suda çoğaldığı gözlemlenmiştir (Jenny and Kingsbury 2018). Fırsatçı bir patojen olan *P. aeruginosa*, konakçısını enfekte etmek için bağışıklık eksikliği gerektirir (Pollack 1990). Üstelik bu, *P. aeruginosa*'nın havalandırma makineleri, kanser ve yanık hastaları için neden bu kadar büyük bir hastane tehdidi olduğunun açıklamasıdır. *P. aeruginosa*'nın solunum yollarında kolonizasyonu sepsis ve ölümle ilişkilidir. Bağışıklığı baskılanmış veya önemli miktarda travma geçirmiş olan herhangi bir hasta, enfeksiyonun kolonizasyonu açısından risk altındadır. Enfeksiyona yakalanan söz konusu hastalarda ölüm oranı yaklaşık %50'dir (Jenny and Kingsbury 2018).

2.3.3 *Pseudomonas aeruginosa* genomu

P. aeruginosa suşları büyük genomlara sahiptir (~5–7 Mbp). Metabolik kapasiteleri, birden fazla ikincil metabolit ve polimer üretme yeteneklerinin yanı sıra çeşitli karbon kaynaklarını ve elektron alıcılarını kullanma yetenekleriyle örneklendiği gibi oldukça geniştir. Büyük ölçüde korunmuş olan *P. aeruginosa* genlerinin repertuarı, bilinen bakteri genomlarında gözlenen en yüksek düzenleyici gen ve ağ oranını akla getirir ve çeşitli ortamlara yanıt vermek ve bunlara uyum sağlamak için temel oluşturur (Stover *et al.* 2000, Mathee *et al.* 2008, Frimmersdorf *et al.* 2010).

P. aeruginosa, 4,000'den fazla gen artı değişken bir yardımcı gen havuzundan oluşan bir çekirdek genom içerir (Hoboth *et al.* 2009), suőa bağlı olarak yaklaşık 6,000'i (tahmin edilen) kodlar. Analiz edilen beş genomun tümü hakkında 5,021 gen, en az %70 sekans özdeşliğiyle korunmuştur. Bunun nedeni, hastalardan alınan *P. aeruginosa* suşlarının yüksek genotipik çeşitlilik ortaya koymasıdır (Ehiaghe *et al.* 2013).

Genom, hem laboratuvar suőlarında hem de klinik ve çevresel örneklerden izole edilen kültürlenmiş örneklerde yüksek oranda korunur. Bu büyük genomun önemi, bakteriye çok çeşitli metabolik yollar ve fizyolojik tepkiler sunması ve bu sayede bakterilerin birçok farklı ortama alıőmasına olanak sağlamasıdır. Hem klinik hem de çevresel suőlar üzerinde yapılan çalışmalar, genomun %90'a kadarının suőlar arasında korunduğunu ve birden fazla suőun mevcut olduğu habitatlarda, spesifik bir fenotip nedeniyle hiçbir suőun baskın görünmediğini göstermiştir (Lee *et al.* 2006). Bu gen seti *P. aeruginosa* çekirdek genomudur (izelge 2.3) (Mathee *et al.* 2008).

Çizelge 2.3 *P. aeruginosa* çekirdek gen seti

Zincir	PA2192	C3719	PAO1	PA14	PACS2
Genom boyutu (bp)	6,905,121	6,222,097	6,264,404	6,537,648	6,492,423
ORF'ler	6,191	5,578	5,571	5,905	5,676

2.3.4 Epidemiyoloji

Basit olmaları ve çok az karmaşık büyüme gereksinimleri gerektirmeleri nedeniyle her yerde bulunabilen *P. aeruginosa* bakterilerine maruz kalmayı önlemek neredeyse imkansızdır (Moore and Flaws 2011). Bu bakteriler toprakta ve çeşitli su özeltlerinde, dezenfektanlarda ve sabunlarda yaygın olarak bulunur (Brooks *et al.* 2013) ve hastane ortamında, özellikle su giderleri, bulaőıklar ve temizlik kovaları gibi ıslak alanlarda sıklıkla bulunur. Göz damlaları ve merhemlerinin yanı sıra bazı dezenfektan solüsyonlarında (Elraih 2015), ayrıca kontakt lens solüsyonları ve preparatlarında üreme gözlenmiştir ve hastanelerde edinilen enfeksiyonun nedeni olabilecek anestezi maskelerinde (Zhapouni *et al.* 2009) ve dezenfektan sabun solüsyonu içeren heksaklorofanda ve bir temizleyicide üreme bulunmuőtir (Levinson 2010).

P. aeruginosa, metaller, plastikler, tıbbi implant malzemeleri ve dokular dahil olmak üzere çeşitli yüzeylere yapışan ve yok edilmesi çok zor olan karmaşık bakteri toplulukları olan biyofilmler oluşturma eğilimindedir (Benson 2002). *P. aeruginosa* insan vücudunda serbestçe yaşayan bir bakteri türü değildir ancak sindirim sisteminde flora şeklinde küçük miktarlarda bulunur. Vücudun ıslak yüzeylerinin çeşitli yerlerinde, kol altında ve perinede geçici bir koloni olabilir, boğaz ve burunda da kolonize olabilir (Moore and Flaws 2011). *P. aeruginosa*, doğası ve çoklu ilaç direnci nedeniyle dünya çapında iltihap yayılımının yaklaşık %10 ile %15'ini oluşturmaktadır (Strateva and Yordanov 2009).

P. aeruginosa'nın ıslak ortamlarda büyüme eğilimi, toprak ve sudaki doğal varlığının bir yansıması olabilir. Bu durum fırsatçı bir patojen olarak çevresel başarısına katkıda bulunmuş ve organizmanın neredeyse her yerinde bulunmasını ve edinilmiş bir hemşire olarak ortaya çıkmasını açıklamaya yardımcı olmuştur (Hostacka and Majtan 1997).

2.3.5 Patogenez

P. aeruginosa sağlıklı insanlarda hastalığa neden olur ve genellikle bağışıklık sistemi baskılanmış kişilerle ilişkilidir ve bu hastalara yanık ve yaralar nedeniyle ulaşır. Bu bakteriler, konakçı onlarla enfekte olduğunda, Flagella, Pili ve Ekzoenzim S (doku nekrozuna neden olan bir toksindir) tarafından yapışma fazı başlatıldığında, hastane enfeksiyonu edinilmiş enfeksiyon üretme yeteneğine ve geniş yelpazesine sahip fırsatçı patojenlerdir (Neamah 2017). Enfeksiyonlar daha sonra ekzotoksin A'nın virülans faktörleri ve fagositler tarafından protein sentezini inhibe eden ve böylece doku nekrozuna ve yanıklarda ölüme neden olan gecikmiş yara iyileşmesine neden olan elongasyon faktörü 2 (EF2) ile kompleks bir konfigürasyon yoluyla tetiklenir. Endotoksin, difteri toksinine benzeyen (Gellatly and Hancock 2013), yanık ve yaralarda mavi-yeşil floresan boyaların üretimi, koloni oluşturma ve lokalize doku istilasası ile sepsise bağlı ateş ve şoktan sorumlu olan, *P. aeruginosa* bakterisi tarafından enjekte edilen ExoT, ExoU, ExoY *P. aeruginosa* bakterisi (T3SS) ve konak savunmasını yok eden enzimlerin yanı sıra fagositoz veya antibiyotik direncine karşı önemli rol oynayan kapsül (Alhazmi 2015) daha sonra hastalığın sistemik yayılımına neden olarak idrar yolu enfeksiyonu İdrar yolu enfeksiyonu, menenjit, orta kulak iltihabı, kemik ve eklem

enfeksiyonu, gastrointestinal enfeksiyon, deri ve yumuşak doku iltihabı, endokardit, iltihaplanma, Pnömoni, özellikle Kistik fibrozisli kişilerde, ayrıca kan dolaşımının istilasısı, özellikle derin yanıkları olan kişilerde septisemiye neden olur (Levinson 2010).

2.3.6 Virülans faktörleri

P. aeruginosa patogenezi, bu bakterilerin patogenezinde ve dokuları istila etmelerinde önemli bir role sahip olan çok sayıda hücresel ve hücre iskeleti faktörüne bağlı olan birçok virülans faktörü üretir. *P. aeruginosa* bir dizi virülans faktörü (Çizelge 2.4) (Al-Wrafy *et al.* 2017, Domingo-Calap *et al.* 2016) ve son yıllarda artan antibakteriyel direnç oranlarına katkıda bulunan çoklu antibakteriyel direnç mekanizmaları sergilemektedir.

Çizelge 2.4 *P. aeruginosa* virülans faktörleri ve rolleri

Hastalık oluşturma faktörü	Rol
Kamçı	Hareketlilik, kemotaksis, ilk yüzey etkileşimlerine aracılık eder
Pilli	Hücre yüzeyinde yapışma, hareketliliğin seçilmesi, biyofilm oluşumu ve konakçı bağışıklık sistemi ve antibiyotiklerin önlenmesi
T2SS	
Ekzotoksin A LasA LasB Tip IVProteaz Alkali proteaz Proteaz IV Fosfolipaz H	Ökaryotik protein sentezini inhibe eder. Stafilolizin, elastaz ve stafilolitik aktiviteye sahip çinko metaloproteaz. Elastaz, kolajeni ve kolajen olmayan konakçı proteinleri, konakçının fiziksel bariyerlerini bozar, opsonize edici akciğer yüzey aktif madde proteinleri A ve D'yi bozar ve monosit kemotaksisini inhibe eder. İmmünoglobulinleri, komplemanı, yüzey aktif madde proteinleri A ve D'yi, fibrinojeni, plazminojeni ve antibakteriyel peptitleri parçalar. Kompleman aktivasyonunu, nötrofil fagositozunu ve fibronektini inhibe eder. Transferrin, elastin, laktoferrin, dekorin ve kazeini parçalar. Yüzey aktif madde lipidlerini ve fosfolipidleri yok eder, eritrositleri hemolize eder.
T3SS	
ExoS ExoT ExoU ExoY	Apoptoz, nekroz, konakçı bağışıklık hücrelerinin öldürülmesi, hücre iskeletinin bozulması ve DNA sentezinin inhibisyonu Apoptoz, hücre bölünmesinin bloke edilmesi, aktin hücre iskeletinin değiştirilmesi, fagositozu bloke etme, hücre göçünü, yapışmayı ve proliferasyonu inhibe etme Fagositlerin ve epitel bariyerlerinin nekrozu ve öldürülmesi Aktin hücre iskeletinin bozulması ve endotel geçirgenliğinin artması
T5SS	Ökaryotik hücreleri, biyofilm oluşumunu, hücresel yapışmayı ve antibakteriyel fonksiyonları hedefleyin
Lectinler LecA ve LecB	Konakçı hücrelere yapışma ve akciğer hasarına, biyofilm oluşumuna neden olma
Sideroforlar	Demirin sınırlı olduğu ortamlardan demir alımı
Piyosyanin	Solunum yolundaki siliyer fonksiyon bozukluğu, konakçı hücrelere zarar veren proinflamatuvar ve oksidatif etkiler gösterir.

Çizelge 2.4 *P. aeruginosa* virülans faktörleri ve rolleri (Devam)

Çekirdek algılama	Biyofilm oluşumu, çeşitli virülans faktörlerinin ekspresyonunun düzenlenmesi, değişen mikrobiyal popülasyon yoğunluğuna tepki, toplum içinde yaşamının metabolik taleplerine adaptasyon
Lipopolisakkarit	
lipit A O'ya özgü polisakkarit	Endotoksik şok Serogrup özgüllüğünün ve antikor üretiminin sağlanmasından sorumludur
Biyofilm	
Aljinat PSL Pel	KF akciğerlerindeki ortamlardan koruyucu faktör ve bağışıklık savunması, yapısal stabilite ve biyofilmlerin ve antibiyotik direncinin korunması. Bağışıklığın bağlanma direnci, antibiyotik direnci, olgun biyofilmlerdeki yapısal iskele ve bakterilere yapısal destek sağlamak için eDNA-Psl liflerinin oluşumu. Biyofilm oluşumu, antibiyotik direnci ve adezinler için birincil yapı iskelesi.
eDNA	Antibiyotik direnci

2.3.7 *P.aeruginosa*'nın antibiyotiklere direnci

P. aeruginosa, Gram negatif enfeksiyonların ayırıcı tanısında en önemli ve en sık düşünülen patojenlerden biridir. Bu organizmanın dikkate alınması önemlidir çünkü özellikle bağışıklık sistemi zayıf konakçılarda hastane kaynaklı ciddi enfeksiyonlara neden olur, sıklıkla antibiyotiğe dirençlidir, tedavi seçimini zorlaştırır ve yüksek mortalite oranıyla ilişkilidir (Kanj and Sexton 2019). *P. aeruginosa*, yaşadığı çevreye kolayca uyum sağlar ve ayrıca ciddi enfeksiyonlara neden olacak şekilde bir insan konakçısı kolonileştirip istila edebilir (Yayan *et al.* 2015). Geniş genomunda (>6 Mb) kodlanan düzenleyici genlerin büyük oranının (>%8) sağladığı çok yönlülük ve uyarlanabilirlik, olağanüstü virülans belirleyici repertuarı ve antimikrobiyal tedavilerin aktivitesinden kaçma konusundaki olağanüstü kapasitesi, *P. aeruginosa*'yı en korkulan bakteriyel patojenlerden biridir yapar ve özellikle kronik enfeksiyonlarda yaygın olan mutator varyantlarının ortaya çıkması, *P. aeruginosa*'da adaptasyonu ve antimikrobiyal direnç gelişimini daha da artırır (Cabot *et al.* 2016).

P. aeruginosa genetik olarak olağanüstü bir içsel antibiyotik direnci mekanizmasına sahiptir; indüklenebilir bir AmpC sefalosporinaz üretimi, akış pompalarının yapısal veya indüklenebilir ekspresyonu, dış zarının azaltılmış geçirgenliği ve gen mutasyonunun,

daha büyük bir etkiye sahip mekanizmalar olduğu düşünülmektedir. *P. aeruginosa*'nın bazal düşük duyarlılığı üzerindeki etkisi, antibiyotikler ve diğer Gram-negatif patojenlerle karşılaştırıldığında (Cabot *et al.* 2016), antimikrobiyal dirençle ilgili karmaşıklık ve endişe, bu patojenin, kromozomal genlerdeki mutasyonların seçimi yoluyla AmpC veya akış pompalarının yukarı regülasyonuna, inaktivasyonuna yol açan mevcut tüm antibiyotiklere karşı direnç geliştirme karbapenem porin OprD'nin kullanımı veya florokinolonlar durumunda ilaç hedefinin modifikasyonu (DNA topoizomerazlar) konusundaki olağanüstü kapasitesiyle daha da artmaktadır (Potron *et al.* 2015, Juan *et al.* 2017).

P. aeruginosa, indüklenebilir bir AmpC sefalosporinaz taşıyıcı ve üretimi yalnızca düşük bazal seviyededir, bu da onu antipsödomonal penisillerine, penisilin-inhibitör kombinasyonlarına, sefalosporinlere ve karbapenemlere karşı duyarlı hale getirir. Bununla birlikte, üretim önemli ölçüde arttığında, *P. aeruginosa* tüm β -laktamlara karşı direnç geliştirir; yani *P. aeruginosa*, indüklenebilir bir AmpC β -laktamaza sahiptir ve bu enzimi indükleyen ve tarafından hidrolize edilen β -laktamlara karşı doğası gereği dirençlidir (örneğin, sefalotin ve ampicilin) (Mouly 2018).

P. aeruginosa'nın büyük dış zar gözenekleri oluşturan bir porini (OprF) bol miktarda üretmesi nedeniyle, çoğunlukla hücrenin geçirimsizliğine atfedilen, psödomonal hücreden birçok antibiyotik hariç tutulur (Benz and Hancock 1981, Mouly 2018). Bununla birlikte, bu geçirimsizlik aracılığıyla direnç aslında β -laktamları, kloramfenikol, florokinolonları, makrolidleri, novobiyosin, sülfonamidleri, tetrasiklin ve trimetoprimin yanı sıra çeşitli boya ve deterjanları uzaklaştıran bir pompa sistemi olan MexA B-OprM'nin akışını yansıtmaktadır (Poole 2001).

Kinolon hedef enzimleri olan DNA giraz ve topoizomeraz IV'ü kodlayan genlerdeki QRDR'deki değişiklikler, kinolon grubu antibiyotiklere karşı direnç sağlar (Jalal and Wretling 1998, Mouly 2018).

P. aeruginosa direncinden OprD kaybı, tip II topoizomerazlardaki değişiklikler, AmpC aşırı üretimi, akış pompaları, kromozomal DNA'daki mutasyon ve çok sayıda edinilmiş

gen sorumludur. Bununla birlikte, DNA giraz (gyrA) ve topoizomerez IV'ü (parC) kodlayan hedef genlerdeki mutasyonlar, florokinolon direncinin oluşmasının ana mekanizmasıdır (Firouzi *et al.* 2016). Son incelemeler, her direnç mekanizmasının her bir antibiyotik sınıfına olan katkısını ve prevalansını ayrıntılı olarak tanımlamıştır [Lister *et al.* 2009, Strateva and Yordanov 2009, Sun *et al.* 2014, Potron *et al.* 2015).

2.4 Bitki Ekstraktlarının Antibakteriyel Aktivitesi

2.4.1 *C. aurantifolia*'nın antibakteriyel aktiviteleri

Narenciye yağının, *S. aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas* spp., *A. niger* ve *C. albicans* dahil çeşitli patojenlere karşı antimikrobiyal aktivitesi kapsamlı bir şekilde incelenmiştir (Pathan *et al.* 2012, Dhifi *et al.* 2016, Powers *et al.* 2018, Dosoky and Setzer 2018). Hidrodistile limon yağı (12,25-100 µg/mL), gram negatif suşlarla karşılaştırıldığında gram pozitiflere karşı güçlü antibakteriyel aktiviteye sahiptir (Burt 2004). Çalışmada incelenen bazı mikroplara karşı misket limonu esansiyel yağı için kaydedilen inhibisyon bölgesi (ZOI) değerleri, *S. aureus* için 10 ile 20 mm, *Enterococcus faecalis* için 26 mm, *Salmonella* spp. için 6-10 mm ve *C. albicans* için 24 mm olarak belirlenmiştir. Yağ, izoniyazide dirençli mikobakteri suşunda güçlü sonuçlar göstermektedir; bu da muhtemelen yağın antimikrobiyal direncin üstesinden gelmede rol oynayabileceğini düşündürmektedir (Camacho-Corona *et al.* 2008, Sandoval-Montemayor *et al.* 2012). *C. aurantifolia*'nın antibakteriyel aktivitesi fitokimyasalların, 5, 8-dimetoksipsoralen, 5-geraniloksipsoralen, palmitik asit, linoleik asit, oleik asit, 4-heksan-3-on ve sitralin varlığını göstermektedir (Sandoval-Montemayor *et al.* 2012).

Abubakar U Zage, turunçgil etanolik ekstraktının (2,125-20 mg/mL) *Shigella*, *Salmonella typhi* ve *Klebsiella*'nın klinik izolatlarına karşı önemli aktivite gösterdiğini bulmuştur. Çalışma, ortalama 14,90 mm'lik inhibisyon bölgesi ile *Shigella*'nın ekstrakta daha duyarlı olduğunu, bunu *Klebsiella* (14,49 mm), *E. coli* (13,77 mm) ve *S. typhi*'nin (12,01 mm) takip ettiğini göstermiştir (Miguel *et al.* 2014, Naeini *et al.* 2018). Narenciye kabuğu metanolik ekstraktı 31,25 µg/mL konsantrasyonda *S. aureus*'a karşı güçlüyken, etil asetat ekstraktı 250-750 µg/mL gibi daha yüksek konsantrasyonda etkilidir (Afroja *et al.* 2017).

2.4.2 *Ziziphus spina-christi*'nin antimikrobiyal aktiviteleri

Daha önce yapılan bir çalışma, hem *Ziziphus spina-christi* meyvelerinin alkollü ekstraktının hem de *Ziziphus spina-christi* yapraklarının sulu ekstraktının, *Herpes simplex* tip 1'e karşı belirgin bir antiviral etki oluşturduğunu ortaya çıkarmıştır. *Ziziphus spina-christi* yapraklarının kloroform ekstraktı, *Streptococcus pyogenes* ve *Bacillus cereus* gibi Gram-pozitif patojenleri inhibe eder. Ayrıca *Ziziphus spina-christi* yapraklarının petrol eteri ekstraktı *Streptococcus pyogenes*'in büyümesini engeller. *Ziziphus spina-christi* tohumlarının kloroform ekstraktı, *Bacillus cereus*, *Streptococcus pyogenes* ve *Staphylococcus aureus*'un büyümesini engeller. *Ziziphus spina-christi* yaprağının kloroform ekstraktı, *Trichophyton rubrum*'a karşı ılımlı bir antifungal aktiviteye sahiptir (Shahat et al. 2001).

Daha önce yayınlanmış bir başka in vitro çalışma, *Ziziphus spina-christi*'nin meyvelerinin, yapraklarının, saplarının ve tohumlarının kloroform, metanol ve petrol eteri ekstraktının, *Staphylococcus aureus* ve *Bacillus subtilis*'in Gram pozitiflerine karşı önemli antibakteriyel etki etkileri ürettiğini göstermiştir. *Proteus vulgaris*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Klebsiella pneumoniae*'nin Gram negatifleri üzerinde ise Metanolik ekstraktın en güçlü olduğu belirtilmiştir. Bunu kloroform ekstraktı takip ederken, petrol eteri ekstraktı en az etkiyi göstermiştir. Farklı bitkisel kısımların tüm ekstraktları, *Aspergillus niger* ve *Candida albicans*'a karşı hiçbir fungisidal etkiye sahip olmamıştır (Ali et al. 2015).

Son zamanlarda, *Ziziphus spina-christi*'nin toprak üstü bölümünün alkollü ekstraktının birçok Gram-pozitif (*Clostridium perfringens*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus* ve *Staphylococcus aureus*) ve Gram-negatif (*Vibrio parahaemolyticus* ve *Proteus vulgaris*) bakteriye karşı doza bağlı antimikrobiyal aktivite sergilediği bulunmuştur (Gheith and El-Mahmoudy 2018).

2.4.3 *Cymbopogon citratus*'un antimikrobiyal aktiviteleri

α -sitrал (geranial) ve β -sitrал (neral) gibi uçucu yağlar *C. citratus* yaprağından izole edilmiş, karakterize edilmiş ve analiz edilmiştir. Bu bileşikler, gram pozitif ve negatif bakteri izolatlarına karşı baskın aktiviteye sahip aktif antibakteriyel bileşiklerdir (Soares *et al.* 2013). Halk hekimliğinde bitkinin; menenjit, zatürre, impetigo, selülit, folikülit ve gıda zehirlenmesi gibi bakteriyel enfeksiyonlarla mücadele etmek için kullanılmıştır. Ayrıca, *Clostridium botulinum*, *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli*, *Salmonella* ve *Listeria monocytogenes*'e karşı etkili oldukları rapor edilmiştir. *C. citratus*'taki uçucu bir yağ olan Myrcene'nin bakterilere karşı düşük inhibisyon gösterdiği ancak diğer uçucu yağlarla birleştirilmesinin önemli aktiviteler sağlayabileceği belirlenmiştir (Ambade and Bhadbhade 2015, Arrey Tarkang *et al.* 2013, Salvia-Trujillo *et al.* 2013).

3. MATERYAL VE METOT

3.1 Materyal

3.1.1 Bitki örneği toplama

Bu çalışmada kullanılan bitkisel materyaller Irak'ta yetişen *Citrus aurantifolia*, *Ziziphus spina-christi* ve *Cymbopogon citratus*'tan oluşmuştur (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1 Çalışmada kullanılan bitkiler

No	Bilimsel ad	Familya	Kullanılan kısım
1	<i>Ziziphus spina-christi</i>	<i>Rhamnaceae</i>	Makaleler
2	<i>Citrus aurantifolia</i>	<i>Rutaceae</i>	Meyveler
3	<i>Cymbopogon citratus</i>	<i>Graminae</i>	Makaleler

3.1.2 Bakteriler

Pseudomonas aeruginosa'nın patojenik suşları, Medical City'deki Bağdat Eğitim Hastanesi'nin mikrobiyoloji bölümünden temin edilmiş ve daha sonraki deneyler için 4°C'de Beyin Kalp İnfüzyonu (BHI) agar besiyerinde (HiMedia) muhafaza edilmiştir.

Kültür Medyası ve Kimyasallar; Bu çalışmanın gerçekleştirilmesi için gerekli olan besiyeri türleri, Beyin Kalp İnfüzyon sıvı besiyeri, Nutrient agar (biolife) ve Mueller-Hinton agar (HiMedia) olarak belirlenmiştir. Ekstraksiyon işleminde ayrıca etanol ve metanol kullanılmıştır.

Antibiyotikler; Kullanılan antibiyotikler: Vankomisin, Sefotaksim, Ofloksasin, Seftriakson Seftazidim, Tetrasiklinler, Amikasin, Kloramfenikol, Gentamisin, Ampisilin, Neomisin, Sefazolin, Sefalekssin, Nalidiksik asit, Ko-trimoksazol, Eritromisin, Pencillin G ve Rifampisin olarak sıralanmaktadır. Çizelge 3.2'de antibiyotiklerin gücünü gösterilmektedir.

Çizelge 3.2 Antibiyotik listesi

Antibiyotikler	Antibiyotik gücü	Tarafından üretildi
Vankomisin	30 µg	Himedia, Hint
Sefotaksim	30 µg	Biyoanaliz, Türkiye
Ofloksasin	5 µg	Himedia, Hint
Seftriakson	30 µg	Himedia, Hint
Seftazidim	30 µg	Himedia, Hint
Tetrasiklinler	30 µg	Biyoanaliz, Türkiye
Amikasin	30 µg	Biyoanaliz, Türkiye
Kloramfenikol	30 µg	Biyoanaliz, Türkiye
Gentamisin	10 µg	Biyoanaliz, Türkiye
Ampisilin	10 µg	Biyoanaliz, Türkiye
Eritromisin	15 µg	Liofilchem, İtalya
Rifampisin	30 µg	Liofilchem, İtalya
Neomisin	30 µg	Himedia, Hint
Ko-trimoksazol	25 µg	Liofilchem, İtalya
Pencillin G	10 IU	Liofilchem, İtalya
Sefazolin	30 µg	Liofilchem, İtalya
Seflexin	30 µg	Himedia, Hint
Nalidiksik asit	30 µg	Liofilchem, İtalya

3.2 Yöntemler

Reaktiflerin, solüsyonların ve kültür ortamının hazırlanma aşamaları aşağıda belirtilmiştir.

3.2.1 Reaktiflerin hazırlanması

Katalaz reaktifi; Bakteri izolatlarının katalaz üretme yeteneği karanlık bir şişede %3 hidrojen peroksit kullanılarak ölçülmüştür (Tadesse and Alem 2006).

Oksidaz reaktifi; Oksidaz üretebilen bakterileri tanımlamak için kullanılan reaktif, N,N,N', N'-Tetramethyl-p-phenylenediamine dihydrochloride'den 0,1 mg materyalin 10 mL distile su içinde karanlık bir yerde ve karanlık bir şişede çözülmesiyle yapılmıştır (Brown 2007).

Normal salin çözeltisi (%0,85); Bu çözelti, 0,85 gram NaCl'nin 100 mililitre damıtılmış suda çözülüp hacminin 100 mililitreye getirilmesiyle hazırlanmıştır. Daha sonra 121 santigrat derece ve 1,5 santigrat derecede 15 dakika boyunca otoklavlanmış, ihtiyaç duyulana kadar 4 santigrat derecede saklanmış ve gerekli nemlendirme prosedüründe kullanılmıştır (Brown 2007).

Gram boyama; Syrbio/Suriye firmasından, bakteri hücrelerinin mikroskopik incelenmesi için hazır Gram boyama solüsyonları temin edilmiştir ve bu solüsyonlar bakterilerin morfolojisini incelemek için kullanılmıştır.

3.2.2 Kültür ortamının hazırlanması

Hazır besiyerleri: Besiyerleri, ambalaj üzerinde belirtilen firma talimatlarına uygun olarak hazırlanmıştır. Daha sonra 121°C, 15 p/inç²'de 15 dakika otoklavlanmış ve sterilize etmek için 45°C'ye soğutulmuştur. Herhangi bir kontaminasyon olmadığından emin olmak için kültür ortamı steril Petri kaplarına aktarılmış ve 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Daha sonra kullanılıncaya kadar 4°C'de buzdolabında muhafaza edilmiştir.

Kanlı agar; Kanlı agarın hazırlanmasında şirketin talimatları takip edilmiştir. Bu besiyeri, kanlı agarın otoklavlanması, 45-50°C'ye soğutulması ve %5 insan kanı eklenmesiyle hazırlanmıştır. Daha sonra steril kaplara dökülmüş ve sertleşmeye bırakılmıştır (Forbes *et al.* 2016).

MacConkey agar besiyeri; Himedia Şirketi'nin talimatlarına uygun olarak yapılmıştır. Gram-negatif bakterilerin teşhisinin yanı sıra laktoz fermentasyon testinde de kullanılmıştır.

Et suyu agar; Şirket (Oxoid) tarafından işlenen yönergelere uygun olarak yapılmıştır. İzolatların geliştirilmesi ve korunması amaçlarına hizmet etmiştir.

Mueller-Hinton agar besiyeri; Ekipman (Rashmi) tarafından sağlanan yönergelere uygun olarak yapılmıştır. Bakteriyel antibiyotik duyarlılığının araştırılmasında kullanılmıştır.

Setrimid agar; 45,3 gram setramid agar 1000 mililitre distal suda çözülerek hazırlanmıştır. 10 mL gliserol eklendikten sonra karışım 121°C, 15 p/inç²'de 15 dakika otoklavlanmış ve sterilize edilmiştir. Daha sonra 45 santigrat dereceye kadar soğutulmuştur. Karışım, 15 mg nalidiksik asit ile iyice karıştırıldıktan sonra steril kaplara eklenmiş ve katılaşmaya bırakılmıştır. *Pseudomonas aeruginosa* izole edilmiş ve bu agar kullanılarak teşhis edilmiştir.

Beyin kalp infüzyon suyu; Ekipmanı sağlayan şirket (Rashmi) tarafından sağlanan yönergelere uygun olarak yapılmış ve *Pseudomonas aeruginosa* izolatlarını aktive etmek ve bakterileri birkaç hafta boyunca korumak için kullanılmıştır.

Pseudomonas agar; 48,4 g Pseudomonas agar 1000 mL distile suda çözüldükten sonra materyal otoklavda sterilize edilmiştir. Daha sonra 45°C'ye kadar soğumaya bırakılmıştır. 0,2 gram setrimid ve 0,15 gram sodyum nalidiksatin ($C_{12}H_{13}N_2NaO_4$) birleştirilmesiyle elde edilen ek CN çözeltilisi eklendikten sonra 5 mililitre distile suda çözülmüş ve 0,45 µm Millipore filtreler kullanılarak sterilize edilmiştir. Daha sonra ortam karıştırılarak homojenize edilmiş ve steril Petri kaplarına eklenmiştir (Forbes *et al.* 2016).

Voges-Proskauer reaktifi; 2 çözümden oluşur: (Forbes *et al.* 2016)

- Çözelti 1: 100 mililitre saf etil alkol ile beş gram α -naftol birleştirilerek hazırlanmıştır.
- Çözelti 2: Bu madde 90 mililitre damıtılmış suda çözülerek 40 gram potasyum hidroksit (KOH) çözeltisi elde edilmiştir. Asetoin üretimini ve glikoz fermantasyonunu tanımlamak için kullanılmıştır.

Üre agar ortamı; 95 mililitre damıtılmış suda 2,4 gram baz üre agar çözülerek oluşturulmuştur. Daha sonra otoklavlanmış ve 45°C'ye soğumaya bırakılmıştır. 0,45 µm Membran filtreler kullanılarak sterilize edildikten ve besiyeri çapraz olarak borulandıktan

sonra 5 mL %40 konsantrasyonlu üre çözeltisi eklenmiş ve 4°C'de muhafaza edilmiştir. Bu besiyeri üreaz üretimini incelemek için kullanılmıştır (Forbes *et al.* 2016).

King A besiyeri; Mortimer *et al.* (1981)'de tarif edildiği gibi 20 g Pepton, 10 mL Gliserol, 1,4 g MgCl₂, 10 g K₂SO₂ ve 15 g Agar-agar 1000 mL distile suda çözülerek hazırlanmıştır. Ardından, besiyerinin pH'ı 7,2'ye ayarlanmış, 1 dakika kaynatılmış ve otoklav ile sterilize edilmiştir. Daha sonra 45°C'ye soğutulmuş, steril Petri kaplarına dökülmüş, katılaşmaya bırakılmış ve deneysel çalışmada kullanılana kadar muhafaza edilmiştir.

King B besiyeri; Mortimer *et al.* (1981)'de tarif edildiği gibi 20 g Pepton, 10 mL Gliserol, 1,5 g K₂HPO₄, 1,5 g MgSO₄, 7H₂O ve 15 g Agar-agar 1000 mL distile suda çözülerek hazırlanmıştır. Daha sonra besiyerinin pH'ı 7,2'ye ayarlanmış, 1 dakika kaynatılmış ve otoklav ile sterilize edilmiştir. Daha sonra 45°C'ye soğutulmuş, steril Petri kaplarına dökülmüş, katılaşmaya bırakılmış ve deneysel çalışmada kullanılana kadar muhafaza edilmiştir.

İndol test ortamı; 20 g pepton ve 5 g sodyum klorür 20 mL distile suda (DS) çözüldükten sonra hacim DS ile 1 litreye tamamlanmış ve otoklavda sterilize edilmiştir. Daha sonra tüplere dağıtılarak 4°C'de muhafaza edilmiştir (Forbes *et al.* 2016). Besiyeri, *P. aeruginosa*'nın triptofanı indole dönüştürme yeteneğini belirlemek için kullanılmıştır.

VITEK 2 sistemi; Bu cihaz, ön biyokimyasal testlerle doğrulandıktan sonra *P. aeruginosa* izolatlarını teşhis etmek için kullanılmış ve BioMérieux, ABD tarafından tedarik edilmiştir.

3.2.3 Bakteriyel izolatların tanımlanması

3.2.3.1 Bakterilerin morfolojik incelenmesi

Kanlı agar, MacConkey agar ve Setrimid agar, *P. aeruginosa* kolonilerinin koloni formu, şekli, rengi, boyutu ve kokusunu içeren fenotiplerini incelemek için kullanılmıştır (Baron *et al.* 2007).

3.2.3.2 Bakterilerin mikroskopta incelenmesi

Örneklerdeki *P. aeruginosa* Gram boyası kullanılarak tanımlanmıştır. Steril bir lam üzerinde, izole edilen bakterinin tek bir kolonisi bir lup dolusu su ile birleştirilmiştir. Yayma daha sonra havayla kurutmak ve sabitlemek için bir Bunsen brülöründe hızlıca ısıtılmıştır. Daha sonra, yağa daldırma (100X) altında, kurutulmuş bakteri yayması Gram boyası ile boyanmıştır (Baron *et al.* 2007).

3.2.3.3 Bakteriyel tanımlama için biyokimyasal testler

İzole edilen *P. aeruginosa* bakterilerinin teşhisi için aşağıdaki biyokimyasal testler yapılmıştır:

Katalaz testi: Tek bir saf bakteri kolonisi, tahta bir çubuk veya steril bir halka kullanılarak önceden hazırlanmış birkaç damla katalaz reaktifi (%3 H₂O₂) ile iyice karıştırılmıştır. Katalaz aktivitesinin bir işareti olan oksijen kabarcıklarının salınması testin pozitif olduğunu gösterir (Prescott and Harley 2002).

Oksidaz testi: Oksidaz reaktifi önceden hazırlanmıştır. Steril bir tahta çubuk kullanılarak birkaç damla filtre kağıdına eklenmiş ve tek bir saf bakteri kolonisi ile iyice karıştırılmıştır. Mor renk 10 ila 30 saniye içinde ortaya çıktığında, test pozitif olarak kabul edilir çünkü bakterinin oksidaz enzimini üretebildiğini gösterir (Prescott and Harley 2002).

Hareketlilik testi: Önceden hazırlanmış hareketlilik test ortamı tüpleri, saf izole edilmiş bakteriler tüplerin ortasına saplandıktan sonra 37°C'de 24 saat boyunca inkübe edilmiştir. Bakteriler hareket edebiliyorsa, bıçaklanma çizgisinden dışarı doğru yayılacaktır (Prescott and Harley 2002).

IMVIC testi: Prescott and Harley (2002) tarafından açıklandığı gibi:

- İndol testi: Önceden hazırlanan peptonlu su, bir gece boyunca test edilen bakteri kültürü ile aşılanmış ve 37°C'de 24-48 saat inkübe edilmiştir. Daha sonra, önceden hazırlanmış olan 0,5 mL Kovac reaktifi doğrudan kültür tüpüne eklenmiş ve 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Kültür triptofanaz ürettiyorsa; indol halkası brothun üst kısmında görünecektir.
- MR-VP (Metil kırmızısı-Voges Proskauer) testleri: MR-VP broth izole edilmiş bir koloni ile aşılanmış ve 37°C'de 24 saat boyunca inkübe edilmiştir. Metil kırmızısı reaktifi eklenmiş ve iyice karıştırılmıştır; pozitif sonuç parlak kırmızı renkteydi çünkü bakteri glikozu fermente ediyor ve asit ürettiyordu, negatif sonuç ise sarı renkteydi.
- Simmons sitrat agarı: Simmons sitrat agar tüplerine izole edilmiş bir koloni streçleme yöntemiyle aşılanmış ve 37°C'de 24 saat boyunca inkübe edilmiştir. Pozitif sonuç, bakterilerin sitratı karbon ve enerji kaynağı olarak kullanma yeteneği nedeniyle rengin yeşilden maviye dönüşmesidir.
- 2-7-3-5 42 °C'de büyütme testi: Besin agarı plakaları izole edilen bakteriler tarafından kültürlenmiş ve 42°C'de 18-24 saat inkübe edilmiştir, olumlu sonuç bu sıcaklıkta büyümesidir (Prescott and Harley 2002).
- Sitrat kullanım testi: Karbon kaynağı olarak sitrat kullanımı tespit edilmiştir. 18-72 saat arasındaki her izolat için Simmons'ın sitrat agar besiyerinin eğimli yüzeyi bakteri bitkisi ile sulanmış ve 12°C sıcaklıkta 24 saat boyunca inkübe edilmiştir. Büyüme ve besiyerinin renginin yeşilden glokoma dönüşmesi pozitif bir testi gösterir (Prescott and Harley 2002).

3.2.4 VITEK-2 sistemi

İzolatlar hem geleneksel yöntemlerle hem de VITEK-2 sistemiyle *P. aeruginosa* olarak tanımlanmıştır (Nakasone *et al.* 2007). VITEK 2, bakteriyel tanımlama yapan tam otomatik bir sistemdir (Joyanes *et al.* 2001).

Test organizması (5-10 koloni), 0,50-0,62 McFarland inokulum yoğunluğu verecek şekilde bir pamuklu çubuk kullanılarak 3 mL tuzlu suda süspanse edilmiştir.

Test organizmasının bir süspansiyonu VITEK-2 sistemine manuel olarak yüklenmiş ve her test kartı otomatik olarak bir bakteri süspansiyonu ile doldurulmuş ve 6 saat boyunca inkübe edilmiştir. Bu süre boyunca kartlar her 15 dakikada bir her kuyucuktaki büyümeyi kontrol etmek için kinetik floresan ölçümü ile okunmuştur (Ling *et al.* 2001).

3.2.5 Bitki ekstraktının hazırlanması

3.2.5.1 Sulu ekstraksiyon

Sulu ekstraksiyon için, 20 g havayla kurutulmuş toz, 150 ml damıtılmış suya ilave edilmiş ve yavaş ateşte 2 saat kaynatılmıştır. Daha sonra 8 kat muslin kumaştan süzülerek 5000 g'de 10 dakika santrifüj edilmiş ve süpernatant atılmıştır. Bu prosedür iki kez tekrarlandıktan 6 saat sonra, süpernatant 2 saatlik aralıklarla toplanarak, bir araya getirilmiştir ve nihai hacmi orijinal hacmin dörtte biri haline getirecek şekilde konsantre edilmiştir (Parekh and Chanda 2006).

3.2.5.2 Metanol

Havada kurutulmuş 20 g bitki ekstraktı tozu, 150 mL %96 metanol içerisinde 8 saat Soxhlet cihazında alındıktan sonra ekstrakt süzülerek 45°C'deki fırında buharlaşması sağlanmıştır. Kurutulan ekstrakt Dimetil sülfoksit (DMSO) içinde çözülür ve daha sonra kullanılmak üzere buzdolabında saklanır (Thirumurugan *et al.* 2010).

3.2.5.3 Etanol

Bitki ekstraktlarını elde etmek için Jameela *et al.* (2011)'nin yöntemi kullanılmış ve 20 gram toprak üstü bitki parçası, çözücü olarak 150 mL %80 etanol ile Soxhlet ekipmanı kullanılarak 8 saat boyunca ayrı ayrı ekstrakte edilmiştir. Daha sonra ekstrakt süzölmüş ve etüvde (45 °C) buharlaşmaya bırakılmıştır. Kurutulan ekstrakt Dimetil sülfoksit (DMSO) içinde çözülmüş ve daha sonra kullanılmak üzere buzdolabında saklanmıştır.

3.2.6 Bitki ekstraktlarının standart konsantrasyonlarının hazırlanması

Her bir sulu ekstrakt ve önceden hazırlanmış alkolden (her biri ayrı ayrı) bir g alınarak sulu ekstrakt, 5 gram steril damıtılmış su içerisinde eritilirken, alkollü ekstraktlar, 5 mL DiMetil Sülfoksit (DMSO) içerisinde çözündürölmüştür. Böylece sulu ve alkollü ekstraktların standart konsantrasyonu olarak 200 mg/mL stok elde edilmiştir. Sulu ekstraktlar 0,22 µm membran filtreler kullanılarak sterilize edilmiş ve alkollü ekstraktlar 62°C sıcaklıkta 15 dakika süreyle pastörize edilmiştir (Almola 2010).

3.2.7 İnokulum hazırlanması

Jayaraman *et al.* (2008)'a göre, stok kültürler bakteriler için nutrient agar plakaları üzerinde 4°C'de muhafaza edilmiştir. Deneyler için aktif kültürler, 5 mL Beyin Kalp İnfüzyon Suyuna bir loopful kültür aktararak ve 37°C'de 24 saat inkübe edilerek hazırlanmıştır.

3.2.8 Antibiyotik aktivite analizi

Antibiyotik diskleri, test mikroorganizmaları ile aşılınmış bir Mueller-Hinton agarının yüzeyine yerleştirilmiştir. Kuluçka sırasında antibiyotikler disklerden dışarı doğru yayılarak bir konsantrasyon gradyanı oluşturur. 18-24 saat sonra inhibisyon zon çapı ölçölür ve bakterilerin antimikrobiyal ilaçlara karşı Hassas (S), Orta (I) veya Dirençli (R) olup olmadığını belirlemek için referans tabloları kullanılır.

3.2.9 Bitki özleri aktivite analizi

3.2.9.1 Kâğıt disk difüzyon testi

Test mikroorganizmalarının bir süspansiyonu Muller Hinton Agar (MHA) ortamına yayılır. Filtre kâğıdı diskleri (5 mm çapında), test edilen mikroorganizmalarla aşılana ve ardından 20 µL bitki ekstraktı (konsantrasyon 200 mg/mL) ile empenye edilen agar plakaları üzerine yerleştirilir. Plakalar daha sonra 37°C'de 24 saat inkübe edilir. İnkübasyondan sonra büyüme inhibisyon bölgesi, inhibisyon bölgesinin çapının mm cinsinden ölçülmesiyle belirlenir (Kumar *et al.* 2009)

3.2.9.2 Kuyu difüzyon yöntemi deneyi

Al-Salt (2012)'e göre, bir aşı süspansiyonu, bakteriler için katılaşıp 20 mL Mueller-Hinton Agar'a (MHA) eşit şekilde sürülmüştür ve aşının 5 dakika kurmasına izin verilmiştir. Ekilen agarda Cam Pastör pipetleri kullanılarak 6 mm çapında delikler açılır. Tohumlanan besiyerindeki her kuyucuğa her bitkinin ham ekstraktından 20 µL (200 mg/mL) eklenir ve uygun difüzyon için 1 saat boyunca tezgâhta bekletilir ve daha sonra 37°C'de 24 saat inkübe edilir. Ortaya çıkan inhibisyon bölgeleri milimetre (mm) cinsinden ölçülmüştür.

3.2.9.3 Mikrodilüsyon yöntemi ile bitki ekstraktının mik'inin belirlenmesi

96 oyuklu plakalar, her bir oyuga bakteriler için 50 µL Mueller-Hinton besiyerinin dağıtılmasıyla hazırlanır. Test edilen ekstraktların stok çözeltisinden (200 mg/mL konsantrasyon) 50 µL, plakanın ilk sırasına eklenir. Daha sonra mikropipet kullanılarak iki kat seri seyreltmeler yapılır. Elde edilen konsantrasyon aralığı 100 ile 0,1953 mg/mL arasındadır. Pozitif kontrol hariç her kuyucuğa 10 µL inokula eklenir (inokula yaklaşık 1,5X10⁸ CFU/mL içerecek şekilde ayarlanır) (Çizelge 3.3). Pozitif kontrol olarak ortamlı bitki ekstraktı, negatif kontrol olarak ortamlı inokulum kullanılır. Test plakaları 37 °C'de 18 saat inkübe edilir. 18 saat sonra kuyucuklara 50 µL %0,01'lik 2, 3, 5-trifenil

tetrazolyum klorür (TTC) eklenir ve plaka bir saat daha inkübe edilir. Renksiz tetrazolyum tuzu biyolojik aktif bakteriler tarafından kırmızı renkli ürüne indirgendiğinden büyümenin inhibisyonu, TTC ile inkübasyondan sonra kuyucuktaki çözeltilinin berrak kalmasıyla tespit edilebilir. MİK, renk değişimi göstermeyen (berrak) en düşük numune konsantrasyonu olarak tanımlanır ve büyümenin tam inhibisyonu belirlenir (Abu-Shanab *et al.* 2004, Radojevic *et al.* 2012).

Çizelge 3.3 McFarland nefelometre standartları

McFarland Standart No.	0,5	1	2	3	4
%1,0 Baryum klorür (mL)	0,05	0,1	0,2	0,3	0,4
%1,0 Sülfürik asit (mL)	9,95	9,9	9,8	9,7	9,6
Yaklaşık hücre yoğunluğu (1×10^8 CFU/mL)	1,5	3,0	6,0	9,0	12,0
% Geçirgenlik*	74,3	55,6	35,6	26,4	21,5
Absorbans*	0,669	0,582	0,451	0,257	0,132

*600 nm dalga boyunda

3.2.10 Bitki ekstraktı ve antibiyotikler arasındaki etkileşim

Bakteri kültürleri BHI besiyerinde 37°C'de büyütülür. 4 saatlik büyümeden sonra her bakteri Mueller-Hinton agar plakalarının yüzeyine aşılanır. Daha sonra, antibiyotik diski (çap=5 mm) aşılanan her plakanın yüzeyine yerleştirilir ve ardından bitki özütü ve antibiyotikler arasındaki sinerji etkisini belirlemek için 20 µL bitki özütü (200 mg/mL konsantrasyonda) eklenir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1 *P. aeruginosa*'nın İzolasyonu ve Teşhisi

Çalışma için Şubat ayından Nisan 2023 sonuna kadar 20 ila 70 yaş aralığındaki kadın ve erkeklerden toplam 300 yanık ve yara örneği toplanmıştır. Bu örnekler Bağdat Eğitim Hastanesi ve Şehir merkezindeki bir yanık hastanesinden toplanmıştır. Örneklerin kesin tanısının ardından Çizelge 4.1'de gösterildiği gibi toplam 100 (%33,33) *Pseudomonas aeruginosa* izolatı elde edilmiştir.

Çizelge 4.1 İzolasyon kaynağına göre *P. aeruginosa* izolatlarının sayısı ve yüzdeleri

İzolatin kaynağı	Örnek sayısı	<i>P. aeruginosa</i> izolatlarının sayısı	Yüzde (%)
Yara	118	34	28,81
Yanık	182	66	36,26
Toplam	300	100	33,33

Bakteri izolatlarının hem seçici hem de zenginleştirilmiş kültür ortamındaki morfolojisi tanı koymak için kullanılmıştır. MacConkey agardaki bakteri kolonileri laktozu fermente etmedikleri için soluk sarı renkte görünmüşlerdir, bu da daha önceki çalışmaların bulgularıyla tutarlıdır (Forbes *et al.* 2016). *P. aeruginosa* kolonileri, üzüm benzeri bir koku ve pigment üretimine dayalı olarak et suyu agar üzerinde büyürken tespit edilmiştir. Bakteri kolonileri kanlı agar besiyerinde beta-hemoliz üreterek hemolizin üretimini göstermiştir (Selim *et al.* 2015). Setrimid agardaki bakteri kolonileri yeşilimsi sarı renkte görünmüştür çünkü bu kolonilerin çoğu suda çözünebilen yeşilimsi mavi bir boya olan pyocyanin ve ultraviyole (UV) ışığa maruz kaldığında parlayan yeşilimsi sarı bir pigment olan pirosiyanin boyalarını üretmektedir (Sudhakar and Karpagam 2011). Sonuçlar (Tang *et al.* 2006, Al-Dahmoshi 2013) ile tutarlıdır. Setrimid agar, *P. aeruginosa*'nın deterjan görevi gören ve diğer organizmaların çoğunun büyümesini engelleyen (%0,03) Setrimid varlığında büyüme yeteneğini belirlemek için kullanılan seçici ve diferansiyel bir besiyeridir. Ayrıca, King B agarda büyütülen tüm izolatlar, King A agarda büyütüldüklerinde bakteri kolonileri tarafından üretilen mavi ve yeşil bir pigment olan piyosiyanin üretmemiştir.

Mikroskopik incelemede Gram-negatif basiller görülmüştür. Biyokimyasal testlerde tüm izolatlar, bakterinin hidrojen peroksiti su ve oksijen gazına parçalama yeteneğini açıklayan Katalaz testi için pozitif sonuçlar; bakterinin oksidaz sitokromuna sahip olduğunu kanıtlayan Oksidaz testi için pozitif sonuçlar göstermiştir. IMViC biyokimyasal testleri, İndol testleri için negatif (-), Metil kırmızısı için negatif (-), Voges-Proskauer testi için negatif (-) ve Sitrat tüketimi için pozitif (+) sonuçlar vermiştir. Kligler's Iron Agar (KIA) alkali etkileşime (glukoz ve laktozu fermente edemez) ve H₂S üretimine (-) sahiptir. 37°C ve 42°C' sıcaklıkta büyüme ve üreaz testi negatif sonuç verirken, bakterilerin kamçılı olması nedeniyle hareketlilik testi pozitif sonuç vermiştir. Bu sonuçlar (Tadesse and Alem 2006, Todar 2004) ile uyumludur.

Aşırı patolojisi ve yaygın dağılımı nedeniyle *P. aeruginosa*, Pseudomonas cinsinin en önemli türlerinden biridir. Yoğun bakım ünitelerinde (YBÜ), özellikle de yanık bakım merkezlerindeki hastalar arasında enfeksiyonun birincil nedenidir. Fırsatçı bir patojendir (Patil *et al.* 2015). Araştırmalar, özellikle gelişmekte olan ülkelerde sepsis ile ilişkili yanıkların ölümlerin %75'ini oluşturduğunu göstermektedir.

Çok sayıda ulusal ve uluslararası çalışma, *P. aeruginosa* bakterisinin yanık yaralanmalarından ve yaralardan en çok izole edilen bakteri olduğunu gösteren mevcut araştırmayla uyumludur. Al-Khalisi (2014) tarafından Bağdat hastanelerinde gerçekleştirilen çalışmada izolasyon oranı %76'dır ve sonuçlar 2001 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde yapılan %51,2'lik izolasyon oranına yakın sonuçlar elde edilmesine rağmen, önceki yerel ve uluslararası çalışmalar *P. aeruginosa*'nın klinik örneklerden izolasyon oranının 2012-2015 yılları arasında değiştiğini ve bu oranların %76-%79 arasında değiştiğini göstermiştir (Sheet *et al.* 2012). Numune kaynağı, numune miktarı, lokasyon, sterilizasyon tekniği, sterilizasyon sayısı ve antibiyotiklerin sık ve gelişigüzel kullanımındaki farklılıklar bakteriyel direnç gelişimine önemli ölçüde katkıda bulunmuştur. Bu faktörler izolasyon oranlarındaki farklılıkları açıklamaktadır.

Hastanın bakteri gelişmeden önce hastaneye gelip gelmediği veya önceden antibiyotik alıp almadığı gibi alınan tıbbi bakımın derecesi, izolasyon oranlarındaki farklılığı açıklayabilir. Öte yandan, hastanede kalış süresinin uzaması, özellikle yanık hastalarında

daha yüksek bir izolasyon oranına yol açabilir. Yoğunluk, hastaneden kapılan bir enfeksiyon nedeniyle sadece 72 saat içinde %20'ye çıkabilir. Hastane enfeksiyonu ya doğrudan hasta temasından ya da dolaylı olarak ameliyat sırasında bu bakterilerin yayılmasına yardımcı olan kusurlu alet ve araçların kullanılmasından kaynaklanır (Japoni *et al.* 2014).

4.2 Antibiyotik Aktivitesinin Değerlendirilmesi

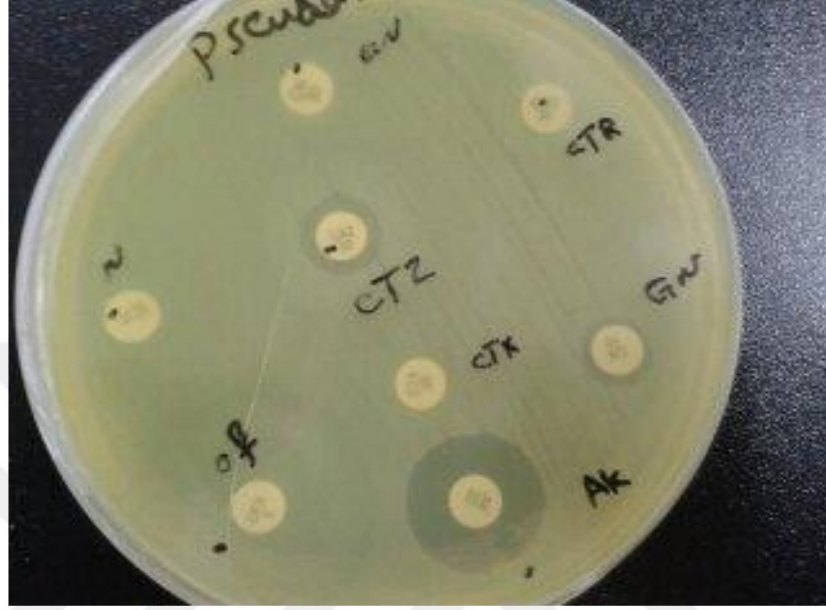
Pseudomonas aeruginosa'ya karşı;

Amikasin, Seftazidim ve Gentamisin *P. aeruginosa*'ya karşı en güçlü aktiviteyi gösterirken, diğer antibiyotikler Çizelge 4.2 ve Şekil 4.1'de gösterildiği gibi hiçbir etkiye sahip değildir.

Çizelge 4.2 *P. aeruginosa*'ya karşı antibiyotik aktivitesinin değerlendirilmesi

Antibiyotikler	Dirençli (%)	Hassas (%)
Vankomisin	70 (70)	30 (30)
Sefotaksim	20 (20)	80 (80)
Ofloksasin	20 (20)	80 (80)
Seftriakson	72 (72)	28 (28)
Seftazidim	72 (72)	28 (28)
Tetrasiklinler	80 (80)	20 (20)
Amikasin	89 (89)	11 (11)
Kloramfenikol	80 (80)	20 (20)
Gentamisin	81 (81)	19 (19)
Ampisilin	100 (100)	0 (0)
Eritromisin	100 (100)	0 (0)
Rifampisin	40 (40)	60 (60)
Neomisin	100 (100)	0 (0)
Ko-trimoksazol	100 (100)	0 (0)
Penisilin G	40 (40)	60 (60)
Sefazolin	76 (76)	24 (24)
Sefalekssin	100 (100)	0 (0)
Nalidiksik asit	80 (80)	20 (20)

Çizelge 4.2 *Pseudomonas aeruginosa* bakterisinin antibiyotiklere karşı direncini 100 izolat için göstermektedir ve 14 izolat antibiyotiklere karşı en dirençli olarak rastgele seçilmiştir.



Şekil 4.1 Bazı antibiyotiklerin *P. aeruginosa*'ya karşı inhibisyon bölgesi (mm)

VA: Vankomisin; CTX: Sefotaksim; OF: Ofloksasin; TO: Seftriakson; CTZ: Ceftazidime
TE: Tetrasiklin; AK: Amikasin; C: Kloramfenikol, E: Eritromisin; AMP: Ampisilin; N:
Neomisin; CN: Seflexin

Bitkilerde, şifalı bitkilerde ve baharatlarda bulunan birçok doğal bileşiğin, antimikrobiyal işlevlere sahip olduğu ve patojenlere karşı antimikrobiyal madde kaynağı olarak hizmet ettiği gösterilmiştir (Deans and Ritchie 1987, Kumar *et al.* 2006). Bakteriyel enfeksiyon hastalıkları dünya çapında önemli bir morbidite ve mortalite nedenidir. Bu nedenle bakteriyel enfeksiyonların tedavisi için yeni antimikrobiyal ajanların geliştirilmesine olan ilgi giderek artmaktadır. Bu çalışmanın temel amacı, bitki ekstraktının patojenik bakterilerin ve antibiyotik ilaçların büyümesini engelleme yeteneğini değerlendirmek ve antibiyotik ilaçların aktivitesini artırma yeteneklerini belirlemektir. İnhibisyon bölgesi 5 mm'den büyük olduğunda antimikrobiyal aktivite var olarak kaydedilmiştir.

4.3 Bitki Ekstraktlarının Biyoaktivitesinin Değerlendirilmesi

Pseudomonas aeruginosa'ya karşı;

4.3.1 Kuyu difüzyon yöntemi

Çizelge 4.3 bitki ekstraktlarının *Pseudomonas aeruginosa* bakterisi üzerinde en dirençli üç izolat olan 33 numaralı izolat, 59 numaralı izolat ve 77 numaralı izolat için antimikrobiyal aktivitesini göstermektedir. Antibiyotiklere karşı direnç sonuçlarını yaklaşık olarak belirlemek için, kuyu difüzyon yöntemi ve disk difüzyon yöntemi kullanılarak sadece bir izolat seçilmiştir.

Antibakteriyel aktivite sonuçları, ekstrakte edilen sekiz bitkiden sadece ikisinin *P. aeruginosa*'ya karşı antibakteriyel aktivite gösterdiğini ortaya koymuştur. *Ficus sycomorus* kabuğunun metanol ve etanol ekstraktlarının *P. aeruginosa*'ya karşı sırasıyla 12 ve 11 mm inhibisyon zonu ve *Eucalyptus camaldulensis* yapraklarının sırasıyla 11 mm ve 10 mm inhibisyon zonu aktivitesi kaydedilmiştir. *Eucalyptus camaldulensis*'in sadece sulu ekstraktları *P. aeruginosa*'ya karşı aktivite göstermiştir.

4.3.2 Disk difüzyon yöntemi

P. aeruginosa'ya karşı en büyük inhibisyon zonu sırasıyla Çizelge 4.3, Şekil 4.2, Şekil 4.3 ve Şekil 4.4'te gösterildiği gibi *Ficus sycomorus* kabuğu ve *Eucalyptus camaldulensis*'in metanolik ekstraktlarında (10 mm) gözlenmiştir.

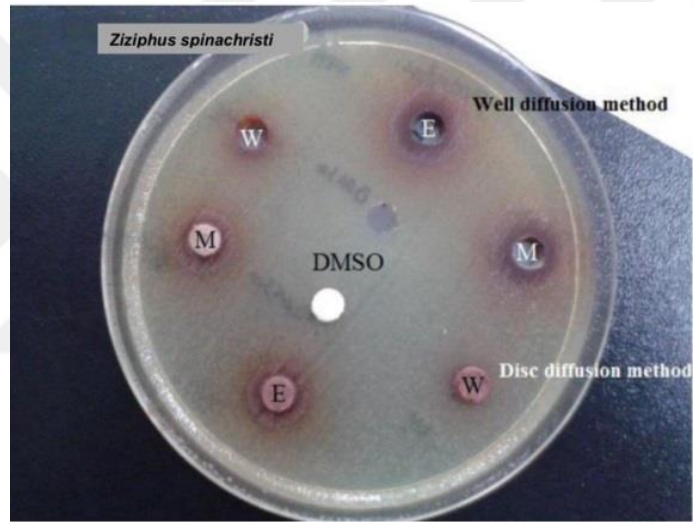
Ficus sycomorus kabuğunun etanolik ekstresi *P. aeruginosa*'ya (10 mm) karşı en yüksek aktiviteyi göstermiş, bunu her biri için 8 mm inhibisyon zonu ile *Artemisia herba-alba* ve *Eucalyptus camaldulensis* izlemiştir. Ancak *Eucalyptus camaldulensis* ve *Artemisia herba-alba*'nın sulu ekstraktı *P. aeruginosa*'ya karşı sırasıyla 8 ve 7 mm inhibisyon zonu ile zayıf antibakteriyel aktiviteye sahiptir. *Nerium oleander*, *Withania somnifera*, *Lantana*

camara ve *Allium sativum* özütleri ise ne kuyu disk difüzyon yöntemi ne de disk difüzyon yöntemi ile *P. aeruginosa*'ya karşı antimikrobiyal aktivite göstermemiştir.

Çizelge 4.3 Bitki ekstraktlarının *Pseudomonas aeruginosa* üzerinde kuyu difüzyon yöntemi ve disk difüzyon yöntemi ile antimikrobiyal aktivitesi

Bitki özütü	AAA*	Kuyu difüzyon yöntemi				Disk difüzyon yöntemi			
		M	E	W	Kontrol	M	E	W	Kontrol
<i>Ziziphus spina-christi</i>		12	11	-	-	10	10	-	-
<i>Citrus aurantifolia</i>		11	10	10	-	10	8	8	-
<i>Cymbopogon citratus</i>		-	-	-	-	-	8	7	-

*Antimikrobiyal Aktivite Analizleri - o Kontrol=DMSO - Ekstraksiyon yöntemi: M=metanol, E=etanol, W=su, (-) Engelleme yok



Şekil 4.2 *Ziziphus spina-christi* (kabuk) ekstraktının *P. aeruginosa*'ya karşı etkisi



Şekil 4.3 *Citrus aurantifolia* ekstraktının *P. aeruginosa*'ya karşı etkisi



Şekil 4.4 *Cymbopogon citratus* ekstraktının *P. aeruginosa*'ya karşı etkisi

Test edilen bitki ekstraktlarının çoğu *P. aeruginosa*'ya karşı antibakteriyel aktivite göstermiştir, bu da bakteriyel büyümeyi engelleyen bitki aktif bileşenlerinin antibakteriyel aktivitesini yansıtabilir.

Mevcut deneylerde, *P. aeruginosa*'ya karşı aktivite gösteren bitki ekstraktlarının aktivitesini değerlendirmek için disk difüzyon yöntemi ve kuyu difüzyon yöntemi kullanılmıştır, bu yöntemlerin her ikisi de karşılaştırılabilir sonuçlara sahiptir.

Ayrıca, alkollü ekstraktın sulu ekstrakta göre inhibisyonda daha büyük etkiye sahip olduğu görülmüştür; bu durum, sulu ekstraktlarda kullanılan distile su ile karşılaştırıldığında, alkolün bitkiden elde edilen aktif bileşikler için en iyi çözücü olmasından kaynaklanıyor olabilir. Bir bitki özütünün antibakteriyel aktivitesindeki farklılık, kullanılan bitkinin yaşına, bitki materyallerinin tazeliğine, fiziksel faktörlere (sıcaklık, ışık su), bitki materyallerinin hasat zamanına ve ekstraksiyon işleminden önce kullanılan kurutma yöntemine bağlanabilir.

4.4 Mikrodilüsyon Yöntemi Kullanılarak Tek Başına Bitki Ekstraktlarının Minimum İnhibitör Konsantrasyonu

Çizelge 4.4, en dirençli üç izolat olan 33 numaralı izolat, 59 numaralı izolat ve 77 numaralı izolat için *P. aeruginosa*'ya karşı bitki ekstraktlarının minimum inhibitör konsantrasyonunu (MİK) göstermektedir. Antibiyotiklere karşı direnç sonuçlarını yaklaşık olarak belirlemek için sadece bir izolat seçilmiştir.

Mikrodilüsyon yöntemi;

Minimum inhibitör konsantrasyon (MIC) sonuçları, test edilen tüm bitki ekstraktlarının *P. aeruginosa*'ya karşı 0,19 ile 100 mg/mL arasında değişen MIC değerleri ile antibakteriyel aktivite gösterdiğini ortaya koymuştur. Test edilen ekstraktlar, Çizelge 4.4'de gösterildiği gibi test edilen türlere bağlı olarak farklı seviyelerde antimikrobiyal aktivite göstermiştir.

Pseudomonas aeruginosa'ya karşı;

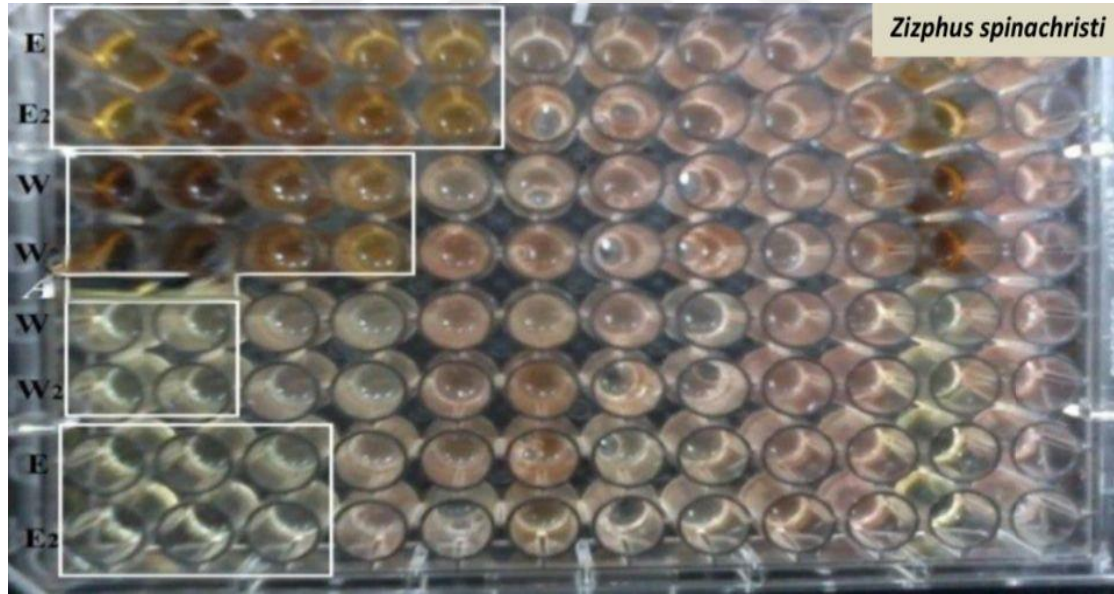
P. aeruginosa'ya karşı *Cymbopogon citratus*'un (Yapraklar ve kabuk) her biri için metanol ekstraktının MİK değeri 50 mg/mL ve *Ziziphus spina-christi* için 25 mg/mL iken *Citrus aurantifolia* için 12,5 mg/mL'dir.

Etanol ekstraktının *Ziziphus spina-christi* (Yapraklar) için MIC değeri 50 mg/mL iken *Cymbopogon citratus* için 25 mg/mL'dir. Ancak *Citrus aurantifolia* için bu değer 6,25 mg/mL olarak belirlenmiştir.

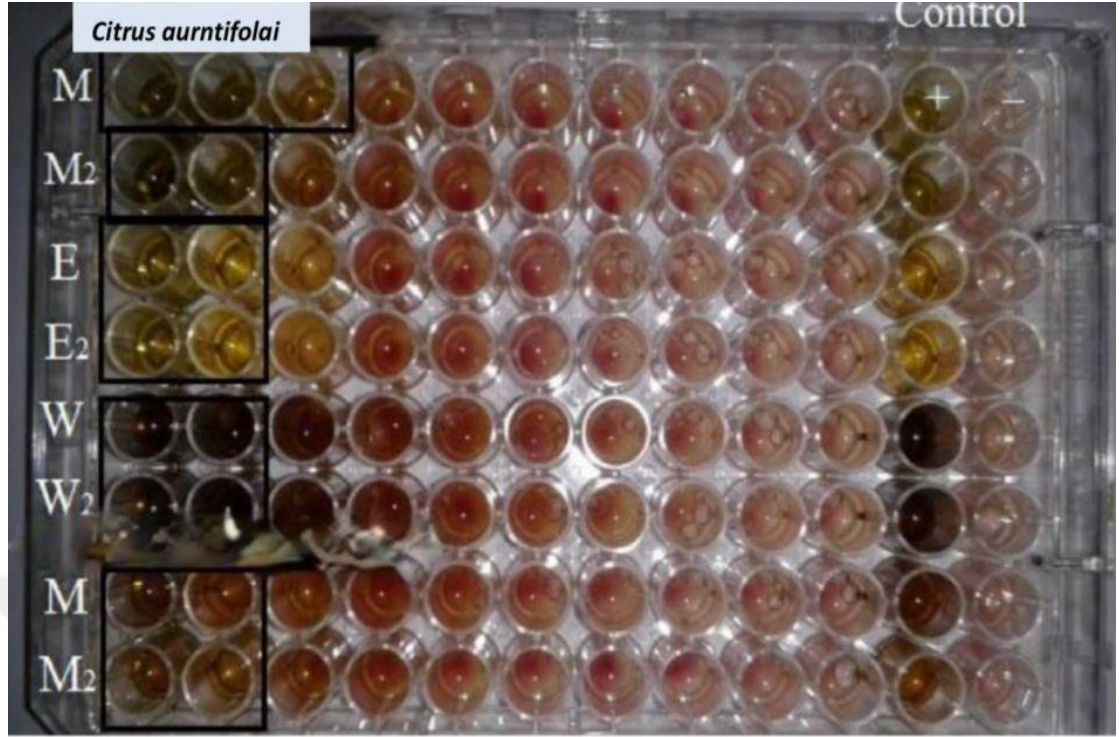
Ziziphus spina-christi ve *Cymbopogon citratus*'un her biri için sulu ekstraktın MİK değeri 50 mg/mL'dir. *Citrus aurantifolia* için ise 12,5 mg/mL'dir (Şekil 4.5) (Şekil 4.6).

Çizelge 4.4 Bitki ekstraktlarının *P. aeruginosa*'ya karşı minimum inhibitör konsantrasyonları

Çöz.	Bitki	MİK (mg/mL)		
		<i>Ziziphus spina-christi</i>	<i>Citrus aurantifolia</i>	<i>Cymbopogon citratus</i>
M		25	12,5	50
E		50	6,25	25
W		50	12,5	50



Şekil 4.5 *Ziziphus spina-christi* ekstraktının *P. aeruginosa*'ya karşı MİK değeri



Şekil 4.6 *Citrus aurantifolia* ve *Cymbopogon citratus* ekstraktının *P. aeruginosa*'ya karşı MİK değeri

Bakterilerin üremesini engelleyen ve MİK değerlendirmesinde etkili bulunan en düşük bitki ekstraktı konsantrasyonunu belirlemek için mikrodilüsyon yöntemi kullanılmıştır. Elde edilen MİK değerleri *Citrus aurantifolia*'nin etanol ekstraktının *P. aeruginosa*'ya karşı en güçlü etkiye sahip olduğunu göstermiştir. *Citrus aurantifolia*'nin MİK değeri *P. aeruginosa*'ya karşı en düşük (6,25 mg/mL) bulunmuştur. *Citrus aurantifolia*'nin metanol ekstraktları *P. aeruginosa*'ya karşı en iyi antibakteriyel aktiviteyi vermiştir. Bu aktivite, tanenler, saponinler, alkaloidler ve flavon aglikonlar gibi aktif bileşenlerin zengin bitki içeriğine atfedilebilir. Özellikle *P. aeruginosa*'ya karşı *Ziziphus spina-christi* ve *Cymbopogon citratus* ekstraktlarına yönelik MİK'nin, kullanılan tüm solventlerle (50 mg/mL) çok az etki sergileyerek önemli ölçüde aktif olduğu bulunmuştur ve bu, bakterilerin yüksek konsantrasyonda etkisine olan ihtiyacı doğrulamaktadır.

4.5 Sinerjistik Etkinin Değerlendirilmesi

4.5.1 Bitki ekstraktı ve antibiyotiklerin sinerjistik etkisi

Mevcut çalışmada, (yani *Ziziphus spina-christi*, *Citrus aurntifolai* ve *Cymbopogoh citrus*) ekstraktları ile antimikrobiyal ilaçlar arasındaki in vitro sinerjizmin değerlendirilmesi, disk difüzyon yöntemi kullanılarak *P. aeruginosa*'ya karşı kullanılmıştır. Bu çalışmada, bitki ekstraktlarının ekstraksiyon yöntemine bağlı olarak mikroorganizma büyümesini engelleme konusunda farklı sinerjistik yeteneklere sahip olduğu görülmüştür. Bitki antimikrobiallerinin, tek başına herhangi bir antimikrobiyal özelliğe sahip olmasalar da, standart ilaçlarla eş zamanlı olarak alındıklarında ilacın etkisini arttırdıkları açısından sinerjistik arttırıcılar olduğu bulunmuştur (Chanda and Rakholiya 2011). Bakteriyel direncin üstesinden gelmek için etkili yaklaşımlardan birinin, doğal ve sentezlenmiş ajanlardan antibakteriyel malzemelerin sinerjistik etkisi yoluyla antibiyotik aktivitesinin restorasyonu olduğu bilinmektedir. Bilinen antibiyotikler ve biyoaktif bitki ekstraktları arasındaki ilaç sinerjisi yeni bir kavramdır ve faydalı (sinerjistik veya katkı etkileşimi) veya zararlı olabilir (antagonistik veya toksik sonuç) (Adwan *et al.* 2009). Bitki ekstraktlarının antimikrobiyal özellikleri hakkında çok sayıda literatür bulunmasına rağmen, bitkiden elde edilen kimyasalların hiçbiri antibiyotik olarak klinik kullanımda başarılı bir şekilde kullanılmamıştır.

4.5.2 *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı metanolik ekstraksiyon ve antibiyotikler

Çizelge 4.5, Çizelge 4.6 ve Çizelge 4.7 en dirençli üç izolat olan 33 numaralı izolat, 59 numaralı izolat ve 77 numaralı izolat için metanol ekstraktı ile test edilen antibiyotikler arasındaki sinerjistik etkiyi göstermektedir.

Çizelge 4.5 Metanol ekstraktı ve test edilen antibiyotikler arasında sinerjistik etkiyi göstermektedir. Antibiyotikler ve *Cymbopogoh citrus*'un yaprak ekstraktları arasında, seftriakson ve sefotaksim dışında *P. aeruginosa* üzerinde test edilen tüm antibiyotiklerle sinerjistik antibakteriyel aktivite belirlenmiştir. *Ziziphus spina-christi* ekstraktı amikasin

ve seftazidimin aktivitesini arttırmıştır (sırasıyla 20 ve 13 mm). *Citrus aurantifolia*, seftriakson dışında test edilen tüm antibiyotiklerle sinerjistik ve antagonistik aktivite göstermiştir

Çizelge 4.5 33 numaralı izolat için antibakteriyel ilaçların metanolik bitki ekstraktları ile *P. aeruginosa* üzerindeki sinerjistik etkileri

Antibiyotikler	Antibiyotik sayısı	<i>Ziziphus spinachristi</i>		<i>Citrus aurantifolia</i>		<i>Cymbopogon citrus</i>	
		Ex*	Ex+Anti	Ex*	Ex+Anti	Ex*	Ex+Anti
CTX	0		-		13		-
OF	0		-		10		10
CTR	0		-		-		-
CTZ	9		13		12		13
AK	17		20		22		25
GN	8		-		15		12
N	0		-		10		8
CN	0		-		8		10

*Ex=Ekstrakt sayısı, Ex+Anti=Antibiyotikli ekstrakt, (-) Sinerji yok; CTX: Sefotaksim; OF: Ofloksasin; TO: Seftriakson; CTZ: Seftazidim; AK: Amikasin; GN: Gentamisin; N: Neomisin; CN: Seflexin (Sefalekssin)

Çizelge 4.6 59 numaralı izolat için antibakteriyel ilaçların metanolik bitki ekstraktları ile *P. aeruginosa* üzerindeki sinerjistik etkileri

Antibiyotikler	Antibiyotik sayısı	<i>Ziziphus spinachristi</i>		<i>Citrus aurantifolia</i>		<i>Cymbopogon citrus</i>	
		Ex*	Ex+Anti	Ex*	Ex+Anti	Ex*	Ex+Anti
CTX	0		-		15		-
OF	0		-		12		11
CTR	0		-		-		-
CTZ	8		15		14		12
AK	16		22		24		23
GN	7		-		17		10
N	0		-		12		8
CN	0		-		10		11

Çizelge 4.7 77 numaralı izolat için antibakteriyel ilaçların metanolik bitki ekstraktları ile *P. aeruginosa* üzerindeki sinerjistik etkileri

Antibiyotikler	Antibiyotik sayısı	<i>Ziziphus spinachristi</i>		<i>Citrus aurantifolia</i>		<i>Cymbopogon citrus</i>	
		Ex*	Ex+Anti	Ex*	Ex+Anti	Ex*	Ex+Anti
CTX	0		-		12		-
OF	0		-		9		10
CTR	0		-		-		-
CTZ	10		14		10		14
AK	18		24		23		22
GN	9		-		14		11
N	0		-		9		10
CN	0		-		10		8

4.5.3 Etanol ekstraksiyonu ve antibiyotikler

Çizelge 4.8, Çizelge 4.9 ve Çizelge 4.10, en dirençli üç izolat olan izolat No. 33, izolat No. 59 ve izolat No. 77 için etanolik ekstrakt ile test edilen antibiyotikler arasındaki sinerjistik etkiyi göstermektedir.

Bitkilerin etanolik ekstraktının farklı antibiyotiklerle bakterilere karşı sinerjistik aktivitesi Çizelge 4.8'de gösterilmektedir. *Cymbopogon citrus* ekstraktının test edilen tüm antibiyotiklerle sinerjistik etki gösterdiği, ancak *Ziziphus spinachristi* ekstraktının test edilen çoğu antibiyotikle antagonistik aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. Ekstraktla birleştirildiğinde yalnızca amikasin ve seftazidim sinerjistik aktivite göstermiştir. *Citrus aurantifolia* ekstraktı, seftriakson dışında test edilen tüm antibiyotiklerle sinerjistik ve antagonistik aktivite göstermiştir.

Çizelge 4.8 33 numaralı izolat için antibakteriyel ilaçların etanolik bitki ekstraktları ile *P. aeruginosa* üzerindeki sinerjistik etkileri

Antibiyotikler	Antibiyotik sayısı	<i>Ziziphus spinachristi</i>		<i>Citrus aurantifolia</i>		<i>Cymbopogon citrus</i>	
		Ex*	Ex+Anti	Ex*	Ex*	Ex+Anti	Ex*
CTX	0		-		12		8
OF	0		-		10		13
CTR	0		-		-		7
CTZ	9		14		13		13
AK	17		20		23		25
GN	8		-		9		10
N	0		-		10		9
CN	0		-		10		13

*Ex=Ekstrakt sayısı, Ex+Anti=Antibiyotikli ekstrakt, (-) Sinerji yok; CTX: Sefotaksim; OF: Ofloksasin; TO: Seftriakson; CTZ: Seftazidim; AK: Amikasin; GN: Gentamisin; N: Neomisin; CN: Seflexin (Sefaleksim)

xxk

Çizelge 4.9 59 numaralı izolat için antibakteriyel ilaçların etanolik bitki ekstraktları ile *P. aeruginosa* üzerindeki sinerjistik etkileri

Antibiyotikler	Antibiyotik sayısı	<i>Ziziphus spinachristi</i>		<i>Citrus aurantifolia</i>		<i>Cymbopogon citrus</i>	
		Ex*	Ex+Anti	Ex*	Ex+Anti	Ex*	Ex+Anti
CTX	0		-		12		8
OF	0		-		10		13
CTR	0		-		-		7
CTZ	7		12		15		14
AK	15		18		25		24
GN	10		-		10		10
N	0		-		9		8
CN	0		-		10		13

Çizelge 4.10 77 numaralı izolat için antibakteriyel ilaçların etanolik bitki ekstraktları ile *P. aeruginosa* üzerindeki sinerjistik etkileri

Antibiyotikler	Antibiyotik sayısı	<i>Ziziphus spinachristi</i>		<i>Citrus aurantifolia</i>		<i>Cymbopogon citrus</i>	
		Ex*	Ex+Anti	Ex*	Ex+Anti	Ex*	Ex*
CTX	0		-		14		8
OF	0		-		11		12
CTR	0		-		-		7
CTZ	8		12		12		14
AK	16		22		22		22
GN	8		-		9		11
N	0		-		8		9
CN	0		-		10		11

4.5.4 Sulu ekstraksiyon ve antibiyotikler

Çizelge 4.11, Çizelge 4.12 ve Çizelge 4.13, en dirençli üç izolat olan izolat No. 33, izolat No. 59 ve izolat No. 77 için sulu ekstrakt ile test edilen antibiyotikler arasındaki sinerjistik etkiyi göstermektedir.

İnhibisyon zonlarının çaplarına göre belirlenen antibiyotiklerle su ekstraktlarının sinerjik aktivitesinin sonuçları Çizelge 4.11'de sunulmuştur. *Cymbopogon citratus*'un sulu ekstraktı amikasin, seftazidim ve gentamisin ile kombine edildiğinde *P. aeruginosa*'ya karşı sinerjik etki ve diğer antibiyotiklerle antagonistik etki göstermiştir. Ancak *Ziziphus spinachristi* ekstresi amikasin, seftazidim, ofloksasin ve neomisin ile sinerjik aktivite göstermiştir (Sırasıyla 19,14, 9 ve 8 mm) ve diğer antibiyotiklerle antagonistik etki göstermiştir. Ancak *Citrus aurantifolia* ekstraktı test edilen antibiyotiklerin çoğu ile sinerjik aktivite; seftriakson ve gentamisin hariç antagonistik aktivite göstermiştir (Şekil 4.7) (Şekil 4.8) (Şekil 4.9).

Çizelge 4.11 33 numaralı izolat için antibakteriyel ilaçların sulu bitki özleri ile sinerjistik etkileri

Antibiyotikler	Antibiyotik sayısı	<i>Ziziphus spinachristi</i>		<i>Citrus aurantifolia</i>		<i>Cymbopogon citratus</i>	
		Ex*	Ex+Anti	Ex*	Eski+Karşıtı	Eski*	Ex*
CTX	0		-		10		-
OF	0		9		12		-
CTR	0		-		-		-
CTZ	9		14		11		11
AK	17		19		20		24
GN	8		7		-		9
N	0		8		8		-
CN	0		-		7		-

*Ex=Ekstrakt sayısı, Ex+Anti=Antibiyotikli ekstrakt, (-) Sinerji yok; CTX: Sefotaksim; OF: Ofloksasin; TO: Seftriakson; CTZ: Seftazidim; AK: Amikasin; GN: Gentamisin; N: Neomisin; CN: Seflexin (Sefaleksim)

Çizelge 4.12 59 numaralı izolat için antibakteriyel ilaçların sulu bitki özleri ile sinerjistik etkileri

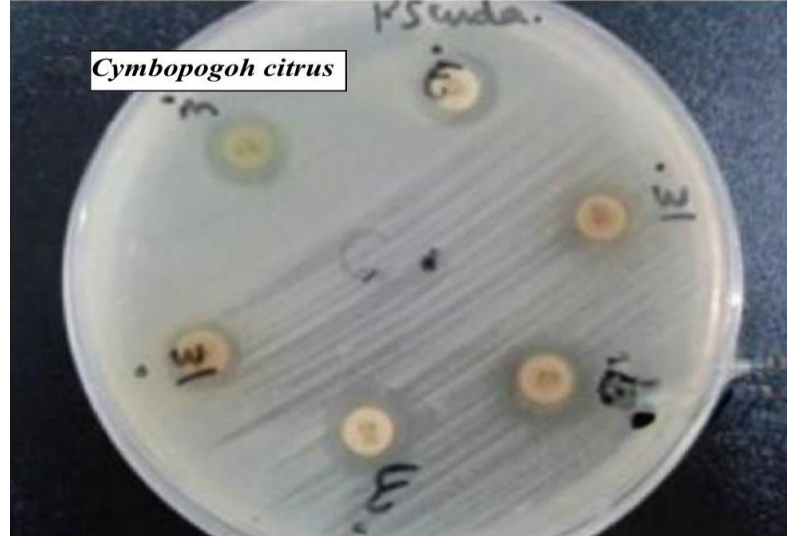
Antibiyotikler	Antibiyotik sayısı	<i>Ziziphus spinachristi</i>		<i>Citrus aurantifolia</i>		<i>Cymbopogon citrus</i>	
		Ex*	Ex+Anti	Ex*	Ex+Anti	Ex*	Ex+Anti
CTX	0		-		11		-
OF	0		10		13		-
CTR	0		-		-		-
CTZ	9		16		12		12
AK	17		21		21		25
GN	8		8		-		10
N	0		10		9		-
CN	0		-		7		-

Çizelge 4.13 77 numaralı izolat için antibakteriyel ilaçların sulu bitki özleri ile sinerjistik etkileri

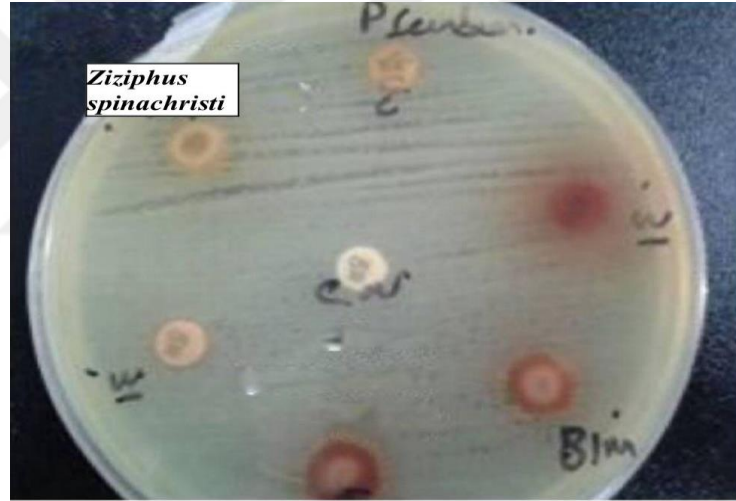
Antibiyotikler	Antibiyotik sayısı	<i>Ziziphus spinachristi</i>		<i>Citrus aurantifolia</i>		<i>Cymbopogon citrus</i>	
		Ex*	Ex+Anti	Ex*	Ex+Anti	Ex*	Ex+Anti
CTX	0		-		9		-
OF	0		8		10		-
CTR	0		-		-		-
CTZ	9		13		10		9
AK	17		19		18		20
GN	8		7		-		8
N	0		8		8		-
CN	0		-		6		-



Şekil 4.7 *Ziziphus spina-christi*'nin Ceftazidim ile kombinasyonunun *P. aeruginosa* üzerindeki etkisi



Şekil 4.8 *Cymbopogon citrius*'un Gentamisin ile kombinasyonunun *P. aeruginosa* üzerindeki etkisi



Şekil 4.9 *Ziziphus spina-christi*'nin Sephaleksine ile kombinasyonunun *P. aeruginosa* üzerindeki etkisi

Protein sentezi inhibitörlerinin (Amikasin ve Gentamisin gibi), solvent olarak metanol, etanol ve su kullanılarak çoğu bitki ekstraktı ile güçlü sinerjistik etki gösterdiği, ardından Ofloksasin gibi nükleik asit sentezi inhibitörlerinin takip ettiği görülmüştür. Seftriakson gibi hücre duvarı sentezi inhibitörleri, önemli sinerjistik aktivite sergileyen Seftazidim dışında *P. aeruginosa*'ya karşı zayıf aktivite veya hiç sinerjistik aktivite göstermemiştir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

- *P. aeruginosa* bakterisi üzerinde en yüksek öldürücü etkiyi gösteren antibiyotikler sırasıyla Ceftazidime, Amikacin, Gentamicin'dir.
- Disk difüzyon yöntemi kullanılarak, *Ziziphus spinachristi* kabuğunun etanolik ekstresi *P. aeruginosa*'ya karşı en yüksek aktiviteyi göstermiştir.
- Minimum inhibitör konsantrasyon sonuçları, test edilen tüm bitki ekstraktlarının *P. aeruginosa*'ya karşı antibakteriyel aktivite gösterdiğini ortaya koymuştur.
- Minimum inhibitör konsantrasyon sonuçları, *Ziziphus spinachristi* ve *Cymbopogon citratus* bitki ekstraktlarının *P. aeruginosa*'ya karşı en yüksek *Citrus aurantifolia* bitki ekstraktının antibakteriyel aktivite gösterdiğini ortaya koymuştur.
- Bitki ekstraktları, ekstraksiyon yöntemine bağlı olarak mikroorganizmaların büyümesini engellemek için farklı sinerjik yeteneklere sahiptir.
- *C. citratus* ekstraktı test edilen tüm antibiyotiklerle sinerjik etki gösterirken, *Ziziphus spinachristi* ekstraktı test edilen antibiyotiklerin çoğuyla antagonistik aktivite göstermiştir.

KAYNAKLAR

- Abalaka, M. E., Daniyan, S. Y. and Mann, A. 2010. Evaluation of the antimicrobial activities of two *Ziziphus* species (*Ziziphus mauritiana* L. and *Ziziphus spinachristi* L.) on some microbial pathogens. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 4(4): 135-139.
- Abdelqader, A., Qarallah, B., Al-Ramamneh, D. and Daş, G. 2012. Anthelmintic effects of citrus peels ethanolic extracts against *Ascaridia galli*. *Veterinary Parasitology*, 188(1): 78-84.
- Abiramasundari, P., Priya, V., Jeyanthi, G. P. and Devi, S. G. 2011. Evaluation of the antibacterial activity of *Cocculus Hirsutus*. *CABI*, 3(2): 26-31.
- Abu-Shanab, B., Adwan, G. M., Abu-Safiya, D., Jarrar, N. and Adwan, K. 2004. Antibacterial activities of some plant extracts utilized in popular medicine in Palestine. *Turkish Journal of Biology*, 28(2): 99-102.
- Abu-Taleb, A. M., El-Deeb, K. and Al-Otibi, F. O. 2011. Assessment of antifungal activity of *Rumex vesicarius* L. and *Ziziphus spina-christi* (L.) Willd. extracts against two phytopathogenic fungi. *African Journal of Microbiology Research*, 5(9): 1001-1011.
- Ademuyiwa, A. J., Elliot, S., Olamide, O. Y. and Johnson, O. O. 2015. Nephroprotective effect of aqueous extract of *Cymbopogon citratus* (lemon grass) in Wistar albino rats. *International Journal of Pharmaceutical And Bio-Medical Science*, 3(3): 1-6.
- Ads, E. N., Rajendrasozhan, S., Hassan, S. I., Sharawy, S. M. S. and Humaidi, J. R. 2017. Phytochemical, antimicrobial and cytotoxic evaluation of *Ziziphus spina-christi* (L.) stem bark. *Biomedical Research*, 28(15): 6646-6653.
- Adwan, G. 2008. Synergistic effects of plant wxtracts and antibiotics on *Staphylococcus aureus* strains isolated from clinical specimens. *Middle-East Journal of Scientific Research*, 3(2): 134-139.
- Adwan, G., Abu-Shanab, B. and Adwan, K. 2009. In vitro interaction of certain antimicrobial agents in combination with plant extracts against multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* strains. *Middle-East Journal of Scientific Research*, 4(3): 158-162.

- Adzu, B., Amos, S., Dzarma, S., Wambebe, C. and Gamaniel, K. 2002. Effect of *Zizyphus spina-christi* Willd aqueous extract on the central nervous system in mice. *Journal of ethnopharmacology*, 79(1): 13-16.
- Afroja, S., Falgunnee, F. N., Jahan, M. M., Akanda, K. M., Mehjabin, S. and Parvez, G. M. 2017. Antibacterial activity of different citrus fruits. *Journal of Health Science and Medical Research*, 2(1): 25-32.
- Aibinu, I., Adenipekun, T., Adelowotan, T., Ogunsanya, T. and Odugbemi, T. 2007. Evaluation of the antimicrobial properties of different parts of *Citrus aurantifolia* (lime fruit) as used locally. *African Journal of Traditional, Complementary, and Alternative Medicines*, 4(2): 185.
- Akhila, A. 2010. Chemistry and biogenesis of essential oil from the genus *Cymbopogon*. *Essential Oil-Bearing Grasses: The Genus Cymbopogon*, 10(2): 25-36.
- Akinnibosun, F. I. and Edionwe, O. 2015. Evaluation of the Phytochemical and Antimicrobial potential of the Leaf Extracts of *Bryophyllum pinnatum* L. and *Citrus aurantifolia* Sw. and their Synergy. *Journal of Applied Sciences and Environmental Management*, 19(4): 611-619.
- Al-Dahmoshi, H. O. M. 2013. Genotypic and phenotypic investigation of alginate biofilm formation among *Pseudomonas aeruginosa* isolated from burn victims in Babylon, Iraq. *Science Journal of Microbiology*, 13(4): 1-9.
- Al-Hajami, A. N. 2006. The effect of some plant extracts on the growth and effectiveness of *Candida albicans* yeast isolated in pathological cases. MSc. Thesis. Baghdad University, 156 page, Baghdad.
- Alhazmi, A. 2015. *Pseudomonas aeruginosa*-pathogenesis and pathogenic mechanisms. *International Journal of Biology*, 7(2): 44.
- Ali, A. B., Almagboul, A. Z. and Mohammed, O. M. 2015. Antimicrobial activity of fruits, leaves, seeds and stems extracts of *Zizyphus spina-christi*. *Arabian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 1(2): 94-107.
- Aliyu, B. S. 2006. Some ethno-medicinal plants of the Savannah Regions of West Africa Description and phytochemicals. *Triumph Publishing Company*, 1(7): 135-152.
- Al-Kanzawi, F. H., Al-Mosawi, A. H. and Al-Mola, R. M. 2006. The impact of volatile oils of three medicinal plants on the bacteria isolated from patients with tonsillitis. *Baghdad Science Journal*, 3(2): 230-237.

- Al-Khalisi, A. H. A. 2014. A study of the inhibitory effect of local bee honey against bacterial infection and its use in treating wounds and burns. PhD. Thesis, Al-Mustansiriya University, 195 page, Baghdad.
- Almola, Z. 2010. The inhibitory effect of henna *Lawsonia inermis* leaves on some fungi. Iraq Academic Scientific Journals, 10(4): 501-510.
- Al-Otaibi, F. N. 2007. The effectiveness of some plant extracts against root rot fungi. Msc. Thesis, King Saud University, 189 page, Riyadh.
- Al-Qasi, L. 2012. Purification, characterization and genetic evaluation of Phenazine produced by *Pseudomonas aeruginosa* local isolates, PhD. Thesis, University of Baghdad, 209 page, Baghdad.
- Al-Salt, J. 2012. Antimicrobial activity of crude extracts of some plant leaves. Research Journal of Microbiology, 7(1): 59-137.
- Al-Wrafiy, F., Brzozowska, E., Górka, S. and Gamian, A. 2017. Pathogenic factors of *Pseudomonas aeruginosa*—the role of biofilm in pathogenicity and as a target for phage therapy. Advances in Hygiene and Experimental Medicine, 71(2): 78-91.
- Ambade, S. V. and Bhadbhade, B. J. 2015. In vitro comparison of antimicrobial activity of different extracts of *Cymbopogon citratus* on dental plaque isolates. CABI, 4(7): 672-681.
- Anggraini, T. 2015. Potency of Citrus (*Citrus aurantium*) water as inhibitor calcium lithogenesis on urinary tract. Jurnal Majority, 4(1): 1-9.
- Aranganathan, S., Selvam, J. P. and Nalini, N. 2008. Effect of hesperetin, a citrus flavonoid, on bacterial enzymes and carcinogen-induced aberrant crypt foci in colon cancer rats: a dose-dependent study. Journal of Pharmacy and Pharmacology, 60(10): 1385-1392.
- Arrey Tarkang, P., Nwakiban Atchan, A. P., Kuate, J. R., Okalebo, F. A., Guantai, A. N. and Agbor, G. A. 2013. Antioxidant potential of a polyherbal antimalarial as an indicator of its therapeutic value. Advances in Pharmacological and Pharmaceutical Sciences, 13(11): 9-17.
- Arul, D. and Subramanian, P. 2013. Inhibitory effect of naringenin (citrus flavonone) on N-nitrosodiethylamine induced hepatocarcinogenesis in rats. Biochemical and Biophysical Research Communications, 434(2): 203-209.

- Ashraf, M. V., Pant, S., Khan, M. H., Shah, A. A., Siddiqui, S., Jeridi, M. And Ahmad, S. 2023. Phytochemicals as antimicrobials: Prospecting Himalayan medicinal plants as source of alternate medicine to combat antimicrobial resistance. *Pharmaceuticals*, 16(6): 881.
- Asif, M. and Khodadadi, E. 2013. Medicinal uses and chemistry of flavonoid contents of some common edible tropical plants. *Archives of Advances in Biosciences*, 4(3): 138-147.
- Avoseh, O., Oyedeji, O., Rungqu, P., Nkeh-Chungag, B. and Oyedeji, A. 2015. *Cymbopogon* species; ethnopharmacology, phytochemistry and the pharmacological importance. *Molecules*, 20(5): 7438-7453.
- Awah, F. M., Uzoegwu, P. N., Ifeonu, P., Oyugi, J. O., Rutherford, J., Yao, X. and Eze, M. O. 2012. Free radical scavenging activity, phenolic contents and cytotoxicity of selected Nigerian medicinal plants. *Food Chemistry*, 131(4): 1279-1286.
- Balamurugan, S. 2014. In vitro antifungal activity of *Citrus aurantifolia* Linn plant extracts against phytopathogenic fungi *Macrophomina phaseolina*. *International Letters of Natural Sciences*, 8(2): 70-74.
- Bandar, K. I., Hamada, Z. A. and Qaddouri, A. G. 2009. The effect of some plant extracts on the growth of types of skin fungi isolated from patients. *Tikrit University Journal of Pure Sciences*. 14(3): 160-169.
- Baron, P. A., Estill, C. F., Beard, J. K., Hein, M. J. and Larsen, L. 2007. Bacterial endospore inactivation caused by outgassing of vapourous hydrogen peroxide from polymethyl methacrylate (Plexiglas®). *Letters in Applied Microbiology*, 45(5): 485-490.
- Benayache, S., Benayache, F., Benyahia, S., Chalchat, J. C. and Garry, R. P. 2001. Leaf oils of some *Eucalyptus* species growing in Algeria. *Journal of Essential Oil Research*, 13(3): 210-213.
- Bensabah, F., Lamiri, A. and Naja, J. 2015. Effect of purified wastewater from the city of Settat (Morocco) on the quality of *Lippia citriodora* essential oil and infusion. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 14(2): 101-108.
- Benson, H. J. 2002. Microbiological applications: a laboratory manual in general microbiology. McGraw-Hill, 478 page, New York.

- Benz, R. and Hancock, R. E. 1981. Properties of the large ion-permeable pores formed from protein F of *Pseudomonas aeruginosa* in lipid bilayer membranes. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 646(2): 298-308.
- Berhow, M. A., Bennett, R. D., Poling, S. M., Vannier, S., Hidaka, T. and Omura, M. 1994. Acylated flavonoids in callus cultures of *Citrus aurantifolia*. *Phytochemistry*, 36(5): 1225-1227.
- Bharti, S. K., Kumar, A., Prakash, O., Krishnan, S. and Gupta, A. K. 2013. Essential oil of *Cymbopogon Citratus* against diabetes: Validation by in-vivo experiments and computational studies. *Journal of Bioanalysis and Biomedicine*, 5(8): 194-203.
- Brooks, G. F., Carroll, K. C., Butel, J. N., Morse, S. A. and Mietzer, T. A. 2013. Rubella (German measles) virus. Jawetz, Melnick, and Adelberg's Medical Microbiology. McGraw-Hill Lange Companies, 13(3): 607-612.
- Brown, G. C. 2007. Mechanisms of inflammatory neurodegeneration: iNOS and NADPH oxidase. *Biochemical Society Transactions*, 35(5): 1119-1121.
- Brügger, B. P., Martínez, L. C., Plata-Rueda, A., Castro, B. M. D. C. E., Soares, M. A., Wilcken, C. F. and Zanuncio, J. C. 2019. Bioactivity of the *Cymbopogon citratus* (Poaceae) essential oil and its terpenoid constituents on the predatory bug, *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae). *Scientific Reports*, 9(1): 8358.
- Burt, S. 2004. Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods—A review. *International Journal of Food Microbiology*, 94(3): 223-253.
- Cabot, G., Zamorano, L., Moyà, B., Juan, C., Navas, A., Blázquez, J. and Oliver, A. 2016. Evolution of *Pseudomonas aeruginosa* antimicrobial resistance and fitness under low and high mutation rates. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 60(3): 1767-1778.
- Camacho-Corona, M. D. R., Ramírez-Cabrera, M. A., Santiago, O. G., Garza-González, E., Palacios, I. D. P. and Luna-Herrera, J. 2008. Activity against drug resistant-tuberculosis strains of plants used in Mexican traditional medicine to treat tuberculosis and other respiratory diseases. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 22(1): 82-85.

- Caristi, C., Bellocco, E., Panzera, V., Toscano, G., Vadalà, R. and Leuzzi, U. 2003. Flavonoids detection by HPLC-DAD-MS-MS in lemon juices from Sicilian cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(12): 3528-3534.
- Carlson, L. H. C., Machado, R. A. F., Spricigo, C. B., Pereira, L. K. and Bolzan, A. 2001. Extraction of lemongrass essential oil with dense carbon dioxide. *The Journal of Supercritical Fluids*, 21(1): 33-39.
- Chanda, S. and Rakholiya, K. 2011. Combination therapy: synergism between natural plant extracts and antibiotics against infectious diseases. *ResearchGate*, 11(2): 1-10.
- Chanthai, S., Prachakoll, S., Ruangviriyachai, C. and Luthria, D. L. 2012. Influence of extraction methodologies on the analysis of five major volatile aromatic compounds of citronella grass (*Cymbopogon nardus*) and lemongrass (*Cymbopogon citratus*) grown in Thailand. *Journal of AOAC International*, 95(3): 763-772.
- Chowdury, M. I. A., Debnath, M., Ahmad, M. F., Alam, M. N., Saleh, A. M., Chowdhury, S. and Kamal, A. H. 2015. Potential phytochemical, analgesic and anticancerous activities of *Cymbopogon citratus* leaf. *American Journal of Biomedical Research*, 3(4): 66-70.
- Clement, Y. N., Baksh-Comeau, Y. S. and Seaforth, C. E. 2015. An ethnobotanical survey of medicinal plants in Trinidad. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 11(3): 1-28.
- Coelho, M., Rocha, C., Cunha, L. M., Cardoso, L., Alves, L., Lima, R. C. and Pintado, M. 2016. Influence of harvesting factors on sensory attributes and phenolic and aroma compounds composition of *Cymbopogon citratus* leaves infusions. *Food Research International*, 89(7): 1029-1037.
- Costa, A. V., Pinheiro, P. F., Rondelli, V. M., De Queiroz, V. T., Tuler, A. C., Brito, K. B. and Pratisoli, D. 2013. *Cymbopogon citratus* (poaceae) essential oil on *frankliniella schultzei* (thysanoptera: Thripidae) and *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae). *Bioscience Journal*, 29(6): 1840-1847.
- Costa, R., Bisignano, C., Filocamo, A., Grasso, E., Occhiuto, F. and Spadaro, F. 2014. Antimicrobial activity and chemical composition of *Citrus aurantifolia* (Christm.) Swingle essential oil from Italian organic crops. *Journal of Essential Oil Research*, 26(6): 400-408.

- Daniels, S. 2006. Citrus peel extract shows benefit for diabetes. *Life Sciences*, 79(2): 365-73.
- Deans, S. G. and Ritchie, G. 1987. Antibacterial properties of plant essential oils. *International Journal of Food Microbiology*, 5(2): 165-180.
- Deshmukh, S. K., Kolet, M. J. and Verekar, S. A. 2010. Distribution of endophytic fungi in lemon grass (*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf.). *Journal of Cell and Tissue Research*, 10(2): 2263.
- Dhifi, W., Bellili, S., Jazi, S., Bahloul, N. and Mnif, W. 2016. Essential oils' chemical characterization and investigation of some biological activities: A critical review. *Medicines*, 3(4): 25.
- Domingo-Calap, P., Georgel, P. and Bahram, S. 2016. Back to the future: bacteriophages as promising therapeutic tools. *HLA*, 87(3): 133-140.
- Domínguez-Vigil, I. G., Camacho-Corona, M. D.R., Heredia-Rojas, J. A., Vargas-Villarreal, J., Rodríguez-De la Fuente, A. O., Heredia-Rodríguez, O. and Mata-Cardenas, B. D. 2015. Anti-giardia activity of hexane extract of *Citrus aurantifolia* (Christm) Swingle and some of its constituents. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 12(2): 55-59.
- Dongmo, P. J., Tatsadjieu, L. N., Sonwa, E. T., Kuate, J., Zollo, P. A. and Menut, C. 2009. Essential oils of *Citrus aurantifolia* from Cameroon and their antifungal activity against *Phaeoramularia angolensis*. *African Journal of Agricultural Research*, 4(4): 354-358.
- Dongmo, P. M. J., Tchoumboungang, F., Boyom, F. F., Sonwa, E. T., Zollo, P. H. A. and Menut, C. 2013. Antiradical, antioxidant activities and anti-inflammatory potential of the essential oils of the varieties of *Citrus limon* and *Citrus aurantifolia* growing in Cameroon. *Journal of Asian Scientific Research*, 3(10): 1046-1057.
- Dosoky, N. S. and Setzer, W. N. 2018. Biological activities and safety of *Citrus* spp. essential oils. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(7): 1966.
- Dugo, G. and Di Giacomo, A. 2002. *Citrus: the genus citrus*. CRC Press, 656 page, Boca Raton.
- Dutta, S., Munda, S., Lal, M. and Bhattacharyya, P. R. 2016. A short review on chemical composition therapeutic use and enzyme inhibition activities of *Cymbopogon* species. *Indian Journal of Science and Technology*, 9(46): 9-18.

- Effiom, O. E., Avoaja, D. A. and Ohaeri, C. C. 2012. Mosquito repellent activity of phytochemical extracts from peels of citrus fruit species. *Global Journal of Science Frontier Research*, 12(1): 1-8.
- Ehiaghe, F. A., Ehiaghe, I. J., Agbonlahor, D. E., Oviasogie, F. E., Etikerentse, S. M. O., Nwobu, R. A. U. and Enwa, F. O. 2013. Plasmid profiling and curing analysis of fluoroquinolone multidrug resistant *Pseudomonas aeruginosa* in Benin City, Nigeria. *Open Journal of Medical Microbiology*, 13(3): 98-105.
- Elraih, H. 2015, Correlation of integrons to multidrug resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolates using molecular standard method in Khartoum state. MSc. Thesis, The National Ribat University, 79 page, Ribat.
- Enejoh, O. S., Ogunyemi, I. O., Bala, M. S., Oruene, I. S., Suleiman, M. M. and Ambali, S. F. 2015. Ethnomedical importance of *Citrus aurantifolia* (christm) swingle. *The Pharma Innovation*, 4(8): 1-5.
- Enejoh, S. O., Suleiman, M. M., Ajanusi, J. O. and Ambali, S. F. 2015. In vitro anthelmintic efficacy of extracts of *Citrus aurantifolia* (Christm) Swingle fruit peels against *Heligmosomoides bakeri* ova and larvae. *International Journal of Current Pharmaceutical Research*, 7(2): 92-96.
- Enejoh, S., Shuaibu, K., Suleiman, M. and Ajanusi, J. 2014. Evaluation of anthelmintic efficacy of extracts of *Citrus aurantifolia* fruit juice in mice experimentally infected with *Heligmosomoides bakeri*. *International Journal of Biological Research*, 4(3): 241-246.
- Ezekwesili-Ofili, J. O. and Gwacham, N. C. 2015. Comparative effects of peel extract from Nigerian grown *Citrus* on body weight, liver weight and serum lipids in rats fed a high-fat diet. *African Journal of Biochemistry Research*, 9(9): 110-116.
- Farhang, V., Amini, J., Javadi, T., Nazemi, J. and Ebadollahi, A. 2013. Chemical composition and antifungal activity of essential oil of *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf. against three *Phytophthora* species. *Greener Journal of Biological Sciences*, 3(7): 292-298.
- Farmani, F., Moein, M., Amanzadeh, A., Kandelous, H. M., Ehsanpour, Z. and Salimi, M. 2016. Antiproliferative evaluation and apoptosis induction in MCF-7 cells by *Ziziphus spina christi* leaf extracts. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 17(1): 315-321.

- Firouzi, D. L., Pooladi, M., Nowroozi, J., Akhvan, S. A. and Hooshiyar, M. 2016. Presence of *exoU* and *exoS* genes in *Pseudomonas aeruginosa* isolated from urinary tract infections. *Scientific Information Database*, 2(2): 8-11.
- Forbes, B. A., Sahm, D. F. and Weissfeld, A. S. 2016. Study guide for Bailey and Scott's diagnostic microbiology e-book. Elsevier Health Sciences, 200 page, Amsterdam.
- Frimmersdorf, E., Horatzek, S., Pelnikevich, A., Wiehlmann, L. and Schomburg, D. 2010. How *Pseudomonas aeruginosa* adapts to various environments: a metabolomic approach. *Environmental Microbiology*, 12(6): 1734-1747.
- Galovičová, L., Borotová, P., Vukovic, N. L., Vukic, M., Kunová, S., Hanus, P. and Kačániová, M. 2022. The potential use of *Citrus aurantifolia* L. essential oils for decay control, quality preservation of agricultural products, and anti-insect activity. *Agronomy*, 12(3): 735.
- Gellatly, S. L. and Hancock, R. E. 2013. *Pseudomonas aeruginosa*: new insights into pathogenesis and host defenses. *Pathogens and Disease*, 67(3): 159-173.
- Ghafoor, A. O., Qadir, H. K. and Fakhri, N. A. 2012. Analysis of phenolic compounds in extracts of *Ziziphus spina-christi* using RPHPLC method. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 4(6): 3158-3163.
- Gheith, I. and El-Mahmoudy, A. 2018. Assessment of the antimicrobial potential of the hydro-methanolic extract of Sidr (*Ziziphus spina-christi*) plant against selected pathogens in vitro. *Life Science Journal*, 15(9): 27-34.
- Gokulakrishnan, K., Senthamilselvan, P. and Sivakumari, V. 2009. Regenerating activity of *Citrus aurantifolia* on paracetamol induced hepatic damage. *Asian Journal of Biological Sciences*, 9(6): 176-179.
- Guo, S., Duan, J. A., Tang, Y., Qian, Y., Zhao, J., Qian, D. and Shang, E. 2011. Simultaneous qualitative and quantitative analysis of triterpenic acids, saponins and flavonoids in the leaves of two *Ziziphus* species by HPLC–PDA–MS/ELSD. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 56(2): 264-270.
- Hamza, M. F., Garba, A. A. and Ma'Aruf, S. M. 2015. Evaluating the Medicinal and Nutritional Benefits of Nigerian Edible Fruits of *Ziziphus jujube* and *Ziziphus spina-christi* Plants. In *Northwest University Science*, 15(2): 581-585.
- Hoboth, C., Hoffmann, R., Eichner, A., Henke, C., Schmoldt, S., Imhof, A. and Hogardt, M. 2009. Dynamics of adaptive microevolution of hypermutable *Pseudomonas*

- aeruginosa during chronic pulmonary infection in patients with cystic fibrosis. *The Journal of Infectious Diseases*, 200(1): 118-130.
- Hostacka, A. and Majtan, V. 1997. Serotyping and virulence factors of *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica*, 44(2): 141-146.
- Huang, W., Wang, Y., Jiang, X., Sun, Y., Zhao, Z. and Li, S. 2017. Protective effect of flavonoids from *Ziziphus jujuba* cv. Jinsixiaozao against acetaminophen-induced liver injury by inhibiting oxidative stress and inflammation in mice. *Molecules*, 22(10): 1781.
- Jalal, S. and Wretling, B. 1998. Mechanisms of quinolone resistance in clinical strains of *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbial Drug Resistance*, 4(4): 257-261.
- Jameela, M., Mohideen, A., Sunitha, K. and Narayanan, M. 2011. Antibacterial activities of three medicinal plant extract against fish pathogens. *International Journal of Biological Technology*, 2(2): 57-60.
- Japoni, A., Anvarinejad, M., Farshad, S., Giammanco, G. M., Rafaatpour, N. and Alipour, E. 2014. Antibiotic susceptibility patterns and molecular epidemiology of metallo- β -lactamase producing *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from burn patients. *Iranian Red Crescent Medical Journal*, 16(5): 78-87.
- Jaradat, N. A. 2005. Medical plants utilized in Palestinian folk medicine for treatment of diabetes mellitus and cardiac diseases. *Al-Aqsa University Journal*, 9(1): 1-28.
- Jayaprakasha, G. K., Mandadi, K. K., Poulose, S. M., Jadegoud, Y., Gowda, G. N. and Patil, B. S. 2008. Novel triterpenoid from *Citrus aurantium* L. possesses chemopreventive properties against human colon cancer cells. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 16(11): 5939-5951.
- Jayaraman, S., Manoharan, M. S. and Illanchezian, S. 2008. In-vitro antimicrobial and antitumor activities of *Stevia rebaudiana* (Asteraceae) leaf extracts. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 7(4): 1143-1149.
- Jenny, M. and Kingsbury, J. 2018. Properties and prevention: A review of *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Biological Research*, 2(3): 1-8.
- Joyanes, P., Del Carmen Conejo, M., Martínez-Martínez, L. and Perea, E. J. 2001. Evaluation of the VITEK 2 system for the identification and susceptibility testing

- of three species of nonfermenting gram-negative rods frequently isolated from clinical samples. *Journal of Clinical Microbiology*, 39(9): 3247-3253.
- Juan, C., Peña, C. and Oliver, A. 2017. Host and pathogen biomarkers for severe *Pseudomonas aeruginosa* infections. *The Journal of Infectious Diseases*, 215(1): 44-51.
- Kadioglu, O., Jacob, S., Bohnert, S., Naß, J., Saeed, M. E., Khalid, H. and Efferth, T. 2016. Evaluating ancient Egyptian prescriptions today: anti-inflammatory activity of *Ziziphus spina-christi*. *Phytomedicine*, 23(3): 293-306.
- Kanj, S. S. and Sexton, D. J. 2019. Principles of antimicrobial therapy of *Pseudomonas aeruginosa* infections. *UpToDate*, 19(3):1-4.
- Karimi, A. and Nasab, N. K. 2014. Effect of garlic extract and *Citrus aurantifolia* (lime) juice and on blood glucose level and activities of aminotransferase enzymes in streptozotocin-induced diabetic rats. *World Journal of Pharmaceutical Sciences*, 14(2): 821-827.
- Karimi, E., Oskoueian, E., Hendra, R. and Jaafar, H. Z. 2010. Evaluation of *Crocus sativus* L. stigma phenolic and flavonoid compounds and its antioxidant activity. *Molecules*, 15(9): 6244-6256.
- Kawaii, S., Tomono, Y., Katase, E., Ogawa, K. and Yano, M. 1999. Quantitation of flavonoid constituents in citrus fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(9): 3565-3571.
- Khafagi, I., Zakaria, A., Dewedar, A. and El-Zahdany, K. 2006. A voyage in the world of plants as mentioned in the Holy Quran. *International Journal of Botany*, 2(3): 242-251.
- Kirbağ, S., Zengin, F. and Kursat, M. 2009. Antimicrobial activities of extracts of some plants. *Pakistan Journal of Botany*, 41(4): 2067-2070.
- Kouame, N. M., Kamagate, M., Koffi, C., Die-Kakou, H. M., Yao, N. A. R. and Kakou, A. 2016. *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf: ethnopharmacology, phytochemical, pharmacological activities and toxicology. *Phytothérapie*, 14(6): 384-392.
- Kumar, M., Agarwal, R. C., Dey, S., Rai, V. K. and Johnson, B. 2009. Antimicrobial activity of aqueous extract of *Terminalia chebula* Retz. on gram positive and gram negative microorganisms. *International Journal of Current Pharmaceutical Research*, 1(1): 56-60.

- Kumar, P., Mishra, S., Malik, A. and Satya, S. 2013. Housefly (*Musca domestica* L.) control potential of *Cymbopogon citratus* Stapf. (Poales: Poaceae) essential oil and monoterpenes (citral and 1, 8-cineole). *Parasitology research*, 112(3): 69-76.
- Kumar, V. P., Chauhan, N. S., Padh, H. and Rajani, M. 2006. Search for antibacterial and antifungal agents from selected Indian medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 107(2): 182-188.
- Kumari, S., Sarmah, N. and Handique, A. K. 2013. Antioxidant activities of the unripen and ripen *Citrus aurantifolia* of Assam. *International Journal of Innovative Research in Science, Engineering and Technology*, 2(9): 4811-4816.
- Lawal, O. A., Ogundajo, A. L., Avoseh, N. O. and Ogunwande, I. A. 2017. *Cymbopogon citratus*. In *Medicinal spices and vegetables from Africa*. Academic Press, 17(3): 397-423.
- Lawal, O. A., Ogunwande, I. A., Owolabi, M. S., Giwa-Ajeniya, A. O., Kasali, A. A., Abudu, F. A. and Opoku, A. R. 2014. Comparative analysis of essential oils of *Citrus aurantifolia* Swingle and *Citrus reticulata* Blanco, from two different localities of Lagos State, Nigeria. *American Journal of Essential Oils and Natural Products*, 2(2): 8-12.
- Lee, D. G., Urbach, J. M., Wu, G., Liberati, N. T., Feinbaum, R. L., Miyata, S. and Ausubel, F. M. 2006. Genomic analysis reveals that *Pseudomonas aeruginosa* virulence is combinatorial. *Genome Biology*, 7(6): 1-14.
- Lee, Y. C., Cheng, T. H., Lee, J. S., Chen, J. H., Liao, Y. C., Fong, Y. and Shih, Y. W. 2011. Nobiletin, a citrus flavonoid, suppresses invasion and migration involving FAK/PI3K/Akt and small GTPase signals in human gastric adenocarcinoma AGS cells. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 347(2): 103-115.
- Levinson, W. 2010. Review of medical microbiology and immunology. McGraw Hill Press, 10(5): 132-136.
- Ling, T. K., Tam, P. C., Liu, Z. K. and Cheng, A. F. 2001. Evaluation of VITEK 2 rapid identification and susceptibility testing system against gram-negative clinical isolates. *Journal of Clinical Microbiology*, 39(8): 2964-2966.
- Lister, P. D., Wolter, D. J. and Hanson, N. D. 2009. Antibacterial-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: clinical impact and complex regulation of chromosomally encoded resistance mechanisms. *Clinical Microbiology Reviews*, 22(4): 582-610.

- Liu, J., Wang, C., Wang, Z., Zhang, C., Lu, S. and Liu, J. 2011. The antioxidant and free-radical scavenging activities of extract and fractions from corn silk (*Zea mays* L.) and related flavone glycosides. *Food Chemistry*, 126(1): 261-269.
- Liu, Y., Heying, E. and Tanumihardjo, S. A. 2012. History, global distribution, and nutritional importance of citrus fruits. *Comprehensive reviews in Food Science and Food safety*, 11(6): 530-545.
- Loizzo, M. R., Tundis, R., Bonesi, M., Menichini, F., De Luca, D., Colica, C. and Menichini, F. 2012. Evaluation of *Citrus aurantifolia* peel and leaves extracts for their chemical composition, antioxidant and anti-cholinesterase activities. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 92(15): 2960-2967.
- Lota, M. L., De Rocca Serra, D., Tomi, F., Jacquemond, C. and Casanova, J. 2002. Volatile components of peel and leaf oils of lemon and lime species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(4): 796-805.
- Lyczak, J. B., Cannon, C. L. and Pier, G. B. 2000. Establishment of *Pseudomonas aeruginosa* infection: lessons from a versatile opportunist. *Microbes and Infection*, 2(9): 1051-1060.
- Madhuri, S. and Pandey, G. 2009. Some anticancer medicinal plants of foreign origin. *Current Science*, 9(7): 779-783.
- Manner, H. I., Buker, R. S., Smith, V. E., Ward, D. and Elevitch, C. R. 2006. Citrus (citrus) and Fortunella (kumquat). *Species Profile for Pacific Island Agroforestry*, 2(7): 1-35.
- Mathee, K., Narasimhan, G., Valdes, C., Qiu, X., Matewish, J. M., Koehrsen, M. and Lory, S. 2008. Dynamics of *Pseudomonas aeruginosa* genome evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(8): 3100-3105.
- Michel, C. G., Nesseem, D. I. and Ismail, M. F. 2011. Anti-diabetic activity and stability study of the formulated leaf extract of *Zizyphus spina-christi* (L.) Willd with the influence of seasonal variation. *Journal of Ethnopharmacology*, 133(1): 53-62.
- Miguel, M. G., Nunes, S., Dandlen, S. A., Cavaco, A. M. and Antunes, M. D. 2014. Phenols, flavonoids and antioxidant activity of aqueous and methanolic extracts of propolis (*Apis mellifera* L.) from Algarve, South Portugal. *Food Science and Technology*, 34(7): 16-23.

- Mohammed, G. T., Yesufu, H. B., Khan, I. Z. and Abdulrahman, F. I. 2012. Effects of aqueous and ethanol extracts of the stem bark of *Zizyphus spina-christi* L. on isolated rabbit jejunum. *Journal of Pharmacy and Bioresources*, 9(1): 14-19.
- Moore, N. M. and Flaws, M. L. 2011. Introduction: *Pseudomonas aeruginosa*. *Clinical Laboratory Science*, 24(1): 41.
- Moore-Neibel, K., Gerber, C., Patel, J., Friedman, M. and Ravishankar, S. 2012. Antimicrobial activity of lemongrass oil against *Salmonella enterica* on organic leafy greens. *Journal of Applied Microbiology*, 112(3): 485-492.
- Moradali, M. F., Ghods, S. and Rehm, B. H. 2017. *Pseudomonas aeruginosa* lifestyle: a paradigm for adaptation, survival, and persistence. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 7(8): 39.
- Mortimer, R. K., Contopoulou, R. and Schild, D. 1981. Mitotic chromosome loss in a radiation-sensitive strain of the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 78(9): 5778-5782.
- Mouly, T. F. 2018. Detection of possible mutations in *gyrA* gene of ciprofloxacin-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolates from patients with lung infection. PhD. Thesis, BRAC University, 62 page, Dhaka.
- Naeini, A., Nazeri, M. and Shokri, H. 2018. Inhibitory effect of plant essential oils on *Malassezia* strains from Iranian dermatitis patients. *Journal of Herbmmed Pharmacology*, 7(1): 21-25.
- Nakasone, Y., Ono, T., Ishii, A., Masuda, S. and Terazima, M. 2007. 3P247 The photo-induced change of inter/intra molecular interaction of BLUF protein (Photobiology-vision and photoreception, Poster Presentations). *Seibutsu Butsuri*, 47(1): 264.
- Nanon, A., Suksombat, W., Beauchemin, K. A. and Yang, W. Z. 2014. Assessment of lemongrass oil supplementation in a dairy diet on in vitro ruminal fermentation characteristics using the rumen simulation technique. *Canadian Journal of Animal Science*, 94(4): 731-736.
- Nascimento, G. G., Locatelli, J., Freitas, P. C. and Silva, G. L. 2000. Antibacterial activity of plant extracts and phytochemicals on antibiotic-resistant bacteria. *Brazilian Journal of Microbiology*, 31(2): 247-256.
- Nazif, N. M. 2002. Phytoconstituents of *Zizyphus spina-christi* L. fruits and their antimicrobial activity. *Food Chemistry*, 76(1): 77-81.

- Neamah, A. A. 2017. Molecular Detection of virulence factor genes in *Pseudomonas aeruginosa* isolated from human and animals in Diwaniya province. *Kufa Journal For Veterinary Medical Sciences*, 8(1): 218-230.
- Nour, A. A. A. M., Ali, A. O. and Ahmed, A. H. R. 1987. A chemical study of *Zizyphus spina-christi* (Nabag) fruits grown in Sudan. *CABI*, 27(4): 271-273.
- Nwankwo, I. U., Osaro-Matthew, R. C. and Ekpe, I. N. 2015. Synergistic antibacterial potentials of *Citrus aurantifolia* (Lime) and honey against some bacteria isolated from sputum of patients attending federal medical center Umuahia. *CABI*, 4(2): 534-44.
- Ogidi, O. I. and Emaikwu, N. G. 2023. Adoption and application of biotechnology in herbal medicine practices. Springer International Publishing, 23(1): 1-26.
- Okon, U. A. and Etim, B. N. 2014. *Citrus aurantifolia* impairs fertility facilitators and indices in male albino wistar rats. *International Journal of Reproduction, Contraception, Obstetrics and Gynecology*, 3(3): 640-646.
- Okwu, D. E. and Emenike, I. N. 2006. Evaluation of the phytonutrients and vitamin contents of Citrus fruits. *International Journal of Molecular Medicine and Advance Sciences*, 2(1): 1-6.
- Okwu, D. E. and Emenike, I. N. 2007. Nutritive value and mineral content of different varieties of citrus fruits. *International Journal of Molecular Medicine and Advance Sciences*, 7(3): 105-108.
- Oladeji, O. S., Odelade, K. A. and Oloke, J. K. 2020. Phytochemical screening and antimicrobial investigation of *Moringa oleifera* leaf extracts. *African Journal of Science, Technology, Innovation and Development*, 12(1): 79-84.
- Pandey, A. K. and Chawdhry, P. K. 2006. Propagation techniques and harvesting time on productivity and root quality of *Withania somnifera*. *Journal of Tropical Medicinal Plants*, 7(1): 79-81.
- Parekh, J. and Chanda, S. 2006. In-vitro antimicrobial activities of extracts of *Launaea procumbens* roxb.(Labiataeae), *Vitis vinifera* l.(Vitaceae) and *Cyperus rotundus* l.(Cyperaceae). *African Journal of Biomedical Research*, 9(2): 89-93.
- Parrotta, J. A. 2001. Healing plants of peninsular India. *CABI* 15(28): 901-917.

- Pathan, R., Gali, P. R., Pathan, P., Gowtham, T. and Pasupuleti, S. 2012. In vitro antimicrobial activity of *Citrus aurantifolia* and its phytochemical screening. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 2(6): 328-331.
- Patil, S., Sivaraj, R., Rajiv, P., Venckatesh, R. and Seenivasan, R. 2015. Green synthesis of silver nanoparticle from leaf extract of *Aegle marmelos* and evaluation of its antibacterial activity. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 7(6): 169-173.
- Paula, J. T., Paviani, L. C., Foglio, M. A., Sousa, I. M., Duarte, G. H., Jorge, M. P. and Cabral, F. A. 2014. Extraction of anthocyanins and luteolin from *Arrabidaea chica* by sequential extraction in fixed bed using supercritical CO₂, ethanol and water as solvents. *The Journal of Supercritical Fluids*, 86(7): 100-107.
- Paviani, L., Pergher, S. B. C. and Dariva, C. 2006. Application of molecular sieves in the fractionation of lemongrass oil from high-pressure carbon dioxide extraction. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 23(2): 219-225.
- Peterson, J. J., Beecher, G. R., Bhagwat, S. A., Dwyer, J. T., Gebhardt, S. E., Haytowitz, D. B. and Holden, J. M. 2006. Flavanones in grapefruit, lemons, and limes: A compilation and review of the data from the analytical literature. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(2): 74-80.
- Piaru, S. P., Perumal, S., Cai, L. W., Mahmud, R., Majid, A. M. S. A., Ismail, S. and Man, C. N. 2012. Chemical composition, anti-angiogenic and cytotoxicity activities of the essential oils of *Cymbopogon citratus* (lemon grass) against colorectal and breast carcinoma cell lines. *Journal of Essential Oil Research*, 24(5): 453-459.
- Piccinelli, A. L., García Mesa, M., Armenteros, D. M., Alfonso, M. A., Arevalo, A. C., Campone, L. and Rastrelli, L. 2008. HPLC-PDA-MS and NMR characterization of C-glycosyl flavones in a hydroalcoholic extract of *Citrus aurantifolia* leaves with antiplatelet activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(5): 1574-1581.
- Pollack, M. 1990. *Pseudomonas aeruginosa*. *Principles and Practice of Infectious Diseases*, 9(9): 1673-1691.
- Poole, K. 2001. Multidrug efflux pumps and antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa* and related organisms. *Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology*, 3(2): 255-264.

- Potron, A., Poirel, L. and Nordmann, P. 2015. Emerging broad-spectrum resistance in *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*: mechanisms and epidemiology. *International journal of Antimicrobial Agents*, 45(6): 568-585.
- Poulose, S. M., Harris, E. D. and Patil, B. S. 2005. Citrus limonoids induce apoptosis in human neuroblastoma cells and have radical scavenging activity. *The Journal of Nutrition*, 135(4): 870-877.
- Powers, C. N., Osier, J. L., McFeeters, R. L., Brazell, C. B., Olsen, E. L., Moriarity, D. M. and Setzer, W. N. 2018. Antifungal and cytotoxic activities of sixty commercially-available essential oils. *Molecules*, 23(7): 1549.
- Prescott, L. M. and Harley, J. P. 2002. *Microbiology*. McGraw-Hill, 41(9): 964-976.
- Radojevic, I. D., Stankovic, M. S., Stefanovic, O. D., Topuzovic, M. D., Comic, L. R. and Ostojic, A. M. 2012. Great horsetail (*Equisetum telmateia* Ehrh.): Active substances content and biological effects. *EXCLI Journal*, 11(3): 59.
- Rahim, S. M., Taha, E. M., Mubark, Z. M., Aziz, S. S., Simon, K. D. and Mazlan, A. G. 2013. Protective effect of *Cymbopogon citratus* on hydrogen peroxide-induced oxidative stress in the reproductive system of male rats. *Systems Biology in Reproductive Medicine*, 59(6): 329-336.
- Rahman, S. A., Abd-Ellatif, S. A., Deraz, S. F. and Khalil, A. A. 2011. Antibacterial activity of some wild medicinal plants collected from western Mediterranean coast, Egypt: Natural alternatives for infectious disease treatment. *African Journal of Biotechnology*, 10(52): 10733-10743.
- Ramírez-Chávez, E., Lucas-Valdez, L., Virgen-Calleros, G. and Molina-Torres, J. 2000. Fungicidal activity of afinnin and *Heliopsis longipes* crude root extract on two *Sclerotium* species. *Agrociencia*, 34(2): 207-215.
- Rani, P. U. 2012. Fumigant and contact toxic potential of essential oils from plant extracts against stored product pests. *Journal of Biopesticides*, 5(2): 120.
- Ranitha, M., Nour, A. H., Sulaiman, Z. A. and Nour, A. H. 2014. A comparative study of lemongrass (*Cymbopogon citratus*) essential oil extracted by microwave-assisted hydrodistillation (MAHD) and conventional hydrodistillation (HD) method. *International Journal of Chemical Engineering and Applications*, 5(2): 104.

- Reddy, L. J., Jalli, R. D., Jose, B. and Gopu, S. 2012. Evaluation of antibacterial & antioxidant activities of the leaf essential oil & leaf extracts of *Citrus aurantifolia*. *Asian Journal of Biochemical and Pharmaceutical Research*, 2(2): 346-354.
- Rivera-Cabrera, F., Ponce-Valadez, M., Sanchez, F., Villegas-Monter, A. and Perez-Flores, L. 2010. Acid limes. A review. *Fresh Produce*, 4(1): 116-122.
- Roriz, C. L., Barros, L., Carvalho, A. M., Santos-Buelga, C. and Ferreira, I. C. 2014. *Pterospartum tridentatum*, *Gomphrena globosa* and *Cymbopogon citratus*: A phytochemical study focused on antioxidant compounds. *Food Research International*, 62(1): 684-693.
- Saied, A. S., Gebauer, J., Hammer, K. and Buerkert, A. 2008. *Ziziphus spina-christi* (L.) Willd.: A multipurpose fruit tree. *Genetic resources and crop evolution*, 55(1): 929-937.
- Salvia-Trujillo, L., Rojas-Graü, A., Soliva-Fortuny, R. and Martín-Belloso, O. 2013. Physicochemical characterization of lemongrass essential oil–alginate nanoemulsions: Effect of ultrasound processing parameters. *Food and Bioprocess Technology*, 6(7): 2439-2446.
- Sameera, N. S. and Mandakini, B. P. 2015. Investigations into the antibacterial activity of *Ziziphus mauritiana* Lam. and *Ziziphus xylopyra* (Retz.) Willd. *International Food Research Journal*, 22(2): 849.
- Sandoval-Montemayor, N. E., García, A., Elizondo-Treviño, E., Garza-González, E., Alvarez, L. and Del Rayo Camacho-Corona, M. 2012. Chemical composition of hexane extract of *Citrus aurantifolia* and anti-*Mycobacterium tuberculosis* activity of some of its constituents. *Molecules*, 17(9): 11173-11184.
- Selim, S., El Kholi, I., Hagagy, N., El Alfay, S. and Aziz, M. A. 2015. Rapid identification of *Pseudomonas aeruginosa* by pulsed-field gel electrophoresis. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*, 29(1): 152-156.
- Shah, G., Shri, R., Panchal, V., Sharma, N., Singh, B. and Mann, A. S. 2011. Scientific basis for the therapeutic use of *Cymbopogon citratus*, stapf (Lemon grass). *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology and Research*, 2(1): 3-8.
- Shahat, A. A., Pieters, L., Apers, S., Nazeif, N. M., Abdel-Azim, N. S., Berghe, D. V. and Vlietinck, A. J. 2001. Chemical and biological investigations on *Zizyphus spina-christi* L. *Phytotherapy Research*, 15(7): 593-597.

- Shakeri, A., Hazeri, N., Vlizadaeh, J., Ghasemi, A. and Tavallaei, F. Z. 2012. Phytochemical screening, antimicrobial and antioxidant activities of *Anabasis aphylla* L. extracts. *Kragujevac Journal of Science*, 34(34): 71-78.
- Shalaby, N. M., Abd-Alla, H. I., Ahmed, H. H. and Basoudan, N. 2011. Protective effect of *Citrus sinensis* and *Citrus aurantifolia* against osteoporosis and their phytochemical constituents. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(4): 579-588.
- Sheet, S., Sathishkumar, Y., Choi, M. S. and Lee, Y. S. 2019. Insight into *Pseudomonas aeruginosa* pyocyanin production under low-shear modeled microgravity. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 42(2): 267-277.
- Soares, M. O., Alves, R. C., Pires, P. C., Oliveira, M. B. P. and Vinha, A. F. 2013. Angolan *Cymbopogon citratus* used for therapeutic benefits: Nutritional composition and influence of solvents in phytochemicals content and antioxidant activity of leaf extracts. *Food and Chemical Toxicology*, 60(3): 413-418.
- Soetjipto, H. 2018. Antibacterial properties of essential oil in some Indonesian herbs. *Potential of Essential Oils*, 3(7): 41-58.
- Soliman, S. S., Semreen, M. H., El-Keblawy, A. A., Abdullah, A., Uppuluri, P. and Ibrahim, A. S. 2017. Assessment of herbal drugs for promising anti-*Candida* activity. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 17(3): 1-9.
- Soonwera, M. 2015. Efficacy of essential oils from citrus plants against mosquito vectors *Aedes aegypti* (Linn.) and *Culex quinquefasciatus* (Say). *Journal of Agricultural Science and Technology*, 15(11): 669-681.
- Souza, A., Lamidi, M., Ibrahim, B., Samseny, R. A., Mounanga, M. B. and M'Batchi, B. 2011. Antihypertensive effect of an aqueous extract of *Citrus aurantifolia* (Rutaceae)(Christm.) Swingle, on the arterial blood pressure of mammal. *International Research Journal of Pharmacy and Pharmacology* 11(2): 142-148.
- Spadaro, F., Costa, R., Circosta, C. and Occhiuto, F. 2012. Volatile composition and biological activity of key lime *Citrus aurantifolia* essential oil. *Natural Product Communications*, 7(11): 1523-1526.
- Stover, C. K., Pham, X. Q., Erwin, A. L., Mizoguchi, S. D., Warrenner, P., Hickey, M. J. and Olson, M. V. 2000. Complete genome sequence of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1, an opportunistic pathogen. *Nature*, 406(6799): 959-964.

- Strateva, T. and Yordanov, D. 2009. *Pseudomonas aeruginosa*—a phenomenon of bacterial resistance. *Journal of Medical Microbiology*, 58(9): 1133-1148.
- Sudhakar, T. and Karpagam, S. 2011. Antifungal efficacy of pyocyanin produced from bioindicators of nosocomial hazards. In *International Conference on Green technology and environmental Conservation*. IEEE, 11(2): 224-229.
- Suleiman, M. H. A. 2015. An ethnobotanical survey of medicinal plants used by communities of Northern Kordofan region, Sudan. *Journal of Ethnopharmacology*, 176(9): 232-242.
- Sun, J., Deng, Z. and Yan, A. 2014. Bacterial multidrug efflux pumps: mechanisms, physiology and pharmacological exploitations. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 453(2): 254-267.
- Tadesse, A. and Alem, M. 2006. *Medical Bacteriology*. EPHTI, 6(7): 3-8.
- Tagoe, D., Baidoo, S. and Dadzie, I. 2009. A comparison of the antimicrobial (antifungal) properties of garlic, ginger and lime on *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger* and *Cladosporium herbarum* using organic and water base extraction methods. *CABI*, 9(7): 1-11.
- Tajidin, N. E., Ahmad, S. H., Rosenani, A. B., Azimah, H. and Munirah, M. 2012. Chemical composition and citral content in lemongrass (*Cymbopogon citratus*) essential oil at three maturity stages. *CABI*, 12(2): 2685-2693.
- Tang, Y. W., Stratton, C. W. and Han, X. Y. 2006. Bacterial identification based on 16S ribosomal RNA gene sequence analysis. *Advanced Techniques in Diagnostic Microbiology*, 6(3): 323-332.
- Temerk, H., Salem, W., Sayed, W. and Hassan, F. S. 2017. Antibacterial effect of phytochemical extracts from *Ziziphus-spina christi* against some pathogenic bacteria. *Egyptian Journal of Botany*, 57(3): 595-604.
- Thirumurugan, K., Shihabudeen, M. S. and Hansi, P. D. 2010. Antimicrobial activity and phytochemical analysis of selected Indian folk medicinal plants. *Steroids*, 1(7): 430-34.
- Todar, K. 2004. *Todar's online textbook of bacteriology*. University of Wisconsin-Madison Department of Bacteriology, 580 page, Wisconsin.
- Tosukhowong, P., Yachantha, C., Sasivongsbhakdi, T., Ratchanon, S., Chaisawasdi, S., Boonla, C. and Tungsanga, K. 2008. Citraturic, alkalinizing and antioxidative

- effects of limeade-based regimen in nephrolithiasis patients. *Urological Research*, 36(5): 149-155.
- Wang, Y. C., Chuang, Y. C. and Ku, Y. H. 2007. Quantitation of bioactive compounds in citrus fruits cultivated in Taiwan. *Food Chemistry*, 102(4): 1163-1171.
- Weidner, S., Powańska, A., Karamać, M. and Amarowicz, R. 2012. Extracts of phenolic compounds from seeds of three wild grapevines—Comparison of their antioxidant activities and the content of phenolic compounds. *International Journal of Molecular Sciences*, 13(3): 3444-3457.
- Weiss, E. A. 1997. *Essential oil crops*: Cab international. Wallingford: Centre for Agriculture and Bioscience International, 7(3): 86-93.
- Yaghmaie, P., Parivar, K. and Haftsavar, M. 2011. Effects of *Citrus aurantifolia* peel essential oil on serum cholesterol levels in Wistar rats. *Journal of Clinical Research in Paramedical Sciences*, 11(2): 29-32.
- Yamada, T., Hayasaka, S., Shibata, Y., Ojima, T., Saegusa, T., Gotoh, T. Kayaba, K. 2011. Frequency of citrus fruit intake is associated with the incidence of cardiovascular disease: the Jichi Medical School cohort study. *Journal of Epidemiology*, 21(3): 169-175.
- Yayan, J., Ghebremedhin, B. and Rasche, K. 2015. Antibiotic resistance of *Pseudomonas aeruginosa* in pneumonia at a single university hospital center in Germany over a 10-year period. *Plos One*, 10(10): 139836.
- Yossef, H. E., Khedr, A. A. and Mahran, M. Z. 2011. Hepatoprotective activity and antioxidant effects of *El Nabka* (*Zizyphus spina-christi*) fruits on rats hepatotoxicity induced by carbon tetrachloride. *Natural Sciences*, 9(2): 1-7.
- Zannou, A., Konfo, T. R. C., Gbaguidi, A. N. M. and Ahoussi-Dahouenon, E. 2015. Antimicrobial activity of extracts from *Cymbopogon citratus* L. and of *Mentha spicata* L. against fungal and bacterial strains isolated from peuhl's cheese (Waragashi) produced in Benin. *International Journal of Advanced Research*, 3(10): 1684-1695.
- Zhapouni, A. Z. I. Z., Farshad, S. and Alborzi, A. 2009. *Pseudomonas aeruginosa*: Burn infection, treatment and antibacterial resistance. *Scientific Information Database*, 9(2): 15-22.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı ve Soyadı : Raya Riyadh Salman AL-RUBAYE

Eğitim

Doktora	Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı	2022-2024
Yüksek Lisans	Irak Üniversitesi Eğitim Fakültesi Yaşam Bilimleri Bölümü	2018-2020
Lisans	İbn El-Haitham, Bağdat Üniversitesi Eğitim Fakültesi Yaşam Bilimleri Bölümü	2002-2006