



***Neisseria gonorrhoeae* Üzerinde Etkili Antibiyotik
ve Fenolik Asit Kombinasyonlarının
Araştırılması**

Yüksek Lisans Tezi

ABDOUL AZIZ MALICK DIALLO

Eskişehir 2025

Neisseria gonorrhoeae Üzerinde Etkili Antibiyotik ve Fenolik Asit
Kombinasyonlarının Araştırılması

ABDOUL AZIZ MALICK DIALLO

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Zerrin CANTÜRK

Eskişehir

Anadolu Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Temmuz 2025

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI



ÖZET

Neisseria gonorrhoeae Üzerinde Etkili Antibiyotik ve Fenolik Asit

Kombinasyonlarının Araştırılması

ABDOUL AZIZ MALICK DIALLO

Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Anadolu Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Temmuz 2025

Danışman: Prof. Dr. Zerrin CANTÜRK

Neisseria gonorrhoeae'ye karşı yaygın olarak kullanılan seftriaksona karşı son yıllarda bakterinin direnç mekanizmaları geliştirmesi nedeniyle antibiyotik daha az etkili hale gelmeye başlamıştır. Bu çalışmada, fenolik asitlerin bazı antibiyotiklerle kombinasyonları oluşturulmuş, *Neisseria gonorrhoeae*'ye karşı antibakteriyel aktivitesi çeşitli yöntemler kullanılarak çalışılmıştır. Kullanılan fenolik asitlerden özellikle gallik asit ve kafeik asit *Neisseria gonorrhoeae* karşı önemli aktivite göstermiştir. Mikrobroth dilüsyon sonuçlarına göre; gentamisin için MİK değeri 1,171 µg/mL, seftriakson için 5,625 µg/mL, kafeik asit için 12,5 µg/mL ve son olarak gallik asit için 6,25 µg/mL olarak bulunmuştur. Sinerjik aktivite, dama tahtası yöntemi kullanılarak değerlendirilmiştir. Gallik asit, seftriakson 0.38 (FİK: ≤ 0.5) ile sinerjik etki ve kafeik asit ile seftriakson 0.49 (FİK: ≤ 0.5) arasında sinerjistik etki göstermiştir. Gentamisin ile gallik asit kombinasyonu 0,93 (FİK < 1) additif bir etki göstermiş ve kafeik asit ile 1,72 (FİK>1,0-4,0) oranında bir kayıtsızlık etkisi göstermiştir. Flow sitometri sonuçlarında ise; gentamisin+gallik asit kombinasyonu %85.8 oranında apoptozise neden olmuştur. Gelecekte seftriakson veya gentamisin gibi antibiyotik tedavilerine alternatif olarak özellikle gallik asitin *Neisseria gonorrhoeae* enfeksiyonlarının tedavisinde önemli bir potansiyele sahip olacağı düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler: *Neisseria gonorrhoeae*, gentamisin, seftriakson, gallik asit, kafeik asit

ABSTRACT

Investigation of Antibiotic and Phenolic Acid Combinations Effective on
Neisseria gonorrhoeae

ABDOUL AZIZ MALICK DIALLO

Department of Pharmaceutical Microbiology

Anadolu University, Institute of Graduate Education, June 2025

Supervisor: Prof. Dr. Zerrin CANTÜRK

Ceftriaxone, which is widely used against *Neisseria gonorrhoeae*, has become less effective in recent years due to the development of resistance mechanisms by bacteria. In this study, the antibacterial activity of phenolic acids in combination with some antibiotics against *Neisseria gonorrhoeae* was studied using various methods. Of the phenolic acids used, gallic acid and caffeic acid, in particular, showed significant activity against *Neisseria gonorrhoeae*. According to microdilution results, MIC values of 1.171 µg/mL for gentamicin, 5.625 µg/mL for ceftriaxone, 12.5 µg/mL for caffeic acid and finally 6.25 µg/mL for gallic acid were found. Synergistic activity was evaluated using the checkerboard analysis technique. Gallic acid showed a synergistic effect with ceftriaxone 0.38 (FIK: ≤ 0.5) and a synergistic effect with caffeic acid and ceftriaxone 0.49 (FIK: ≤ 0.5). The combination of gentamicin and gallic acid showed an additive effect of 0.93 (FIK < 1) and an indifference effect with caffeic acid of 1.72 (FIK $> 1.0-4.0$). In the flow cytometry results, the combination of gentamicin + gallic acid caused apoptosis at a rate of 85.8%. In the future, gallic acid will have a significant potential in the treatment of *Neisseria gonorrhoeae* infections as an alternative to antibiotic treatments such as ceftriaxone or gentamicin.

Keywords: *Neisseria gonorrhoeae*, gentamicin, ceftriaxone, gallic acid, caffeic acid

TEŞEKKÜR

Bu yüksek lisans süresince bana verdiği sağlık ve enerji için Yüce Allah'a şükrediyorum.

Mesafelere rağmen her gün bana destek olan tüm aileme teşekkür ediyorum.

Bu yüksek lisans çalışması boyunca bana sağladığı destek, ayırdığı zamam, tavsiye, deneyim ve bilgi birikiminden dolayı tez danışmanım Prof. Dr. Zerrin CANTÜRK hocama sonsuz teşekkür etmek istiyorum.

Laboratuvardaki yüksek lisans süresince motivasyon ve yardımlarından dolayı Öğr. Gör.Pervin SOYER'e ve Arş.Gör. Mustafa Güçlü ÖZARDA'ya teşekkür etmek istiyorum.

Son olarak, bu macera boyunca bana verdiği destek ve pozitif enerji için arkadaşıma olan Mamadou Lamarana DIALLO, teşekkür etmek istiyorum.

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Bu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı; bu çalışma kapsamında elde edilen tüm veri ve bilgiler için kaynak gösterdiğimi ve bu kaynaklara kaynakçada yer verdiğimi; bu çalışmanın Anadolu Üniversitesi tarafından kullanılan “bilimsel intihal tespit programı”yla tarandığını ve hiçbir şekilde “intihal içermediğini” beyan ederim. Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçları kabul ettiğimi bildiririm.



.....

ABDOUL AZIZ MALICK DIALLO

İÇİNDEKİLER

Sayfa

BAŞLIK SAYFASI.....	
JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI.....	
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
TEŞEKKÜR	v
ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ	vi
ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ	vi
İÇİNDEKİLER	vii
TABLolar DİZİNİ	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ	xii
GÖRSELLER DİZİNİ.....	xiii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xiv
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. <i>N. gonorrhoeae</i> Enfeksiyonunun Mekanizmaları.....	3
2.2. Enfeksiyona Karşı Oluşan Doğal Bariyerler	5
2.3. İnflamatuar Sitokinlerin Üretimi	6
2.3.1. Nötrofillerin fagositozu	7
2.3.2. Kompleman aktivasyonu	7
2.3.3. Spesifik antikorların üretimi.....	8
2.4. Patojenite	9
2.4.1. Anorektal enfeksiyonlar	11
2.4.2. Faringeal enfeksiyonlar	11
2.4.3. Göz enfeksiyonları.....	12
2.4.4. Yaygın enfeksiyonlar	12
2.4.4.1. Çocuklarda ve yenidoğanlar	13
2.5. Epidemiyoloji.....	14

2.6. Antibiyotik duyarlılığı	15
2.6.1. Doğal Direnç	15
2.6.2. Kazanılmış Direnç	15
2.6.3. Beta-Laktamlara Karşı Direnç	15
2.6.4. Kromozomal mutasyonlar yoluyla	16
2.6.5. Plazmid penisilinazın edinilmesiyle	16
2.6.6. Siklinlere Karşı Direnç	17
2.6.7. Kinolonlara ve Florokinolonlara Karşı Direnç	17
2.6.8. Makrolidlere Karşı Direnç	17
2.6.9. Diğer Antibiyotiklere Karşı Direnç	18
2.6.10. Antibiyogram.....	19
2.7. Gonore tedavisi.....	20
2.8. <i>Neisseria gonorrhoeae</i> enfeksiyonlarının önlenmesi.....	22
2.9. Gonore tedavisinde teşhis aşamaları	22
2.9.1. Bakteriyolojik teşhis.....	22
2.9.2. Örneklerin taşınması	23
2.9.3. Doğrudan inceleme :	23
2.9.4. Kültür ortamı ve inkübasyon koşulları.....	24
2.9.5. Tür tespiti.....	25
2.9.5.1 . <i>Gram boyama, oksidaz ve katalaz reaksiyonları</i>	25
2.9.5.2 . <i>Biyokimyasal ve enzimatik testler</i>	26
2.9.5.3. <i>Diğer tanımlama yöntemleri</i> :	28
2.9.5.4. <i>Suşların korunması</i> :	28
2.10. Antibiyotikler:	29
2.10.1. Kökenine göre antibiyotikler.....	29
2.10.1.1. <i>Doğal kökenli antibiyotikler</i>	29
2.10.1.2. <i>Sentetik kökenli antibiyotikler</i>	29
2.10.1.3. <i>Yarı sentetik kökenli antibiyotikler</i>	30
2.10.2. Etki Spektrumuna göre Antibiyotikler	30

2.10.2.1. Geniş spektrumlu antibiyotikler.....	30
2.10.2.2. Dar spektrumlu antibiyotikler.....	30
2.10.3. Etki Şekline Göre	30
2.10.3.1. Bakterisidal etki.....	30
2.10.3.2. Bakteriyostatik etki.....	30
2.11. Antibiyotiklerin Etki Mekanizmaları.....	30
2.11.1. Bakteri duvarı üzerine etki	31
2.11.2. Sitoplazmik membran üzerindeki etki	31
2.11.3. Ribozomal RNA üzerindeki etki	31
2.11.4. Bakteriyel DNA üzerindeki etki.....	31
2.11.5. Orta seviye metabolizma inhibitörü antibiyotikler	31
2.12. Antibiyotiklerin Sınıflandırılması.....	31
2.12.1.β-laktamlar ;	32
2.12.2. Aminoizidler veya aminoglikozidler ;.....	32
2.12.3. Fenikoller ;.....	32
2.12.4. Tetrasiklinler;.....	32
2.12.5. Polipeptitler;	33
2.12.6. Makrolidler;.....	33
2.12.7.Kinolonlar;.....	34
2.12.8. Rifamisinler;	34
2.13. FENOLİK ASİTLER :	35
2.13.1.Hidroksibenzoik asitler ;	35
2.13.1.1.Gallik asit.....	35
2.13.2. Hidroksisinnamik asit türevleri ;.....	36
2.13.2.1. Kafeik asit.....	36
3. MATERYAL VE YÖNTEM	38
3.1.Materyal.....	38
3.1.1. Kullanılan cihazlar	38
3.1.2. Kullanılan laboratuvar malzemeleri ve kimyasallar	38

3.1.3. Kullanılan malzemelerin sterilizasyonu	39
3.1.4. Kullanılan kimyasalların ve besiyerlerinin hazırlanışı.....	39
3.2. Yöntem	40
3.2.1. Antibakteriyal aktivite tayini	40
3.2.2. Agar kuyucuk difüzyon yöntemi.....	40
3.1.3. Mikrobrot dilüsyon yöntemi.....	41
3.1.4.Dama tahtası (Checkerboard) Yöntemi	42
3.1.5. FİK (Fraksiyonel İnhibisyon Konstrasyonu) Hesaplama Yöntemi	42
3.1.6. Akış Sitometri Yöntemi	43
3.1.7. Etik bildirim	44
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	45
4.1. Disk Difüzyon testi	45
4.2. Mikrobrot dilüsyon yöntemi	48
4.3. Dama tahtası (Checkerboard) Yöntemi Sonuçları.....	51
4.4. Akış Sitometri Yöntemi Sonuçları.....	56
5. SONUÇ VE ÖNERİLER :	64
KAYNAKÇA	66
ÖZGEÇMİŞ.....	

TABLÖLAR DİZİNİ

Sayfa

Tablo 2.1. Gonokok görülen hasta gruplarındaki tedavi şemaları	21
Tablo 2.2. Neisseria cinsine ait türlerin temel kültürel ve biyokimyasal özellikleri.....	27
Tablo 2.3. Ana antibiyotik ailelerinin etki şekilleri	34
Tablo 3.1. FİK'in yorumlanması	43
Tablo 4.1. Antibiyotik ve fenolik maddelerin disklerinin inhibisyon zon çaplarının sonuçları.....	47
Tablo 4.2. Dama tahtası yöntemi ile 96 kuyucuklu plakadaki yerleşim planı 1	52
Tablo 4.3. Seftriakson-Gallik asit ve Seftriakson-Kafeik asit kombinasyonlarının Dama tahtası yöntemi ile FİK değerlerinin hesaplanması.... Hata! Yer işareti tanımlanmamış.	
Tablo 4.4. Dama tahtası yöntemi ile 96 kuyucuklu plakadaki yerleşim planı 2	54
Tablo 4.5. Gentamisin-Gallik asit ve Gentamisin-Kafeik asit kombinasyonlarının Dama tahtası yöntemi ile FİK değerlerinin hesaplanması (A:Gentamisin ;B :Gallik Asit,A:Gentamisin;B :Kafeik Asit).....	55
Tablo 4.6. Akış sitometrisi analiz verileri	62

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2. 1.Peptidoglikanın yapısı	6
Şekil 2. 2.Hidroksibenzoik asit kimyasal yapısı	35
Şekil 2. 3.Gallik asit kimyasal yapısı	35
Şekil 2. 4.Hidroksisinamik asit kimyasal yapısı	36
Şekil 2. 5.Kafeik asit kimyasal yapısı	36
Şekil 3. 1.Antibiyotiklerin ve fenolik maddelerin dilüsyonunun şekilsel gösterimi	41
Şekil 4.1.Akış sitometri analiz sonuçları	56

GÖRSELLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Görsel 2.1. <i>N. gonorrhoeae</i> pilusları	3
Görsel 2. 2. <i>N. gonorrhoeae</i> 'nin LOS yapısı	4
Görsel 2. 3. <i>Neisseria gonorrhoeae</i> farenjit	11
Görsel 2.4. Yaygın <i>Neisseria gonorrhoeae</i> enfeksiyonundan kaynaklanan deri lezyonları	12
Görsel 2.5. <i>Neisseria gonorrhoeae</i> 'nin neden olduğu yenidoğan konjonktiviti	14
Görsel 2.6. <i>Neisseria gonorrhoeae</i> 'nin beta-laktamlara karşı kromozomal direnç mekanizmaları.....	16
Görsel 2.7. Gonokokal antibiyogram	20
Görsel 2. 8. <i>Neisseria gonorrhoeae</i> 'ye bağlı cearhatli akıntının doğrudan incelenmesi .	24
Görsel 2. 9. IsoVitaleX çikolata ortamında <i>Neisseria gonorrhoeae</i> kültürü.	25
Görsel 2. 10. <i>Neisseria gonorrhoeae</i> kolonisinin gram boyaması (x100).	26
Görsel 2.12. <i>Neisseria gonorrhoeae</i> 'nin Neisseria 4H® kiti ile tanımlanması	28
Görsel 2.13. Antibiyotiklerin etki mekanizmaları.....	30
Görsel 3. 1. Akış sitometri çalışma prensibi.	43
Görsel 4.1. Işık mikroskobunda <i>Neisseria gonorrhoeae</i> 'nin görüntülenmesi. x40	45
Görsel 4.7. Seftriakson-Gallik asit ve Seftriakson-Kafeik asit kombinasyonlarının Dama tahtası yöntemi sonuçları	53
Görsel 4.7. Seftriakson-Gallik asit ve Seftriakson-Kafeik asit kombinasyonlarının Dama tahtası yöntemi sonuçları	53
Görsel 4.8. Gentamisin-Gallik asit ve Gentamisin-Kafeik asit kombinasyonlarının Dama tahtası yöntemi sonuçları (A:Gentamisin ;B :Gallik Asit,A:Gentamisin;B :Kafeik Asit)	55

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

CYBE	:Cinsel Yolla Bulaşan Enfeksiyonu
DSÖ	:Dünya Sağlık Örgütü
N.G	: <i>Neisseria gonorrhoeae</i>
LOS	:LipoOligoSakkarit
OPA	:Opaklık proteinleri
LPS	:Lipopolisakkarit
ASGP-R	:Gonokokların asialoglikoprotein reseptörü
IgA	:Immunoglobulin A
H₂O₂	: Hidrojen peroksit
TNF	:Tümör Nekroz Faktörü
IL8	:Interlökin 8
NAM	:N-asetil-muramik asit
NAG	:N-asetilglukozamin
VCAT	:Vankomisin, Colistin, Amfoterisin B, Trimetoprim
VCN	:Vankomisin, Colistin, Nystatin
NAD	:Nikotinamid Adenin Dinükleotid
γ-GT	:γ-glutamiltransferaz
GLU	:Glukoz
MAL	:Maltoz
SAC	:Sakkaroz
LAC	:Laktoz
ODC	:Ornitin dekarboksilaz
ProA	:Prolin arilamidaz

IND	:Indolün
PEN	:Penisilinaz
GA	:Gallik asit
KA	:Kafeik asit
DMSO	:Dimetilsülfoksit
MHB	:Muller Hinton Broth
MİK	:Minimum inhibitör konsantrasyonu
FIC	:Kombine İnhibisyon Faktörü
GEN	:Gentamisin
SEF	:Seftriakson
PI	:Propidyum İyodür

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Gonore (bel soğukluğu), önemli bir halk sağlığı sorunu olmaya devam eden cinsel yolla bulaşan bir enfeksiyondur (CYBE). Dünya Sağlık Örgütüne göre (DSÖ); 2020 yılında dünya çapında 15-49 yaş arası ergenler ve yetişkinler arasında 82,4 milyon yeni enfeksiyon ortaya çıkmıştır (http-1). İnsanlarda, 3 ila 5 günlük bir inkübasyondan sonra, pürülan üretral akıntının (sıcak sidik) eşlik ettiği akut bir üretrit tablosu ortaya çıkmaktadır. Tedavi edilmezse üretrit kronikleşir ve prostatit, epididimit ile komplike hale gelebilir. Kadınlarda enfeksiyon çok daha gizlidir (vakaların %75'i fark edilmez): üretrit, vulvovajinit, serviks infeksiyonu, bazen de proktite neden olabilmektedir. Muhtemel komplikasyonlar kısırlığa yol açabilen bartholinitis, pelviperitonitis, endometritis ve salpenjitten kaynaklanabilmektedir (Judson F.N., 1990).

Gonore hastalığı etkeni olan, gonokok olarak da adlandırılan *Neisseria gonorrhoeae* (*N. gonorrhoeae*), gram-negatif, diplokok veya zincirler halinde, sporsuz, hareketsiz, aerobik, oksidaz pozitif özelliklerine sahip bir bakteridir. İlk olarak 1879'da Alman bilim adamı Albert Neisser tarafından mikroskopda gözlemlenmiştir.

N. gonorrhoeae bakterisi, özellikle tetrasiklinler, makrolidler (özellikle azitromisin), sülfonamid-trimetoprim kombinasyonları ve kinolonlara karşı antimikrobiyal direnç geliştirmiştir. Birçok ülkede siprofloksasin direnci son derece yüksektir, azitromisine direnç artmaktadır ve sefiksime ve seftriaksona karşı direnç veya azalmış duyarlılık ortaya çıkmaya devam etmektedir (http-1).

Şu anda belsoğukluğu için önerilen ilaçlara (seftriakson ve azitromisin) yüksek düzeyde direnç gösteren, ancak aynı zamanda penisilin, sülfonamidler, tetrasiklin, florokinolonlar ve makrolidlere karşı da aşırı dirençli gonore, süperbakteriyel gonore veya süper gonore olarak adlandırılmaktadır (http-1).

DSÖ, *N. gonorrhoeae*'deki antimikrobiyal direncin yayılmasını ve etkisini kontrol etmek için küresel bir eylem planı uygulamaya koymuştur (http-1).

Bu tez çalışmasında, antibiyotik ve fenolik asit kombinasyonlarının *N. gonorrhoeae*'ye karşı antimikrobiyal etkisi disk difüzyon testi, mikrobrot dilüsyon testi, Dama tahtası yöntemi ve akış hücremetre ile araştırılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

N. gonorrhoeae gram negatif, hareketsiz, oksidaz ve katalaz pozitif diplokok bir mikroorganizmadır. *N. gonorrhoeae*, fermentasyon yerine oksidasyon yoluyla karbonhidratlardan asit oluşturur. Thayer Martin Agar, New York City Agar ve Çikolata Agar gibi zengin besiyerlerinde 35°C, %3-7 CO₂ 'li inkübatörde 48-72 saat arasında gelişmektedir (Mary-Ann Shafer vd., 2011). Normal flora bakterilerinin büyümesini engellemek için besiyerine antimikrobiyal maddeler eklenmektedir. Vankomisin, kolistin ve nistatin ilave edilmiş çikolata agar, trimetoprim ilave edilmiş Thayer-Martin agar besiyeri ve oksisilin ve nistatin içeren New York formazan veya amfoterisin B ile takviye edilmiş Thayer-Martin agar besiyerlerinde, *N. gonorrhoeae* kan, eklem sıvısı ve beyin omurilik sıvısı gibi steril vücut sıvılarından izole edilebilmektedir (Koneman E.W vd., 2002).

Filogenetik sınıflandırması şu şekildedir :

ALEM: Bacteria

Phylum : Proteobakteriler

Sınıf : Betaproteobakteriler

Takim : Neisseriales

Aile : Neisseriaceae

Cins : Neisseria

Tür: *N. gonorrhoeae*

N. gonorrhoeae'nin antijenik yapısı oldukça karmaşıktır. Yüzeyinde üç tip antijen vardır: pili, lipopolisakkarit-lipooligosakkaritler ve dış zarın protein bileşeni. Pili, protein alt birimlerinden oluşur. *N. gonorrhoeae*'deki pili serolojik olarak heterojendir. Bu yapı, konakçı hücrelere yapıştığında bakterileri fagositozdan korur. *N. gonorrhoeae*'nin dış zarında bulunan lipopolisakkarit enfeksiyon sırasında önemlidir. Ana serum yüzey antijenidir ve bakterisidal işlev görmektedir. Dış membran proteinleri, dış zarın ağırlığının %60'ını oluşturur. En önemli proteinler, protein I, protein II olan porin proteinleri ve protein III olan indirgeme ile değiştirilebilir proteinlerdir.

N. gonorrhoeae, stenoksenöz bakteri olarak adlandırılan, yani tek bir türe, insanlara adapte olmuş bir bakteridir. Her zaman patojendir; sağlıklı insanlarda taşıyıcı olarak bulunmaz. *N. gonorrhoeae* erkek ve kadınlarda genital yollar, rektal ve faringeal mukozalar gibi mukoza zarlarında kolonize olabilmektedir.

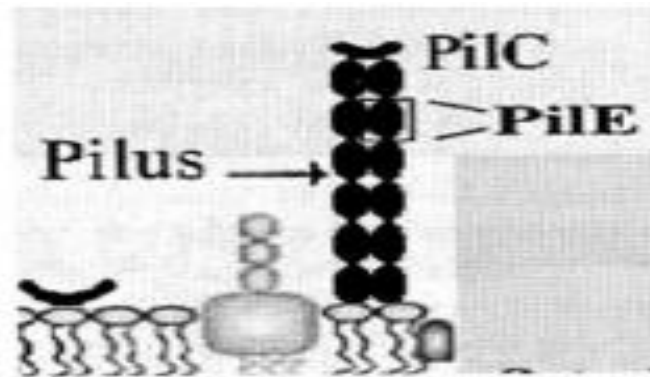
Gonokoklar, konakçısıyla karmaşık bir ilişki geliştirmiştir. Bu bakteri, hem konağı enfekte etmesine hem de bağışıklık tepkisinden kaçmasına olanak tanıyan bileşenlere sahiptir. Gonokok, endositozla nüfuz ettiği epitel hücrelerinin mikrovilluslarına yapışır ve çoğalır, daha sonra bazal membran seviyesinde ekzositozla salınır. Fagositler tarafından opsonizasyonu ve LOS (LipoOligoSakkarit) salınımı sitokinlerin üretimine katkıda bulunur.

2.1. *N. gonorrhoeae* Enfeksiyonunun Mekanizmaları

Gonokokların virülansında; yapışma, hayatta kalma ve çoğalma kapasiteleri, anahtar rol oynamaktadır (Schaechter M ve Medoff G, 1993).

Gonokokların epitel hücrelerinin mikrovilluslarına yapışması pili yoluyla sağlanır (Woods CR,2005). Piluslar, gonokokların yüzeyinde bulunan ve esas olarak aynı alt birimin (polipeptit, pili (veya PilE)) polimerizasyonu ile oluşan filamentli uzantılardır. Sonunda epitel hücrelerine yapışmada görev alan bir PilC proteini bulunur (**Görsel 2.1**) (Nauciel C ve Vildé JL, 2005). Bu yapışma pili'nin glikozilasyonu ile güçlendirilebilmektedir (Ghosh SK vd.,2004).

Görsel 2.1. *N. gonorrhoeae* pilusları (Nauciel C ve Vildé JL., 2005)

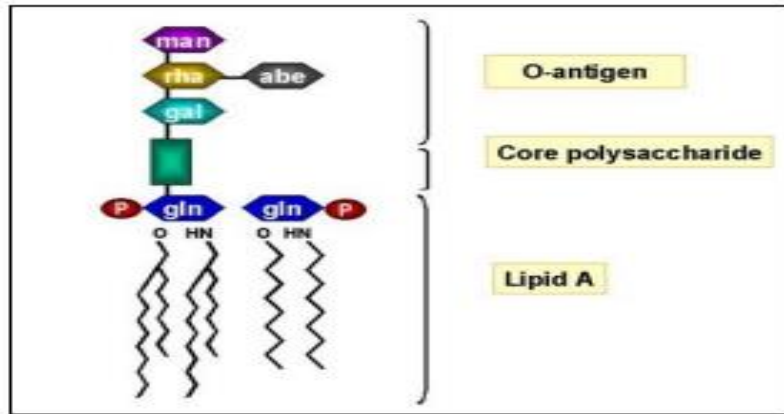


Gonokokların epitel hücrelerine bağlanması, bakterilerin dış zarında bulunan ve kolonileri opak hale getirdiği için bu (**Görsel 2.2**) adlandırılan opaklık proteinleri

(OPA) aracılığıyla da artırılır (Little JW,2006). Bu proteinler, bir faz değişim mekanizmasına, yani yüzey bileşenlerinin ekspresyonuna bağlıdır.

Yapışma aşamasından sonra gonokok, fagositoz vakuelleri içindeki epitelyal hücrelere endositozla alınır (Woods CR,2005). Bu fagositoz adımı özellikle lipopoligosakkarit (LOS) sayesinde olmaktadır. Dış plazma zarının yerleşen *N. gonorrhoeae*'nin LOS'u üç elementten oluşur: lipit A, bir çekirdek ve bir oligosakkarit zinciri (O antijeni). Diğer Gram-negatif bakterilerin (endotoksin) lipopolisakkaritinden (LPS) farklı olarak, O antijenidir. Gonokokların asialoglikoprotein reseptörü (ASGP-R) yoluyla epitelyal hücrelere girmesinde rol oynayan LOS'un oligosakkarit zinciridir (Phillips NJ vd.,2002). Bu zincir, gonokokların dokulara yerleşmesini değiştirebilen spontan suşlar arası ve suşlar arası varyasyonlara sahiptir (Edwards JL ve Apicella MA,2004).

Görsel 2. *N. gonorrhoeae*'nin LOS yapısı (Edwards JL ve Apicella MA,2004)



Gonokoklar hücre içine girdikten sonra, endositik vakuollerle birleşir ve içinde gonokokların çoğaldığı daha büyük vakuoller oluşur (Woods CR,2005). Konakçının epitel hücrelerinde gerçekleşen gonokokların hayatta kalması, LOS'un lipit A'sı sayesinde olmaktadır. Eğer lipit A değiştirilirse, mekanizma açıklanmadan gonokok hücre içi yıkım mekanizmalarına daha duyarlı görünmektedir (Phillips NJ vd.,2002). Böylelikle hücrelerin içinde bulunan gonokoklar serum antikorlarından ve lökositlerden korunmaktadır (Woods CR,2005).

Bakteri yüklü vakuoller epitel bakterileri boyunca taşındıktan sonra bazal membran ile birleşir ve gonokoklar ekzositoz yoluyla subepitelyal bağ dokusuna salınır.

Eğer bakteri konağın savunma mekanizmalarından kaçarsa, lokal inflamasyonun veya kan yoluyla yayılan bir enfeksiyon başlamaktadır.

Gonokok istilasına yanıt olarak konağın bağışıklık savunması devreye girmektedir, ancak farklı mekanizmalar *N. gonorrhoeae*'nin bu bağışıklık tepkisini önlemesine, atlatmasına veya kaçırmasına neden olabilmektedir. Dolayısıyla belirli sayıda bakteri, eğer enfeksiyon tedavi edilmezse insan vücudunda uzun süre kalabilir (Schaechter M vd.,1993 ve Woods CR,2005). Öte yandan, kadın ve erkek arasındaki semptom farklılıkları, iki cinsiyet arasında bağışıklık savunma mekanizmalarında bazı farklılıklar olduğunu düşündürmektedir.

2.2. Enfeksiyona Karşı Oluşan Doğal Bariyerler

Enfeksiyona karşı ilk bariyer, sekresyonlarında lizozim, laktoferrin ve IgA içeren ve kadınlarda esas olarak laktobasillerden oluşan ortak bir florayı barındıran mukozanın kendisidir (Nauciel C vd., 2005).

Lizozim, nötrofiller ve monositler tarafından salgılanan, bakteriyel peptidoglikanı parçalayabilen ve spesifik olmayan bir opsonin gibi davranarak lökositler tarafından fagositozu kolaylaştırabilen bir enzimdir. Gram-negatif bakteriler ise dış zarları sayesinde bu enzimin litik etkisine genellikle dirençlidirler (Nauciel C vd., 2005).

Laktoferrin, bakterileri büyümeleri için gerekli olan demirden mahrum etme yeteneği sayesinde bakteriyel enfeksiyonlara karşı koruma sağlayan bir demir şelatlayıcı moleküldür. Bu savunma mekanizmasını aşmak için gonokok, transferrin ve laktoferrin için demir çıkarabilen reseptörlere sahiptir (LiMaye AR,2003).

Mukoza zarlarından salgılanan IgA da patojenleri yakalayarak koruyucu bir role sahiptir. Gonokok, IgA proteazları üretir ve dolayısıyla bu antikörleri parçalama yeteneğine sahiptir (LiMaye AR,2003).

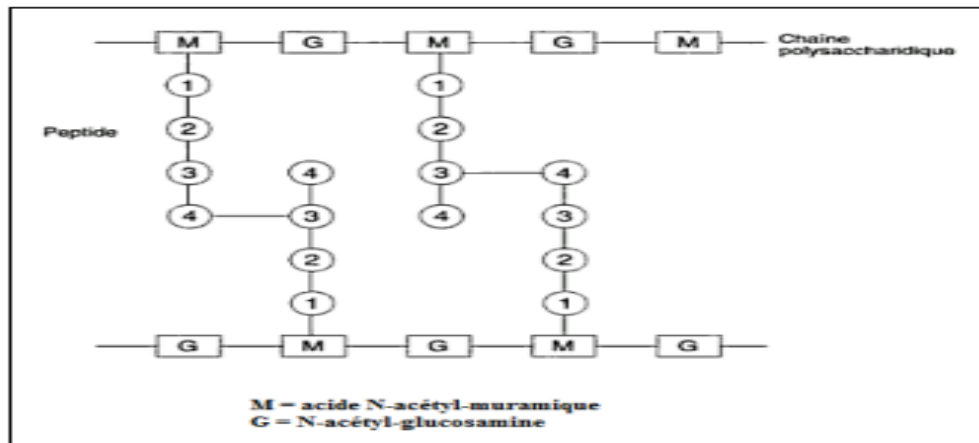
Genital sistemin komensal florasının çoğunluğunu oluşturan laktobasiller vajinal epitel hücrelerine erişimi engeller ve endoserviks kadar bir bariyer oluşturur ; böylece gonokokların yapışmasını neredeyse %50 oranında azaltır. Öte yandan, laktobasiller, halihazırda hücrelere yapışık olan gonokokların yerini alabilecek kapasitededir, bu da onların maruziyet sonrası profilaktik ajan olarak potansiyelini ortaya koymaktadır. Son

olarak laktobasiller, uygun olmayan asidik pH'ın korunmasına yardımcı olan laktik asit ve gonokoklar için toksik olan hidrojen peroksit (H_2O_2) üretir. Bu gözlemler, bakteriyel vajinozisli, yani bakteriyel floranın anaerobik flora lehine ve H_2O_2 salgılayan laktobasillerin aleyhine dengesizliği olan kadınların, maruziyet sonrasında gonore gelişimine karşı artan bir duyarlılığa sahip olduğu gerçeğini açıklayabilir (Spurbeck RR vd.,2008) (St Amant DC vd.,2002).

2.3. İnflamatuvar Sitokinlerin Üretimi

Bakterilerin subepitelyal boşluğa nüfuz etmesi ve çoğalması, hücrelere zarar veren ve nötrofillerin kemotaksisine katılan, başta TNF (Tümör Nekroz Faktörü) ve interlökin-8 (IL-8) olmak üzere proinflamatuvar sitokinlerin sentezini indükler. Bu sitokinlerin sentezine LOS ve peptidoglikan fragmanları aracılık etmektedir. Gonokokal LOS, subepitelyal boşluktaki makrofajlar tarafından TNF üretimini uyararak bakterisel hasara neden olabilir. Peptidoglikan, bakterisel bütünlüğün korunmasını sağlayan bakteri duvarını oluşturur. Gonokok gibi Gram negatif bakterilerde peptidoglikan incedir ve iki plazma zarı arasına gömülüdür. NAM (N-asetil-muramik asit) ve NAG'dan (N-asetilglukozamin) oluşan ve peptit köprüleriyle birbirine bağlanan polisakkarit zincirlerinden oluşur. Peptidoglikanın sentezine ve kalıcı olarak yeniden düzenlenmesine piruviltansferaz, transglikosidaz, transpeptidaz, karboksipeptidaz vb. çeşitli enzimler katılır. Bakteriyel büyüme sırasında, peptidoglikan fragmanları bu enzimlerin etkisiyle üretilir, salınır ve inflamatuvar sitokinlerin üretimini indükleyerek peptidoglikanın patogeneze katkıda bulunur (Cloud-Hansen KA vd.,2008) .

Şekil 2. 1.Peptidoglikanın yapısı (Nauciel C vd., 2005).



İnflamatuvar sitokinler, hücrel hasarın yanı sıra nötrofillerin akışından da sorumludur. Kadınların servikal epitelinde bu sitokinlerin sentezinin olmaması ve dolayısıyla pürülan akıntının olmaması, kadınlarda semptomların yokluğunu açıklayabilir, ancak bu hipotez hala araştırılmaktadır (Edwards JL ve Apicella MA, 2004).

2.3.1. Nötrofillerin fagositozu

Gonokokların nötrofiller tarafından fagositozu, dış zar proteinleri olan Opa proteinleri sayesinde mümkün olur. Bu durum, *Neisseria gonorrhoeae* diplokoklarını içeren lökositlerden oluşan, enfekte olmuş dokulardan sızan pürülan materyalin oluşumuna yol açar. Bakterilerin yüzeyinde bu proteinlerin bulunmadığı bakteriler fagosit edilemez ve bu nedenle sıklıkla yaygın enfeksiyonlarla ilişkilendirilir (Spurbeck RR ve Arvidson CG 2008). Öte yandan gonokok, bu fagositozdan kurtulmak için fagositoz yapan hücrelerin ulaşmadığı hücre içi boşluğun mümkün olduğu kadar çoğunu işgal eder. Bununla birlikte, eğer gonokok fagositozdan kaçamamışsa, fagositoz yapan hücreler hayatta kalabilmek için IgA proteazları ve porinleri kullanırlar. Aslında IgA proteazlar, endozomların ve lizozomların olgunlaşmasında rol oynayan bir membran proteinini parçalayarak gonokokların hücre içinde hayatta kalmasında rol oynar. Ancak gönüllüler üzerinde yapılan bir çalışmada, IgA proteazları salgılamayan gonokok türlerinin hala üretrite neden olabildiği gösterilmiştir (Phillips NJ vd.,2002).

Ayrıca, genellikle küçük moleküllerin bakterinin dış zarı boyunca geçişine izin veren zar-ötesi proteinler olan porinler, gonokok enfeksiyonu durumunda, konakçı hücrelerin zarında yer değiştirebilir ve burada zar-ötesi kanallar oluşturabilir. Bu kanallar daha sonra nötrofiller gibi bağışıklık hücreleri içindeki kalsiyum akışını bozarak, bunların degranülasyonuna ve fagozomların olgunlaşmasına da neden olabilmektedir (Woods CR,2005). Gonokoklarda tanımlanan ve protein I olarak da adlandırılan porinler protein IA ve protein IB olmak üzere iki ana alt tipe ayrılmaktadır (Avril JL vd.,2000).

2.3.2. Kompleman aktivasyonu

Bakterilerle özellikle LOS temas ettiği zaman kompleman aktive olarak aşağıdaki durumların oluşmasını tetikler:

- Membran saldırı kompleksinin oluşmasıyla bakteriyel lizis,

- Bakteri üzerinde biriken inaktive edilmiş C3 ile fagositlerde bulunan kompleman reseptörü (CR3) arasındaki etkileşim yoluyla gonokokun opsonizasyonu,

- Lökositleri mast bakterileri yoluyla çeken inflamatuvar bir yanıt (Nauciel C vd., 2005).

Belirli kompleman fraksiyonlarında (C5b, C6, C7, C8, C9) eksikliği olan kişiler aynı zamanda yaygın gonokok enfeksiyonlarına karşı da daha büyük bir duyarlılığa sahiptir. Dolayısıyla böyle bir enfeksiyonu olan hastaların %13'e kadarında kompleman eksikliği vardır. Endoserviks ve ektoservikste CR3'ün varlığı, kadınlarda gonokok enfeksiyonlarının asemptomatik doğasını kısmen açıklayabilmektedir. Aslında, gonokok yüzeyindeki inaktif C3b yoluyla CR3'ün aracılık ettiği endositoz, bakterilerin servikal epitel hücrelerinin içine yerleşmesine ve bunun nötrofil akışı olmadan ortadan kaldırılmasına neden olur, böylece gonokokal servisit asemptomatik olmasına katkıda bulunur. CR3 aynı zamanda enfeksiyonların sıklıkla asemptomatik olduğu anorektal mukozada da eksprese edilirken, enfeksiyonların fazla olduğu erkeklerin üretral epitelinde eksprese edilmez (Edwards JL ve Apicella MA, 2004).

2.3.3. Spesifik antikorların üretimi

Bazı gonokok antijenleri immünojeniktir ve humoral bir immün tepkiye ve spesifik antikorların salgılanmasına neden olur. LOS, porin (protein I) ve pili için durum bu şekilde gerçekleşmektedir. Bakterilerin bu antikorlardan kaçmak için farklı mekanizmaları vardır. Dolayısıyla LOS'un oligosakarit zinciri, insan glikosfingolipidlerini taklit eden epitoplarda sona erer ve bu nedenle artık konakçı antikorlar tarafından tanınmaz (Edwards JL ve Apicella MA, 2004).

Gonokok porinleri açıkta kalan yüzeylerinde değişken bölgelerden oluşur. Bu antijenik değişkenlik onların antikorlardan kaçmasına neden olmaktadır (Derrick JP vd., 1999). Pilus ise, gonokok ya onları eksprese etmemeye (bu faz değişimidir) ya da antijenik ekspresyonunu değiştirmeye (bu antijenik varyasyondur) izin veren iki varyasyon sistemine sahiptir. Faz değişimi çoğunlukla pilC genini inhibe eder ve pilinin polimerizasyonu için gerekli olan PilC proteininin üretimini engeller (Ghosh SK vd., 2004). Antijenik varyasyona, gonokokal kromozomda pili geninin bir veya bazen iki kopyasının yanı sıra genin en az altı ila sekiz sessiz kopyasının (yukarı yönde düzenleyici sinyaller olmadan) varlığıyla izin verilmektedir. DNA rekombinasyonu ile sessiz bir kopya, ifade edilmek üzere tam bir gen içinde hareket ettirilebilir. Bu olası

DNA rekombinasyonları ve nokta mutasyonlarının ortaya çıkışı, gonokok tarafından üretilen pili antijenlerinin sayısının çok yüksek olduğunu ve bu pililere karşı yönlendirilen antikorların gonokoklara karşı koruyucu olmadığını açıklamaktadır (Nauziel vd.,2005; Schaechter M vd.,1993).

2.4. Patojenite

Erkekler ve kadınlar arasındaki gonokokal ürogenital enfeksiyonlar semptomato loji açısından büyük farklılıklar göstermektedir, ürogenital enfeksiyonlar erkeklerde semptomatik olsa da kadınlarda sıklıkla asemptomatiktir.

Erkelerde ; üretrit klasik olarak gonokokal ve gonokokal olmayan üretrit olarak ikiye ayrılır. Gonokokların dışında üretritten sorumlu diğer patojenler *Chlamydia trachomatis*, mikoplazmalar (*Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum*) ve *Trichomonas vaginalis*'dir (Dominique S vd.,2004).

Neisseria gonorrhoeae, agresif semptomları nedeniyle halk dilinde "sıcak işemek" olarak adlandırılan bel soğukluğundan sorumludur. Akut ön üretrite ağırlı dizüri, vakaların %90'ında üretral kaynaklı pürülan akıntı, doku iltihabı ve bazen de balanit eşlik eder. Bu semptomlar, *Chlamydia* enfeksiyonlarının bir ila iki hafta süren süresinden daha kısa olan, iki ila yedi günlük sessiz ve bulaşıcı bir kuluçka döneminden sonra ortaya çıkar. Üretrit ayrıca subakut (vakaların %5 ila 15'inde) ve bazen asemptomatik (vakaların %10'undan azında) olabilir (Dominique S vd. 2004).

Doğru tedavi edildiğinde üretral akıntı 12 saat içinde kaybolur. *Chlamydia trachomatis* için eş zamanlı tedavi başlatılmazsa berrak, orta akıntı devam edebilir. Bu durum, *Chlamydia trachomatis* enfeksiyonu gibi tedavi edilmesi gereken postgonokokal üretrittir (Dominique S vd.,2004). Tedavi edilmezse belirgin iyileşme 15 gün ile 6 ay arasında gerçekleşir. Bu durumda komplikasyonlar artmaktadır. Bununla birlikte, genellikle asemptomatik olan enfeksiyonun kadınlara göre daha az tedavi edildiği görülmektedir. Ürogenital komplikasyonlar periüretrit, prostatit veya epididimitten oluşur. En sık görülen komplikasyon olan periüretrit, abse oluşumuna ve üretral fibrozun stenoza doğru ilerlemesine neden olabilir. Prostatit hasarı idrar sıklığı ve dizüri ile sonuçlanabilir. Tedavi edilmezse prostatit apseye kadar ilerleyebilir.

Genital sistemin (vas deferens, epididimis) retrograd kontaminasyonu epididimite yol açabilir. Bu yayılma, belirli uygun koşullar mevcut olduğunda enfekte

idrarın boşalma kanallarına geri akışı sayesinde gerçekleşebilir, arka üretra ve veru montanum iltihabı, adenomektomi veya prostat rezeksiyonu, alt idrar yolunda engel oluşturmayla sonuçlanabilir. Epididimit, akıntı ve dizüri olmadan tek taraflı testis ağrısı olarak ortaya çıkar, hasta ateşli olabilir veya olmayabilir. Muayenede epididimis palpasyonla şişmiş ve gergindir. Epididimit kısırlık ve testiküler atrofiden sorumlu olabilir (Avril JL vd., 2000 ve Krause W. 2008).

Kadınlarda; *Chlamydia trachomatis* ve *Neisseria gonorrhoeae* servisitinin önemli nedenlerindendir ancak diğer patojenler de serviste neden olabilir (*Trichomonas vaginalis*, genital herpes (özellikle HSV2), vajinoza karışan mikroplar (*Gardnerella vaginalis*, *Mobiluncus*, vb.) ve mikoplazmalar gibi). Bu patojenlerin neden olduğu servisitinin çoğunluğunda belirgin klinik semptomlar görülmez (Judlin PG vd.,2009) (Marazzo JM vd.,2007). *Neisseria gonorrhoeae* kadınlarda serviste neden olur, vakaların %70 ila 90'ında eşlik eden üretrit ile birlikte genellikle klinik olarak sessizdir. Servisit, mukopürülan akıntıya, serviksten kolaylıkla indüklenebilen kanamaya veya servikal ödeme neden olabilir. Bazen kokusuz lökositöz, muhtemelen kanlı, disparoni ve daha nadir olarak karın ağrısı görülür. (Avril JL vd.,2000) (Marazzo JM vd.,2007). Belirgin olmayan belirtilerinden dolayı, daha az sıklıkla tedavi edilen kadınlar, asendan genital komplikasyonlara daha fazla maruz kalırlar (vakaların %10 ila 20'si). Üst genital enfeksiyon uterusla sınırlı olabilir (endometrit) veya salpenjite de neden olabilir. Üst genital enfeksiyonların akut komplikasyonları pelvik abseler (piyosalpenks, yumurtalık absesi veya Douglas absesi) ve pelviperitonittir. Semptomları genellikle oldukça karakteristik olan (ateş ve belirgin pelvik ağrı, geçiş bozuklukları) pelvik abseler arasında en sık görülen form piyosalpenkstir. Üst genital enfeksiyonların sonraki etkileri ektopik gebeliklerden, kısırlıktan ve kronik pelvik ağrıdan sorumludur (Judlin PG vd.,2009; Pellati D vd.,2008).

Hamilelikte ise ; gonokok hamile kadınlarda aynı enfeksiyonlardan (servisit, üretrit vb.) sorumludur. İlk üç aylık dönemde edinilen bu enfeksiyonlar, yüksek oranda spontan düşük riski taşır. 16 hafta sonra koryoamniyonit gelişebilir. *Neisseria gonorrhoeae* enfeksiyonu aynı zamanda erken doğum ve erken membran yırtılması riskinin yanı sıra doğum sonrası enfeksiyon riskini de artırır (Levens E,2003). Tedavi edilmemiş gonokok enfeksiyonu olan kadınlarda erken doğum riskinin %14-23 arasında olduğu ve fetal ölüm oranının da %33 olduğu tahmin edilmektedir(HAS,2009).

2.4.1. Anorektal enfeksiyonlar

Bu tür enfeksiyonların ortaya çıkışı cinsel davranıştaki değişikliklerle açıklanmaktadır. Kadınlar veya eşcinsel erkeklerde görülebilmektedir. Vakaların üçte ikisinde anorektal tutulum asemptomatiktir. Ancak anal kaşıntıya veya pürülan anal akıntıyla birlikte anitise yol açabilir. Bazen irin kaplı dışkı, ishal, anal kanama, perineal ağrı ve eksik dışkılama hissi tarif edilmektedir (Halioua B vb., 2006). Anoskopi, proktit ile ilişkili, temas halinde kolayca kanayan hassas bir rektal mukozayı ortaya çıkarabilir. Tedavi edildiğinde proktit genellikle çok az etki bırakır (Dominique S vd.,2004). Tedavi edilmediği takdirde anorektal enfeksiyonlar yaygın enfeksiyonların başlangıç noktası olabilir.

2.4.2. Faringeal enfeksiyonlar

Belsoğukluğu olan kişiler arasında faringeal enfeksiyonlar kadınların %5-10'unu ve heteroseksüel erkeklerin %5'ini etkilemektedir. Ayrıca partneri enfekte olan eşcinsellerin %10-20'sini de etkilemektedir (Little JW,2006). Çoğunlukla asemptomatiktirler, eritem veya bademcik iltihabıyla ortaya çıkarlar (Servikal lenfadenopati de mevcut olabilir) (Avril JL,2000). Çoğu faringeal enfeksiyon, tedavi gerektirmeden birkaç hafta içinde kendiliğinden iyileşir ve genellikle herhangi bir sonradan etkiye neden olmaz. Ancak enfeksiyonun yayılmasını önlemek için tedaviye başlanmalıdır (Miller KE. 2006).

Görsel 2. 3.*Neisseria gonorrhoeae* farenjit (Little JW,2006).



2.4.3. Göz enfeksiyonları

Erişkin konjonktiviti nadir görülmektedir. Vakaların çoğu, bir genital enfeksiyonun ardından ortaya çıkar ve daha sonra kontamine idrar veya genital sekresyonlarla temas yoluyla kendi kendine bulaştırmadan kaynaklanır. Kuluçka 3-19 gün sürer. *Neisseria gonorrhoeae* konjonktiviti irinli akıntıya neden olur. Bu durum, sıkı bakım gerektiren terapötik bir acil durumdur. Uygun tedavi olmadığında hızla ilerleyebilir ve 24 saatten daha kısa sürede oküler perforasyona neden olabilir (Quirke M ve Cullinane A.2008).

2.4 4.Yaygın enfeksiyonlar

Yaygın enfeksiyonlar çok nadirdir (belsoğukluğunun %1-3'ü) ve gonokokların kan geçişinden kaynaklanmaktadır. Genital, rektal, faringeal, oküler gibi yerlerden kaynaklanırlar. Yaygın enfeksiyonlara ilişkin risk faktörleri bakterilerle (Opa proteinleri eksik olan suşlar) veya konakçıyla (komplemanı eksik olan kişiler) bağlantılıdır. Diğer risk faktörleri ise şunlardır ; bağışıklık sisteminin baskılanması (hamilelik, alkolizm, uyuşturucu bağımlılığı, HIV, vb.) ve asemptomatik (tedavi edilmemiş) birincil enfeksiyonlar (Dal Conte I vd.,2006 ve LiMaye AR. 2003). Klinik olarak yayılmış enfeksiyonlar iki ana forma ayrılmaktadır. Birincisi; subakut gonokokal septisemi (vakaların %60'ı), tenosinovitli akut febril poliartrit gibi gelişir ve tercihen etkilenen eklemlerin yakınında yer alan, sıklıkla purpurik ve nekrotik papülopüstüllerden oluşan deri lezyonları eşlik eder. Bu cilt lezyonları 4 ila 5 gün içinde kendiliğinden kaybolur (Bardin ve Levens E. 2003). İkincisi ise; ateşli olmayan septik artrit bunu takip eder veya hemen ortaya çıkar. Genellikle de irinli bir efüzyonun olduğu büyük bir eklemi (omuz, dirsek, diz vb.) etkiler. İyileşme, fonksiyonel prognoz tedavinin erkenliğine bağlıdır (Ghosn SH vd., 2004 ve Levens E.2003). Diğer sistemik belirtiler istisnaidir: menenjit, endokardit, osteit, glomerülonefrit, vb (LiMaye AR, 2003).

Görsel 2.4.Yaygın *Neisseria gonorrhoeae* enfeksiyonundan kaynaklanan deri lezyonları (Little JW,2006).



2.4.4.1.Çocuklarda ve yenidoğanlar

Çocuğun yaşına bağlı olarak Neisseria gonorrhoeae'nin bulaşma kaynağı değişiklik gösterir. Yenidoğan döneminde anne genital yolundan geçiş sırasında bulaşma meydana gelir, ancak bu dönemden sonra genellikle cinsel istismar nedeniyle olur.Yenidoğan enfeksiyonları, bunlar çoğunlukla yenidoğan konjonktivitidir. Bu dönemde daha nadir enfeksiyonlar da ortaya çıkabilir. Yenidoğan konjonktivite, kontaminasyon, çocuk annenin genital yolundan geçtiğinde meydana gelir. Kuluçka süresi 2-5 gün olmakla birlikte vakalar doğumdan 2-3 hafta sonra ortaya çıkar. Yenidoğanda sıklıkla iki taraflı ve mukopürülan akıntıyla birlikte (Görsel 2.5.) konjonktivite neden olur ve tedavi edilmezse korneada ülserasyonlara, göz küresinin delinmesine ve körlüğe yol açabilir (Woods CR,2005). Yenidoğan gonokokal konjonktiviti, doğumda antibiyotikli göz damlalarının (rifampisin, eritromisin veya tetrasiklin) sistematik olarak damlatılmasından bu yana nadir hale gelmiştir (Woods CR,2005). Yenidoğan sonrası enfeksiyonlarda ise; yenidoğan döneminden sonraki yeni gonokok enfeksiyonlarının neredeyse tamamı cinsel istismardan kaynaklanmaktadır (Miller KE,2006). Ancak literatürde Neisseria gonorrhoeae'nin cinsel olmayan yolla bulaştığı vakalara da rastlanmaktadır (Goodyear-Smith ve J Forensic Leg 2007). Çocuklarda cinsel olmayan kökenli gonokok enfeksiyonları nadirdir, ancak özellikle konjonktivit olmak üzere vakalar tanımlanmıştır. Özellikle aşırı kalabalık ve hijyen eksikliği koşullarında bulaşma araçları eller, havlular, çarşaflar ve rektal termometreler le olabilmektedir (Goodyear-Smith ve J Forensic Leg 2007).

Görsel 2.5. *Neisseria gonorrhoeae*'nin neden olduğu yenidoğan konjonktiviti (Woods CR,2005).



2.5. Epidemiyoloji

Uzun zamandır en yaygın cinsel yolla bulaşan hastalık (CYBE) olarak kabul edilen bel soğukluğu artık yerini *Chlamydia trachomatis* enfeksiyonlarına bırakmıştır. Ancak *Neisseria gonorrhoeae* enfeksiyonları hala bir halk sağlığı sorunu olmaya devam etmekte ve sanayileşmiş ülkelerde son yıllarda artış göstermektedir. Bazı ülkelerde (ABD, Kanada vb.), CYBE'ler den bel soğukluğu bildirilmesi zorunlu hastalıklardan biridir. Öte yandan, diğer ülkelerde (Büyük Britanya vb.) olduğu gibi Fransa'da da 2000 yılından bu yana beyanda bulunmak artık zorunlu değildir. Esas olarak cinsel temasla bulaşan bir hastalık olan bel soğukluğu perinatal yolla da bulaşabilir. Enfekte bir kadından erkeğe bulaşma riski tek bir cinsel ilişkide yaklaşık %20 iken, dört veya daha fazla cinsel ilişkide risk %60-80 kadar yüksek olabilir. Erkekten kadına bulaşma riski tek bir cinsel ilişkide %50, üç veya daha fazla cinsel ilişkide ise %90'dan fazladır. Rektal ilişki önemli bir bulaşma yolu olmasına rağmen oral seks yoluyla bulaşma yolu çok zayıftır. Her iki cinsiyette de partner ve ilişki sayısı arttıkça enfeksiyonun gelişme ve yayılma riski de artar (Sparling P.F vd., 2000). Farklı gruplar arasında daha az gonore görülme oranları farklılık gösterir. 24 saate kadar bu durumda herhangi bir risk yoktur ve olası bir hasar riski de bulunmamaktadır. Eşinde bel soğukluğu olduğu bilinen erkeklerde yapılan çalışmalarda asemptomatik enfeksiyon oranı %40,79-%90 arasında değişmektedir. Bu olayların farklı nedenleri bulunmaktadır (Ağaçfidan A ve Özden A 1999). *N.gonorrhoeae*'nin ana bulaşma yolunu oluşturan her türlü cinsel ilişki dışında; cinsel istismar ve enfekte anneden doğum sırasında olabilen bulaşmadır. Bel

soğukluğunun enfekte bir kadından bir kez seks yapan bir erkeğe bulaşma oranı %35, enfekte bir erkekten yalnızca bir kez seks yapan bir kadına bulaşma oranı ise %50 olarak rapor edilmiştir. Taşıyıcı tespiti ve uygun tedavi en önemli kontrol yöntemlerindendir (Gürel M ve Cengiz A.T.,2004).

2.6. Antibiyotik duyarlılığı

Neisseria gonorrhoeae, birçok antibiyotiğe doğal olarak duyarlı bir bakteridir, ancak aynı zamanda kazanılmış direnç mekanizmaları, plazmit veya kromozomal destek geliştirme konusundaki gelişmelerde tedaviyi şekillendirmektedir.

2.6.1. Doğal Direnç

Neisseria gonorrhoeae doğal olarak glikopeptidlere, linkozamidlere, trimetoprim ve polimiksinlere karşı dirençlidir. Bu doğal dirençler esas olarak bakterilerin yapısıyla açıklanmaktadır. Aslında bazı moleküller gonokokların dış zarını geçemeyecek kadar büyüktür. Bu doğal direnç, seçici ortamlarda kullanılan antibiyotik takviyelerini tanımlamak için kullanılır (VCAT veya VCN çikolata agar). Bununla birlikte, %5 vankomisine duyarlı mutant suşlar mevcut olduğundan, seçici besiyerine paralel olarak PolyViteX çikolata agar veya IsoVitaleX gibi seçici olmayan bir besiyerine aşılması gerekir (Courvalin P vd.,2006) (Mérens A vd., 2009).

2.6.2. Kazanılmış Direnç

Neisseria gonorrhoeae'nin antibiyotiklere karşı kazandığı direnç kıtalara ve ülkelere göre değişmekle birlikte giderek dünya çapında yayılmaktadır. Direncin bu yayılımı, Batı Avrupa'daki Euro-GASP (Avrupa Gonokokal Antimikrobiyal Gözetim Programı) gibi çeşitli programlar sayesinde dünya çapında izlenmektedir (Martin IMC vd.,2006).

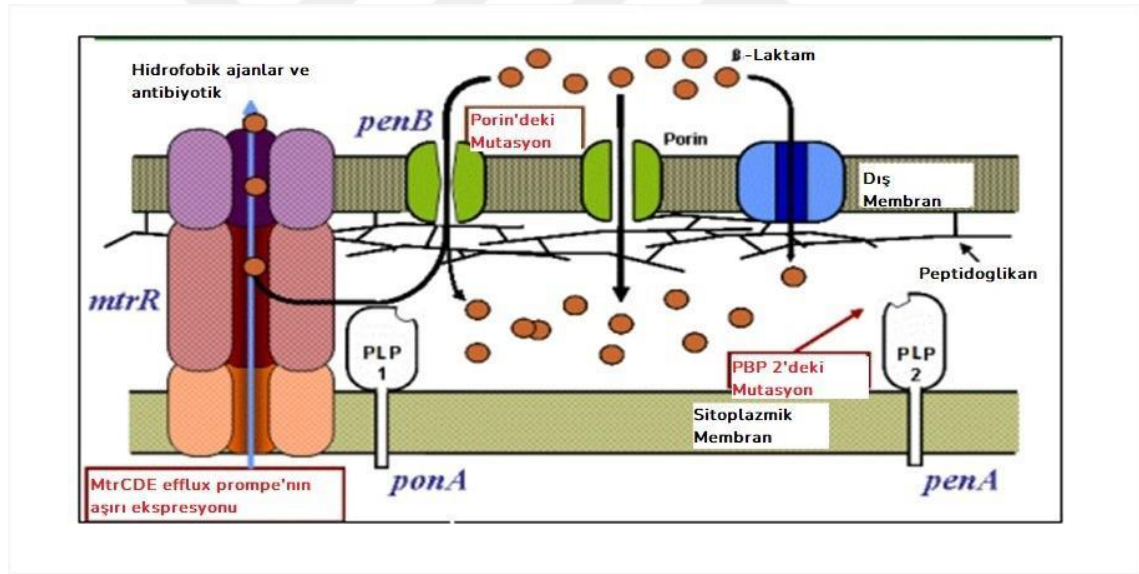
2.6.3. Beta-Laktamlara Karşı Direnç

1980'lerin ortalarına kadar penisilin G belsoğukluğu tedavisinde birinci basamak tedavi olarak kullanılmıştır. Ancak bu antibiyotiğin seçim baskısı, penisilin G'ye dirençli gonokok türlerinin ortaya çıkmasına neden olmuş ve kullanımının durdurulmasını zorunlu olmuştur. Ortaya çıkan iki direnç mekanizması kromozomal mutasyonlar ve plazmid penisilinaz edinimidir (Vernel-Pauillac F vd.,2008).

2.6.4. Kromozomal mutasyonlar yoluyla

Çoğu zaman birbirleriyle ilişkili olan birden fazla mekanizmayı içemektedir (Görsel 2.6.). Bunlardan birincisi; *Neisseria gonorrhoeae*, PLP1 (ponA geni) ve PLP2'nin (penA geni) bir veya her iki temel PLP'sinde değişiklik. PLP2 mozaigi oluşturan penA genindeki değişiklikler, sefiksim ve seftriakson duyarlılığını azaltmıştır. PI porinin (penB geni) tetrasiklinler ve daha az ölçüde leskinolonlar gibi diğer antibiyotik aileleriyle çapraz dirence yol açan bir modifikasyonu durumudur. İkincisi ise; mtrR genindeki veya promotöründeki mutasyonlarla bağlantılı, makrolidler ve daha az ölçüde kinolonlar veya tetrasiklinler gibi diğer antibiyotik ailelerini etkileyen MtrCDE akış sisteminin aşırı ekspresyonudur (Mérens A vd.,2009; Vernel-Pauillac F vd.,2008).

Görsel 2.6. *Neisseria gonorrhoeae*'nin beta-laktamlara karşı kromozomal direnç mekanizmaları (http-2).



2.6.5. Plazmid penisilinazın edinilmesiyle

Penisilin G'ye karşı yüksek düzeyde direnç sağlarlar (MİK 1-64 mg/L'den fazla) ve amino, karboksi ve üreido-penisilinleri etkisiz hale getirirler. Beta-laktamların aktivitesi, bir beta-laktamaz inhibitörü ile birleştirildiğinde eski haline döner ancak bu kısmi restorasyon klinikte yetersiz kalmaktadır. İkinci (sefuroksim, sefpodoksim) ve üçüncü kuşak sefalosporinler (sefiksim, seftriakson, sefotaksim, seftazidim) aktif kalır (Mérens A vd.,2009).

2.6.6. Siklinlere Karşı Direnç

Tüm siklinler *Neisseria gonorrhoeae* üzerinde karşılaştırılabilir aktivitelere sahiptir, antibiyogramda test edilen tetrasiklin, doksisisiklin ve minosikline karşı yanıt verirler. Geçmişte belsoğukluğu tedavisinde kullanılmışlardır, ancak bu antibiyotiklere karşı direnç geliştiği için artık önerilmemektedirler. Siklinlere karşı direnç, ya plazmid kökenlidir ya da kromozomal kökenlidir (Mérens A vd.,2009).

2.6.7. Kinolonlara ve Florokinolonlara Karşı Direnç

Penisilinlere ve siklinlere karşı direncin gelişmesi, belsoğukluğunun birinci basamak tedavisinde florokinolonlar lehine bir değişikliğe yol açmıştır. Ancak bunların kullanımı 1990'lı yıllarda Asya'da dirençli suşların ortaya çıkmasına neden olmuştur ve bu durum o bölgede izole edilen suşların %80'inden fazlasında görülmüştür. Bu dirençli türler Okyanusya, Kaliforniya'ya, ardından Batı Avrupa'ya yayılmıştır (Le Lin B vb., 2008).

2.6.8. Makrolidlere Karşı Direnç

Makrolidler gonore tedavisinde nadiren kullanılır, çünkü *Neisseria gonorrhoeae*'ye karşı orta derecede aktiviteye sahiptirler, ancak azitromisin (en düşük MİK 2 g gibi) yüksek bir dozda etkilidir ancak sık sık sindirimle ilgili yan etkilere neden olmaktadır. Azitromisine duyarlılığı veya direnci azalmış suşlar 2003 yılında İspanya ve Birleşik Krallık'ta tanımlanmış olup, bazı Avrupa ülkelerinde (özellikle İskoçya'da) giderek artan bir şekilde gözlemlenmektedir (Courvalin P vb.,2006; Mérens A vb.,2009). Bu direnç gelişimi, azitromisinin çeşitli enfeksiyonlarda ve özellikle *Chlamydia trachomatis* enfeksiyonu vakalarında klinisyenler tarafından yaygın olarak reçete edilen uzun yarı ömürlü bir antibiyotik olmasıyla açıklanmaktadır. Bununla birlikte, klamidya hastası bir hastada *Neisseria gonorrhoeae* ile ko-enfeksiyon mevcutsa, azitromisin gonokoklar üzerinde seçim baskısına neden olmaktadır (McLean C vb., 2004). Kazanılan direnç ya düşük düzeydedir, yani esas olarak MtrCDE akış sisteminin aşırı ekspresyonuna bağlıdır, ya da yüksek düzeydedir, ERM genleri tarafından kodlanan metilazların üretimine bağlıdır. Bu metilazlar spesifik metilasyon yoluyla etki eder. 23S rRNA ve makrolidlerin, linkozamidlerin ve streptogramin B'nin ribozomal hedefe olan afinitesini azaltır (Mérens A vb.,2009).

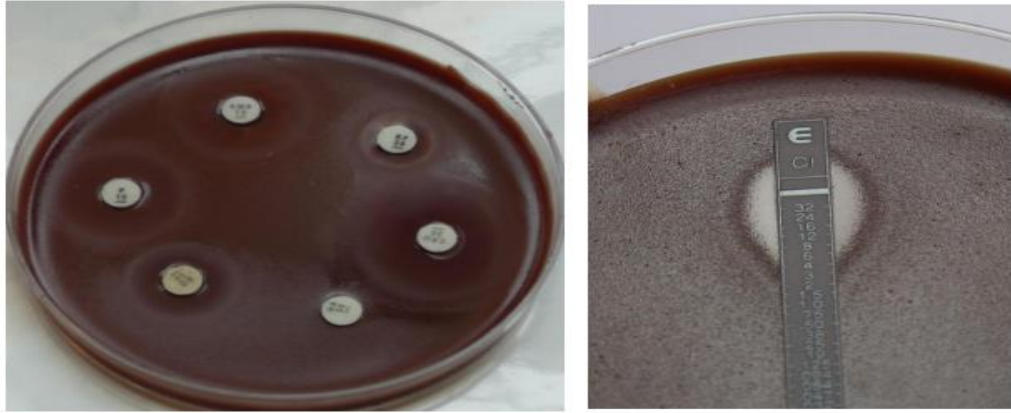
2.6.9. Diğer Antibiyotiklere Karşı Direnç

Belsoğukluğu tedavisi için ayrılmış bir aminoglikozid olan spektinomisin, 15 yaşın üzerindeki yetişkinlerde (hamile kadınlar hariç) sefalosporinlere karşı alerji vakalarında kullanılır. *Neisseria gonorrhoeae*'nin bu antibiyotiğe karşı direnci, 1973'ten beri Amerika Birleşik Devletleri, Kanada, Latin Amerika ve bazen de Avrupa'da (Danimarka) tanımlanan suşlara karşı görülmüştür, genel olarak nadirdir ve Fransa'da gözlemlenmemiştir. Bu durum bakteriyel ribozomun 30S alt biriminin değiştirilmesi mutasyonlarından kaynaklanmaktadır.(Courvalin P vb.,2006; Mérens A vb.,2009). Tek doz tiamfenikol belsoğukluğu tedavisinde uzun süredir başarıyla kullanılmaktadır. Yüksek düzeyde dirençli suşlar istisnai kalsa da, kloramfenikol duyarlılığı azalan suşların sıklığı 1998'de Fransa'da yaklaşık %20'ye ulaşmıştır. Ayrıca, beta-laktamlara karşı kromozomal direnç ile fenikollere karşı duyarlılığın azalması arasında güçlü bir korelasyon vardır (Courvalin P vb.,2006; Mérens A vb.,2009).

2.6.10. Antibiyogram

Dirençli gonokok suşlarının ortaya çıkması göz önüne alındığında, Beta-laktamaz testine ek olarak sistematik olarak tam bir antibiyogram yapılması da gereklidir. Bu testler, sefinaz ile kromojenik test yoluyla veya API NH® ile gerçekleştirilir. *Neisseria gonorrhoeae* antibiyogramı için CA-SFM standart bir liste önermektedir. Test edilecek antibiyotiklerin (penisilin G veya amoksisilin, seftriakson, spektinomisin, tetrasiklin ve nalidiksik asit) kazanılmış ana direnç mekanizmalarının tespit edilmesinde gerekli olduğu bildirilmiştir. Bu antibiyotiklere ek olarak, siprofloksasin (veya ofloksasin), azitromisin ve kloramfenikol çoklu dirençli suşlar veya epidemiyolojik sürveyans için kullanılan antibiyotikleri içermektedir. Dirençli gonokok suşlarının ortaya çıkması göz önüne alındığında, sistematik olarak tam bir antibiyogram yapılması gerekir. Beta-laktamaz, sefinaz ile kromojenik bir testle veya API NH® ile gerçekleştirilir. Antibiyogram testleri genellikle Muller Hinton besiyerinde yapılmaktadır; ancak, *Neisseria gonorrhoeae*'nin, beslenme gereksinimlerinden dolayı PolyViteX veya IsoVitaleX çikolata agarın kullanılması gerekmektedir. Seyreltme yöntemi referans yöntemdir ancak genel olarak laboratuvarlar gerçekleştirilmesi daha kolay olduğu için agar difüzyon yöntemini tercih ederler. Bunun için tamponda (pH 7,2'de) 18-24 saatlik kültürden bakteri süspansiyonu hazırlanır. McFarland standardı 0,5'e (yaklaşık 10^8 CFU/mL) ayarlanır ve daha sonra örnek hazırlanan besiyeri üzerine yayma ekim tekniği kullanılarak yayılır. Antibiyotik yüklü diskler, inhibisyon bölgelerinin çakışmasını önlemek için merkezden merkeze 60 mm'lik bir mesafeye yerleştirilir (**Görsel 2.7.**). Antibiyotik disklerin etrafındaki inhibisyon çapları, %5 CO₂ altında 37°C'de 18 ila 24 saatlik inkübasyonun ardından ve büyüme yetersizse 36-40 saat sonra okunur. MİK değerinin belirlenmesinde bir antibiyotik gradyan testi olan E-test® şeridi PolyViteX veya IsoVitaleX çikolata agar üzerinde antibiyotik disklerinin difüzyon yoluyla belirlenmesi, rutinde doğru bir alternatif sunmaktadır (Courvalin P vb.,2006; Mérens A vb.,2009).

Görsel 2.7.Gonokokal antibiyogram (Mérens A vb.,2009).



2.7. Gonore tedavisi

Semptomlar bel soğukluğunu düşündürüyor ise; önce kültür ve antibiyogram için örnek alınmış olması gerekmektedir. Etken izole edildikten sonra, güncel önerilere göre tedavi başlatılır ve mikroorganizmanın yayılmasının önlenmesine yardımcı olunur. Belsoğukluğunun birinci basamak tedavisi için antibiyotik seçimi çeşitli argümanlara dayanmaktadır:

- Antibiyotiğin etkili olması, yani DSÖ'ya göre enfeksiyonların %95'inden fazlasını tedavi edebilmesi gerekir: direnç düzeyi %5'in üzerinde olan antibiyotikler tedavi önerilerine dahil edilmez.
- Antibiyotiğin enfekte veya kolonileşmiş bölgelere doğru bir şekilde yayılması gerekir, bu da özellikle faringeal enfeksiyonlar sorununu ortaya çıkarır.
- Hastalarda ciddi yan etkiler göstermemelidir.
- Uygunluğu teşvik etmek, iatrojenik riski azaltmak ve cinsel partnerlere bulaşma zincirini kesmek için, mümkünse, DSÖ ve CDC'nin tavsiyelerine göre antibiyotik tek doz olarak reçete edilebilmelidir.

Vakaların %15- 40'ında *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis* ile ilişkilidir. Bu nedenle gonore tedavisi, Chlamydia enfeksiyonlarının tedavisi ile sistematik olarak ilişkilendirilmelidir (tek oral doz olarak 1 g azitromisin veya yedi gün boyunca günde 200 mg doksisisiklin) (Mérens A vb.,2009; Newman LM vb.,2007). Hastaya HIV, HBV ve sifiliz için serolojik tarama yapılmasının yanı sıra, semptomların başlamasından

önceki 60 gün içinde bilinen herhangi bir partnerin tedavisi de önerilmektedir (Little JW ve Miller KE, 2006).

Tablo 2. 1.Gonokok görülen hasta gruplarındaki tedavi şemaları verilmiştir (Little JW ve Miller KE, 2006).

Tanı	Tedavi
Erişkinlerde komplike olmamış gonore	Seftriakson 250 mg, tek doz veya Sefiksime 400 mg, tek doz veya Siprofloksasin 500 mg, tek doz veya Ofloksasin 400 mg, tek doz beraberinde Azitromisin 1 gr, tek doz veya Doksisisiklin 100 mg, günde 2 doz 7 gün
Gebelikte gonore	Seftriakson 250 mg, tek doz. Non-gonokoksik üretrit varsa beraberinde Eritromisin 2 gr oral/gün, 7 gün
Pelvik inflamatuvar hastalık Yatan hasta	Sefoksitin 2 gr, 6 saat ara ile veya Sefotetan 2 gr, 8 saat ara ile verilir. Hasta iyileştikten sonra en az 48 saat devam edilir. Beraberinde Doksisisiklin 100 mg, 12 saat ara ile 14 gün süre ile verilir.
Poliklinik hastası	Seftriakson 250 mg, tek doz veya Sefoksitin 2 gr, tek doz beraberinde Doksisisiklin 100 mg, 12 saat ara ile 14 gün süre ile veya Ofloksasin 400 mg, günde ikikez beraberinde Klindamisin 450 mg, günde 4 kez veya Metronidazol 500 mg, günde iki kez 14 gün
Dissemine gonokokal enfeksiyon	Seftriakson 1 gr, 7-10 gün veya Spektinomisin 2 gr, günde iki kez 7-10 gün

2.8. *Neisseria gonorrhoeae* enfeksiyonlarının önlenmesi

Tüm CYBE'lerde olduğu gibi *Neisseria gonorrhoeae* enfeksiyonlarının önlenmesi için de, toplumun eğitilmesi ve bilgilendirilmesi, uygun merkezlerde tarama yapılması ve son olarak muhtemelen bir aşının geliştirilmesinden geçmektedir. Bu farklı korunma yöntemlerine (bilgilendirme kampanyaları, tarama merkezleri vb.) rağmen gonokok enfeksiyonları CYBE'ler arasında halen önemli bir yer tutmaktadır. İdeal olan, herhangi bir patolojide olduğu gibi, bu enfeksiyonlara karşı etkili koruma sağlayan bir aşının geliştirilmiş olmasıdır. Ancak gonokoklara karşı 30 yılı aşkın süredir devam eden aşı geliştirme araştırmaları şu ana kadar pek başarılı olamamıştır. Bunun nedeninin, gonokokların yüzey proteinlerindeki hızlı antijenik çeşitlilik ve indüklenen zayıf bağışıklık tepkisi olarak açıklanmaktadır. Gonokok antijenlerinin bir kombinasyonun hazırlanması, aşı gelişimi için iyi bir çözüm olabilir (Woods CR,2005).

2.9. Gonore tedavisinde teşhis aşamaları

2.9.1. Bakteriyolojik teşhis

Neisseria gonorrhoeae'yi tespit etmek için gereken numuneler, gonokokların hassaslığı göz önüne alındığında belirli kısıtlamalar sunar ve kullanılan teşhis yöntemine bağlı olarak farklılık gösterir. Kadınlarda, gonokok endoserviks için tercihlili bir tropizmaya sahip olduğundan örnek tercihen endoservikal sürüntü olmaktadır. Rahim ağzından akıntı sonrasında vajinada gonokok bulunsan bile vajinal örnek kültür için daha az uygundur. Bazı özel durumlarda (ergenlik öncesi kızlar ve histerektomi geçirmiş kadınlar) bu yöntem uygulanmaktadır. Çalışmalar moleküler biyoloji teknikleriyle birlikte teşhisin güçlendirmesini önermektedir (Cosentino LA vb.,2003; Fontana C vb.,2005).Hastalarda üretral akıntı mevcutsa ek olarak idrar yolundan da örnek alınmalıdır. Erkeklerde üretral kanaldan akıntı örneği alınır. Pürülan akıntı yoksa, tercihen sabah idrara çıkmadan veya genital tuvalete çıkmadan önce veya bu mümkün değilse idrara çıkmadan en az 2 saat önce üretral örnek alınır. Swab üretraya iki ila üç santimetre sokulur ve ardından epitel hücrelerini toplamak için döndürülür. Nükleik asit amplifikasyon teknikleri için, erkek veya kadınlardan toplanan ilk idrar tanı amacıyla kullanılabilir (Ng LK ve Martin 2005). Diğer bölgelerde gonokok enfeksiyonundan şüpheleniliyorsa faringeal seviyeden (bademcikten sürüntüyle), analden (anal kanalın iki ila üç santimetresinden sürüntüyle), konjonktivadan (akıntıdan sürüntü alınarak) örnekler alınabilir. Eklemden (sıvı delinmesi yoluyla), deriden (lezyonların kazınması

veya biyopsi ile) veya kan (kan kültürü ile) örnekler alınabilmektedir (Avril JL vb.,2000).

2.9.2. Örneklerin taşınması

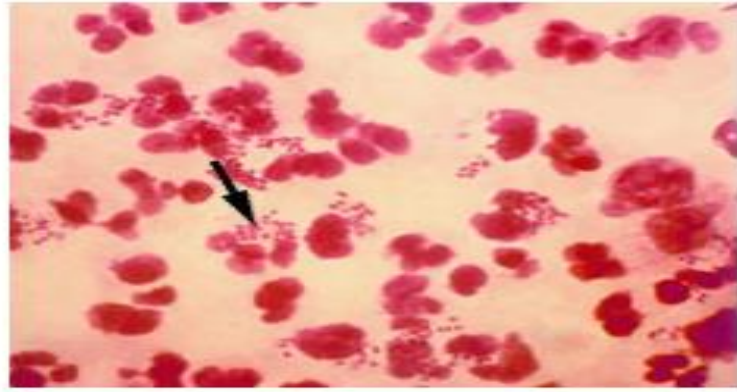
Swap seçimi kullanılan teşhis yöntemine bağlıdır. Kültür için dacron swablar kullanılmalıdır çünkü pamuk (hipoklorit vb.) ve kalsiyum aljinat swablar gonokoklar için toksik olabilir. Moleküler biyoloji teknikleri için özel sürüntü alma swabları kullanılmalıdır (Ng LK ve Martin IE 2005). Gonokokların hassaslığı, laboratuvara hızlı ulaştırılmasını ve önceden 37°C'ye ısıtılmış besiyerine hemen ekimi gerektirmektedir. Olumsuz koşullar altında (sıcaklık değişimleri, kuruma vb.) gonokoklar otolize uğrarlar. Otoliz, peptidoglikan üzerinde aktif olan otolizinlerin salgılanmasıyla kendiliğinden gerçekleşir (bunlar yalnızca -60°C'nin altındaki sıcaklıklarda etkisiz hale gelir). Dağıtım için sıvı veya agar taşıma ortamının kullanılması gereklidir. (Portagerm® swablarda kullanılan Stuart ortamı (sodyum gliserofosfat, kalsiyum klorür ve merkaptasetik asit) veya Amies ortamı (sodyum tiyoglikolat, fosfat tamponu ve klorür tuzları)). Hayatta kalma süresinin ortalama 4 saat olduğu kuru dakron sürüntülerin aksine gonokokların yaklaşık 24 saat hayatta kalmasına izin verirler (Avril JL, 2000).

Mikrobiyal tanımlama ; Laboratuvarında gonokokların yalnızca doğrudan tanısı (esas olarak kültür veya moleküler biyoloji yoluyla) gerçekleştirilir. Aslında alt genital enfeksiyonlar, duyarlı ve spesifik bir serolojik testin geliştirilmesi için yeterli antikor üretimini sağlamaz (Hedges SR vb.,1999; Ng LK vb.,2005). Kültür yöntemi, gonokok süşunun izolasyonuna ve antibiyogram performansına olanak sağlar. Şu anda adli tıp vakaları için izin verilen tek teşhis yöntemidir.

2.9.3. Doğrudan inceleme :

Kültürde yapılan herhangi bir gonokok araştırması için, numuneden ve Gram boyamadan sonra mikroskop altında doğrudan inceleme yapılır. Servisit açısından endoservikal örneğin doğrudan incelenmesinin duyarlılığı %30-65'tir. Enfekte erkeklerden alınan üretral numunelerde %95'ten fazlasına ulaşır (Little JW,2006). Neisseria, diplokoklarda sıklıkla karakteristik "kahve çekirdeği" görünümüne sahip Gram-negatif koklardır (0,7 x 1 µm çapında), ancak tetradlar halinde de görünebilirler. *Neisseria gonorrhoeae*, kommensal *Neisseria*'dan farklı olarak genellikle bakteri içinde görülmektedir (Denis F vb., 2007).

Görsel 2. 8. *Neisseria gonorrhoeae*'ye bağlı cerahatli akıntının doğrudan incelenmesi (http-3)



2.9.4. Kültür ortamı ve inkübasyon koşulları

Gonokokları kültür ortamında çoğaltabilmek için zengin besiyeri ortamları gerekmektedir. Zengin, seçici olmayan bir besiyeri ortamı ve bir de zengin bir seçici besiyeri ortamına aynı anda ekim yapılır. Zengin seçici olmayan ortam, vitamin takviyesiyle desteklenen kanlı çikolata agarıdır. Bu ortam, X (hemin) ve V (NAD veya Nikotinamid Adenin Dinükleotid) faktörleri açısından zenginleştirilmiş bir besin ortamından oluşur ve bu ortam; hemogloblin ve PolyViteX (veya IsoVitaleX), agarlarda bulunan yağ asitlerinin ve ağır metallerin toksisitesini önler ve belirli gonokok türlerinin gereksinimlerini karşılar: sistein, serbest demir, tiamin vb. (Avril vb.,2000). Seçici olmayan bir besiyeri ortamı ise; antibiyotik içermeyen, tüm bakteri türlerinin büyümesine izin veren bir ortamdır. Bu besiyeri ortamının avantajı, vankomisine duyarlı gonokok suşlarının %5'ini inhibe etmemesidir, ancak multimikrobiyal bir bölgeden (vajina, rektum, farenks vb.) numune alınması durumunda gonokokların izolasyonu zor olabilir. Seçici zengin ortam veya Martin Lewis ortamı, daha önce açıklananla aynı ortamdır ancak çeşitli antibiyotikler ve antifungalleri içermektedir (Vankomisin, Colistin, Amfoterisin B, VCAT agar için Trimetoprim veya VCN agar için Vankomisin, Colistin, Nystatin). Bu antimikrobiyaller sırasıyla Gram-pozitif bakterilerin, Gram-negatif basillerin ve mantarların inhibe edilmesini ve böylece gonokok suşunun daha kolay izole edilmesini mümkün kılar (Avril vb.,2000). Ekimden sonra bu farklı kültür ortamları, CO₂ bakımından zengin (%3-7) bir atmosferde, 35-37°C sıcaklıkta 24 ila 48 saat süreyle inkübe edilir.

Kolonilerin gözlemlenmesi, tanımlamanın önemli bir unsurudur. *Neisseria gonorrhoeae*, 18 ila 24 saat içinde 0,5 ila 1 mm çapında düzenli kenarlara sahip grimsi koloniler oluşturur (**Görsel 2.9.**). Bu koloniler bir ila iki gün boyunca büyümeye devam ederler (Avril vb.,2000). *N. meningitidis* aynı zamanda mukoid formda, düzgün kenarlı grimsi koloniler de geliştirir. Çıplak gözle ayırt etmek mümkün değildir. Diğer *Neisseria* türlerinin kolonileri daha büyüktür (18-24 saatte 1-1,5 mm boyutlarındadırlar) ve genellikle sarı pigmentlidirler (*N. flava*, *N. perflava*, *N. subflava*). Bazı türler (*N. sicca*) için koloniler kuru, düz formdadır ve diğerlerinden ayrılması zordur.

Görsel 2. 9. IsoVitaleX çikolata ortamında *Neisseria gonorrhoeae* kültürü (Avril vb.,2000).



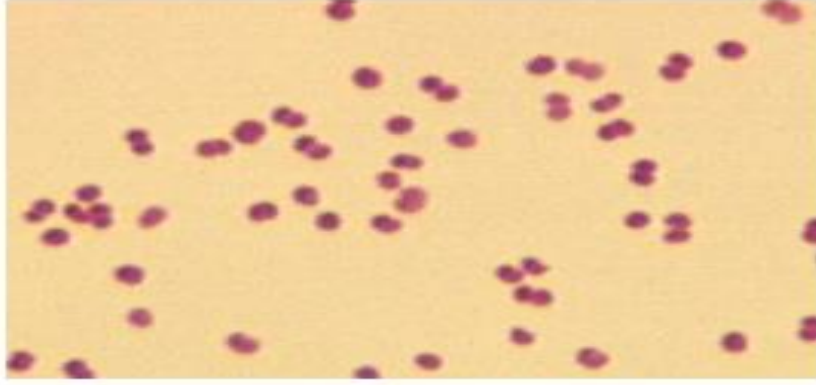
2.9.5. Tür tespiti

Kültür ortamının gözlemlenmesinden sonra şüpheli kolonilere Gram boyama yapılır. Oksidaz ve katalaz reaksiyonlarının yanı sıra bakterileri tanımlamak için ek testlere de ihtiyaç duyulmaktadır.

2.9.5.1 .Gram boyama, oksidaz ve katalaz reaksiyonları

Gram boyamada (**Görsel 2.10.**), gonokoklar, *Neisseria* cinsinin tüm türleri gibi (küçük basil şeklinde görünen *N. elongata* hariç) Gram-negatif diplokok şeklinde görünür.

Görsel 2. 10. *Neisseria gonorrhoeae* kolonisinin gram boyaması (x100) (Avril vb.,2000).



Oksidaz ve katalaz reaksiyonları gerçekleştirilir: *Neisseria*, oksidaz ve katalaz pozitif bakterilerdir (katalaz negatif olan *N. elongata* hariç). Ürogenital bir numuneden ekilen seçici bir besiyerinde Gram negatif oksidaz ve katalaz pozitif diplokokun izolasyonu, gonore etkeninin olduğunu göstermektedir. Ancak tanının doğrulanması için çoğunlukla biyokimyasal ve enzimatik testler gerekmektedir (Ng LK ve Martin IE 2005).

2.9.5.2 .Biyokimyasal ve enzimatik testler

Neisseria gonorrhoeae, şekerlerin fermantasyonunu ve belirli enzimlerin varlığını incelemek gibi biyokimyasal ve enzimatik testlerin kullanılmasıyla diğer *Neisseria*, *Moraxella* ve *Kingella* türlerinden ayırt edilebilir. Aşağıdaki tablo, *Neisseria*'nın farklı türlerini ayırt etmek için yararlı olan farklı kültürel ve biyokimyasal karakterleri açıklamaktadır. Özellikle gonokok ve meningokok suşlarının her ikisinin de glikoz kullandığını ancak maltozun asitleştirilmesi ve meningokok için pozitif fakat gonokok için negatif iki özellik olan γ -glutamiltransferaz (γ -GT) varlığı ile farklılaştıklarını açıklamaktadır (Denis F vb.,2007; Ng LK vb.,2005).

Tablo 2. 2.Neisseria cinsine ait türlerin temel kültürel ve biyokimyasal özellikleri GLU: glukoz, MAL: maltoz, SAC: sakkaroz, LAC: laktoz, S: sarı (Denis F vb.,2007).

Türler	Büyüme	Pigment	Oksidaz	Katalaz	Şekerlerin asitleştirilmesi				γGT	Polisakkaritlerin	Kesinti	DNaz	Lipaz
					GLU MAL SAC LAC						NO ³ -NO ² -		
CİNS NEISSERIA													
Patojenik Neisseria													
<i>N.gonorrhoeae</i>	+	0	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>N.meningitidis</i>	+	0	+	+	+	+	-	-	+	-	-/+	-	-
<i>N.lactamica</i>	+	+s	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-
<i>N.polysacchareae</i>	+	+s	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+	-

Bu farklılaştırma için NH® API (BioMérieux®) veya Neisseria 4H® (Biorad®) gibi tanımlama kitleri kullanılabilir. Prensipleri, bir mikropakanın kuyucuklarında kurutulan ve kullanım sırasında bakteriyel inokulasyon tarafından yeniden sulandırılan substratların bakteriyel enzimler tarafından kullanılmasına dayanmaktadır. API NH® ve Neisseria 4H® kitleri farklı karakterleri (sırasıyla 13 ve 10) çok kısa bir sürede (sırasıyla iki ve dört saat) test eder. İki kitte de yedi farklı özellik test edilir: glikoz (GLU), maltoz (MAL), fruktoz (FRU) ve sakkaroz (SAC) ve beta-galaktosidaz (Neisseria 4H® için apiNH® için beta-GAL / Neisseria 4H® için ONPG), lipaz (Neisseria 4H® için apiNH® için LIP /TRI) ve γ--glutamiltransferaz (GGT) varlığı. API NH® kiti aynı zamanda ornitin dekarboksilaz (ODC), üreaz (URE), prolin arilamidaz (ProA), alkalın fosfat (PAL) ve indolün (IND) varlığını da test eder . Neisseria 4H® kiti ayrıca nitratların (NO₃) ve nitritlerin (NO₂) indirgenmesini ve polisakkaritlerin (PS) sentezini 24 saat içinde test eder (**Görsel 2.11 ve 2.12**). Ayrıca api NH® KİTİ penisilinaz (PEN) varlığının test edilmesine olanak tanır.

Görsel 2.11. *Neisseria gonorrhoeae*'nin APINH® kiti ile tanımlanması (Denis F vb.,2007)



Görsel 2.11. *Neisseria gonorrhoeae*'nin Neisseria 4H® kiti ile tanımlanması (Denis F vb.,2007)



2.9.5.3. Diğer tanımlama yöntemleri :

Diğer tanımlama yöntemleri, monoklonal bir antikorun, floresans veya aglütinasyon yoluyla ortaya çıkan bir gonokokal antijene bağlanmasına dayanmaktadır. Çok sayıda çapraz reaksiyon nedeniyle önerilmezler ve biyokimyasal ve enzimatik testlerle karşılaştırıldığında çok az kullanılırlar (Riou J.-Y ve Guibourdenche. M., 1992).

2.9.5.4. Suşların korunması :

Suşlar, asit agarda 15 gün boyunca muhafaza edilebilir, ancak liyofilizasyon ve özellikle -80°C'de dondurma (at serumu içeren gliserin ortamında) kullanılması tercih edilir. Suşların raf ömrü -80°C'de dondurularak birkaç aydır ve liyofilizasyon olursa birkaç yıl kullanılabilir (Riou J.-Y ve Guibourdenche.M., 1992).

2.10. Antibiyotikler:

Antibiyotiklerin ilk ortaya çıkışı 1928'de gerçekleşmiştir; İngiliz doktor, biyolog ve farmakolog Alexander Fleming tarafından keşfedilen *Penicillium notatum* küfünün sentezlediği penisilin ilk adım olmuştur. Ancak penisilinin endüstriyel üretimi ancak 1945'te İkinci Dünya Savaşı'nın bitiminden sonra başlayabilmiştir (Veyssiere Anaïs, 2019). Antibiyotiklerin ilk ticarileştirilmesi 1932 yılında Bayer laboratuvarları Prontosil tarafından gerçekleştirilmiştir. Bu antibiyotik, streptokok enfeksiyonlarına karşı savaşmak için kullanılan bir antibakteriyel olan Sülfonamid'tir. Sülfonamidlere karşı direncin ilk ortaya çıkışı, birkaç yıl sonra 1942'de kaydedilmiş ve bunu 1946'da Penisilin G'ye karşı ortaya çıkan direnç izlemiştir. Sonuç olarak, antibiyotik direnci, direnç genini kodlayan bir plazmitin Japon T. Watanabe tarafından belirlenmesiyle ortaya konulmuştur (Veyssiere Anaïs, 2019).

Tıp Sözlüğüne göre antibiyotik, “bakterileri yok eden (bakterisidal) veya büyümelerini engelleyen (bakteriyostatik) doğal veya daha sıklıkla sentetik bir molekül anlamına gelmektedir. Etki tarzlarına ve kimyasal yapılarına göre alt sınıflara ayrılmaktadır. Tıbbi açıdan bakıldığında antibiyotiklerin çok fazla yan etkiye neden olmayacak şekilde bakterilere karşı toksisitesini seçici olarak, en azından kullanılan dozlarda göstermeleri gerekmektedir (Legrand, O., 2017). Antibiyotiklerin sınıflandırılması belirli kriterlere göre gerçekleştirilir: kökeni ve kimyasal yapısı, etki şekli ve antibakteriyel aktivite spektrumu gibi.

2.10.1. Kökenine göre antibiyotikler

2.10.1.1. Doğal kökenli antibiyotikler

Bu antibiyotikler esas olarak mikro-filamanlı Actinomycetes tarafından, özellikle de Streptomyces cinsi (Tetrasiklin, Aminoglikozidler) tarafından üretilir ya da mantarlar tarafından: Penicillium (Penisilin) cinsleri, aktinomiset olmayan bakteriler, özellikle Pseudomonas ve Bacillus cinsleri tarafından üretilirler (Saadaoui, M., 2008).

2.10.1.2. Sentetik kökenli antibiyotikler

Bunlar, orijinal olarak mikroorganizmalardan ekstrakte edilen maddelerin yeniden yapılandırılmasından veya yapay türevlerden (Sülfonamidler, Florokinolonlar) kimyasal olarak elde edilirler (Saadaoui, M., 2008).

2.10.1.3. Yarı sentetik kökenli antibiyotikler

Bir mikroorganizmanın (Metisilin) salgıladığı doğal bir maddenin modifikasyonu ile elde edilirler (Saadaoui, M.,2008).

2.10.2. Etki Spektrumuna göre Antibiyotikler

Antibiyotiğin aktif olduğu tüm türleri temsil eder, iki gruba ayrılmaktadır:

2.10.2.1. Geniş spektrumlu antibiyotikler

Gram pozitif ve Gram negatif patojenik türlerin (β -laktam, Sefalosporin) çoğunluğuna etki ederler (Mangin, L.,2016).

2.10.2.2. Dar spektrumlu antibiyotikler

Sınırlı sayıda enfeksiyöz ajan üzerinde etkili olup belirli bir patolojiyi (Nalidiksik asit, Vankomisin) hedefleyen antibiyotiklerdir (Mangin, L.,2016).

2.10.3. Etki Şekline Göre

2.10.3.1. Bakterisidal etki

Antibiyotik, bakteri duvarının peptidoglikanına, sitoplazmik membrana veya DNA'ya etki ederek bakterilerin yok olmasına neden olur (Batraud ve M. Paul,2017).

2.10.3.2. Bakteriyostatik etki

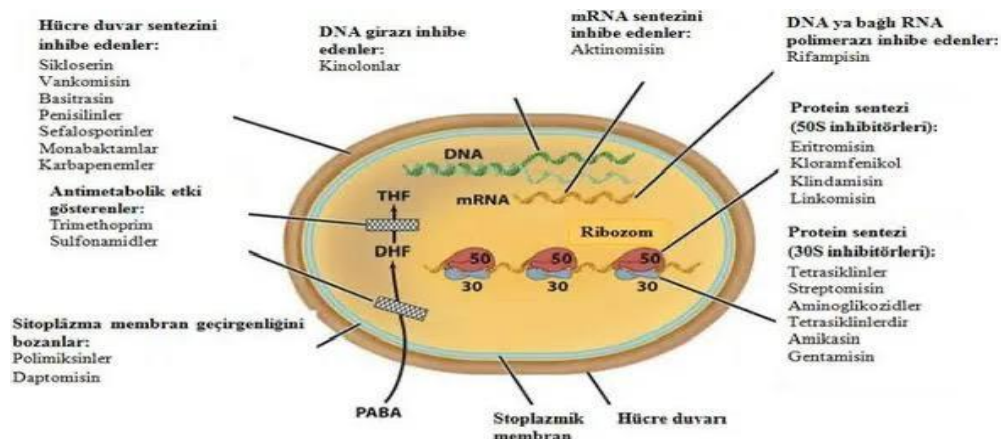
Antibiyotik, bakterinin ölümüne yol açmadan, üremesini durdurarak çoğalmasını engeller (Batraud ve M. Paul,2017).

2.11. Antibiyotiklerin Etki Mekanizmaları

Antibiyotikler bakteri bakterilerine çeşitli mekanizmalar yoluyla etki ederler.

Görsel 2.13.'te antibiyotiklerin etki mekanizmaları ve örnekler verilmiştir (http-4).

Görsel 2.12. Antibiyotiklerin etki mekanizmaları



2.11.1. Bakteri duvarı üzerine etki

Bu etki şeklinde; bakteri duvar sentezi inhibe edilir; antibiyotiklerin bakteri (duvar) dışındaki hedeflere etki ettiği ve yalnızca büyüyen mikroorganizmalar üzerinde aktif olduğu anlamına gelir. Dinlenme halindeki bakteriler bu etkiye sahip antibiyotiklerden ve moleküllerden etkilenmezler. Antibiyotikler peptidoglikan sentezini bloke eder, bakteri duvar oluşturmada uzar ve böylece iç ozmotik basıncın etkisi altında patlar. β -laktamlar bu etkiye sahip antibiyotiklerdir (Saadaoui, M.,2008).

2.11.2. Sitoplazmik membran üzerindeki etki

Önce dış zar, sonra sitoplazmik zar olmak üzere lipid zarlar üzerinde etki ederler. Antibiyotik bu zarların yapısını ve işleyişini bozar ve onları geçirgen hale getirir, bu da bakterinin hızlı ölümüne neden olmaktadır (Saadaoui, M.,2008).

2.11.3. Ribozomal RNA üzerindeki etki

Antibiyotikler, protein sentezini inhibe ederek iyi bir hedef oluştururlar. Terapötik olmayan konsantrasyonlarda ribozomun 30S alt ünitesine bağlanıp etki göstererek okuma hatalarına neden olurlar. Başlatma kompleksini bloke ederek peptid zincirinin uzamasını engellerler. Ayrıca bakteri içi siklik AMP'yi (Adenozin Monofosfat) azaltarak sitoplazmik membranın geçirgenlik bariyerini bozarak bakteri içi bileşenlerin dışarıya sızmasına yol açarlar. Aminoglikozidler ve Fenikoller bu etkiye sahip antibiyotiklerdir (Saadaoui, M.,2008).

2.11.4. Bakteriyel DNA üzerindeki etki

Antibiyotik gruplarına bağlı olarak nükleik asitlerin sentezini ve hatta işleyişini DNA replikasyonunun inhibisyonu, transkripsiyon / RNA polimerazın inhibisyonunu, nükleotid öncüllerinin sentezini azaltma gibi farklı şekillerde engelleyerek etki göstermektedirler (Saadaoui, M.,2008).

2.11.5. Orta seviye metabolizma inhibitörü antibiyotikler

Pürinlerin ve bazı esansiyel amino asitlerin sentezinde rol oynayan enzimlerin etkisizleştirilmesiyle etki gösterirler (Saadaoui, M.,2008).

2.12. Antibiyotiklerin Sınıflandırılması

Antibiyotiklerin kimyasal yapılarına göre sınıflandırılması şu şekildedir :
Antibiyotiklerin ana aileleri şunlardır: (Saadaoui, M.,2008).

2.12.1.β-laktamlar ;

Temel çekirdek β-laktam halkasıdır. Bu ailedeki antibiyotikler bakterisidal etki göstermektedirler. Üç gruba ayrılırlar;

Grup I: β-laktam halkası ve bir tiazol halkasını içerirler (örn: Penames, Oksapenames veya Klavames ve Karbapenemler)

Grup II: Bir β-laktam halkası ve bir dihidrotiazin halkasını içerirler (örn: Sefalosporinler)

Grup III: β-laktam halkasıyla sınırlı bir çekirdeğe sahiptir (örn :Monobaktamlar).

Bu üç gruba ek olarak Amoksisilin ve Klavulanik Asitten oluşan Augmentin gibi penisilinaz üreten bakterilere etki eden β-laktamaz inhibitörleri de bulunmaktadır (Yala D ve ark ,2001).

2.12.2. Aminoizidler veya aminoglikozidler ;

Bunlar bir Aminosiklitol'e bağlı bir veya daha fazla glikozitin oluşturduğu doğal glikozitlerdir. Bunlar hızla bakterisidal etki gösteren antibiyotiklerdir. Yüzlerce doğal ve yarı sentetik molekülden oluşan çeşidi vardır. Üç sınıfa ayrılırlar:Streptamin, Desoksistreptamin ve Streptidin (Yala D ve ark ,2001).

2.12.3. Fenikoller ;

Kloramfenikol; Geniş spektrumlu bakteriyostatik bir antibiyotiktir. Gine'de tifo ateşinin tedavisi için kullanılmıştır (Yala D ve ark ,2001).

Tiamfenikol; Tiamfenikol kimyasal olarak Kloramfenikol'e çok yakındır, etki spektrumu benzerdir. (Yala D ve ark ,2001).

2.12.4. Tetrasiklinler;

Tetrasiklinler bakteriyostatiktir, bakterilere iyi nüfuz ederler, bu moleküller büyük homojenliğe sahiptir. Doğal siklinler ve yarı sentetik siklinler olarak ayrılırlar (Yala ve ark ,2001).

Doğal siklinler; Klorotetrasiklin (Aureomisin), Tetrasiklin (Tetracyne). (Yala D ve ark ,2001).

Yarı sentetik siklinler; Oksitetrasiklin (Terramisin), Doksisisiklin (Vibramisin), Minosiklin (Minosin) (Yala D ve ark ,2001).

2.12.5. Poliipeptitler;

7 gruba ayrılmaktadır. Bunlar :

- Kapreomisin, Viomisin ile temsil edilen siklik peptidler
- Vankomisin tarafından temsil edilen glikopeptitler
- Telcoplanin, Laramoplanin tarafından temsil edilen glikolipeptitler
- Daptomisin (klinik geliştirme aşamasında), Polimiksin (gram-negatif bakteriler üzerinde aktif) ile temsil edilen lipopeptitler (Yala D ve ark ,2001).

Vankomisin

Vankomisin Hidroklorür aktif bileşeni temsil eder ve yalnızca intravenöz olarak uygulanır. Hastane kullanımı için uygun antibiyotiklerdir (Yala D ve ark ,2001).

Teikoplanin

Molekül suda çözünabilen ve iyi tolere edilen IV ve IM zayıf bir asittir. Yüksek lipofilitesi daha iyi doku difüzyonuna ve yavaş salıverilmeye olanak sağlar. Hastanede kullanıma uygun bir antibiyotiktir (Yala D ve ark ,2001).

Polimiksin

Lipeptitler, bir lipit zincirinin eklendiği bir peptit zinciri ile karakterize edilir. Polimiksin β (Polimiksin) ve Polimiksin E (Kolimisin) olarak iki gruba ayrılmaktadır (Yala D ve ark ,2001).

2.12.6. Makrolidler;

Kullanım kolaylığı nedeniyle toplum hekimliğinde sıklıkla kullanılan antibiyotiklerdir. Dar bir spektruma sahiptirler ve hücre içi mikroorganizmalar üzerinde mükemmel derecede aktiftirler. Mükemmel doku penetrasyonuna sahiptirler, makrolidler, karbon atomu sayısına göre sınıflandırmalarının temelini oluşturan merkezi bir lakton çekirdeğine sahiptirler. Bunlar lipofilik moleküllerdir (Yala D ve ark ,2001).

2.12.7.Kinolonlar;

Antibakteriyel gücü arttırmak ve farmakokinetik özellikleri geliştirmek için çeşitli moleküller sentezlenmiştir. Şematik olarak kinolonlar, antibakteriyel spektrumun kapsamına ve iskeletin florlu veya florsuz yapısına göre iki gruba ayrılmaktadır:

- Birinci nesil Kinolonlar; Nalidiksik Asit: Negram, Oksolinik Asit (Ürotrat)
- İkinci kuşak kinolonlara; Ofloksasin: Ofloset, Levofloksasin (Yala D ve ark ,2001).

2.12.8. Rifamisinler;

Bir makrosiklik ve bir aromatik halkadan oluşur. Rifamisin, Rifamid, Rifampisin bu gruptandır (Yala D ve ark ,2001).

Aşağıdaki tablo temel antibiyotik ailelerinin farklı etki mekanizmaları kısaca özetlenmiştir:

Tablo 2. 3.Ana antibiyotik ailelerinin etki mekanizmaları (Yala D ve ark ,2001).

Aksiyon modu	Antibiyotik aileleri
Bakteri duvarı sentezinin inhibisyonu	Penisilinler, Sefalosporinler, Karbapenemler, Daptomisinler, Monobaktamlar, Glikopeptitler
Protein sentezinin inhibisyonu	Tetrasiklinler, Aminoglikozidler, Oksazolidononlar, Streptograminler, Ketolidler, Makrolidler, Linkozamidler
DNA sentezinin inhibisyonu	Florokinolonlar
Folik asit (folat) sentezinin inhibisyonu	Sülfonamidler, trimetoprim
RNA sentezinin inhibisyonu	Rifampin

2.13. FENOLİK ASİTLER :

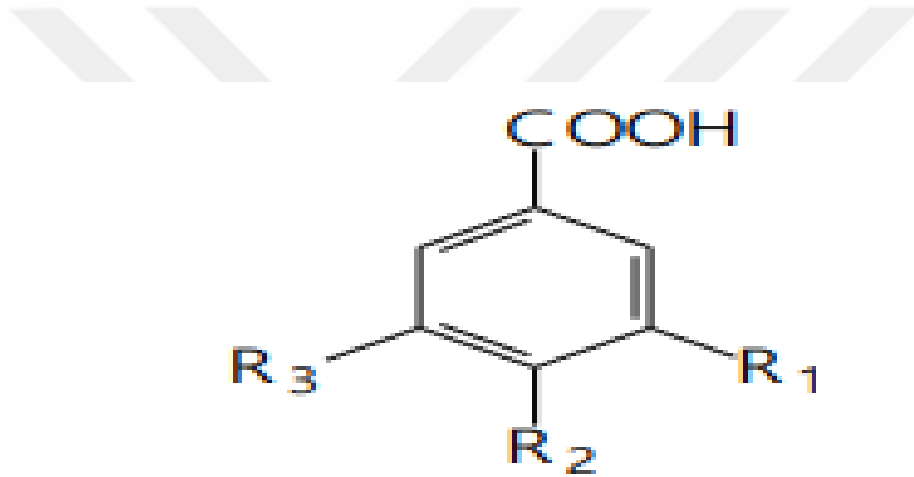
Bir fenolik asit, en az bir karboksilik fonksiyona ve bir fenolik hidroksile sahip olan organik bir bileşiktir. Fitokimyada benzoik asit ve sinamik asit türevleri için kullanılmaktadır. Fenolik asitler iki alt sınıfa ayrılmaktadır :

2.13.1.Hidroksibenzoik asitler ;

Gallik asit, vanilik asit, sirinjik asit ve p-hidroksibenzoik asit.

Bu bileşenler ortak olarak C6-C1 yapısına sahiptir (Gill,2011)

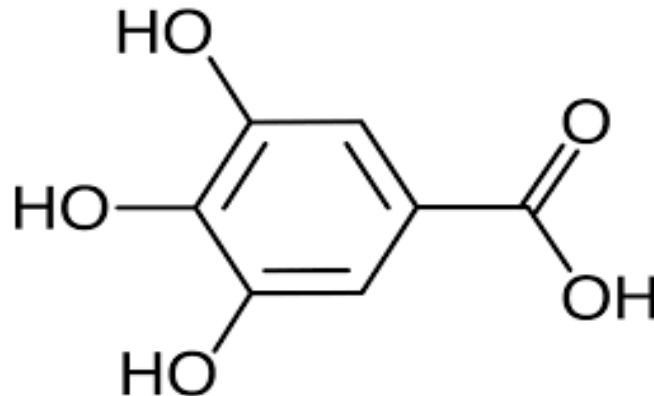
Şekil 2. 2.Hidroksibenzoik asit kimyasal yapısı (http-5)



2.13.1.1.Gallik asit

Gallik asit, 3,4,5-trihidroksibenzoik asit olarak da bilinen, doğal olarak oluşan bir fenolik bileşiktir. Benzoik asitten türetilen hidroksibenzoik asitler ailesine aittir. Gallik asit, antimikrobiyal, antioksidan ve antiinflamatuvar gibi çeşitli biyolojik özellikleriyle bilinmektedir (De Souza, J ve ark 2019).

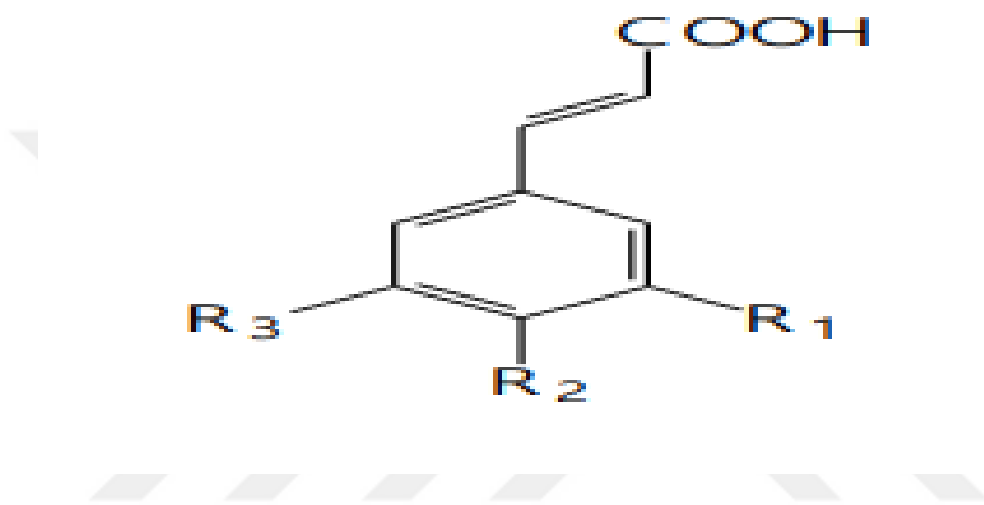
Şekil 2. 3.Gallik asit kimyasal yapısı (http-6)



2.13.2. Hidroksisinnamik asit türevleri ;

Bu moleküller, C6-C3'te (sinnamik asitten türetilmiş) 3 karbonlu aromatik bir halkaya sahiptir; örneğin: kafeik asit, ferulik asit, p-kumarik asit, sinapik asit, vb (Aneta vb. 2007).

Şekil 2. 4.Hidroksisinnamik asit kimyasal yapısı (http-7)

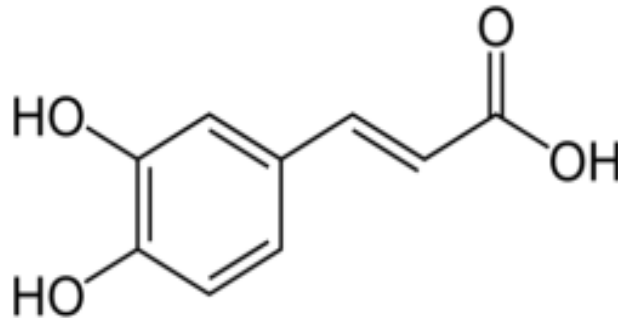


2.13.2.1. Kafeik asit

Kafeik asit (KA), 3,4-dihidroksisinnamik asit olarak da bilinen, organik bir bileşik ve güçlü bir antioksidandır. Bu asidin antiinflamatuvar, antibakteriyel, bağışıklık sistemini düzenleyici ve antikanser özellikleri bulunmaktadır (Colina vb.,2019).

Ferulik aside yapısal benzerliğiyle bilinen kafeik asit, kafeinden farklıdır. Genel olarak çoğu meyvede bulunan ve bu nedenle de sıklıkla gıdalarda kullanılan bir maddedir. Meyvelerin dışında; Kafeik asit ayrıca adaçayı, kahve, çay, kekik, nane, Seylan tarçını gibi bitkilerde de bulunur (Choi KH vb., 2017).

Şekil 2. 5.Kafeik asit kimyasal yapısı (Choi KH vb., 2017).



Fenolik asitler, bitki-patojen etkileşimlerinin araştırılmasında uzun süredir ilgi çekmektedir. Bazı üzüm fenolik asitlerinin *B. cinerea*'nın büyümesini ve stilben oksidazlarının aktivitesini engellediği *in vitro* olarak gösterilmiştir (Goetz vb.,1999).

Fenolik bileşiklerin antimikrobiyal mekanizmaları hala tam olarak anlaşılamamıştır. Farklı bileşik sınıfları arasında bir eşitsizlik vardır ; basit fenoller, fenolik asitler ve flavonoidlerin aksine nispeten iyi bilinen etki mekanizmalarına sahiptir. Belirli moleküllerin etki biçimlerinin karmaşıklığı, birkaç bakterisel hedefe sahip olabilmeleri ve bunların bağımsız olmaması gerçeğinden kaynaklanmaktadır (Goetz vb.,1999.) Fenolik bileşiklerin ilk bakterisel hedefi, bakteri zarının bazılarının içine nüfuz etme kabiliyetine sahip olduğu çift katmanlı fosfolipitlerdir. Karvakrol gibi bir molekül zarda araya girdiğinde, fosfolipidlerin yağ asidi zincirleri artar, bu da aralarındaki van der Waals etkileşimlerinde bir azalmaya neden olur. Zar daha sonra geçirgenleştirilir, akışkanlaştırılır ve yapısal rolü bozulur. Membran geçirgenliği, riboz, sodyum glutamat, nükleotitler veya proteinler gibi makromoleküllerden potasyum veya fosfatlar, ATP gibi iyonların sızmasına neden olabilir (Burt,2004; Cushnie ve Lamb, 2005). Fenolik asitler zayıf asitler gibi davranabilir. Ayrışmamış formları zarı geçip ona ulaştığında bir proton serbest bırakır. Sitoplazmanın bu asitleşmesi, enzimatik fonksiyonların ve/veya yapısal moleküllerin değişmesine ve ayrıca bakteri dışına akan protonlar için gerekli enerji kaybına yol açar (Lambert ve Stratford 1999; Naïtali ve Dubois-Brissonnet 2017). Flavonoidlerle ilgili olarak, membran bütünlüğünün bozulmasına ek olarak iki ana antimikrobiyal etki mekanizması rapor edilmiştir, nükleik asit sentezinin inhibisyonu ve enerji metabolizmasının inhibisyonu (Cushnie ve Lamb 2005; Cushnie ve Lamb 2011). Çok fazla sayıda fenolik bileşik antimikrobiyal aktivite sergiler. İlgili ana aileler basit fenoller, fenolik asitler ve flavonoidlerdir. Diğerleri tanenler (yoğunlaştırılmış ve hidrolize edilebilir) ve neolignanlar gibi aileler antimikrobiyal ancak daha çok anekdotsal faaliyetler gösterir (Cushnie ve Lamb 2005; Cushnie ve Lamb 2011).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. Kullanılan cihazlar

HERAcell 240 Steril CO ₂ inkübatörü	Thermo Scientific, ABD
Hava akım kabini	Heal Force, Çin
Masaüstü soğutmalı santrifüj	Eppendorf, Almanya
Derin dondurucu buzdolabı	Altus, Türkiye
Hassas terazi	Ohaus, Avustralya
Otoklav	Alp, Türkiye
Otomatik pipet	Eppendorf, Almanya
Sterilizatör	Nüve, Türkiye
Su banyosu	Nüve, Türkiye
Vorteks	Daihan, Güney Kore
Mikro Santrifüj	Hettrich, Almanya
Akış sitometri cihazı	BD Accuri™C6, Amerika

3.1.2. Kullanılan laboratuvar malzemeleri ve kimyasallar

10, 100, 1000 ve 5000 µL'lik pipetör	Eppendorf, Kanada
10, 100, 200, 1000 µL'lik mikropipet ucu	Greiner Bio-One, ABD
12 kanallı otomatik pipet	Axygen, İngiltere
15 ve 50 mL'lik santrifüj tüpleri	Isolab, Almanya
İzoterm mikroskop lamaları	SentezLab, Türkiye
Lamel	Isolab, Almanya
2 mL'lik Ependorf tüp	Greiner bio-one, ABD
5 ve 10 mL'lik cam pipet	Isoterm, Türkiye
96 kuyucuklu düz tabanlı plaka	Isolab, Almanya
12 ve 24 kuyucuklu plaka	Jet Biofil, Çin
6 kuyucuklu plaka	Nest, Çin
Dimetilsülfoksit (DMSO)	Sigma – Aldrich, Almanya
Parafilm	Pechiney, Fransa
Kriyotüp (2 mL)	Cyros, Türkiye
Phosphate Buffer Saline (PBS)	Invitrogen, Almanya
Ferulik asit	Selleckchem, Amerika

Kafeik asit
Gallik asit

Sigma – Aldrich, Almanya
Sigma – Aldrich, Almanya

3.1.3. Kullanılan malzemelerin sterilizasyonu

Deneylerde kullanılacak olan şişe, falkon, rezervuar ve cam tüp gibi malzemelerin sterilizasyonu için malzemeler alüminyum folyoyla sarılarak otoklava konmuş, 121°C’de 1.5 atm basınçta 15 dakika steril edilmiştir.

3.1.4. Kullanılan kimyasalların ve besiyerlerinin hazırlanışı

Kafeik asit

20 mg kafeik asit tartılıp 200 µL DMSO’da çözülmüştür, boş disklere 50 µl yüklenmiştir.

Gallik asit

20 mg gallik asit tartılıp 200 µL DMSO’da çözülmüştür, boş disklere 50 µl yüklenmiştir.

Ellajik asit

20 mg ellajik asit tartılıp 200 µL DMSO’da çözülmüştür, boş disklere 50 µl yüklenmiştir.

Rutin

20 mg rutin tartılıp 200 µL DMSO’da çözülmüştür, boş disklere 50 µl yüklenmiştir.

Seftriakson

3,6 mg seftriakson tartılıp 1ml DMSO’da çözülmüştür.

Gentamisin

3 mg gentamisin tartılıp 1ml DMSO’da çözülmüştür.

Thayer Martin Agar besiyerinin hazırlanması

Katı kültür ortamı olarak ticari Thayer Martin Agar kullanılmıştır, 21g toz besiyeri tartılarak, 500 ml distile su içinde çözülmüş ve daha sonra 121°C'de, 15 dk 1.5 atm basınç altında otoklavlanarak steril edilmiştir.

Peptonun hazırlanması

2g polipepton, 60 ml distile su içinde çözülmüş ve 121°C'de, 15 dk 1.5 atm basınç altında otoklavlanarak steril edilmiştir.

Sıvı kültür ortamı

5,25 g MHB, 9,25 g BHI, 0,0125 g MgSO₄, 0,0125 g FeSO₄, 0,625 g dekstroz, 1,25 g yeast ve 10 ml horse serumdan oluşmaktadır. Bu bileşenler 250 ml distile suya tamamlanarak, iyice çözdürülmüş, tüplere bölünmüş ve 121°C'de, 15 dk 1.5 atm basınç altında otoklavlanarak steril edilmiştir.

3.2. Yöntem

3.2.1. Antibakteriyal aktivite tayini

Neisseria gonorrhoeae izolatu Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD'dan temin edilmiştir. Kontrol amacıyla laboratuvarımızda Thayer Martin agar besiyerine ekimi yapıldıktan sonra mikroskopta incelenerek doğrulaması yapılmıştır. Agar kuyucuk difüzyon testi ve Mikrobroth dilüsyon teknikleri kullanılarak seftriakson (30 µg), gentamisin (30 µg ve 10 µg), gallik asit, ellagik asit, kafeik asit ve rutin *Neisseria gonorrhoeae* bakterisi üzerindeki etkileri incelenmiştir.

3.2.2. Agar kuyucuk difüzyon yöntemi

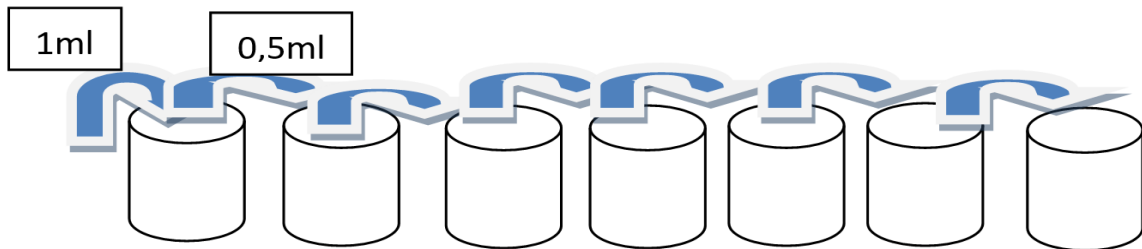
Agar kuyucuk difüzyon tekniği ile seftriakson (30 µg), gentamisin (30 µg ve 10 µg), gallik asit, ellagik asit, kafeik asit ve rutin fenolik maddelerinin *Neisseria gonorrhoeae* mikroorganizmasının üzerinde disk difüzyon testi uygulanmıştır. Bu amaçla, bakteri izolatları Thayer Martin Broth ortamına %1 ekim yapılmıştır ve 37°C'de 48 saat inkübasyona CO₂'li inkübatörde inkübe edilmiştir. Aktif test bakteri kültürü McFarland 0.5 bulanıklığına ayarlanmıştır. Öncelikle 120 mm çapındaki steril petrilere 25'er mL Thayer Martin agar besiyeri dökülüp ve steril kabinde donması beklenmiştir. Bulanıklığı ayarlanan bakteriler steril drigalski spatülü ile yayma ekimi yapıp, 30-40 dakika steril kabinde kapağı yarı açık şekilde kuruma işlemine

bırakılmıştır. Kuruma işleminin ardından antibiyotik diskleri yerleştirilmiştir. Fenolik maddeler için her maddeden 20 mg tartılmış ve boş disklere 50 µl yüklenmiştir. Diskler arasında bir birilerinden 2.5 cm, petri kenarlarından ise 1.5 cm olacak şekilde yerleştirme yapılmıştır. 24 saat süre ile CO₂ li inkübatörde inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra inhibisyon zon çapları cetvelle ölçülerek belirlenmiştir.

3.1.3. Mikrobroth dilüsyon yöntemi

Deney için “ U” tabanlı çukurlara sahip 96’lı kuyucuklu plakalar kullanılmıştır. Patojen test bakterisi olarak *Neisseria gonorrhoeae* mikroorganizması kullanılmıştır. Bu amaçla, bakteri izolatları Thayer Martin Broth ortamına %1 ekim yapılmıştır ve 37°C’de 48 saat inkübasyona CO₂ inkübatörde inkübe edilmiştir. Aktif test bakteri kültürü serum fizyolojik ile McFarland 0.5 bulanıklığına ayarlanmıştır. Plaklardaki A1-A10 kuyucuklarında seftriakson (5,625-180 µg), gentamisin (1,171-150 µg), gallik asit (6,25-200 µg) ve kafeik asit (12,5-200 µg), A11 kuyucuğu bakteri süspansiyonu içermeyen Muller Hinton Broth, A12 kuyucuğu ise antibiyotik ve madde içermeyen bakteri süspansiyonudur. Disk difüzyon testinde rutin ve ellajik asitde inhibisyon zonu gözlenmediği için, mikrobroth dilüsyon testinde bu iki madde kullanılmamıştır. Çoklu pipetle dilüsyonlar rezervuarlardan alınıp, plakalara eklenmiştir. Her bir kuyucuğa çoklu pipet yardımı ile 100 µl MHB besiyeri konulmuştur. Daha sonra MacFarland 0.5’e ayarlanmış test bakterileri sıra ile her plakaya 100 µl koyulmuştur. Plakalar 24 saat 37°C’de CO₂’li inkübatörde inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon ardından plakalara 10 µl rezasurin çözeltisi eklenmiştir. Plakalarda mavi renk üremenin olduğunu, pembe renk ise üremenin olmadığını belirtir.

Şekil 3. 1.Antibiyotiklerin ve fenolik maddelerin dilüsyonunun şekilsel gösterimi



Kaynak: (BioRender aracılığıyla yapılmıştır.)

3.1.4.Dama tahtası (Checkerboard) Yöntemi

Checkerboard yöntemi, iki antimikrobiyal ajanın birlikte kullanımının sinerjik, antagonistik veya additif etkilerini belirlemek amacıyla yaygın olarak kullanılan in vitro bir mikrodilüsyon testidir. Bu yöntem, genellikle 96 kuyucuklu mikrotitre plakalarında uygulanır ve her iki ajanın seri dilüsyonları yatay ve dikey eksen boyunca hazırlanarak kombinasyonlarının minimum inhibitör konsantrasyonları (MİK) belirlenir (Meletiadis ve ark.;2006).

Gecelik kültür hazırlanan bakteri yoğunluğu, Mcfarland 0.5'e göre ayarlanmak için FTS (fizyolojik tuz çözeltisi) kullanılmıştır. Plaklardaki A1-A10 kuyucuklarında seftriakson (0,351µg- 5,625µg), gentamisin (0,146 µg- 1,171µg), gentamisin (0,292 µg- 1,171µg), gallik asit (0,781µg - 6,25µg) ve kafeik asit (1,562µg -12,5 µg), A11 kuyucuğu bakteri süspansiyonu içermeyen Muller Hinton Broth, A12 kuyucuğu ise antibiyotik ve madde içermeyen bakteri süspansiyonu konulmuştur. Üzerine 100 µl bakteri solüsyonunu ilave edilmiştir.

İlk dört sıraya 100 µl örnekler ve 100 µl bakteri solüsyonu konulmuştur, burada kombinasyon yoktur sadece örneklerin konsantrasyonları bulunmaktadır. Daha sonra her bir kuyucuğa 50 µl fenolik asit + 50 µl antibiyotik konulmuş ve son olarak 100 µl bakteri solüsyonu ilave edilmiş, kuyucuklar 24 ila 48 saat boyunca karbondioksit inkübatörde inkübe edilmiştir.

İnkübasyonun ardından plakalara 10 µl rezasurin çözeltisi eklenmiştir. Plakalarda pembe renk üremenin olduğunu, mavi renk ise üremenin olmadığını belirtir ve kombinasyonun bakteri üremesini engellediği kuyucuk, kombine MİK (Minimal İnhibisyon Konsantrasyonu) değerlerini hesaplamak için kullanılmıştır.

3.1.5. FİK (Fraksiyonel İnhibisyon Konstrasyonu) Hesaplama Yöntemi

FİK değerini belirlemek için, test edilen iki örneğin tek başına ve kombinasyon halinde minimum inhibitör konsantrasyonlarını (MİK) kullanılmıştır.

Toplam FİK, kombinasyondaki her bir antimikrobiyal maddenin inhibisyon fraksiyonlarının toplanmasıyla hesaplanır, Formül şu şekilde verilir:

$$\text{FİK (A)} = \text{MİK (A+B)} / \text{MİK (A)}$$

$$\text{FİK (B)} = \text{MİK (B+A)} / \text{MİK (B)}$$

$$\text{FİK Değeri} = \text{FİK (A)} + \text{FİK (B)}$$

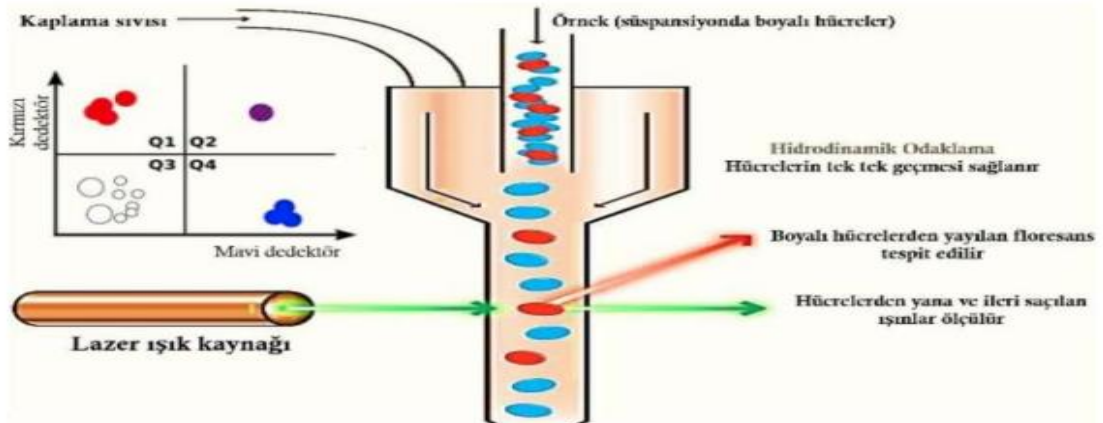
Tablo 3. 1. FİK'in yorumlanması (Fruya ve ark. ;2006)

FİK	Etkileşim	Yorum
$\leq 0,5$	Sinerji	Birlikte kullanılan etkenlerin etkisi,tek tek etkilerinin toplamından daha büyüktür.
$0,5 < FİK \leq 1$	Additif	Bireysel etkilerin toplamına benzer etki.
$1 < FİK \leq 4$	Kayıtsızlık(Indifference)	Aracılar arasında gözle görülür bir etkileşim yok.
> 4	Antagonizma	Kombine ajanların etkisi, tek başlarına kullanıldığında etkilerinden daha düşüktür.

3.1.6. Akış Sitometri Yöntemi

Akış sitometri cihazı, hücreler ölçüm cihazı yardımıyla süspanse halde süzülürken, hücrelerin boyutu ve granülaritesi gibi birçok fiziksel özelliğini aynı anda ölçebilen bir cihazdır. Bu, çalışılan hücrelerin yüzeyindeki hücrenin içindeki veya dışındaki molekülleri hedefleyen boyalardan elde edilebilen ışık saçılma özelliklerine bağlıdır. Görünür ışık saçılması, hücrenin göreceli boyutunu gösterebilen ileri saçılma veya FSC ve hücrenin iç karmaşıklığını veya ayrıntı düzeyini gösteren yan saçılma veya SSC olmak üzere iki farklı tarafta ölçülür (Kanev, M., ve Gökalp Muranlı, F. 2016) .

Görsel 3. 1. Akış sitometri çalışma prensibi (Kanev, M., ve Gökalp Muranlı, F. 2016) .



Genellikle LIVE/DEAD® BacLight™ kiti formunda kullanılan SYTO 9/PI testi, bakteri zarının bütünlüğüne göre canlı ve ölü bakterileri birbirinden ayırır. Her iki boya da DNA'ya bağlanır, ancak bakterinin durumuna bağlı olarak farklı davranışlar gösterirler. SYTO 9 Tüm bakterilere (canlı ve cansız) nüfuz eder ve Propidyum İyodür (PI) Sadece hasarlı bakteri zarlarına (ölü veya ölmekte olan bakteriler) geçer. Akış sitometrisinin gerçekleştirilmesi için her bileşiğin MİK değerleri kullanılmıştır. Her bir eppendorf tüpüne (50 µl ve 100 µl kombinasyon tüpleri için) bakteri süspansiyonu eklenerek 48 saat boyunca 37°C sıcaklıkta %5 CO₂'lü etüvde inkübasyona bırakılmıştır.

İnkübasyondan sonra eppendorf tüplerine 5 µl Syto9 ve 5 µl PI eklenmiştir, Eppendorf tüpleri 15 dakika boyunca oda ısısında karanlıkta bekletilmiştir ve akış sitometri cihazında 1x10⁴ bakteri sayılarak okutulmuş ve analizleri yapılmıştır.

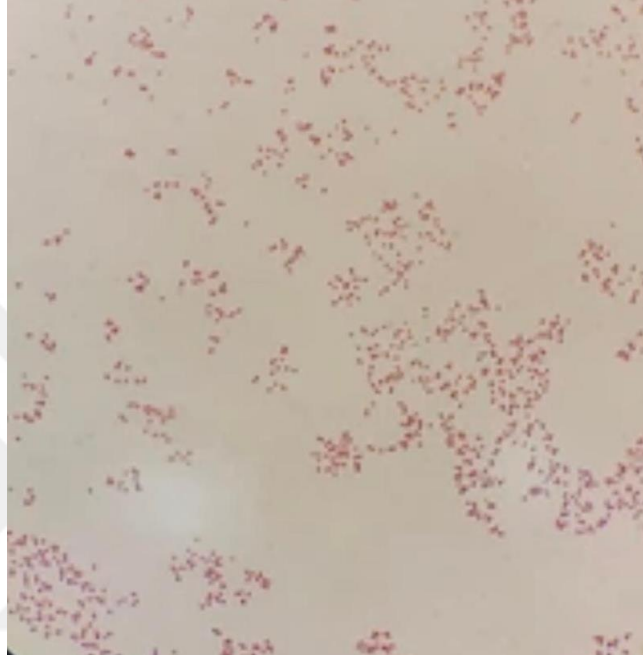
3.1.7. Etik bildirim

Tez kapsamında yapılan deneyler in vitro ortamda gerçekleştiği için bu çalışmada, etik bildirim yapılmasını gerektiren özel bir durum bulunmamaktadır.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Neisseria gonorrhoeae izolatu Thayer Martin agar besiyerine ekimi yapıldıktan sonra mikroskopta incelenerek doğrulaması yapılmış ve antimikrobiyal aktivite testleri uygulanmıştır(**Görsel 4.1**).

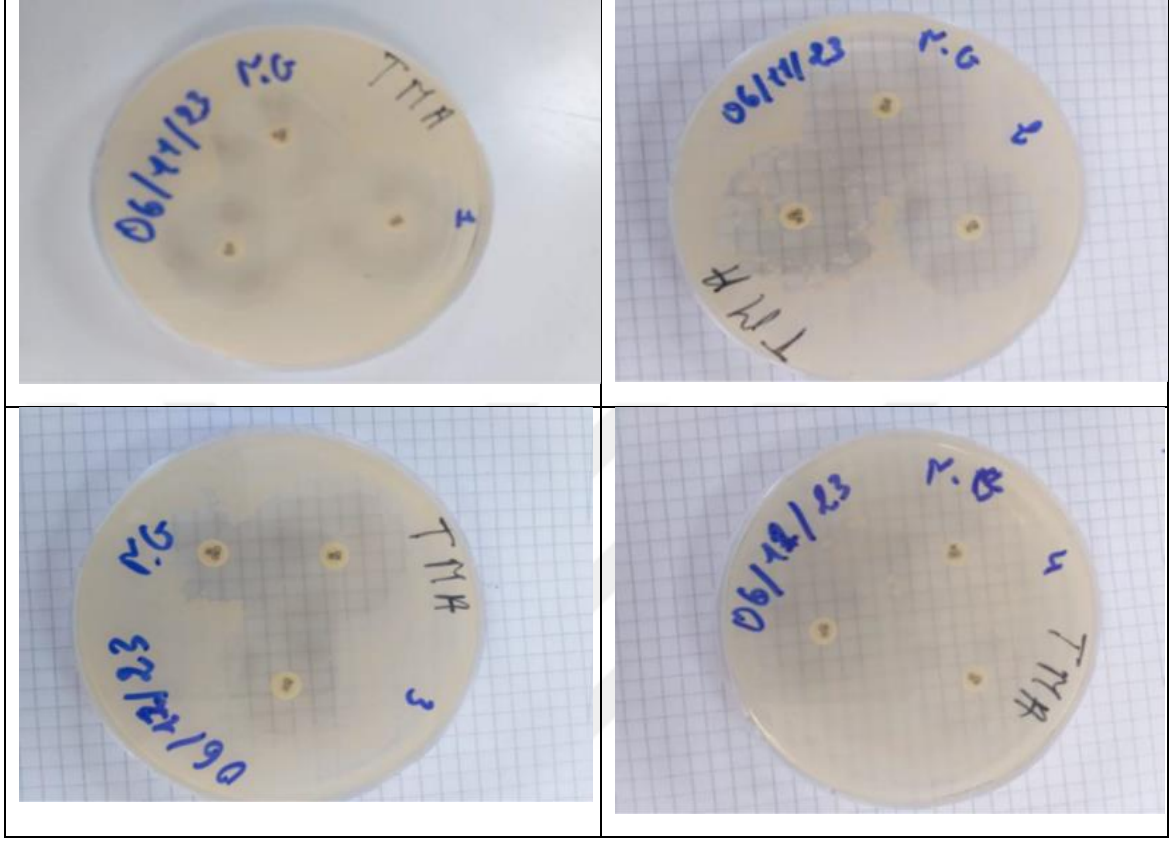
Görsel 4.1. Işık mikroskobunda *Neisseria gonorrhoeae*'nin görüntülenmesi. x40



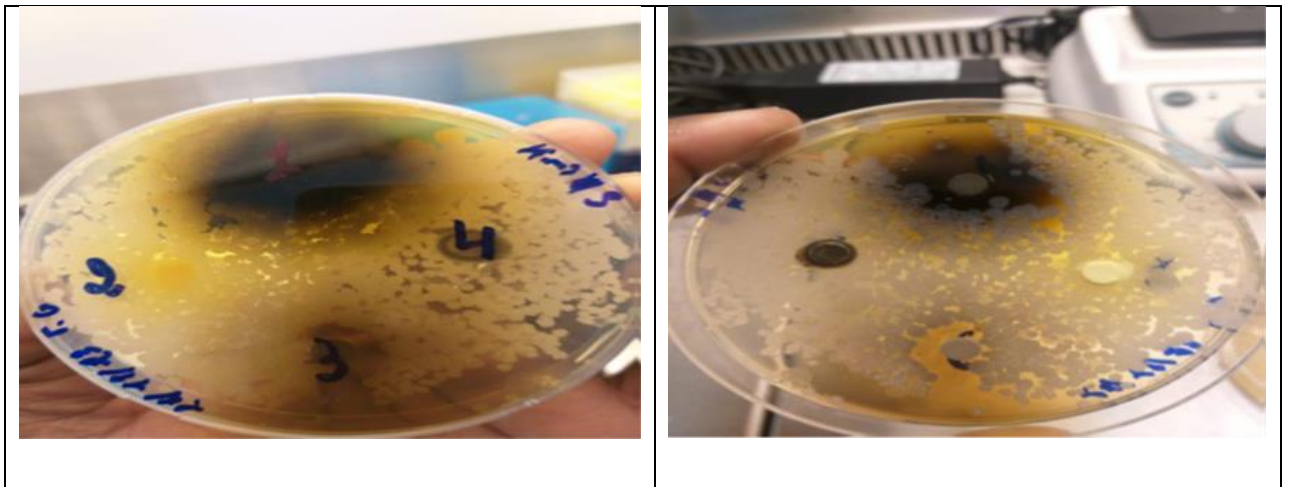
4.1. Disk Difüzyon testi

Sıvı besiyerinde gecelik kültürü hazırlanan bakteriler, ertesi gün peptonlu su ile Mc Farland 0.5 standart bulanıklığına göre ayarlanıp, petrilere yayma ekim yapılmıştır. Üzerine Gentamisin 30 µg ve 10 µg, Seftriakson 30 µg içeren diskler yerleştirilmiş, 48 saat süre ile CO₂ li inkübatörde inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra inhibisyon zon çapları cetvelle ölçülerek belirlenmiştir.

Görsel 4. 2. Antibiyotik disklerinin *Neisseria gonorrhoeae* üzerinde disk difüzyon testi sonuçları



Görsel 4.3. Fenolik asitlerin *Neisseria gonorrhoeae* üzerinde disk difüzyon testi sonuçları



Bu çalışmada dört adet fenolik asit kullanılmıştır, ancak rutin ve ellajik asit disk difüzyon yönteminde *N. gonorrhoeae* üzerinde antibakteriyel aktivite göstermemiştir. Gallik asit ve kafeik asit antibakteriyel aktivite göstermiş olup zon çapları Tablo 4.1. de verilmiştir.

Aynı zamanda gentamisin ve seftriakson da çalışılmış olup, her ikisi de *Neisseria gonorrhoeae* üzerinde etki göstermiştir, ancak gentamisin, seftriakson ile karşılaştırıldığında bir inhibisyon zonunun daha fazla olduğu gözlenmiştir, bu durum seftriaksonun bakteriye karşı birinci basamak tedavi olarak kullanılması ve bakterinin seftriakson'a karşı direnç mekanizması geliştirmiş olabileceğini düşündürmüştür.

Gallik asit ve kafeik asit, antioksidan kapasiteleri açısından önemli bileşiklerdir ancak aynı zamanda çeşitli dirençle mücadele etme potansiyeline sahip olduklarını gösteren yüksek antibakteriyel aktiviteye sahip oldukları belirlenmiştir (Yakobi et al., 2024).

Tablo 4.1.Antibiyotik ve fenolik asit disklerinin inhibisyon zon çaplarının sonuçları

Maddeler	<i>Neisseria gonorrhoeae</i> (zon çapları, mm)
Gentamisin 30 µg	34
Seftriakson 30 µg	30
Gentamisin 10 µg	30
Gallik asit (5mg)	10
Rutin (5mg)	Etki yok
Kafeik asit (5mg)	6
Ellagik asit (5mg)	Etki yok
Kafeik asit (5mg)+Gentamisin 10 µg	21
Kafeik asit (5mg)+Seftriakson 30 µg	12
Gallik asit (5mg)+Gentamisin10 µg	22
Gallik asit (5 mg)+Seftriakson 30 µg	14
Rutin (5 mg)+Gentamisin 30 µg	25
Rutin (5 mg)+Gentamisin 10 µg	20
Rutin (5 mg)+Seftriakson 30 µg	12
Ellajik asit(5mg)+Gentamisin 30 µg	25
Ellajik asit(5mg)+Gentamisin 10 µg	21

Elljgik asit(5 mg)+Seftriakson 10 µg	13
Kafeik asit(5 mg)+Gentamisin 10 µg	21
Kafeik asit(5 mg)+Seftriakson 30 µg	12

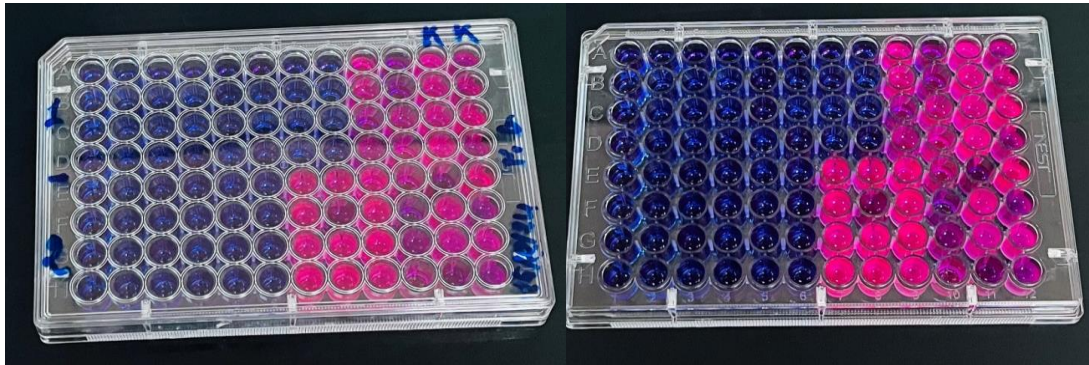
Gentamisin ve seftriakson'un *Neisseria gonorrhoeae* üzerinde etkisinin olduğu ve konsantrasyon artışına bağlı olarak inhibisyon zon çapının arttığı görülmüştür. Gentamisinin ortalamasının seftriaksondan daha yüksek olması, Dünya Sağlık Örgütü'nün *N. gonorrhoeae*'ye karşı birinci basamak tedavi olarak önerdiği seftriaksonun artık güvenilir olmadığını ve gentamisinin alternatif olabileceğini ortaya koymuştur.

4.2. Mikrobrot dilüsyon yöntemi

MİK değerleri, fenolik bileşiklerin hedef bakterilerin büyümesini engellediği konsantrasyonu göstermektedir (Yakobi et al., 2024).

Mikrobrot dilüsyon yöntemine göre ; gentamisin MİK değeri 1.171 µg/mL olarak bulunmuş olup, bakteri suşumuza karşı etkili olduğunu göstermektedir. Öte yandan, seftriaksonun MİK değerinin 6,25 µg/ml olduğu bulunmuş olup, seftriaksonun gentamisinden daha az antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu sonucuna varılmıştır; bu durum seftriaksonun birinci basamak tedavi olarak kullanılması ve bakterinin seftriakson'a karşı direnç mekanizmaları geliştirmesiyle ilgili olabileceğini düşündürmüştür (Görsel 4.4).

Görsel 4.4.Gentamisin (1) ve seftriaksonun (2) mikrobrot dilüsyon yöntemi sonuçları



2020 yılında Kanada'da yapılan bir çalışmada, gentamisin'in *Neisseria gonorrhoeae* üzerinde ≥ 32 mg/L'lik bir MİK'e sahip olduğunu ortaya koymuştur

(Thorington et al., 2022). Bu sonuç çalışmamızda elde edilen 1,171 µg/mL'lik sonuçtan daha yüksektir), bu fark, kullanılan suşların farklılığından kaynaklanabilmektedir.

2015-2016 yılları arasında gonokok izolatlarının gözetimi kapsamında Amerika Birleşik Devletleri'nde yürütülen bir çalışmada, *Neisseria gonorrhoeae* izolatlarındaki gentamisin minimum inhibitör konsantrasyonları (MİK) belirlenmiş, %27'sinde 4 µg/mL veya daha düşük bir MİK görülmüştür (Mann et al., 2018). Sonuçlar gentamisin'in *Neisseria gonorrhoeae* üzerinde etkili olduğunu ve MİK değerlerini çalışmamızda elde edilen 1.171 µg/mL'lik MİK değerinin daha etkili bir konsantrasyon olduğunu göstermektedir. Bu sonuçlardaki fark kullanılan suşların farklı coğrafi bölgelerden izole edilmesiyle açıklanabilir. Her iki çalışma karşılaştırıldığında ; 1,171 µg/mL'lik bir MİK değeri, kullanılan suşunun duyarlılığını arttığını yansıtmaktadır; bu durum, spesifik direnç mekanizmalarının bulunmamasına bağlanabilir. Elde edilen düşük MİK değeri, gentamisin'in gonore tedavisinde birinci basamak tedavi olarak kullanılmaması olmaması ile açıklanabilir.

2020 yılında yine Kanada'da yapılan bir çalışmada, seftriaksonun *Neisseria gonorrhoeae* üzerinde $\geq 0,125$ mg/L MİK değerine sahip olduğu ortaya konmuştur(Thorington et al., 2022); bu sonuç, çalışmamızda elde edilen 5,625 µg/µL'lik sonuçtan daha düşüktür, bu fark, kullanılan suşların farklılığından dolayı olabilir.

2012 yılında İsveç'teki Orebro Üniversitesi Hastanesi'nde yürütülen bir çalışmada, *N. gonorrhoeae* H041 ve F89'un XDR suşları için MİK değeri 2 ila 4 µg/mL bulunmuş (Unemo et al., 2012), bu sonuç bizim çalışmamızda elde edilen 5.625 µg/mL MİK değerine çok yakın olduğunu göstermektedir.

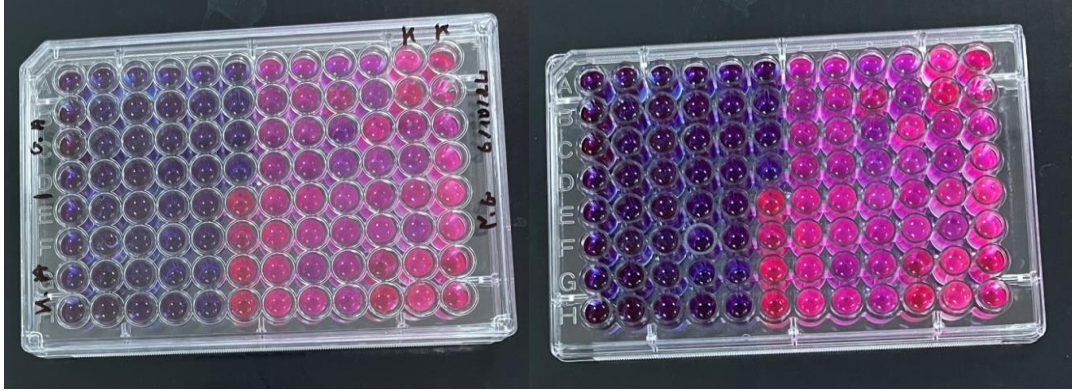
2011 yılında Japonya'da yapılan bir çalışmada, 31 yaşındaki bir kadından izole edilen *N. gonorrhoeae* suşu seftriaksona dirençli, 2 µg/mL'lik bir MİK değeri sonucunu vermiştir (Ohnishi et al., 2011).

Bu çalışmanın sonucu, çalışmamızda elde edilen MİK (5,625 µg/mL) değerine yakındır. Bu iki çalışma arasındaki yıl sayısı ve bakterilerin bu yıllar içerisinde geliştirebildiği farklı direnç mekanizmaları göz önüne alındığında, Japonya'daki bu çalışmada elde edilen bu sonucun, çalışmamızda elde ettiğimiz MİK değerinin güvenilirliğini ve diğer çalışmalarla olan paralellliğini göstermektedir.

MİK değerleri fenolik bileşiklerin hedef bakterilerin büyümesini engellediği konsantrasyonu göstermektedir (Yakobi et al., 2024). Fenolik asitler için, gallik asit 6,25 µg/mL'lik bir MİK değerine sahiptir, bu da bakteri türümüze karşı etkili olduğunu göstermektedir. Öte yandan, kafeik asitin MİK değeri 12,5 µg/mL bulunmuş olup, bu da gallik aside kıyasla daha az antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu sonucuna varılmıştır (Görsel 4.5).

Bu sonuçlar gallik asit ve kafeik asidin *Neisseria gonorrhoeae* üzerindeki antimikrobiyal potansiyelini ortaya koymaktadır.

Görsel 4.5.Kafeik asit (1) ve Gallik asitin (2) mikrobrot dilüsyon yöntemi sonuçları



Kafeik asit, birçok bitkide bulunan, antimikrobiyal, antioksidan ve antiinflamatuvar özellikleriyle bilinen fenolik bir bileşiktir. Bel soğukluğu neden olan patojen bir bakteri olan *Neisseria gonorrhoeae*'ye karşı antimikrobiyal ajan olarak potansiyeli birçok çalışmada araştırılmıştır.

Porto Portekiz Katolik Üniversitesinin Yüksek Biyoteknoloji Enstitüsünde fenolik asitlerin belirli mikroorganizmalar üzerindeki etkisi üzerine yapılan bir çalışmada, *Neisseria gonorrhoeae* üzerinde kafeik asidin 1 µg/mL'den büyük bir MİK değeri rapor edilmiştir (Alves ve ark., 2013). Bu sonuç bizim MİK değerimiz olan 12,5 µg/ml karşılaştırılabilir.

MİK değerlerinde gözlenen farklılığı, farklı duyarlılık profillerine sahip suşların kullanılmasından kaynaklanabileceği gibi, yine farklı yöntemlerle elde edilen fenolik bileşiklerin kullanımından da kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Birçok meyve, sebze ve bitkide bulunan doğal bir fenolik bileşik olan gallik asit, antimikrobiyal özellikleri nedeniyle giderek daha fazla ilgi görmektedir. Bel soğukluğu etkeni olan *Neisseria gonorrhoeae*'ye karşı etkinliği, geleneksel antibiyotiklere karşı artan direnç karşısında özellikle önem kazanmaktadır.

Güney Afrika KwaZulu-Natal Üniversitesi'nde 2023 yılında yapılan bir çalışmada, gallik asidin *Neisseria gonorrhoeae* üzerinde ortalama MİK değeri 27,5 µg/mL olarak bulunmuştur (Yakobi et al., 2024). Bu sonuç 6,25 µg/mL olan MİK değerine göre daha yüksektir, Bu sonucun farkı, Güney Afrika'daki doğal kaynaklardan elde edilen gallik asit kompozisyonu ve gallik asit içeriği ile açıklanabilir, bu da gallik asidin etkinliğini etkiler. Bu iki çalışmanın ortak noktası gallik asidin *Neisseria gonorrhoeae* üzerine etkili olmasıdır. 6,25 µg/mL MİK değerine sahip gallik asit, muhtemelen daha yüksek yoğunlukta hidroksil grubu içeren kimyasal yapısı nedeniyle daha etkili görünmektedir.

4.3. Dama tahtası (Checkerboard) Yöntemi Sonuçları

Checkerboard (Dama tahtası) yöntemi, iki farklı antimikrobiyal maddenin birlikte kullanımının mikroorganizmalar üzerindeki etkilerini değerlendirmek amacıyla geliştirilen kantitatif bir yöntemdir. Bu yöntemde, her iki ajanın çeşitli konsantrasyonlardaki seri dilüsyonları, 96 kuyucuklu mikrotitre plakalarında yatay ve dikey olarak kombine edilir. Uygulama sonucunda oluşan kombinasyonların mikroorganizmanın üremesini inhibe edip etmediği gözlemlenerek Minimum İnhibitör Konsantrasyonları (MIC) belirlenir. Ardından Fractional Inhibitory Concentration Index (FICI) hesaplanarak kombinasyonun etkileşim türü (sinerjik, additif, indifferent veya antagonistik) sınıflandırılır (Doern, 2014).

FİK değerinin hesaplanması

$$FİK (A) = MİK(A+B) / MİK (A)$$

$$FİK (B) = MİK(B+A) / MİK (B)$$

$$FİK Değeri = FİK (A) + FİK (B)$$

Yorumlama

$$FİK \leq 0,5 \quad \text{Sinergi}$$

$$FİK > 4,0 \quad \text{Antagonizm}$$

$$FİK > 0,5 - 1,0 \quad \text{Additif}$$

$$FİK > 1,0 - 4,0 \quad \text{Indifference}$$

Seftriakson-Gallik asit kombinasyonunun FİK değeri 0.38 dir, bu değer 0.5'ten küçüktür, bu kombinasyonun sinerjik etkisi vardır.

Seftriakson-Kafeik Asit kombinasyonun FİK değeri 0,49 dır, bu değer 0,5'ten küçüktür, yani bu kombinasyonun sinerjik etkisi vardır.

Gentamisin-Gallik Asit kombinasyonunun FİK değeri n 0.93 değerini vermiştir, bu değer 1'den küçük, 0.5'ten büyüktür, yani bu kombinasyonun katkısız (additif) etkisi vardır.

Gentamisin-Kafeik Asit kombinasyonunun FİK değeri 1.72 değerini verdi, bu değer 4'ten küçük ve 1'den büyüktür, bu nedenle bu kombinasyonun kayıtsızlık etkisi vardır.

Tablo 4.2.Dama tahtası yöntemi ile 96 kuyucuklu plakadaki yerleşim planı 1

S E F T R İ A K S O N	Kontrol Kuyucukları (Sadece mikroorganizma içermektedir)												S E F T R İ A K S O N
	5,625											5,625	
	2,812											2,812	
	1,406											1,406	
	0,703											0,703	
	0,351		MİK (A+B)							MİK (A+B)		0,351	
		0,390	0,781	1,562	3,125	6,25	12,5	6,25	3,125	1,562	0,78		
		GALLİK ASİT					KAFEİK ASİT						

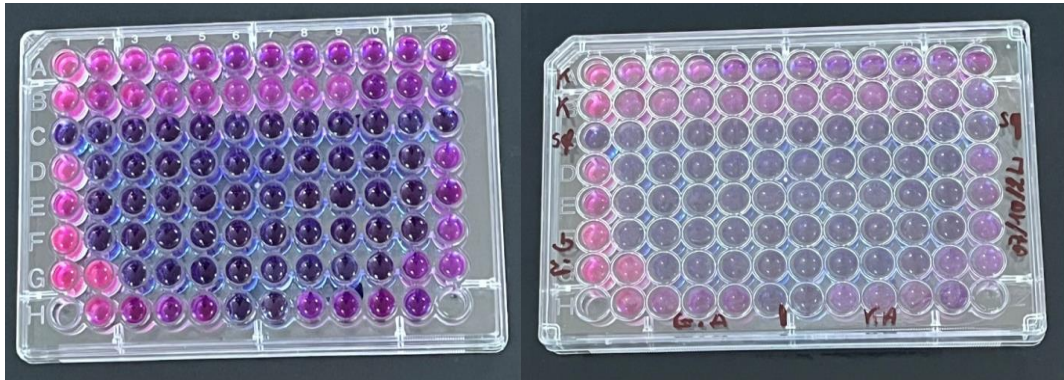
Seftriakson-gallik asit kombinasyonunun sonucu, *Neisseria gonorrhoeae* üzerinde $0,38 \leq 0,5$ 'lik bir FİK ile sinerjik etki gösterdi ve Seftriakson-kafeik asit kombinasyonunun sonucu, *Neisseria gonorrhoeae* üzerinde $0,49 \leq 0,5$ 'lik bir FİK ile sinerjik etki göstermiştir.

Neisseria gonorrhoeae üzerinde antibiyotiklerin antimikrobiyal aktivitesini güçlendiren bileşiklerin bulunması etkiyi arttırmaktadır. Fenolik asitlerin antibiyotiklerle sinerjik olarak etki edebilme yeteneği, *Neisseria gonorrhoeae*'daki antibiyotik direnci sorununu çözmeye yardımcı olan yeni bir yaklaşım olarak kabul edilmektedir.

Görsel 4.2.Seftriakson-Gallik asit ve Seftriakson-Kafeik asit kombinasyonlarının Dama tahtası yöntemi sonuçları

Fenolik asitlerin *Neisseria gonorrhoeae*'daki antibiyotik direncine karşı *in vitro* sinerjik aktivite çok sayıda bilimsel çalışma ile yaygın olarak gösterilmiş olmasına rağmen, *Neisseria gonorrhoeae*'da fenolik asitlerle antibiyotiklerin kombinasyonunu konu alan az sayıda çalışma yapılmıştır. Sinerji araştırmalarındaki bu ilerlemeler, enfeksiyonların tedavisi için yeni bitki kaynaklı antibakteriyel ajanların tasarlanma olasılığını arttırmaktadır. İki etkenin sinerjik etkileşimi, birinin diğerinin etkisini artırması ve tek başlarına olduklarından daha etkili bir şekilde birlikte hareket etmeleri, birçok bilim insanını bitki kaynaklı bileşiklerin ve geleneksel antibiyotiklerin sinerjik etkisinin önemini incelemeye ve değerlendirmeye yöneltmiştir.

Görsel 4.3.Seftriakson-Gallik asit ve Seftriakson-Kafeik asit kombinasyonlarının Dama tahtası yöntemi sonuçları



Tablo 4.3.Seftriakson-Gallik asit ve Seftriakson-Kafeik asit kombinasyonlarının Dama tahtası yöntemi ile FİK değerlerinin hesaplanması (A:Seftriakson ;B :Gallik Asit,A:Seftriakson ;B :Kafeik Asit)

	FİK(A)	FİK(B)	FİK	FİK değeri	Yorum
SEF+G	(0,351+0,781)/	(0,781+0,351)	0,20+0,18	0,38≤0,5	Sinerji
A	5,625	/6,25=0,18	=0,38		
	=0,20				
SEF+K	(1,562+0,351)/	(0,351+1,562)	0,34+0,15	0,49≤ 0,5	Sinerji
A	5,625=0,34	/12,5=0,15	=0,49		

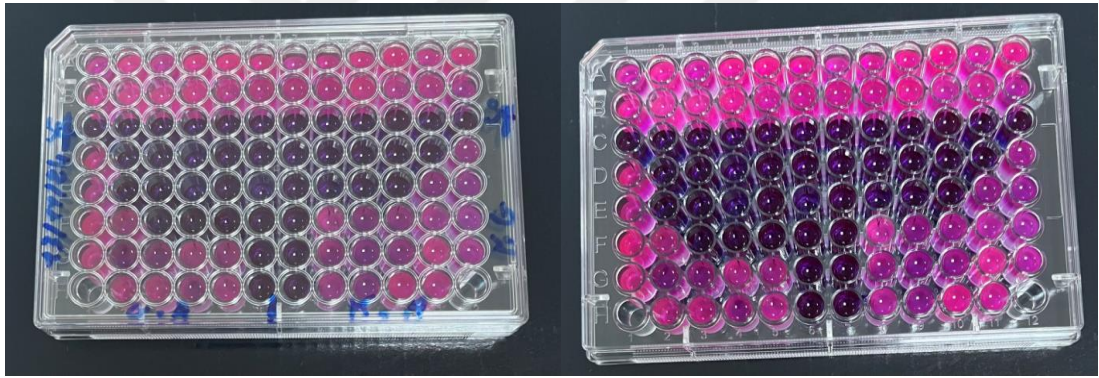
Tablo 4.4.Dama tahtası yöntemi ile 96 kuyucuklu plakadaki yerleşim planı 2

Kontrol Kuyucukları (Sadece mikroorganizma içermektedir)											
G E N T A M I S I N											
	1,171										1,171
	0,585										0,585
	0,292								MİK (A+B)		0,292
	0,146		MİK (A+B)								0,146
	0,073										0,073
		0,390	0,781	1,562	3,125	6,25	12,5	6,25	3,125	1,562	0,78
	GALLİK ASİT					KAFEİK ASİT					

Gentamisin-gallik asit kombinasyonunun sonucu *Neisseria gonorrhoeae* üzerinde 0,93<1'lik bir FİK ile additif etki gösterdi ve Gentamisin-kafeik asit kombinasyonunun sonucu *Neisseria gonorrhoeae* üzerinde 1<1,72<4'lük bir FİK ile kayıtsız etki gösterdi.

Neisseria gonorrhoeae'nin antibiyotik direncine karşı fenolik asitlerin in vitro ortamda sinerjik etkisi birçok bilimsel çalışmada gösterilmiş olsa da, bu bakteriye karşı fenolik asitler ile antibiyotiklerin birlikte kullanımını inceleyen araştırmalar hâlâ sınırlıdır. Sinerjiye yönelik bu araştırmalardaki ilerlemeler, enfeksiyonların tedavisinde bitki kökenli yeni antibakteriyel ajanların geliştirilmesine olanak tanımaktadır. İki maddenin sinerjik etkileşimi, birinin diğerinin etkisini artırarak birlikte, tek başlarına gösterdiklerinden daha güçlü bir etki oluşturmaları anlamına gelir. Bu durum, bilim insanlarını bitkisel bileşikler ile klasik antibiyotiklerin potansiyel sinerjik etkilerini araştırmaya ve değerlendirmeye yönlendirmektedir.

Görsel 4.4.Gentamisin-Gallik asit ve Gentamisin-Kafeik asit kombinasyonlarının Dama tahtası yöntemi sonuçları (A:Gentamisin ;B :Gallik Asit,A:Gentamisin;B :Kafeik Asit)



Tablo 4.5.Gentamisin-Gallik asit ve Gentamisin-Kafeik asit kombinasyonlarının Dama tahtası yöntemi ile FİK değerlerinin hesaplanması (A:Gentamisin ;B :Gallik Asit,A:Gentamisin;B :Kafeik Asit)

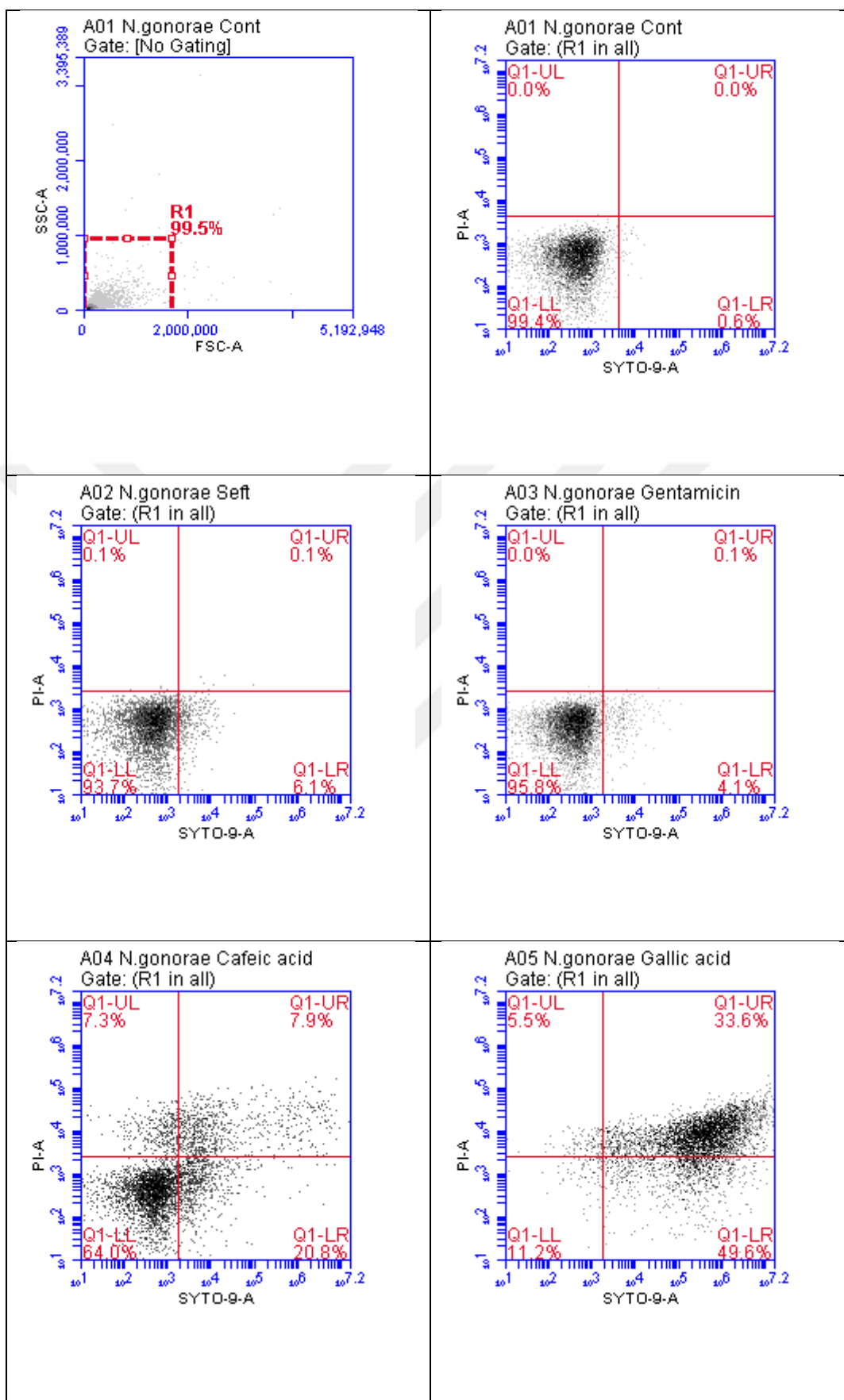
	FİK(A)	FİK(B)	FİK	FİK değeri	Yorum
GEN+G	(0,781+0,146)/	(0,146+0,781)	0,791+0,148=0	0,93<1	Additif
A	1,171=0,791	/6,25=0,93	,93		
GEN+K	(1,562+0,292)/	(0,292+1,562)	1,58+0,14=1,7	1<1,72<4	Indiffer
A	1,171=1,58	/12,5=0,14	2		ence

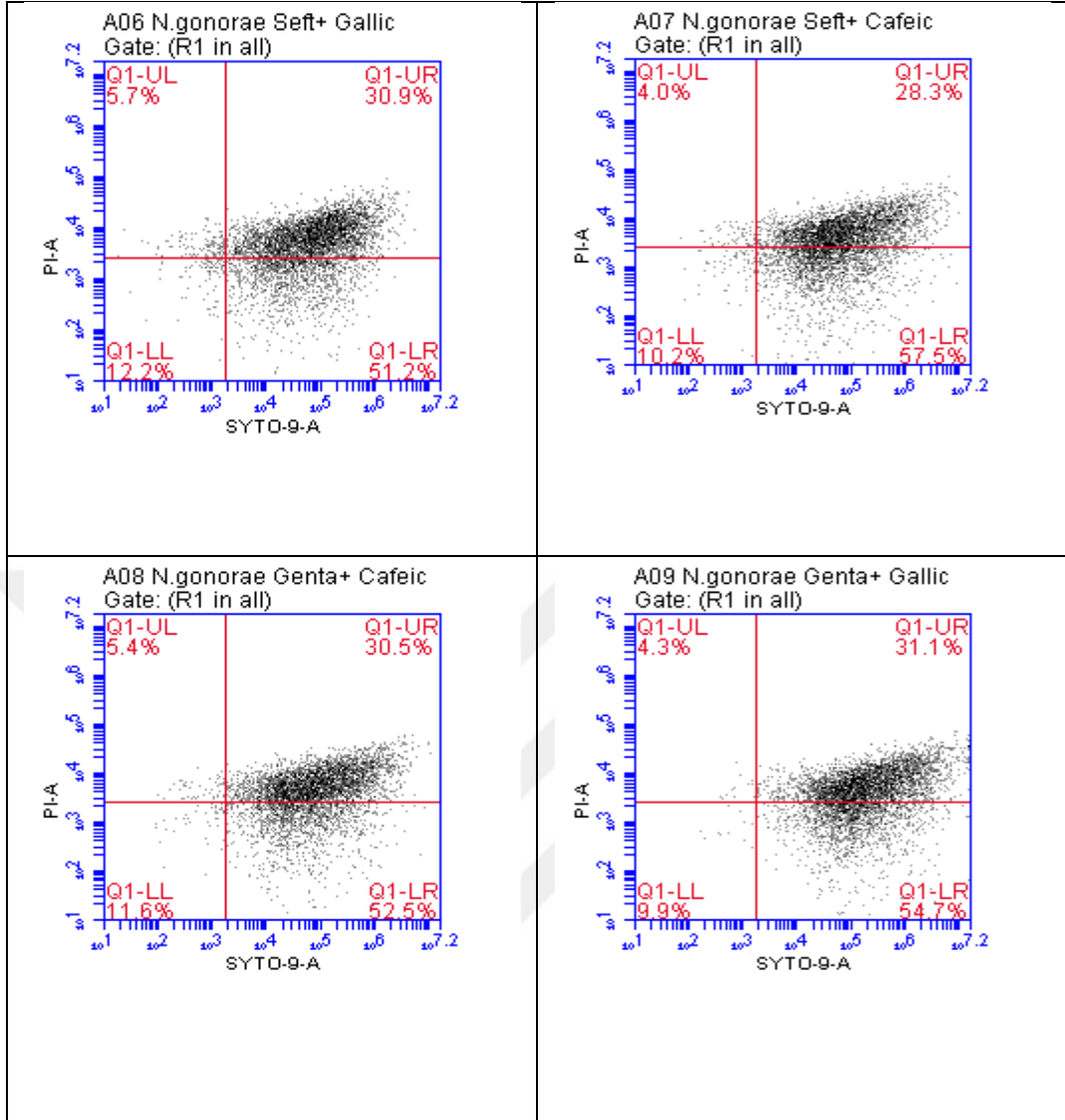
4.4. Akış Sitometri Yöntemi Sonuçları

Antibiyotik direncinin küresel düzeyde artması, enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde yeni yaklaşımların geliştirilmesini zorunlu kılmaktadır. Bu bağlamda, antimikrobiyal ajanların bakteriyel bakteriler üzerindeki etkilerinin hızlı ve hassas bir şekilde değerlendirilmesi büyük önem taşımaktadır. Flow sitometri, bakteriyel bakterilerin canlılık durumunu, membran bütünlüğünü ve apoptotik benzeri değişimlerini kantitatif olarak analiz etme imkânı sunan güçlü bir tekniktir. SYTO 9 ve Propidium Iodide (PI) boya ları, flow sitometri analizlerinde bakteriyel canlılık değerlendirmesi için yaygın olarak kullanılmaktadır. SYTO 9, hem canlı hem de ölü bakterilere penetre olabilen ve DNA'ya bağlandığında yeşil floresan yayan bir nükleik asit boyasıdır. Buna karşılık, PI yalnızca zar bütünlüğü bozulmuş bakterilere girebilir ve DNA'ya bağlandığında kırmızı floresan yayar. Bu çift boyama yöntemi, bakteriyel popülasyonların canlı, ölü ve zarar görmüş alt gruplara ayrılmasını sağlar. Son yıllarda yapılan çalışmalar, SYTO 9–PI çift boyama yönteminin, bakteriyel bakterilerin canlılık durumunu belirlemede etkili olduğunu göstermektedir (Snaidr ve ark. ; 2024)

Akış sitometri deneylerinde antibiyotiklerin ve fenolik asitlerin MİK değerleri konsantrasyon olarak kullanılmıştır. Elde edilen sonuçların dot plot şekilleri Şekil 4.1 de, analiz sonuçları ise Tablo 4.6 da verilmiştir.

Şekil 4.1.Akış sitometri analiz sonuçları





Elde edilen sonuçlara göre ; seftriakson, *N. gonorrhoeae* üzerinde apoptotik etkiye sahip olmadığı ve bakteri ölümüne de neden olmadığı görülmüştür. Bu durum seftriaksonun *N. gonorrhoeae* 'ye karşı güçlü bir sitotoksik etki göstermediğini ve tedaviden sonra bakterilerin büyük çoğunluğunun canlı kaldığını göstermektedir. Bu sonuç, seftriaksonun Dünya Sağlık Örgütü tarafından birinci basamak tedavi olarak önerilmesi ve bakterilerin zaman içinde seftriakson'a karşı direnç mekanizmaları geliştirmesiyle açıklanabilir. Erken apoptozisde hafif bir artış (%6,1) gözlenmiştir; bu da seftriakson'un tedaviden nispeten erken bir dönemde bakterilerin küçük bir kısmında programlanmış bakteri ölümü sürecini başlattığını göstermektedir. Erken apoptozis genellikle bakterinin daha şiddetli bakteri ölümü evrelerine ilerlemesinden önce onarılmış veya kontrol altına alınmış bir hasarın işaretidir. Geç apoptozis oranının çok

düşük olması (%0,1), Seftriakson'un ileri apoptozis durumundaki bakterilerde anlamlı bir birikime neden olmadığını düşündürmektedir. Nekroz oranı da oldukça düşüktür (%0,1). Bu da ilacın nekroza (çoğunlukla ciddi bakteri hasarıyla ilişkili olan kontrolsüz bakteri ölümü) yol açacak doğrudan ve onarılamaz bakteri hasarına neden olmadığını göstermektedir. Akış hücremetre deneylerinde MİK konsantrasyonları kullanılmıştır, MİK değeri bakteriyostatik etki değerini vermektedir. Bu nedenle bakteri ölümünün beklenen kadar olmadığı düşünülmektedir.

Gentamisin'in *N. gonorrhoeae* üzerindeki erken apoptozis oranı %4,1 olması, gentamisin'in tedaviden nispeten erken bir dönemde az miktarda bakterinin programlanmış bakteri ölümü (apoptozis) sürecine girmesini sağladığını düşündürmektedir. Bu durum, bakterilerin ölmeye karar vermeden önce onarmaya çalıştığı bakterisel hasarla ilgili olabilir. Geç apoptozis oranı çok düşüktür (%0,1), bu da gentamisin'in programlanmış bakteri ölümünün ileri aşamasında önemli bir bakteri birikimine neden olmadığı anlamına gelmektedir. Bu durum, erken apoptozu başlatan bakterilerin mutlaka bakteri ölümünün sonraki aşamalarına ilerlemediğini düşündürülebilir. Nekroz oranı %0,0 olup tedavi güvenliği açısından olumlu bir bulgudur. Bu durum, gentamisin'in, sıklıkla ciddi yaralanma veya geri döndürülemez bakteri hasarıyla ilişkili bir bakteri ölümü türü olan kontrolsüz bakteri ölümüne (nekroz) neden olmadığını göstermektedir.

Kafeik asitin'in *N. gonorrhoeae* üzerindeki erken apoptozis oranı %20,8 oldukça yüksek bir orandır. Bu durum, kafeik asidin çok sayıda bakteride hasara yol açtığını ve maruziyetin başlangıcında programlanmış bakteri ölümü sürecini tetiklediğini düşündürmektedir. Bakterilerin %7,9'u geç apoptozu uğramıştır, bunun nedeninin bakterilerin ek bir kısmının apoptozisin daha ileri evrelerinden geçtiğini, dolayısıyla kafeik asidin erken apoptozis başlangıcından sonra uzun süreli ve geri döndürülemez bakteri ölümünü başlatabileceğini göstermektedir. Nekroz oranının %7,3 olması, kafeik asidin aynı zamanda bakterilerin önemli bir kısmının kontrolsüz bir şekilde ölmesine (nekroz) neden olduğunun bir göstergesidir. Nekroz genellikle bakterinin bütünlüğünü korumasını engelleyen bakteri yapısının ciddi şekilde hasar görmesi veya bozulmasıyla ilişkilidir.

Gallik asit erken apoptoz oranı %49,6 bulunmuş, bakterilerin yarısından fazlasının bileşiğe maruz kaldıktan sonra oldukça hızlı bir şekilde programlanmış bakteri ölümünü başlattığını göstermektedir. Bu durum bakteriler üzerinde önemli bir etki gösteriyor ve geri dönüşü olmayacak şekilde hasar görmeden önce onları intihara zorluyor. %33,6'lık geç apoptozis, erken apoptoza başlamış bakterilerin yaklaşık üçte birinin daha ileri bakteri ölümü evrelerine ilerlediğini göstermektedir. Bu durum, gallik asidin uzun süreli bir etkiye sahip olduğunu ve bakterileri tam ve geri dönüşümsüz apoptoza zorladığını düşündürmektedir. Nekroz oranı ise %5,5 olup, bu da bakterilerin küçük bir kısmının kontrolsüz bir şekilde öldüğünü göstermektedir. Nekroz, apoptoza kıyasla nispeten düşük olmasına rağmen, gallik asidin aynı zamanda ciddi bakteri hasarına yol açarak bakteri bütünlüğünün kaybına neden olduğunu göstermektedir.

Seftriakson ve kafeik asidin birlikte uygulanması sonucu bakteri canlılık oranının %12,2 olduğu bu kombinasyonun güçlü bir sitotoksik etkiye sahip olduğunu göstermektedir. Kombine tedavi ile bakterilerin büyük bir kısmı (%87,8) apoptoza. Bakterilerin %51,2'si erken apoptoza uğramış, bakterilerin yarısından fazlasının tedavinin erken evrelerinde bakteri ölümü sürecine zorlandığını göstermektedir. Bu yanıt, bu kombinasyonun neden olduğu güçlü bakterisel stresi göstermektedir. Bakterilerin %30,9'u apoptozisin daha ileri evrelerine ilerler. Bu durum, erken apoptozis başladıktan sonra bakterilerin önemli bir kısmının geri dönüşümsüz bakteri ölümüne ilerlediğini göstermektedir. Bu yüksek oran, Seftriakson ve kafeik asidin kombine etkisinin sadece hızlı apoptoza değil, aynı zamanda bakteri ölüm sürecinin uzamasına da neden olduğunu göstermektedir. Nekroz oranının nispeten düşük olması (%5,7), kombine tedavinin önemli sitotoksik etkiye sahip olmasına rağmen bakteri ölümünün çoğunun bakteriye şiddetli hasar verilmesi (nekroz) nedeniyle değil, programlanmış bir şekilde (apoptoz) gerçekleştiğini göstermektedir.

Seftriakson ve Kafeik asit kombinasyonu bakterilerin %57,5'i erken apoptoza götürmüştür. Bu durum, bu kombinasyonun genellikle şiddetli bakterisel stresin bir işareti olan çok belirgin bir apoptotik yanıtı neden olduğunu göstermektedir. Bakterilerin %28,3'ünün apoptozisin daha ileri evrelerine ilerlediği, kombinasyonun etkisinden sonra bakterilerin büyük bir kısmında apoptozisin ilerlediğini düşündürmektedir. Özellikle kafeik asidin, bakterileri kontrollü bakteri ölümüne zorladığı ve bu bakterilerin önemli bir kısmının bu evreyi atlattığını göstermektedir.

Nekroz oranı %4,0 olup, diğer bakteri ölüm şekilleriyle karşılaştırıldığında oldukça düşüktür. Bu durum, bazı bakterilerde ciddi hasar meydana gelmesine rağmen, bu kombinasyonun neden olduğu bakteri ölümlerinin büyük çoğunluğunun nekroz değil, apoptozis yoluyla gerçekleştiğini ve bunun da kontrollü, travmatik olmayan bir bakteri ölümü sürecinin işareti olduğunu göstermektedir.

Gentamisin ve kafeik asit kombinasyonunun bakterilerin %52,5'inin erken apoptoza uğradığı, bu durumun bakterilerin yarısından fazlasının kombinasyonun etkisinden oldukça erken bir zamanda programlanmış bakteri ölümü sürecine başladığı anlamına geldiği görülmüştür. Bu durum, bu iki bileşiğin kombinasyonunun önemli bakterisel strese neden olarak apoptozis mekanizmalarının aktivasyonuna yol açtığını düşündürmektedir. Bakterilerin %30,5'inin apoptozisin daha ileri evrelerine ilerlemesi, bu kombinasyonun sadece erken apoptozu başlatmakla kalmayıp, aynı zamanda bakterilerin önemli bir kısmının geri dönüşümsüz bakteri ölümüne doğru ilerlemesini sağladığını göstermektedir. Bu sayede bakteriler üzerinde daha uzun süreli ve yoğun bir etki görülüyor. Nekroz oranı %5,4 olup, bu oran nispeten düşük olmakla birlikte, bu kombinasyonun aynı zamanda bazı bakterilerde ciddi hasara yol açarak kontrolsüz bakteri ölümüne yol açtığını göstermektedir.

Gentamisin ve gallik asit kombinasyonu *N. gonorrhoeae* bakterilerinin %54,7'sinde erken apoptoza neden olmuştur. Bu durum, kombinasyonun bakteri üzerindeki etkisinin erken evrelerinde bakterilerinin yarısından fazlasının programlanmış bakteri ölümü sürecini başlattığını ve bunun bu kombinasyonun neden olduğu yoğun bakterisel stresle bağlantılı olabileceğini göstermektedir. Bakterilerin %31,1'inin apoptozisin daha ileri bir aşamasına ilerlediği, gallik asit ve gentamisin'in sadece hızlı apoptoza neden olmadığını, aynı zamanda bakterilerin önemli bir kısmında geri dönüşümsüz bakteri ölümüne doğru ilerlediğini göstermektedir. Nekroz oranı %4,3'tür ki bu nispeten düşüktür ancak bakterilerin küçük bir kısmının ciddi hasara uğradığını ve kontrolsüz bir şekilde öldüğünü gösterir. Ancak ölü bakterilerin büyük çoğunluğunun nekrozdan ziyade apoptoza uğradığı görülmektedir.

Tablo 4.6.Akış sitometrisi analiz verileri

	Canlı	Erken Apoptoz	Geç Apoptoz	Nekroz
Kontrol	99.4	0.6	0.0	0.0
Seftriakson	93.7	6.1	0.1	0.1
Gentamisin	95.8	4.1	0.1	0.0
Kafeik asit	64.0	20.8	7.9	7.3
Gallik asit	11.2	49.6	33.6	5.5
Seftriakson+Gallik asit	12.2	51.2	30.9	5.7
Seftriakson+ Kafeik asit	10.2	57.5	28.3	4.0
Gentamisin+Kafeik asit	11.6	52.5	30.5	5.4
Gentamisin+Gallik asit	9.9	54.7	31.1	4.3

Kafeik ve gallik asitin önemli sitotoksik etkiye sahip olduğu görülmektedir. Kafeik asit, erken dönemde önemli apoptozise neden olan gallik aside kıyasla daha ılımlı bir etki oluşturmaktadır. Bu durum, gallik asidin *N. gonorrhoeae*'ye karşı terapötik potansiyele sahip olabileceğini, ancak aynı zamanda yüksek toksisite potansiyeline sahip olduğunu düşündürmektedir. Bu asitler oksidatif strese veya DNA hasarına yol açarak bakteri ölümüne neden olabilir. Sonuçlar, gallik asidin daha etkili olabileceğini, ancak sağlıklı bakteriler üzerindeki yan etki açısından daha tehlikeli olabileceğini düşündürmektedir.

Normalde bakteriyel enfeksiyonlarla mücadelede kullanılan seftriakson ve gentamisin antibiyotikleri, *N. gonorrhoeae* üzerinde orta düzeyde etki göstermektedir. Bu durum, bakterinin zamanla moleküllerine karşı direnç mekanizmaları geliştirmiş olmasıyla açıklanabilir.

Seftriakson veya Gentamisin'in kafeik veya gallik asitle kombinasyonları *N. gonorrhoeae* üzerinde sinerjistik etki göstererek toksisiteyi arttırmaktadır. Bu durum antibiyotikler ile polifenoller arasında bir etkileşim olabileceğini, polifenollerin antibiyotiklerin sitotoksik etkilerini artırabileceğini düşündürmektedir. Bu sonuçların gonore tedavisinde yeni kombine tedavi stratejileri üzerine yapılan araştırmalarda ilgi çekici olabileceği düşünülmektedir.

Kafeik ve gallik asit gibi polifenollerle yapılan tedavilerin güçlü sitotoksik potansiyele sahip olduğu görülmektedir. Seftriakson ve Gentamisin orta düzeyde etki oluşturmalarına rağmen, bu bileşiklerle kombinasyonları potansiyel olarak apoptozis yoluyla bakteri ölümünü artırabilir. Bu sonuçlar, olası yan etkilerini de hesaba katarak, bu tedavilerin belirli terapötik bağlamlarda kullanımını araştırmak için daha ileri çalışmalara zemin hazırlayabilir.

Thakur ve arkadaşları tarafından 2019 yılında, yapılan, 5'-Karboksiflorosceinsüksidil Ester Kullanılarak *Neisseria gonorrhoeae* için akış sitometrisi tabanlı yapışma testinin geliştirilmesine yönelik bir çalışmada (CFSE Yapışma), ME-180 hücrelerinin %20,3'ünün (+/- 1,0) CFSE etiketli *N. gonorrhoeae* ile ilişkili olduğu gözlemlenmiştir. Isı ile aktive edilen hiperimmün serumun 1:10 ve 1:80 oranında seyreltilmesi, sitometri tabanlı (Apoptozis/Canlılık) bir çalışma olan çalışmamıza kıyasla gonokokal adezyonu sırasıyla 6 ve 3 kat anlamlı şekilde inhibe etmiş. Kombinasyonlar (antibiyotik + fenolik asitler) *Neisseria gonorrhoeae* üzerinde bakterisidal etki gösterdi, erken ve geç apoptozu indüklemiş, canlılıkta önemli bir azalmaya (<%12) ve güçlü bir apoptoz indüksiyonuna (>%80 kümülatif) neden olmuş ve potansiyel bir sinerjistik etkiyi ortaya koymuştur (Thakur ve ark., 2019).

Bu iki yaklaşımın karşılaştırılması, önleme ve tedavi arasındaki stratejik tamamlayıcılığı vurgular: bir yandan, patojenin konak hücrelere ilk yapışmasını spesifik antikörler kullanarak önlemek, enfeksiyonu erken aşamasında durdurabilir; Öte yandan, enfeksiyon başladıktan sonra sinerjik antimikrobiyal ajanların kombinasyonları kullanılarak tedavilerin etkinliğinin güçlendirilmesi, dirençli suşlarla karşı karşıya kalındığında bile klinik sonuçları iyileştirebilir.

Sonuç olarak bu sonuçlar klasik tedavi yaklaşımlarının doğal ve immünolojik stratejilerle birleştirilmesinin önemini vurgulamaktadır. Optimize edilmiş antibiyotikler,

hedefli etkiye sahip doğal bileşikler ve yapışma proteinlerine karşı yönlendirilmiş antikorlar da dahil olmak üzere kombinasyon tedavilerinin gelecekteki gelişimi, dirençli gonokok enfeksiyonlarının artışına karşı küresel bir yanıt oluşturabilir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER :

Neisseria gonorrhoeae'nin seftriaksona karşı artan direnci göz önüne alınarak, bu çalışmada gallik asit ve kafeik asidin tek başına veya antibiyotiklerle kombine kullanımının antibakteriyel etkisi disk difüzyon, mikrobrot dilüsyon, Dama tahtası yöntemleriyle, apoptotik etkileri de akış hücremetreye değerlendirilmiştir. Elde edilen MİK değerleri sırasıyla Gentamisin: 1,171 µg, Seftriakson: 5,625 µg, Kafeik asit: 12,5 µg, Gallik asit: 6,25 µg olarak bulunmuştur.. Dama tahtası yöntemine göre ; Seftriakson + Gallik asit (FİK = 0,38), Seftriakson + Kafeik asit (FİK=0,49) iki grup arasında bir sinerjistik etki olduğu belirlenmiş; Gentamisin + Gallik asit kombinasyonunda katkısız bir etki gösterdiği (FİK = 0,93), Gentamisin + Kafeik asitin ise anlamlı bir etkisi olmadığı görülmüştür (FİK = 1,72). Flow sitometri sonuçlarında antibiyotikler tek başına erken apoptozda hafif bir artış göstermiş, ancak bakteri canlılığını yüksek seviyede korunmuştur. Fenolik bileşikler (özellikle gallik asit) güçlü apoptozu indüklerken, canlılıkta belirgin bir azalmaya neden olmuştur. Kombinasyonlar (antibiyotik + fenolik asitler) *Neisseria gonorrhoeae* üzerinde bakteriyosidal etki gösterirken erken ve geç apoptozise neden olmuş, canlılıkta önemli bir düşüş (<%12) ve güçlü bir apoptozis indüksiyonu (>%80 kümülatif) meydana getirmiş ve potansiyel bir sinerjistik etki göstermiştir.

Bu çalışmada *Neisseria gonorrhoeae*'ye karşı antibiyotik + fenolik asit kombinasyonlarının tedavi edici potansiyeli vurgulanmış olup, bakteriyel apoptozisin indüklenmesi ve canlılığın azaltılması açısından ümit verici sonuçlar elde edilmiştir. Bu bulgu, dirençli *Neisseria gonorrhoeae* enfeksiyonlarıyla mücadele için yeni stratejilerin önünü açmakta, ancak klinik uygulamalara geçiş için için daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır. Elde edilen sonuçlara göre ; gelecekte *Neisseria gonorrhoeae*'nin çeşitli suşları üzerinde doğrulama çalışmaları, özellikle antibiyotiklere dirençli olan klinik suşlara genişleterek, artan direnç bağlamında kombinasyonların gerçek ve potansiyel etkinliğini değerlendirilebilir. Moleküler mekanizmaların değerlendirilmesi için doğal bileşiklerin (örn. oksidatif stres, kaspazlar, DNA hasarı, vb.) neden olduğu apoptozda

rol oynayan sinyal yollarını incelenebilir. İnsan (bakteriyel olmayan) bakterilerinde sitotoksosite çalışmaları tasarlayarak ; bu bileşiklerin ve bunların kombinasyonlarının Neisseria için seçici olarak toksik olup olmadığını, yoksa normal insan bakterilerini (örneğin genital bölgenin epitel bakterileri) de etkileyip etkilemediğini doğrulama çalışmaları yapılabilir. Son olarak da; formülasyon ve hedeflenen salım ile bileşikleri daha hassas ve daha az yan etkiyle enfeksiyöz bölgeye ulaştırmak için kontrollü salımlı formülasyonların (örneğin nanopartiküller) kullanılma olasılığını araştırılabilir.



KAYNAKÇA

- Ağaçfıdan A., Özden A. (1999) Cinsel Temasla Bulaşan Hastalıklar. T. Mikrobiyoloji Cemiyeti Yayını 81.
- Alves, M. J., Ferreira, I. C. F. R., Froufe, H. J. C., Abreu, R. M. V., Martins, A., & Pintado, M. (2013). Antimicrobial activity of phenolic compounds identified in wild mushrooms, SAR analysis and docking studies. *Journal of Applied Microbiology*, 115(2), 346-357. <https://doi.org/10.1111/jam.12196>.
- Aneta, W., O. Jan and C. Renata. Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food Chem* 2007; 105 : 940-949.
- Avril JL, Dabernat H, Denis F, Monteil H. *Bactériologie clinique*. Paris, Ellipses, 2000. 74-106.
- Bardin T. Gonococcal arthritis. *Best Pract Res* 2003. 17 : 201-208.
- Battraud, M. Paul, (2017). La résistance aux antibiotiques, un mythe ou une réalité ?. (Thèse de doctorat, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Lille).
- (Burt 2004; Cushnie & Lamb 2005).
- Centers for Disease Control and Prevention. Screening tests to detect Chlamydia trachomatis and Neisseria gonorrhoeae infections. *MMWR* 2002. 51.
- Choi KH, Nam KC, Lee SY, Cho G, Jung JS, Kim HJ, Park BJ, 2017. Antioxidant potential and antibacterial efficiency of caffeic acid-functionalized ZnO nanoparticles. *Nanomaterials*, 7(6), 148.
- Cloud-Hansen KA, Hackett KT, Garcia DL, Dillard JP. Neisseria gonorrhoeae uses two lytic transglycosylases to produce cytotoxic peptidoglycan monomers. *J Bacteriol* 2008. 190 : 5989-5994.
- Colina, J. R., Suwalsky, M., Manrique-Moreno, M., Petit, K., Aguilar, L. F., JemiolaRzeminska, M., & Strzalka, K., 2019, An in vitro study of the protective effect of caffeic acid on human erythrocytes, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 662, 75–82 pp.
- Collège National des gynécologues et obstétriciens français (CNGOF). *Abrégés de Gynécologie Obstétrique*. Paris, Masson, 2006. 93-102.
- Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie. *Recommandations* 2010.
- Cosentino LA, Landers DV, Hillier SL. Detection of Chlamydia trachomatis and Neisseria gonorrhoeae by strand displacement amplification and relevance of the amplification control for use with vaginal swab specimens. *J Clin Microbiol* 2003. 41 : 3592- 3596.
- Courvalin P, Leclercq R, Binger E. *Antibiogramme*. Paris, Eska, 2006. 429-434. (s. d.). (Cushnie & Lamb 2005; Cushnie & Lamb 2011).
- Dal Conte I, Starnino S, Di Perri G, Stefanelli P. Disseminated gonococcal infection in an immunocompetent patient caused by an imported Neisseria gonorrhoeae multidrugresistant strain. *J Clin Microbiol* 2006. 44 : 3833-3834.

- De Souza, J., et al. (2019). « Synergistic antimicrobial activity of ceftriaxone combined with phenolic acids against *Neisseria gonorrhoeae*. » *Journal of Applied Microbiology*, 127(3), 806-813. DOI: 10.1111/jam.14132.
- Denis F, Ploy MC, Martin C, Bingen E. *Bactériologie médicale : Techniques usuelles*. Paris, Masson, 2007. 287-294.
- Derrick JP, Urwin R, Suker J, Feavers IM, Maiden MCJ. Structural and evolutionary inference from molecular variation in *Neisseria* porins. *Infect Immun* 1999. 67 : 2406-2413.
- Doern, C. D. (2014). When does 2 plus 2 equal 5? A review of antimicrobial synergy testing. *Journal of Clinical Microbiology*, 52(12), 4124–4128. <https://doi.org/10.1128/JCM.02321-14>
- Dominique S, Delmas V, Horpitan V, Boccon-Gibod L. *Infections génitales masculines*. EMC – Maladies infectieuses 2004. 1 : 55-65.
- Edwards JL, Apicella MA. The molecular mechanisms used by *Neisseria gonorrhoeae* to initiate infection differ between men and women. *Clin Microbiol Rev* 2004. 17 : 965-981.
- Edwards JL. The role of complement in gonococcal infection of cervical epithelia. *Vaccine* 2008. 26 : 156-161.
- Fontana C, Favaro M, Cicchetti O, Minelli S, Pistoia ES, Favalli C. Performance of strand displacement amplification assay in the detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae*. *Jpn J Infect Dis* 2005. 58 : 283-288.
- Furuya, R., Tanaka, M., Nakayama, H., Kanayama, A., Saika, T., Iyoda, T., ... & Kobayashi, I. (2006). In vitro synergistic effects of double combinations of β -lactams and azithromycin against clinical isolates of *Neisseria gonorrhoeae*. *Journal of infection and chemotherapy*, 12(4), 172-176.
- Ghosh SK, Zhao J, Philogene MC, Alzaharani A, Rane S, Banerjee A. Pathogenic consequences of *Neisseria gonorrhoeae* pilin glycan variation. *Microbes Infect* 2004. 6 : 693- 701.
- Ghosn SH, Kibbi AG. Cutaneous gonococcal infections. *Clin Dermatol* 2004. 22 : 476-480.
- Gill, N.S., J. Bajwa, P. Sharma, K. Dhiman and S. Sood. Evaluation of antioxidant and antiulcer activity of traditionally consumed *Cucumis melo* seeds. *J. Pharmacol. Toxicol* 2011; 6 : 82-89.
- Goetz, G., Fkyerat, A, Métais, N., Kunz, M., Tabacchi, R., Pezet, R. & Pont, V., 1999. Resistance factors to grey mould in grape berries: Identification of some phenolics inhibitors of *Botrytis cinerea* stilbene oxidase. *Phytochemistry*, 52(5), p.759–767.
- Goodyear-Smith F. What is the evidence for non-sexual transmission of gonorrhoea in children after the neonatal period? A systematic review. *J Forensic Leg Med* 2007. 14 : 489- 502.
- Gürel M, Cengiz A.T. (2004) *Mikrobiyoloji Bakteriyoloji Bölüm II* 704-709 ; 382-387.

- Halioua B, Lassau F, Janier M, Dupin N, Bouscarat F, Chartier C. Gonococcie. Ann Dermatol Venereol 2006. 133 : 11-12.
- HAS. Note de cadrage : Stratégies de dépistage de l'infection à *Neisseria gonorrhoeae* en France en 2009.
- Hedges SR, Mayo MS, Mestecky J, Hook EW, Russel MW. Limited local and systemic antibody responses to *Neisseria gonorrhoeae* during uncomplicated genital infections. Infect Immun 1999. 67 : 3937-3946.
- Judlin PG, Thiebaugeorges O. Physiopathologie, diagnostic et prise en charge des infections génitales hautes. Gynecol Obstet Fertil 2009. 37 : 172-182.
- Judson F.N. (1990) Gonorrhoe Medical Clining North America 74 ;1353.
- Kanev, M., & Gökalp Muranlı, F. (2016). Flow sitometri ve kullanım alanları. Sakarya University Journal of Science, 20(1), 33-38.
- Koneman E.W. , Allen S.D. , Janda W.M. et al. *Neisseria species and Moraxella catarrhalis*.. In : Diagnostic Microbiology, 2002 5ht ed ; 491.
- Krause W. Male accessory gland infection. Andrologia 2008. 40 : 113-116.
- (Lambert & Stratford 1999; Naïtali & Dubois-Brissonnet 2017).
- Le Lin B, Pastore R, Liassine N, Aramburu C, Sudre P. A new sexually transmitted infection (STI) in Geneva ? Ciprofloxacin-resistant *Neisseria gonorrhoeae*, 2002-2005. Swiss Med Wkly 2008. 138 : 243-246.
- Legrand, O. (2017). Implication du pharmacien hospitalier dans la prise en charge des infections a bactéries multirésistantes : Revue de pertinence des prescriptions de Pipéracilline /Tazobactam et épargne des antibiotiques a large spectres au centre hospitalier d'Aubagne Université d'Aix-Marseille.
- Levens E. Disseminated gonococcal infection. Prim Care Update Ob/Gyns 2003. 10 : 217-219.
- LiMaye AR. Disseminated gonococcal infection in women. Prim Care Update Ob/Gyns 2003. 186-190.
- Link, K.P., Angell, H. & Walker, J., 1929. The isolation of protocatechuic acid from pigmented onion scales and its significance in relation to disease resistance in onions. Journal of Biological Chemistry, 81(2), p.369.
- Little JW. Gonorrhea : Update. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2006. 101 : 137-143.
- Mangin, L. (2016). Antibiotiques et résistances : Enquête sur les connaissances et les comportements du grand public (Doctoral dissertation, Université de Lorraine).
- Mann, L. M., Kirkcaldy, R. D., Papp, J. R., & Torrone, E. A. (2018). Susceptibility of *Neisseria gonorrhoeae* to Gentamicin—Gonococcal Isolate Surveillance Project, 2015–2016. Sexually Transmitted Diseases, 45(2), 96-98. <https://doi.org/10.1097/OLQ.0000000000000693>.
- Marazzo JM, Martin DH. Management of women with cervicitis. Clin Infect Dis 2007. 44 : 102-110.
- Martin IMC, Hoffmann S, Ison CA. European Surveillance of Sexually Transmitted Infections (ESSTI): The first combined antimicrobial susceptibility data for

- Neisseria gonorrhoeae* in Western Europe. *J Antimicrob Chemother* 2006. 58 : 587-593.
- Mary-Ann Shafer, Jeanne Moncada, Cherrie B. Boyer et al. (2011) Comparing First-Void Urine Specimens, Self-Collected Vaginal Swabs, and Endocervical Specimens To Detect *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* by a Nucleic Acid Amplification Test, *Journal Of Clinical Microbiology*. 4395–4399.
- McLean C, Wang S, Hoff G, Dennis L, Trees D, Knapp JS, Markowitz LE, Levine WC. The emergence of *Neisseria gonorrhoeae* with decreased susceptibility to azithromycin in Kansas City, Missouri, 1999 to 2000. *Sex Transm Dis* 2004. 31 : 73-78.
- Meletiadiis, J., Pournaras, S., Roilides, E., & Walsh, T. J. (2010). Defining fractional inhibitory concentration index cutoffs for additive interactions based on self-drug additive combinations, Monte Carlo simulation, and in vitro–in vivo correlation data for antifungal drug combinations against *Aspergillus fumigatus*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 54(2), 602–609. <https://doi.org/10.1128/AAC.00999-09>
- Mérens A, Janvier F, Coyne S, Cavallo JD. Actualités de la résistance aux antibiotiques de *Neisseria gonorrhoeae* en 2008. *Antibiotiques* 2009. 11 : 97-105.
- Michelet M. Revue systématique de la littérature concernant l'efficacité de la prophylaxie oculaire, en salle de naissance, en France, chez les nouveaux-nés sains et à terme. *La Revue Sage-Femme* 2009. 8 : 2-10.
- Miller KE. Diagnosis and treatment of *Neisseria gonorrhoeae* infections. *Am Fam Physician* 2006. 73 : 1779-1784.
- Nauciel C, Vildé JL. *Abrégés de Bactériologie médicale*. Paris, Masson, 2005. (s. d.).
- Newman LM, Moran JS, Workowski A. Update on the management of gonorrhea in adults in the united states. *Clin Infect Dis* 2007. 44 : 84-101.
- Ng LK, Martin IE. The laboratory diagnosis of *Neisseria gonorrhoeae*. *Can J Infect Dis Med Microbiol* 2005. 16 : 15-25.
- Nyerges, P., Szabo, E. & Donko, E., 1975. The role of anthocyan and phenol compounds in the resistance of grapes against *Botrytis* infection. *Acta Phytopathologica Academiae Scientiarum Hungaricae*, 10, p.21-32.
- Ohnishi, M., Saika, T., Hoshina, S., Iwasaku, K., Nakayama, S., Watanabe, H., & Kitawaki, J. (2011). Ceftriaxone-Resistant *Neisseria gonorrhoeae* , Japan. *Emerging Infectious Diseases*, 17(1), 148-149. <https://doi.org/10.3201/eid1701.100397>.
- Pellati D, Mylonakis I, Bertoloni G, Fiore C, Andrisani A, Ambrosini G, Armanini D. Genital tract infections and infertility. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2008. 140 : 3-11.
- Post DMB, Phillips NJ, Shao JQ, Entz DD, Gibson BW, Apicella MA. Intracellular survival of *Neisseria gonorrhoeae* in male urethral epithelial cells : Importance of a hexaacyl lipid A. *Infect Immun* 2002. 70 : 909-920.

- Quirke M, Cullinane A. Recent trends in chlamydial and gonococcal conjunctivitis among neonates and adults in an Irish hospital. *International J Infect Dis* 2008. 12 : 371-373.
- Riou J.-Y., Guibourdenche M. Méthodes de laboratoire *Neisseria* et *Branhamella*. Commission des laboratoires de référence et d'expertise de l'Institut Pasteur. 1992.
- Saadaoui, M. (2008). La fréquence des bactéries multi résistante à l'hôpital Hassan II de Settat. Université Mohammed V.
- Schaechter M, Medoff G, Eisenstein BI. *Microbiologie et pathologie infectieuse*. Paris, De Boeck, 1993. 225-233.
- Snaidr L, Mühlhahn P, Beimfohr C, Kreuzer C, Richly C, Snaidr J. Specific cultivation-independent enumeration of viable cells in probiotic products using a combination of fluorescence in situ hybridization and flow cytometry. *Front Microbiol*. 2024 Jun 12;15:1410709. doi: 10.3389/fmicb.2024.1410709. PMID: 38933029; PMCID: PMC11199854.
- Sparling P.F. , Handsfield H.H. (2000). *Neisseria gonorrhoeae* ; In Mandell G.L. , Bennet J.E. Dolin R. Eds. *Principles and Practise of Infectious Disease*. 5th ed. 2242.
- Spurbeck RR, Arvidson CG. Inhibition of *Neisseria gonorrhoeae* epithelial cell interactions by vaginal lactobacillus species. *Infect Immun* 2008. 76 : 3124-3130.7.
- St Amant DC, Valentin-Bon IE, Jerse AE. Inhibition of *Neisseria gonorrhoeae* by *Lactobacillus* species that are commonly isolated from the female genital tract. *Infect Immun* 2002. 70 : 7169-7171.
- Thakur, S. D., Obradovic, M., Dillon, J.-A. R., Ng, S. H., & Wilson, H. L. (2019). Development of flow cytometry based adherence assay for *Neisseria gonorrhoeae* using 5'-carboxyfluoresceinsuccidyl ester. *BMC Microbiology*, 19(1), 67. <https://doi.org/10.1186/s12866-019-1438-2>
- Thorington, R., Sawatzky, P., Lefebvre, B., Diggle, M., Hoang, L., Patel, S., Van Cassele, P., Minion, J., Garceau, R., Matheson, M., Haldane, D., Gravel, G., Mulvey, M., & Martin, I. (2022). Sensibilités aux antimicrobiens du *Neisseria gonorrhoeae* au Canada, 2020. Relevé des maladies transmissibles au Canada, 48(11/12), 629-638. <https://doi.org/10.14745/ccdr.v48i1112a10f>.
- Thorpe EM, Schwebke JR, Hook AW, Rompalo A, McCormack WM, Mussari KL, Giguere GC, Collins JJ. Comparison of single-dose cefuroxime axetil with ciprofloxacin in treatment of uncomplicated gonorrhea caused by penicillinase-producing and nonpenicillinase-producing *Neisseria gonorrhoeae* strains. *Antimicrob Agents Chemother* 1996. 40 : 2775-2780.
- Unemo, M., Golparian, D., Limnios, A., Whiley, D., Ohnishi, M., Lahra, M. M., & Tapsall, J. W. (2012). In Vitro Activity of Ertapenem versus Ceftriaxone against *Neisseria gonorrhoeae* Isolates with Highly Diverse Ceftriaxone MIC Values and Effects of Ceftriaxone Resistance Determinants : Ertapenem for Treatment

- of Gonorrhea? Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 56(7), 3603-3609.
<https://doi.org/10.1128/AAC.00326-12>.
- University of South Carolina School of Medicine. Microbiology and immunology online. <Http://pathmicro.med.sc.edu/book/welcome.htm> (page consultée le 12 juin 2010).
- Vernel-Pauillac F, Nandi S, Nicholas RA, Goarant C. Genotyping as a tool for antibiotic resistance surveillance of *Neisseria gonorrhoeae* in New Caledonia : Evidence of a novel genotype associated with reduced penicillin susceptibility. Antimicrob Agents Chemother 2008. 52 : 3293-3300.
- Veyssiere, A. (2019). La résistance aux antibiotiques des bactéries les plus communément rencontrées dans les infections communautaires. État des lieux en 2019 (Doctoral dissertation).
- Woods CR. Gonococcal infections in neonates and young children. *Pediatr Infect Dis J* 2005. 258-270.
- Yakobi, S., Zuma, L., Gasa, N., & Poee, O. (2024). Antimicrobial Potential of Organic Phenolic Compounds from Wild Mushroom Extracts : Impact on Proliferation and Kinetic Growth of Multidrug-Resistant *Neisseria gonorrhoeae* Strains. *Journal of Food Biochemistry*, 2024(1), 2336255.
<https://doi.org/10.1155/2024/2336255>.
- Yala, D., Merad, A. S., Mohamedi, D., & Ouar Korich, M. N. (2001). Classification et mode d'action des antibiotiques. *Médecine du Maghreb*, 91(1), 5-12.
- http1:<https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/multi-drug-resistant-gonorrhoea>. (accès tarihi 22.10.2024)
- http 2 :<http://www.institutpasteur.nc/> (accès tarihi 22.12.2024)
- http 3:<https://www.textbookofbacteriology.net/> (accès tarihi 01.02.2025)
- http 4:<https://Www.wikidata.com>,(accès tarihi 14.01.2025)
- http 5 :[https://en.wikipedia.org/wiki/Hidroksibenzoik Asit Kimyasal Yapısı](https://en.wikipedia.org/wiki/Hidroksibenzoik_Asit_Kimyasal_Yapısı) (accès tarihi 20.11.2024)
- http 6:[https://en.wikipedia.org/wiki/Gallik asit Kimyasal Yapısı](https://en.wikipedia.org/wiki/Gallik_asit_Kimyasal_Yapısı)(accès tarih10.01.2025)
- http 7 :[https://en.wikipedia.org/wiki/Hidroksisinamik Asit Kimyasal Yapısı](https://en.wikipedia.org/wiki/Hidroksisinamik_Asit_Kimyasal_Yapısı) (accès tarihi,20.11.2024)

ÖZGEÇMİŞ

Adı-Soyadı : Abdoul Aziz Malick DIALLO

Yabancı Dil : Fransızca, İngilizce, Türkçe

Eğitim ve Mesleki Geçmişi:

- Lisans: 2015-2020, Gamal Abdel Nasser Konakri Üniversitesi (Gine), Sağlık Bilimleri ve Teknikleri Fakültesi., Farmasötik ve Biyolojik Bilimler Bölümü.
- Lise: 2012-2015, Deneysel Fen Lisesi.