

GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

***Rubus L.* MEYVESİNİN DNA KORUYUCU
AKTİVİTELERİNİN VE *Stenotrophomonas maltophilia*
ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

BİYOLOJİ BÖLÜMÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

AİGERİM RAKHMANZHAN KYZY

EKİM 2017

***Rubus L.* MEYVESİNİN DNA KORUYUCU AKTİVİTELERİNİN VE
Stenotrophomonas maltophilia ÜZERİNE ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

**Gaziantep Üniversitesi
Biyoloji Bölümü
Yüksek Lisans Tezi**

Danışman

Doç. Dr. İbrahim Halil KILIÇ

Aigerim RAKHMANZHAN KYZY

Ekim 2017



© 2017 [Aigerim RAKHMANZHAN KYZY]

T.C
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI

Tezin Adı: *Rubus L.* Meyvesinin DNA Koruyucu Aktivitelerinin ve *Stenotrophomonas maltophilia* Üzerine Etkilerinin Araştırılması

Öğrencinin, Adı Soyadı: Aigerim RAKHMANZHAN KYZY

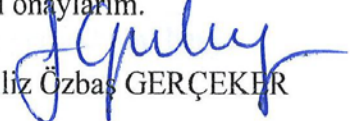
Tez Savunma Tarihi: 25.10.2017

Fen Bilimleri Enstitüsü onayı


Prof. Dr. Ahmet Necmeddin YAZICI

FBE Müdürü

Bu tezin Yüksek Lisans tezi olarak gerekli şartları sağladığını onaylarım.


Prof. Dr. Filiz Özbaş GERÇEKER

Enstitü ABD Başkanı

Bu tez tarafımda okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.


Doç. Dr. İbrahim Halil KILIÇ

Tez Danışmanı

Bu tez tarafımızca okunmuş, kapsam ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri:

Prof. Dr. Gülden PEKCAN

Doç. Dr. İbrahim Halil KILIÇ

Doç. Dr. Işık Didem KARAGÖZ

İmzası


İlgili tezin akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını ve kullanılan tüm literatür bilgilerinin referans gösterilerek ilgili tezde yer aldığını beyan ederim.

Aigerim RAKHMANZHAN KYZY

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE DNA PROTECTIVE ACTIVITY OF *Rubus L.* FRUITS AND EFFECTS ON *Stenotrophomonas maltophilia*

RAKHMANTZHAN KYZY, Aigerim

M.Sc.in Biology

Supervisor: Doç. Dr. İbrahim Halil KILIÇ

October 2017

53 page

Emerging of resistance mechanisms to antibiotics used in therapy of infectious diseases fastened searching for new antibiotics molecules. Blackberry fruits are widely used in clinical studies. The study was aimed to evaluate DNA damage protection activity of blackberry fruit and its influence on *Stenotrophomonas maltophilia* strains causing infectious diseases in hospital. Protective activity of the fruit extract against to UV and H₂O₂ induced DNA damages was studied. Plasmid pBR322 was exposed to H₂O₂ and UV lights, in different times with methanol extract prepared at different concentrations and the results were displayed on gel. The results have shown that highly concentrated *Rubus L.* fruit extracts have the property of protecting DNA from oxidative damage. Disc diffusion and microdilution test studies on *S. maltophilia* strains have shown that methanol extracts have antibacterial activity by inhibiting the *matophilia* bacterias. The results obtained can be evaluated in the future in cosmetic industry as a cream and as well as a new antibiotic molecule in pharmaceutical industry.

Key Words: *Stenotrophomonas maltophilia*, *Rubus L.*, Minimum inhibitor concentration, DNA, Ultraviolet light.

ÖZET

***Rubus L.* MEYVESİNİN DNA KORUYUCU AKTİVİTELERİNİN VE**

***Stenotrophomonas maltophilia* ÜZERİNE ETKİLERİNİN**

ARAŞTIRILMASI

RAKHMANZHAN KYZY, Aigerim

Yüksek Lisans, Biyoloji Bölümü

Tez Yöneticisi: Doç.Dr. İbrahim Halil KILIÇ

Ekim 2017

53 sayfa

Enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde kullanılan antibiyotiklere giderek artan çoklu direnç mekanizmalarının gelişmesi yeni antibiyotik moleküllerinin arayışını hızlandırmıştır. Çalışmada, böğürtlen (*Rubus L.*) meyvesi'nin DNA koruyucu aktivitesi ve hastane enfeksiyon etkeni olan *Stenotrophomonas maltophilia* suşları üzerine etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan meyve metanol özütü ile pBR322 plazmid DNA'sı farklı sürelerde H₂O₂ ve UV ışığına maruz bırakılmış sonuçlar jelde görüntülenmiştir. Elde edilen sonuçlar, yüksek konsantrasyonlu *Rubus L.* meyve özütlerinin oksidatif nedenli hasarlardan DNA'yı koruma özelliğinde olduğunu ortaya koymuştur. *S. matophilia* suşları üzerinde yapılan disk difüzyon ve mikrodilüsyon test çalışmaları sonucunda, metanol özütlerin bakterileri inhibe ederek antibakteriyal etki gösterdiği tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlar, ileride kozmetik endüstrisinde krem yapımı ve yeni antibiyotik molekülü olarak değerlendirilebilir.

Anahtar Kelimeler: *Stenotrophomonas maltophilia*, *Rubus L.*, Minimum inhibitör konsantrasyon, DNA, Ultraviyole ışınları.



Kıymetli aileme.....

TEŞEKKÜR

Bu çalışma süresince tüm bilgilerini benimle paylaşmaktan kaçınmayan, her türlü konuda desteğini benden esirgemeyen ve tezimde büyük emeği olan, Gaziantep Üniversitesi Biyoloji Bölümü Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi, danışman hocam Doç. Dr. İbrahim Halil KILIÇ'a, tez çalışmalarım boyunca yardımlarını esirgemeyen, sayın Prof. Dr. Mehmet ÖZASLAN'a, sayın Yard. Doç. Dr. Sibel Bayıl OĞUZKAN'a ve sayın Doç. Dr. Işık Didem KARAGÖZ'e sonsuz minnet ve teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca yüksek lisans dönemi boyunca yardımlarını esirgemeyen yurt dışı Türkler ve akraba topluluklar başkanlığı'na, Neşe ERDOĞAN'a, Bekir Sıddık KURT'a ve Sami Serhat TONUS'a çok teşekkür ederim.

Beni hayatım boyunca destekleyen aileme ve arkadaşlarıma sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ABSTRACT.....	v
ÖZET	vi
TEŞEKKÜR.....	viii
İÇİNDEKİLER.....	ix
TABLolar LİSTESİ	x
ŞEKİLLER LİSTESİ	xi
SEMBOLLER LİSTESİ	xii
KISALTMALAR LİSTESİ	xiii
BÖLÜM 1	1
GİRİŞ	1
1.1. Böğürtlen (<i>Rubus L.</i>) Bitkilerinin Genel Özellikleri	2
1.1.1. Böğürtlen Meyvelerinin Fiziko-Kimyasal Özellikleri	5
1.1.2. Meyvelerin İçeriği	6
1.1.3. Böğürtlen Kullanımı ve Sağlık Açısından Değerlendirilmesi	7
1.2. DNA Koruyucu Aktivite	9
1.3. Antibiyotikler	10
1.3.1. Antibiyotiklerin Sınıflandırılması	10
1.3.2. Antibiyotiklere Direnç	12
1.4. <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> 'nın Genel Özellikleri	13
1.4.1. Antibiyotiklere Direnci	15
1.4.1.1. Trimetoprim-Sulfametoksazol (ko-trimoksazol) Direnci	15
1.4.1.2. Beta-Laktam Grubu Antibiyotiklere Direnç	16
1.4.1.3. Aminoglikozid Direnci	16
1.4.1.4. Kinolon Direnci	16
1.4.1.5. Diğer Direnç Mekanizmaları	16
1.4.2. <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> Kaynaklı Hastalıklar	17

1.5. Antibiyotik Duyarlılık Testi	18
1.5.1. Disk Difüzyon Testi	19
1.5.2. Mikrodilüsyon Testi	19
BÖLÜM 2	21
KAYNAK ÖZETLERİ	21
BÖLÜM 3	26
MATERYAL VE METOD	26
3.1. Böğürtlen Meyve Özütünün Hazırlanması	26
3.1.1. Materyal	26
3.1.2. Metod	26
3.2. DNA Koruyucu Aktivitesinin Belirlenmesi	26
3.2.1. Materyal	26
3.2.2. Metod	26
3.3. Böğürtlen Meyve Özütünün <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> Üzerinde Disk Difüzyon Testi	28
3.3.1. Materyal	28
3.3.2. Metod	28
3.4. Meyve özütünün <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> Üzerinde Minimum İnhibitör Konsantrasyonunun Belirlenmesi	29
3.4.1. Materyal	29
3.4.2. Metod	29
BÖLÜM 4	30
BULGULAR	30
BÖLÜM 5	36
TARTIŞMA VE SONUÇ	36
KAYNAKLAR	40

TABLÖLAR LİSTESİ

Sayfa

Tablo 1.1. 100 g böğürtlende besin değeri	6
Tablo 1.2. Böğürtlendeki toplam polifenol, antosiyanin ve askorbik asit miktarı	7
Tablo 4.1. Çalışmada uygulanan meyve özlü konsantrasyonlar ve diskler etrafında oluşan zon çaplarının değerlendirilmesi	33
Tablo 4.2. Mikrodilüsyon testinde uygulanan meyve özlü konsantrasyonlar ve onların <i>S. maltophilia</i> 'ya karşı etkilerinin değerlendirilmesi.....	35

ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1.1. <i>S. maltophilia</i> , SMDP92 suşu ve onun flagella'larının Elektronik mikroskopta görünümü	13
Şekil 3.1. MHA besiyerindeki <i>S. maltophilia</i> 'nın 3 no'lu suşu	28
Şekil 4.1. Jel dökümantasyon sisteminde görüntülenen bantlar.....	31
Şekil 4.2. Farklı konsantrasyondaki meyve özütünün 1 no'lu suşa karşı antibiyotik etkisi	32
Şekil 4.3. Farklı konsantrasyondaki meyve özütünün 3 no'lu suşa karşı antibiyotik etkisi	33
Şekil 4.4. Mikrodilüsyon testi sonucunda gözlemlenen bulanıklık dereceleri	34

KISALTMALAR LİSTESİ

EUCAST	European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
DNA	Deoksiribonükleik asit
<i>S. maltophilia</i>	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
MHA	Mueller Hinton Agar
Mg	Miligram
µl	Mikrolitre
g	Gram
UV	Ultraviole ışınları
SXT	Sensient Technologies Corporation
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
MİK	Minimum inhibitör konsantrasyon
Cfu	Coloni form unit
WHO	World Health Organization (Dünya Sağlık Örgütü)

BÖLÜM 1

GİRİŞ

İnfeksiyon hastalığı yapan etkenler arasında önemli yer tutan bakterilere karşı mevcut antibiyotikler bulunmasına rağmen, yıllar içerisinde gerekli gereksiz her durumda kullanılmalarına bağlı olarak antibiyotik direnci gibi önemli bir sorun ortaya çıkmıştır. Hastane dışında gelişen toplumsal infeksiyonların birçoğunda antibiyotik tedavisi ile iyi sonuçlar alınabilmektedir. Ancak, nozokomiyal infeksiyonlar söz konusu olunca antibiyotik tedavisinin sonuçları o kadar yüz güldürücü olmamaktadır. Diğer yandan tedaviye direnç gelişmesi riski yüksek olup, bu risk en yüksek oranda nozokomiyal infeksiyonlarda gözlenmektedir. Bu arada, nozokomiyal infeksiyonların çoğu kez *Stenotrophomonas maltophilia* gibi çoğul dirençli bakterilerle gelişmesi nedeniyle antibiyotik tedavileri yüksek maaliyetli olarak değerlendirilmektedir. Önemli bir diğer husus da, altta yatan sorunları nedeniyle hastanede yatmakta olan, bu sorunların tedavisi amacıyla invaziv girişimlere maruz kalan, hastanede kalış süreleri uzamış hastalarda bu tür infeksiyonların meydana gelmiş olmasıdır. Günümüzde antibiyotiklere duyarlı ve dirençli bakteri suşlarının coğrafik bölgelere, hatta hastanelere göre değişkenlik gösterdiğini bilmekteyiz. Bu nedenle sık aralıklarla direnç araştırmaları yapılmalı ve ilgili bakteri ile ilaçlar arasındaki duyarlılık-direnç oranları saptanmalıdır. Yeni antibiyotik moleküllerin aranışında, tıbbi bitkiler önemli bir doğal kaynaklardandır (Zer vd., 2009; Alves vd., 2015).

Bu çalışmanın amacı, böğürtlen meyvelerinin metanol özütünün DNA koruyucu aktivitesin belirleyerek kozmetik alanında kullanılabilirliğini öne sürmek ve özütlerin bir nozokomiyal bakteri türü olan *Stenotrophomonas maltophilia* üzerinde antibiyotik etkisini saptayarak yeni antibiyotik moleküllerinin bulunmasına katkı sağlamaktır.

1.1. Böğürtlen (*Rubus L.*) Bitkilerinin Genel Özellikleri

Rubus L. *Rosales* takımının, *Rosaceae* familyasına ait *Rosoideae* alt familyasının, *Rubus* cinsi içerisinde incelenmektedir. *Rubus* cinsi *Ídeabatus* (ahududular) ve *Eubatus* (böğürtlenler) olmak üzere iki alt cinse ayrılmaktadır. *Rubus fruticosus L.* yani böğürtlen, *Eubatus* alt cinsine girmektedir (Ağaoğlu, 1986).

Böğürtlen, doğal ve tarımsal ekosistemlerin önemli bir yabancı bitkisidir (Poling, 1996). Böğürtlenler çöl iklimi dışındaki tüm iklimlerde büyümesine rağmen genel olarak kuzey yarım kürede bulunan karmaşık yapılı bitkilerdir (Ağaoğlu, 1986). Böğürtlenin anavatanı Güney ve Batı Avrupa olup, Alplere 800 metreye kadar yüksekliklerde böğürtlen çeşitlerine rastlamak mümkündür (Demirsoy vd., 2006b). Kuzey Amerika, Güney Amerika, Havai, Avrupa, Afrika ve Asya'da 400-500 ayrı böğürtlen türünün olduğu tahmin edilmektedir (Poling, 1996). Üzümsü meyveler grubunda bulunan böğürtlenin dünya üzerinde doğal olarak yetişen 350'den fazla tür tespit edilmiştir (Recht, 1995). Böğürtlen, Türkiye'de büyük ölçüde yabancı olarak yetiştiğinden herhangi bir istatistiksel bilgi mevcut değildir (Erenoğlu ve Öztürk, 2002).

Böğürtlen ılıman iklim meyve türü olmakla beraber yetiştiriciliği belirli ölçülerde subtropik iklim bölgelerinde de yapılabilmektedir. İklim istekleri bakımından fazla seçici olmayan böğürtlenlerin değişik iklim şartlarına kolayca adapte olduğu görülür. Böğürtlen genellikle bol güneşli, rüzgardan korunmuş, hasat zamanı yağmur olmayan, yeterli toprak nemi olan ve kışları ılık geçen yerlerde rahatlıkla yetiştirilebilir (Barut, 2004).

Böğürtlenin kültür çeşitleri ise hemen hepsi Kuzey Amerika kökenlidir (Demirsoy vd., 2006b). Az sayıda olan Avrupa kültür çeşitleri, *Rubus laciniatus*, *Rubus discolor* (Theodor Reimers) ve *Rubus ulmifolius* türlerinden elde edilmiştir. Böğürtlen Avrupa'da 17 yüzyılda, Amerika'da 19 yüzyılda kültüre alınmış, Türkiye'de ise ilk deneme çalışmaları 1960'lı yıllarda Yalova'da başlamıştır (Ağaoğlu, 1986). Yabancı bitki olarak görülen böğürtlen bir süre tarım araştırmacıları tarafından imha edilmesi gereken bitkiler listesinde yer almıştır. Modern bahçe böğürtleni çeşitlerinin temelini oluşturan yabancı hibrit böğürtlenleri de zaman içinde yine araştırmacılar tarafından keşfedilmiştir (Poling 1996). 1930'lu

yıllarda dikensiz böğürtlen bulunmuş olup, son yıllarda değişik bölgelere adapte olabilen yüksek kaliteli böğürtlen çeşitleri geliştirilmiştir (Demirsoy vd., 2006b). Elde edilen bu çeşitlerin büyümesi kuvvetli olup, kaliteli ve iri meyve oluşturmaktadırlar (Ağaoğlu, 1986).

Dünya böğürtlen üretimi 154.000 tondur. Bu üretimin yaklaşık % 50'si Amerika ve % 30'da Avrupa kıtasında gerçekleşmektedir (Anonim, 2006b). Dünya böğürtlen üretiminde ABD (35 000 ton), Meksika (30 000 ton), Çin (29 000ton), Sırbistan (28 000 ton) ve Macaristan (13 000 ton) en önemli ülkelerdir. Üretim alanı bakımından gelecek 10 yıl içinde en büyük gelişmeyi Romanya, Polonya, Meksika, Çili, Macaristan, Çin ve ABD'nin göstermesi beklenmektedir (Strik vd., 2006).

Türkiyenin hemen her bölgesindeki doğal florada, yabani böğürtlenlere rastlamak mümkündür. Böğürtlen üretimi Silifke, Adana ve Antalya'daki bahçelerde ekonomik olarak yapılmaktadır (Erenoğlu ve Öztürk, 2002). Hemen bütün bölgelerde bir veya birkaç türün farklı formlarına rastlanmaktadır. Böğürtlenin yabani formlarının Türkiyenin hemen hemen her yerinde yetiştiği, ancak daha çok Orta Anadolu ve Karadeniz bölgelerinde yoğun olarak bulunduğu bildirilmektedir (Gerçekçioğlu, 1996). Bu bölgelerin Çorum, Amasya, Tokat, Yozgat, Gümüşhane ve Rize dolaylarında, özellikle 500 m. rakımın üzerindeki serin ve nemli alanlarında yaygın olarak bulunmaktadırlar (Pehluvan ve Güleriyüz, 2000).

Böğürtlen iki yıldan fazla yaşayan çalı formundaki bitkilerdir ve çoğu çeşitleri dikenli gövdelere sahiptir. Sürgünleri iki, kökleri ise çok yıllıktır. Kök boğazında bulunan adventif tomurcuklardan çıkan sürgünler önce otsu karakterde gelişirler, daha sonra odunlaşırlar. Bunların gelişimi ilkbahardan sonbahara kadar devam eder. İkinci vejetasyon periyodunda bu sürgünler az odunlaşabilen yan sürgünler meydana getirerek dallanırlar. Bu yan dalların uçlarında veya koltuklarında çiçek salkımları oluşmaktadır. Çeşide bağlı olarak sürgünler ve yapraklar üzerinde az veya çok kalın ve değişik uzunlukta dikensi tüyler bulunmaktadır.

Böğürtlenin küçük meyvelerine 'bramble fruits', endokarplarına 'drupelet' ve tohumlarına 'piren' adı verilir (Ağaoğlu, 1986; Bobrowski vd., 1996). Böğürtlen bitkisi herhangi bir destek olmaksızın dik büyüyen, yarı sürünücü ve sürünücü tiplere kadar çeşitlilik gösterir (Poling 1996). Diğer alt cins olan *Idaebatus*

(ahududu)'tan farkı olarak meyve sapı meyve içinde kalacak şekilde kopar. Ayrıca böğürtlen çubuklarının uzaması sınırsızdır. El ayası şeklinde yapraklara sahiptir (Gerçekcioğlu, 1999a).

Dikine büyüyen böğürtlenlerde kısa sürede oluşan kök sürgünleri ile üretim mümkündür. Bu işlem ilkbaharda kök sürgünlerinin küçük bir kök parçası ile sökülerek uygun görülen yere dikilmesinden ibarettir. Kök sürgünlerinin daimi yerlerine dikilmeden önce bir yıl fidanlıklarda büyütülmeleri, daha kuvvetli bitkiler oluşturması bakımından iyi sonuçlar vermektedir (Kaşka ve Yılmaz 1974). Ekonomik ömrü 15-20 yıl kadardır. İyi bakımlı bahçelerde 1 dekar alandan en az 2 ton ve daha fazla ürün alınabilmektedir (Barut, 2004). Böğürtlen yetiştiriciliği onlarca yıl önce Marmara bölgesinde başlamış ve şu anda Akdeniz Bölgesi'nin Hatay, Adana illerinde ve Karadeniz Bölgesinde yeni bir ürün olarak kullanıma girmiştir (Kafkas vd., 2006). Üzümsü meyve türlerinden *Rubus* cinsinin oldukça geniş sayıda alt cinsi vardır. Ancak en fazla böğürtlen (*Rubus fruticosus* L.) türünün üretimi yapılmaktadır. Türkiyede polikültür tarımın uygulandığı birçok bölgemizde üzümsü meyvelerin önemi ve yetiştiriciliği gittikçe önem arz etmektedir (Erenoğlu ve Öztürk, 2002).

Böğürtlenin diğer isimleri 'dağ çileği', 'ağaç çileği', 'sultan böğürtleni' ve 'İdea dağı böğürtleni'dir (Ağaoğlu, 1986). Dünyada ve Türkiye'de tanınan ve yetiştiriciliği yapılan başlıca böğürtlen çeşitleri olarak, "Black Satin", "Dirkson Thornless", "Arapaho", "Cherokee", "Theodor Reimers", "Boysenberry", "Chester", "Nessy", "Darow", "Lawton", "Navaho", "Bursa-I", "Bursa-II" ve "Bursa-III" sayılabilir (Barut, 2004). Böğürtlenlerin ayrımında Avrupa Böğürtlenleri ve Kuzey Amerika böğürtlenleri olmak üzere iki büyük grup vardır. Avrupa böğürtlenleri iki büyük seksiyona ayrılır: Moriferi ve Coryli folii. Günümüzde tanınan beş diploit türü vardır. Bunlar *Rubus bollei*, *Rubus ulmi*, *Rubus fulius*, *Rubus tomentosus* ve *Rubus moschus*"tur. Kuzey Amerika böğürtlenleri (yabani) de 4 gruba ayrılır. 1- Eldorado ve Early Harvest çeşitlerinin bulunduğu dik ve yarı dik karakterli doğu grubu, 2- *Procumbentes* sürünücü doğu böğürtlenleri veya daha çok *Lucretia* benzeri Dewberry"ler, 3- *Triviales*, sürünücü güneydoğu böğürtlenleri veya Manatee"nin dahil olduğu Güney Dewberry"ler, 4- Ursuni, Kuzey Amerika Pasifik

Sahili sürünücü böğürtlenler grubu ki Loganberry grubunu oluşturur (Gerçekcioğlu, 1999a).

1.1.1. Böğürtlen Meyvelerinin Fiziko-Kimyasal Özellikleri

Meyvelerin fiziko-kimyasal özellikleri, meyve kalitesini tanımlayan anahtar parametrelerdendir. İyi bir meyve aroması şeker ve organik asitlerin daha yüksek seviyelerinden kaynaklanır (Yılmaz vd., 2009). Meyvelerdeki toplam asitleri temsil eden titrasyon asitleri, pH ve şekerini temsil eden çözünür katılar, meyvelerin ve ürünlerin tatlılığına ve asiditesine katkıda bulunurlar. Türkiye'nin farklı bölgelerindeki bahçelerde yetişen böğürtlen çeşitlerinin çözünür katıları %8.98-%20.2, ağırlığı 2.0-6.6 g, pH 3.3-3.6 ve asiditesi %1.0-%3.1'iken, yabancı böğürtlenlerin ağırlığı 1.5-2.1 g, toplam çözünür katıları %11.3-%13.1, pH 3.33-3.35 ve asiditesi %0.7-%1.0 olarak saptanmıştır (Ağaoğlu vd., 2007; Gerçekcioğlu vd., 2003). Meyve asitliliği, organik asitler ve özellikle de malik asidin varlığına bağlıdır. Çözünebilir katı içeriği ile titrasyon asitliği arasındaki denge şekerler ve organik asitler oranı ile belirlenir ve bu meyvenin lezzetini belirlemektedir (Dimica vd., 2012).

1.1.2. Meyvelerin İçeriği

100 g böğürtlen meyvesindeki bazı bileşenlerin besin değeri Tablo 1.1’de gösterilmiştir.

Tablo 1.1. 100 g böğürtlende besin değeri.

Bileşen	Besin Değeri	Günlük alım oranı
Enerji	43 Kcal	%2
Karbonhidrat	9.61 g	%7
Toplam Yağ	0.49 g	%2
Protein	1.39 g	%2
Diyet Lifi	5.3 g	%14
Magnezyum	20 mg	%5
Potasyum	162 mg	%3
Kalsiyum	29 mg	%3
Sodyum	1 mg	%0
Vitamin C	21 mg	%35
Vitamin A	214 IU	%7
Vitamin K	19.8 µg	%16.5
Vitamin E	1.17 mg	%8

Buna ek olarak, 100 g böğürtlende folat 25 µg, piridoksin 0.030 mg, niasin 0.646 mg, pantotenik asit 0.276 mg, tiamin 0.020 IU, bakır 165 µg, demir 0.62 mg, çinko 0.53 mg, manganez 0.646 mg, selenyum 0.4 mg, karoten –β 128 mg, lutein zeaksantin 118 µg olarak tespit edilmiştir (USDA, 2014).

Meyvelerin sağlık ve bağışıklık artırıcı etkileri, onların içerdiği fenolik asit, flavonoid, karotenoid, antosiyanin, vitamin ve minerallerin konsantrasyonlarına bağlıdır (Stajcic vd., 2012). Çeşitli böğürtlenlerdeki polifenol, antosiyanin ve askorbik asit miktarı Tablo 1.2’de karşılaştırılarak gösterilmiştir.

Tablo 1.2. Böğürtlendeiki toplam polifenol, antosiyanin ve askorbik asit miktarı.

Çesit sayısı	Polifenol (mg/100g)	Antosiyanin (mg/100g)	Askorbik Asit (mg/100g)
4	2030	134-152	15.22.
7	289.3	88.7	12.9
27	460	141	NR
2	417-555	110-122	NR
6	NR	NR	14.9
3	226	152.8	NR
1 (Chester)	361	NR	NR
5	320	80	20.4
4	0.75	115	NR
2	NR	NR	6

(Pentelidis vd., 2007; Benvenuti vd., 2004; Moyer vd., 2002; Sellappan vd., 2002; Jiao ve Wang, 2000; Wang ve Lin, 2000; Heinonen vd., 1998; Rotundo vd., 1998; Costantino vd., 1992; Romero vd., 1992).

1.1.3. Böğürtlen Kullanımı ve Sağlık açısından Değerlendirilmesi

Rubus L. tıbbi, kozmetik ve besleyici değeri olan meyvesi ile ünlüdür (Chopra vd., 1956). Meyvelerinin hoş kokusu, çekici görünüşleri, renkleri ve tatları dolayısıyla son yıllarda aranan önemli bir meyve haline gelmiştir (Redalen, 1990). Üzümsü meyveler grubunda yer alan böğürtlenlerin gıda endüstrisinde de çok çeşitli kullanım alanları vardır. Bu nedenle diğer meyveler arasında çok özel bir yere sahiptir. Ayrıca böğürtlenler bünyelerinde bulunan bazı pigmentler, fenoller, flavanlar, flavonoidler, vitamin ve liflerin diğer meyve türlerine göre konsantrasyon bakımından çok yüksek oldukları belirtilmektedir (Pehlivan ve Güleriyüz 2004). Böğürtlenler dondurularak ve diğer işleme yöntemleriyle işlenerek ihraç edilebilmesinin mümkün olması bu meyve türlerinde üretim artışına yol açmıştır

(Anonymous, 2011). Dalında tam olgunlaşmış böğürtlenin taze olarak tüketilmesi yeme lezzeti bakımından tavsiye edilmektedir. Taze olarak tüketilmesindeki en önemli faktör özellikle insan beslenmesindeki rolüdür. Böğürtlen, taze olarak tüketilmesinin yanı sıra pastacılık, marmelat, reçel, meşrubat, likör, meyveli yoğurt, çay, dondurma ve kurutma endüstrisi tarafından işlenmekte olup, ayrıca derin dondurma ve konserve işlemlerine uygunluğu nedeniyle de pazarda yer almaktadır. Böğürtlen, içerdiği pektin maddesi nedeniyle özellikle jöle yapımında aranan meyvelerdendir (Barut 2004). Bu nedenle öteki meyveler arasında çok özel bir yere sahiptir (Pehlivan ve Güleriyüz, 2000).

Böğürtlen yaklaşık 8000 yıl boyunca gıda türü olarak, şifalı bir bitki olarak ise buz devri'nin hemen sonrasında beri bilinmektedir (Sarkar ve Ganguly, 1978). Böğürtlenin insan sağlığı açısından değerinin gün geçtikçe daha iyi anlaşılması sonucunda da böğürtlen fidanına olan gereksinim her geçen gün artmaktadır (Pehlivan ve Güleriyüz 2004). Böğürtlen antioksidan, anti-kanserojen, anti-inflamatuar, antimikrobiyal, anti-diyabetik, anti-diyare ve antiviral gibi çeşitli farmakolojik aktivitelere sahip flavonoidler, glikozitler, terpenler, asitler, tanenler, vitaminler, steroidler, mineraller ve lipidler içermektedir (Rios vd., 1987). Az miktarda A, B, C vitaminleri ve diyet lif'i (çözülen veya çözülmeyen) yapıları çok büyük değere sahiptir. Örneğin ahududu ve böğürtlenler her 100 g da 4–6 g lif içermektedir. Bu oran özellikle muz, armut ve elma gibi birçok meyve türünden daha yüksektir. Yüksek miktarda lif alımının kolon kanseri ve kalp hastalıklarına karşı koruyucu etki yaptıkları belirlenmiştir (Harris, 2002). Eskiden bitkinin metanol özütü, yara iyileşmesi, öksürüğü tedavi etmek için ve antiseptik, dezenfektan olarak kullanılmıştır (Rios vd., 1987). Bu meyvelerde doğal olarak doymuş yağlar, kolesterol, kalori ve sodyum düşüktür (Harris, 2002). Messegue (1978), olgun böğürtlenlerin bağırsakları yumuşattığını, hamplarının ise peklik verip ishali kestiğini saptamıştır. Bu bakımdan, peklik çekenlerin olgun iyice kararmış meyveleri, ishal olan kişilerin de yeşillerini yemesi gerekmektedir. Yeni doğmuş çocuklarda sık görülen ishal ve peklik için böğürtlenin bu özelliğinden yararlanılmalıdır. Olgun böğürtlen şurupları göğüs ve solunum yolları rahatsızlıklarında yararlıdır. Meyveleri ayrıca kan yapıcı etkiler taşır ve midenin kuvvetlenmesini sağlar.

Böğürtlenin dikenli yapraklarına gelince, ilkbaharda taze toplanıp, kurutulmaya bırakılmalıdır. Kuru yapraklar çeşitli şekillerde kullanılabilir. Kaynatılarak hazırlanmış şurupları (%5–14 tanen içerdiğinden) ishal ve dizanteriye iyi geldiği söylenmektedir. Gargarası boğaz ağrılarını keser. Diş etlerinin iltihaplanmasını durdurur, kuvvetlenmelerini sağlar. Apandisit iltihaplanmasında, kanın temizlenmesinde ve gözlerin çapaklarının temizlenmesinde faydalıdır (Ağaoğlu, 1986). Birçok geleneksel kullanımlar doğrulanmış olmasına rağmen, in vitro ve in vivo olarak klinik öncesi ve klinik çalışmalarla bitkinin etkinliklerini değerlendirmek gereklidir (Riaz vd., 2011).

1.2. DNA Koruyucu Aktivite

Endojen ve ekzojen faktörlerin etkisi, genetik materyalin moleküler bütünlüğünde meydana gelen değişikliklere neden olabilir. Bu durum “DNA hasarı” olarak adlandırılmaktadır (Atmaca ve Aksoy,2009).

Stratosfer tabakasının tahrip olmasıyla dünyaya ulaşmış UV (ultraviyole) ışınları, özellikle cilt kanseri ve cilt yaşlanması gibi hastalıklara neden olmaktadır (Tepe vd., 2011). İnsan derisi reaktif oksijen türlerini baskılayan enzimatik ya da non-enzimatik antioksidan savunma sistemlerine sahiptir. Bu mekanizmalar VIS (görünür ışınlar) ve UV ışınlarının zararlı etkilerinin azalması için katkıda bulunmaktadır (Roche vd., 2010). Ancak, UV ışınlarına maruz kalma hücresel antioksidanların azalmasına ve reaktif oksijenlerin neden olduğu UV-kaynaklı oksidatif DNA hasarına yol açabilmektedir (Gutteridge, 1984). Reaktif oksijen türleri DNA üzerinde şeker ve baz modifikasyonları, bazik olmayan bölgeler, DNA-protein çapraz bağlanması, tek ve çift zincir kırıkları gibi hasarlara sebep olduğu bildirilmiştir (Atmaca ve Aksoy,2009). Bundan başka H₂O₂ (Hidrojen peroksit)’den de oksidatif DNA (8OhdG) hasarına neden olduğu in vitro olarak gösterilmiştir (Yokuş ve Çayır, 2002).

Bazı çalışmalarda antioksidanların kanser büyümesini azaltabildikleri gösterilmiş ve reaktif oksijen türleri ile indüklenen DNA hasarının fitokimyasallar tarafından kontrol edilebileceği tespit edilmiştir (Karaca ve Güder, 2009).

Oksidatif DNA hasarlarını önlemek için yeni bileşiklere ihtiyaç duyulmaktadır. Bu konuyla ilgili tıbbi ve aromatik bitkilerden elde edilen özütler üzerinde ayrıntılı çalışmalar yapılmaktadır (Feig vd., 1994). Örneğin; *Cistus incanus* ve *C. monspeliensis*'den elde edilen su özütlerinin DNA hasarını önleme etkisi ve antioksidan aktiviteleri araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre her iki bitkinin de doza bağımlı serbest radikal yakalama kapasitelerinin varlığı ve ayrıca DNA hasarını önleme kapasitelerinin de yüksek olduğu bulunmuştur (Attiguile vd., 2000).

1.3. Antibiyotikler

Antibiyotikler, bakteri, mantar gibi canlı mikroorganizmalar tarafından üretilen veya sentezle hazırlanan maddelerdir. Bu canlıların antibiyotik üretilip bulundukları ortama salma nedenleri diğer türlerle besin yarışı içinde olmalarıdır. Bu yüzden, bulundukları ortamda kendilerinden başka organizmaların yok olmalarını ya da daha fazla büyümelerini engelleyen antibiyotik maddeleri üretirler. Antibiyotikler virüslere, mantarlara ve protozoalara etki etmezler. Bu yüzden antibiyotik ilaçlar yalnızca bir bakteri enfeksiyonu söz konusu olduğunda işe yarar. Antibiyotikler günümüzde sentetik olarak da üretilmektedir. Üretimi yapan mikroorganizmalar genellikle mantarlardır (örneğin Penisilin) ve antibiyotiklerin keşfi de bu sayede olmuştur (Hoel, 1997). Literatürlerde ve tedavide, 1928 yılında Alexander Fleming'in penisilini keşfetmesiyle başlayan pek çok antibiyotik türü bulunmaktadır (Karabay ve Hoşoğlu, 2008). Antibiyotikler insan ve hayvan tedavilerinde, ilaç endüstrilerinde ve hastaneler gibi pek çok alanlarda kullanılmaktadır (Karcı vd., 2010).

1.3.1. Antibiyotiklerin Sınıflandırılması

Antibiyotikleri çeşitli kriterlere göre sınıflandırmak mümkündür. Antibiyotikler mikroorganizmalar üzerindeki etki derecelerine, etki mekanizmalarına, farmakokinetik özelliklerine ve kimyasal yapılarına göre sınıflandırılmaktadır (Koç-Türkoğlu, 2008).

Bütün bakterilerin çoğalma devresi yavaş gelişme, hızlı gelişme ve dinlenme dönemlerin kapsamaktadır. Antibiyotikler bakterilerin hızlı ve yavaş gelişme dönemlerinde etki gösterirler.

Antibiyotikler düşük yoğunlukta bile ya bakterilerin öldürülmesi ya da bakterilerin gelişimi ve üremesinin durdurulması gibi etki güçleri gösterirler (Schugert, 2001).

Bakteriyostatikler: Bakteri hücrelerinin gelişmesini veya üremesini önlerler. Vücudun savunma mekanizmaları, gelişmesi ve üremesi duran bakterileri kolaylıkla yok ederler. Bakteriyostatik etki gücünün göstergesi “Minimum İnhibitör Konsantrasyonu (MİK)” dur.

Makrolitler

Linkozamidler

Tetrasiklinler

Metronidazol

Sülfonamidler

Mikonazol

Amfenikoller

Bakterisidler: Bakteri hücrelerini yok ederler. Ağır tahribatlar yaratarak, bakteri hücrelerini öldürürler. Bakterisid etki gücünün göstergesi “Minimum Bakterisid Konsantrasyon = MBK” dur (Akkan, 1997).

Beta-Laktamlar

Poliipeptidler

Penisilinler

Florokinolonlar

Sefalosporinler

Vankomisin

Monobaktamlar

Rifamisin

Karbapenemler

Teikoplanin

Beta-laktamaz İnhibitörleri:

- ☐ Tazobaktam
- ☐ Sulbaktam
- ☐ Klavulanik Asid

Antibiyotikler etki alanlarına göre de tanımlanmaktadırlar. Gram olumlu ve gram olumsuz bakterileri inhibe eden ya da öldüren antibiyotiklere geniş spektrumlu, sadece gram olumlu ya da gram olumsuz bakterilere karşı etkili olanlara dar

spektrumlu, basit organizma veya hastalığa karşı etkili olanlara ise sınırlı spektrumlu antibiyotikler denilmektedir.

Antibiyotiklerin etki mekanizmalarına göre:

1. Bakterilerin hücre duvarı sentezini inhibe edenler
2. Bakterinin genetik yapısını (DNA, m-RNA sentezi) bozanlar
3. Protein sentezini inhibe edenler
4. Sitoplazmik membranı etkileyenler
5. Bakterilerde ara metabolizmayı bozanlar olarak sınıflandırılmaktadır (Akkan vd., 2003; Dökmeci vd., 1992; Kayaalp, 1991).

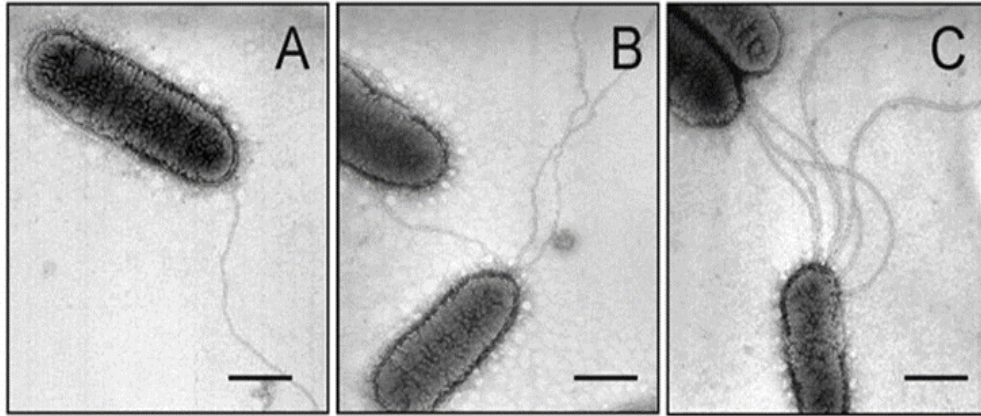
1.3.2. Antibiyotiklere Direnç

Hastane infeksiyonlarında zaman zaman gram olumlu bakterilerle gram olumsuzlar arasında dengeler değişse de her zaman gram olumsuz basiller sorunlu mikroorganizmalar olarak önemlerini korumuştur. Dirençli bakterilere özellikle antibiyotiklerin yoğun şekilde kullanıldığı yoğun bakım ünitelerinde daha sık rastlanmaktadır (Gülay, 2002). Antibiyotiklerin kullanımı sonucunda mikroorganizmaların direnç geliştirmesi antibiyotiklerin keşfi kadar eskidir. Önceleri hastanelerde sorun olan dirençli bakteriler günümüzde toplum kökenli infeksiyonların tedavisinde de ciddi sorun yaratır hale gelmiştir. Yakın zamana kadar dirençli patojenleri tedavi edecek antibiyotikler sürekli gelişim içinde olduğundan klinisyenler her zaman tedavi edici ilaçları elde edebiliyorken günümüzde bakteri direnci öyle hızlı gelişmektedir ki ilaç endüstrisi bu hıza yetişemez hale gelmiştir (Çağatay vd., 2001; Levy, 1998). Antibiyotiklere artan direnç yeni antibiyotik moleküllerinin aranışını hızlandırmıştır. Bu arayış içerisinde doğal kaynaklar önemli bir dal olarak bilinmektedir. Doğal kaynaklardan antimikrobiyal ajanların keşfi; geleneksel bitki özütlerinin değerlendirilmesine dayanır (Alves vd., 2015).

1.4. *Stenotrophomonas maltophilia*'nın Genel Özellikleri

Stenotrophomonas maltophilia aerop, nonfermentatif, gram negatif ve basil şeklinde olan bir bakteri türüdür. Hastanede, özellikle de yoğun bakım ünitelerinde (YBÜ) yatan hastalarda ciddi enfeksiyonlara neden olan fırsatçı bir patojendir (Dülger ve Bektaş, 2007).

S. maltophilia ilk kez 1943 de J. L. Edwards tarafından plevral sıvıdan izole edilmiş ve “*Bacterium bookeri*” olarak adlandırılmıştır. Latince “malt seven ve üremesi için çok az besine ihtiyaç duyan bakteri” anlamına gelmektedir (Denton ve Kerr, 1998). Bakteriler düz ya da hafif kıvrık şeklinde olup, 0.5-1.5 µm uzunluğundadır. Tek veya çiftler halinde görülebilirler ve spor oluşturmazlar. Polar flajelları olduğundan hareketli gelirler (Denton ve Kerr, 1998; Looney vd., 2009). 40° C'nin üzerinde ve 5° C'nin altında üreyemez olup, üreme için ortalama en iyi sıcaklık 35° C dir. *S. maltophilia* maltozdan asit yapar ancak, glukozu fermente edemez.



Şekil 1.1. *S. maltophilia*, SMDP92 suşu ve onun flagella'larının elektronik mikroskopta görünümü. *S. maltophilia* bir (A) ya bir kaç (B,C) flagellalara sahip olabilirler.

Buna ek olarak, O somatik antijenleri ve H flagella antijenlerinin varlığı saptanmıştır. En sık O3 antijeni ve O31 antijeni görülmüştür (Denton ve Kerr, 1998). Bu bakterilerin genetik yapısı çok iyi bilinmemektedir. Çevresel ve klinik örneklerden elde edilen *S. maltophilia* izolatları DNA hibridizasyon, DNA fingerprinting ve 16s rDNA sekanslama yöntemleriyle A, B ve C olarak belirlenmiş üç farklı genomik gruba ayrılmıştır.

20 klinik izolatların büyük çoğunluğu grup A'da (%44) ve grup B'de (%34) yer almaktadır. Grup A'da yer alan suşların enfeksiyon gelişimine yol açan ortak karakteristiklere sahip oldukları düşünülmektedir. Özellikle gyrB gibi bazı spesifik genomik gruplara sahip suşların kistik fibrozisli hastaların solunum yolunda kolonizasyona neden olduğu belirlenmiştir (Looney vd., 2009; Coeny vd., 2004).

Direnç mekanizması ve aynı zamanda yapısal özelliklerinden biri olan efluks pompası vardır. Membran füzyon proteini ve enerji bağımlı olarak çalışmaktadır. Bu mekanizma ile antimikrobiyallerle birlikte diğer maddeler de dışarı atılır. Mekanizma ilk kez SmeDF ismiyle tanımlanmıştır (Alonso ve Martizel, 2000).

Klinik çalışmalar *S. maltophilia*'nın yüksek virülans bir bakteri olup olmadığını ortaya koymamıştır (Looney vd., 2009). Kolonizasyon ve enfeksiyon arasındaki ayrımın başarısızlığı nedeniyle bu bakterilerin sınırlı bir patojeniteye sahip olduğu düşünülmektedir. Villarino ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada yoğun bakımda yatan 106 kolonize veya enfekte kabul edilen hastanın doğrudan ölümüyle bu patojenite arasında direkt bir ilişki tespit edilmemiştir (Villarino vd., 1992). *S. maltophilia*'nın yalnızca diğer patojenlerle sinerjik olduğu zaman aşık bir enfeksiyon kliniğine neden olduğu Gardner ve arkadaşları tarafından ileri sürülmüştür. Deneysel hayvan çalışmalarında da intravenöz bakteri uygulanması ve enfeksiyon kliniği oluşturma sonrasında, bu enfeksiyonun ciddi sepsis tablosuna neden olmadığının gösterilmesi de bu hipotezi desteklemektedir (Gardner vd., 1970). Onların virülansı solunum yolları ve plastik yüzeylerde kolonize olması sebebiyle artmaktadır. Bu virülans faktörleri; pozitif yüklü bir yüzeye, flagella ve pililere sahip olması ve biofilm oluşturma yeteneğidir (Looney vd., 2009). Bakterinin kateter ilişkili kolonizasyon ve enfeksiyonunda intravenöz kanüller gibi plastik yüzeylere yapışma özelliği önemlidir (Jucker, 1996). Katetere bağlı enfeksiyonların patogeneğinde total parenteral nutrisyon ve intravenöz infüzyonlarda çoğalma yeteneğinin olması da etkili bulunmuştur. Benzer şekilde *S. maltophilia*'nın diyaliz sıvısında çoğalabilmesi, düşük moleküler ağırlıklı pirojen salgılayabilmesi ve endotoksini aracılığı ile hemodiyaliz sırasında ateş reaksiyonuna neden olabileceği gösterilmiştir (Denton ve Kerr, 1998). Yine bir virülans faktörü, kolonizasyon ve direnç neden olan dış membran polisakaritleridir (Waters vd., 2007). Salgılamış olduğu diğer ekstrasellüler enzimler olan DNaz, RNaz ve jelatinaz

gibi proteaz ve lipaz enzimlerinin üretimi de bakteriyel virülans faktörleri arasında olduğu saptanmıştır. StmPr1 geni tarafından kodlanan proteazın kollajen, fibrinojen ve fibronektin gibi protein komponentlerinin bozulmasına, böylece doku hasarına ve kanamaya katkıda bulunduğu gösterilmiştir (Windhorst vd., 2002).

1.4.1. Antibiyotiklere Direnci

1.4.1.1. Trimetoprim-Sulfametoksazol (ko-trimoksazol) Direnci

Trimetoprim-sulfametoksazol uygun toksisite profili, hem oral hem parenteral yoldan uygulanabilmesi, kuvvetli bakterisidal etkisi ve düşük maliyetli olması gibi avantajları nedeniyle birçok patojene karşı tüm dünyada kullanılmaktadır (Goldbery ve Bishara, 2012). Trimetoprim ve sulfonamid grubundaki sulfametoksazolün 1/19 oranında birleştirilmesiyle oluşmuştur (CLSI, 2006). Bakteriler DNA sentezi için gerekli olan folik asidi kendileri sentezlemektedir. Trimetoprim ve sulfametoksazol birbirini takip eden iki basamağı engelleyerek bakterilerin folik asit sentezini engellerler (Murray vd., 2009; Murray vd., 2010). Akut ve kronik üriner sistem enfeksiyonlarının tedavisi için mükemmel sonuçlar gösterir (Murray vd., 2009; Topçu vd., 2002).

SXT, *S. maltophilia* enfeksiyonlarının tedavisinde CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) tarafından önerilen ilk ilaçtır (CLSI, 2006). *S. maltophilia*'nın horizontal geçişle gram pozitif bakterilerden bile antibiyotik direnç genleri alabileceği gösterilmiştir. İntegronlar bu aktarımda önemli rol oynamaktadır (Nyc ve Mateskova, 2010). Bunların SXT'a direnci sul1 taşıyan sınıf 1 integronlarla ve sul2 taşıyan ISCR (insertion sequence common region) elementine bağlıdır. SXT kullanımının artmasıyla ISCR elementleri ve sınıf 1 integronlarda sul1 gen aktivitesinin artacağı muhtemeldir (Looney vd., 2009). sul1 veya sul2 sulfonamid direnç genlerini taşıyanlar son yıllarda sıkça rapor edilmektedir. Benzer şekilde bir aktarımla dihidrofolat enzim inhibisyonu yapan dhfrA genlerini elde etmesiyle bakteri trimetoprime karşı da direnç kazanmış olmaktadır (Toleman vd., 2007; Sanchez vd., 2009; Hua vd., 2011). Klinik deneyimler de SXT kullanımı sırasında direnç gelişimi gözlenmişse de bu durum sık olarak görülmez (Looney vd., 2009). SmeDEF, TolCsm ve SmeYZ effluks pompalarının da son dönemde dirençten sorumlu olabileceği bildirilmiştir (Chang vd., 2015).

1.4.1.2. Beta-Laktam Grubu Antibiyotiklere Direnç

S. maltophilia beta-laktam grubu antibiyotiklerin çoğuna dirençli olup, dirençten beta laktamaz ailesine ait olan L1 ve L2 beta-laktamaz enzimleri sorumlu tutulmaktadır (Denton ve Kerr, 1998). Bu enzimlerin ekspresyonu kromozomal genler tarafından düzenlenmektedir. Hemen hemen tüm beta-laktam grubu antibiyotiklere dirence sebep olan L1-metallo-beta-laktamaz; 18 kDa ağırlığında, homotetramer yapısında, aktifleşmek için Zn^{+2} 'ya ihtiyaç duyan bir enzimdir. Penisilinler, sefalosporinler ve karbapenemleri hidrolize edebilirken, monobaktamlara etkili değildir. L2 serin-beta-laktamaz ise sefalosporinaz grubundan olup aztreonamı hidrolize edebilmektedir. Beta-laktamaz inhibitörlerinden klavulanik asit tarafından L1 beta-laktamaz inhibe olmazken, L2 beta-laktamaz parsiyel olarak inhibe olur (Nicodemo ve Paez, 2007).

1.4.1.3. Aminoglikozid Direnci

Aminoglikozid direnci sıcaklığa bağımlı dış membran protein değişimleri, aminoglikozid modifiye enzimler, efluks pompaları ile olmaktadır. Kromozomal genler aminoglikozid asetiltransferaz, aminoglikozid fosfotransferaz enzimlerini kodlamaktadırlar. Bu enzimler netilmisin, amikasin, tobramisin, paromomisin ve neomisin duyarlılığını azaltırlar (Denton ve Kerr, 1998).

1.4.1.4. Kinolon Direnci

Kinolonlara karşı dirençte efluks pompa ekspresyonu (özellikle SmeDEF) ve dış membranın permeabilitesinin düşük geçirgenliği rol oynar. Bununla birlikte topoizomerazların mutasyonu, *S. maltophilia* için kinolon direncinde önemli görünmemektedir. Kinolon direncinde smeDEF, smeIJK, smeABC, smeVWX ve Smqnr genlerinin rol aldığı bildirilmiştir (Denton ve Kerr, 1998). Diğer antibiyotiklere direncin artmasıyla birlikte in-vivo ve in-vitro kinolon direnci de hızla gelişmektedir (Looney vd., 2009).

1.4.1.5. Diğer direnç mekanizmaları

S. maltophilia polisakkarit boyutu ve dış membran lipopolisakkaritlerinin fosfat içeriği farklı sıcaklıklarla değişebilir. Belli sıcaklıklar karşılaştırıldığında

aminoglikozid ve polimiksin B direncinin 30° C' de, 37° C'den daha fazla olduğu saptanmıştır (McKay vd., 2003). Ayrıca, suşların gümüş kaplı kateteri de tolere etmelerine neden olan, çok sayıda metale karşı direnç mekanizmasına sahiptir (Crossman vd., 2008; Pages vd., 2008).

1.4.2. *Stenotrophomonas maltophilia* Kaynaklı Hastalıklar

S. maltophilia çevresel ortamda yaygın olurlar ve kanalizasyon, toprak, su, bitkilerden, hayvansal kaynaklardan izole edilebilir. Hastane ortamında da yaygın olarak bulunmaktadır. Sağlık çalışanlarında solunum yolu, orofarengeal sürüntü ve ellerinde taşıyıcılığı saptanmıştır (Senal, 2004). Ayrıca bakterinin musluk suyu, kanalizasyon atıkları, pişmemiş süt, donmuş balık, insan ve hayvan feçesinde ürediği gösterilmiştir (Pages vd., 2008; Hayward vd., 2010; Murray vd., 2010; Lonney, 2005; Gales vd., 2001). Hastane ortamında yaygın olarak bulunan *S. maltophilia*; musluk suları, plastik şişeler, dezenfektanlar, infüzyon solusyonları, steril sular, preoperatif temizlik malzemeleri gibi bölgelerde kontaminant olarak tespit edilmiştir (Nyc ve Mateskova, 2010; Lonney, 2005; Loonay vd., 2009). Yapılan pek çok çalışma bakterinin orafarenks, gastrointestinal sistem, vajen ve sağlık personelinin ellerinde kolonize olabileceği bildirilmektedir.

Bu bakterilerle ilişkili sürekli genişleyen klinik tablolar bildirilmektedir. Bu etkenle ilişkili enfeksiyonların gerçek kanıtları bir çok çalışmada irdelenmiştir. Karışık bir kültürden izole edilmesi, yüzeysel cilt lezyonlarından, üst solunum yollarından izolasyonu bunun etken mi yoksa kontaminasyon mu olduğunun ayrımını güçleştirmektedir. Daha önceki raporlarda da *S.maltophilia* sınırlı patojenik potansiyeli olan bir mikroorganizma olarak gösterilmiştir. İmmün sistemi baskılanmış olanlar dışında nadiren enfeksiyon etkeni olmuştur. *S. maltophilia* öncelikle nozokomiyal bir enfeksiyon etkeni olarak kabul edilmesine rağmen toplum kaynaklı enfeksiyonlar olarak da sıklıkla tanımlanmıştır.

Bakterinin enfeksiyonlarının en sık klinik tablosu pnömoni şeklindedir. Bunu kan dolaşım enfeksiyonları, daha az sıklıkla idrar yolu ve yara yeri enfeksiyonları takip eder. Endokardit (protez kapağı olanlar, cerrahi sonrası ve intravenöz ilaç kullanımı), menenjit (çoğu cerrahi sonrası), sinüzit (mantar enfeksiyonlarını taklit

edebilir), kolanjit, mastoidit, bursit, peritonit, göz enfeksiyonları, epididimit, artrit ve osteokondrit şeklinde nadir olgular bildirilmiştir (Denton ve Kerr, 1998).

1.5. Antibiyotik Duyarlılık Testi

Antibiyotik duyarlılık testleri klinik mikrobiyoloji laboratuvarının en önemli görevleri arasındadır (Johnson, 1996; Jorgensen ve Sahm, 1995). Çünkü elde edilen bilgiler hasta tedavisiyle yakından ilişkilidir. Bu testler sonucunda ortaya çıkan bilgiler antibiyotiklere karşı direnç düzeyini göstermek suretiyle reçete yazılmasında ve yeni ajanların gelişmesinde etkilidir (Andrews, 2001). Antibiyotik duyarlılık testleri, hastaların tedavisinde kullanıldığı gibi, hastane enfeksiyon kontrolü ve epidemiyolojik araştırmalar için de gereklidir. Hastaların tedavisinde kullanılacak antibiyotiklerin geliştirilmesi, seçimi, verilmiş dozu ve şekli yapılan test sonuçları ile ilişkilidir (Johnson, 1996). Antimikrobiyal testler, normal flora üyeleri ve kolonizasyon yapan bakteriler için uygulanmamalı ve sadece izole edilen mikroorganizma için önerilen standart yöntem uygulanarak yapılmalıdır (Jorgensen ve Sahm, 1995; Villanova, 1997).

Antimikrobiyal ilaç ve mikroorganizmalar arasındaki etkileşim bazı faktörlere bağlıdır. Bunlardan bazıları ilacın yapısı, diğerleri ise konak veya patojen ile ilgilidir (Johnson, 1996). Ancak, antibiyotik duyarlılık testleri bu etmenlerin tümünü sağlayamamaktadır. İn-vitro duyarlılık testlerinde bakterinin sabit bir fazı kullanılarak sabit sıcaklık, nem ve oksijen uygulanmaktadır. Buna karşın hastada durum farklıdır, testlerde kullanılan düşük yoğunlukta bakterinin karşısındaki sabit antibiyotik konsantrasyonu yerine yoğun bakteri karşısında dalgalanan ilaç konsantrasyonu bulunmaktadır (Amsterdam, 1996; Johnson, 1996). Bu nedenlerle in-vitro testlerin klinik sonuç üzerinde predaktif bir değeri olmasına karşın, bunun bazı sınırlamaları olduğunu da göz ardı etmemek gerekir (Jorgensen ve Sahm, 1995).

Antimikrobiyal duyarlılık testleri için standartların belirlenmesi ve elde edilen sonuçlara göre tedavi başarısının tahmin edilebilmesi için farklı kurumlar uzun süredir çalışmaktadır. İlk olarak 1972’de Amerika Birleşik Devletleri’nde (ABD) National Committee for Clinical and Laboratory Standards (NCCLS, sonra Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI) tarafından standardizasyon önerileri

yayınlanmıştır (Barlett vd., 1994). Türkiyede de Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti bünyesinde 1994'te kurulan Antibiyotik Duyarlılık Testlerinin Standardizasyonu (ADTS) çalışma grubu bu işlevi üstlenmiştir. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) ise European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID) ve the European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC) himayesinde, bu iki kurumun maddi desteğiyle 1997'de kurulmuş olup European Medicines Agency (EMA) ve ECDC için Avrupa çapında testlerin standardizasyonunu ve klinik eşlik değerlerinin belirlenmesini üstlenmiştir (EUCAST, www.eucast.com). Günümüzde CLSI ve EUCAST antimikrobiyal duyarlılık testleri üzerinde çalışan iki önde gelen ekibi barındırmakta ve karşılıklı etkileşim içinde çalışmalarına devam etmektedirler (CLSI, 2010).

Bir antimikrobiyal ajanın inhibitör etkisi dilüsyon veya disk difüzyon metoduyla bulanabilir.

1.5.1. Disk Difüzyon Testi

Disk difüzyon testi, A.W. Bauer, W.M. Kirby ve ark. tarafından 1960'lı yılların ikinci yarısında standardize edildiğinden bu yana mikrobiyoloji laboratuvarları tarafından en sık kullanılan antibiyotik duyarlılık testi olmuştur (Acar ve Goldstein, 1996). Disk difüzyon testi klinik mikrobiyoloji laboratuvarının çoğunda tercih edilen kalitatif bir yöntemdir. Belirli yoğunlukta bakteri besiyerine yayılır ve antibiyotik emdirilmiş diskler bunun yerine yerleştirilir. Bir gecelik inkubasyondan sonra diskin çevresindeki inhibisyon zon çapı ölçülerek bakterinin o antibiyotiğe duyarlı olup olmadığı saptanır (Acar ve Goldstein, 1996; Villanova, 1997). Diğer bir avantaj da bu yöntemin en çok denenmiş ve standardize edilmiş duyarlılık testi olmasıdır. Bu testte sonuçlar duyarlı, dirençli ve orta dirençli şeklinde bildirilmektedir (Johnson, 1996).

1.5.2. Mikrodilüsyon Testi

Bakterilere karşı bir antimikrobiyal ilacının aktivitesini kantitatif olarak ölçmek için buyon veya agarda yapılan dilüsyon yöntemleri kullanılmaktadır. Bu testlerde antimikrobiyal ilacın farklı konsantrasyonları buyon veya ağara eklenir, test edilecek organizma ile birlikte bir gece inkübe edilir ve minimum inhibitör konsantrasyonu

(MİK) belirlenir (Villanova, 1997). Dilüsyon yöntemlerinin uygulanmaları daha güç ve pahalı olmakla birlikte bu testler MİK değerini verdiğinden tercih edilmektedir (Johnson, 1996; Jorgensen ve Sahm, 1195). Ayrıca dilüsyon testleri, disk difüzyon testi uygulanamayan bazı bakteriler için uygulanabilmekte ve bilgisayarlı programlar ile birleştirebilmektedir. Kalitatif testlerin immün baskılanmış hastalardaki infeksiyonlarda klinik başarı ile ilişkisi yeterince açık değildir. Buna karşın kantitatif testler daha kesin ve kullanışlı bilgiler vermektedir. Genellikle MİK değerinin düşük olması, tedavide olumlu sonuç alınacağını göstermektedir (Johnson, 1996).



BÖLÜM 2

KAYNAK ÖZETLERİ

Böğürtlen meyveleri yüksek miktarda fenolik bileşik ve başlıca antosiyaninler içerdiğinden antimikrobiyal, antioksidan ve antienflamatuar etkiler göstermektedir (Riceevans vd., 1995).

Halvorsen ve arkadaşları (2002) üç farklı bölgede yetişen böğürtlenlerin (*R. fruticosus*) toplam antioksidan kapasitesin araştırmışlardır. Çalışma sonunda, onların yüksek konsantrasyonda (5.03-9.17 mmol/100g) antioksidan faaliyeti gösteren bileşenlere sahip olduğu ortaya çıkmıştır.

Cavanagh ve arkadaşları (2003) tarafından böğürtlen bitkisinin meyve özlü içecekleri bakteriostatik olduğu bildirilmiştir. Böğürtlen meyve suyu *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Streptococcus marcescens* ve *Escherichia coli*'nin büyümesini % 50' den % 75'e kadar engellemiştir.

Böğürtlen influenza tedavisinde diğer tıbbi bitkilerle birlikte kullanılmıştır ve influenza virüsünü kontrol altına alma rolü, içerdiği polifenollere bağlı olduğu öne sürülmüştür (Shimizu vd., 2004).

Tate ve arkadaşları (2006) böğürtlen özütlerinin UV (ultraviyole) ışınından koruma özelliğinde olduğunu göstermiştir. Çalışmada, bitki özütlerinin *Salmonella typhimurium*'da UV kaynaklı DNA hasarlardan koruduğu ve mutajenezi inhibe ettiği gözlemlenmiştir.

Böğürtlen yapraklarından hazırlanan %70 alkol ekstraktının su ve bütanol fraksiyonları insüline bağımlı olmayan diyabetin tedavisinde ve önlenmesinde aktif olduğu tespit edilmiştir (Xu vd., 2006).

Özütlerin, agar dilüsyon testinde 1 mg / mL minimum inhibitör konsantrasyonu ile *Mycobacterium tuberculosis*'i inhibe ettiği Krisch ve arkadaşları (2008) tarafından bildirilmiştir.

Spormann ve arkadaşları (2008) yüksek fenol ve antosiyanin içeren böğürtlen meyve suları hücrelerde DNA oksidasyon hasarını, protein ve lipid peroksidasyonunu, nükleer faktör-KB bağlanma aktivitesini önemli bir derecede azaltarak kansere karşı koruduğunu tespit etmişlerdir.

Martini ve arkadaşları (2009) böğürtlen (*Rubus ulmifolius*) özütlerinin yüksek miktarda polifenoller içerdiğinden *Helicobacter pylori*'ye karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiğini ortaya koymuşlardır. Bitki özütlerinde bulunan polifenollerin *H. Pylori* suşlarına inokülasyonundan 24 saat sonra, minimum bakterisid konsantrasyonu 1200 µg / mL ve 1500 µg / mL olduğu görülmüştür. İnokulasyondan 48 saat sonra ise polifenollerin minimum bakterisid konsantrasyonu 134 µg / mL ve 270 µg / mL olmuştur.

Riaz ve arkadaşları (2011) sekiz bakteri suşuna (*Salmonella typhi*, *Escherichia coli*, *Streptococcus aureus*, *Micrococcus luteus*, *Proteus mirabilis*, *Bacillus subtilis*, *Citrobacteri sp.*, *Pseudomonas aeruginosa*) karşı böğürtlen bitkisinin çeşitli bölgelerinden alınan metanol özütünün antibakteriyel aktivitesini incelemişlerdir. Tüm ekstraktların, bakterilerin büyümesini inhibe ettiği bulunmuştur. En düşük minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) etkisin bitkinin sap bölgesi, ikinci olarak, sırayla kök, yaprak ve meyve bölgeleri göstermiştir.

Huang ve iş arkadaşları (2012) *Rubus L.* özütlerinin 2 mg / ml'de yüksek seviyede DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil)'e karşı koruma özelliği (%95.37) gösterdiğini belirtmişlerdir.

Sangiovani (2013) , in vitro ve in vivo modellerle gastrik inflamasyonun kontrolü için elagitanninle zenginleştirilmiş *R. fruticosus* özütlerinin (Ets) etkilerine bakmıştır. Ets TNFα ile indüklenen NF-kB yönetici transkripsiyonunun(IC50: 0.67-1.73 mg / ml) ve İL-8 sekresyonun engellemiştir. Araştırma sonunda, Ets'in gastrik inflamasyonundan koruma etkinliğinde olduğu saptanmıştır.

Böğürtlen bitkisinin sulu ve etanol özütleri, *Helicobacter pylori*'ye karşı antibakteriyal etki göstermektedir. Özütlerin minimum inhibitör konsantrasyonu 400 ve 450 µg / mL, bunun yanı sıra; sırasıyla aynı ekstraktlar için inhibisyon zonu 8 ve 7.3 mm olmuştur (Abachi vd., 2013).

Radovanovic ve arkadaşları (2013) yabani böğürtlenlerden (*Rubus fruticosus*) elde edilen polifenollerin antimikrobiyal aktivitesini incelemişlerdir. Araştırmada gram (-) ve gram + dahil 12 bakteri çalışılmıştır. Alınan ekstraktların antimikrobiyal aktivitesi, test edilen bakteri suşlarının hemen hepsine karşı yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Disk difüzyon testine göre, test edilen yabani meyvelerin inhibisyon zonları 12.0 - 16.2 mm aralığında olmuştur. Gram (-) bakteriler arasında en duyarlı *Salmonella enteritidis* iken, Gram + bakteri grubunda *Staphylococcus aureus* olduğu belirlenmiştir.

Ali ve arkadaşları (2013) böğürtlen metanol meyve özütünün akut toksisite çalışmalarında LD₅₀'si 887.75 ± 9.22 mg / mL olduğunu bildirmişlerdir. Aynı özütlerin *Raillentina spiralis* ve *Ascaridia galli*'ye karşı antihelmintik aktivitesi 20 mg / mL olarak belirlenmiştir.

ABD'da Miyasaki ve arkadaşları (2013) tarafından böğürtlen (*Rubus chingi*) dahil bir kaç bitki özütlerinin *Acinobacter baumannii*'ye karşı ürettiği antimikrobiyal bileşiklerin izolasyonu ve karakterizasyonu araştırılmıştır. Bitki özütlerinde, hastane enfeksiyonlarına neden olan *A. Baumannii*'ye karşı 6 aktif, antimikrobiyal bileşik saptanmıştır. Antimikrobiyal bileşikler içinden en çok norwogonin olduğu bulunmuştur. *A. Baumannii*'ye karşı norwogonin bileşiğinin minimum inhibitör konsantrasyonu (MIK) 128 µg /mL, bakterisid konsantrasyonu ise 256 µg /mL olduğu tespit edilmiştir.

Kentucky'de Octavio ve arkadaşları (2013) böğürtlen özütlerinin in vitro ortamında oral bakteri kommensallere ve periodontopatojenlere karşı antibakteriyel etkilerini incelemişlerdir. Çalışmada, böğürtlen özütlerinin periodontopatojenlere karşı etkili olduğu saptanmıştır. 350-1,400 µg /mL böğürtlen özütlerin *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum*, *Streptococcus mutants* suşlarının metabolik aktivitesini zorlaştırdığı görülmüştür. Antosiyanin bakımından zenginleştirilmiş böğürtlen fraksiyonu *P. gingivalis* veya *S. mutans*'ın değil, *F. nucleatum*'un metabolik aktivitesini düşürmüştür. Ancak, böğürtlen özütlerinin kommensalleri az derecede etkilediği tespit edilmiştir.

Böğürtlen (*Rubus ulmifolius*) özütü olan 22OD-F2 *Streptococcus pneumoniae* nedenli planktonik hücreleri ve pnömokok biyofilmleri yok edebildiği Talekar ve

arkadaşları tarafından (2014) bulunmuştur. 100 ve 200 mg/ml 220D-F2 pnömokokal planktonik kültürlerle karşı inokülasyon sonrası en erken 3 saat içinde önemli miktarda bakterisidal etki göstermiştir. Suşların antibiyotik direnci ve planktonik kültürlerine karşı 22OD-F2'nin minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK) 80 µg / mL olmuştur. Pnömonok biyofilm popülasyonunun azalması ise 22OD-F2'nin inokülasyonundan 3 saat sonra gerçekleşmiştir. *S. pneumoniae* biyofilmleri için minimum inhibitör konsantrasyonu 100 µg / mL olmuştur.

Böğürtlenlerde bulunan siyanidin-3-glukosid (C3G) ve siyanidin-3-rutinosid (C3R) denilen 2 büyük antosiyaninlerin hücreleri hidrojen peroksit (H_2O_2) nedenli hasarlardan koruma etkinliğinde olduğunu Jung ve arkadaşları (2014) ortaya koymuştur. Antosiyaninler (5, 10 ve 20 µg / mL) H_2O_2 ile uyarılmış makrofaj hücrelerinde oluşan sitotoksisteyi önemli ölçüde azalttığı görülmüştür. C3G veya C3R ile inkübasyon sonrası, hücre içi reaktif oksijen türleri ve DNA hasarı önemli derecede azalmıştır.

Böğürtlen (*Rubus fruticosus*) meyve suyunun *Listeria monocytogenes*, *Salmonella Typhimurium*, *Escherichia coli*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum* ve *Lactobacillus rhamnosus* gibi gıda kaynaklı patojenlere karşı güçlü antimikrobiyal potansiyele sahip olduğu bildirilmiştir (Yang vd., 2014).

Divya ve arkadaşları (2015) güneşin ultraviyole-B (UVB) ışınlarına karşı böğürtlen özütlerinin koruma etkilerini araştırmışlardır. Deney, UVB ışınlarına maruz bırakılmış, kılsız fareler üzerinde yapılmıştır. Elde edilen bulgular, böğürtlen ekstraktı ciltteki UVB ışını nedenli hiperplaziyi baskıladığını ve saçsız farelerin derisinde inflamatuvar hücrelerin infiltrasyonunu azalttığını göstermiştir. Böğürtlen özütleri ciltte oluşan oksidatif stres ve iltihaplanmaya karşı koruyarak, cilt kanserinin önlenmesine katkı sağladığı saptanmıştır.

Böğürtlen meyvelerinin yüksek potansiyelli fenolik ekstraktları bağırsak patojeni olan *Salmonella typhimurium*, *Campylobacter jejuni*'nin tedavisinde ve evcil tavukların bağırsağındaki *Salmonella*, *Campylobacter*'in hasat öncesi kolonizasyon seviyesinin düşürülmesinde uygulanabilirliğini Salaheen ve arkadaşları (2016) tarafından bildirilmiştir. Ekstraktlar bakterilerin büyüme, yüzme ve sarmal

hareketliliğini azaltıp, bu bakterilerin hücre yüzeyi hidrofobikliğini ve otomatik agregasyonunu değiştirmişlerdir.

Böğürtlen bitkilerinde bulunan polifenolik glikokonjugatların gamma-radyasyona bağlı insan lenfositlerinde oluşan DNA hasarlarını önleyebildiğini Szejek ve arkadaşları (2016) tespit etmişlerdir. Çalışmada, 10-15Gy radyasyona maruz kalmış insan hücrelerine 1,5 ve 25 µg / mL polifenolik glikokonjugatlar eklenmiştir. Hücrelerde lipid peroksidasyon inhibisyonu, süperoksit dismutaz ve S-glutasyon transferaz enzim restorasyonu, DNA oksidasyonun ve DNA hasarlarının azaldığı görülmüştür.



BÖLÜM 3

MATERYAL VE METOD

3.1. Böğürtlen Meyve Özütünün Hazırlanması

3.1.1. Materyal

Metil alkol (CH₃OH), Soxhlet, Evaporatör.

3.1.2. Metod

Böğürtlen numuneleri Gaziantep'te local marketten satın alındı. Gaziantep Üniveristesi, Biyoloji Bölümü, Botanik laboratuvarında teşhis edildi. Meyveler laboratuvarında açık havada kurutulduktan sonra mekanik parçalayıcı ile toz haline getirildi. Parçalanmış meyveler (5 gram) tartılarak Soxhlet cihazının (Gerhardt EV 14) kartuşlarına yerleştirildi. Soxhlet cihazında, kartuş için 150 mL metanol (Mercek) ile 2 saat özütlemeye tabi tutuldu. Çalışma sonunda, 1.6 (%32) gram metanol meyve özütü elde edildi.

3.2. DNA Koruyucu Aktivitesinin Belirlenmesi

3.2.1. Materyal

pBR322 DNA (vivantis), hidrojen peroksit (H₂O₂), % 1.5'lik agoroz jel, UV translüminatör (DNR-IS), distile su (dH₂O), jel dökümantasyon sistemi (DNR-IS, MiniBIS Pro).

3.2.2. Metod

Eppendorf'a elde edilen meyve özütünden 50 mg tartılarak üzerine 1000 µl distile su eklenmiştir. Özütün vortex cihazıyla tamamen çözünmesi sağlandıktan sonra seyreltme işlemi gerçekleştirilmiştir.

1/10 oranında seyreltme için 5 µl özüt üzerine 45 µl dH₂O eklenmiştir.

1/5 oranında seyreltme için 10 µl özüt üzerine 40 µl dH₂O eklenmiştir.

1/2,5 oranında seyreltme için 20 µl özüt üzerine 30 µl dH₂O eklenmiştir.

1/1,25 oranında seyreltme için 40 µl özüt üzerine 10 µl dH₂O eklenmiştir.

Kontrollerin hazırlanması:

1. Kontrol: Plazmit DNA (3 µl) + dH₂O (6 µl)
2. Kontrol: Plazmit DNA (3 µl) + dH₂O (6 µl)+ UV
3. Kontrol: Plazmit DNA (3 µl) + dH₂O (6 µl)+ H₂O₂ (1 µl)
4. Kontrol: Plazmit DNA (3 µl) + dH₂O (6 µl)+UV+ H₂O₂ (1 µl)

Özütlerin hazırlanması:

5. Plazmit DNA (3 µl) + 1/10 oranından özüt (5 µl) + UV + H₂O₂ (1 µl)
6. Plazmit DNA (3 µl) + 1/5 oranından özüt (5 µl) + UV + H₂O₂ (1 µl)
7. Plazmit DNA (3 µl) + 1/2,5 oranından özüt (5 µl) + UV + H₂O₂ (1 µl)
8. Plazmit DNA (3 µl) + 1/1,25 oranından özüt (5 µl) + UV + H₂O₂ (1 µl)

5 nolu tüpe 1/10, 6 nolu tüpe 1/5, 7 nolu tüpe 1/2,5, 8 nolu tüpe 1/1,25 oranında seyreltme yapılan böğürtlen özütlerinden 5.0 µl konulmuştur. Özütlerin DNA'yı UV ve oksidatif kaynaklı hasarlardan koruma aktivitesinin tespiti için pBR322 plazmid DNA'si (vivantis) kullanılmıştır. Tüplerin içerisine 3.0 µl pBR322 plazmid DNA'sı (172 ng.µl) ve 1.0 µl % 30'luk H₂O₂ konulmuştur. Işık kaynağı olarak oda sıcaklığında 302 nm dalga boyunda ve 8000 µW/cm yoğunlukta ışık üreten UV translüminatör (DNR-IS) cihazı kullanılmıştır. Böğürtlen özütlerinin olduğu tüpler, 2 ve 4 kontrol tüpler ile birlikte 5 dk süresince UV ışınlarına maruz kalmıştır. Hazır olan numunelerden 5.0 µl alıp, üzerine 5.0 µl yükleme tamponu eklenerek % 1.5'lik agaroz jele yüklenmiştir. Jel elektroforezinde 45 dakika uygulandıktan sonra jel dökümantasyon sisteminde (DNR-IS, MiniBIS Pro) görüntülenerek fotoğrafları elde edilmiştir.

3.3. Böğürtlen Meyve Özütünün *Stenotrophomonas maltophilia* Üzerinde Disk Difüzyon Testi

3.3.1. Materyal

Mueller Hinton Agar (MHA), distile su (dH₂O), serum fizyolojik, McFarland, McFarland tüpleri, eküvyon, BLANK diskler.

Araştırmada, Gaziantep Üniversitesi, Tıp araştırma hastanesi, Mikrobiyoloji laboratuvarında izole edilmiş ve identifikasyonu yapılmış *S. maltophilia* suşları kullanıldı. Suş no 3; Trakeal aspirasyon sıvısı pediatri yoğun bakım ünitesinden, suş no 1; Kan örneği, genel cerrahi yoğun bakım ünitesinden izole edilmiştir.

3.3.2. Metod

Böğürtlen meyve özütlerinin *S. maltophilia* üzerindeki antibakteriyel etkisinin belirlenmesi için EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) tarafından önerilen disk difüzyon yöntemi kullanılmıştır.

S. maltophilia'nın 1 ve 3 numaralı suşları MHA bulunan besi ortamında 37° C'de bir gece inkübasyona bırakılarak üremesi sağlanmıştır.



Şekil 3.1. MHA besiyerindeki *S. maltophilia*'nın 3 no'lu suşu

Doğrudan koloni süspansiyonu yöntemini kullanarak bakterilerin serum fizyolojik içerisinde 0.5 (1,5x10⁸ cfu/ml) McFarland bulanıklık standardı yoğunluğunda süspansiyonu hazırlanmıştır. Bulanıklığı ayarlanmış inokulum süspansiyonundan 50

μ l alınarak MHA bulunan besiyerine ekimi yapılmıştır. Test için 200 mg özüt tartılarak 1000 μ l distile suda çözülmüştür. Özütlerin sulandırma işleminde 0.2 mg/ μ l' den başlanarak son derişim 0.05 mg/ μ l olacak şekilde seri sulandırma yapılarak 3 konsantrasyon hazırlanmıştır. Birinci konsantrasyondan 30 μ l (6.0 mg), tekrar birinci konsantrasyondan 20 μ l (4.0 mg), ikinci konsantrasyondan 20 μ l (2.0 mg), üçüncü konsantrasyondan 20 μ l (1.0 mg) alınıp, BLANK disklerle emdirdirilmiştir. Diskler, daha önce bakteri (suş no 1; suş no 2) ekimi yapılmış MHA besi ortamına yerleştirilmiştir. Bakterilerin üremesi için 37° C'de bir gece inkübe edilip, disklerin etrafında oluşan zonlara göre sonuçlar değerlendirilmiştir.

3.4. Meyve Özütünün *Stenotrophomonas maltophilia* Üzerinde Minimum İnhibitör Konsantrasyonunun Belirlenmesi

3.4.1. Materyal

Eliza pleyt, mikropipet, Nutrient broth, Mueller Hinton Agar (MHA), distile su (dH₂O).

3.4.2. Metod

Böğürtlen meyve özütünün minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerlerinin belirlenmesi için EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) tarafından önerilen sıvı mikrodilüsyon yöntemi kullanılmıştır.

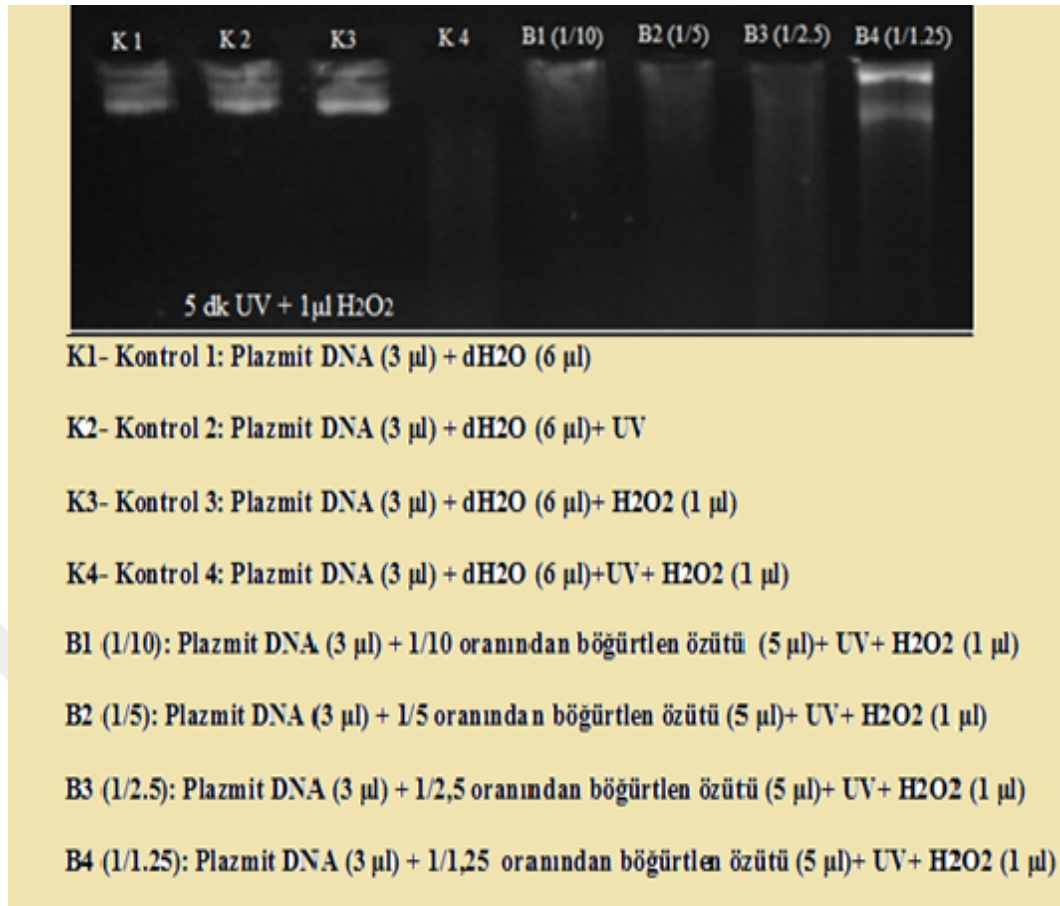
S. maltophilia'nın 1 ve 3 numaralı suşları MHA' da, 37° C' de bir gece inkübe edilmiştir. Antibakteriyel aktivite testi için 200 mg özüt tartılmıştır ve 1000 μ l distile suda çözülmüştür. ELISA pleyt'in ilk 5 kuyucuğuna 100 μ l Nutrient Broth besiyeri konulmuştur. Böğürtlen meyve özütünün başlangıç konsantrasyonundan (200 mg +1000 μ l) 100 μ l alınıp, ilk kuyucuğa eklenmiştir. Özütlerin sulandırma işleminde 0.05 mg/ μ l' den başlanarak son derişim 0.003125 mg / μ l olacak şekilde 5 kez seri sulandırma gerçekleştirilmiştir. Ardından, MHA'da üremiş, saf bakteri kültüründen 0.5 McFarland (1,5x10⁸ cfu/ml) değerine eşit olacak şekilde serum fizyolojik içerisinde hazırlanmış inokulumdan 100 μ l eklenmiştir. Tüm kuyucuklarda son hacim 200 μ l olacak şekilde işlem tamamlanmıştır. Testlerin yapıldığı mikrotiter plaklar normal atmosferik şartlar altında bakteriler için 37° C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Bakteri büyümesi beyaz bir pellet veya bulanıklık varlığında gözlemlenmiştir.

BÖLÜM 4

BULGULAR

***Rubus L.* Meyve Özütünün DNA Koruyucu Aktivitesinin Belirlenmesinde Elde Edilen Sonuçlar**

Metanol meyve özütünün H₂O₂ ve UV ışınına karşı DNA koruyucu aktivitesinin belirlenmesinde, farklı konsantrasyonlarda hazırlanan meyve özütlerin 5 dk süresince UV ışınına maruz bırakılması sonucu değerlendirilmiştir. 1 µl H₂O₂ ve 5 dk UV ışınına maruz kalan farklı konsantrasyonlardaki (1/10, 1/5, 1/2.5, 1/1.25) meyve özütlerinin jel dökümantasyon sistemine yüklenmesi sonucunda (DNR-IS, MiniBIS Pro) görüntülenen bantları şekil 3.2'deki gibidir.



Şekil 4.1. Jel dökümantasyon sisteminde görüntülenen bantlar

Alınan sonuçlar, metanol özütlerin oksidatif nedenli hasarlardan DNA'yı koruma özelliğinde olduğunu ortaya koymuştur. Farklı konsantrasyonlar arasından en yüksek 1/1.25 (40 µl meyve özüt +10 µl DH₂O) numunesi 5 dk UV ve 1µl H₂O₂'e karşı DNA koruyucu etki göstermiştir. Buna göre, böğürtlen meyvelerinin nispeten yüksek konsantrasyonlu metanol özütünün DNA'yı koruma faaliyetinde olduğu öne sürülmektedir.

Disk Difüzyon Yönteminde Elde Edilen Sonuçların Değerlendirilmesi

Farklı konsantrasyondaki böğürtlen metanol meyve özütünün *Stenotrophomonas maltophilia* suşları üzerinde disk difüzyon test sonuçları, disklerin etrafında meydana gelen zonlar üzerinden değerlendirilmiştir.

Plaklar, çıplak gözle gözden 30 cm uzakta tutularak, zon sınırları üremenin tam olarak inhibe olduğu nokta olarak belirlendi. MHA plakları, yansıyan ışıkla aydınlatılmış koyu renkli bir zemin üzerinde gözlemlenerek diskin etrafındaki zon

Çapları cedvel ile (mm) lld. EUCAST disk difüzyon sınır değer tabloları kullanarak bakteri, özgül bir antibiyotik için kategorize edilmiştir.

S. maltophilia'nın, kan reneęi genel cerrahi yoğun bakım ünitesinden izole edilmiş 1 no'lu suşu ve trakeal aspirasyon sıvısı pediatri yoğun bakım ünitesinden alınan 3 no'lu suşu ile yapılan disk difüzyon testinde sonuçlar şekil 3.3., şekil 3.4 ve tablo 3.1.'de gösterildiği gibidir.



şekil 4.2. Farklı konsantrasyondaki meyve özütünün 1 no'lu suşa karşı antibiyotik etkisi



Şekil 4.3. Farklı konsantrasyondaki meyve özütünün 3 no'lu suşa karşı antibiyotik etkisi

Tablo 4.1. Çalışmada uygulanan meyve özlü konsantrasyonlar ve diskler etrafında oluşan zon çaplarının değerlendirilmesi

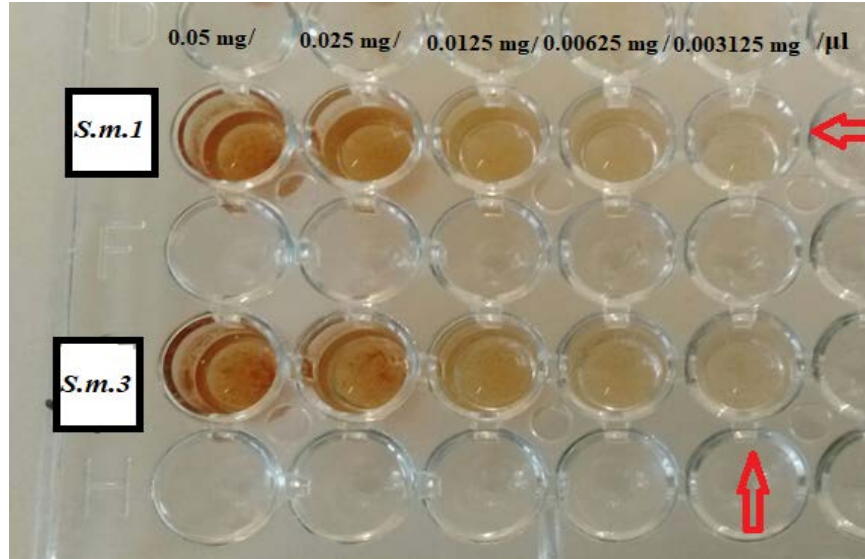
Konsantrasyon		No: 1 suş	Zon çapı sınır değeri	No: 3 suş	Zon çapı sınır değeri
		Zon çapı	S $\geq$ 16 mm R < 16 mm	Zon çapı	S $\geq$ 16 mm R < 16 mm
6 mg/30 μ l	0.2 mg/ μ l	16 mm	S	14 mm	R
4 mg/20 μ l	0.2 mg/ μ l	13 mm	R	11 mm	R
2 mg/20 μ l	0.1 mg/ μ l	10 mm	R	9 mm	R
1 mg/20 μ l	0.05 mg/ μ l	8 mm	R	7 mm	R

EUCAST disk difüzyon sınır değer tablosuna göre, 0.5 ($1,5 \times 10^8$ cfu/ml) McFarland bulanıklığındaki 1 numaralı bakteri suşu için 0.2 mg/ μ l (6 mg/30 μ l) konsantrasyonu duyarlı (S $\geq$ 16 mm) kategorisine girmiştir.

Aynı bakteri suşu için, 0.2 mg/µl (4 mg/20 µl), 0.1 mg/ µl (2 mg/20 µl), 0.05 mg/µl (1 mg/20 µl) konsantrasyonları dirençli ($R < 16$ mm) kategorisinde olduğu saptanmıştır. 0.5 ($1,5 \times 10^8$ cfu/ml) McFarland bulanıklığındaki 3 no'lu bakteri suşuna karşı uygulanan, 0.2 mg/µl (6 mg/30 µl), 0.2 mg/µl (4 mg/20 µl), 0.1 mg/µl (2 mg/20 µl), 0.05 mg/µl (1mg/20 µl) konsantrasyonları ise dirençli ($R < 16$) kategorisinde yer almıştır. Çalışma sonunda, meyvelerin metanol özütleri *S. maltophilia* suşlarının üremesini inhibe ederek antibiyotik etki gösterdiği tespit edilmiştir.

Mikrodilüsyon Yönteminde Elde Edilen Sonuçların Değerlendirilmesi

Mikrodilüsyon testi sonuçlarına göre, böğürtlen metanol meyve özütünün *Stenotrophomonas maltophilia*'nın 1 ve 3 no'lu suşlarına karşı antibakteriyel etki gösterdiği belirlenmiştir. Bakteri büyümesi beyaz bir bulanıklık varlığında gözlemlenmiştir. Uygulanan farklı konsantrasyonlar arasından bakterilerin 0.5 ($1,5 \times 10^8$ cfu/ml) McFarland bulanıklığındaki iki ayrı suşlarının üremesini durduran minimum inhibitör konsantrasyonu 0,00625 mg/µl (1,25 mg/200 µl) olduğu saptanmıştır. EUCAST mikrodilüsyon sınır değer tablosuna göre ($S \leq 4$ mg/ml) böğürtlen metanol meyve özütü bu bakterilere karşı duyarlı kategorisine girmiştir.



Şekil 4.4. Mikrodilüsyon testi sonucunda gözlemlenen bulanıklık dereceleri. **S.m.1:** *Stenotrophomonas maltophilia*'nın 1 no'lu suşu. **S.m.3:** *Stenotrophomonas maltophilia*'nın 3 no'lu suşu.

Tablo 4.2. Mikrodilüsyon testinde uygulanan meyve özlü konsantrasyonlar ve onların *S. maltophilia*'ya karşı etkilerinin değerlendirilmesi

Konsantrasyon		Bakteri üremesi		MİK sınır değeri
		Suş: 1	Suş:3	S ≤ 4 mg/ml R > 4 mg/ml
10 mg/200 µl	0.05 mg/ µl	-	-	
5 mg/200 µl	0.025 mg/ µl	-	-	
2,5 mg/200 µl	0.0125 mg/ µl	-	-	
1,25 mg/200 µl	0.00625 mg/ µl	-	-	S
0,625 mg/200 µl	0.003125 mg/ µl	+	+	

BÖLÜM 5

TARTIŞMA VE SONUÇ

Dünyanın bir çok ülkesinde, özellikle gelişmekte olan ülkelerde bazı hastalıkların tedavisi klasik yöntemlerle yapılmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) verilerine göre bu oran % 80 olup, hastalıkların tedavisinde 20.000 tıbbi bitkinin özütleri ve içerikleri kullanılmaktadır (Eloff, 1998). Biyolojik çeşitlilik bakımından zengin olan Türkiye'de de bazı bitkiler halk arasında tedavi amacıyla kullanılmaktadır (Baytop, 1999). Son yıllarda antibiyotiklere dirençli suşların ortaya çıkması ve sentetik ilaçlarda dikkati çekecek kadar yan etkilerin çok olması gibi nedenler gerek toplumu gerekse bilim insanlarını doğal kaynaklı ilaçları araştırmaya ve tıbbi bitkilere yöneltmiştir (Dülger vd., 1997).

Çalışmada kullanılan böğürtlen meyveleri yaklaşık 8000 yıl boyunca gıda türü olarak, şifalı bir bitki olarak ise buz devri'nin hemen sonrasında beri bilinmektedir (Sarkar ve Gangulu, 1978). Böğürtlen meyveleri flavonoidler, glikozitler, terpenler, asitler, tanenler, vitaminler, steroidler, mineraller ve lipidler açısından zengindir ve antimikrobiyal, antioksidan, anti-kanserojen, anti-inflamatuar, anti-diyare, anti-diyabetik ve antiviral gibi çeşitli farmakolojik aktivitelere sahiptir (Rios vd., 1987). Antimikrobiyal, antioksidan ve anti-inflamatuar etkileri, yüksek miktarda fenolik bileşik ve başlıca antosiyaninler içeriğinden kaynaklanmaktadır. (Riceevans vd., 1995). Böğürtlen meyvesinin antibakteriyel etkileri ile ilgili literatürde birçok çalışma mevcuttur. Böğürtlen meyve suyu, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Streptococcus marcescens* ve *Escherichia coli*'nin büyümesini % 50' den % 75'e kadar engellediği Cavanagh ve arkadaşları (2003) tarafından bildirilmiştir (Cavanagh vd., 2003).

Riaz ve arkadaşları 2011 yılında yapılan çalışmada sekiz bakteri suşuna (*Salmonella typhi*, *Escherichia coli*, *Streptococcus aureus*, *Micrococcus luteus*, *Proteus mirabilis*, *Bacillus subtilis*, *Citrobacteri sp.*, *Pseudomonas aeruginosa*) karşı

böğürtlen bitkisinin çeşitli bölgelerinden alınan metanol özütlerinin antibakteriyel aktivitesini incelemiş ve tüm ekstraktların, onun içinde meyve ekstraktlarının da bakterilerin büyümesini inhibe ettiği gözlemlenmiştir (Riaz vd., 2011). Geçmiş yıllarda halk arasında bitkinin metanol özütü öksürüğü tedavi etmek ve yara iyileşmesi için antiseptik, dezenfektan olarak kullanılmıştır (Rios vd., 1987). Son zamanlarda hastane enfeksiyonu olarak izole edilen ve çoklu dirence sahip olan *Stenotrophomonas maltophilia*'ya karşı etkileri ile ilgili çalışmaya rastlanılmamıştır.

Çalışmamızda da böğürtlen meyvesinin metanol özütü *Stenotrophomonas maltophilia*'ya üzerine etkileri araştırılmıştır. Farklı konsantrasyondaki metanol özütlerinin hastaneden izole edilmiş ve identifikasyonu yapılmış *Stenotrophomonas maltophilia* suşları üzerindeki etkinliği tespit edilmiştir. Benzer bir çalışmada da böğürtlen bitkisinin sulu ve etanol özütlerinin *Helicobacter pylori*'ye karşı antibakteriyel aktivite gösterdiği saptanmıştır (Abachi vd., 2013).

ABD'da Miyasaki ve arkadaşları tarafından böğürtlen (*Rubus chingi*) dahil bir kaç bitki özütlerinin *Acinobacter baumannii*'ye karşı ürettiği antimikrobiyal bileşiklerin izolasyonu ve karakterizasyonu araştırılmıştır. Bitki özütlerinde, hastane enfeksiyonlarına neden olan *A. baumannii*'ye karşı 6 antimikrobiyal bileşiklerin aktif olduğu saptanmıştır. Bileşikler içinden en çok norwogonin olduğu ve *A. baumannii*'ye karşı minimum inhibitör konsantrasyonu (MIK) 128 µg /mL, bakterisid konsantrasyonu ise 256 µg /mL olduğu tespit edilmiştir (Miyasaki vd., 2013). Bizim çalışmamızda da hastanede, özellikle yoğun bakım ünitesinde ciddi enfeksiyonlara neden olan ve çoklu direnç gösteren *Stenotrophomonas maltophilia* nın iki farklı suşu değerlendirilmiş olup, konsantrasyona bağlı etki gösterdiği ortaya konulmuştur. En yüksek etkinlik 0.2 mg/µl konsantrasyonunda saptanmıştır.

Elde edilen sonuçlara göre, *Rubus L.* metanol meyve özütü *Stenotrophomonas maltophilia* suşlarının üremesini inhibe etmek amacıyla antibiyotik molekül olarak potansiyeldir denilebilir. Ancak etken bileşiklerin saptanması için daha ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Tüm organizmalar hücreleri çevresel hasarlara karşı korumak amacıyla DNA onarım mekanizması içermektedirler. DNA onarımı, mutasyonu, replikasyon hatalarını, hücre ölümünü ve DNA hasarının devamlılığını azaltan bütün işlemlerde kullanılır.

Bu işlemlerdeki bir anormallik kansere ve yaşlanmaya neden olur (Lodish vd., 2000). DNA hasarına neden olan eksojen kaynaklar içerisinde güneşten gelen ultraviyole ışınları yaşlanma ve kanser açısından önemli bir rol oynamaktadır (Tepe vd., 2011).

Son zamanlarda, kansere yol açan oksidatif DNA hasarını kontrol eden yeni bileşiklerin saptanması için tıbbi ve aromatik bitkilerden elde edilen özütler üzerinde ayrıntılı çalışmalar yapılmaktadır (Oğuzkan vd., 2016). Spormann ve arkadaşları (2008) yüksek antosiyanin ve fenol içeren böğürtlen meyve suularının hücrelerde DNA oksidasyon hasarını, lipid peroksidasyonunu ve nükleer faktör-KB bağlanma aktivitesini düşürerek kansere karşı koruduğunu belirtmişlerdir (Sporman vd., 2008). Tate ve arkadaşları (2006) böğürtlen özütlerinin UV (ultraviyole) ışınlardan koruma özelliğinde olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmada, bitki özütlerinin *Salmonella typhimurium*'da UV kaynaklı DNA hasarlardan koruduğu ve mutajenezi inhibe ettiği gözlemlenmiştir (Tate vd., 2006). Böğürtlenlerde bulunan siyanidin-3-glukosid (C3G) ve siyanidin-3-rutinosid (C3R) denilen 2 büyük antosiyaninlerin hücreleri hidrojen peroksid (H_2O_2) nedenli hasarlardan koruyabildiğini Jung ve arkadaşları (2014) ortaya koymuşlardır. Antosiyaninler, H_2O_2 ile uyarılmış makrofaj hücrelerinde oluşan sitotoksisteyi önemli ölçüde azaltmıştır. C3G veya C3R ile inkübasyon sonrası, hücre içi reaktif oksijen türlerinin önlenmesiyle DNA hasarı da önemli derecede azalmıştır (Jung vd., 2014). Araştırmamızda, farklı konsantrasyonlardaki böğürtlen metanol meyve özütlerinin ve pBR322 plazmid DNA'sının 5 dakika süresince UV' ye ve H_2O_2 'de maruz bırakılması sonucunda DNA koruyuculuğu tespit edilmiştir. Yüksek konsantrasyondaki meyve özütünün (1/1.25, 40 µl meyve özüt +10 µl DH_2O) UV' ye ve H_2O_2 'e karşı daha iyi DNA koruyucu aktivite gösterdiği saptanmıştır. Yine, bir başka çalışmada Divya ve iş arkadaşları (2015) böğürtlen özütlerinin güneşin ultraviyole-B (UVB) ışınlarına karşı koruma etkilerini araştırmışlardır. Deney, UVB ışınlarına maruz bırakılmış, kılsız fareler üzerinde yapılmıştır. Elde edilen bulgular, böğürtlen ekstraktı ciltteki UVB ışını nedenli hiperplaziyi baskıladığını ve saçsız farelerin derisinde inflamatuvar hücrelerin infiltrasyonunu azalttığını göstermiştir. Aynı çalışmada, böğürtlen özütlerinin ciltte oluşan oksidatif stres ve iltihaplanmaya karşı koruyarak, cilt kanserinin önlenmesine katkı sağladığı saptanmıştır (Divya vd., 2015).

Bizim çalışmamızda da, H₂O₂ ve UV ışınlarının oksidatif nedenli hasarlarından koruduğu saptanmıştır. Özütlerin DNA koruyuculuğu kozmetik sektöründe, özellikle güneş koruyucu kremlerinde doğal UV koruyucu potansiyeli olduğu söylenebilir.

Sonuç olarak bir çok bakteri üzerine etkinliği saptanmış olan böğürtlenin *Stenotrophomonas maltophilia*'ya karşı da etkili olduğu saptanmış, yine UV ışınlarına ve H₂O₂ 'in oksidatif hasarına karşı protektif potansiyelleri ortaya konulmuş oldu. Böğürtlen meyvesinin biyoaktif bileşik bakımından oldukça zengin olduğu etken bileşiklerin ve etki mekanizmalarının ortaya konulması ve gerekli aşamalar tamamlandığında alternatif ürünlerin ortaya konulabileceği kanaatindeyiz.



KAYNAKLAR

- Abachi, S., Khademi, F., Fatemi, H., Malekzadeh, F. (2013). Study of antibacterial activity of selected Iranian plant extracts on *Helicobacter pylori*. *IOSR Journal of Dental and Medical Sciences*. **5**, 155–159.
- Acar, J.F., Goldstein, F.W. 1996. Disk susceptibility test, “V Lorian (ed): Antibiotics in Laboratory Medicine. 4th edition. Baltimore: Williams and Wilkins.
- Agaoglu, Y. S. 1986. Üzümsü Meyveler. No: 984, 377 S. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları: Ankara.
- Agaoglu, Y.S., Eydurani, S.P., Eydurani, E. (2007). Comparison of some pomological characteristics of blackberry cultivars growth in Ayas conditions. *Journal of Agricultural Sciences*. **13**, 69–74.
- Akkan, G., 1997. Pratikte Antibiyotik Kullanımı Sempozyumu. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri, 2-3 Mayıs, İstanbul, 53-62.
- Akkan, H.A., Karaca, M. (2003). Veteriner iç hastalıklarında antibiyotiklerin kullanımı. *YYÜ Veterinerlik Fakültesi Dergisi*. **14**(2), 72-77.
- Ali, N., Aleem, U., Shah, S.W.A., Shah, I., Junaid, M., Ahmed, G., Ali, W., Ghias, M. (2013). Acute toxicity, brine shrimp cytotoxicity, anthelmintic and relaxant potentials of fruits of *Rubus fruticosus* Agg. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. **13**, 138.
- Alonso, A., Martinez, J.L. (2000). Cloning and characterization of SmeDEF, a novel multidrug efflux pump from *Stenotrophomonas maltophilia*. *Antimicrob Agents Chemother*. **44**(11), 3079-86.
- Alves, J.A., Mantovani, A.L.L., Martins, M.H.G., Abrao, F., Lucarini, R., Crotti, A.E.M., Martins, C.H.G. (2015). Antimycobacterial activity of some commercially

available plant-derived essential oils. *Chemistry of Natural Compounds*. **51**(2), 353-355.

Alves, J.A., Mantovani, A.L.L., Martins, M.H.G., Abrao, F., Lucarini, R., Crotti, A.E.M., Martins, C.H.G. (2015). Antimycobacterial Activity of Some Commercially Available Plant-Derived Essential Oils. *Chemistry of Natural Compounds*. **51**, 353-355.

Amsterdam, D. 1996. Susceptibility testing of antimicrobials in liquid media, “V Lorian (ed): Antibiotics in laboratory Medicine. 4th edition. Baltimore: Williams and Wilkins.

Andrews, J. M. (2001). The development of the BSAC standardized method of disc diffusion testing. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. **48**, 29-42.

Anonim, 2006b. Türkiye statistik Kurumu Veri Tabanı;(http://www.tuik.gov.tr).

ANONYMOUS, 2011. http://tarimziraat.com/böğürtlen_yetiştiriciliği

Atmaca, E., Aksoy, A. (2009). Oksidatif DNA hasarı ve kromatografik yöntemlerle tespit edilmesi. *YYU Veterinerlik Fakültesi Dergisi*. **20**, 79-83.

Attaguile, G., Russo A., Campisi A., Savoca F., Acquaviva R., Ragusa N., Vanella A. (2000). Antioxidant activity and protective effect on DNA cleavage of extracts from *Cistus incanus* L. and *Cistus monspeliensis* L. *Cell Biology and Toxicology*. **16**, 83-90.

Bartlett. RC., Mazens-Sullivan, M., Tetreault, JZ., Lobel, S., Nivard, J. (1994). Evolving approaches to management of quality in clinical microbiology. *Clinical Microbiology Reviews*. **7**(1),55-88.

BARUT, E. (2004). Dünya ve Türkiye’de üzüksü meyve yetiştiriciliği ve ticareti. *Türk Tarım Dergisi*, sayı: **156**, 60-67.

Bayil Oguzkan, S., Uğraş, S., Aksoy, E.S., Ülger, S., Üzmez, Ş., Karagül, B., Uğraş, Hİ.(2016). Biological activity analysis of Hazelnut Nutshell extracts. *International Journal of Chemical and Natural Science*. **5**, 481-485.

Baytop, T. 1999. Therapy With Medicinal Plants in Turkey. 2nd Edition. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri.

Benvenuti, S., Pellati, F., Melegari, M., Bertelli, D. (2004). Polyphenols, anthocyanins, ascorbic acid, and radical scavenging activity of Rubus, Ribes, and Aronia. *Journal of Food Sciences*. **69**, FCT164–FCT169.

Blaga C. Radovanović, Ana S. Milenković, Aleksandra B. Radovanović, Marko Z. Andelković. (2013). Antioxidant and antimicrobial activity of polyphenol extracts from wild Berry fruits grown in southeast Serbia. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. **12** (5), 813-819.

Bobrowski, V. L., Mello-Farias, P.C., Peters, J.A. (1996). Micropropagation of Blackberry cultivars. *Brasil de Agrociencia*. Vol:2, 17-20.

Cavanagh, H.M.A., Hipwel, M.L., Wilkinson, J.M. (2003). Antibacterial activity of berry fruits used for culinary purposes. *Journal of Medicinal Food*. **6**, 57–61.

Chang, Y.T LC.Y., Chen, Y.H., Hsueh, P.R. (2015). Update on infections caused by *Stenotrophomonas maltophilia* with particular attention to resistance mechanisms and therapeutic options. *Frontiers in Microbiology*. **6**, 893.

Chopra, R.N., Nayar, S.L., Chopra, R.C. 1956. Glossary of Indian Medicinal Plants. New Delhi. India: Council of Scientific and Industrial Research.

CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2006. Document M7-A7. Methods for dilution antimicrobial susceptibility test for bacteria that grow aerobically. Approved Standard 7th ed.

CLSI. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2010. Methods for antimicrobial dilution and disk susceptibility testing of infrequently isolated or fastidious bacteria; approved guideline-second edition. M45-A2, bask1. Wayne, PA.

Coenye, T., Vanlaere, E., LiPuma, J.J., Vandamme, P. (2004). Identification of genomic groups in the genus *Stenotrophomonas* using *gyrB* RFLP analysis. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*. **40**, 181–85.

Costantino, L., Albasini, A., Rastelli, G., Benvenuti, S. (1992). Activity of polyphenolic crude extracts as scavengers of superoxide radicals and inhibitors of xanthine oxidase. *Planta Medica Journals* **58**, 342–344.

Crossman, L.C., Gould, V.C., Dow, J.M., Vernikos, G.S., Okazaki, A., Sebahia, M. (2008). The complete genome, comparative and functional analysis of *Stenotrophomonas maltophilia* reveals an organism heavily shielded by drug resistance determinants. *Genome Biology*. **9** (4), R74.

Çağatay, A.A., Özsüt, H. (2001). Yoğun bakım ünitesi infeksiyonları ve tedavisi. *Yoğun Bakım Dergi*. **1**, 21.

Çetiner, M.S., Yalçın, N.Y., Açar, T. (1993). “Nessy” ve “Theodor Reimers” Böğürtlen çeşitlerinin in vitro klonal çoğaltılması. *Doğa Türk Tarım ve Ormancılık Dergisi*. **9**, 55-64.

Demirsoy, L., Demirsoy, H., Bilginer, S., Öztürk, A., Balcı, G., Çelikel, G. 2006b. Samsunda Yapılan Böğürtlen Çesit Adaptasyon Çalışmaları II. Ulusal Üzümsü Meyveler Sempozyumu, Bildiriler Kitabı. 237- 240. Tokat.

Denton, M., Kerr, K.G. (1998). Microbiological and Clinical Aspects of Infection Associated with *Stenotrophomonas maltophilia*. *Clinical Microbiology Reviews*. 57–80.

Dimića, E.B., Vujasinovićb, V.B., Radočajc, O.F., Pastor, O.P. (2012). Characteristics of blackberry and raspberry seeds and oils. *Acta Periodica Technologica*. **43**, 1–9.

Dökmeci, İ., Akçasu, A., Banoglu, N., Berkarda, S. ve ark. 1992. Farmakoloji, İlaç uygulamalarında temel kavramlar. Nobel Tıp Kitabevleri. 705-785.

Dülger, B., Gücin, F., Malyer, H., Bıçakcı, A. (1997). Antimicrobial activity of Marigold (*Tagetes minuta* L.). *Acta Pharmaceutica Turcica*. **39**(3), 115-119.

Dülger, D., Berktaş, M. (2007). *Stenotrophomonas maltophilia* suşlarının klinik önemi. *Van Tıp Dergisi*. **14**(3), 90-5.

Eloff, J.N. (1998). Which extractant should be used for the screening and isolation of antimicrobial components from plants? *Journal of Ethnopharmacology*. **60**, 1-8.

Ercişli, S. (2004). A short review of the fruit germplasm resources of Turkey. *Genetic Resources and Crop Evolution* **51**: 419–435.

Erenoğlu, B., Öztürk, M. 2002. Avrupa Birliğine Uyum Aşamasında Bahçe Bitkileri Tarımı. (Ed: A. Gül, R.Z. Eltez). AB Ülkelerinde Üzümsü Meyveler Tarımı ve Yakın Gelecekte Beklenen Gelişmeler. İzmir: Meta Basım Matbaacılık. 133-146.

EUCAST. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Erişim tarihi: 30.04.2014. www.eucast.org.

Feig, D.I., Reid, T.M., Loeb, L.A. (1994). Reactive oxygen species in tumorigenesis. *Cancer Research*. **54**, S:1890-4.

Gales, AC., Jones, RN., Forward, KR., Linares, J., Sader, HS., Verhoef J. (2001). Emerging importance of *Acinetobacter* species and *Stenotrophomonas maltophilia* as pathogens in severely ill patients: geographic patterns, epidemiological features, and trends in the SENTRY Antimicrobial Surveillance program (1997–1999). *Clinical Infectious Diseases*. **32**, 104-113.

Gardner, P., Griffin, WB., Swartz, MN., Kunz, LJ. (1970). Nonfermentative gramnegative bacilli of nosocomial interest. *American Journal of Medicine*. **48** (6),735-49.

Gerçekcioğlu, R., Esmek, I., Gunes, M., Edizer, Y. (2003). Adaptation of some blackberry cultivars to Tokat conditions. In *Proceedings of the 1st Kiwifruit and Berry Fruit Symposium*. Ordu, Turkey. 8–12 September. pp. 337–343.

Gerçekcioğlu, R. (1996). Böğürtlen yetiştiriciliği ve geleceği. *Hasad Tarım ve Hayvancılık Dergisi*. **11**, 129.

Gerçekcioğlu, R. (1999a). Tokat yöresinde doğal olarak yetişen Böğürtlenlerin (*Rubus fruticosus* L.) seleksiyonu üzerine bir araştırma. *Türk Tarım ve Ormancılık Dergisi*. **23** (4), 977–981.

Goldberg E, Bishara J. (2012). Contemporary unconventional clinical use of cotrimoxazole. *Clinical Microbiology and Infection*. **18**, 8-17.

Gutteridge, J.M.C. (1984). Lipid peroxidation initiated by superoxide- dependent hydroxyl radicals using complexed iron and hydrogen peroxide. *FEBS Letters*. **172**, 245- 9.

Gülay, Z. (2002). Antibiyotik duyarlılık testlerinin yorumu. *Toraks Dergisi*. **3**, 75-88.

Halvorsen, B.L., Holte, K., Myhrstad, M.C.W., Barikmo, I., Hvattum, E., Remberg, S.F., Wold, A.B., Haffner, K., Baugerod, H., Andersen, L.F., et al. (2002). A systematic screening of total antioxidants in dietary. *Journal of Nutrition*. **132**, 461–471.

Hana, Jung., Ho-Kyung, Kwak., Keum, Taek Hwang. (2004). Antioxidant and antiinflammatory activities of cyanidin-3glucoside and cyanidin-3-rutinoside in hydrogen peroxide and lipopolysaccharide-treated RAW264.7. *Food Science and Biotechnology*. **23**(6), 2053-2062.

Harris, K. 2002. Oregon Caneberries. What Research is Revealing about Black Raspberries. (<http://www.oregonberries.com>).

Harvey Lodish, Arnold Berk, S Lawrence Zipursky, Paul Matsudaira, David Baltimore, James Darnell. 2000. Molecular Cell Biology, 4th edition. New York: W. H. Freeman.

Hayward, AC., Fegan, N., Fegan, M., Stirling, GR. (2010). Stenotrophomonas and Lysobacter: ubiquitous plant-associated gamma-proteobacteria of developing significance in applied microbiology. *Journal of Applied Microbiology*. **108** (3), 756-770.

Heinonen, I.M., Meyer, A.S., Frankel, E.N. (1998). Antioxidant activity of berry phenolics on human low-density lipoprotein and liposome oxidation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **46**, 4107–4112.

Hoel, D., Williams, DN. (1997). Antibiotics: past, present and future. *Unearthing nature' s magic bullets*. **101**(1), 114-8.

Hua, L.F., Changa, X., Yea, Y., Wangc, ZX., Shaoa, YB., Shia, W., Lia, X., Li, JB. (2011). *Stenotrophomonas maltophilia* resistance to trimethoprim/sulfamethoxazole mediated by acquisition of *sul* and *dfrA* genes in a plasmid-mediated sınıf 1 integron. *International Journal of Antimicrobial Agents*. **37**, 230-234.

Huang, W., Zhang, H., Liu, W., Li, C. (2012). Survey of antioxidant capacity and phenolic composition of blueberry, blackberry, and strawberry in Nanjing. *Journal of Zhejiang University Science B*. **13**, 94–102.

Jiao, H., Wang, S. (2000). Correlation of antioxidant capacities to oxygen radical scavenging enzyme activities in blackberry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **48**, 5672–5676.

Johnson, C.C. 1996. In vitro testing: Correlations of bacterial susceptibility, body fluid levels and effectiveness of antibacterial therapy, V Lorian (ed): Antibiotics in Laboratory Medicine. 4th edition. Baltimore: Williams and Wilkins.

Jorgensen, JH., Sahm DF. 1995. Antimicrobial susceptibility testing: General considerations. PR Muray, EJ Baron, MA Pfaller, FC Tenover, RH Yolken (eds): Manual of Clinical Microbiology. 6. Baskı. s: 1277, Washington: ASM Press.

Jucker, BA., Harms, H., Zehnder, AJ. (1996). Adhesion of the positively charged bacterium *Stenotrophomonas* (*Xanthomonas*) *maltophilia* 70401 to glass and Teflon. *Journal of Bacteriology*. **178**(18),5472-9.

Karabay, O., Hosoglu, S. (2008). Increased antimicrobial consumption following reimbursement reform in Turkey. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. **61**, 1169–1171.

Karaca, Ş., Güder, H. (2009). Dermatolojide antioksidan sistem. *Türk Dermatoloji Dergisi*. **3**, 32-39.

Karcı, A., Uslu, Ö., Balcıoğlu, I. 2010. Gübrede Antibiyotik Kirliliği ve Giderimi. Đ.T.Ü. Endüstriyel Kirlenme Sempozyumu.

Kaşka, N., Yılmaz, M. (1974). Bahçe bitkileri yetiştirme tekniği. *Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*. **79**, 601.

Kayaalp, O. 1991. Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji. 6. baskı. Ankara: Feryal Matbaacılık. 826-863.

Koç Türkoğlu, F. 2008. Pediatri Kliniğine Başvuran Annelerin Çocuklarda Antibiyotik Kullanımı Konusundaki Bilgi ve Tutumlarının Araştırılması. İstanbul: Göztepe Eğitim Ve Araştırma Hastanesi Aile Hekimliği. Uzmanlık Tezi. 14s.

Krisch, J., Galgoczy, L., Tolgyesi, M., Papp, T., Vagvolgyi, C. (2008). Effect of fruit juices and pomace extracts on the growth of Gram-positive and Gram-negative bacteria. *Acta Biologica Szegediensis*. **52**, 267–270.

Levy, S.B. Antimicrobial resistance: bacteria on the defence. (1998). Resistance stems from misguided efforts to try to sterilise our environment. *British Medicinal Journal*. **317** (7159), 612-613.

Looney, WJ. (2005). Role of *Stenotrophomonas maltophilia* in hospital-acquired infection. *British Journal of Biomedical Science*. 62(3), 145-54.

Looney, WJ., Narita, M., Mühlemann, K. (2009). *Stenotrophomonas maltophilia*: an emerging opportunist human pathogen. *Lancet Infectious Diseases*. **9**, 312-23.

Magdalena Szejka, Tomasz Poplawskib, Joanna Sarnikb, Izabela Pawlaczyk-Grajac, Franciszek Czechowskid, Alicja Klaudia Olejnik, Roman Gancarz, Halina Malgorzata Zbikowska. (2017). Polyphenolic glycoconjugates from medical plants of Rosaceae/Asteraceae family protect human lymphocytes against γ -radiation-induced damage. *International Journal of Biological Macromolecules*. **94**, 585–593.

McKay, GA., Woods, DE., MacDonald, KL., Poole, K. (2003). Role of phosphoglucosyltransferase of *Stenotrophomonas maltophilia* in lipopolysaccharide biosynthesis, virulence, and antibiotic resistance. *Infection and immunity*. **71**(6), 3068-75.

Messegue, N. 1978. Tabiat Haklıdır. İstanbul: E Yayınları.

Moyer, R.A., Hummer, K.E., Finn, C.E., Frei, B., Wrolstad, R.E. (2002). Anthocyanins, phenolics and antioxidant capacity in diverse small fruits: Vaccinium, Rubus and Ribes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **50**, 519–525.

Murray, PR., Baron, EJ., Jorgensen, JH., Landry, ML., Pfaller, MA. 2009. Klinik Mikrobiyoloji (Çev Edit. AC Başustaoğlu). cilt 1:734-802. 9. Baskı. Ankara: Atlas Kitapçılık.

Murray, PR., Rosenthal, KS., Pfaller, MA. 2010. Tıbbi Mikrobiyoloji. 6. Baskı. Ankara: Atlas Kitapçılık.

NCCLS. National Commite for Clinical Laboratory Standards. 1997. Methods for dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically-Fouth edition: Approved Standard M7- A4. Villanova, PA.

NCCLS. National Commite for Clinical Laboratory Standards. 1997. Performanse Standards for Antimicrobial Disk Susceptiblity Tests –Sixth edition: Approved Standard M2- A6. Villanova, PA.

Nicodemo, AC., Paez, JIG. (2007). Antimicrobial therapy for *Stenotrophomonas maltophilia* infections. *Europian Journal of Clinical Microbiology of Infection Disease*. **26**, 229-237.

Nyč, O., Matějková, J. (2010). *Stenotrophomonas maltophilia*: Significant Contemporary Hospital Pathogen. *Folia Microbiologica*. **55**(3), 286–294.

Octavio A. González., Carolina Escamilla., Robert J. Danaher., Jin Dai., Jeffrey L. Ebersole., Russell J. Mumper., Craig S. Miller. (2013). Antibacterial effects of Blackberry extract target periodontopathogens. *Journal of Periodontal Research*. **48**(1), 80–86.

Pages, D., Rose, J., Conrod, S., Cuine, S., Carrier P., Heulin, T., Achouak, W. (2008). Heavy metal tolerance in *Stenotrophomonas maltophilia*. *PLoS ONE*. **3**(2), e1539.

Pantelidis, G.E., Vasilakakis, M., Manganaris, G.A., Diamantidis, G. (2007). Antioxidant capacity, phenol, anthocyanin and ascorbic acid contents in raspberries, blackberries, red currants, gooseberries and cornelian cherries. *Food Chemistry*. **102**, 777–783.

Patricia Tate., Anne Stanner., Kelly Shields., Samuel Smith., Lyndon Larcom. (2006). Blackberry extracts inhibit UV-induced mutagenesis in *Salmonella typhimurium* TA100. *Nutrition Research*. **26**, 100– 104.

Pehlivan, M., Güleriyüz, M. 2000. Bazı Ahududu Çeşitlerinin Oltu İlçesine Adaptasyonu Üzerinde Bir Araştırma (Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi). Erzurum: Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. 74 s.

Pehlivan, M., Güleriyüz, M. (2004). Ahududu ve Böğürtlenlerin İnsan Sağlığı Açısından Önemi. *Bahçe*. **33** (1–2), 51 –57.

Poling, E.B. 1996. Blackberries. In: Gough, R.E. and E.B. Poling (eds.). *Small Fruits in the Home Garden*. Binghamton, NY: Food Products Press. pp. 33–71.

Recht, L. 1995. Success with Soft Fruits. Sweet berries from your own Garden. London: Published by Merehurst Limited. 65p.

Redalen, G. 1990. Primocane (Autumn)-Fruiting Raspberries Under Norwegian Prowing Conditions. 55(3). Norway: Gartenbauwissenschaft. 135-138p.

Riaz, M., Ahmad, M., Rahman, N. (2011). Antimicrobial screening of fruit, leaves, root and stem of *Rubus fruticosus* L. *Journal of Medical Plants Research*. **5**, 5920–5924.

Riaz, M., Ahmad, M., Rahman, N. (2011). Antimicrobial screening of fruit, leaves, root and stem of *Rubus fruticosus* L. *Journal of Medical Plants Research*. **5**, 5920–5924.

Riceevans, C.A., Miller, N.J., Bolwell, G.P., Bramley, P.M., Pridham, J.B. (1995). The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids. *Free Radical Research*. **22**, 375-383.

Rios, J.L., Recio, M.C., Villar, A. (1987). Antimicrobial activity of selected plants employed in the Spanish mediterranean area. *Journal of Ethnopharmacology*. **21**, 139–152.

Roche, H.M., Seagrove, S., Mehta, A., Divekar, P., Campbell, S., Curnow, A. (2010). Using natural dietary sources of antioxidants to protect against ultraviolet

and visible radiation-induced DNA damage: An investigation of human green tea ingestion. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. **101**, 169-173.

Romero Rodriguez, M.A., Vazquez Oderiz, M.L., Lopez Hernandez, J., Simal Lozano, J. (1992). Determination of vitamin C and organic acids in various fruits by HPLC. *Journal of Chromatographic Science*. **30**, 433–437.

Rotundo, A., Bounous, G., Benvenuti, S., Vampa, G., Melegari, M., Soragni, F. (1998). Quality and yield of Ribes and Rubus cultivars grown in Southern Italy hilly location. *Phytotherapy Research*. **12**, 135–137.

Sanchez, Hernandez, Martinez. (2009). *Stenotrophomonas maltophilia* drug resistance. *Future Microbiology*. **4**(6), 655-660.

Sangiovanni, E., Vrhovsek, U., Rossoni, G., Colombo, E., Brunelli, C., Brembati, L., Trivulzio, S., Gasperotti, M., Mattivi, F., Bosisio, E., et al. (2013). Ellagitannins from Rubus berries for the control of gastric inflammation: In vitro and in vivo studies. *PLoS One*. **8**, e71762.

Sarkar, A., Ganguly, S.N. (1978). Rubitic acid, a new triterpene acid from Rubus fruticosus. *Phytochemistry*. **17**, 1983–1985.

Sasidharan Padmaja Divya, Xin Wang, Poyil Pratheeshkumar, Young-Ok Son, RamVinod Roy, Donghern Kimb, Jin Dai, John Andrew Hitron, LeiWang, Padmaja Asha, Xianglin Shi, Zhuo Zhang. (2015). Blackberry extract inhibits UVB-induced oxidative damage and inflammation through MAP kinases and NF- κ B signaling pathways in SKH-1 mice skin. *Toxicology and Applied Pharmacology*. **284**, 92–99.

Schugerl, K., (2001). Progress in Monitoring, Modeling and Control of Bioprocesses During the Last 20 Years. *Journal of Biotechnology*. **85**, 149-173.

Sellappan, S., Akoh, C.C., Krewer, G. (2002). Phenolic compounds and antioxidant capacity of Georgia-grown blueberries and blackberries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **50**, 2432–2438.

Senol E. (2004). *Stenotrophomonas maltophilia*: the significance and role as a nosocomial pathogen. *Journal of Hospital Infections*. **57**(1), 1-7.

Serajus Salaheen, Ekta Jaiswal, Jungsoo Joo, Mengfei Peng, RyanHoa, Danielle OConnor, Katrina Adlerz, Jose Helim Aranda-Espinoza, Debabrata Biswas. (2016). Bioactive extracts from berry byproducts on the pathogenicity of Salmonella Typhimurium. *International Journal of Food Microbiology*. **237**, 128–135.

Sharmila, J. Talekar, Sopio Chochua, Katie Nelson, Keith, P. Klugman, Cassandra, L. Quave, Jorge, E. Vidal. (2014). 220D-F2 from *Rubus ulmifolius* kills *Streptococcus pneumoniae* planktonic cells and pneumococcal biofilms. *PLOS One May*. **9**, 5.

Shimizu, K., Nagatsuka, Y., Osawa, K., Ando, T., Shimura, S. 2004. The composition of food and drink used as medicine against anti- influenza Virus. Jpn: Kokai Tokkyo Koho. JP2004059463.

Silvia Martinia, Claudia D'Addariob, Andrea Colacevichc, Silvia Focardi, Francesca Borghinic, Annalisa Santuccid, Natale Figurae, Claudio Rossi. (2009). Antimicrobial activity against *Helicobacter pylori* strains and antioxidant properties of blackberry leaves (*Rubus ulmifolius*) and isolated compounds. *International Journal of Antimicrobial Agents*. **34**, 50–59.

Stajčić, S.M., Tepić, A.N., Djilas, S.M., Šumić, Z.M., Čanadanović-Brunet, J.M., Ćetković, G.S., Vulić, J.J., Tumbas, V.T. (2012). Chemical composition and antioxidant activity of berry fruits. *Acta Periodica Technologica*. **43**, 94–105.

Strik, B., Finn, C., Clark, J.R., Banados, M.P., 2006. Worldwide Production of Blackberries
<http://berrygrape.oregonstate.edu/fruitgrowing/berrycrops/blackberryworldwide.pdf>.

Tepe, B., Degerli, S., Arslan, S., Malatyali, E., Sarikurkcü, C. (2011). Determination of chemical profile, antioxidant, DNA damage protection and antiamebic activities of *Teucrium polium* and *Stachys iberica*. *Fitoterapia*. **82** (2), 237–246.

Thomas M. Spormann, Franz W. Albert, Thomas Rath, Helmut Dietrich, Frank Will, Jean-Pierre Stockis, Gerhard Eisenbrand, Christine Janzowski. (2008). Anthocyanin/polyphenolic-rich fruit juice reduces oxidative cell damage in an intervention study with patients on hemodialysis. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*. **17**(12).

- Toleman, M.A., Bennett, P.M., Bennett, D.M.C., Jones, R.N., Walsh, T.R. (2007). Global emergence of trimethoprim/sulfamethoxazole resistance in *Stenotrophomonas maltophilia* mediated by acquisition of sul genes. *Emerging Infectious Diseases*. **13**(4).
- Topçu, A., Söyletir, G., Doğanay, M. 2002. İnfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi. cilt 1. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri. 248-252p.
- USDA. United States Department of Agriculture. 2014. National Nutrient Data Base. Available online: <http://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/show/2180>.
- Villarino, M.E., Stevens, L.E., Schable, B., Mayers, G., Miller, J.M., Burke, J.P., et al. (1992). Risk factors for epidemic *Xanthomonas maltophilia* infection/colonization in intensive care unit patients. *Infection Control and Hospital Epidemiology*. **13**(4), 201-6.
- W. John Looney, Masashi Narita, Kathrin Mühlemann. (2009). *Stenotrophomonas maltophilia*: an emerging opportunist human pathogen. *Lancet Infectious Diseases*. **9**,312–23.
- Wang, S.Y., Lin, H.S. (2000). Antioxidant activity in fruits and leaves of blackberry, raspberry, and strawberry varies with cultivar and developmental stage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. **48**, 140–146
- Waters, V.J., Gomez, M.I., Soong, G., Amin, S., Ernst, R.K., Prince, A. (2007). Immunostimulatory properties of the emerging pathogen *Stenotrophomonas maltophilia*. *Infection and immunity*. **75**(4), 1698-703.
- Windhorst, S., Frank, E., Georgieva, D.N., Genov, N., Buck, F., Borowski. (2002). The major extracellular protease of the nosocomial pathogen *Stenotrophomonas maltophilia*: characterization of the protein and molecular cloning of the gene. *Journal of Biological Chemistry*. **277**(13), 11042-9.
- Xu, Y., Zhang, Y., Chen, M. 2006. Effective fractions of *Rubus fruticosus* leaf, its pharmaceutical composition and uses for prevention and treatment of diabetes. China: CN1788755.

Yang, H., Hewes, D., Salaheen, S., Federman, C., Biswas, D. (2014). Effects of blackberry juice on growth inhibition of foodborne pathogens and growth promotion of *Lactobacillus*. *Food Control*. **37**, 15–20.

Yilmaz, K.U., Yasar, Z., Ercisli, S., Serce, S., Gunduz, K., Sengul, M., Asma, B.M. (2009). Some selected physico-chemical characteristics of wild and cultivated blackberry fruits (*Rubus fruticosus* L.) from Turkey. *Romanian Biotechnological Letters*. **14**, 4152–4163.

Yoko Miyasaki, John D. Rabenstein, Joshua Rhea, Marie-Laure Crouch, Ulla M. Mocek, Patricia Emmett Kittell, Margie A. Morgan, Wesley Stephen Nichols, M. M. Van Benschoten, William David Hardy, George Y. Liu. (2013). Isolation and characterization of antimicrobial compounds in plant extracts against multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *PloS One*. **8**(4), e61594.

Yokuş, B., Çakır, D.Ü. (2002). İn vivo oksidatif DNA hasarı biyomarkerı, 8-Hydroxy-2'-Deoxyguanosine. *Turkish Klinik Journal of Medical Science*. **22**, 535-543.

Zer, Y., Karaoğlu, İ., Çevik, S., Erdem, M. (2009). *Stenotrophomonas maltophilia* suşlarının antibiyotik duyarlılıklarının irdelenmesi. *Klinik Dergisi*. **22**, 21-4.