

NİSAN 2018

Yüksek Lisans Tezi-Biyoloji Bölümü

MEDİNE TAŞ

T.C.

GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

***FRAGARIA VESCA* MEYVESİNİN DNA KORUYUCU
AKTİVİTELERİNİN VE *STENOTROPHOMONAS MALTOPHILIA*
ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

BİYOLOJİ BÖLÜMÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

MEDİNE TAŞ

NİSAN 2018

***Fragaria vesca* Meyvesinin DNA Koruyucu Aktivitelerinin ve
Stenotrophomonas maltophilia Üzerine Etkilerinin Araştırılması**

Gaziantep Üniversitesi

Biyoloji Bölümü

Yüksek Lisans Tezi

Danışman

Doç. Dr. İbrahim Halil KILIÇ

Medine TAŞ

Nisan 2018

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

Tezin Adı: *Fragaria vesca* Meyvesinin DNA Koruyucu Aktivitelerinin ve *Stenotrophomonas maltophilia* Üzerine Etkilerinin Araştırılması

Öğrencinin, Adı Soyadı: Medine TAŞ

Tez Savunma Tarihi: 19.04.2018

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 tarafımızca okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.


Doç. Dr. İbrahim Halil KILIÇ

Tez Danışmanı

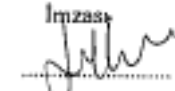
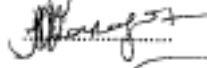
Bu tez tarafımızca okunmuş, kapsam ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir. ⁴⁹

Jüri Üyeleri:

Doç. Dr. İbrahim Halil KILIÇ

Doç. Dr. Işık Didem KARAGÖZ

Öğr. Üy. Dr. Çiğdem KÖÇKAR

İmzası






© 2018 [Medine TAŞ]

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

Medine TAŞ

ABSTRACT

FRAGARIA VESCA* FRUIT DNA PROTECTIVE ACTIVITIES and INVESTIGATION OF THE EFFECTS on *STENOTROPHOMONAS* *MALTOPHILIA

TAS, Medine

M.Sc. in Department of Biology

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. İbrahim Halil KILIÇ

April 2018

49 pages

The development of multiple resistance mechanisms that are increasingly used in the treatment of infectious diseases has accelerated the search for new antibiotic molecules. As most medicines are active molecules, plants are an important source of bioactive compounds. Strawberry (*Fragaria vesca*) fruit is a commonly consumed fruit. It was aimed to determine the effects of Strawberry (*Fragaria* L.) fruit on the DNA protective activity and *Stenotrophomonas maltophilia* strains which are influencing the hospital infection. The protective activity of H₂O₂ against DNA damage and UV rays was investigated on the fruit extract. Plasmid pBR322 was exposed to H₂O₂ and UV light for different times with methanol extract prepared at different concentrations and the results were displayed on gel. The results obtained show that *Fragaria* 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 do not exhibit antibacterial activity by inhibiting bacteria. The results obtained can be evaluated in the future as cosmetic industry cream and new antibiotic molecule.

Key words: *Stenotrophomonas maltophilia*, *Fragaria vesca*, minimum inhibitor concentration, DNA, Ultraviolet rays.

ÖZET

FRAGARIA VESCA MEYVESİNİN DNA KORUYUCU AKTİVİTELERİNİN VE STENOTROPHOMONAS MALTOPHILIA ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

TAŞ, Medine

Yüksek Lisans Tezi, Biyoloji Bölümü

Tez Yöneticisi: Doç.Dr. İbrahim Halil KILIÇ

Nisan 2018

49 sayfa

Enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde kullanılan antibiyotiklere giderek artan çoklu direnç mekanizmalarının gelişmesi yeni antibiyotik moleküllerinin arayışını hızlandırmıştır. Çoğu ilacın etken molekülünde olduğu gibi bitkiler bioaktif bileşikler açısından önemli kaynaktır. Çilek (*Fragaria vesca*) meyvesi yaygın olarak tüketilen bir meyvedir. Çilek (*Fragaria L.*) meyvesinin DNA koruyucu aktivitesi ve hastane enfeksiyon etkeni olan *Stenotrophomonas maltophilia* suşları üzerine etkilerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Meyve özütünün DNA üzerine H₂O₂'in ve UV ışınlarının hasarına karşı koruyucu aktivitesi araştırılmıştır. Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan metanol özütü ile pBR322 plazmid DNA'sı farklı sürelerde H₂O₂ ve UV'ye ışığa maruz bırakılmış sonuçlar jelde görüntülenmiştir. Elde edilen sonuçlar, *Fragaria L.* meyve özütlerinin oksidatif nedenli hasarlardan DNA'yı koruma özelliğinde olduğunu ortaya koymuştur. *S. maltophilia* suşları üzerinde yapılan disk difüzyon ve mikrodilüsyon test çalışmaları sonucunda, metanol özütlerin bakterileri inhibe ederek antibakteriyal etki göstermediği tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlar, ileride kozmetik endüstrisinde krem yapımı ve yeni antibiyotik molekülü olarak değerlendirilebilir.

Anahtar kelimeler: *Stenotrophomonas maltophilia*, *Fragaria vesca*, minimum inhibitör konsantrasyon, DNA, Ultraviyole ışınları

TEŞEKKÜR

Çalışmalarında bana sonuna kadar destek olan saygıdeğer Gaziantep Üniversitesi Biyoloji Bölümü Moleküler Biyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi, danışman hocam Doç. Dr İbrahim Halil KILIÇ'a sonsuz teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Ayrıca, yüksek lisans dönemi süresince benden yardımlarını esirgemeyen Hatice ÖZTÜRK'e, Kadir KUTLAR'a, Bekir Sıddık KURT'a, Sami Serhat TOSUN'a, İbrahim Sani ACIOĞLU'na çok teşekkür ederim.

Beni tüm hayatım boyunca destekleyen başta babam olmak üzere tüm aileme teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ABSTRACT.....	i
ÖZET.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
TABLolar DİZİNİ.....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vi
SEMBOLLER/KISALTMALAR LİSTESİ.....	vii
BÖLÜM 1.....	1
GİRİŞ.....	1
1.1 <i>Fragaria vesca</i> Bitkisinin Genel Özellikleri.....	2
1.1.1 Genel Özellikleri.....	2
1.1.2 Kimyasal Özellikleri.....	3
1.1.3 İklim ve Toprak İstekleri.....	4
1.1.4 Kullanımı ve Sağlık Açısından Önemi.....	6
1.2 DNA Koruyucu Aktivite.....	6
1.2.1 DNA Tamir Mekanizmaları.....	8
1.2.1.1 Direkt Tamir ya da Hasarın Geri Döndürülmesi.....	9
1.2.1.2 Kesip Çıkarma Onarımı (Eksizyon).....	10
1.2.1.3 Rekombinasyon Tamir.....	12
1.2.1.4 SOS Tamiri.....	13
1.2.1.5 DNA Çift Zincir Kırıklarının Tamiri.....	13
1.3 Antibiyotikler.....	14
1.3.1 Antibiyotiklerin Sınıflandırılması.....	14
1.3.2 Antibiyotiklerin Etki ve Direnç Mekanizması.....	16
1.4 <i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	18
1.4.1 Taksonomi.....	18
1.4.2 Morfoloji ve Boyanma Özellikleri.....	18
1.4.3 Kültür Özellikleri.....	18
1.4.4 Biyokimyasal Özellikler.....	19
1.4.5 Antijenik ve Genomik Özellikler.....	20
1.4.6 Virülans ve Patogenez.....	21
1.4.7 <i>S. maltophilia</i> Kaynaklı Enfeksiyonlar.....	22
1.4.8 Epidemiyoloji.....	23
1.4.9 Antibiyotik Direnci.....	24
1.4.9.1 Beta-Laktam Direnci.....	25
1.4.9.2 Aminoglikozid Direnci.....	25
1.4.9.3 Kinolon Direnci.....	25
1.4.9.4 Makrolid Direnci.....	25
1.4.9.5 Trimetoprim/Sülfametoksazol Direnci.....	26
1.5 Antibiyotik Duyarlılık Testi.....	26
1.5.1 Disk Difüzyon Testi.....	27
1.5.2 Mikrodilüsyon Testi.....	28

BÖLÜM 2.....	29
LİTERATÜR ÖZETLERİ.....	29
BÖLÜM 3.....	32
MATERYAL ve YÖNTEM.....	32
3.1 Çilek (<i>Fragaria vesca</i>) Meyve Özütlerinin Hazırlanması	32
3.1.1 Materyal.....	32
3.1.2 Metod.....	32
3.2 DNA Koruyucu Aktivitesinin Belirlenmesi.....	32
3.2.1 Materyal.....	32
3.2.2 Metod.....	32
3.3 Çilek Meyve Özütlerinin <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> Üzerinde Disk Difüzyon Testi.....	34
3.3.1 Materyal.....	34
3.3.2 Metod.....	34
BÖLÜM 4.....	36
BULGULAR.....	36
4.1 <i>Fragaria vesca</i> Meyve Özütlerinin DNA Koruyucu Aktivitesinin Belirlenmesinde Elde Edilen Sonuçlar.....	36
4.2 Disk Difüzyon Yönteminde Elde Edilen Sonuçların Değerlendirilmesi	38
BÖLÜM 5.....	39
TARTIŞMA VE SONUÇLAR.....	39
KAYNAKÇA	42

TABLÖLAR DİZİNİ

	Sayfa
Tablo 1.1 Çileğin kimyasal bileşimi	4
Tablo 1.2 Antibiyotik sınıfları, etki ve direnç mekanizmaları	17
Tablo 1.3 <i>S. maltophilia</i> 'nın bazı biyokimyasal özellikleri.	20



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1 Dünyadaki önemli çilek üreticisi ülkelerin çilek üretim miktarları ve dünya çilek üretimindeki payları	3
Şekil 4.1 Çilek özütlerinin jel dökümantasyon sisteminde (DNR-IS, MiniBIS Pro) görüntülenen DNA koruyucu bantları.....	37
Şekil 4.2 Disk difüzyon testi sonuçları	38

SEMBOLLER/ KISALTMALAR LİSTESİ

BER	: Baz Eksizyon Tamiri
CH₃	: Metil
CPDs	: Siklobütan Pirimidin Dimerleri
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
EMB	: Eozin Metilen Blue
FAO	: Gıda ve Tarım Örgütü
FRAP	: Demir İyonu İndirgeyici Antioksidan Güç
hCG	: İnsan Koryonik Hormonu
HIV	: İnsan İmmünyetmezlik Virüsü
HNPCC	: Kalıtsal Nonpolipozal Kolon Kanseri
HPLC	: Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi
HR	: Homolog Rekombinasyon
MER	: Mismatch (Yanlış Eşleşme) Eksizyon Tamiri
MHA	: Mueller Hinton Agar
MIK	: Minimum İnhibitör Konsantrasyonu
NER	: Nükleotid Eksizyon Tamiri
NHEJ	: Serbest Uçların Homolog Olmayan Şekilde Bağlanması
ORAC	: Oksijen Radikal Absorbsiyon Kapasitesi
RNA	: Ribo Nükleik Asit
UV	: Ultra Viyole
β	: Beta
°C	: Santigrat Derece
cfu	: Koloni Oluşturan Birim
CH₃OH	: Metil Alkol
CO₂	: Karbondioksit
dH₂O	: Distile Su
g	: Gram
H₂O₂	: Hidrojen Peroksid
mg	: Miligram
O₂	: Oksijen
μl	: Mikro litre
γ	: Gama

BÖLÜM 1

GİRİŞ

Enfeksiyon hastalığına yol açan etkenler arasında son derece önemli rol oynayan bakterilere karşı antibiyotikler kullanılmasına karşın antibiyotiklerin bilinçsizce kullanılmasına bağlı olarak ortaya çıkan antibiyotik direnci günümüzdeki en önemli sorunlardan birisi haline gelmiştir. Hastane dışında gelişmekte olan toplumsal enfeksiyonların önemli bir kısmında antibiyotik tedavisi olumlu sonuçlar verebilmesine karşın nozokomiyal enfeksiyonlarda ise bu kadar olumlu sonuçlar vermemektedir. Öte yandan tedaviye direnç gelişme riski fazla olup nozokomiyal enfeksiyonlarda bu daha da yüksek olmaktadır. Nozokomiyal enfeksiyonların çoğunlukla *Stenotrophomonas maltophilia* gibi çoklu dirence sahip bakteriler ile gelişmesinden ötürü antibiyotik tedavilerinin maliyeti de artmaktadır. Bir başka önemli konu da altta yatan sorunlardan ötürü hastanede yatan, bu sorunların tedavisi için invaziv girişimlere maruz kalan, hastanede kalış süreleri uzamış olan hastalarda bu tarz enfeksiyonların ortaya çıkmış olmasıdır. Günümüz dünyasında antibiyotiklere dirençli ve duyarlı bakteri suşlarının bölgeler ve hatta hastaneler arasında farklılık arz ettiği bilinen bir gerçek olup bu sebepten ötürü de düzenli aralıklarla direnç araştırmalarının yapılması ve ilgili bakteriyle ilaçlar arasındaki duyarlılık-direnç oranlarının saptanması gerekmektedir. Yeni antibiyotik moleküllerinin aranmasında son yıllar tıbbi bitkiler önemli doğal kaynaklardan birisi haline gelmiştir.

Bu çalışmada çilek (*Fragaria vesca*) meyvelerinin metanol özütünün DNA koruyucu aktivitesinin belirlenip kozmetikte kullanılabilir olup olmadığının değerlendirilerek özütlerin önemli nozokomiyal çoklu dirence sahip bir bakteri türü olan *Stenotrophomonas maltophilia* üzerinde antibiyotik etkisinin tespit edilerek yeni antibiyotik moleküllerinin saptanmasına katkıda bulunulması amaçlanmıştır.

1.1 *Fragaria vesca* Bitkisinin Genel Özellikleri

1.1.1 Genel Özellikleri

Takım: Rosales

Alt Takım: Rosineae

Familya: Rosaceae

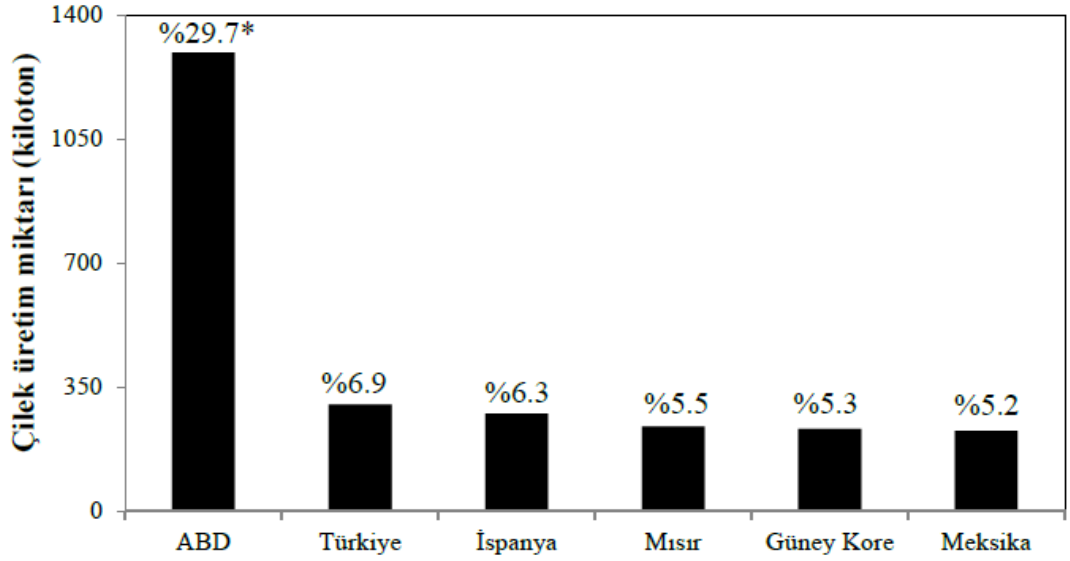
Alt Familya: Rosoideae

Cins: *Fragaria*

Tür: *Fragaria vesca*,

Çilek çok yıllık, herdem yeşil bir bitki olup kısa boylu, yüzeysel kök yapan, otsu bitkiler arasında yer almaktadır. Çileğin saçak kök sisteminin hemen üzerinde oldukça indirgenmiş gövde olan taç üzerinden yapraklar çıkmakta, çiçek ve meyve salkımları oluşmaktadır. Kökler kök gövdesinden çıkmakta olup bunların sayıları 20-30 arasındadır. Yapraklar tüylü olup kenarları testere dişlidir. Dört ya da beş parçalı yaprakçıklı çeşitleri de bulunmaktadır. Genel olarak beyaz renkli olan çiçekleri yaprakların koltuğundan çıkan ince saplar üzerinde küçük salkımlar meydana getirir. Çilek yalancı bir meyve olup yenilen kısmı 40-60 pistilin birleşmesinden meydana gelen çiçek ekseninin, çiçek tablasının genişleyip etlenmesiyle oluşmaktadır ve yüzeyinde pek çok gerçek meyve (aken) olarak kabul edilen küçük tohum görünümlü kabartılar mevcuttur (Aybak, 2008).

Önemli ılıman iklim meyvelerinden birisi olan çilek genel olarak ilkbahar ve yaz döneminde çıkmaktadır. Türkiye’de bilhassa 2005-2010 arası dönemde ciddi manada artış kaydeden çilek üretimi 2010 yılı sonu itibarıyla 11.679 hektar alanda 300 bin tona çıkmıştır. Bu üretim miktarıyla dünya çilek üretiminde ülkemiz 2. sırada yer almaktadır (Anonim, 2012a) (Şekil 1.1). 2010 yılı verilerine göre dünya çilek üretimi yaklaşık 4.4 milyon ton olup bu miktarın %6.9’u Türkiye’de üretilmektedir (Anonim, 2012b).



Şekil 1.1 Dünyadaki önemli çilek üreticisi ülkelerin çilek üretim miktarları ve dünya çilek üretimindeki payları (FAO 2012b)

*Grafik üzerinde verilen % değerler, ülkelerin dünyadaki çilek üretim oranlarını göstermektedir.

1.1.2 Kimyasal Özellikleri

Çileğin bileşimindeki vitamin, mineral, organik asit, antosiyanin ve lifler çileğin kendine has tat ve aromasını oluşturmaktadır. Bunun yanında çilekteki fitokimyasal bileşenler insan sağlığı açısından da faydalıdır. Çilek genellikle kalori bakımından düşük, lif bakımından ise yüksek içeriğe sahiptir. Çilekte genel aromanın oluşumunda çözünebilir şekerler (sakaroz, glukoz ve fruktoz), organik asitler ve uçucu aroma bileşenleri önemli yer tutmaktadır (Zhao ve ark., 2007). Çileğin kimyasal bileşiminin belirlenmesine yönelik yapılan birçok çalışmada; çeşit, gübreleme, bölge, hava koşulları, örneklem zamanı ve olgunlaşma derecesi gibi faktörlerin çileğin kimyasal yapısının farklılık göstermesine yol açtığı tespit edilmiştir (Hakala ve ark., 2003). Çileğin kimyasal bileşimi Tablo 1.1’de yer almaktadır.

Tablo 1.1 Çileğin kimyasal bileşimi

Genel Bileşim		Vitamin İçeriği		Mineral İçeriği		Kimyasal Bileşim	
Su (g)	90,95	Toplam askorbik asit (mg)	58,8	Kalsiyum (mg)	16	Sükroz (%)	0,06-2,27
Enerji (kcal)	32	Tiamin	0,024	Demir (mg)	0,42	Glüköz (%)	0,71-8,64
Protein (g)	0,67	Riboflavin (mg)	0,022	Magnezyum (mg)	13	Fruktoz (%)	1,23-6,27
Toplam Lipid (g)	0,3	Niasin (mg)	0,386	Fosfor(mg)	24	Briks	6-13,1
Karbonhidrat (g)	0,4	Pantotenik asit (mg)	0,125	Potasyum(mg)	153	Sitrik asit (%)	0,09-2,03
Toplam Lif(g)	7,68	Vitamin B ₆ (mg)	0,047	Sodyum(mg)	1	Malik asit (%)	0-0,54
Toplam Şeker(g)	6,89	Toplam folat	24	Çinko(mg)	0,14	pH	3,18-3,70
		Vitamin A	12	Bakır(mg)	0,048	Titrasyon Asitliği (%)	0,53-1,20
		α -Tokoferol (mg)	0,29	Mangan(mg)	0,386		
		β -Tokoferol (mg)	0,01	Selenyum(mg)	0,4		
		γ -Tokoferol (mg)	0,08				
		Δ -Tokoferol (mg)	0,01				
		Vitamin K (μ g)	2,2				

1.1.3 İklim ve Toprak İstekleri

Çilek bitkisinin büyümesi ve gelişimi üzerinde etkili olan en önemli faktörlerin başında iklim, konum ve toprak gelmekte olup bunların çilek üretiminin sınırlarını belirlediği gibi farklı enlemlerde hangi yüksekliklere kadar çilek yetiştirebileceğini de belirlediği söylenebilir.

İklim İstekleri

Çilek bitkisi kozmopolit türlerden birisi olup dünyanın pek çok farklı bölgesinde ve farklı ekolojik koşullarda yetişebilmektedir. Çok geniş sıcaklık aralıklarında yetiştirilebilen ender meyve türlerinden olup Orta Alaska gibi kışın sıcaklığın - 51 °C'ye kadar düştüğü bölgelerden +46 °C gibi sıcaklık değerlerinin gözlendiği Kaliforniya'da da doğal çilek türlerine rastlanabilmektedir.

Çilek, - 10 °C ile 25 °C'lik sıcaklık sınırları arasında özel bir önlem almadan yetiştirilebilmektedir. Optimum sıcaklık isteği gündüzleri 18-22 °C, geceleri 10-13 °C'dir. Çileklerde büyüme için sıcaklık eşiği 16 °C'dir. Çilekte kısa günde çiçek gözleri, uzun günde kol gelişimi olur. Bu sebeple çilekte verim ile gün uzunluğu çok

yakından ilgilidir. Bu sebeple bir bölgeye uyan çeşit, diğer bölgeye uymayabilir. Çiçek gözü oluşumunda gün uzunluğu ile sıcaklık ilişkisi ve çeşit özelliği arasında çok yakın bir ilişki bulunmaktadır. Soğuklamanın verim ve kalite üzerine olumlu etkisi vardır. Çileklerin soğuklama ihtiyacı 400-500 saat olarak belirlenmiştir (Gül, 2011).

Çileklerde özellikle ilkbahar geç donları ve sonbahar erken donları etkili olmaktadır. İlkbahar geç donları ilk açan çiçeklerin ya da yeni tutmuş meyvelerin zarar görmesine, sonbahar erken donları ise yeni oluşan ve oluşmakta olan çiçek tomurcuklarının zarar görmesine yol açabilir. Çilek oldukça yüksek bölgelerde yetişebilme özelliğine sahip olmasına rağmen 800 m'nin altındaki yüksekliklerde daha iyi gelişme göstermektedir. Çilek dikilecek arazinin % 2-3 düzeyinde eğimli olması hava sirkülasyonu ve su drenajı için oldukça uygun şartlar sağlamaktadır. Çilek bahçesi kurulacak arazinin güney yönlerde kurulması erkencilik açısından oldukça avantajlıdır. Ayrıca bitkinin ilkbaharda gelen geç donlara karşı dayanıklı olmasını da sağlayabilmektedir (Gül, 2011).

Toprak İstekleri

Çilek, 4 ile 8.5 pH düzeyleri arasındaki topraklarda yaşayabilir. Ancak en iyi yetiştirme imkanı veren toprak pH'sı 6.0 ile 6.5 arası düzeydir. Çilek kumlu çakıllı topraklardan ağır killi topraklara kadar geniş bir aralıkta yetişebilir (Yılmaz, 2009).

Kumlu topraklar ilkbaharda daha çabuk ısındığı için erkencilik yönünden de tercih edilmelidir. Örtü altında yaz aylarında solerizasyon uygulanmalı ve toprak fumigantları ile toprak sterilize edilmelidir (Aybak, 2008). Çilek çakıllı ve taşlı topraklarda, killi ve ağır topraklara göre daha iyi gelişir. Çilek yetiştirilecek arazi üzerinde önceden çilek yetiştiriciliği yapılmış ise toprak fumigasyonu mutlaka yapılmalıdır. Çilek toprak tuzluluğuna karşı en hassas türler içerisinde yer almaktadır (Yılmaz, 2009).

1.1.4 Kullanımı ve Sağlık Açısından Önemi

Ülkemizde en fazla üretilen üzüksü meyve çilektir. Çilek yoğun miktarda demir ve fosfor ihtiva etmesinin yanı sıra C, B ve K vitaminleri bakımından da oldukça zengindir. İnsan vücuduna kuvvet vermekte, kolesterolü düşürücü etki göstermekte ve damar tıkanıklığını da giderici etki göstermektedir. Bunların yanı sıra bağırsak kurtlarının dökülmelerinde yararlı olmasının yanı sıra idrar söktürücü etkiye de sahip olup vücuttaki zararlı maddelerin uzaklaştırılmasını da sağlar. Üre, ürik asit ve urat tuzlarının birikintilerini ve vücutta birikmiş olan toksik maddelerin atılmasında da rol oynamaktadır. Aynı zamanda çilekte diğer meyvelerde bulunmayan salisilik asit de bulunmakta olup bu madde romatizma ilaçlarının temel maddesidir (Davis ve ark., 2007).

Aynı zamanda yara iyileşmesi ve doku onarımında etkilidir (Folta ve Davis, 2006). Çilekler yüksek düzeyde doğal olarak oluşan besinsel antimutajen ve antikanserojen olarak bilinen ellagic asit ihtiva etmektedir (Davis ve ark., 2007).

Antioksidan ve kanser inhibe edici bileşik olarak bilinen C vitamini, quercetin, kaempferol, myricetin, p-coumarik asit, gallik asit ve elajik asit çilekte bulunmaktadır. Bazı çilek çeşitleri bütün meyveler içerisinde en fazla C vitaminine sahiptir. Bazı çilek çeşitleri bütün meyveler arasında C vitamini konsantrasyonu açısından en zengin olan meyveler olup çilekteki elajik asitin hücre çoğalmasının ve apoptizisi etkilediği ve aynı zamanda antikanserojen etkiye sahip olduğu bildirilmiştir (Shulaev ve ark., 2008).

1.2 DNA Koruyucu Aktivite

Deoksiribonükleik Asit (DNA) yapısı aydınlatılmış olan bilinen en önemli biyomoleküller arasında yer almakta olup canlıya ilişkin bütün genetik bilgi bu molekül vasıtasıyla taşınıp nesiller boyunca aktarılmaktadır. Canlıların ve pek çok virüsün genetik bilgisinin replikasyon ve transkripsiyon sürecince protein ve enzimlerin biyolojik sentezini başlatması bakımından yaşam süresince son derece önemli rol oynamaktadır (Wang, 2000, 2002; Gooding, 2002).

Hayatta kalmak için bir organizmanın DNA bütünlüğünü koruması gerekmektedir. Ancak endojen ve ekzojen genotoksik ajanlar DNA yapısına zarar vermektedir. Bu

ajanlar yapısal olarak farklılık göstermektedirler. Bunlar metilleyici ve alkilleyici gibi basit bileşikler olabilirler. Baz modifikasyonlarına, çift zincir oluşumuna pürinik ve apürinik çift zincir oluşumuna neden olabilirler. Bunun çoğu mutasyonla erken yaşlanmayla hatta hücre ölümüyle sonuçlanabilir (Nash ve ark., 1996; Salmon ve ark., 2004; Milgrom ve ark., 2007).

DNA hasarına yol açan etmenler çevresel faktörler, fiziksel ve kimyasal mutajenlerdir. Fiziksel ajanların başında iyonizan radyasyon gelmektedir. Radyasyon enerjisinin doğrudan etkisi ile DNA zincir kırıkları oluşurken; radyasyonla açığa çıkan enerjiyle uyarılan hidroksil radikalleri DNA ile etkileşerek hem DNA zincir kırıklarına hem de oksidatif baz modifikasyonlarının oluşumuna sebep olmaktadır. Bir diğer fiziksel faktör olan UV ışınları DNA üzerinde çapraz bağlanmalara, pirimidin dimerleri oluşumuna ve zincir kırıklarına sebebiyet vermektedir. DNA hasarı oluşturan kimyasal ajanların başında alkilleyici maddeler, nitroz asid, platinyum türevleri gibi çapraz bağlayıcılar ve sitokrom P450 sistemi ile metabolize edilen ksenobiyotikler yer almaktadır (Dinçer ve Akçay, 2000).

DNA onarım kapasitesini aşan düzeyde hasar oluştuysa veya DNA onarım sistemleri kalıtsal veya edinsel olarak kusurlu ise DNA hasarı kısa dönemde deoksiribonükleotid trifosfat havuzunun miktar ve bileşiminde farklılıklara, replikasyonun durmasına, transkripsiyon ve protein sentezinin inhibisyonuna, proteolitik aktivitenin indüksiyonuna; uzun vadede ise mutasyona ve kromozom anomalilerine neden olmaktadır (Johnson ve ark., 1987). DNA hasarı düşük seviyede ise DNA onarım mekanizmaları tarafından tamir edilir. Yüksek seviyede ise apoptotik mekanizmaları uyarak hücre ölümüne sebep olur. Orta dereceli hasarlar ise genellikle mutasyonla sonuçlanırlar (Halliwell ve Gutteride, 1996).

Genetik bilginin nesilden nesile sağlıklı olarak aktarılabilmesi için DNA yapısının korunması kesinlikle önemlidir. DNA'nın işleyişi bazlar üzerindeki polar gruplara bağlıdır. Bu baz grupları arasında spesifik olarak oluşan hidrojen bağları çift sarmal DNA'yı oluştururlar. DNA bazlarının polar gruplarında oluşan bu kimyasal değişiklikler replikasyon sırasında yanlış eşleşmeye ve bunun neticesinde mutasyona sebep olmaktadır. Deoksiriboz fosfat iskeletinde meydana gelen kopmalar ise replikasyonu bloke etmenin yanı sıra aşırı miktarlarda oluştuğunda apoptozise yol

açmaktadır. İnsan hücresinin her bir DNA'sında günde yaklaşık olarak 104 adet kodlanmayan veya yanlış kodlanmayla hasar meydana gelmektedir (Lindahl 1990).

1.2.1 DNA Tamir Mekanizmaları

Genom, DNA hasarına neden olan sayısız farklı etkene maruz kalır. Hasar kaynakları ekzojen veya endojen olabilir. Canlı organizmalar, genetik materyallerini bu etkenlerin oluşturduğu hasarlara karşı korumak amacıyla DNA onarım mekanizmalarına sahiptirler. Hücre, DNA hasarlarına karşı farklı metabolik yollar ile cevap verir. DNA hasarı ve onarım mekanizmalarındaki bozukluklar ile kanser, yaşlanma ve birçok genetik hastalık arasında nedensel bir ilişkinin varlığı birçok deneysel ve epidemiyolojik veri ile gösterilmiştir. DNA onarım mekanizması, genomik kararlılığın korunması ve hücrenin yaşamını sürdürebilmesi için gerekli olan moleküler biyolojik mekanizmalardan birisidir (Onur ve ark., 2009).

DNA tamir sisteminde 100'ün üzerinde gen rol oynamakta olup bunlar tarafından kodlanan genler DNA tamir mekanizmalarında işleve sahiptir (Zhang ve ark., 2009). DNA tamir genleri iki alt grupta incelenir (Tu ve ark.,1996; William ve Michael 2002; Griffiths ve ark.,2005);

- a. DNA onarımında sinyal iletimi ve onarımın düzenlenmesiyle ilgili olan genler,
- b. Baz ve nükleotid çıkarma onarımı ve hatalı eşleşme onarımı ile ilgili genler

Bu genlerin yer aldığı tamir mekanizmaları başlıca beş ana grupta incelenebilir:

1) Direkt Tamir ya da Hasarın Geri Döndürülmesi

- a) Fotoreaktivasyon
- b) O-6-metilguanin tamiri
- c) Basit tek zincir kırıklarının ligasyonu

2) Kesip çıkarma tamiri (Eksizyon)

- a) Baz eksizyon tamiri (BER) (base excision repair)

b) Nükleotid eksizyon tamiri (NER) (nucleotide excision repair)

c) Mismatch (yanlış eşleşme) eksizyon tamiri (MER)

3) Rekombinasyonel Tamir

4) SOS Tamiri

5) DNA Çift Zincir Kırıklarının Tamiri

a) Serbest Uçların Homolog Olmayan Bağlanması (NHEJ)

b) Homolog Rekombinasyon (HR)

1.2.1.1 Direkt Tamir ya da Hasarın Geri Döndürülmesi

a) Fotoreaktivasyon: Termodinamik ve kinetik nedenlerden dolayı DNA’da meydana gelen hasarın geri döndürülmesi mümkün değildir. Bu gibi bazı durumlarda enzim aracılığı sayesinde (Fotoliaz ve O-6-Metil-DNA-alkiltransferaz) gerçekleştirilen tek basamaklı reaksiyonlar hasarın onarılmasına yardımcı olur. Siklobütan pirimidin dimerlerinin (CPDs), fotoliaz enzimi tarafından ayrılmasıyla hasar giderilir. Bu reaksiyona fotoreaktivasyon adı verilir. CPD fotoliazlar mantarlarda, bitkilerde, bakterilerde ve çoğu omurgalılarda bulunur. Fakat plesantali memelilerde bulunmaz (Cooper ve Hausmann, 2006).

b) O-6-metilguanin tamiri: O-6-metilguanin, alkilleyici ajanlar varlığında oluşur ve yüksek oranda mutajeniktir. O-6-metilguanin-DNA metil transferaz enzimi, DNA’daki yanlış metillenen bazların CH₃ gruplarını kendi sistein rezidülerine transfer ederek normal guanin oluşumunu sağlar. Bunu yaparken enzim de geri dönüşümsüz olarak baskılanmış olur ve işlev dışı kalır. Bu onarımda enzimin özgünlüğü kadar sayısı da önem kazanmaktadır (Onur ve ark., 2009).

c) Basit tek zincir kırıklarının ligasyonu: Peroksidler ya da X ışınları bir takım ajanlar DNA zincirleri üzerinde basit kırıklara neden olabilmektedir. Oluşan bu basit kırıklar DNA ligaz enzimi sayesinde hemen onarılmaktadır. Enzim, enerji gerektiren bir reaksiyon ile 3'OH grubu ile 5'fosfat grubu arasındaki bağı oluşturarak onarımı gerçekleştirirler (William ve Michael 2002; Cooper ve Hausmann, 2006).

1.2.1.2 Kesip Çıkarma Onarımı (Eksizyon)

Bu onarım tüm prokaryot ve ökaryot organizmalarda bulunan çok önemli bir onarım sistemi olup 3 temel basamak içerir. Eksizyon onarım mekanizmasında DNA'daki hasarlı bazın oligonükleotid parçaları çıkartılıp bu bölgenin doğru bazlarla doldurulması ve oluşan çentiğin ligasyonla kapatılması ana prensiptir (Kulaksız ve Sancar 2007);

- 1) Hata veya hasar tanınır ve enzimatik olarak bir nükleaz tarafından kesilip çıkartılır.
- 2) DNA polimeraz oluşan boşlukları doldurur.
- 3) DNA ligaz son bağı kurar ve boşluk tamamen kapanır (Slupphaug ve ark.,2003; Zhang ve ark.,2009).

a) Baz eksizyon tamiri (BER) (base excision repair): DNA'da oluşan hasarın doğrudan geri döndürülmesinde, bazlarda oluşan her kimyasal değişiklik kendine has bir tamir mekanizması gerektirir. Ancak, hücreler birçok kimyasal hasar tipini düzeltebilecek genel bir onarım mekanizmasına gerek duyarlar. Bu olay eksizyon onarımıdır. Hasarlı olan ve yanlış yerleştirilen bazları uzaklaştırmak için kullanılan tamir mekanizmasına eksizyon denir. Her bir yanlış baz tipine has bir çok yolak vardır. Bunlar ikinci ve üçüncü basamaklar ortak olmak üzere üç adımdan meydana gelir (Frosina *et al.* 1996);

1. Yanlış bazın uygun olan bir DNA N-glikozilaz sayesinde uzaklaştırılması ve bir AP bölge oluşması. AP bölgeleri kendiliğinden kaybolan veya glikozilaz etkisiyle uzaklaştırılan DNA bölgeleridir. Bir memeli hücresi bir gün içerisinde 500 pirimidin ve 10000 pürin kaybeder.
2. Hasarlı DNA'ya AP bölgesinin 5' ucuna doğru AP endonükleaz tarafından çentik atılır ve de AP bölgesine komşu olan bir 3'-OH oluşturulur.
3. AP bölgesi kesilerek çıkarılıp (excision) uzaklaştırılır. DNA polimeraz tarafından 3'-OH ucu uzatılır.

DNA N-gikozilazlar bunlardan farklı olarak AP ligaz aktivitesine de sahiptirler. Bu sayede AP bölgedeki 3'-OH ucunda DNA omurgasını keserler. Bir sonraki adımda AP endonükleazları 5' fosfodiester bağını hidroliz ederler. Böylece uygun nükleotidin yer alması için abazik deoksiriboza uzaklaştırırlar. Son olarak ise DNA polimeraz (polimeraz- α) tarafından doğru nükleotidin yerleştirilmesi ve zincirin ligasyonu ile onarım tamamlanır (Frosina ve ark.,1996).

b) Nükleotid eksizyon tamiri (NER) (nucleotide excision repair):

Mikoplazmalardan memelilere kadar olan bir yelpazedeki organizmalar tarafından kullanılan, DNA bazları üzerinde büyük eklentiler oluşturup pek çok çeşit hasarı tanıyabilen bir tamir mekanizmasıdır (Amundson ve ark., 2002). NER mekanizması şöyle işlemektedir:

1. Hasarın tanınması
2. Protein kompleksinin hasarlı olan bölgeye bağlanması
3. ~24-32 nükleotid uzunluğunda bir fragment içinde bırakacak şekilde lezyonun her iki tarafından hasarlı olan zincirin kesilmesi (incision)
4. Degradasyon (hasarı içeren oligonükleotidin uzaklaştırılması)
5. DNA sarmalı üzerinde oluşan boşluğun DNA polimeraz tarafından doldurulması (polimerizasyon)
6. Ligasyon

Yeterince işlev görmemesi halinde yaşlanma, kanser oluşumu, çeşitli kalıtsal ve nörodejeneratif bozukluklar ile sonuçlanır. Kalıtsal sendromları (Xeroderma pigmentosum/XP, Cockayne syndrome/CS, Trichothiodystrophy/TTD) olan bireylerde NER mekanizmasında bozukluklar belirlenmiştir (Bohr, 1995; Norbury ve Hickson, 2001).

c) Mismatch (yanlış eşleşme) eksizyon tamiri (MER): Yanlış eşleşme tamiri normal şekilde eşleşmesi gereken bazların hatalı eşleşmesinden kaynaklanan, DNA replikasyonu sırasında meydana gelen ve çift sarmalda anormal boyutlara neden olan hataları düzeltir. *E. coli*' yi örnek aldığımızda, 7 proteinden meydana gelen bir sistem

tarafından hatalı eşleşmenin belirlendiğini görürüz. Bu proteinler mutL, mutS, mutH, uvrD, ekzonükleaz I, SSB ve DNA polimeraz III' tür. *E. coli* DNA'sına bakılırsa, (5') GATC dizisindeki adeninlerin özel bir metilaz olan "Dam Metilaz" tarafından metillendiği belirlenir. Replikasyon sırasında kalıp zincir metillenmiş olmasına rağmen yeni sentezlenen zincir birkaç dakikalık gecikme ile metillenir. Bu zaman zarfında mutS, yeni zincirde hatalı eşleşen bazları belirler. Sırasıyla mutL, ve mutH bir kompleks oluşturmak için sisteme katılırlar, DNA boyunca çift yönlü olarak metillenmemiş bir GATC bulununcaya kadar hareket ederler. MutH'deki endonükleaz fonksiyonu metil grubunun karşısındaki metillenmemiş zincire bir çentik atmak için aktive olur. Metillenmemiş zincir, SSB, endonükleaz I ve uvrD helikaz'ın birlikte hareketi sayesinde uzaklaştırılır. DNA polimeraz III doğru DNA zincirini yeniden oluşturur ve ligasyon ile tamir sona erer. GATC bölgesi ile hatalı olan eşleşmenin arasındaki uzaklık en fazla 1000 baz çifti olabilir. Bu yüzden yanlış eşleşme tamiri etkili bir tamir mekanizması değildir. Ökaryotlar, *E. coli*' de bulunan mut proteinlerine homolog olan proteinlere sahiptirler. Fakat yeni sentezlenen zinciri ayırmak için *E. coli*'ye özgü metilasyon işlemi yerine kullanılan mekanizma henüz tam olarak anlaşılmamıştır. Yanlış eşleşme tamir mekanizması genlerinde mutasyon olan bireylerin kalıtsal nonpolipozal kolon kanserine (HNPCC) yatkın oldukları tespit edilmiştir (Schofield ve Hsieh 2003; Stojic ve ark., 2004).

1.2.1.3 Rekombinasyonel Tamir

DNA'ların zarar görmüş parçasının değiştirilmesinde kalıp olarak kullanılacak tamamlayıcı ipliğin bulunmadığı durumda kullanılan ve replikasyondan sonra aktif olan bir onarım mekanizmasıdır. Timin dimeri gibi bir lezyonu içeren DNA replike olurken DNA polimeraz önce lezyonda duraklar ve yeni sentezlenen zincir boyunca bir boşluk bırakarak lezyonun üzerinden atlar. Bu boşluğa bir yanıt olarak RecA proteini rekombinasyonel bir değiş-tokuş işlemi ile başlangıçta hasarsız komplementer dizide bulunan bir segmenti bu boşluğa sokup onu tamamlar. Bu işlem "verici" zincirde bir boşluk bırakır. Bu boşluk daha sonra doldurulur (Kurtoglu ve Tekedereli, 2015).

1.2.1.4 SOS Tamiri

DNA hasarının yüksek oranda olduğu ve diğer onarım mekanizmalarının başarılı olamadığı durumlarda devreye giren acil cevap sistemidir. Hücrelerde çok ciddi DNA zararlarına karşı acil yanıt olarak DNA onarım enzimlerinin sayısının artmasıdır. DNA sentezi sırasında, bir lezyonun üzerinden atlamak yerine, sistem, DNA polimerazın lezyon karşısındanda replikasyonu devam ettirmesini sağlar. Fakat replikasyonun doğruluğundan fedakarlık edilir. Bu nedenle hataya meyilli sistem de denir (William ve Michael 2002; Cooper ve Hausmann,2006).

1.2.1.5 DNA Çift Zincir Kırıklarının Tamiri

DNA çift kırıklarının kaynakları arasında topoizomeraz inhibitörleri (etoposid, adriamisin) deiyonize radyasyon ve V(D)J rekombinasyonu sayılabilir. DNA çift zincir kırıkları, DNA hasarlarının en yıkıcı şeklidir. Bu kırıklar tamir edilmezse kromozomların kırılmasına ve hücre ölümüne kadar varan sonuçlar doğurabilir. Yanlış tamir edilmesi halinde ise kromozom translokasyonuna ve kansere sebep olur. DNA çift zincir kırıkları iki şekilde tamir edilir (Haber 2000);

1. Serbest uçların homolog olmayan şekilde bağlanması (non-homolog and Joining) (NHEJ)
2. Homolog rekombinasyon (HR)

1. Serbest uçların homolog olmayan şekilde bağlanması (non-homolog and Joining) (NHEJ): Ku 70-Ku 80 (DNA- bağımlı protein kinaz katalitik subunit) kompleksleri DNA'nın kırık olan uçlarına bağlanır. DNA bağımlı protein kinaz aktive olarak diğer proteinlerin de hasar bölgesine gelmesini sağlar. Bu protein komplekslerinin formasyonu DNA ligaz IV-XRCC4 kırık uçlarına bağlanmasına olanak sağlar (Zhang ve ark.,2009). Bu işleyiş homolog bir kromozomdan faydalanmaksızın DNA uçlarının bağlanmasının biyokimyasal bir yoludur. Çünkü kırık DNA uçları bağlanabilir bir durumda olamayabilir ve bu yol bazen genetik bilgide kayıplara neden olur. Homolog olmayan uç bağlanmasındaki hatalar iyonize radyasyon duyarlılığına ve immün yetersizliğe neden olur (Delebec ve Kantarcı 2006).

2. Homolog Rekombinasyon (HR): DNA çift zincir kırıkları, genetik bilgi korunarak, homolog DNA ile rekombinasyon aracılığı ile tamir edilir. Maya da bu yöntem çift zincir kırığı tamirinde baskın olarak kullanılır. İnsanda homolog olmayan uç bağlanması ile eşit öneme sahiptir (Haber 1999, 2000).

1.3 Antibiyotikler

Antibiyotikler, düşük miktarlarda mikroorganizmaları öldüren ya da üremelerini durduran bileşikler olup bakteriyel hastalıkların kontrolünde ve tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadırlar. Etki tarzlarına ve etkiledikleri mikroorganizmalara göre çok sayıda antibiyotik bulunmaktadır. Mikroorganizmanın hücre duvarını bozmak, protein sentezini bozmak veya mikroorganizmanın ihtiyaç duyduğu maddeleri yok etmek antibiyotiklerin etki etme şekilleri arasındadır (Yalap ve Balcıoğlu, 2008).

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 ve ark., 2010).

1.3.1 Antibiyotiklerin Sınıflandırılması

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

Bütün bakterilerin çoğalma devresi yavaş gelişme, hızlı gelişme ve dinlenme dönemlerini 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”dur (MİK).

*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

*Polipeptidler

*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 aşağıdaki gibi sınıflandırılmaktadır (Kayaalp, 1991; Dökmeci ve ark., 1992; Akkan ve Karaca, 2003):

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.

1.3.2 Antibiyotiklerin Etki ve Direnç Mekanizması

Bütün bakterilerde yavaş gelişme, hızlı gelişme ve dinlenme dönemlerinden oluşan üç çoğalma devresi vardır. Antibiyotikler bakterilerin hızlı ve yavaş gelişme dönemlerinde etki gösterirler. Bu etkileşim bakterilerin öldürülmesi (bakterisid etki) veya bakterilerin gelişimi ve üremesinin durdurulması (bakteriostatik etki) şeklinde olur. Örneğin penisilinler, aminoglikozidler, sefalosporinler, vankomisin, florokinolonlar ve basitrasin bakterisid etkiye, tetrasiklinler, makrolidler ve sülfonamidler bakteriostatik etkiye sahiptirler (Başoğlu, 2000). Tablo 1.2’de antibiyotik mekanizmaları, yapmış oldukları sınıf ve direnç mekanizmaları gösterilmiştir (Terzi, 2013).

Tablo 1.2 Antibiyotik sınıfları, etki ve direnç mekanizmaları

Sınıf Madde	Antimikrobiyal	Etki Mekanizması	Direnç Mekanizması
Aminoglikozitler	Gentamisin Kanamisin Streptomisin	Protein sentezinin engellenmesi	Pompalama Enzimatik İnaktivasyon, Hedef Şaşırtma, Pompalama
Amfenikoller	Kloramfenikol	Protein sentezinin engellenmesi	Pompalama, Hedef Şaşırtma, Pompalama
Makrolitler	Klaritromisin Eritromisin	Protein sentezinin engellenmesi Pompalama	Pompalama, Hedef Şaşırtma
Tetrasiklinler Doksisiklin Oksitetrasiklin	Tetrasiklin Engellenmesi	Protein sentezinin engellenmesi	Pompalama
Beta Laktamlar Sztreonam Sefotaksim	Penisilin Engellenmesi	Hücre Duvarı Sentezinin Engellenmesi Hedef Şaşırtma	Enzimatik İnaktivasyon
Glikopeptitler Bleomisin Kinolonlar	Vankomisin Engellenmesi Nalidiksit Asit Ciprofloksasin Sulfametaksazol	Hücre Duvarı Sentezinin Modifikasyonu Nükleik Asit Sentezi Yolunun Engellenmesi	Hücre Duvarı, Pompalama, Hedef Şaşırtma
Sulfonamidler	Sulfametaksazol	Folik Asit Sentezi Yolunun Engellenmesi	Alternatif Enzimler, Hedef Şaşırtma
Lipopeptitler	Daptomisin	Hücre Zarı Kutuplaşmasını Engelleme	Hücre Zarı Modifikasyonu, Mutasyonlar
Aminoasit	Polimiksin B	Hücre Zarı Geçirgenliği	Hücre Zarı

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 (Levy, 1998; Çağatay ve Özşüt, 2001). 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 ve ark., 2015).

1.4 *Stenotrophomonas maltophilia*

Eski literatür bilgilerinde sınırlı patojeniteye sahip olduğu bildirilmiş olsa da günümüzde *S. maltophilia* belirli hasta gruplarında ciddi mortalite ve morbiditeye sebep olan nozokomiyal patojenler arasında yerini almıştır ve önemi gittikçe artmaktadır (Denton ve Kerr, 1998).

1.4.1 Taksonomi

S. maltophilia, ilk olarak plevral sıvıdan izole edilmiş ve “*Bacterium bookeri*” adını almıştır. Daha sonra oral karsinomlu bir hastanın orofaringeal sürüntü örneğinden izole edilmiş ve *Pseudomonas maltophilia* olarak yeniden isimlendirilmiştir (Hugh ve Leifson, 1963). DNA-RNA hibridizasyonları, hücresel yağ asit bileşimi ve üreme parametrelerini içeren genotipik ve fenotipik özelliklerine göre *Proteobacteria*’ların bir üyesi olan *Xanthomonas* cinsine geçmiştir. Ancak flagella sayısı, nitrat indirgenme özellikleri, fimbriasyon ve bitki patojenitelerine göre birçok farklılığın olduğu bildirilmiştir. Bu nedenle organizma yeni bir cins olan *Stenotrophomonas* cinsi içinde tekrar sınıflandırılmıştır (Murray ve ark., 2009).

Cins adı Yunanca *stenos*: dar; *trophos*: besleyen; *monad*: birim anlamına gelen kelimelerin birleşiminden türetilmiştir. %35 DNA homolojisi ve biyokimyasal olarak benzer özellikler gösteren *S. africana* ikinci tür olarak bu cinse dahil edilmiştir (Denton ve Kerr, 1998).

1.4.2 Morfoloji ve Boyanma Özellikleri

S. maltophilia düz veya hafif kıvrık morfolojide, sporsuz, 0.5-1.5 µm uzunluğunda, tek veya çiftler halinde görülen Gram negatif basil yapısına sahiptir. Birkaç polar flajeli ile hareketlidir (Denton ve Kerr, 1998).

1.4.3 Kültür Özellikleri

S. maltophilia zorunlu aeroptur. Optimal üreme sıcaklığı 35°C olup 5°C altında ve 40°C üzerinde üreyemez. Normal atmosferde veya %5 karbondioksit varlığında 20-37°C arasında bir gecelik inkübasyonu takiben katı besiyerinde görülebilir koloniler oluşturmaktadır (Denton ve Kerr, 1998).

%5 koyun kanlı agarda R tipi düzgün, parlak, beyaz-açık sarı veya lavanta yeşili renkte amonyak kokulu koloniler oluşturur (Murray ve ark., 2009). Bazı suşlarda beta hemoliz gözlemlendiği bildirilmişse de genel olarak kanlı agarda beta hemoliz oluşturmazları kabul edilmektedir. Ancak kanlı agarda birleşmiş koloniler etrafında yeşil renk değişimi izlenebilmektedir (Denton ve Kerr, 1998). Rutinde kullanılan %5 koyun kanlı agar, EMB, MacConkey gibi çoğu besiyerinde *S. maltophilia*'nın steril vücut sıvılarından izolasyonu yapılabilmektedir. Diğer bakterilerle karışık klinik veya çevre örneklerinden izolasyon için farklı antimikrobiyal maddeleri içeren seçici besiyerleri tanımlanmıştır. Çevresel kaynaklardan izolasyon için %5 koyun kanı ve 5 µg/mL gentamisin içeren triptik soy agar kullanılmıştır. Bakterinin doğal dirençli olduğu imipenem içeren besiyerleri bazı araştırmacılar tarafından kullanılmış ancak imipenem, *S. maltophilia*'nın dışkıdan izolasyonunda normal floranın inhibe edilmesinde yetersiz kalmıştır. Bu besiyerine vankomisin, amfoterisin B, mannitol ve bromtimol mavisi eklenmesinin izolasyon oranını artırdığı bildirilmiştir (Denton ve Kerr, 1998). Denton ve ark. (2000) KF hastası çocukların balgam örneklerinden *S. maltophilia* izole edilmesi için vankomisin, imipenem ve amfoterisin B selektif maddeleri içeren bir besiyerinin (VIA Medium) duyarlılığını araştırmışlardır. Bu çalışmada VIA besiyeri ile üzerine imipenem diski koyulmuş basitrasın-çukulatamsı agar (BC Medium) karşılaştırılmış, VIA besiyeri daha seçici bulunmuştur.

1.4.4 Biyokimyasal Özellikler

S. maltophilia, klinik laboratuvarlarda standart biyokimyasal testlerle tanımlanabilir. Çoğu bakteriye göre inaktif bir metabolizmaya sahiptir (Denton ve Kerr, 1998). *S. maltophilia* türlerinin, oksidazı negatif, glikoz ve maltoz oksidasyonları değişkendir. Lizin dekarboksilaz ve DNaz aktiviteleri pozitifdir. *S. maltophilia* türlerinin ekstraselüler DNaz aktivitesinin saptanması ile diğer glikozu okside eden, Gram negatif basillerden ayrılırlar. Metil yeşili indikatörü ile tüpte ya da DNaz agar üzerinde DNaz aktivitesi saptanabilir. DNaz pozitif organizmalar besiyeri üzerinde şeffaf bir zon oluştururlar (Murray ve ark., 2009). Jelatin ve eskülini hidrolize eder. Polimiksine duyarlıdır. Nonfermenter bakterilerin tanısında kullanılan arjinin dekarboksilaz, asetamid reaksiyonu, üre hidrolizi, nitrat ve nitrit oluşumu reaksiyonları negatiftir (Durupınar ve Darka, 2008). *S. maltophilia*'nın bazı biyokimyasal özellikleri Tablo 1.3'de verilmiştir.

Tablo 1.3 *S. maltophilia*'nın bazı biyokimyasal özellikleri (Denton ve Kerr, 1998).

Test	Reaksiyon ^a
İndofenol oksidaz	-
Katalaz	+
Üreme	
5°C	-
18°C	+
37°C	+
Hareket	
18°C	+
37°C	v
İndol	-
Lizin-dekarboksilaz	+
Omitin-dekarboksilaz	-
Metil red	-
Voges-Proskauer	-
Hidrojen sülfid	-
Nitrat redüksiyonu	v
Sitrat	v
Fenilalanin deaminaz	-
β-Galaktozidaz (ONPG)	v
Hidroliz	
Eskülin	+
Jelatin	+
Tween 80	+
DNA	+
Nişasta	-
Üre	-
Karbon kaynağı	
Adonitol	-
Arabinoz	-
β-Hidroksibutirat	-
Sellobioz	v
Dulsitol	-
Glukoz	+
Fruktoz	v
Galaktoz	v
Mannitol	-
Mannoz	v
Ramnoz	-
Salisin	-
Sorbitol	-
Trehaloz	-

^a+, >85% pozitif; v, 16 -84% pozitif; -, <15% pozitif

1.4.5 Antijenik ve Genomik Özellikler

Somatik O antijenleri ve flajellar H antijenleri tanımlanmıştır. Toplam 31 O antijeni saptanmış olup, O3 en sık rastlanan serotiptir. *S. maltophilia* ve *Brucella* türlerinin O antijenleri arasında çapraz reaksiyon gözlenebildiği bildirilmiştir. *S. maltophilia* suşları tanımlamada kullanılabilecek derecede kendine özgü hücresel yağ asidi kompozisyonuna sahiptir (Denton ve Kerr, 1998).

S. maltophilia'nın genetik yapısı hakkında çok az bilgi bulunmaktadır. İmmünolojik olarak insan koryonik hormonuna (hCG) benzeyen koryonik gonadotropin benzeri hormon sentezleyen bir gen bölgesi belirlenmiştir. Bu gen bölgesi aynı zamanda L1 ve L2 beta-laktamaz enzimlerini de kodlamaktadır (Denton ve Kerr, 1998).

Çevresel ve klinik örneklerden elde edilen *S. maltophilia* izolatları DNA fingerprinting, DNA hibridizasyon ve 16s rDNA sekanslama yöntemleriyle A, B ve C olarak belirlenmiş üç farklı genomik gruba ayrılmıştır. 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 özelliklere sahip olduğu düşünülmektedir. Özellikle gyrB gibi bazı spesifik genomik gruplara sahip suşların kistik fibrozisli hastaların solunum yolunda kolonizasyona neden olduğu belirlenmiştir (Looney ve ark., 2009).

1.4.6 Virülans ve Patogenez

S. maltophilia'nın olası virülans faktörleri hakkında çok az bilgi vardır. Kolonizasyon ve enfeksiyon ayırımıındaki başarısızlık, patojenitesinin kısıtlı olduğunu düşündürür (Denton ve Kerr, 1998).

S. maltophilia'nın önemli bir özelliği biyofilm oluşturabilmesidir. Böylece plastik, cam, teflon gibi inorganik yüzeylere ve hasta dokularına tutunabilir. Biyofilm, hasta ile doğrudan ve dolaylı temas eden nemli yüzeylerde oluşur. Hastane kaynaklı enfeksiyonların %65'inin biyofilm ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Brooke, 2012).

S. maltophilia'nın dış membranında polisakkarid yapısının olması önemli virülans faktörlerinden biridir. Bu yapı bakterinin kolonizasyon yapmasıyla ve kompleman aracılıklı hücre savunmasından korunmasıyla ilişkilidir. Lipopolisakkarid yapısında bulunan Lipid A komponenti, alveolar makrofajları ve monositleri uyarak tümör nekroz faktör α (TNF- α) üretimini arttırıp inflamasyon oluşumunda rol oynar. Aynı zamanda *S. maltophilia* interlökin-8 (IL-8) salınımını ve polimorfonükleer lökosit göçünü uyarmaktadır (Looney ve ark., 2009).

DNAz, RNAz, fibrinolizin, lipaz, hyalüronidaz, elastaz gibi ekstrasellüler enzimler ürettiği bildirilmiştir (Denton ve Kerr, 1998). *StmPr1* geni tarafından kodlanan

proteaz enzimi, kollajen, fibronektin ve fibrinojenin protein komponentlerini yıkar; lokal doku hasarı ve hemoraji oluşturur (Windhorst ve ark.,2002).

1.4.7 *S. maltophilia* Kaynaklı Enfeksiyonlar

S. maltophilia, sıklıkla hastanede yatmakta olan hastalarda çoklu ilaç direncinden sorumlu nozokomiyal bir patojendir (Durupınar ve Darka, 2008). *S. maltophilia*'nın neden olduğu en sık klinik tablo pnömonidir, bunu bakteriyemi ve daha az sıklıkla yara ve üriner sistem enfeksiyonları takip eder. Nadir olarak menenjit, endokardit, sinüzit, mastoidit, kolanjit ve peritonit, göz enfeksiyonları, epididimit, bursit, artrit ve osteokondrit vakaları da bildirilmiştir (Looney ve ark., 2009).

S. maltophilia, nozokomiyal pnömonilerin %5'inden sorumludur ve suşların %56-69'u solunum sisteminden izole edilmiştir. Mekanik ventilasyon, trakeostomi, geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı, nebulizatör gibi solunum yolu cihazı ve aerosolize polimiksin kullanımı *S. maltophilia* ile ilişkili nozokomiyal pnömoni oluşumunda risk faktörleridir (Denton ve Kerr, 1998). *S. maltophilia* pnömonisi olan hastaların mortalite oranları %23-77 olarak rapor edilmiştir, kanserli ve bakteriyemi eşlik eden hastalarda oran daha yüksektir (Looney ve ark., 2009).

Bakteriyemi, *S. maltophilia* enfeksiyonlarında sık görülen bir klinik tablodur ve giderek artış göstermektedir (Denton ve Kerr, 1998). Kan kültüründen *S. maltophilia* izole edildiğinde kontaminasyon, kolonizasyon ve gerçek enfeksiyonu ayırt edebilmek için dikkat edilmelidir. Santral venöz kateterler *S. maltophilia* bakteriyemisinin en sık kaynağıdır. Enfekte kateter hemen çıkarıldığında kateter ilişkili enfeksiyonun prognozu iyidir (Looney ve ark., 2009).

S. maltophilia'ya bağlı endokardit olgularının birçoğu intravenöz ilaç bağımlılıklarında ya da prostatik kapak ameliyatı sonrası komplikasyon olarak meydana gelmiştir. *S. maltophilia* endokarditinin prognozu değişkendir. Bu tablolarda sadece antimikrobiyal tedavi yeterli olurken, enfekte kapağın cerrahi ile değiştirilmesi de gerekebilir (Denton ve Kerr, 1998).

İdrar örneklerinden sıklıkla *S. maltophilia* izole edilebilmesine rağmen sadece üriner sistem cerrahisi, üriner kateterizasyon ya da yapısal anomalilere ikincil olarak ortaya çıktığında enfeksiyon olarak kabul edilir (Denton ve Kerr, 1998).

S. maltophilia, sıklıkla yara ve diğer cilt lezyonlarından da izole edilir. Enfeksiyon cerrahi travma sonrası veya deri bütünlüğünün iatrojenik olarak bozulması sonrasında meydana gelebilir (Denton ve Kerr, 1998).

1.4.8 Epidemiyoloji

S. maltophilia su (doğal sular, su arıtma tesisleri ve klorlu dağıtım ağları), toprak ve bitkilerde bulunan çevresel bir mikroorganizmadır (Looney ve ark.,2009). Hastane içi ve dışı sıvı ilişkili kaynaklardan izole edilmiştir. Hastanelerde *S. maltophilia*'nın kaynakları olarak ventilatör ekipmanları, santral venöz kateterler, nebulizatörler, endoskoplar, buz makineleri, hemodiyaliz ekipmanları, kontamine olmuş klorheksidin-setrimidli dezenfektanlar ve el yıkama sabunları örnek verilebilir (Brooke, 2012). Sıvı ortamda yaşayabilme yetenekleri nedeni ile hastane ve yoğun bakım ünitelerinde fırsatçı nozokomiyal patojen olarak dikkati çekmektedir (Murray ve ark., 2009).

Tıbbi teknolojinin gelişmesine bağlı olarak enfeksiyona yatkınlık oluşturan risk faktörlerine sahip popülasyondaki artış *S. maltophilia* enfeksiyonu insidansının artmasında etkili olmuştur. Bu risk faktörleri;

- Geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı
- Santral venöz kateter varlığı
- Nötropeni yada sitotoksik kemoterapi
- Uzamış hastanede yatış
- Yoğun bakım ünitesinde yatış
- Mekanik ventilatör veya trakeotomi
- Altta yatan hastalık (hepatobiliyer, kronik pulmoner ve kardiyovasküler hastalıklar, organ trasplantasyonu, diyaliz, intravenöz ilaç kullanımı ve HIV enfeksiyonu)
- Malignansiler
- Kortikosteroid tedavisi şeklinde sıralanabilir (Denton ve Kerr, 1998).

Kazanılmış *S. maltophilia* enfeksiyonlarının çoğu nozokomiyal kaynaklıdır. Hastanede yatan hastalardan izole edilen *S. maltophilia* izolatlarının pulsed-field jel elektroforez ile moleküler tiplendirmesi yüksek genetik çeşitlilik göstermiştir. Bu bulgular hastaların *S. maltophilia*'yı hastaneye girmeden önce farklı kaynaklardan aldığı ve normal flora antimikrobiyal tedaviye maruz kalınca bakterinin seçildiğini göstermiştir. Nozokomiyal kazanım ortak kaynaktan olabilir ya da çapraz bulaşma yoluyla ortaya çıkabilir (Looney ve ark.,2009).

1.4.9 Antibiyotik Direnci

S. maltophilia β -laktam antibiyotikler, makrolidler, sefalosporinler, florokinolonlar, aminoglikozidler, karbapenemler, kloramfenikol, tetrasiklin, polimiksin ve SXT'de dahil olmak üzere birçok antibiyotiğe direnç gösterir. Düşük membran geçirgenliği, eflüks pompaları, beta laktamazlar ve antibiyotik modifiye eden enzimler, *S. maltophilia*'nın intrensek antibiyotik direncine katkıda bulunmaktadır (Brooke, 2012).

İlaç direnç mekanizmaları plazmidler, transpozonlar, integronlar, integron benzeri elementler, insertion element common region (ISCR) elemanları ve biyofilmler sayesinde antibiyotik direncinin horizontal transferi ile kazanılır. Antibiyotik direnç mekanizmaları;

- Kromozomal ve plazmid kaynaklı β -laktamazlar, örn; *Tn1-like* traspozon
- Eflüks pompaları, örn; SmeDEF, SmeABC ve SmrA; kinolon, tetrasiklin, kloramfenikol, eritromisin, aminoglikozid ve β -laktamlara dirençle ilişkili. Sınıf 1 integronlar ve ISCR elementleri; SXT direnci ile ilişkili
- Fosfoglukomutaz (SpgM); polimiksin B, polimiksin E, nalidiksik asit, gentamisin, vankomisin, seftazidim, tikarsilin-klavulanat ve piperasilin-tazobaktam direnci ile ilişkili
- Dış membran geçirgenliğinin azalması
- SmQnr determinantları; kinolon direnci ile ilişkili
- Antibiyotik modifikasyonu

- Bakteriyel topoizomeraaz ve giraz genlerinin modifikasyonu şeklinde özetlenebilir (Brooke, 2012).

1.4.9.1 Beta-Laktam Direnci

S. maltophilia'nın kromozomal kodlanmış L1 ve L2 β -laktamazı vardır. L1; Ambler sınıf B, Zn bağımlı bir metallo- β -laktamazdır ve monobaktam dışındaki tüm β -laktamları hidrolize eder. L2; Ambler sınıf A, klavulanik asit duyarlı bir sefalosporinazdır. Periplazmik translokasyon için L1 β -laktamaz bir Sec export sistemi kullanırken, L2 β -laktamaz Tat export sistemi kullanır (Brooke, 2012; Looney ve ark., 2009). Bu β -laktamazlar genellikle β -laktamlara maruz kalınca indüklenir (Looney ve ark., 2009).

1.4.9.2 Aminoglikozid Direnci

S. maltophilia'da aminoglikozid direnci; aminoglikozid modifiye eden enzimler, efluks pompaları ve ısıya bağlı dış membran proteinlerindeki değişiklikler nedeniyle olabilir. Kromozomal genler aminoglikozid-asetil-transferaz ve aminoglikozid-fosfotransferaz'ı kodlar (Looney ve ark., 2009).

Aminoglikozidlerin hücre içine alınmasındaki azalma, en önemli direnç mekanizmasıdır. Isıya bağlı dış membran değişikliği yaparak aminoglikozidlere duyarlılık azalmaktadır. Isı değişimi ile lipopolisakkarit yapıdaki O-polisakkarit ve fosfat parçalarının büyüklüklerindeki değişiklikler aminoglikozid duyarlılığını azaltır (Denton ve Kerr, 1998).

1.4.9.3 Kinolon Direnci

S. maltophilia'da kinolon direnci efluks pompaları (özellikle Sme DEF) ve azalmış dış membran geçirgenliği ile olur (Looney ve ark., 2009). Kinolona dirençli suşların çarpraz reaksiyon ile kloramfenikol ve doksisisikline de direnç gösterdikleri bildirilmiştir (Denton ve Kerr, 1998).

1.4.9.4 Makrolid Direnci

Diğer Gram negatif basiller gibi *S. maltophilia* da eritromisine orta duyarlıdır. Bunda ilaca karşı geçirgenliğin azalmasının yanı sıra birçok efluks pompasında etkisi

olabilir. Daha önce *Staphylococcus aureus*'da gösterilmiş olan eritromisine karşı direnç oluşturan *mphBM*, kadmiyumun hücreden atılmasını sağlayan *cadA* ve *cadC* bölgelerinin plazmid aracılığı ile *S. maltophilia*'ya aktarılabilceği gösterilmiştir (Alonso ve ark., 2000).

1.4.9.5 Trimetoprim/Sülfametoksazol Direnci

SXT'e direnç, *sul1* taşıyan integronlara ve *sul2* taşıyan insertion element common region (ISCR) elemanlarına bağlanmıştır. Class 1 integron ve ISCR elemanları vasıtasıyla *sul* genlerinin mobilizasyonu, SXT kullanımındaki artış ile muhtemelen artacaktır. Klinik tecrübeler göstermiştir ki SXT direnci tedavi sırasında ortaya çıkabilir (Looney ve ark., 2009).

dfrA geni'nin, dihidrofolat redüktaz enzimini kodladığı ve *S. maltophilia*'da trimetoprim direncine neden olduğu bildirilmiştir (Brooke, 2012). Hu ve ark. *dfrA*-pozitif *S. maltophilia* isolatlarının class 1 integron taşıdıklarını ve SXT'ye karşı dirençli olduklarını göstermişlerdir. *dfrA*, *sul2* ve *sul1* genlerinin birlikte olması hem yüksek düzey SXT direncine hem de çoklu ilaç direncine yol açar (Hu ve ark., 2011).

1.5 Antibiyotik Duyarlılık Testi

Antibiyotik duyarlılık testleri klinik mikrobiyoloji laboratuvarının en önemli görevleri arasındadır (Jorgensen ve Sahm, 1995; Johnson, 1996). 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).

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 (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 ve ark., 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 bulunabilir.

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

evresindeki inhibisyon zon çapı ölçülerek bakterinin o antibiyotiğe duyarlı olup olmadığı saptanır (Acar ve Goldstein, 1996). Diğeri 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 buyyon veya agara eklenir, test edilecek organizma ile birlikte bir gece inkübe edilir ve minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK) belirlenir. Dilüsyon yöntemlerinin uygulanmaları daha g ve pahalı olmakla birlikte bu testler MİK değeri verdiğinden tercih edilmektedir (Jorgensen ve Sahm, 1995; Johnson, 1996). 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 değeri düşük olması, tedavide olumlu sonuç alınacağını göstermektedir (Johnson, 1996).

BÖLÜM 2

LİTERATÜR ÖZETLERİ

Çilek meyvesi doğal antioksidanlara ilaveten vitamin, mineral, fenolik asitler, antosiyanin ve flovonoidler açısından da oldukça zengin bir meyvedir (Rice-Evans ve Miller, 1996; Wang ve ark., 1996; Heinonen ve ark., 1998; Wang ve Lin, 2000). Bu nedenle de antimikrobiyal, antioksidan ve antiinflamatuvar etkilere sahip meyvelerden birisi olup bu konuyla ilgili çok sayıda çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalardan bazılarına aşağıda değinilmiştir.

Pilveo ve ark. (1985) yapmış oldukları çalışmada Benton ve Totem çeşidi çileklerde toplam fenolik madde miktarlarını sırasıyla 131 ve 150 mg/100 g, toplam antosiyanin içeriklerini ise sırasıyla 50.3 ve 32.7 mg/100 g olarak tespit etmişlerdir.

Hannum (2004) yapmış olduğu çalışmada çilekte antosiyanin miktarının 528-553 mg/kg arasında değiştiğini, bunun %85-86'sını pelargonidin-3-glukozit olduğunu bildirmiştir.

Scalzo ve ark. (2005) yapmış oldukları çalışmada *F.annassa*'nın 6 farklı çeşidinde toplam fenolik madde miktarının 181.4-212.8 mg/100 g gallik asit eşdeğeri arasında değiştiğini bildirmişlerdir.

Chell ve ark. (2007); *Fragaria chiloensis* ssp. *chiloensis* (*F. patagonica* ve *F.chiloensis*), *Fragaria vesca* ve *Fragaria x ananassa* cv. *Chandler* çeşidi çileklerde total antosiyanin, fenolik madde ve flavanoid miktarlarını araştırmak amacıyla yapmış oldukları çalışmada en yüksek fenolik madde miktarının kırmızı dağ çileğinde (*F.vesca*) olduğunu, en düşük fenolik madde miktarının da beyaz çilekte (*Fragaria chiloensis* ssp. *chiloensis* f. *chiloensis*) olduğunu tespit etmişlerdir.

Da-silva ve ark. (2007) yapmış oldukları çalışmada 5 farklı çilek çeşidinde (*F. ananassa* cv. *Eris*, *Oso Grande*, *Carisma*, *Tudnew*, *Camarosa*) toplam antosiyanin

miktarının 200-600 mg/kg arasında olduğunu, bunun %70-90'ını pelargonidin-3glukozit (pg-3-glu), %6-11'inin pelargonidin-3-rutinozit (pg-3-rut) ve %3-10'unun da siyanidin-3glukozit olduğunu bildirmişlerdir.

Kafkas (2006) yapmış olduğu çalışmada çilekte toplam antosiyanin içeriğinin 73.5-132.95 mg/100 g arasında değiştiğini bildirmiş iken Romero ve ark. (2008) tarafından yapılan çalışmada ise çilekte pelargonidin-3-glukozit türünden antosiyanin miktarının 3.68 mM/g taze ağırlık olarak bildirilmiştir.

Bodelon ve ark. (2010) tarafından yapılan çalışmada farklı ortamlarda (CO₂ ve O₂) ve farklı sürelerde depolanmakta olan çileklerin fenolik madde miktarları 0.22-0.27 gallik asit eşdeğeri/100 g taze ağırlık, antosiyanin içeriğini de pelargonidin-3glukozit türünden 340 µg/g taze ağırlık olarak tespit edilmiştir. Çilek mevyesi üzerine gerçekleştirilen benzer bir çalışmada toplam fenolik madde miktarının 639-660 mg/kg arasında değiştiği (Odriozola-Serrano ve ark. 2010), diğer benzer çalışmalarda ise 1730-3180 mg/kg arasında olduğu bildirilmiştir (Da Silva-Pinto ve ark. 2008; Tulipani ve ark., 2008)

Versari ve ark. (1997) yapmış oldukları ticari elma, armut, çilek ve ahududu meyve suları, püreleri ve nektarlarındaki klorojenik asit, kateşin, epikateşin, floridzin, floretin ksiloglukozit gibi feolik bileşenlerin PDA detektörü kullanarak ters faz HPLC (RP-HPLC) yöntemiyle tayin etmeyi amaçlamışlardır. Çalışma neticesinde floretin glukozitlerinin armut, çilek ve ahududu numunelerinde tespit edilemediği, bunların yalnızca elmaya has olduğu tespit edilmiştir.

Aaby ve ark. (2005) tarafından dondurulmuş ve püre haline getirilmiş olan çileklerin antioksidan aktivitelerinin ve fenolik madde içeriklerinin tespit edilmesi amacıyla yapılan çalışmada toplam fenolik madde içerikleri FRAP yöntemine, toplam antioksidan aktiviteleri de ORAC metoduna göre tayin edilmiştir. Yapılan çalışma neticesinde dondurulmuş çileklerde toplam fenolik madde ve antioksidan içeriklerinin püre haline getirilmiş olanlara kıyasla daha yüksek olduğu bildirilmiştir.

Özarda (2009) tarafından ülkemizde yetismekte olan kuşburnu, yaban mersini ve çilek meyvelerinden elde edilen ekstraktların antioksidan kapasitelerinin belirlenip yapay antioksidanlardan BHA ve BHT ile karşılaştırmalı olarak meyveli içeceklerde stabilite ve raf ömrüne olan etkisinin incelenmesi amacıyla yapılan çalışma

neticesinde en yüksek antioksidan kapasiteye sahip meyvenin yaban mersini, total fenolik madde ve flavanoid içeriği açısından ise en zengin meyvenin kuşburnu olduğu saptanmıştır.

Jablonska-Rys ve ark. (2009) yapmış oldukları çalışmada aralarında yabani çileğin (*F.vesca*) de olduğu 7 farklı ilek çeşidinde antioksidan kapasiteyi araştırmışlardır. Yapılan çalışmada en dūřuk antioksidan kapasiteye *F.vesca*'nın sahip olduğu tespit edilmiş olup *F.vesca*'nın antioksidant kapasite değerı FRAP yöntemiyle 10.99 mMFe/100 g FW olarak saptanmıştır.



BÖLÜM 3

MATERYAL ve YÖNTEM

3.1 Çilek (*Fragaria vesca*) Meyve Özütlerinin Hazırlanması

3.1.1 Materyal

Metil alkol (CH₃OH), Soxhlet, Evaporatör.

3.1.2 Metod

Çilek numuneleri Gaziantep’te local marketten satın alındı. Gaziantep üniversitesi, Biyoloji bölümü, botanik laboratuvarında teşhis edildi. Meyveler laboratuvarında açık havada kurutulduktan sonra mekanik parçalayıcı ile toz haline getirildi. Parçalanmış meyveler (30’ar gram) tartılarak Soxhlet cihazının (Gerhardt EV 14) kartuşlarına yerleştirildi. Soxhlet cihazında, kartuş için 150 mL metanol (Mercek) ile 3 saat özütlemeye tabi tutuldu.

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

Eppendorflara elde edilen meyve özütlerinden 50 mg tartılarak üzerlerine 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: 5 dk UV ve 10 dk UV için ayrı konsantrasyonlar hazırlanmıştır.

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

Özütlerin hazırlanması: 5 dk UV ve 10 dk UV için ayrı özütler hazırlanmıştır.

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

3 nolu tüpe 1/10, 4 nolu tüpe 1/5, 5 nolu tüpe 1/2.5, 6 nolu tüpe 1/1.25 oranında seyreltme yapılan çilek 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. Çilek özütlerinin olduğu tüpler, 1 ve 2 kontrol tüpler ile birlikte 5 dk süresince UV ışınlarına maruz kalmıştır. Yukarıdaki aynı işlemler tekrarlanıp, 1 ve 2 kontroller dahil tüm özüt konulan tüpler 10 dk süresince UV ışınlarına maruz bırakılmıştır. Hazır olan numunelerden 5.0 µl alıp, üzerine 5.0 µl yükleme tamponu eklenerek % 1.5'lik agaroz jele yüklenmiştir. Jel elektroforezinde 90 dakika uygulandıktan sonra jel dökümantasyon sisteminde (DNR-IS, MiniBIS Pro) görüntülenerek fotoğrafları elde edilmiştir.

3.3 Çilek Meyve Özütlerinin *Stenotrophomonas maltophilia* Üzerinde Disk Difüzyon Testi

3.3.1 Materyal

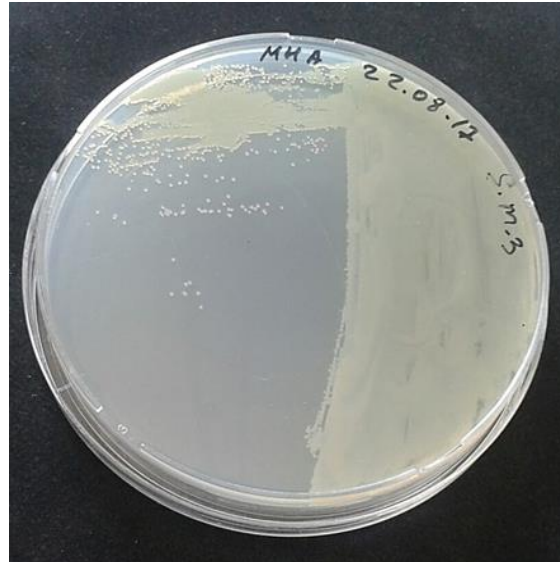
Mueller Hinton Agar (MHA), distile su (dH₂O), serum fizyolojik, McFarland, McFarland tüpleri, eküvyon, BLANK diskler.

Araştırmada, Gaziantep Üniversitesi, Tıp Fakültesi 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

Çilek meyve özütlerinin *S. maltophilia* üzerindeki antibakteriyel etkisinin belirlenebilmesi 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

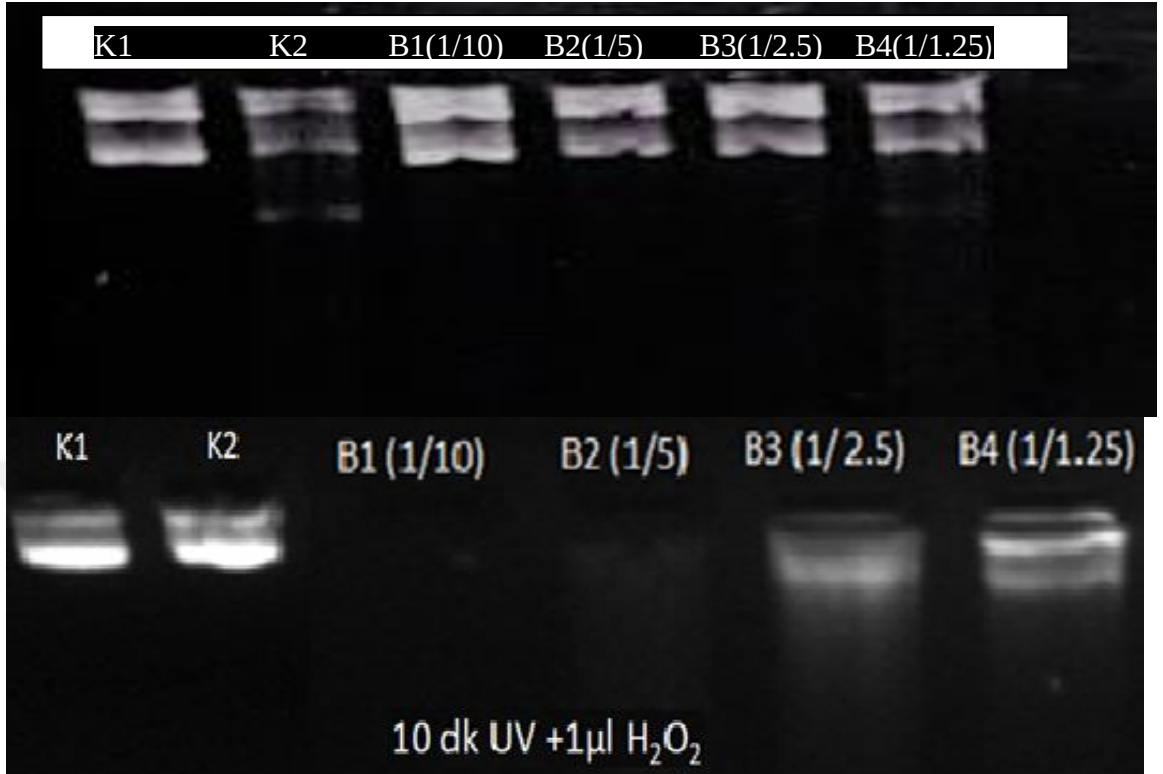
Doğrudan koloni süspansiyonu yöntemini kullanarak bakterilerin serum fizyolojik içerisinde 0.5 ($1,5 \times 10^8$ cfu/ml) McFarland bulanıklık standardı yoğunluğunda süspansiyonu hazırlanmıştır. Bulanıklığı ayarlanmış inokulum süspansiyonundan 50 µl alınarak MHA bulunan besiyerine ekimi yapılmıştır. Test için 200 mg özüt tartılarak 1000 µl distile suda çözülmüştür. Özütlerin sulandırma işleminde 0.2 mg/µl' den başlanarak son derişim 0.05 mg/µl olacak şekilde seri sulandırma yapılarak 3 konsantrasyon hazırlanmıştır. Birinci konsantrasyondan 30 µl (6.0 mg), tekrar birinci konsantrasyondan 20 µl (4.0 mg), ikinci konsantrasyondan 20 µl (2.0 mg), üçüncü konsantrasyondan 20 µl (1.0 mg) alınıp, BLANK disklere emdirilmiştir. 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.

BÖLÜM 4

BULGULAR

4.1 *Fragaria vesca* Meyve Özütlerinin DNA Koruyucu Aktivitesinin Belirlenmesinde Elde Edilen Sonuçlar

Meyve özütünün H_2O_2 ve UV ışınlarına karşı DNA'yı koruma aktivitesinin araştırılmasında, farklı konsantrasyonlarda hazırlanan meyve özütünün farklı sürelerde UV ışığına maruz bırakılması sonucu DNA koruyucu faaliyeti değerlendirilmiştir. 1 μ l H_2O_2 + 5 ve 10 dakika UV ışınlarına maruz kalan farklı konsantrasyonlardaki (1/10, 1/5, 1/2.5, 1/1.25) meyve özütlerinin jel dökümantasyon sisteminde (DNR-IS, MiniBIS Pro) görüntülenen, DNA koruyucu bantları şekil 4.1'deki gibidir.



Şekil 4.1 Çilek özütlerinin jel dökümantasyon sisteminde (DNR-IS, MiniBIS Pro) görüntülenen, DNA koruyucu bantları

K1: pBR322 Plazmid DNA+6µl dH₂O

K2: pBR322 Plazmid DNA+6µl dH₂O + 5 dk UV

B1: pBR322 Plazmid DNA + 5 µl *Fragaria vesca* ekstraktı (konsantrasyon 1/10) + 5dk UV +1 1µl dH₂O₂

B2: pBR322 Plazmid DNA + 5 µl *Fragaria vesca* ekstraktı (konsantrasyon 1/5) + 5dk UV +1 1µl dH₂O₂

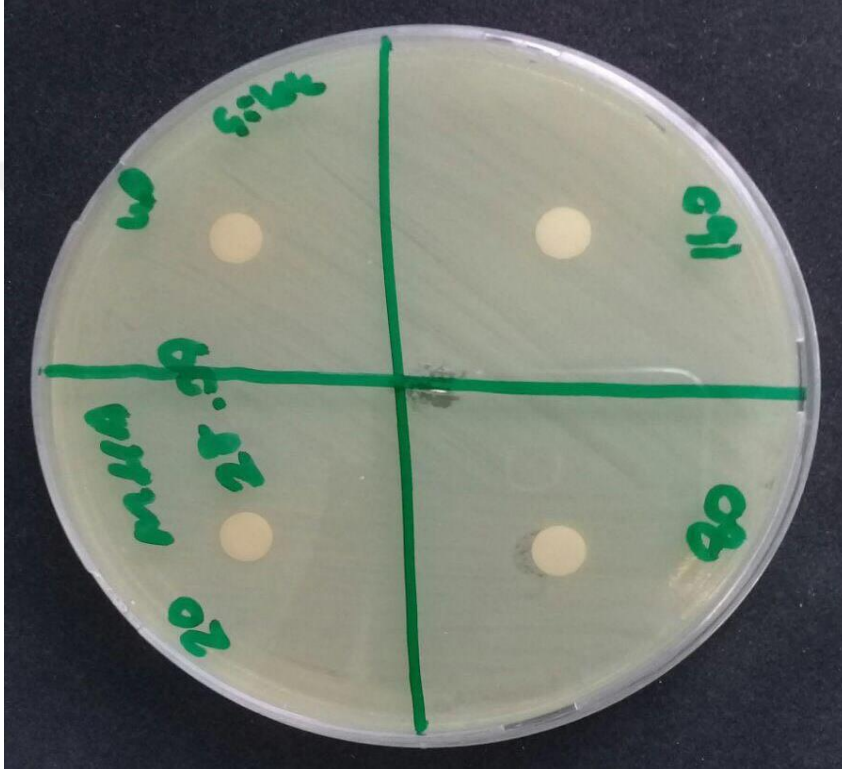
B3: pBR322 Plazmid DNA + 5 µl *Fragaria vesca* ekstraktı (konsantrasyon 1/2.5) + 5dk UV +1 1µl dH₂O₂

B4: pBR322 Plazmid DNA + 5 µl *Fragaria vesca* ekstraktı (konsantrasyon 1/1.25) + 5dk UV +1 1µl dH₂O₂

Bu çalışmada DNA olarak pBR322 kullanılmış olup bu plazmid DNA'ya 5-10 dakika süresince UV-B ışını uygulanmıştır. Aynı zamanda DNA üzerindeki öldürücü etkiye bakmak için hidrojen peroksit (H₂O₂) uygulamıştır. Hidrojen peroksit DNA üzerinde öldürücü etkiye sahip olup *Fragaria vesca*'nın hidrojen peroksitin öldürücü etkisine karşı DNA'yı koruyup korumadığı incelenmiştir. Yapmış olduğumuz çalışma neticesinde son grup olan "pBR322 Plazmid DNA + 5 µl *Fragaria vesca* ekstraktı (konsantrasyon 1/1.25) + 5-10 dk UV +1 1µl dH₂O₂"nin koruyucu etkiye sahip olduğu görülmüştür.

4.2 Disk Difüzyon Yönteminde Elde Edilen Sonuçların Değerlendirilmesi

Farklı konsantrasyonlardaki çilek meyvelerinden elde edilen metanol özütlerinin *S. maltophilia* suşları üzerindeki disk difüzyon testi sonuçları disklerin etrafında meydana gelen zonlara göre değerlendirilmiştir. Plaklar çıplak gözle gözden 30 cm uzağa tutularak, zon sınırları üremenin tam olarak inhibe olduğu noktanın belirlenmesi sağlanmıştır. Yapmış olduğumuz çalışmada çilek özütünün *S.maltophilia* suşu ile muamelesi sonucunda disk oluşmamıştır. (Şekil 4.2).



Şekil 4.2 Disk difüzyon testi sonuçları

BÖLÜM 5

TARTIŞMA VE SONUÇLAR

Bitkilerin tedavi amacıyla kullanımı oldukça eskilere dayanmaktadır. Doğada yetişmekte olan çeşitli bitkilerin antimikrobiyal etkilere sahip oldukları bilinen bir gerçektir. Bitkilerin zararlı mikroorganizmaları öldürücü etkiye sahip oldukları ve insan sağlığı açısından önemli özellikleri 1926'dan itibaren laboratuvar ortamında araştırılmaya başlanmıştır (Kırbağ ve Zengin, 2006).

Tıbbi bitkiler antimikrobiyal ajan olarak son derece zengin kaynak olup yüzlerce bitki türünün antimikrobiyal özellikleri üzerine pek çok çalışma yapılmış olmasına karşın büyük kısmı ise henüz keşfedilmemiştir (Mahesh ve Satish, 2008).

Antibiyotiklerin keşfedildiği 1950'li yıllarda bitkilerden elde edilen ekstraktların antimikrobiyal kullanımı yaygın değildir. Enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde elde edilen başarılar neticesinde antibiyotikler pek çok hastalığın tedavisinde yaygın bir şekilde kullanılmaya başlanmıştır. Ancak zaman içerisinde antibiyotikleri bilinçsiz bir şekilde ve yaygın olarak kullanılmaya başlanması beraberinde direnç gelişimi sorununu ortaya çıkarmıştır (Kürek, 2007). Bununla birlikte mikroorganizmalar antimikrobiyal etkiye sahip olan bitki ve ürünlerine karşı direnç kazanamamaktadır. Çünkü yapay ortamda üretilmekte olan ilaçlar tek bir aktif maddeye sahip değil iken bitkilerdeki aktif maddeler diğer maddeler ile beraber kompleks yapıda bulunmaktadırlar. Bu nedenle bakterilerin bu yapılara çoklu direnç geliştirmeleri söz konusu değildir. Bu sebepten ötürü de bilhassa son yıllarda bitkilerin antimikrobiyal aktivitelerinin tespit edilmesine yönelik araştırmaların sayısında artış söz konusudur.

Günümüze dek bitkilerden 12 binin üzerinde sekonder metabolit izole edilmiş olup bu sayının toplam metabolit sayısının yalnızca %10'una tekabül ettiği ileri sürülmektedir (Karaman, 2011).

Yapılan araştırmalarda bitkilerin antioksidan etkiye sahip oldukları görülmüştür. antioksidanların da oksidatif DNA hasarına ve kansere karşı koruyucu etkiye sahip

oldukları yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (Yamaguchi ve ark., 2009, Tepe ve ark., 2010). Bu konu üzerine yapılan araştırmalarda antioksidanların kanser indüksiyonunu ya da büyümesini inhibe edebildiği gösterilmiştir (Karaca ve Güder, 2009).

Wei ve ark. (1999) tarafından yapılan çalışmada yeşil ve siyah çayın su özütlerinin UV kaynaklı oksidatif DNA hasarını engelleyici etkiye sahip oldukları, diğer bir ifadeyle her iki çay çeşidinin de DNA koruyucu etkiye sahip olduğu bildirilmiştir.

Yamaguchi ve ark. (2009) tarafından *Araucaria angustifolia* bitkisinden izole edilen biflovanoidlerin UV kaynaklı DNA hasarı üzerindeki etkilerinin araştırılması amacıyla yapılan çalışmada biflavanoidlerin UV-B ışınlarına karşı etkili olduğu, UV-A ışınlarına karşı ise DNA koruyucu etkiye sahip olmadıkları tespit edilmiştir.

Kumar ve Chattopadhyay (2009) yapmış oldukları çalışmada *Mentha spicata* n-bütanol özütünün DNA koruyucu aktivitesini tespit etmeyi amaçlamışlardır. Yapılan çalışma neticesinde *Mentha spicata* n-bütanol özütünün DNA koruyucu aktivite düzeyinin yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Yukarıda da ifade edildiği üzere tıbbi bitkiler antioksidan aktiviteye sahip olup bunlardan birisi de çilektir. Yapılan araştırmalarda *Fragaria* cinsine ait türlerin fitokimyasallar açısından önemli kaynaklardan birisi olduğu (Giampieri ve ark., 2014), bunlardan büyük bölümünün de doğal antioksidan kaynağı olduğu bildirilmiştir (Giampieri ve ark., 2012a).

Çilekte en yoğun olarak bulunan fitokimyasallar flavanoidler olup bunlardan özellikle antosiyaninlerin antioksidan aktivite, foto-koruma, antikarsinojen etki ve DNA hasarını önleme etkilerinin olduğu bildirilmektedir (Giampieri ve ark., 2012b).

Yapmış olduğumuz çalışmada *Fragaria vesca*'nın DNA koruyucu etkiye sahip olduğu gösterilmiş olup günümüzde yapılan epidemiyolojik çalışmalar, antioksidan özelliklerine bağlı olarak, çileklerin, oksidatif stresin önemli rol oynadığı düşünülen

çeşitli kronik dejeneratif hastalıklara karşı koruyucu etkiler gösterebileceğini göstermiştir (Elkhadragy ve Abdel Moneim, 2017).

Çalışmamızdan elde edilen sonuçlar göz önünde bulundurulduğunda çilek özütlerinin DNA koruyucu aktivitesinin kozmetik sektöründe, bilhassa da güneş koruyucu kremlerde doğal UV koruyucu olarak kullanılabileceği söylenebilir.



KAYNAKÇA

Aaby, K., Skrede, G., ve Wrolstad, R. E. (2005). Phenolic composition and antioxidant activities in flesh and achenes of strawberries (*Fragaria ananassa*). *Journal of Agricultural and Food chemistry*, **53**(10), 4032-4040.

Acar, J.F., Goldstein, F.W. (1996). Disk susceptibility test, “V Lorian (ed): Antibiotics in Laboratory Medicine. 4th edition. Baltimore: Williams and Wilkins.

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 Vet. Fak. Derg.* **14**(2), 72-77

Alonso, A., Sanchez, P., ve Martínez, J. L. (2000). *Stenotrophomonas maltophilia* D457R contains a cluster of genes from gram-positive bacteria involved in antibiotic and heavy metal resistance. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, **44**(7), 1778-1782.

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

Amundson, S. A., Patterson, A., Do, K. T., ve Fornace, Jr, A. J. (2002). A nucleotide excision repair master-switch: p53 regulated coordinate introduction of global genomic repair genes. *Cancer biology & therapy*, **1**(2), 145-149.

Anderson, A.D., Nelson, J.M., Rossiter, J. ve Angulo, F.J., (2003). Public Health Consequences of Use of Antimicrobial Agent in Food in Animals in the United States. *Mic. Drug Res.* **9**, 373-379

Anonim. (2012a). Türkiye İstatistik Kurumu İnternet Sayfası. http://www.tuik.gov.tr/VeriBilgi.do?tb_id=45&ust_id=13(2003)

Anonim (2012b). FAO İnternet site. <http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#ancor>(2009)

Aybak, H. (2008).Çilek Yetiştiriciliği, Hasad Yayıncılık: İstanbul

Bartlett, R.C., Mazens-Sullivan, M., Tetreault, J.Z., Lobel, S., Nivard, J. (1994). Evolving approaches to management of quality in clinical microbiology. *Clin Microbiol Rev.* **7**(1),55-88.

Başoğlu, A. (2000). Veteriner İç Hastalıklarında Genel Tedavi. Selçuk Üniv. Basımevi, Konya, 109-160

Bodelón, O. G., Blanch, M., Sanchez-Ballesta, M. T., Escribano, M. I., ve Merodio, C. (2010). The effects of high CO₂ levels on anthocyanin composition, antioxidant activity and soluble sugar content of strawberries stored at low non-freezing temperature. *Food Chemistry*, **122**(3), 673-678.

Bohr, V.A. (1995). DNA repair fine structure and its relations to genomic instability. *Carcinogenesis*, **16**(12), 2885-2892.

Brooke, J.S. (2012). *Stenotrophomonas maltophilia*: an emerging global opportunistic pathogen. *Clinical microbiology reviews*, **25**(1), 2-41.

Cheel, J., Theoduloz, C., Rodriguez, J. A., Caligari, P. D. S. and Schmeda-Hirschmann, S. (2007). Free radical scavenging activity ve phenolic content achenes ve thalamus from *Fragaria chiloensis* ssp. *chiloensis*, *F. vesca* ve *F. x ananassa* cv. Chveler. *Food Chemistry*,**102**, 36-44.

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

Cooper, G. M., ve Hausman, R. E. (2006). Hücre Moleküler Yaklaşım.(3. Baskı). Sakızlı, M., Atabey, N., Çev.) İzmir. İzmir Tıp Kitapevi, 355-536.

Çağatay, A.A., ve Özsüt, H. (2001). Yoğun Bakım Ünitesi Enfeksiyonları ve Antimikrobik Tedavi. *Yoğun Bakım Dergisi*, **1**(1): 21, 32.

da Silva, F. L., Escribano-Bailón, M. T., Alonso, J. J. P., Rivas-Gonzalo, J. C., & Santos-Buelga, C. (2007). Anthocyanin pigments in strawberry. *LWT-Food Science and Technology*, **40**(2), 374-382.

da Silva Pinto, M., Lajolo, F. M., ve Genovese, M. I. (2008). Bioactive compounds and quantification of total ellagic acid in strawberries (*Fragaria x ananassa* Duch.). *Food Chemistry*, **107**(4), 1629-1635.

Davis, T.M., Rothan, B.D., Köhler, E.L. (2007). Strawberry, *Genome Mapping and Molecular Breeding in Plants*, (4)Fruits and Nuts.

Denton, M., ve Kerr, K. G. (1998). Microbiological and clinical aspects of infection associated with *Stenotrophomonas maltophilia*. *Clinical microbiology reviews*, **11**(1), 57-80.

Denton, M., Hall, M. J., Todd, N. J., Kerr, K. G., ve Littlewood, J. M. (2000). Improved isolation of *Stenotrophomonas maltophilia* from the sputa of patients with

cystic fibrosis using a selective medium. *Clinical microbiology and infection*, **6**(7), 395-396.

Dinçer Y, Akçay T.(2000). DNA damage. *Türk Biyokimya Dergisi*; **25**(2):73-9

Dökmeci, İ., Akçasu, A., Banoğlu, N., ve Berkarda, Ş. (1992). Farmakoloji. İlaç Uygulamalarında Temel Kavramlar. Editör: İsmet Dökmeci. Nobel Tıp Kitabevleri, 705-785.

Durupınar, B., ve Darka, Ö. (2008). *Stenotrophomonas maltophilia* ve Burkholderia Türleri. Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M (Editörler). Enfeksiyon Hastalıkları ve Mikrobiyolojisi Etkenlere Göre Enfeksiyonlar.3.baskı, İstanbul, Nobel tıp kitapevleri. 2187-2190

Elkhadragy, M. F., ve Abdel Moneim, A. E. (2017). Protective effect of *Fragaria ananassa* methanolic extract on cadmium chloride (CdCl₂)-induced hepatotoxicity in rats. *Toxicology mechanisms and methods*, **27**(5), 335-345.

Folta, K. M., ve Davis, T. M. (2006). Strawberry genes and genomics. *Critical Reviews in Plant Sciences*, **25**(5), 399-415.

Frosina, G., Fortini, P., Rossi, O., Carrozzino, F., Raspaglio, G., Cox, L. S., ve Dogliotti, E. (1996). Two pathways for base excision repair in mammalian cells. *Journal of Biological Chemistry*, **271**(16), 9573-9578.

Giampieri, F., Tulipani, S., Alvarez-Suarez, J. M., Quiles, J. L., Mezzetti, B., ve Battino, M. (2012a). The strawberry: composition, nutritional quality, and impact on human health. *Nutrition*, **28**(1), 9-19.

Giampieri, F., Alvarez-Suarez, J. M., Tulipani, S., Gonzàles-Paramàs, A. M., Santos-Buelga, C., Bompadre, S., ve Battino, M. (2012). Photoprotective potential of strawberry (*Fragaria* × *ananassa*) extract against UV-A irradiation damage on human fibroblasts. *Journal of agricultural and food chemistry*, **60**(9), 2322-2327.

Griffiths, A., Wessler, S., Lewontin, R., Gelbart, W., Suzuki, D. ve Miller, J. (2005). *Introduction to Genetic Analysis*. 8th Edition Chapter **14**: Mutation, W.H.Freeman&Company

Gül, A. (2011). Bazı nötr gün çileklerinin Tekirdağ koşullarında alçak tünelde verim ve gelişme kriterlerinin incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Hatay.

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

Haber, J. E. (1999). DNA recombination: the replication connection. *Trends in biochemical sciences*, **24**(7), 271-275.

Haber, J. E. (2000). Partners and pathways: repairing a double-strand break. *Trends in Genetics*, **16**(6), 259-264.

Hakala, M., Lapveteläinen, A., Huopalahti, R., Kallio, H., ve Tahvonen, R. (2003). Effects of varieties and cultivation conditions on the composition of strawberries. *Journal of Food composition and analysis*, **16**(1): 67-80.

Halliwell B, Gutteridge JMC.(1996). Oxidative stress: Adaptation, damage, repair and death. In: Halliwell B, Gutteridge JMC, eds. *Free Radicals in Biology and Medicine*. 3rded. Oxford: Oxford University Press; p. 247-53.

Hannum, S. M. (2004). Potential impact of strawberries on human health: a review of the science. *Critical reviews in food science and nutrition*, **44**(1), 1-17.

Heinonen, I. M., Meyer, A. S., ve Frankel, E. N. (1998). Antioxidant activity of berry phenolics on human low-density lipoprotein and liposome oxidation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **46**(10), 4107-4112.

Hu, L. F., Chang, X., Ye, Y., Wang, Z. X., Shao, Y. B., Shi, W., ve Li, J. B. (2011). *Stenotrophomonas maltophilia* resistance to trimethoprim/sulfamethoxazole mediated by acquisition of *sul* and *dfrA* genes in a plasmid-mediated class 1 integron. *International journal of antimicrobial agents*, **37**(3), 230-234.

Hugh, R., ve Leifson, E. (1963). A description of the type strain of *Pseudomonas maltophilia*1. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, **13**(3), 133-138.

Jabłońska-Ryś, E., Zalewska-Korona, M., ve Kalbarczyk, J. (2009). Antioxidant capacity, ascorbic acid and phenolics content in wild edible fruits. *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research*, **17**(2), 115-120.

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.

Johnson, R. T., Collins, A. R. S., Squires, S., Mullinger, A. M., Elliott, G. C., Downes, C. S., ve Rasko, I. (1987). DNA repair under stress. *J Cell Sci*, **(Supplement 6)**, 263-288.

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.

Kafkas, E. (2006). Bazı Çilek Genotiplerinde Aroma Bileşiklerinin Tayini ve Aroma Bileşikleri ile Bazı Meyve Kalite Kriterleri Arasındaki İlişkiler. Doktora Tezi. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.

Karabay, O., ve 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 DermatolojiDergisi*, **3**:32-39

Karaman, P. (2011). Bazı Aromatik Bitki Türlerinin Antimikrobiyal, Antioksidan ve DNA Koruyucu Aktivitelerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Cumhuriyet Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Sivas.

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

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

Kırbağ, S., Zengin, F. (2006).Elazığ yöresindeki bazı tıbbi bitkilerin antimikrobiyal aktiviteleri. Y.Y. Üniversitesi Ziraat Fakültesi, Tarım Bilimleri Dergisi, **16**: 77-80.

Kulaksız, G. ve Sancar, A. (2007). Nükleotid Eksizyon Onarımı ve Kanser. *Türk Biyokimya Dergisi*, **32**(3):104-11

Kumar, A., Chattopadhyay, S. (2007). DNA damage protecting activity and antioxidant potential of pudina extract. *Food Chemistry*, **100**: 1377-1384

Kurtuğlu, E.L., ve Tekedereli, İ. (2015). DNA Onarım Mekanizmaları, *Balıkesir Sağlık Bilimleri Dergisi*, **4**(3): 169-177.

Kürek, N. (2007). Denizli ve çevresinde yayılış gösteren *Eryngium* cinsine ait safekstraktlarının antimikrobiyal aktivitesi, Pamukkale Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Denizli

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

Lindahl, T. (1990). Repair of intrinsic DNA lesions. *Mutat Res*, **238**(3):305-11

Looney, W.J., Narita, M., ve Mühlemann, K. (2009). *Stenotrophomonas maltophilia*: an emerging opportunist human pathogen. *The Lancet infectious diseases*, **9**(5), 312-323.

Mahesh, B., ve Satish, S. (2008). Antimicrobial activity of some important medicinal plant against plant and human pathogens. *World journal of agricultural sciences*, **4**(5), 839-843.

Milgrom, E., Diab, H., Middleton, F., ve Kane, P. M. (2007). Loss of vacuolar proton-translocating ATPase activity in yeast results in chronic oxidative stress. *Journal of Biological Chemistry*, **282**(10), 7125-7136.

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

Nash, H. M., Bruner, S. D., Schärer, O. D., Kawate, T., Addona, T. A., Spooner, E., ve Verdine, G. L. (1996). Cloning of a yeast 8-oxoguanine DNA glycosylase reveals the existence of a base-excision DNA-repair protein superfamily. *Current Biology*, **6**(8), 968-980.

Norbury, C. J., ve Hickson, I. D. (2001). Cellular responses to DNA damage. *Annual review of pharmacology and toxicology*, **41**(1), 367-401.

Odriozola-Serrano, I., Soliva-Fortuny, R., ve Martín-Belloso, O. (2010). Changes in bioactive composition of fresh-cut strawberries stored under superatmospheric oxygen, low-oxygen or passive atmospheres. *Journal of Food Composition and Analysis*, **23**(1), 37-43.

Onur, E., Tuğrul, B., ve Bozyiğit, F. (2009). DNA hasarı ve onarım mekanizmaları. *Türk Klinik Biyokimya Derg*, **7**(2), 61-70.

Özarda, Ö., (2009). Üzümsü meyvelerden elde edilen ekstraktların antioksidanaktivitelerinin belirlenmesi meyveli içeceklerdeki raf ömrüne etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Gebze Yüksek Teknoloji Enstitüsü Mühendislik ve Fen Bilimleri Enstitüsü, Gebze.

Pilveo, L. S. Wrolstad, R. E. ve Heatherbell, D. A. (1985). Influence of Fruit Composition, Maturity and Mold Contamination on the Color and Appearance of Strawberry Wine. *Journal of Food Science*, **5**, 1121-1125.

Rice-Evans CA, Miller NJ. (1996). Antioxidant activities of flavonoids as bioactive components of food. *Biochemical Society Transactions*, **24**, 790–795

Romero, I., Sanchez-Ballesta, M. T., Escribano, M. I., & Merodio, C. (2008). Individual anthocyanins and their contribution to total antioxidant capacity in response to low temperature and high CO₂ in stored Cardinal table grapes. *Postharvest biology and technology*, **49**(1), 1-9.

Salmon, T. B., Evert, B. A., Song, B., ve Doetsch, P. W. (2004). Biological consequences of oxidative stress-induced DNA damage in *Saccharomyces cerevisiae*. *Nucleic Acids Research*, **32**(12), 3712-3723.

Scalzo, J., Politi, A., Pellegrini, N., Mezzetti, B., ve Battino, M. (2005). Plant genotype affects total antioxidant capacity and phenolic contents in fruit. *Nutrition*, **21**(2), 207-213.

Schofield, M. J., ve Hsieh, P. (2003). DNA mismatch repair: molecular mechanisms and biological function. *Annual Reviews in Microbiology*, **57**(1), 579-608.

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

Shulaev, V., Korban, S. S., Sosinski, B., Abbott, A. G., Aldwinckle, H. S., Foltá, K. M., ve Lewers, K. (2008). Multiple models for Rosaceae genomics. *Plant physiology*, **147**(3), 985-1003.

Slupphaug, G., Kavli, B., ve Krokan, H. E. (2003). The interacting pathways for prevention and repair of oxidative DNA damage. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, **531**(1), 231-251.

Stojic, L., Brun, R., ve Jiricny, J. (2004). Mismatch repair and DNA damage signalling. *DNA repair*, **3**(8), 1091-1101.

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

Terzi, E., (2013). Alabalık İşletmelerinden İzole Edilen Bakterilerde Antibiyotik Direnç Genlerinin Belirlenmesi. Doktora Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.

Tu, Y., Tornaletti, S., ve Pfeifer, GP. (1996). DNA repair domains within a humangene: Selective repair of sequences near the transcription initiation site. *EMBO J*, **15**:675-83

Tulipani, S., Mezzetti, B., Capocasa, F., Bompadre, S., Beekwilder, J., De Vos, C. R., ve Battino, M. (2008). Antioxidants, phenolic compounds, and nutritional quality of different strawberry genotypes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **56**(3), 696-704.

Türkoğlu, F. K. (2008). Pediatri Kliniğine Başvuran Annelerin Çocuklarda Antibiyotik Kullanımı Konusundaki Bilgi ve Tutumların Araştırılması. Uzmanlık Tezi, Sağlık Bakanlığı Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İstanbul.

Versari, A., Biesenbruch, S., Barbanti, D. A., ve Farnell, P. J. (1997). Adulteration of fruit juices: dihydrochalcones as quality markers for apple juice identification. *LWT-Food Science and Technology*, **30**(6), 585-589.

Wang, Y. (2000). Flux-averaging analysis of type Ia supernova data. *The Astrophysical Journal*, **536**(2), 531.

Wang, J. C. (2002). Cellular roles of DNA topoisomerases: a molecular perspective. *Nature reviews Molecular cell biology*, **3**(6), 430-440.

Wang, S. Y., ve 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**(2), 140-146.

Wei, H., Zhang, X., Zhao, J.F., Wang, Z.Y., Bickers, D., Lebowitz, M. (1999). Scavenging of hydrogen peroxide and inhibition of ultraviolet light-induced oxidative DNA damage by aqueous extract from green and black teas. *Free Radical Biology & Medicine*, **26**: 1427-1435

William, S.K., ve Michael R.C. (2002). Genetik Kavramlar. Altıncı Baskıdan Türkçe Çeviri. Palme Yayıncılık. Ankara, 477-481.

Wang, H., Cao, G., ve Prior, R. L. (1996). Total antioxidant capacity of fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **44**(3), 701-705.

Windhorst, S., Frank, E., Georgieva, D. N., Genov, N., Buck, F., Borowski, P., ve Weber, W. (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), 11042-11049.

Yalap, K. S., ve Balcioğlu, I. A. (2008). Oksitetrasiklinin ileri oksidasyon ile artımına su bileşenlerinin etkisi. *ITU Journal Series E: Water Pollution Control*, **18**:51-60.

Yamaguchi, L.F., Kato, M.J., Mascio, P.D. (2009). Bioflavonoids from *Araucaria angustifolia* protect against DNA UV-induced damage. *Phytochemistry*, **70**: 615-620

Yılmaz, H. (2009). Çilek, Hasad Yayıncılık: İstanbul

Zhang, Y., Rohde, L. H., ve Wu, H. (2009). Involvement of nucleotide excision and mismatch repair mechanisms in double strand break repair. *Current genomics*, **10**(4), 250-258.

Zhao Y., Feng Z. ve Li X., (2007). Effect of Ultrasonic and MA Packaging Method on Quality and Some Physiological Changes of Fragrant Pear. *J. Xinjiang Agric. Univ.*, **30**:61-63.