

HÜSEYİN AKDOĞAN

DİCLE ÜNİVERSİTESİ SAĞ. BİL. ENST.

DOKTORA TEZİ

DIYARBAKIR-2025



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**QUERCETİN VE HİPERTERMİ UYGULAMALARININ KOLİSTİN
DİRENÇLİ *Acinetobacter baumannii* VE *Staphylococcus epidermidis* ÜZERİNE
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Hüseyin AKDOĞAN
DOKTORA TEZİ

MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Prof. Dr. Nezahat AKPOLAT

DİYARBAKIR-2025



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**QUERCETİN VE HİPERTERMİ UYGULAMALARININ KOLİSTİN
DİRENÇLİ *Acinetobacter baumannii* VE *Staphylococcus epidermidis* ÜZERİNE
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Hüseyin AKDOĞAN
DOKTORA TEZİ

MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Prof. Dr. Nezahat AKPOLAT

DİYARBAKIR-2025



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ONAY

Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Doktora öğrencisi Hüseyin AKDOĞAN'nın hazırladığı “Quercetin ve Hipertermi Uygulamalarının Kolistin Dirençli *Acinetobacter baumannii* ve *Staphylococcus epidermidis* Üzerine Etkilerinin Araştırılması” başlıklı tez Dicle Üniversitesi Lisansüstü Eğitim - Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca kapsam ve bilimsel kalite yönünden değerlendirilerek Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman Prof. Dr. Nezahat AKPOLAT

Jüri Üyeleri

İmza

Jüri Başkanı	Prof. Dr. Selahattin ATMACA
Üye	Prof. Dr. Nezahat AKPOLAT
Üye	Prof. Dr. Erdal ÖZBEK
Üye	Prof. Dr. Zeynep Ceren KARAHAN
Üye	Doç. Dr. Deniz GAZEL

Tarih: 28/11/2025

Bu tez Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun/....../.... tarih ve sayılı kararıyla onaylanmıştır.

...../...../.....

Prof. Dr. Mahmut BALKAN
Dicle Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını ve tezimi Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü tez yazım kılavuzu standartlarına uygun bir şekilde hazırladığımı beyan ederim.

28/11/2025

Hüseyin AKDOĞAN

TEŞEKKÜR

Başta hayatımın her evresinde bana göstermiş oldukları büyük destek ve özveri sebebiyle sevgili aileme,

Tez ve eğitim sürecimde bana bilgi ve tecrübesiyle büyük destekleri olan başta danışmanım Sayın Prof. Dr. Nezahat AKPOLAT'a,

Doktora eğitimim süresince her zaman deneyimlerini ve bilgilerini bizimle paylaşan değerli hocalarım Prof. Dr. Mahmut METE'ye, Prof. Dr. Selahattin ATMACA'ya, Prof. Dr. Erdal ÖZBEK'e, Prof. Dr. Hakan TEMİZ'e ve Doç. Dr. Nida ÖZCAN'a,

Eğitimim süresince yardımlarını esirgemeyen Gaziantep Üniversitesi öğretim üyeleri Prof. Dr. Yasemin ZER'e, Doç. Dr. Deniz GAZEL'e ve Dr. Öğr. Üyesi Mehmet ERİNMEZ'e,

Tez çalışmam süresince göstermiş oldukları yardımlar sebebiyle Arş. Gör. Dr. Serkan KAYDAŞ'a, Mustafa DİRİ'ye, Gurbet SÜRGÜÇ'e, Gülsüm KAYA ÖZEN'e, Ayşe BÜYÜKTAŞ MANAY'a, Esra KIRKGÖZ KARABULUT'a, Hamide Dilara TÜTER'e ve Cengiz ÖZGER'e,

Sonsuz teşekkürlerimi ve saygılarımı sunuyorum.

Doktora eğitimim süresince TÜBİTAK Bilim İnsanı Destek Programları Başkanlığı (BİDEB) 2211-Yurt İçi Lisansüstü Burs Programı kapsamında tarafıma burs desteği sağlanmıştır. Tarafıma sağlamış olduğu burs desteği ve imkânı sebebiyle TÜBİTAK BİDEB'e teşekkür ederim.

Bu tez, Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı tarafından TIP.24.030 numaralı proje ile desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

BEYAN.....	i
TEŞEKKÜR	ii
İÇİNDEKİLER	iii
KISALTMALAR ve SİMGELER	v
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	vii
TABLolar LİSTESİ.....	viii
1.ÖZETLER	1
1.1.Türkçe Özet.....	1
1.2.İngilizce Özet	3
2.GİRİŞ ve AMAÇ	5
3.GENEL BİLGİLER.....	7
3.1.Antibiyotikler ve Direnç Gelişimi	7
3.2.Biyofilm	11
3.3.Çoğunluk Algılama	13
3.4.Antibiyotik Direncine Karşı Aranan Çözümler ve Alternatifler.....	14
3.5.Hipertermi Tedavisi	19
3.5.1.Hipertermi tedavisi ve mikrobiyoloji	21
3.6.Quercetin.....	23
3.6.1.Quercetin ve mikrobiyoloji	24
3.7. <i>Acinetobacter baumannii</i>	26
3.8. <i>Staphylococcus epidermidis</i>	29
4.GEREÇ ve YÖNTEM.....	32
4.1.Etik Kurul Onayı.....	32
4.2.Bakteri İzolatları ve Çalışma Grubu	32
4.3.Biyofilm Oluşumunun Fenotipik Tespiti	32
4.4.Quercetin Minimum İnhibitör Konsantrasyonun Düzeylerinin Belirlenmesi	34
4.5.Üreme İnhibisyon Düzeylerinin Belirlenmesi	35
4.6.Biyofilm İnhibisyon Düzeylerinin Belirlenmesi.....	36
4.7. <i>In vitro</i> Tedavi Modeli Deneyi	38
4.8.Geçirimli Elektron Mikroskopi (TEM) Görüntülemesi	40
4.9.İstatistiksel Analiz.....	41
5.BULGULAR	42

5.1.Kongo Red Agar ile Biyofilm Oluşumu Tespiti	42
5.2.Quercetin Minimum İnhibitör Konsantrasyon Düzeyleri ve Hipertermi Etkisinde Değişimleri.....	42
5.3.Kolistin Dirençli <i>A. baumannii</i> Üreme İnhibisyon Deneyi Sonuçları	43
5.4. <i>S. epidermidis</i> Üreme İnhibisyon Deneyi Sonuçları.....	45
5.5.Kolistin Dirençli <i>A. baumannii</i> Biyofilm İnhibisyon Deneyi Sonuçları.....	47
5.6. <i>S. epidermidis</i> Biyofilm İnhibisyon Deneyi Sonuçları	47
5.7.Kolistin Dirençli <i>A. baumannii</i> ve <i>S. epidermidis</i> Üreme İnhibisyon Sonuçlarının Karşılaştırılması	48
5.8.Kolistin Dirençli <i>A. baumannii</i> ve <i>S. epidermidis</i> Biyofilm İnhibisyon Sonuçlarının Karşılaştırılması.....	51
5.9. <i>In vitro</i> Tedavi Modeli Deneyi Sonuçları	54
5.10.Geçirimli Elektron Mikroskopi Sonuçları.....	59
6.TARTIŞMA	64
7.SONUÇ.....	75
KAYNAKLAR	76
ÖZGEÇMİŞ.....	88
EKLER.....	89
ORJİNALLİK RAPORU	91

KISALTMALAR ve SİMGELER

°C	: Santigrat derece
µg	: Mikrogram
µl	: Mikrolitre
µm	: Mikrometre
µmol	: Mikromol
AHL	: Açıl homoserin lakton
AMD	: Antimikrobiyal direnç
BHIB	: Beyin kalp infüzyon sıvı besiyeri
CRAB	: Karbapenem dirençli <i>A. baumannii</i>
DMSO	: Dimetil sülfoksit
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
eDNA	: Ekstrasellüler DNA
EPS	: Ekstrasellüler polimerik maddeler
FAME	: Yağ asidi değıştirici enzim
g	: Gram
KAMHB	: Katyon ayarlı Müller Hinton sıvı besiyeri
KKA	: Koyun kanlı agar
kob	: Koloni oluşturan birim
KRA	: Kongo red agar
L	: Litre
LPS	: Lipopolisakkarit

M	: Molarite
mg	: Miligram
MİK	: Minimum inhibitör konsantrasyon
MİS	: Minimum inhibitör sıcaklık
ml	: Mililitre
MRSA	: Metisilin dirençli <i>S. aureus</i>
nm	: Nanometre
OMP	: Dış membran proteinleri
PBP	: Penisilin bağlayan protein
PBS	: Fosfat buffered saline
PIA	: Polisakkarit hücreler arası adezin
PSA	: Kapsüler polisakkarit adezin
QS	: Çoğunluk algılama
SAM	: S-adenosilmetionine
SCC_{mec}	: Stafilokok kaset kromozomu <i>mec</i>
SHİE	: Sağlık hizmetiyle ilişkili enfeksiyonlar
TEM	: Geçirimli elektron mikroskobi
TLR2	: Toll benzeri reseptör 2
TSB	: Triptik soy sıvı besiyeri
w/v	: Ağırlık/hacim

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 3.1. Antibiyotiklerin keşif kronolojisi	8
Şekil 3.2. Kökenlerine göre antibiyotikler	8
Şekil 3.3. Biyofilm oluşum evreleri	11
Şekil 3.4. Bakteriyofajların yaşam döngüsü	16
Şekil 3.5. Monoklonal antikorların etki mekanizmaları	16
Şekil 3.6. Nanopartiküllerin bakteriler üzerinde gösterdiği etkiler.....	17
Şekil 3.7. Antimikrobiyal peptitlerin antibakteriyel etki mekanizması	18
Şekil 3.8. Quercetin kimyasal yapısı	23
Şekil 3.9. Quercetin antifungal etki mekanizmaları	25
Şekil 3.10. Quercetin antibakteriyel etki mekanizmaları.....	25
Şekil 4.1. Kongo red agarda biyofilm pozitif ve biyofilm negatif bakteri örnekleri .	33
Şekil 5.1. Kolistin dirençli <i>A. baumannii</i> 'nin farklı sıcaklıklardaki 0., 2., 4., 6. ve 24. saatlerdeki üreme düzeyleri	45
Şekil 5.2. <i>S. epidermidis</i> 'in farklı sıcaklıklardaki 0., 2., 4., 6. ve 24. saatlerdeki üreme düzeyleri	46
Şekil 5.3. Kolistin dirençli <i>A. baumannii</i> 'ye ait 37 °C'deki TEM görüntüleri.....	59
Şekil 5.4. Kolistin dirençli <i>A. baumannii</i> 'ye ait 37 °C'de quercetine maruz bırakılan hücrelerin TEM görüntüsü	60
Şekil 5.5. Kolistin dirençli <i>A. baumannii</i> 'ye ait 42 °C'de quercetine maruz bırakılan hücrelerin TEM görüntüsü	60
Şekil 5.6. Kolistin dirençli <i>A. baumannii</i> 'ye ait 45 °C'de quercetine maruz bırakılan hücrelerin TEM görüntüsü	61
Şekil 5.7. <i>S. epidermidis</i> 'e ait 37 °C'deki TEM görüntüleri	62
Şekil 5.8. <i>S. epidermidis</i> 'e ait 37 °C'de quercetine maruz bırakılan hücrelerin TEM görüntüsü.....	62
Şekil 5.9. <i>S. epidermidis</i> 'e ait 42 °C'de quercetine maruz bırakılan hücrelerin TEM görüntüsü.....	63
Şekil 5.10. <i>S. epidermidis</i> 'e ait 45 °C'de quercetine maruz bırakılan hücrelerin görüntüsü	63

TABLÖLER LİSTESİ

Tablo 3.1. Gösterdikleri etkiye göre antibiyotik grupları.....	9
Tablo 5. 1. Kolistin dirençli <i>A. baumannii</i> 37 °C, 42 °C ve 45 °C'deki quercetin MİK sonuçları ve hipertermi etkisinde MİK değişimleri.....	42
Tablo 5. 2. <i>S. epidermidis</i> 37 °C, 42 °C ve 45 °C'deki quercetin MİK sonuçları ve hipertermi etkisinde MİK değişimleri.....	43
Tablo 5. 3. Kolistin dirençli <i>A. baumannii</i> 'nin quercetin ve hipertermi etkisinde üreme inhibisyon düzeyleri.....	44
Tablo 5. 4. Kolistin dirençli <i>A. baumannii</i> 'nin farklı sıcaklıklardaki üreme düzeyleri arasındaki ilişki	44
Tablo 5. 5. <i>S. epidermidis</i> 'in quercetin ve hipertermi etkisinde üreme inhibisyon düzeyleri	46
Tablo 5. 6. <i>S. epidermidis</i> 'in farklı sıcaklıklardaki üreme düzeyleri arasındaki ilişki	46
Tablo 5. 7. Kolistin dirençli <i>A. baumannii</i> 'nin quercetin ve hipertermi etkisinde biyofilm inhibisyon düzeyleri	47
Tablo 5. 8. <i>S. epidermidis</i> 'in quercetin ve hipertermi etkisinde biyofilm inhibisyon düzeyleri	48
Tablo 5. 9. Kolistin dirençli <i>A. baumannii</i> ve <i>S. epidermidis</i> 'in 37 °C'deki üreme inhibisyon düzeylerinin karşılaştırılması.....	49
Tablo 5. 10. Kolistin dirençli <i>A. baumannii</i> ve <i>S. epidermidis</i> 'in 42 °C'deki üreme inhibisyon düzeylerinin karşılaştırılması.....	50
Tablo 5. 11. Kolistin dirençli <i>A. baumannii</i> ve <i>S. epidermidis</i> 'in 45 °C'deki üreme inhibisyon düzeylerinin karşılaştırılması.....	51
Tablo 5. 12. Kolistin dirençli <i>A. baumannii</i> ve <i>S. epidermidis</i> 'in 37 °C'deki biyofilm inhibisyon düzeylerinin karşılaştırılması.....	52
Tablo 5. 13. Kolistin dirençli <i>A. baumannii</i> ve <i>S. epidermidis</i> 'in 42 °C'deki biyofilm inhibisyon düzeylerinin karşılaştırılması.....	53
Tablo 5. 14. Kolistin dirençli <i>A. baumannii</i> ve <i>S. epidermidis</i> 'in 45 °C'deki biyofilm inhibisyon düzeylerinin karşılaştırılması.....	54

Tablo 5. 15. Kolistin dirençli <i>A. baumannii</i> 'nin <i>in vitro</i> tedavi modeli deneyinde değişen quercetin konsantrasyonlarında üreme inhibisyon düzeylerinin karşılaştırılması.....	55
Tablo 5. 16. Kolistin dirençli <i>A. baumannii</i> 'nin <i>in vitro</i> tedavi modeli deneyi sonuçları ile 37 °C'deki üreme inhibisyon deneyi sonuçlarının karşılaştırılması	55
Tablo 5. 17. Kolistin dirençli <i>A. baumannii</i> 'nin <i>in vitro</i> tedavi modeli deneyinde değişen quercetin konsantrasyonlarının biyofilm inhibisyon düzeylerinin karşılaştırılması.....	56
Tablo 5. 18. Kolistin dirençli <i>A. baumannii</i> 'nin <i>in vitro</i> tedavi modeli deneyi sonuçları ile 37 °C'deki biyofilm inhibisyon deneyi sonuçlarının karşılaştırılması	56
Tablo 5. 19. <i>S. epidermidis</i> 'in <i>in vitro</i> tedavi modeli deneyinde değişen quercetin konsantrasyonlarında üreme inhibisyon düzeylerinin karşılaştırılması	57
Tablo 5. 20. <i>S. epidermidis</i> 'in <i>in vitro</i> tedavi modeli deneyi sonuçları ile 37 °C'deki üreme inhibisyon deneyi sonuçlarının karşılaştırılması	57
Tablo 5. 21. <i>S. epidermidis</i> 'in <i>in vitro</i> tedavi modeli deneyinde değişen quercetin konsantrasyonlarının biyofilm inhibisyon düzeylerinin karşılaştırılması	58
Tablo 5. 22. <i>S. epidermidis</i> 'in <i>in vitro</i> tedavi modeli deneyi sonuçları ile 37 °C'deki biyofilm inhibisyon deneyi sonuçlarının karşılaştırılması	58

1. ÖZETLER

1.1. Türkçe Özet

Quercetin ve Hipertermi Uygulamalarının Kolistin Dirençli *Acinetobacter baumannii* ve *Staphylococcus epidermidis* Üzerine Etkilerinin Araştırılması

Öğrencinin Adı Soyadı: Hüseyin AKDOĞAN

Danışmanı: Prof. Dr. Nezahat AKPOLAT

Anabilim Dalı: Tıbbi Mikrobiyoloji

Amaç: Quercetin ile hipertermi uygulamasının tek başlarına ve kombinasyonunun kolistin dirençli *A. baumannii* ve *S. epidermidis* bakterilerinin üreme ve biyofilm inhibisyonu ile morfolojik yapıları üzerine etkilerinin incelenmesi amaçlandı.

Gereç ve Yöntem: Deneyler 37 °C, 42 °C ve 45 °C’de yapıldı. Quercetin, 512-1 µg/ml aralığında test edildi. Çalışmaya biyofilm üretimi Kongo red agar yöntemi ile belirlenen sekiz kolistin dirençli *A. baumannii* ve sekiz *S. epidermidis* izolatu dahil edildi. Üreme inhibisyon düzeyi sıvı mikrodilüsyon, biyofilm inhibisyon düzeyi kristal viyole yöntemi ile test edildi. İki saatlik hipertermi etkisi *in vitro* tedavi modeli deneyiyle gözlemlendi. İnhibisyon düzeyleri spektrofotometrik ölçümle belirlendi. Morfolojik etkiler TEM analizi ile değerlendirildi. Sonuçların istatistiksel analizinde $p \leq 0,05$ anlamlı kabul edildi.

Bulgular: Hipertermi kombinasyonu ile quercetin MİK değerlerinin azaldığı görüldü. Üreme inhibisyon düzeyleri arasında her iki bakteride, hipertermi etkisinde 512, 256 ve 128 µg/ml quercetin konsantrasyonlarında anlamlı farklar görüldü. Tek başına hipertermi her iki bakteri için üremeyi önemli ölçüde yavaşlattı. Biyofilm inhibisyon düzeyleri arasında anlamlı fark görülmedi. Tek başına hipertermi *S. epidermidis* için biyofilm inhibisyonuna anlamlı düzeyde etki gösterdi. Bakteriler birbiriyle kıyaslandığında biyofilm inhibisyonu açısından anlamlı bir fark görülmedi. Üreme açısından *S. epidermidis*, kolistin dirençli *A. baumannii*’ye kıyasla hipertermiye daha duyarlıydı. *In vitro* tedavi modeli deneyinde yalnızca kolistin dirençli *A. baumannii*’nin 64 µg/ml quercetin konsantrasyonundaki biyofilm inhibisyonunda anlamlı fark gözlemlendi. TEM sonuçlarında; quercetin ve hipertermi kombinasyonun

hücre morfolojisini etkilediği görüldü. 45 °C+quercetinde muhtemelen üremenin inhibisyonu nedeniyle *S. epidermidis* hücrelerine rastlanmadı.

Sonuç: Quercetin ve hipertermi kombinasyonu, üreme ve morfolojik değişimler üzerinde önemli etkiye sahipti. Çalışmanın sonucunda hiperterminin, quercetin ile kullanıldığında adjuvan etki gösterdiği saptandı.

Anahtar Sözcükler: Quercetin, hipertermi, antibakteriyel, kolistin dirençli *A. baumannii*, *S. epidermidis*



1.2. İngilizce Özet

Investigation of the Effects of Quercetin and Hyperthermia Applications on Colistin-Resistant *Acinetobacter baumannii* and *Staphylococcus epidermidis*

Student's Surname and Name: AKDOĞAN Hüseyin

Adviser of Thesis: Prof. Dr. Nezahat AKPOLAT

Department: Medical Microbiology

Aim: The aim was to investigate the effects of quercetin and hyperthermia application, alone and in combination, on the growth and biofilm inhibition and morphological structures of colistin-resistant *A. baumannii* and *S. epidermidis*.

Material and Method: Experiments were performed at 37°C, 42°C, and 45°C. Quercetin was tested in the range of 512-1 µg/ml. Eight colistin-resistant *A. baumannii* and eight *S. epidermidis* isolates, whose biofilm production was determined by the Congo red agar method, were included in the study. Growth inhibition level was tested by broth microdilution, and biofilm inhibition level was tested by crystal violet method. The effect of two hour hyperthermia was observed in an *in vitro* treatment model experiment. Inhibition levels were determined by spectrophotometric measurement. Morphological effects were evaluated by TEM analysis. In the statistical analysis of the results, $p \leq 0.05$ was considered significant.

Results: The combination of hyperthermia and quercetin MIC values decreased. Significant differences were observed between the growth inhibition levels of both bacteria at 512, 256, and 128 µg/ml quercetin concentrations. Hyperthermia alone significantly slowed growth for both bacteria. No significant difference was observed between the biofilm inhibition levels. Hyperthermia alone had a significant effect on biofilm inhibition for *S. epidermidis*. When the bacteria were compared with each other, no significant difference was observed in terms of biofilm inhibition. *S. epidermidis* was more sensitive to hyperthermia than colistin-resistant *A. baumannii* in terms of growth. In the *in vitro* treatment model experiment, a significant difference was observed only in biofilm inhibition of colistin-resistant *A. baumannii* at a concentration of 64 µg/ml quercetin. TEM results showed that the combination of quercetin and hyperthermia affected cell morphology. No *S. epidermidis* cells were found at 45°C+quercetin, probably due to inhibition of growth.

Conclusion: The combination of quercetin and hyperthermia had a significant effect on growth and morphological changes. The study found that hyperthermia had an adjuvant effect when used with quercetin.

Keywords: Quercetin, hyperthermia, antibacterial, colistin-resistant *A. baumannii*, *S. epidermidis*



2. GİRİŞ ve AMAÇ

Antimikrobiyal direnç (AMD), 21. yüzyılda halk sağlığını küresel boyutta tehdit eden durumlardan biri olarak ortaya çıkmaktadır. AMD; bakteri, mantar, parazit ve virüslerin neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde sıklıkla kullanılan antibiyotikler gibi antimikrobiyal ajanlara karşı direnç kazanmalarına yol açan çeşitli süreçlerin gelişmesi ile ortaya çıkmaktadır (1). Direnç sorunun ortaya çıkmasında ise genellikle klinik tedavi, çeşitli çevresel ve sosyal etkenlere bağlı olarak antibiyotiklerin aşırı ve bilinçsiz kullanımı rol oynamaktadır (1).

Zamanla artan direnç durumu, enfeksiyonların tedavisini zorlaştırmış ve bu duruma karşı çeşitli çözüm arayışı başlatmıştır. Bu çözümler arasında; antibiyotiklerin inhibitörlerle birlikte kullanımı, çoğunluk algılama inhibisyonu, ilaç emilimini arttırıcı çözümler, plazmit kürlenmesi, genomik çalışmalar ve antibiyotik kullanımına yönelik farkındalık oluşturulması sayılabilir (2).

Günümüzde ise antibiyotiklere alternatif olarak veya adjuvan olarak etki gösterebilecek çeşitli yöntemlerin araştırılması devam etmektedir. Bunlar arasında; flavonoidler (3), faj terapisi (4), probiyotikler (4), metal iyonları ve bileşenleri (4), fekal mikrobiyota transplantasyonu (4), hipertermi (5) gibi çeşitli birçok alternatif yöntemle ilgili araştırmalar devam etmektedir.

Hastane enfeksiyonları olarak bilinen sağlık hizmetiyle ilişkili enfeksiyonlar (SHİE), dünya genelinde sağlık sistemleri için bir sorun oluşturmakta, hastaların hastanede kalış sürelerini ve antimikrobiyal tedavi sürelerini uzatmaktadır. Bu enfeksiyonların en önemli sonuçlarından biri, antibiyotiklerin uzun süreli, sık ve bazen yanlış kullanımı sonucu oluşan AMD oranının artmasıdır. Bu durum, dirençli bakterilerin seçilimine yol açarak tedaviyi zorlaştırmaktadır (6). SHİE neden olan patojen bakteriyel etkenlerden bazıları ise *Acinetobacter baumannii* ve *Staphylococcus epidermidis*'tir (7,8).

A. baumannii özellikle yoğun bakım hastaları, uzun süreli yatan hastalar, cerrahi müdahale alan hastalar, kateterizasyon olan, trakeostomi yapılan ve yenidoğan gibi hassas gruplarda enfeksiyonlara neden olmaktadır (7). *S. epidermidis* ise insanda deri ve mukozal yüzeylerde bulunan normal vücut mikrobiyotasının önemli bir

parçasıdır. Buna ek olarak SHİE arasında ise kan, kardiyovasküler, göz, kulak, burun, boğaz enfeksiyonlarının önemli etkenlerinden biridir (8).

Quercetin, çeşitli farmakolojik etkilere sahip bir bitkisel flavonoidtir. Çeşitli gram negatif ve gram pozitif bakterilerin üremesini engellediği bildirilmiştir. Antimikrobiyal olarak bu etkiyi hücre zarı hasarı, zar geçirgenliğinde değişiklik, nükleik asit ve protein sentezinde inhibisyon, virülans faktörlerin ekspresyonunda azalma ve biyofilm oluşumunun engellenmesi ile gösterdiği bildirilmiştir (9). Hipertermi tedavisi ise proteinlerin denatürasyonu ve membran hasarı gibi etkilerle bakteriler üzerinde etki göstermektedir (10).

Quercetin ve hipertermi uygulamasının belirtildiği üzere bakteriler üzerine çeşitli etkileri bulunmaktadır. Bu etkiler sayesinde enfeksiyonların tedavisinde alternatif yöntemlerin arayışında kendilerine yer etmişlerdir. *A. baumannii* ve *S. epidermidis* ise SHİE enfeksiyonların önemli etkenleri arasında yer alması çalışma açısından önem taşımaktadır. Bu amaçla çalışmada belirtilen bakteri türleri üzerinde quercetin ve hipertermi uygulamasının tek başına ve kombine etkilerinin; bakterilerin üremesi, biyofilm yapısı ve yapısal değişimlerinin *in vitro* düzeyde incelenmesi amaçlanmıştır.

3. GENEL BİLGİLER

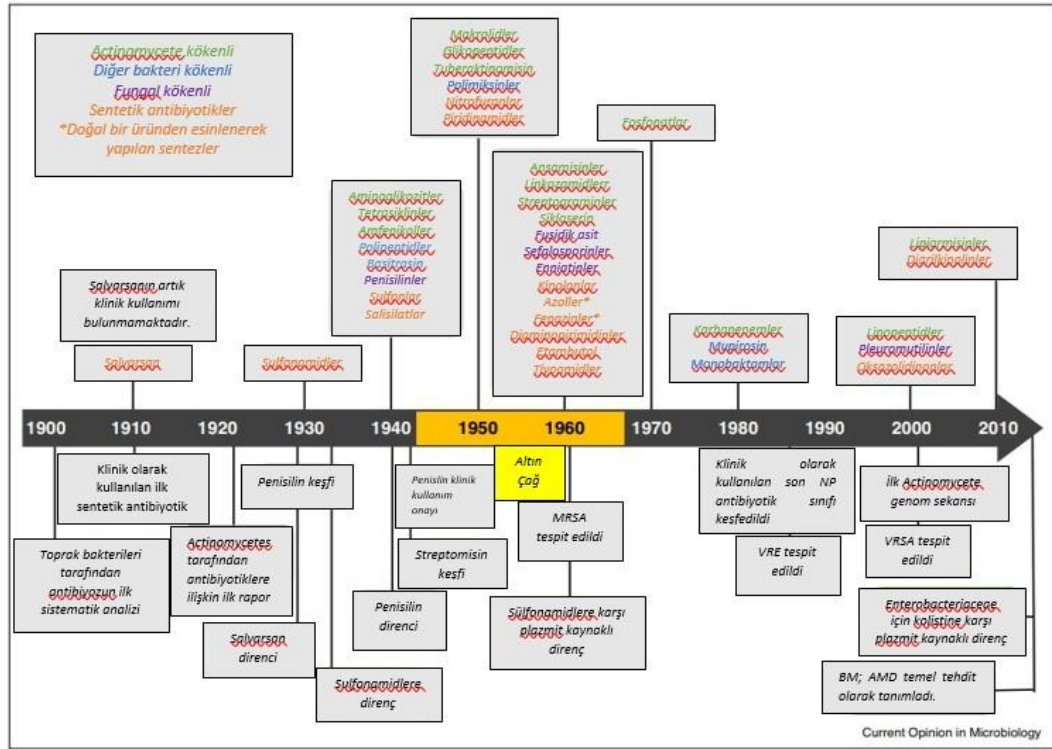
3.1. Antibiyotikler ve Direnç Gelişimi

Antibiyotik kelimesi, Yunanca karşı anlamına gelen *anti* ve yaşam anlamına gelen *bios* kelimelerinin birleşiminden oluşmuştur (11). Tanım olarak antibiyotikler; bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde kullanılan, bazı mikroorganizmalar tarafından üretilip diğer bakterilerin çoğalmasını engelleyen veya onları öldüren maddeler olarak tanımlanmaktadır (12).

1893 yılında İtalyan mikrobiyolog Bartolomeo Gosio tarafından *Penicillium glaucum*'dan türetilen ve mikofenolik asit olarak bilinen maddenin *Bacillus anthracis*'in üremesini engellediği gösterilmiştir. Bunun ardından Paul Ehrlich ve arkadaşları 1909 yılında *Treponema pallidum*'a karşı etki gösteren ve arsenik türevi ilk sentetik kemoterapötik olan Salvarsan'ı keşfetmiştir. 1913 yılında salvarsan ilişkili yan etkiler sebebiyle sifiliz tedavisinde neosalvarsan piyasaya sürülmüştür (13).

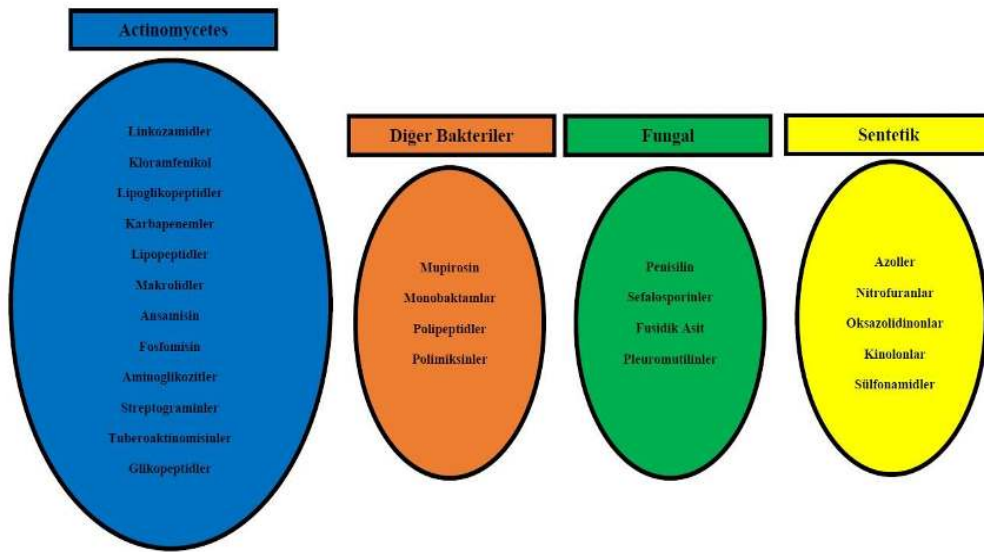
Sir Alexander Fleming, 1928 yılında bir rastlantı sonucunda *Staphylococcus* içeren kültür ortamına bulaşmış olan ve *Penicillium notatum* olarak tanımlanan bir küf mantarının oluşturduğu kolonilerin etrafında bakteriyel üreme olmadığını gözlemlemiştir. Bunun üzerine çeşitli çalışmalar yapan Sir Alexander Fleming, bu küf mantarının çeşitli hastalıklara sebep olan patojen bakterileri öldüren antibakteriyel özelliğe sahip bir madde ürettiğini keşfetti. Bu maddeye Sir Alexander Fleming tarafından *Penicillium* isminden esinlenerek “penisilin” ismi verildi. Böylece antibiyotiklerin kullanıma başlandığı yeni bir döneme geçilmiş oldu (14).

Penisilinin keşfi sonrasındaki süreçlerde yeni antibiyotiklerin keşif süreçlerinin önünü açmıştır. Penisilini 1930'lu yıllarda sülfonamidlerin keşfi takip etmiştir (11). Bu keşifler özellikle 1940'lı yıllar ile 1960'lı yıllar arasında ciddi bir ilerleme kaydetmiştir. Günümüzde birçok enfeksiyonun tedavisinde yaygın olarak kullanılan aminoglokozitler, tetrasiklinler, polipeptitler, makrolidler, sefalosporinler ve daha fazlası olan çeşitli antibiyotikler özellikle bu dönemde keşfedilmiştir. Bu dönem antibiyotiklerin keşfi açısından Altın Çağ olarak nitelendirilmiştir (Şekil 3.1) (15).



Şekil 3.1. Antibiyotiklerin keşif kronolojisi (15)

Antibiyotikler üretildikleri kökenlere göre doğal ve sentetik olmak üzere ikiye ayrılır. Doğal kökenli antibiotiklerin %64'ü *Actinomycetes* sınıfı bakterilerden üretilmekle beraber geri kalan kısmı ise diğer bakteri ve mantarlardan üretilmektedir (Şekil 3.2) (15).



Şekil 3.2. Kökenlerine göre antibiotikler (15)

Antibiyotikler bakteriler üzerinde gösterdikleri etki durumuna göre bakterisidal ve bakteriyostatik olmak üzere iki gruba ayrılır (Tablo 3.1). Bakterisidal etki; bakterilerin ölümüne sebep olarak etkeni ortadan kaldırmayı sağlarken, bakteriyostatik etki ise bakterilerin üremesini engelleyerek etkeni ortadan kaldırmayı sağlar (16).

Tablo 3.1. Gösterdikleri etkiye göre antibiyotik grupları (16)

Bakterisidal Antibiyotikler	Bakteriyostatik Antibiyotikler
Aminoglikozitler	Tetrasiklinler
β -Laktamlar	Makrolidler
Florokinolonlar	Oksazolidinonlar
Glikopeptidler	Sülfonamidler
Rifampisin	Linkozamidler
Nitroimidazoller	Trimetoprim
Lipopeptidler	Kloramfenikol
Polimiksinler	Nitrofurantoin
Fosfomisin	Fusidik asit

Antibiyotikler için bir diğer sınıflandırma ise gösterdikleri etki mekanizmalarına göre olup;

- Hücre duvar sentezinin inhibisyonu ve litik enzim aktivasyonu
- Protein sentez inhibisyonu
- Sitoplazmik membran permeabilitesinde bozulma
- Enzim aktivasyonun inhibe edilmesi (antimetabolit etki)
- Nükleik asit sentez inhibisyonu

bu mekanizmalar arasında yer almaktadır (17).

Antibiyotikler çeşitli etki mekanizmaları ile bakteriyel enfeksiyonlara karşı mücadelede etki gösterse de özellikle son dönemlerde çeşitli sebeplere dayalı olarak antibiyotik kullanımında ciddi bir artış yaşanmıştır. 2016 ile 2023 yılları arasında total antibiyotik tüketimi %16,3 oranında bir artış göstererek 29,5 milyar tanımlanmış günlük doza ulaşmış ve antibiyotik tüketim oranı, 1 000 kişi başına 13,7 tanımlanmış günlük dozdan 15,2 tanımlanmış günlük doza çıkmıştır (18).

Ortaya çıkan bu artış, bakterilerin antibiyotiklere karşı direnç gelişimine katkı sağlamakta ve tedavi için gerekli çözümleri zorlaştırmaktadır. Antibiyotiklere karşı direnç iki yol ile gelişir. Bunlar; doğal ve kazanılmış direnç olarak adlandırılır. Doğal dirençte bazı ilaçlar bakterinin çeşitli özellikleri sebebiyle bakteriyi etkilemez; bu durum doğal direnç olarak tanımlanır. Kazanılmış dirençte ise transpozon veya plazmit DNA'sında oluşan mutasyonlar nedeniyle bakterinin genetik yapısında ortaya çıkan değişimler ile olur (19).

Bakterilerde antibiyotiklere karşı oluşan direnç çeşitli yollarla gelişmektedir. Bunlar arasında;

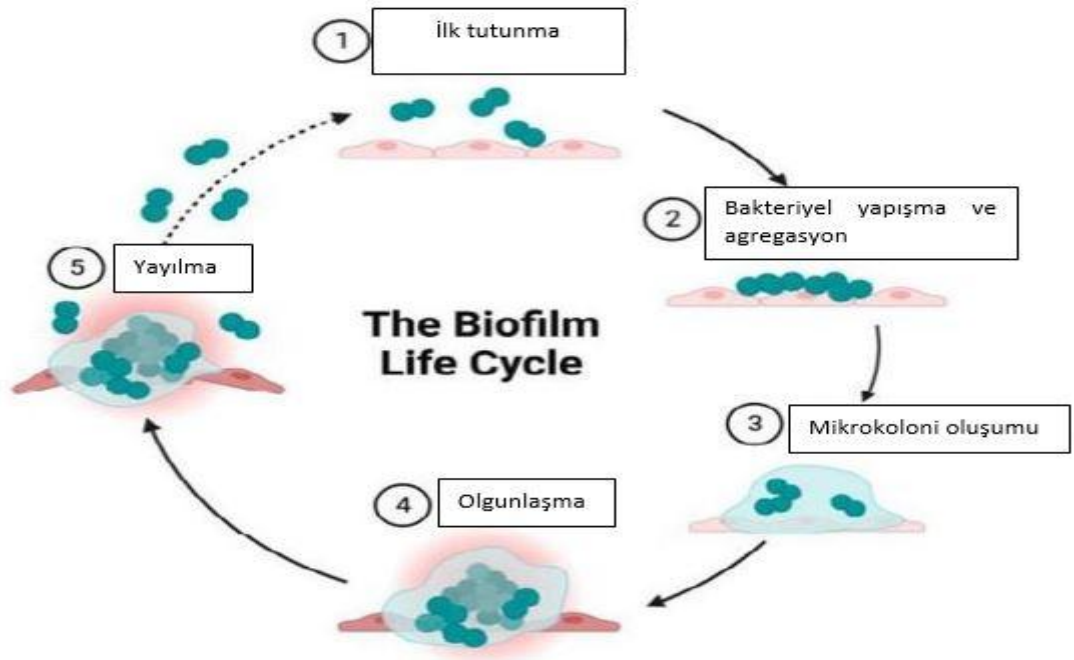
- Hedef bölgede modifikasyon veya mutasyon; antibiyotiklerin etki gösterebilmesi için hedef bölge ile birleşmeleri gerekir. Hedef bölgede meydana gelen değişim ilacın hedef ile birleşmesini engeller ve ilacın etkisini gösterememesine sebep olur.
- Permeabilitede azalma; bakteri hücre membranında porin kanalları veya dış zar porinleri adı verilen ve hücre içerisine geçirgenliği kolaylaştıran yapılar bulunmaktadır. Antibiyotik maruziyeti sonrasında bakterinin membran geçirgenliğini azaltmak için porinlerin yapısında veya miktarında değişim yaparak ilacın hücre içine girişini engellemiş olur.
- Eflüks pompa sistemi; bakterilerde plazma membranında bulunan ve çeşitli substratları aktif olarak dışa atmak için taşıyıcı görevi görürler. Bu yapı, hücre içerisinde hücreye zarar verecek bileşenlerin birikmesini önleyerek hücre için zararlı bileşenleri dışa atmayı sağlayan bir kendini koruma mekanizmasıdır.
- İnaktive edici enzimler; bakteriler tarafından üretilen inaktive edici enzimler hücreye giren antibiyotikleri hidrolize edebilir veya modifiye ederek hedef bölgeye ulaşmadan inaktif hale getirebilir. Bu enzimler arasında aminoglikozitleri inaktive eden N-asetiltransferaz, O-fosfotransferaz ve O-adenosiltransferaz, β -laktamaz, kloramfenikol asetiltransferaz gibi enzimler örnek gösterilebilir.

gibi sistemler yer almaktadır (20).

3.2. Biyofilm

Bakterilerin antibiyotiklere karşı geliştirdiği dirençte rol oynayan bir diğer yapı ise biyofilm yapısıdır. Biyofilm, kendi kendine üretilen bir polimer matris yapısıyla çevrili mikrobiyal hücre topluluğu olarak tanımlanmaktadır (21). Biyofilm yapısının temel taşı ekstrasellüler polimerik maddeler (EPS)'dir (22). Bakteri hücresi tarafından salgılanan EPS, hücreyi antibiyotiklere, konak immün sistemine ve çeşitli çevresel etmenlere karşı korur (22,23). EPS'nin içeriği oldukça kompleks bir yapıda olup; bakterinin üreme fazına ve çevresel koşullara göre değişkenlik gösterir (22). Genellikle EPS yapısı; polisakkaritler, proteinler, lipitler, ekstrasellüler DNA (eDNA) ve metal iyonlarından oluşmaktadır (22).

Biyofilm oluşumu; ilk tutunma, bakteriyel yapışma ve agregasyon, mikrokoloni oluşumu, olgunlaşma ve yayılım olmak üzere beş evrede gerçekleşmektedir (Şekil 3.3) (24).



Şekil 3.3. Biyofilm oluşum evreleri (24)

İlk tutunma, serbest haldeki planktonik bakterilerin herhangi bir yüzey ile karşılaşması ile başlar. Yüzeye tutunma, flagella ve/veya pili gibi bakteriyel yapılar ya da fiziksel kuvvetler aracılığıyla gerçekleşir. Bu aşamadaki tutunma geçici ve geri

dönüşümlüdür. Yüzeye yapışma düzeyi; yüzeyin içeriği ve bileşimi, bakterinin hücre yüzey özellikleri ve diğer çevresel etmenler ile ilişkilidir. Tutunma düzeyini kontrol eden kuvvetler arasında hidrofobik, sterik, elektrostatik, van der Waals ve proteinlerin adezyonu yer alabilmektedir. Bu kuvvetlerin total etkisi hücrenin yüzeye tutunmasında devamlılık sağlamasına ve itme kuvvetlerini aşarak geri dönüşümsüz bağlanmaya ve tek bir katman oluşturmalarına katkı sağlar (24).

Bakteriyel yapışma ve agregasyon evresinde, yüzeye geri dönüşümlü olarak tutunan hücreler reseptöre özgü ligandlar ile etkileşime giren EPS oluşturur. EPS hücrelerin yüzeye daha stabil şekilde tutunmasını sağlar. Bu evrede aktivasyon en üst düzeye ulaştığı zaman yapışma geri dönüşümsüz bir duruma geçerek bakteri hücrelerinin yapışılan yüzeyde toplanmasını sağlar (24).

Mikrokoloni oluşumu evresinde, yüzeye tutunan hücreler çoğalarak mikrokoloni oluşturur. Farklı türlerde mikroorganizma topluluğu içeren biyofilm yapılarında her tür kendi mikrokolonisini oluşturur. Mikrokoloniler arasında oluşan kanallar aracılığıyla ortamdaki su ve besinlerin difüzyonu gerçekleşir. Yeni oluşan mikrokolonilerde bakteri popülasyonu gittikçe artar. Bu artış ile birlikte bakterinin etrafında oluşan popülasyondaki yoğunluğu algılamasını sağlayan çoğunluk algılama (QS) sinyal sistemi devreye girer. Hücreler arasında iletişimi sağlayan bu sinyal sistemi bakteriyel hücrelerdeki spesifik genlerin ekspresyonunu sağlayarak olgun biyofilm yapısının oluşumunda rol alır (25).

Dördüncü evre olgunlaşma evresi olup, bu evrede biyofilm yapısında yer alan bakteriler EPS matrisi içerisinde çoğalır ve olgunlaşarak üç boyutlu yapılar oluşturur (23).

Yayılma süreci biyofilmin olduğu bölgeden diğer bölgelere yayılımının olduğu dönemdir. Biyofilm yapısı tipik olarak iki katmana sahiptir. İlk katman temel katman olup, diğer katman ise bakterilerin yeni yüzeylere yayılımı için bir yayılma bölgesi olarak görev yapar. Biyofilm yapısı yaşlandıkça içerisindeki kaynaklar azalır ve toksik etkiye sahip metabolik yan ürünler birikmeye başlar. Bu nedenle bakteri hücreleri üreme, besin kaynağı bulma ve toksik yan ürünlerden kurtulmak için diğer bölgelere yayılır. Yayılma bölgesinde yer alan tek veya küme halindeki hücreler bu

süreçte rol oynar. Bu hücreler yeni yüzeylere yayılarak enfeksiyonun yayılmasına ve yeni biyofilm yapıları oluşmasını sağlayarak canlılıklarının devamını sağlar (24).

Biyofilm yapısı antibiyotiklere karşı direnç oluşumuna katkı sağlamaktadır. Biyofilm içerisinde yer alan bakterilerin, planktonik formlarına kıyasla ilaç direncinde 10 ile 1000 kat arasında artış göstermektedir (24). Bu direnç, antibiyotiğin biyofilmin yapısı nedeniyle biyofilm içerisine yeterince geçememesinden veya penetrasyonunun azalması ile ilişkili olarak oluşmaktadır. Matris yapısı, antibiyotiklerin biyofilm içerisine nüfuz etmesini engelleyebilmektedir. Bazı antibiyotikler matriste yer alan yapılar ile kompleks oluşturur veya enzimler ile parçalanır, bu da sonuç olarak bakteriyel hücrelere ulaşan ilaç konsantrasyonunun azalmasına neden olur. Aminoglikozitler gibi pozitif yüklü antibiyotikler ise matriste yer alan eDNA gibi negatif yüklü maddelere bağlanarak antibiyotiklerin penetrasyonunu yavaşlatabilir (26). Oluşan bu etkiler sonucunda biyofilm içerisinde yer alan bakteriler canlılıklarını sürdürerek enfeksiyonun devamlılığını ve ilerlemesini sağlar.

3.3. Çoğunluk Algılama

Çoğunluk algılama, otoindükleyiciler olarak tanımlanan hücre dışı sinyal molekülleri ile düzenlenen bakteri hücreleri arası iletişim süreci olarak tanımlanmaktadır. Popülasyondaki bakteri yoğunluğu arttıkça otoindükleyiciler çevrede birikir ve bakterilerin çevredeki hücre yoğunluğunu algılamasına ve toplu olarak gen ekspresyonunu düzenlemesini sağlar. QS mekanizması bakterilerde sporülasyon, biyoluminesans, biyofilm oluşumu, virülans faktörleri ve antibiyotik üretimi gibi süreçlerin kontrolünde rol oynar (27).

Gram negatif ve gram pozitif bakterilerde farklı QS mekanizmaları kullanılır. Gram negatif bakterilerde QS sistemleri, küçük ve membrandan yayılabilen sinyal molekülleri kullanırken, gram pozitif bakteriler membrandan yayılmayan sinyal molekülleri kullanır (28). Gram pozitif bakteriler, sinyal molekülleri olarak otoindükleyici peptitler adı verilen peptitleri kullanır. Buna karşılık gram negatif bakteriler açıl homoserin laktonlar (AHL) veya üretimi substrat olarak S-adenosilmetionine (SAM) bağlı diğer moleküller olan küçük molekülleri kullanırlar (27).

Gram pozitif bakterilerde, QS için salgılanan peptitler genellikle özel bir ATP bağlayıcı kaset taşıyıcısı aracılığı ile salgılanır. Salgılanan otoindükleyici peptit konsantrasyonu hücre popülasyonu yoğunluğuna bağlı olarak artar. İki bileşenli sensör kinazlar, salgılanan peptit sinyalleri için dedektör görevi görür. Peptit ligandı ile etkileşim, aynı türden bir yanıt düzenleyici proteinin fosforilasyonu ile sonuçlanan bir dizi tepkime olayını başlatır. Tepki düzenleyicinin fosforilasyonu onu aktive ederek DNA'ya bağlanmasını ve QS kontrollü hedef genlerin transkripsiyonunu aktive eder (29).

Gram negatif bakterilerde QS mekanizması, LuxI ve LuxR adı verilen iki düzenleyici proteininin homologlarını içerir. LuxI benzeri proteinler, otoindüktör olarak bilinen spesifik bir AHL biyosentezinden sorumludur. Otoindükleyici konsantrasyonu, hücre popülasyonu yoğunluğunun artmasıyla birlikte artar. LuxR benzeri proteinler, kritik bir eşik konsantrasyonuna ulaşmış olan aynı kökenli AHL otoindükleyicilerine bağlanır ve LuxR-otoindüktör kompleksleri de hedef gen transkripsiyonunu aktive eder. Bu QS mekanizmasını kullanarak, gram negatif bakteriler gen ekspresyonunu hücre popülasyonu yoğunluğuna göre etkili bir şekilde düzenleyebilir (29).

3.4. Antibiyotik Direncine Karşı Aranan Çözümler ve Alternatifler

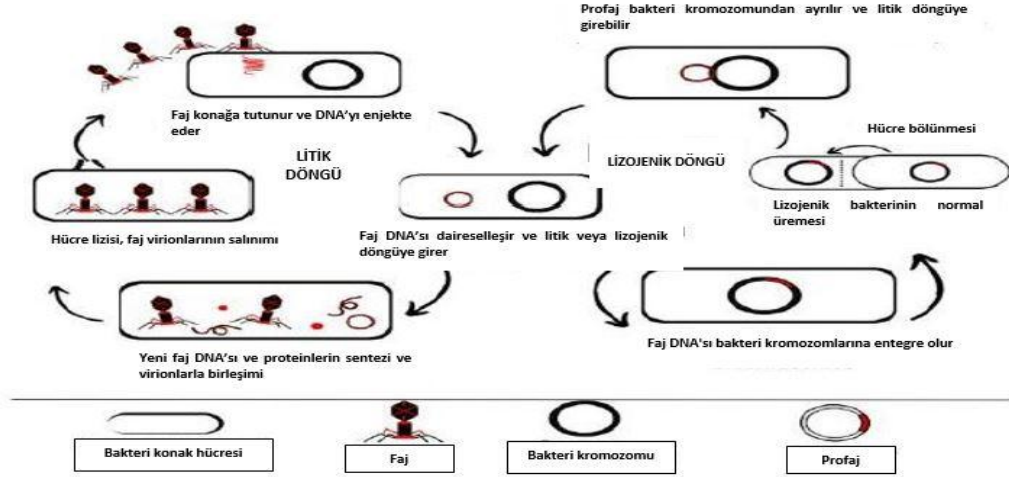
Son dönemlerde artan antibiyotik direnci sorununa karşı yeni çözüm ve alternatiflerin arayışı için birçok araştırma yapılmaktadır. Bu araştırmaların sonucunda; probiyotikler (4), bakteriyofaj terapisi (4), monoklonal antikorlar (30), antimikrobiyal peptitler (31), nanopartiküller (32), hipertermi uygulaması (33) ve flavonoidler (34,35) gibi bazı yöntem ve uygulamalar antibiyotik direncine karşı aranan alternatif çözümler arasında kendilerine yer bulmuştur.

Probiyotikler, antimikrobiyal metabolitler üreten ve besin kaynağı için patojen mikroorganizmalarla mücadele eden canlı mikroorganizmalardır. Probiyotik olarak en sık *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* cinsi bakteriler kullanılmaktadır (4). Probiyotiklerin etki mekanizmaları arasında bakteriyosin benzeri ve hidrojen peroksit gibi inhibitör maddelerin üretimi, adezyon bölgeleri ve besin maddeleri için rekabet etme gibi çeşitli mekanizmalar rol oynar (4). Çeşitli çalışmalar probiyotiklerin patojen bakterileri inhibe ettiği ve immün sistemi modüle ettiğini göstermiştir (36–38). Bazı

Bifidobacterium cinsi bakterilerin insanlar için en önemli patojenlerden biri olan *Staphylococcus aureus* bakterisinin üremesini inhibe ettiği bildirilmiştir (39). *Pediococcus acidilactici*'nin, *Pseudomonas aeruginosa*'nın hareket yeteneğini ve biyofilm oluşumunu ve piyosiyanın, proteaz gibi virülansını faktörlerini azalttığı gösterilmiştir (40). *Lactobacillus acidophilus*'un ise metisilin dirençli *S. aureus* (MRSA) izolatlarında biyofilm oluşumunu ve lipaz üretimini inhibe ettiği bildirilmiştir (37).

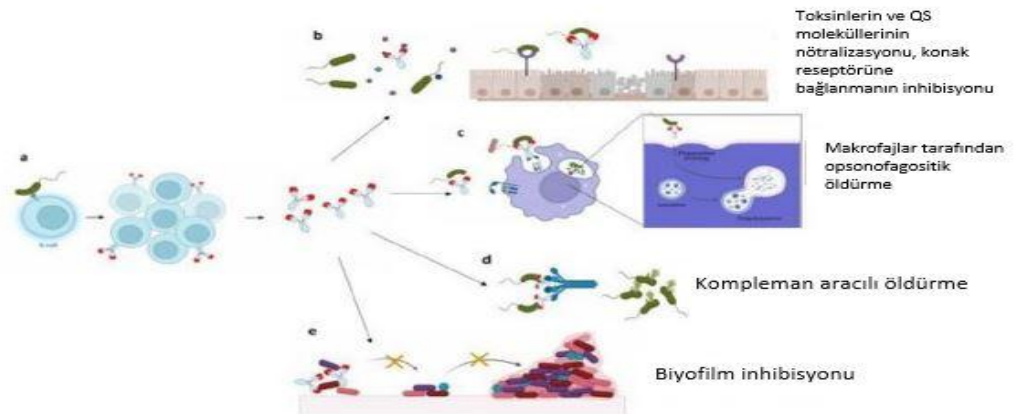
Bakteriyofajlar, yalnızca bakteri hücrelerini enfekte etme yeteneğine sahip virüsleridir. Herhangi bir metabolik aktiviteleri bulunmaz ve bu sebeple bakteri hücrelerinin biyokimyasal mekanizmasını kullanarak, genetik materyalleri aracılığı ile kendilerini çoğaltan zorunlu hücre içi parazitlerdir (31). Bakteriyofajın, hücre içerisine girme süreci bakteri hücresi yüzeyine tutunması ile başlar. Bu süreç üç aşamadan oluşan karmaşık bir süreç olup, ilk olarak faj ile bakteri arasında difüzyon ve Brown hareketi yoluyla temas gerçekleşir. Ardından, faj partikülü elektrostatik kuvvetler aracılığıyla geri dönüşümlü, spesifik olmayan bir bağlanma gerçekleştirir ve ardından fajın kapsid proteini ile bakteriyel yüzey reseptörü arasında geri dönüşümsüz bir bağlanma gerçekleşir. Bu yüzey reseptörü bakteriyofajın türüne bağlı olarak; glikoprotein, aminoasit, lipopolisakkarit, pili veya teikoik asit gibi yapılar olabilir (31). Bakteriyofajın bakteri hücre yüzeyine bağlanmasından sonra, faj yapısının bir kısmı veya fajın kendisi konak hücreye nüfuz eder ve bunu takiben genetik materyalin tamamı konağın hücre içi ortamına salınır (31). Bakteriyofaj terapisinde etkinin ortaya çıkmasında en önemli etken litik ve lizojenik olarak adlandırılan yaşam döngüsüdür (Şekil 3.4). Litik döngü, bakteri hücrelerinin doğrudan yok edilmesini sağladığından terapötik uygulamalar için özellikle önemlidir (41). Bu döngüde konak hücre içerisine giren faja ait genetik materyal bakteri hücresinin hücresel mekanizmasını ele geçirir. Bakteriyofaja ait genetik materyal bakteriyi, yeni viral partikülleri bir araya getirmek için gereken proteinleri ve nükleik asitler gibi viral bileşenleri üremeye yönlendirir. Bakteriyofaj bakteri içinde çoğaldıkça, bakteri hücresi yeni oluşan fajlarla dolar. Bakteri hücresi, faj parçacıklarının birikmesi nedeniyle sonunda lizise uğrar ve çevredeki ortama yeni bakteriyofajlar salınır. Bu bakteriyofajlar daha sonra komşu bakterileri enfekte ederek enfeksiyon ve yıkım döngüsünü sürdürebilir (41). Litik döngünün bakterisidal yapısı, bakteriyofajların terapötik potansiyelinin temelini

oluşturur ve özellikle de antibiyotiğe dirençli olan bakteriyel enfeksiyonlara karşı etkili alternatif haline getirir (41).



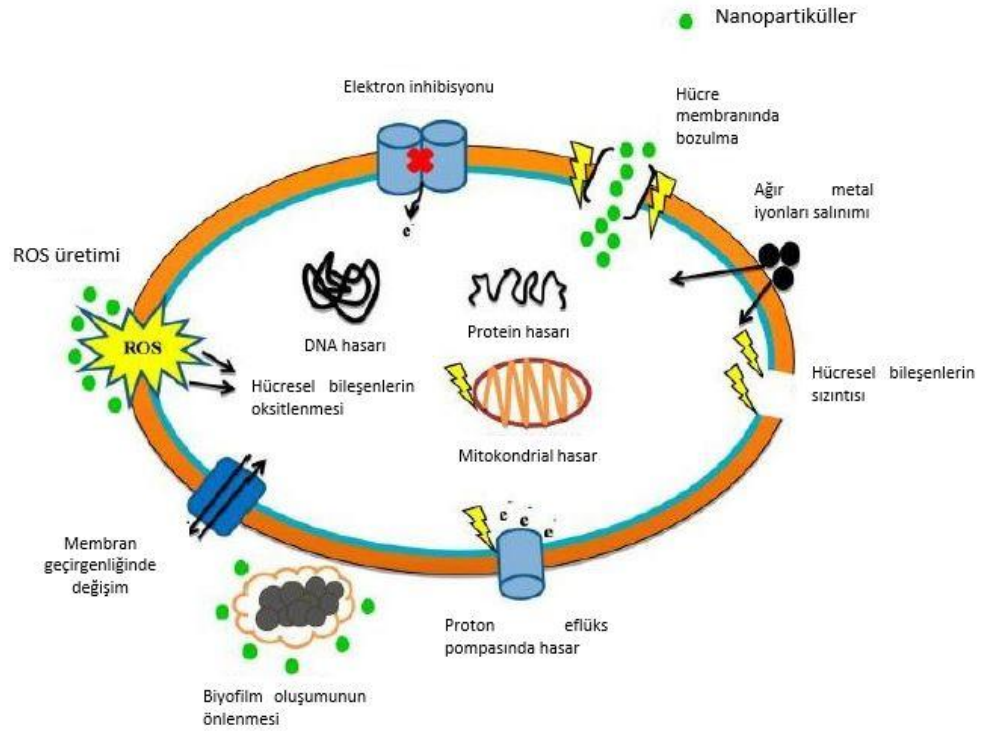
Şekil 3.4. Bakteriyofajların yaşam döngüsü (41)

Monoklonal antikorlar, bir antijendeki tek bir epitopa özgü olan ve tek bir B hücresi klonundan türetilen homojen antikorlardır. Monoklonal antikorlar toksinlere, QS moleküllerine, hücre yüzeyinde yer alan proteinlere ve ekzopolisakkarit yapılarına, kapsüllü bakterilerdeki polisakkarit yapılarına bağlanabilir (42). Monoklonal antikorlar, çeşitli mekanizmalar ile bakteri hücreleri üzerine etki göstermektedir (Şekil 3.5).



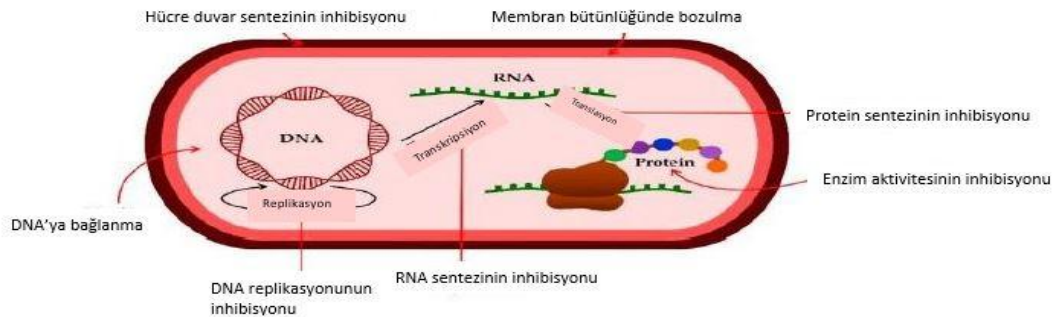
Şekil 3.5. Monoklonal antikorların etki mekanizmaları (42)

Nanopartiküller genellikle karbon ve emülsiyon bazlı metal oksitler, metaller veya kompozitlerden elde edilen, boyutları 1-100 nm değişen, çeşitli form ve şekillerde bulunan yapılardır (32). Boyut, morfolojik yapı, elektrik yükü ve yüzey kaplamaları gibi birçok özellik açısından farklılık gösterebilen çeşitlik teknikler ile farklı uygulamalarda antimikrobiyal aktiviteye sahip yeni kompozit antimikrobiyal maddeler geliştirilebilir (43). Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ), metal bazlı nanopartiküllerin bakterilere karşı selektifliğinin yanı sıra öncelikli olarak belirlenen patojenlere karşı da etkili olduğunu belirtmektedir (43). Nanopartiküllerin bakteriler üzerindeki etkileri çeşitli yollarla ortaya çıkmaktadır. Bunlar arasında; DNA hasarı, protein hasarı, mitokondriyal hasar, hücre membranında bozulma, biyofilm oluşumunu önleme gibi çeşitli etkileri bulunur (Şekil 3.6) (43). Bunlara ek olarak nanopartiküllerin konvansiyonel antibiyotikler ile kombine kullanımı da bulunmaktadır ve antibiyotiklerin etkinliğini artırmaktadır (43).



Şekil 3.6. Nanopartiküllerin bakteriler üzerinde gösterdiği etkiler (43)

Antimikrobiyal peptitler; hayvanlar, bitkiler ve diğer çeşitli kaynaklardan elde edilen, genellikle 12-50 aminoasitten oluşan polipeptit yapılardır (44). Antimikrobiyal peptitlerin çoğu 100'den az aminoasit içerir ve yapısındaki aminoasitlerin dağılımı ve bileşimi farklılık gösterir. Antimikrobiyal peptitlerin uzunluğu antibakteriyel aktivitelerini ve mikrobiyal hedeflere karşı özgüllüklerini önemli ölçüde etkilemektedir (44). Genellikle +1 ile +9 arasında değişen net pozitif yüke sahip katyonik bileşenler olup, elektrostatik kuvvetler, öncelikle hücre zarıyla ilk etkileşimlerini düzenler. Katyonik yük ile biyolojik aktivite arasında güçlü bir korelasyon vardır; burada yükteki bir artış, artan aktiviteye ve zara bağlı peptitlerin daha yüksek konsantrasyona ulaşmasını sağlar (44). Hidrofobisite, peptidin membran tabakasına bölünme kabiliyetini düzenlediği için hücre zarlarıyla etkileşimde kritik bir rol oynar. Tipik olarak yaklaşık yarısında hidrofobik yapılar içerir. Yük gibi, hidrofobisite yüzdesinin optimize edilmesi de hücre zarlarına karşı aktiviteyi artırır (44). Ancak, bu optimum noktanın aşılması antimikrobiyal etkinlikte düşüşe ve memeli hücrelerine karşı sitotoksitede artışa yol açar (45). Hidrofilik ve hidrofobik aminoasitleri içeren amfipatik antimikrobiyal peptitler, bakterinin hücre zarına nüfuz etmede önemli bir rol oynar (44). Antimikrobiyal peptitlerin en önemli diğer özelliklerinden biri, mikrobiyal zarlarla etkileşime girme ve onları bozma yetenekleri için gerekli olan ikincil yapılarının çeşitliliğidir (44). Tüm bu yapısal özellikleri sayesinde antimikrobiyal peptitler; hücre duvarı sentezinin inhibisyonu, membran bütünlüğünde bozulma, DNA, RNA ve protein sentezinde inhibisyon ile enzim aktivasyonlarını bozarak anti bakteriyel etki gösterir (Şekil 3.7) (46).



Şekil 3.7. Antimikrobiyal peptitlerin antibakteriyel etki mekanizması (46)

3.5. Hipertermi Tedavisi

Hipertermi tedavisi; vücut sıcaklığından yüksek sıcakların kullanımı ile uygulanan ısı aracılı bir tedavi yöntemidir. Günümüzde özellikle tümörlerin tedavisinde olmak üzere onkoloji ve fiziksel tıp gibi alanlarda kullanılan bir yöntemdir (47,48). Hipertermi uygulaması onkolojik olarak, doku sıcaklığını arttırarak tümörleri oluşturan kanser hücrelerini öldürmek veya gelişimlerini engellenmek amacıyla harici bir ısı kaynağı aracılığı ile uygulanır (49). Hipertermi uygulaması özellikle kemoterapi ve radyoterapi başta olmak üzere kanser tedavilerine ek olarak uygulanan bir yöntemdir (50). Onkolojik hastalıkların tedavisinde bir adjuvan tedavi olarak kullanılmasının sebebi, yüksek sıcaklıkların, kanserli hücrelerde doğrudan hasara neden olması ve hücreleri diğer tedavi yöntemlerine karşı duyarlı hale getirmesidir. Böylece radyoterapi ve kemoterapi etkinliğini normal dokulara zarar vermeden veya çok az bir hasar ile arttırır (51).

Hipertermi tedavisi uygulama sıcaklıklarına göre ikiye ayrılmaktadır;

- I. Hafif hipertermi
- II. Ablatif veya yüksek sıcaklıklarda hipertermi

Hafif hipertermi, tümör içeren dokunun, fizyolojik veya biyolojik bir etki yaratmak için vücut sıcaklığının üzerine ısıtıldığı, ancak çoğu zaman doğrudan önemli hücre ölümü oluşturmaması amaçlanmayan terapötik bir tekniktir. Hafif hipertermide amaç, bir saate kadar olan zaman dilimi içerisinde 40 °C ile 45 °C sıcaklık elde etmektir (52,53).

Ablatif veya yüksek sıcaklıklarda hipertermide ise genellikle 55 °C'nin üzerindeki sıcaklıklar kullanılır, ancak bu sıcakların kullanımı 20 saniyeden 15 dakikaya kadar uzayabilen bir süre ile sınırlıdır (54). Ablasyon veya yüksek sıcaklıkta hipertermi, hafif hiperterminin aksine tümörü yok etme veya tümörde ciddi tahribat oluşturmak amacıyla tümöre tedavilerin doğrudan uygulanmasını amaçlar (55).

Hipertermi tedavisinde; mikrodalgalardan enerji üreten probalar, radyofrekans, lazerler, ultrason, kan veya kemoterapi ilaçları gibi sıvıları ısıtıp vücuda enjekte edilmesi (perfüzyon), tüm vücudu ısıtılmış bir bölmeye veya sıcak su banyosuna yerleştirme veya ısıtılmış battaniyelerle sarma gibi teknikler ısı kaynağı olarak kullanılır (56).

Hipertermi tedavisinin; hedef doku veya organa, hastalığın evresine veya durumuna ve enerjiyi dağıtım tekniğine bağlı olarak üç ana klinik uygulama yöntemi vardır. Bu yöntemler; lokal, bölgesel ve tüm vücut hipertermi uygulamalarıdır. Lokal hipertermi lokalize, bölgesel hipertermi ilerleyici veya derin yerleşimli, tüm vücut hipertermi ise dağınık yerleşimli malignitelerde tercih edilmektedir (55).

Lokal hipertermide küçük bir alana ısı uygulanır. Kullanılan lokal hiperterminin türü tümörün bulunduğu yere bağlıdır. Eksternal hipertermi, intralüminal veya endokaviter hipertermi ve interstisyel hipertermi olmak üzere üç tip lokal hipertermi uygulama tekniği bulunur (56).

Eksternal hipertermi, derinin üzerinde veya hemen altında bulunan tümörleri tedavi etmek için kullanılır. Bu tür hipertermi için tedavi alanının çevresine veya yakınına ısı yaratan cihazlar yerleştirir. İntralüminal veya endokaviter hipertermi, yemek borusu veya rektum gibi vücut boşluklarının içindeki veya yakınındaki tümörleri tedavi etmek için kullanılır. Bu tür hipertermide vücut boşluğunun içine ısı yaratan sondalar koyulur ve bunlar tümöre yerleştirilir. İnterstisyel hipertermi, beyin gibi vücudun derin kısımlarındaki tümörleri tedavi etmek için kullanılır. Bu tip hipertermi, tümörün harici tekniklere göre daha yüksek sıcaklıklara ısıtılmasını sağlar. Teknik anestezi altındayken uygulanır ve tümöre probalar veya iğneler yerleştirilir. Proben doğru yerde olduğundan emin olmak için ultrason gibi görüntüleme teknikleri kullanılabilir. Daha sonra ısı kaynağı probun içine yerleştirilir. Radyofrekans ablasyonu, kanser hücrelerini ısıtmak ve öldürmek için radyo dalgalarını kullanan bir tür interstisyel hipertermidir (56).

Bölgesel hipertermide vücudun boşluk, organ veya uzuv gibi geniş bölgelerine ısı uygulanır. Bölgesel hipertermide kullanılan teknikler arasında derin doku teknikleri, bölgesel perfüzyon ve sürekli hipertermik peritoneal perfüzyon yer alır. Derin doku teknikleri rahim ağzı veya mesane kanseri gibi vücuttaki kanserleri tedavi eder. Bu işlem sırasında, tedavi edilecek kavite veya organın çevresine ısı ileten cihazlar yerleştirilir ve sıcaklığın yükseltilmesi için enerji bu bölgeye odaklanır. Bölgesel perfüzyon teknikleri, melanom gibi kol ve bacaklardaki veya karaciğer veya akciğer gibi bazı organlardaki kanserleri tedavi eder. Bu işlem sırasında hastanın kanının bir kısmı alınır, ısıtılır ve daha sonra uzuv veya organa geri pompalanır. Bu tedavi sırasında sıklıkla kemoterapi verilir. Sürekli hipertermik periton perfüzyonu,

bağırsakları, mideyi ve karaciğeri içeren periton boşluğundaki kanser türlerinin tedavisinde kullanılır. Bu tedavi cerrahi müdahale ile uygulanır. Anestezi altındayken, kemoterapi ilaçları bir ısıtma cihazından periton boşluğu boyunca yayılarak bölgedeki sıcaklığın 41 °C ile 42 °C'ye ulaşmasını sağlar (56).

Tüm vücut hipertermisi, vücuda yayılmış kanseri tedavi etmede kullanılır. Bu tür hipertermide, hastanın vücut sıcaklığını kısa süreliğine 41,5 °C veya 42 °C'ye yükselten bir termal bölme yerleştirilir veya sıcak su örtülerine sarılır (56).

Her tedavi yönteminde olduğu gibi hipertermi tedavisi için de çeşitli yan etkiler bildirilmiştir. Lokal hipertermi uygulanan bölgede ağrıya, enfeksiyona, kanamaya, kan pıhtılaşmasına, şişliklere, yanıklara, kabarmaya ve tedavi edilen bölgenin yakınındaki cilt dokusunda, kaslarda ve sinirlerde hasara neden olabilir (57). Yan etkiler vücudun hangi kısmının tedavi edildiğine ve sıcaklığın ne kadar yükseltildiğine bağlıdır. Tüm vücut ve bölgesel hipertermi bulantı, kusma ve ishale neden olabilir. Nadir de olsa daha ciddi yan etkiler arasında kalp, damar ve diğer önemli organlarla ilgili sorunlar görülebilir. Bölgesel ve tüm vücut hipertermisi sıklıkla kemoterapi ve radyasyon gibi diğer kanser tedavileriyle birlikte verildiğinden, bu tedavilerin yan etkileri o anda veya daha sonra görülebilir. Hipertermi tedavisindeki deneyim, gelişen teknoloji ve daha iyi beceriler, daha az yan etkiye yol açmaktadır. Çoğu zaman insanlarda hipertermi ile ilgili ciddi yan etkiler görülmemektedir (57).

3.5.1. Hipertermi tedavisi ve mikrobiyoloji

Bakterilerin üremelerini etkileyen önemli koşullardan birisi üreme sıcaklığıdır. Her canlı gibi bakteriler de üreyebilmek ve yaşamlarını sürdürebilmek için belirli sıcaklıklara ihtiyaç duyar. Bakteriler üreme sıcaklıklarına göre dört temel gruba ayrılır. Bu gruplar; psikrofiller, mezofiller, termofiller ve aşırı termofillerdir.

Psikrofiller, 15 °C ve altındaki sıcaklıklarda üreyebilme yeteneğine sahip olan gruptur. Mezofiller, 20-45 °C sıcaklıklarda optimum üreme yeteneğine sahiptir. Termofiller, 40-80 °C aralığında üreyebilirler ve optimum üremeleri 50-65 °C arasındaki sıcaklıklarda görülür. Aşırı termofiller ise 100 °C'nin üzerindeki sıcaklıklarda üreyebilen bakterilerdir (58).

Herhangi bir organizma için üremenin ve canlılığın devam etmesi için gerekli olan sıcaklık aralığı, minimum ve maksimum sıcaklık aralığı olarak tanımlanır.

Bakterilerin üremesi düşük sıcaklıklarda yavaşlamaktadır. Bu durum düşük sıcaklıklarda enzim aktivasyonun azalması, lipid yapılarının sertleşme eğilimi göstermesi ve membran akışkanlığının kaybolması ile ilişkilidir (58). Üreme hızı, optimum üreme sıcaklığına ulaşıncaya kadar sıcaklık ile orantılı olarak artar ve ardından tekrar azalır. Bir organizma için optimum ve sınırlayıcı sıcaklıklar, enzim sistemlerinin sıcaklık aralığını yansıtır ve bu sıcaklık aralığı da üç boyutlu protein yapıları tarafından belirlenir. Optimum sıcaklık eşiği aşıldığında enzimlerde meydana gelen denatürasyon sonucu üreme aktivitesi kaybolur ve üreme hızı keskin bir şekilde düşer (58).

İnsanlarda hastalığa neden olan patojenler, insan vücut ısısında üreme ve canlılığını sürdürme yeteneğine sahiptir. Hipertermi uygulaması bu sıcaklık eşiğinin üstüne çıkmayı hedeflediği için bakterilerin hipertermi etkisi altında üremesini inhibe ederek etki gösterebileceği ve lokal hipertermi tedavisinin, hipertermiye duyarlı bir patojen bakterinin üremesini engellemede etkili olabileceği bildirilmiştir (33).

Hiperterminin üreme inhibisyonu dışında bakteriler üzerinde farklı etkileri de bulunmaktadır. Bakteriye hücre morfolojisinde değişim (59), hücre motilitesinin inhibisyonu (59), biyofilm oluşumunda azalma (60,61), koloni morfolojisinde değişim (62), antibakteriyel ajanlar ile sinerjik etki oluşumu (62–65) gibi etkiler bakteriler üzerinde gözlemlenen üreme inhibisyonu dışındaki etkiler arasında yer almaktadır.

Hipertermi tedavisinin patojen bakteriler üzerinde kullanımına olanak sağlanması için öncelikle etkenin termal duyarlılık profili belirlenerek sıcaklığa duyarlı veya sıcaklığa dirençli olarak tanımlanması gerekmektedir (33). Bu amaçla antibiyograma benzer bir şekilde minimum inhibitör sıcaklık (MİS) düzeyinin belirlenmesi gerekmektedir (33). Termobiyogram olarak tanımlanan yöntem ile MİS değerini bulmak için bakteri içeren bir sıvı besiyerinin artan sıcaklıklara (örn. 37 °C-45 °C) sahip inkübatörlerde gece boyu inkübe edilmesi ve inkübasyon süresi sonunda gözle görülür üremenin olmadığı en düşük sıcaklık değerinin MİS olarak belirlenebilir (33). Termobiyogram sonucu MİS belirlenmesinin ardından test edilen bakterinin bir eşik sıcaklığına göre sıcaklığa duyarlı veya sıcaklığa dirençli olduğuna karar verilebilir. Eşik sıcaklığını etkileyebilecek ana parametre doku/organ türüdür. Burada eşik değeri, bir doku veya organın sıcaklığa bağlı olarak hasara uğramadan ısıtılabilceği maksimum sıcaklıktır (33). Hipertermi tedavisinin uygulanabilmesi için

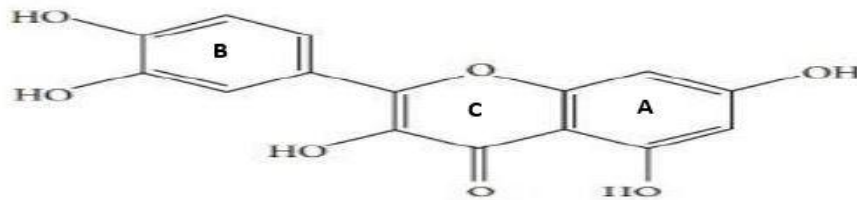
doku veya organın hasara uğramayacağı eşik sıcaklık değerleri için termal dozimetri verileri bulunmaktadır (66). Bakterinin MİS değeri enfekte ettiği doku veya hipertermi uygulanabilecek eşik sıcaklık değerinden düşük ise sıcaklığa duyarlı kabul edilir. MİS değeri enfekte doku veya organın hipertermi uygulanabilecek eşik sıcaklık değerinden yüksek ise sıcaklığa dirençli kabul edilir (33). Ancak bir doku veya organ tipi için sıcaklığa dirençli olarak belirlenen bakteri türünün farklı bir doku veya organda sıcaklığa duyarlı olması mümkündür (33).

3.6. Quercetin

Polifenoller, bitkilerde doğal olarak bulunan kimyasal bileşiklerdir. Polifenoller, flavonoidler ve flavonoid olmayan (lignanlar, stilbenler, fenolik asitler, fenolik olmayan metabolitler ve diğer polifenoller) iki ana gruba ayrılır ve 8000'den fazla bileşik içermektedir (67).

Flavonoidler; flavonlar, flavonoller, flavanonlar, flavanoller, antosiyanidinler ve izoflavonlar olmak üzere altı alt gruba ayrılır (68). Quercetin, $C_{15}H_{10}O_7$ formülüne sahip bir flavonol alt grubunun üyesidir (67). Quercetin'in doğadaki temel kaynağı çeşitli bitkilerdir (67).

Quercetin molekülünde bir ketokarbonil grubu bulunur ve birinci karbondaki oksijen atomu baziktir ve güçlü asitlerle tuzlar oluşturabilir. Moleküler yapısı, A halkası arasında bir dihidroksi grubu, *o*-dihidroksi grubu B, C halkası C2, C3 çift bağı ve 4-karbonil olmak üzere dört aktif grup içerir (Şekil 3.8). Quercetin'in biyolojik aktivitesinde fenolik hidroksil grubu ve çift bağların varlığı rol oynar (69).



Şekil 3.8. Quercetin'in kimyasal yapısı (69)

Quercetin; antioksidan, antimikrobiyal, antitümör, koruyucu kardiyovasküler, QS inhibisyonu etki gibi birçok farmakolojik etkiye sahiptir (69,70).

Serbest radikallere karşı en etkili flavonoid quercetindir (71). Kimyasal yapısındaki polifenolün benzo-dihidropiran halkasında dört hidroksil grubu bulunması güçlü bir antioksidan etki oluşturur ve bu etki ile serbest radikalleri ortadan kaldırır (69). Antioksidan etkinin *in vitro* mekanizmaları; serbest radikallerin doğrudan inhibe edilmesi, metal iyonlarının şelatlanması ve lipid peroksidasyonun inhibisyonudur. *In vivo* mekanizması ise glutatyon seviyesinin düzenlenmesi, enzim aktivasyonu ve sinyal iletim yolu üzerinde etki göstererek ortaya çıkar (69).

Antitümör etkisi hem *in vivo* hem *in vitro* mekanizmalarla ortaya çıkmaktadır. Quercetin'in gösterdiği antitümör etkisi hücre döngüsünü değiştirerek, hücrelerin çoğalmasını engelleyerek, apoptozu teşvik ederek, anjiyogenez ve metastaz ilerlemesini engelleyerek ve otofajiyi etkileyerek ortaya çıkmaktadır (72).

Koruyucu kardiyovasküler etki sonucunda quercetin'in, kalp fonksiyon bozukluğunu ve miyokard hipertrofisini iyileştirebileceğini, trombozu önleyebileceğini, koroner arterleri genişletebileceğini, ateroskleroza hafifletebileceğini, kan lipid seviyelerini ve lipid peroksidasyonunu azaltabileceğini, LDL oksidasyonunu engelleyebileceğini ve kılcal damarlardaki kırılabilirliği iyileştirebileceğini bildirilmiştir (73).

Çeşitli farmakolojik ve biyolojik aktivitelere sahip olan quercetin'in kullanımında kanser hücrelerine karşı yüksek toksik etki göstermesine karşı, normal hücrelere çok az yan etki veya hiç yan etki göstermediği belirtilmiştir (74). Bu durum, quercetin'in kullanılabilirliği açısından önem göstermektedir.

3.6.1. Quercetin ve mikrobiyoloji

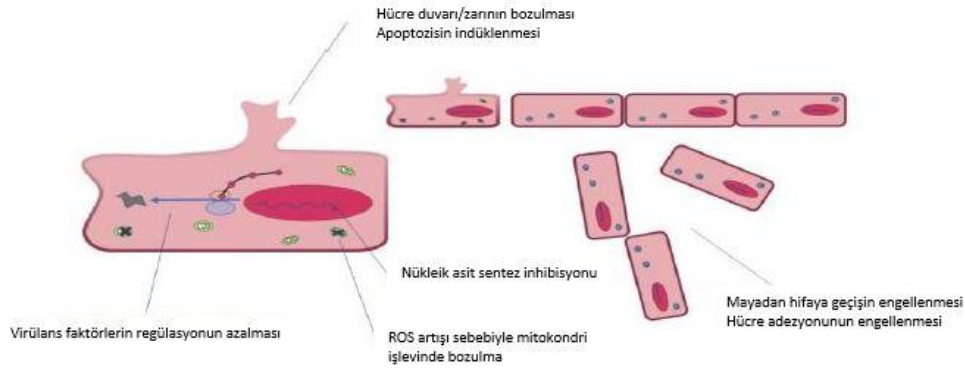
Quercetin, mikroorganizmalar üzerinde çeşitli mekanizmalar ile etki göstermekte ve bunun sonucunda antibakteriyel, antiviral, antifungal ve antiprotozoal aktivite ortaya çıkmaktadır (9,75).

Toxoplasma, *Babesia*, *Theileria*, *Trypanosoma* ve *Leishmania* gibi çeşitli protozoalara karşı quercetin etki göstermektedir (75). *Trypanosoma brucei rhodesiense*, *T. brucei brucei*, *T. cruzi* ve *Leishmania donovani* gibi protozoalara karşı quercetin, üremeyi hem *in vivo* hem de *in vitro* olarak inhibe etmektedir (76).

Toxoplasma gondii'ye karşı *in vitro* olarak bradizoit gelişimini baskılamaktadır (77). Klorokin duyarlı ve klorokin dirençli *Plasmodium falciparum*'a karşı ise antiplasmodiyal etki göstermektedir (78).

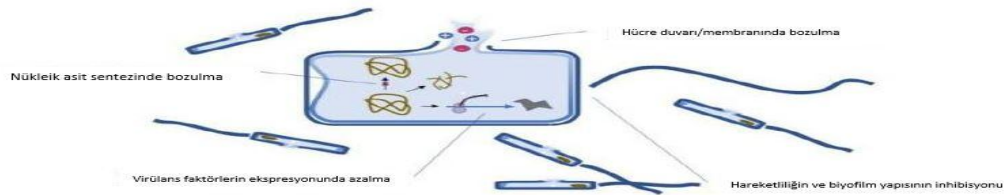
Antiviral olarak, polimerazlar, revers transkriptaz, proteazlar ve integras gibi temel viral enzimlerin bloke ederek, DNA giraz ve viral kapsid proteinlerine bağlanmayı baskılayarak etki göstermektedir (9).

Antifungal etki; plazma membranında bozulma, nükleik asit sentez inhibisyonu, protein sentezi ve mitokondriyal fonksiyonların inhibisyonu, antifungaller ile sinerji, fungal adezyonun inhibisyonu, hücre yüzeyi hidrofobisitesinin, flokülasyonun, maya-hif geçişinin ve biyofilm yapısının inhibisyonu, gen ekspresyonunda değişim ile meydana gelmektedir (Şekil 3.9) (79,80).



Şekil 3.9. Quercetinin antifungal etki mekanizmaları (9)

Antibakteriyel etki; hücre duvarı ve hücre membranında bozulma, nükleik asit sentezinde bozulma, biyofilm oluşumunun inhibisyonu ve virülans faktörlerinin ekspresyonunda azalma ile oluşmaktadır (Şekil 3.10) (9).



Şekil 3.10. Quercetinin antibakteriyel etki mekanizmaları (9)

Quercetin, bakteriyel hücre zarı ve hücre duvarı bütünlüğünü bozarak bakterilerin üremesini engelleyebilmektedir (81). Farklı bakterilere quercetin uygulamasında, hücre duvarında bozulmalar, sitoplazmik zarın incilmesi ve hücre duvarından ayırt edilememesi, sitoplazmik zarın hücre duvarından ayrılması, hücre duvarı lizisi, sitoplazmik içeriğin sızması ve polarizasyonu, hücre yapının bozulması gibi sonuçlar ortaya çıkmaktadır (81).

Quercetin, GyrB 'ye bağlanma yeteneğine sahiptir. Bu bağlanma sonucunda GyrB 'nin ATPaz aktivitesi inhibe olur. Bu inhibisyonun sonucunda nükleik asit sentezi bozulur (82).

Quercetin; *Enterococcus faecalis*, *S. aureus*, *Streptococcus mutans*, *Escherichia coli* ve *P. aeruginosa* gibi çeşitli bakteriyel patojenlerin biyofilm gelişimini engeller. Mekanizma ile ilgili net bilgiler olmamakla birlikte deneysel çalışmalarda elde edilen sonuçlar bu sürecin adezyonun engellenmesi, QS yollarının baskılanması, hücre membranında ortaya çıkan değişimler, eflüks pompa sistemlerinde inhibisyon ve nükleik asit sentezinin engellenmesi gibi etkilerin biyofilm oluşumunu inhibe ettiği bildirilmektedir (83).

3.7. *Acinetobacter baumannii*

Acinetobacter baumannii, gram negatif, kolay üreyebilen, fermentasyon yapamayan, katalaz pozitif, oksidaz negatif, kokobasil morfolojisine sahip bir bakteridir (84).

A. baumannii, cilt ve yumuşak doku enfeksiyonları, idrar yolu enfeksiyonu, menenjit, bakteriyemi ve pnömoni gibi hem hastane kaynaklı hem de toplum kaynaklı çeşitli enfeksiyonlara neden olmaktadır. Hastane kaynaklı enfeksiyonun oluşumunda uzun süreli yatış, immün sistemin baskılanması, yaş, farklı hastalıkların eşlik etmesi, majör travma veya yanıklar, antibiyotik kullanımı, invaziv işlemler, kalıcı kateter varlığı ve mekanik ventilasyon yer alır. Toplum kaynaklı enfeksiyonun oluşumunda diyabet, kronik obstrüktif akciğer hastalığı, sigara ve alkol kullanımı gibi faktörler enfeksiyonun oluşumuna olanak sağlar (85).

A. baumannii patojenitesinde; dış membran proteinleri (OMP), pili, kapsül, lipopolisakkarit (LPS), biyofilm oluşumu ve fosfolipazlar virülans faktörü olarak rol oynar (86).

OMP, gram negatif bakterilerin dış zarında lokalizedir. *A. baumannii*'de, konak hücre yüzeyine tutunma ve kaspazların aktivasyonu yoluyla konak hücrede apoptozun indüklenmesinde rol oynar (86). *A. baumannii*'nin patogeneğinde ve virölansında kilit rol oynayan başlıca OMP arasında; OmpA, CarO, dış zar karboksilat kanalları (Occ), OmpW ve Omp33-36 yer almakta olup en yoğun OmpA bulunur (86). OmpA, konak hücreye tutunma, invazyon, apoptoz ve antibiyotik direncinde rol oynar. OmpA, akciğer epitel hücrelerindeki Toll benzeri reseptör 2 (TLR2) ile etkileşime girer. Ekadherin proteininin regülasyonu azaltarak akciğer epitel hücrelerinin geçirgenliğini artırır (86). Ek olarak OmpA, mikrofilament ve mikrotübülleri sitoskeleto üzerinde yeniden düzenleyen bir mekanizma ile abiyotik yüzeylerde biyofilm oluşumunda rol alır (87).

Pili, hem gram pozitif hem de gram negatif bakterilerin yüzeyinde bulunan kısa antijenik yapıları uzantılardır. Canlı ve cansız yüzeylere tutunma, biyofilm oluşumu, hareketlilik ve konjugasyonda önemli bir rol oynarlar (86).

Kapsül yapısı bakterinin dış yüzeyinde tekrarlayan oligosakkaritlerden oluşan ve koruyucu etkiye sahip bir tabakadır. Kapsül varlığı bakterinin konak bağışıklık sisteminden kaçmasına, antimikrobiyallere karşı direncin artışında ve kuruluk gibi çevresel faktörlerden korunmasına olanak sağlayarak bakterinin virölansına katkı sağlar (86).

LPS, endotoksin olarak da adlandırılır. Lipit A, çekirdek oligosakkarit ve O antijeni olarak adlandırılan üç temel bileşenden oluşur. Lipit A, glukozaminler, fosfatlar ve yağ asitlerinden oluşan LPS'nin virölansında rol oynayan aktif bölgesidir. Hücrelerden sitokinler, kemokinler, interlökinler ve prostaglandinler gibi çeşitli proenflamatuar mediyatörler salgılamasını sağlayarak dokularda enflamasyon oluşumunda rol oynamaktadır (88). O antijeni pili ile birlikte kolonizasyonun ilk aşaması olan konak hücreye adezyonda görev yapar (89).

Fosfolipazlar hidrolitik etki gösteren enzimlerdir ve insanların hücre zarında bulunan fosfolipitlere karşı lipolitik aktivite gösterirler. *A. baumannii*, fosfolipaz D ve fosfolipaz C olmak üzere iki fosfolipaz enzimi salgılar. Fosfolipaz D, serum direnci sağlarken; fosfolipaz C, epitel hücreleri üzerinde etki gösterir (89).

A. baumannii, antibiyotiklere direnç geliştiren önemli bakterilerden biridir. İnsan sağlığı için küresel bir tehdit oluşturan ve sürekli artan direnç nedeniyle tedavide zorluk yaratan ESKAPE organizmalarından (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *A. baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Enterobacter* spp.) biridir. Karbapenem dirençli *A. baumannii* (CRAB), 2018 yılında DSÖ tarafından antibiyotik araştırma ve geliştirme alanında öncelikli mikroorganizmalardan biri olarak bildirilmiştir (90). *A. baumannii* birçok antibiyotik grubuna karşı direnç mekanizmalarına sahiptir.

β -laktam antibiyotiklere karşı direnç; β -laktam grubu antibiyotiklerin hidrolizini katalize eden β -laktamaz enzimleri, OMP, eflüks pompa sistemi, penisilin bağlayan proteinleri (PBP) kodlayan genlerdeki değişimler ile ortaya çıkmaktadır (90).

Aminoglikozitlere direnç; ilacın bağlanma kapasitesini zayıflatan aminoglikozit modifiye edici enzimler, 16S rRNA metiltransferazlar tarafından hedef bölge değişikliği ve geçirgenlik kaybı veya eflüks pompalarının aşırı aktivitesi sonucu sınırlı ilaç alımı yolu ile gerçekteşir. Aminoglikozit modifiye edici enzimler asetiltransferazlar, adeniltransferazlar ve fosfotransferazlar olarak kategorize edilir. Direnç sağlayan genler, integronlar, gen kasetleri, transpozonlar ve plazmitler aracılığıyla taşınabilir (90).

Tetrasiklinlere karşı direnç üç temel mekanizma ile ortaya çıkar. Bunlar; ATP bağımlı eflüks, enzim aracılı inaktivasyon ve ribozomal koruma proteinleridir (90). Florokinolonlara karşı oluşan dirençte; DNA giraz ve topoizomeraz IV'te ortaya çıkan mutasyonlar, plazmit aracılı direnç ve kromozom aracılı direnç mekanizmaları rol alır (90).

LPS, negatif yüklü hidrofobik bir lipit A içerir; bu lipit, polimiksin B ve polimiksin E'nin (yaygın olarak kolistin olarak bilinir) katyonik ribozomal olmayan lipopeptitleriyle etkileşime girer. Bu etkileşim, dış zarın stabilitesini bozar, polimiksinlerin periplazmaya geçmesine ve membran bütünlüğünü bozarak geçirgenliğin artmasına neden olur. Kolistin direnci *A. baumannii* için önemli bir problem olmaktadır. Bu problem çeşitli mekanizmaların aracılığı ile direnç gelişiminden kaynaklanır. Bu mekanizmalar; *pmrCAB* operonu ve *mcr* genlerindeki mutasyonlardan sonra lipit A modifikasyonu ile ilaç hedefinde değişiklik, lipit A biyosentezi için gerekli olan ve lipit A eksikliğiyle ilişkili asiltransferazları kodlayan

lpxA, *lpxC* ve *lpxD* genlerinin mutasyonları, membran permeabilitesinde defekt ve ozmotik direnç ilişkili *lpsB*, *lptD* ve *vacJ* genlerin ekspresyonu, polimiksinlere duyarlılık için gerekli olan biyotin gibi LPS oluşumu için gerekli olan kofaktörlerin yetersiz konsantrasyonu ve eflüks pompa sistemidir (90).

Kolistin direnci insan sağlığı için ciddi bir sorundur. Kolistin, çoklu ilaca dirençli *A. baumannii* enfeksiyonlarının tedavisinde son tedavi seçeneklerinden biri olarak kabul edilir ve ciddi enfeksiyonlarda kurtarıcı olarak kullanılır. Ancak direnç gelişimi sebebiyle tedavi zorlaşır ve mortalite riskini artırır (7).

3.8. *Staphylococcus epidermidis*

Staphylococcus epidermidis, gram pozitif, sporsuz, hareketsiz, fakültatif anaerop, katalaz pozitif ve koagülaz negatif bir bakteridir (91). İnsan vücudunun deri ve mukoza yüzeylerinde kolonize olur ve normal bakteri florasının büyük bir bölümünü oluşturur (8). Uzun bir süre zararsız bir bakteri olarak tanımlanmakta iken uygun koşullar oluştuğunda konakta enfeksiyon yapabilen fırsatçı bir patojen olarak tanımlanmaktadır (8).

Hastane kaynaklı enfeksiyonlar *S. epidermidis*'in neden olduğu en sık görülen enfeksiyon türüdür. Genel olarak hastanelerde en sık izole edilen bakteriyel patojenlerden biri olup, kan dolaşımı enfeksiyonları, kardiyovasküler enfeksiyonlar, göz, kulak, burun ve boğaz enfeksiyonlarında etken olarak görülür (8). Risk altında olmayan hastalarda doğal kapak endokarditi dışında piyojenik enfeksiyona neden olmaz (8). Bağışıklık sistemi yetersiz olan hastalarda intravasküler katater aracılığı ile vücuda girerek enfeksiyon yapar (8). Kalıcı katater ve tıbbi cihaz ilişkili enfeksiyonlar gibi yabancı cisim enfeksiyonlarında en önemli etkenlerdendir ve biyofilm oluşumu nedeniyle bu tip enfeksiyonların tedavisini zorlaştırır (8).

S. epidermidis'in virülansında rol oynayan başlıca etkenler biyofilm oluşturması, ekstraselüler enzimler ve toksinlerdir (92).

Yabancı cisim kaynaklı *S. epidermidis* enfeksiyonlarında ana virülans faktörü biyofilm oluşumudur. *S. epidermidis*'in yabancı cisim yüzeylerinde kolonizasyonu malzemenin bileşimine ve bakterin adezin üretimi gibi özelliklerine bağlıdır (93). Biyofilmi oluşturma süreci bakteri hücrelerinin inert bir yüzeye ilk tutunması ile başlar. Ekstraselüler polisakkarit adezinler ilk tutunma ve hücreler arası adezyonda

önemli bir rol oynar. *S. epidermidis* tarafından üretilen polisakkarit hücreler arası adezin (PIA) ve kapsüler polisakkarit adezin (PSA), esas olarak deasetillenmiş amino grupları, süksinat ve fosfat içeren β -1,6-glikozidik bağlardaki N-asetil-glukozamin'den oluşur (93). İlk tutunma PSA, otolizin gibi bazı proteinler veya her ikisi tarafından meydana gelirken, hücrelerin yüzeyde birikimi PIA aracılığı ile gerçekleşir (93). Daha sonra yüzeyde biriken bakteriler uygun biyofilmi oluşturur ve ardından yayılma süreci gerçekleşir (94). Biyofilm yapısı sayesinde bakteri konak içerisinde hayatta kalır ve canlılığını devam ettirerek yeni alanlarda enfeksiyonun yayılımını sağlar. Ek olarak biyofilm yapısı antibiyotiklere ve bağışıklık sisteminin oluşturacağı yanıtı karşı direnç sağlayarak tedaviyi zorlaştırır (95).

S. epidermidis sınırlı sayıda doku hasarına yol açan ekstraselüler enzim ve toksin üretir. Elastaz aktivitesine sahip metalloproteaz ve sistein proteaz enzimleri ile yağ asidi değiştirici enzim (FAME) *S. epidermidis* tarafından üretilen ve virülansa katkı sağlayan enzimlerdendir (8). Metalloproteazın rolü, nötrofil fagositozunu takiben bakteriyel sağkalımı sağlayarak bağışıklık sisteminden kaçmaya ve enfeksiyonun sürdürülmesine katkıda bulunmasıdır (96). Ek olarak insanda bulunan ve antimikrobiyal peptit etkisine sahip dermisidini parçalar ve böylece ciltte sağkalımını arttırmaya yardımcı olur (96). Sistein proteaz, jelatinaz ve kolajenaz aktivitesine sahip salgılanan bir sistein proteazıdır. Desmoglein-1 olmak üzere konak bariyer proteinlerini parçalayarak epitel bariyerine zarar verir. LL-37 olarak tanımlanan epitel antimikrobiyal peptitleri parçalar ve keratinositlerinde IL-6, IL-8, TLSP, IL-1 α ve IL-1 β ekspresyonunu artırarak enflamasyonu destekler (96). FAME, yağ asitlerini kolesterole esterleştirir ve böylece bakterisidal etkisini ortadan kaldırarak etki gösterir (8).

S. epidermidis tarafından üretilen tek toksin, çoğunlukla N-formillenmiş alfa-heliks peptit δ -toksindir. δ -toksin, sitoplazmik membranda porlar oluşturarak eritrositlerin lizisine neden olur. δ -toksin ayrıca, makrofaj kökeninden gelen hücrelerde sitokin ve NF- κ B üretimini düzenlediği için fenolde çözünen modulin adı verilen bir enflamatuar polipeptit kompleksinin bir parçasıdır (8).

S. epidermidis'te spesifik antibiyotik direnç genleri yaygındır. Birçok ülkede hastane kaynaklı enfeksiyonlardan izole edilen *S. epidermidis* izolatları metisiline önemli ölçüde dirençlidir (97). Bazı ülkelerde alınan önlem ve hijyen çalışmaları

metisilin dirençli *S. aureus*'a (MRSA) karşı etki göstermişken, metisilin dirençli *S. epidermidis* için daha düşük düzeyde etki göstermiştir (97). Metisiline direnç, stafilokok kaset kromozomu *mec* (SCC*mec*) aracılığı ile gelişir. Bu kaset kromozomu, diğer PBP'lerin afinitesine kıyasla metisiline daha az afinitesi olan penisilin bağlayıcı bir protein olan PBP2a'yı kodlayan *mecA* genini içerir. *S. epidermidis*'te 10 farklı SCC*mec* yapısı tanımlanmıştır ve en yaygın SCC*mec* tip IV görülür (97). Metisiline direncin yanı sıra, *S. epidermidis* rifamisin, florokinolonlar, gentamisin, tetrasiklin, kloramfenikol, eritromisin, klindamisin ve sülfonamidler de dahil olmak üzere birçok başka antibiyotiğe direnç kazanmıştır. Streptograminler, linezolid ve tigesikline direnç de nadir olsa da görülmektedir. Çoğu antibiyotik direnç geni plazmit aracılı taşınır ve metisiline dirençli olanlarda metisiline duyarlı olanlara kıyasla daha sık bulunur (97). Metisiline ve diğer antibiyotiklere karşı dirence rağmen, *S. epidermidis* kaynaklı kateter enfeksiyonlarının önemli bir kısmı kateter çıkarılmadan vankomisin gibi antibiyotiklerle tedavi edilebilir. Ancak biyofilm oluşumu vankomisin ve diğer antibiyotiklerin etkinliğini önemli ölçüde azaltmaktadır (97). Ortaya çıkan direnç sorunu sonucunda tedavi için kullanılan mevcut antibiyotiklerin sayısı azalmakta bununla beraber tedavi süreci ve maliyeti zorlaşmaktadır (98).

4. GEREÇ ve YÖNTEM

4.1. Etik Kurul Onayı

Bu tez çalışmasına Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 20.03.2024 tarihli toplantısında 124 sayılı onay alındı (Ek-1).

4.2. Bakteri İzolatları ve Çalışma Grubu

Çalışmaya çeşitli klinik birimlerden rutin tanı amacıyla gönderilen klinik örneklerden izole edilen ve rutin tanı prosedürleri uygulanarak tanımlamaları yapılan *S. epidermidis* ve kolistin dirençli *A. baumannii* izolatları dahil edildi. Bakteri tanımlamaları BD Phoenix M50 (BD, ABD) tam otomatize sistemi ile yapıldı. Kolistin duyarlılığı sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile belirlendi ve $>2 \mu\text{g/ml}$ dirençli kabul edildi. Otuz üç *S. epidermidis* ve 17 kolistin dirençli *A. baumannii* izolatı çalışmanın deneyleri başlayana kadar örnekler -20°C 'de saklamaya alındı. Fenotipik olarak biyofilm ürettikleri tespit edilen izolatlar arasından sekiz kolistin dirençli *A. baumannii* ve sekiz *S. epidermidis* olmak üzere 16 bakteri izolatı rastgele seçilerek çalışma grubu oluşturuldu.

Bu çalışmada etki büyüklüğü Cohen kriterleri kullanılarak 0,33, $\alpha=0,05$ ve güç 0,91 alınarak gerekli olan minimum örnek sayısı 16 olarak belirlendi.

4.3. Biyofilm Oluşumunun Fenotipik Tespiti

Çalışma grubunu oluşturmak amacıyla saklamaya alınan bakteri izolatlarının biyofilm oluşturup oluşturmadığını belirlemek amacıyla Kongo red agar (KRA) metodu kullanıldı. Besiyeri hazırlanmasında Freeman ve ark. (99) tarafından uygulanan metod kullanıldı.

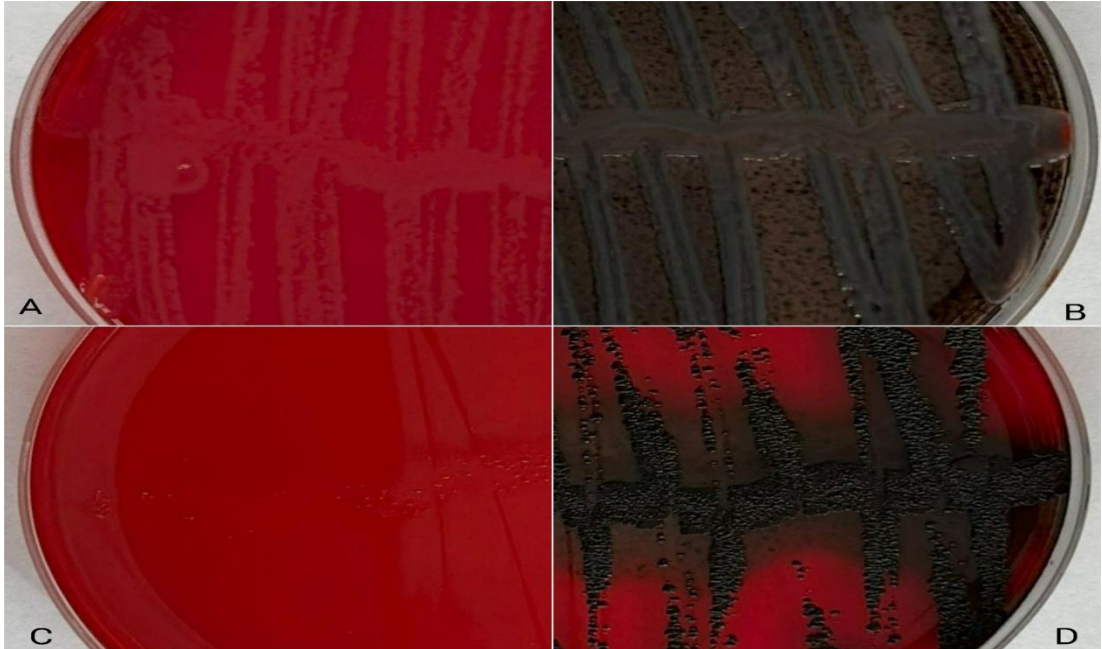
<u>Besiveri İçeriği</u>	<u>Miktar</u>
Beyin-Kalp İnfüzyon Sıvı Besiyeri (BHIB) (Merck, Almanya)	37 g/L
Agar (Condalab, İspanya)	10 g/L
Sakkaroz (Sigma-Aldrich, Almanya)	50 g/L
Kongo Red Tozu (Sigma-Aldrich, Almanya)	0,8 g/L

Besiyeri hazırlanırken; bir cam balon joje içerisine 800 ml distile su, BHIB, agar ve sakkaroz eklendi ve ayrı bir cam balon joje içerisine 200 ml distile su ve Kongo red tozu eklendi. Her iki çözelti de steril hale getirilmesi amacıyla 121 °C’de 15 dakika süre ile otoklavlama işlemi yapıldı. Otoklavlama işlemi sonrasında besiyeri çözeltisi 55 °C’ye soğuyunca boya çözeltisi besiyeri çözeltisi içerisine aktarıldı ve homojen hale gelene kadar çalkalanarak karıştırıldı. Homojen hale gelen besiyeri çözeltisi çalışmada kullanılmak üzere bek alevi bulunan ortamda steril petri kaplarına aktarıldı ve katılaşması sağlanarak kullanıma hazır hale getirildi.

Çalışma grubunu oluşturacak bakterilerin biyofilm üretiminin fenotipik tespiti amacıyla saklamaya alınan bakteri izolatlarının hazırlanan besiyerlerine plastik öze yardımıyla kültürü yapıldı.

Kültürü yapılan bakteri izolatları 37 °C’de 24 saat süre ile inkübe edildi. İnkübasyon sonrası bakterilerin ilk koloni morfolojisi değerlendirildi ve kültür içeren besiyerleri ikinci değerlendirme için 24 saat süreyle oda ısısında bekletildi. Kuru, opak siyah veya kırmızı-siyah renk oluşturan koloniler biyofilm pozitif; pembe-kırmızı koloniler biyofilm negatif olarak kabul edildi (Şekil 4.1) (100).

Biyofilm üretimi pozitif bulunan izolatlar arasından her iki bakteri için de sekiz izolat rastgele seçilerek çalışma grubu oluşturuldu.



Şekil 4.1. Kongo red agarda biyofilm pozitif ve biyofilm negatif bakteri örnekleri (A: Biyofilm negatif *A. baumannii*, B: Biyofilm pozitif *A. baumannii*, C: Biyofilm negatif *S. epidermidis*, D: Biyofilm pozitif *S. epidermidis*)

4.4. Quercetin Minimum İnhibitör Konsantrasyonun Düzeylerinin Belirlenmesi

Biyofilm ürettiği tespit edilerek seçilen çalışma grubunda yer alan bakteriler üzerinde quercetin için minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK) belirlemek amacıyla sıvı mikrodilüsyon yöntemi kullanıldı. Çalışma için her sıcaklıkta özdeş üç mikroplak hazırlandı ve eş zamanlı inkübe edildi.

Besiyeri olarak katyon ayarlı Müller-Hinton sıvı besiyeri (KAMHB) (Merck, Almanya) kullanıldı. Besiyeri üretici firmanın talimatları doğrultusunda hazırlandı. 1000 ml distile su içerisine toz halindeki besiyerinden 22 gram eklenerek cam balon joje içerisinde besiyeri çözeltisi hazırlandı. Hazırlanan çözeltinin steril hale getirilmesi amacıyla 121 °C’de 15 dakika süre ile otoklavlama işlemi yapıldı. Otoklavlama işlemi sonrasında besiyeri soğumaya bırakıldı. Soğuyan besiyeri steril tüplere alınarak kullanıma hazır hale getirildi.

Quercetin (Q4951, Sigma-Aldrich, Almanya) stok solüsyon %10’luk dimetil sülfoksit (DMSO) (Aromel, Türkiye) içerisinde hazırlandı (101). Stok solüsyonu hazırlamak için $\geq$ %99,99 saflıktaki DMSO öncelikle steril su içerisinde 1:10 oranında dilüe edilerek %10’luk DMSO konsantrasyonu elde edildi. Quercetin stok solüsyonu 2048 µg/ml konsantrasyonunda hazırlandı. Bu amaçla %10’luk DMSO içerisinde aşağıdaki formüller ile eklenmesi gereken quercetin miktarı hesaplandı (102).

$$\text{Ağırlık (mg)} = \frac{\text{Hacim (ml)} \times \text{Konsantrasyon (µg/ml)}}{\text{Potens}}$$

$$\text{Potens} = \text{Saflık} \times \text{Aktif fraksiyon} \times (1 - \text{su içeriği})$$

2048 µg/ml konsantrasyonunda quercetin stok solüsyonu hazırlamak amacıyla öncelikle potens belirlendi ve ardından ağırlık;

$$\text{Potens} = 960 \times 1 \times (1 - 0,02) = 940,8 \text{ µg/mg}$$

$$\text{Ağırlık (mg)} = \frac{50 \times 2048}{940,8} = 108,84 \text{ mg}$$

olarak belirlendi.

Sıvı mikrodilüsyon testi için bakteri süspansiyonu doğrudan koloni süspansiyonu yöntemi ile hazırlandı. Bu amaçla saklamaya alınan bakterilerin koyun kanlı agara (KKA) ekimi yapıldı ve gece boyu 37 °C’de inkübe edilerek bakterilerin üremesi sağlandı. Taze üreyen bakteri kolonilerinden 0,5 McFarland (10^8 kob/ml) yoğunluğunda bakteri süspansiyonu hazırlandı. Hazırlanan süspansiyon 1:10 oranında dilüe edilerek 10^7 kob/ml yoğunluğu elde edildi.

MİK değerlerini belirlemek için düz tabanlı 96 kuyucuklu mikropaklar kullanıldı. Hazırlanan quercetin solüsyonu 1:2 oranında dilüe edilerek 1024 µg/ml konsantrasyonu elde edildi. Quercetin MİK değerini belirlemek için tüm kuyucuklara taze hazırlanan KAMHB 100 µl eklendi. Ardından ilk test kuyucuklarına 100 µl 1024 µg/ml quercetin solüsyonu eklenerek son kuyucuğa kadar seri dilüsyonu yapıldı ve son kuyucuktan 100 µl alınarak atıldı. Böylece 512-1 µg/ml aralığında ikişer kat test konsantrasyonları elde edildi. Daha sonra kuyucuklara test edilecek bakterilerden hazırlanan 10^7 kob/ml yoğunluğundaki bakteri süspansiyonlarından ilgili kuyucuklara 5 µl eklendi böylece kuyucuklarda 5×10^5 kob/ml bakteri yoğunluğu elde edildi. İlk iki kuyucuk sütunu pozitif ve negatif kontrol kuyucukları olarak hazırlandı. Üremenin kontrolü, hipertermi etkisinin tek başına ölçümü ve inhibisyon düzeylerini belirleyebilmek amacıyla pozitif kontrol kuyucuklarında sadece besiyeri ve bakteri yer alırken; kontaminasyonun kontrolü amacıyla negatif kontrol kuyucuklarında sadece besiyeri ve quercetin yer aldı. Hazırlanan mikropaklar 37 °C, 42 °C ve 45 °C’de 24 saat inkübe edildi.

İnkübasyonun bitimiyle birlikte MİK değeri belirlemek için değerlendirme yapıldı. Üremenin inhibe olduğu ve çıplak gözle görülebilen en düşük konsantrasyon MİK olarak belirlendi. İzolatların nihai MİK sonucu tekrar sonuçlarının ortancası olarak kabul edildi.

4.5. Üreme İnhibisyon Düzeylerinin Belirlenmesi

İnhibisyon düzeylerinin kantitatif olarak belirlenmesi için spektrofometrik yöntem kullanıldı (103). MİK değerlerini belirlemek için daha önce belirtilen şekilde hazırlanan mikropaklar inkübasyona girmeden önce, inkübasyonun 2. saatinde, inkübasyonun 4. saatinde, inkübasyonun 6. saatinde ve 24. saatin sonunda Euroimmun Analyzer I (Euroimmun, Almanya) cihazında 620 nm dalga boyunda

spektrofotometrik ölçümleri alındı ve ölçüm zamanlarında elde edilen sonuçların ortalaması alınarak kaydedildi. Elde edilen sonuçlara göre inhibisyon düzeyleri aşağıdaki şekilde hesaplandı (103).

$$\text{İnhibisyon düzeyi (\%)} = 1 - \left(\frac{T_{24 \text{ Test}} - T_{0 \text{ Test}}}{T_{24 \text{ PK37}} - T_{0 \text{ PK37}}} \right) \times 100$$

T24 Test: Quercetin + bakteri içeren test kuyucuklarının 24. Saatteki ölçüm sonucu, T0 Test: Quercetin + bakteri içeren test kuyucuklarının 0. Saatteki ölçüm sonucu, T24 PK37: 37 °C'deki pozitif kontrol kuyucuklarının 24. Saatteki ölçüm sonucu, T0 PK37: 37 °C'deki pozitif kontrol kuyucuklarının 0. Saatteki ölçüm sonucu

Sadece hiperterminin inhibisyon etkisini ölçmek amacıyla yukarıdaki formülde yer alan *T24 Test* ve *T0 Test* için bakterilerin 42 °C ve 45 °C'deki pozitif kontrol kuyucuklarının ölçüm sonuçları kullanıldı.

4.6. Biyofilm İnhibisyon Düzeylerinin Belirlenmesi

Quercetin'in biyofilm inhibisyonu üzerindeki etkisinin kantitatif analizi için kristal viyole metodu kullanıldı. Yöntem için Stepanovic ve ark. tarafından yapılan çalışmalarda kullanılan teknik uygulandı (104,105). Çalışma için her sıcaklıkta özdeş üç mikropalak hazırlandı ve eş zamanlı inkübe edildi.

Besiyeri olarak %1 (w/v) glikoz eklenmiş triptik soy sıvı besiyeri (TSB) kullanıldı. TSB (Oxoid, İngiltere), üretici firmanın talimatları doğrultusunda 30 gram tartılarak 1000 ml distile su içerisinde çözdürüldü. Glikoz (Merck, Almanya) ağırlık/hacim (w/v) olacak şekilde hazırlanan besiyeri çözeltisi içerisine 10 gram tartılarak eklendi. Hazırlanan besiyeri çözeltisinin steril hale getirilmesi amacıyla 121 °C'de 15 dakika süre ile otoklavlama işlemi yapıldı. Otoklavlama işlemi sonrasında besiyeri soğumaya bırakıldı. Soğuyan besiyeri steril tüplere alınarak kullanıma hazır hale getirildi.

Quercetin stok solüsyonu 2048 µg/ml konsantrasyonunda olacak şekilde %10'luk DMSO içerisinde hazırlandı.

Bakteri süspansiyonu için doğrudan koloni süspansiyonu yöntemi kullanıldı. Bu amaçla çalışma grubunda yer alan bakterilerin KKA'da kültürü yapıldı ve gece boyu 37 °C'de inkübe edilerek bakterilerin üremesi sağlandı. Taze üreyen bakteri kolonilerinden 0,5 McFarland (10⁸ kob/ml) yoğunluğunda bakteri süspansiyonu hazırlandı.

Çalışma 96 kuyucuklu düz tabanlı mikropalaklarda yapıldı. Tüm kuyucuklara öncelikle 100 µl %1 glikoz eklenmiş TSB besiyerinden eklendi. Ardından stok solüsyondan 100 µl alınarak ilk test kuyucuklarından son test kuyucuklarına kadar seri dilüsyonu yapıldı ve son kuyucuktan 100 µl alınarak atıldı. Quercetin seri dilüsyonunun ardından tüm kuyucuklara 80 µl besiyeri tekrar eklendi. Hazırlanan 0,5 McFarland yoğunluğundaki bakteri süspansiyonlarından 20 µl alınarak ilgili test kuyucuklarına eklendi. Böylece kuyucukların final hacmi 200 µl'ye ulaştı ve quercetin konsantrasyonları için 512-1 µl aralığında ikişer kat test konsantrasyonları elde edildi. İlk iki kuyucuk sütunu pozitif ve negatif kontrol kuyucukları olarak hazırlandı. Üremenin kontrolü, hipertermi etkisinin tek başına ölçümü ve inhibisyon düzeylerini belirleyebilmek amacıyla pozitif kontrol kuyucuklarında sadece besiyeri ve bakteri yer alırken; kontaminasyonun kontrolü amacıyla negatif kontrol kuyucuklarında sadece besiyeri ve quercetin yer aldı. Hazırlanan mikropalaklar 37 °C, 42 °C ve 45 °C'de 24 saat inkübe edildi.

İnkübasyon süresinin sonunda testin kantitatif analizi için kristal viyole yöntemine ait aşamalara geçildi. İlk olarak inkübasyon süresi biten mikropalaklar içerisindeki kuyucuklar hızla ters çevrilerek boşaltıldı. Boşaltılan mikropalaklar fosfat buffered saline (PBS) ile üç kez yavaşça yıkandı ve kuyucuklardaki planktonik hücreler uzaklaştırıldı. Yıkanan mikropalaklar ters çevrilerek kurumaya bırakıldı. Kuruyan kuyucuklarda tutunan bakteri biyofilmlerini fikse etmek amacıyla 200 µl metanol (Isolab, Türkiye) eklendi ve 15 dakika beklendi. Sürenin sonunda kuyucuklardaki metanol boşaltıldı ve kuyucuklar kurumaya bırakıldı. Fiksasyon sonrası kuruyan kuyucuklara 150 µl %0,1 kristal viyole boyası eklendi ve boyanın penetrasyonu için 15 dakika beklendi. Ardından kuyucuklardaki fazla boya boşaltıldı ve PBS ile yıkama yapılarak fazla boya uzaklaştırıldı. Boşaltılan kuyucuklar kurumaya bırakıldı. Kuyucuklardaki kuruyan boyayı çözdürmek amacıyla %33'lük glasiyal asetik asit (Merck, Almanya) eklendi ve kuyucuk yüzeyinde tutunan boyanın çözdürülmesi sağlandı. Hazır hale gelen mikropalakların Euroimmun Analyzer I cihazında 570 nm dalga boyunda spektrofotometrik ölçümleri alındı ve elde edilen sonuçların ortalaması alınarak kaydedildi. Elde edilen sonuçlara göre biyofilm inhibisyon düzeyleri aşağıdaki şekilde hesaplandı (106).

$$\text{Biyofilm İnhibisyon Oranı (\%)} = \left(1 - \frac{\text{Test OD570}}{\text{PK37 OD570}}\right) \times 100$$

Test OD570: Quercetin ve bakteri içeren içeren test kuyucuğunun ölçüm sonucu, PK37 OD570: 37 °C'deki pozitif kontrol kuyucuklarının ölçüm sonucu

Sadece hiperterminin inhibisyon etkisini ölçmek amacıyla yukarıdaki formülde yer alan *Test OD570* için bakterilerin 42 °C ve 45 °C'deki pozitif kontrol kuyucuklarının ölçüm sonuçları kullanıldı.

4.7. *In vitro* Tedavi Modeli Deneyi

In vitro tedavi modeli deneyinde hiperterminin iki saatlik etkisinin üreme ve biyofilm üzerine etkinliğinin ölçülmesi amaçlandı. Bu doğrultuda üreme ve biyofilm inhibisyon oranlarının tespiti için yukarıda tanımlanan üreme inhibisyonu ve biyofilm inhibisyonu yöntemleri ile Sturtevant ve ark. (61) yöntemi modifiye edildi. Çalışma için özdeş üç mikropalak hazırlandı ve eş zamanlı inkübe edildi.

Quercetin stok solüsyonu 2048 µg/ml konsantrasyonunda olacak şekilde %10'luk DMSO içerisinde hazırlandı. Hazırlanan stok solüsyon için üreme inhibisyon deneyi için 5 ml KAMHB içeren 10 adet steril kapaklı 15 ml'lik tüplerin içerisinde, biyofilm inhibisyon deneyi için 5 ml 10 adet %1 glikoz eklenmiş TSB içeren steril kapaklı 15 ml'lik tüplerin içerisinde 1:2 oranında seri dilüsyonları yapıldı ve 1024-2 µg/ml konsantrasyonunda quercetin içeren stok solüsyonlar elde edildi.

Bakteri süspansiyonu için doğrudan koloni süspansiyonu yöntemi kullanıldı. Bu amaçla çalışma grubunda yer alan bakterilerin KKA'da kültürü yapıldı ve gece boyu 37 °C'de inkübe edilerek bakterilerin üremesi sağlandı. Taze üreyen bakteri kolonilerinden 0,5 McFarland (10⁸ kob/ml) yoğunluğunda bakteri süspansiyonu hazırlandı. Üreme inhibisyonunu belirlemek için hazırlanan süspansiyon 1:10 oranında dilüe edilerek 10⁷ kob/ml yoğunluğu elde edildi.

Hiperterminin iki saatlik etkisinde üreme inhibisyon düzeyini belirleyebilmek için 96 kuyucuklu düz tabanlı mikropalaklar kullanıldı. Her kuyucuğa 90 µl KAMHB eklendi. Ardından 10⁷ kob/ml yoğunluğundaki bakteri süspansiyonundan 10 µl test kuyucuklarına eklendi. Üremenin kontrolü, hipertermi etkisinin tek başına ölçümü ve inhibisyon düzeylerini belirleyebilmek amacıyla pozitif kontrol kuyucuklarında sadece besiyeri ve bakteri yer alırken; kontaminasyonun kontrolü amacıyla negatif kontrol kuyucuklarında sadece besiyeri ve quercetin yer aldı. Hazırlanan mikropalaklar

dört saat süre ile 37 °C’de inkübe edildi ve bakteri sayısının artması sağlandı. Sürenin sonunda mikropalaklar 37 °C’den alındı ve hazırlanan quercetin stok solüsyonlarından ilgili kuyucuklara 100 µl eklendi. Böylece kuyucuklardaki toplam hacim 200 µl’ye, quercetin konsantrasyonları ise 512-1 µg/ml’ye ulaştı. Hazırlanan mikropalaklar Euroimmun Analyzer I cihazında başlangıç için 620 nm dalga boyunda spektrofotometrik ölçümleri alındı ve ölçümün ardından mikropalaklar iki saat süre ile 45 °C’de inkübe edildi. Sürenin sonunda mikropalaklar tekrar 37 °C’ye alındı ve 24 saatlik süre tamamlanana kadar inkübe edildi. İnkübasyon süresi sonunda tekrar spektrofotometrik ölçümleri alındı ve kaydedildi. Elde edilen sonuçlar daha önce belirtilen üreme inhibisyon formülü ile hesaplandı.

Hiperterminin iki saatlik etkisinde biyofilm inhibisyon düzeyini belirleyebilmek için 96 kuyucuklu düz tabanlı mikropalaklar kullanıldı. Her kuyucuğa 80 µl %1 glikoz eklenmiş TSB eklendi. Ardından 10⁸ kob/ml yoğunluğundaki bakteri süspansiyonundan 20 µl test kuyucuklarına eklendi. Üremenin kontrolü, hipertermi etkisinin tek başına ölçümü ve inhibisyon düzeylerini belirleyebilmek amacıyla pozitif kontrol kuyucuklarında sadece besiyeri ve bakteri yer alırken; kontaminasyonun kontrolü amacıyla negatif kontrol kuyucuklarında sadece besiyeri ve quercetin yer aldı. Hazırlanan mikropalaklar dört saat süre ile 37 °C’de inkübe edildi ve bakteri sayısının artması sağlandı. Sürenin sonunda mikropalaklar 37 °C’den alındı ve hazırlanan quercetin stok solüsyonlarından ilgili kuyucuklara 100 µl eklendi. Böylece kuyucuklardaki toplam hacim 200 µl’ye, quercetin konsantrasyonları ise 512-1 µg/ml’ye ulaştı. Ardından mikropalaklar iki saat süre ile 45 °C’de inkübe edildi. Sürenin sonunda mikropalaklar tekrar 37 °C’ye alındı ve 24 saatlik süre tamamlanana kadar inkübe edildi. İnkübasyon süresi sonunda kristal viyole yöntemi uygulandı ve spektrofotometrik ölçümleri alınarak kaydedildi. Elde edilen sonuçlar daha önce belirtilen biyofilm inhibisyon formülü ile hesaplandı.

In vitro tedavi modeli deneyinden elde edilen veriler 37 °C’deki üreme ve biyofilm inhibisyon düzeyleri ile kıyaslanarak iki saatlik hipertermi etkisinin arada bir fark oluşturup oluşturmadığı incelendi.

4.8. Geçirimli Elektron Mikroskopi (TEM) Görüntülemesi

Bakteri hücrelerinde quercetin ve hipertermi etkisinin hücre yapısında oluşturduğu etkileri gözlemlemek amacıyla hem *S. epidermidis* hem de kolistin dirençli *A. baumannii* için hazırlanan 37 °C, 37 °C+quercetin, 42 °C+quercetin ve 45 °C+quercetin örneklerine geçirimli elektron mikroskopi (TEM) uygulandı. Elektron mikroskobisi Dicle Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde (DÜBTAM) hizmet alımı olarak yürütüldü.

Quercetin için 1024 µg/ml konsantrasyonunda stok solüsyon hazırlandı. Her iki bakteri için birer izolat seçildi ve KKA'da taze kültürü yapıldı. Hazırlanan taze kültürlerden her iki bakteri için 0,5 McFarland yoğunluğunda bakteri süspansiyonu hazırlandı. Hazırlanan bakteri süspansiyonları 1:10 oranında dilüe edildi. 37 °C'de normal hücreleri gözlemlemek için steril kapaklı 15 ml'lik tüplerin içerisine 1900 µl KAMHB eklendi ve ardından dilüe edilen bakteri süspansiyonundan 100 µl eklendi. 37°C + quercetin, 42 °C + quercetin ve 45 °C + quercetin örnekleri için steril kapaklı 15 ml'lik tüplerin içerisine 900 µl KAMHB eklendi ve ardından dilüe edilen bakteri süspansiyonundan 100 µl eklendi. Daha sonra hazırlanan quercetin stok solüsyonundan 1000 µl eklendi ve homojen hale getirildi. Böylece tüplerdeki quercetin konsantrasyonu 512 µg/ml'ye, bakteri yoğunluğu 5×10^5 kob/ml'ye ve toplam hacim iki ml'ye ulaştı. Hazırlanan örnekler 37 °C, 42 °C ve 45 °C'de 24 saat inkübe edildi.

İnkübasyon süresi sonunda örnekler 3000×g beş dakika santrifüj edildi ve elde edilen süpernatant atıldı. Pelet için %2,5'luk glutaraldehit içerisinde 24 saat boyunca ilk fiksasyonu yapıldı. Daha sonra üç defa 15 dakikada bir değiştirilmek suretiyle pH: 7,4 ve 0,1 M fosfat tamponu ile yıkandı. İkinci fiksasyon osmium tetroksit içerisinde 1,5 saat süreyle +4 °C'de yapıldı. Örnekler daha sonra üç defa 15 dakika fosfat tamponunda yıkandı. Dehidratasyon işleminde + 4 °C'de %50, %70, %90'luk etil alkol ile 2 defa 15 dakika; %96, %100'lük etil alkol ile 2 defa 30 dakika süreyle uygulandı. Daha sonra örnekler propilen oksitte iki defa 30 dakika süreyle, 1:1 oranındaki propilen oksit ve araldit karışımında iki saat süreyle bekletildi. Örnekler saf araldit içerisinde bir gece bekletildikten sonra gömme işlemi yapıldı. Polimerizasyon işlemi iki gün boyunca 60 °C sıcaklığındaki etüvde gerçekleştirildi. İşlem sonrası yarı ince kesit alma işlemine geçildi.

Bloklar trimlendikten sonra Leica ultramikrotomda (Leica, Almanya) 500 µm yarı ince kesitler alındı. Alınan ince kesitler petri kabına konulan toluidin mavisi boyası içinde 7 dakika bekletildi. Daha sonra temiz petri kabına konulan distile su içinde 2-3 dakika bekletildikten sonra fazla boyadan arındırıldı. Lamlara alınıp kuruduktan sonra ışık mikroskopunda incelenerek bölge seçimi yapıldı. İşlem sonrası ince kesit alma işlemine geçildi.

70-100 µm boyutlarında olan ince kesitler 200 mesh bakır gridler üzerine alınıp %2'lik uranil asetat ile 1 saat süresince boyandı. Gridler fosfat tamponu ile yıkandıktan sonra 15 dakika kurşun asetat ile muamele edildi. Kurşun asetat ile muamelesinden sonra tekrar yıkandı böylece numuneler elektron mikroskopunda incelemeye hazır hale getirildi (107).

İncelemeye hazır hale gelen örnekler Jeol JEM-1010 (Jeol, Japonya) model TEM ile incelendi ve aynı elektron mikroskopuna bağlı yandan girişli 782 ES500W Erlangshen CCD kamera (Gatan, ABD) aracılığı ile görüntüler alındı.

4.9. İstatistiksel Analiz

Çalışma grubunda yer alan her iki bakteriye ait sekiz izolatin sonuçlarının ortalaması alındı ve istatistiksel analize dahil edildi.

Verilerin istatistiksel değerlendirmesinde IBM SPSS 21.0 istatistik paket programı kullanıldı. Ölçümsel değişkenler ortalama $\pm$ standart sapma (SS), medyan, minimum değer, maksimum değer, korelasyon katsayısı (r), %95 güven aralığı (%95 CI), kategorik değişkenler sayı ve yüzde (%) ile sunuldu. Verilerin normal dağılıma uyup uymadığına Shapiro-Wilk normallik testi ile bakıldı. Normal dağılım göstermeyen; iki grup arasındaki karşılaştırmada Mann Whitney U testi kullanıldı. Normal dağılım göstermeyen ikiden fazla grupların karşılaştırılmasında Kruskal Wallis testi ile Friedman Anova testi kullanıldı. Nitel değişkenlerin karşılaştırılmasında Pearson Chi-kare (χ^2) testi kullanıldı. Değişkenler arasındaki ilişki için Spearman korelasyon analizi yapıldı. Hipotezler çift yönlü alınarak, $p \leq 0,05$ ise istatistiksel olarak anlamlı sonuç kabul edildi.

5. BULGULAR

5.1. Kongo Red Agar ile Biyofilm Oluşumu Tespiti

Çalışma grubunu oluşturmak amacıyla çeşitli klinik örneklerden izole edilerek saklamaya alınan 33 *S. epidermidis* izolatının 23'ü (%69,7), 17 kolistin dirençli *A. baumannii* izolatının dokuzu (%52,9) KRA metodu ile biyofilm oluşturduğu tespit edildi.

5.2. Quercetin Minimum İnhibitör Konsantrasyon Düzeyleri ve Hipertermi Etkisinde Değişimleri

Kolistin dirençli *A. baumannii* izolatlarının tamamı (%100) için 37 °C'de MİK değeri >512 µg/ml; 42 °C'de bir izolat (%12,5) için MİK değeri 128 µg/ml, yedi izolat (%87,5) için 256 µg/ml; 45 °C'de altı izolat (%75) için MİK değeri 128 µg/ml, iki izolat (%25) için 256 µg/ml olarak tespit edildi (Tablo 5.1).

37 °C'deki MİK sonuçları ile kıyaslandığında 42 °C'de bir izolatta (%12,5) dört kattan daha büyük, diğer yedi izolatta (%87,5) ise iki kattan daha büyük düzeyde MİK sonuçlarında azalma görüldü. 45 °C'deki MİK sonuçlarında ise 37 °C'ye kıyasla altı izolatta (%75) dört kattan daha büyük, iki izolatta (%25) iki kattan daha büyük düzeyde MİK sonuçlarında azalma görüldü. 42 °C ile kıyaslandığında MİK sonuçlarında 45 °C'de beş izolatta (%62,5) iki katlık azalma gözlemlenirken, üç izolatta (%37,5) değişim gözlemlenmedi (Tablo 5.1).

Tablo 5. 1. Kolistin dirençli *A. baumannii* 37 °C, 42 °C ve 45 °C'deki quercetin MİK sonuçları ve hipertermi etkisinde MİK değişimleri

İzolat	MİK Sonuçları (µg/ml)			MİK Değişimleri		
	37 °C	42 °C	45 °C	37 °C-42°C	37 °C-45 °C	42 °C-45 °C
ColRAB-1	>512	128	128	>4×	>4×	DY
ColRAB-2	>512	256	128	>2×	>4×	2×
ColRAB-3	>512	256	128	>2×	>4×	2×
ColRAB-4	>512	256	128	>2×	>4×	2×
ColRAB-5	>512	256	256	>2×	>2×	DY
ColRAB-6	>512	256	128	>2×	>4×	2×
ColRAB-7	>512	256	128	>2×	>4×	2×
ColRAB-8	>512	256	256	>2×	>2×	DY

ColRAB: Kolistin Dirençli *A. baumannii*, DY: Değişim yok

S. epidermidis izolatlarına ait 37 °C'deki MİK değerleri dört izolatta (%50) 512 µg/ml, dört izolatta (%50) 256 µg/ml olarak belirlendi. 42 °C'de izolatların yedisinde (%87,5) MİK değeri 256 µg/ml, birinde (%12,5) 512 µg/ml idi. 45 °C'de beş izolatın (%62,5) MİK değeri 256 µg/ml iken üç izolatta (%37,5) MİK değeri 128 µg/ml olarak tespit edildi (Tablo 5.2).

37 °C'deki MİK değerleri ile kıyaslandığında 42 °C'de üç izolatta (%37,5) iki katlık; 45 °C'de ise beş izolatta (%62,5) iki katlık, bir izolatta (%12,5) ise dört katlık azalma görüldü. 42 °C ile kıyaslandığında MİK değerlerinde 45 °C'de dört izolatta (%50) iki katlık azalma tespit edildi (Tablo 5.2).

Tablo 5. 2. *S. epidermidis* 37 °C, 42 °C ve 45 °C'deki quercetin MİK sonuçları ve hipertermi etkisinde MİK değişimleri

İzolat	MİK Sonuçları (µg/ml)			MİK Değişimleri		
	37 °C	42 °C	45 °C	37 °C-42°C	37 °C-45 °C	42 °C-45 °C
SE-1	512	256	256	2×	2×	DY
SE-2	256	256	128	DY	2×	2×
SE-3	512	512	256	DY	2×	2×
SE-4	512	256	128	2×	4×	2×
SE-5	256	256	256	DY	DY	DY
SE-6	256	256	128	DY	2×	2×
SE-7	256	256	256	DY	DY	DY
SE-8	512	256	256	2×	2×	DY

SE: *S. epidermidis*, DY: Değişim yok

5.3. Kolistin Dirençli *A. baumannii* Üreme İnhibisyon Deneyi Sonuçları

Kolistin dirençli *A. baumannii* için 37 °C, 42 °C ve 45 °C ile değişen quercetin konsantrasyonlarının üreme inhibisyonu üzerine etkileri incelendiğinde; sadece hipertermi etkisinde üreme inhibisyonu için anlamlı bir fark gözlemlenmedi ($p>0,05$). 64-1 µg/ml arasında değişen quercetin konsantrasyonlarında da anlamlı bir fark görülmedi ($p>0,05$). Diğer yandan 42 °C'de 512 µg/ml quercetin konsantrasyonunda $26,16\pm23,46$ inhibisyon görülürken, bu oran 45 °C'de $60,91\pm17,38$ düzeyindeydi. Benzer şekilde 256 µg/ml quercetin konsantrasyonunda 42 °C'de $32,63\pm16,51$ inhibisyon görülürken, 45 °C'de $7,66\pm10,22$ düzeyinde üreme inhibisyonu saptandı. 128 µg/ml quercetin konsantrasyonunda 45 °C'de $11,51\pm7,84$ düzeyinde üreme inhibisyonu gözlemlendi. Bu durumda 512, 256 ve 128 µg/ml quercetin konsantrasyonlarındna değişen sıcaklık düzeyleri ile arasında anlamlı bir fark

gözlemlendi ($p<0,05$). Aynı sıcaklıklarda değişen quercetin konsantrasyonlarında 37 °C’de anlamlı bir fark görülmez iken, 42 °C ve 45 °C’de aynı sıcaklıklarda değişen quercetin konsantrasyonları arasında anlamlı fark görüldü ($p<0,05$) (Tablo 5.3).

Tablo 5. 3. Kolistin dirençli *A. baumannii*’nin quercetin ve hipertermi etkisinde üreme inhibisyon düzeyleri

Kons. (µg/ml)	37 °C (%)		42 °C (%)		45 °C (%)		p
	Ort±SS	Med (min-max)	Ort±SS	Med (min-max)	Ort±SS	Med (min-max)	
512	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	26,16±23,46	21,13 (0,00-66,70)	60,91±17,38	61,54 (36,79-88,04)	< 0,001
256	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	32,63±16,51	27,79 (12,53-66,13)	7,66±10,22	3,22 (0,00-26,30)	< 0,001
128	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	1,80±5,08	0,00 (0,00-14,37)	11,51±7,84	14,54 (0,00-19,97)	0,001
64	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	1,84±5,19	0,00 (0,00-14,68)	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	0,368
32	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	0,60±1,13	0,00 (0,00-2,83)	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	0,124
16	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	1,000
8	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	1,000
4	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	1,000
2	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	1,000
1	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	1,000
HT	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	1,000
p	1,000		<0,001		<0,001		

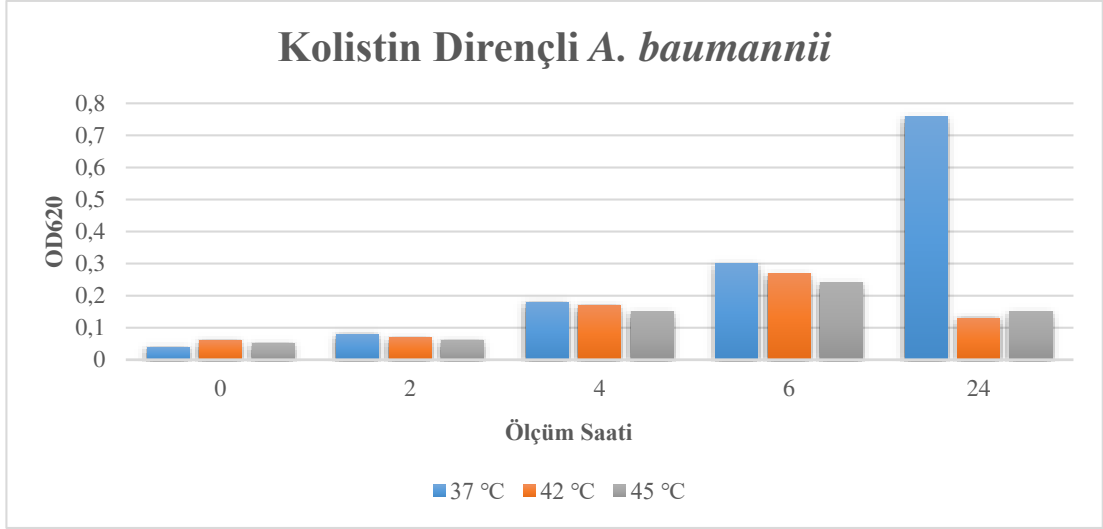
Kons: Konsantrasyon, HT: Hipertermi, Ort: Ortalama, SS: Standart Sapma, Med: Medyan, Min: Minimum, Max: Maksimum

Kolistin dirençli *A. baumannii*’nin sadece hipertermi etkisi altında farklı sıcaklıklardaki üreme düzeyleri arasında 2. ve 4. saatlerde anlamlı bir fark görülmedi ($p>0,05$). Ancak sadece hipertermi etkisi altında farklı sıcaklıklardaki üreme düzeyleri arasında 6. saatte ve 24. saatte anlamlı bir fark saptandı ($p<0,05$) (Tablo 5.4, Şekil 5.1).

Tablo 5. 4. Kolistin dirençli *A. baumannii*’nin farklı sıcaklıklardaki üreme düzeyleri arasındaki ilişki

ColRAB	37 °C (%)		42 °C (%)		45 °C (%)		p
	Ort±SS	Med (min-max)	Ort±SS	Med (min-max)	Ort±SS	Med (min-max)	
2.Saat	0,079±0,051	0,063 (0,051-0,207)	0,065±0,006	0,065 (0,055-0,074)	0,063±0,008	0,06 (0,055-0,078)	0,593
4.Saat	0,175±0,033	0,169 (0,125-0,243)	0,167±0,031	0,157 (0,136-0,239)	0,154±0,034	0,147 (0,132-0,237)	0,080
6.Saat	0,296±0,027	0,301 (0,24-0,337)	0,272±0,029	0,266 (0,242-0,335)	0,236±0,02	0,239 (0,200-0,258)	0,003
24.Saat	0,756±0,209	0,733 (0,51-1,026)	0,133±0,018	0,137 (0,106-0,151)	0,147±0,021	0,145 (0,122-0,178)	<0,001

ColRAB: Kolistin Dirençli *A. baumannii*, Ort: Ortalama, SS: Standart Sapma, Med: Medyan, Min: Minimum, Max: Maksimum



Şekil 5.1. Kolistin dirençli *A. baumannii*'nin farklı sıcaklıklardaki 0., 2., 4., 6. ve 24. saatlerdeki üreme düzeyleri

5.4. *S. epidermidis* Üreme İnhibisyon Deneyi Sonuçları

S. epidermidis için 37 °C, 42 °C ve 45 °C ile değişen quercetin konsantrasyonlarının üreme inhibisyonu üzerine etkileri incelendiğinde; sadece hipertermi etkisinde üreme inhibisyonu için anlamlı bir fark gözlemlenmedi ($p>0,05$). 64-1 µg/ml arasında değişen konsantrasyonlarda da anlamlı bir fark görülmedi ($p>0,05$). 37 °C, 42 °C ve 45 °C'de 512 µg/ml quercetin konsantrasyonunda sırasıyla $27,01\pm14,81$, $96,95\pm21,55$ ve $79,16\pm20,96$ düzeyinde inhibisyon görüldü ve anlamlı bir fark gözlemlendi ($p<0,001$). 37 °C, 42 °C ve 45 °C'de 256 µg/ml quercetin konsantrasyonunda sırasıyla $13,78\pm14,86$, $29,93\pm16,59$ ve $33,74\pm9,82$ düzeyinde inhibisyon görüldü ve anlamlı bir fark gözlemlendi ($p=0,022$). 128 µg/ml için 37 °C ve 42 °C'de üreme inhibisyonu gözlemlenmedi, 45 °C'de $7,67\pm11,86$ düzeyinde üreme inhibisyonu ve anlamlı bir fark gözlemlendi ($p=0,038$). Aynı sıcaklıklarda değişen quercetin konsantrasyonlarında üreme inhibisyonu açısından 37 °C, 42 °C ve 45 °C'de anlamlı fark görüldü ($p<0,05$) (Tablo 5.5).

Tablo 5. 5. *S. epidermidis*'in quercetin ve hipertermi etkisinde üreme inhibisyon düzeyleri

Kons. (µg/ml)	37 °C (%)		42 °C (%)		45 °C (%)		p
	Ort±SS	Med (min-max)	Ort±SS	Med (min-max)	Ort±SS	Med (min-max)	
512	27,01±14,81	28,67 (3,39-46,98)	96,95±21,55	90,99 (63,68-132,02)	79,16±20,96	67,59 (60,28-114,66)	< 0,001
256	13,78±14,86	11,55 (0,00-29,34)	29,93±16,59	33,07 (0,00-57,88)	33,74±9,82	34,03 (17,19-50,10)	0,022
128	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	7,67±11,86	0,00 (0,00-29,44)	0,038
64	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	1,000
32	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	1,000
16	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	1,000
8	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	1,000
4	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	1,000
2	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	1,000
1	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	1,000
HT	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	1,000
p	<0,001		<0,001		<0,001		

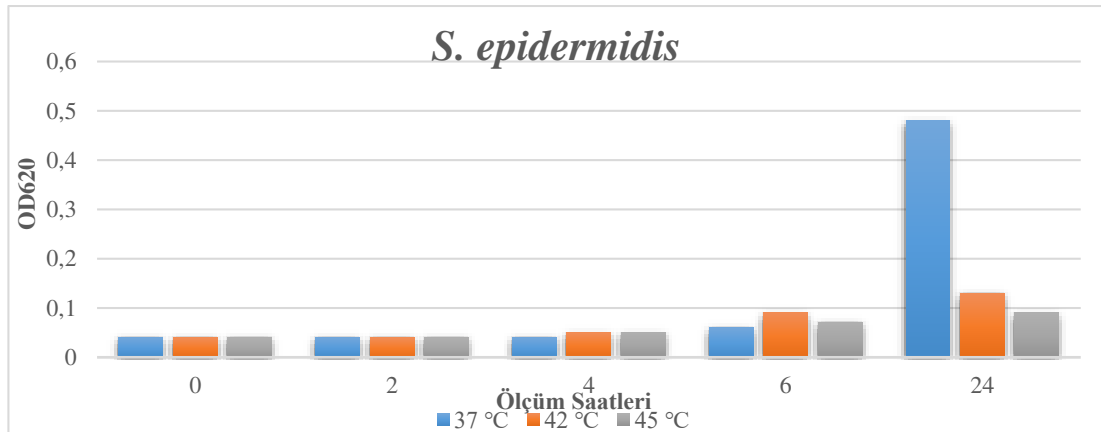
Kons: Konsantrasyon, HT: Hipertermi, Ort: Ortalama, SS: Standart Sapma, Med: Medyan, Min: Minimum, Max: Maksimum

S. epidermidis'in sadece hipertermi etkisi altında farklı sıcaklıklardaki üreme düzeyleri arasında tüm ölçüm saatlerinde anlamlı bir fark bulunmuştur ($p<0,05$) (Tablo 5.6, Şekil 5.2).

Tablo 5. 6. *S. epidermidis*'in farklı sıcaklıklardaki üreme düzeyleri arasındaki ilişki

SE	37 °C (%)		42 °C (%)		45 °C (%)		p
	Ort±SS	Med (min-max)	Ort±SS	Med (min-max)	Ort±SS	Med (min-max)	
2.Saat	0,044±0,004	0,044 (0,039-0,051)	0,042±0,002	0,041 (0,040-0,047)	0,040±0,001	0,040 (0,038-0,043)	0,028
4.Saat	0,044±0,002	0,045 (0,040-0,049)	0,050±0,003	0,050 (0,046-0,055)	0,048±0,004	0,046 (0,042-0,055)	0,018
6.Saat	0,058±0,007	0,057 (0,046-0,068)	0,097±0,036	0,088 (0,052-0,158)	0,074±0,019	0,069 (0,052-0,107)	0,034
24.Saat	0,483±0,089	0,487 (0,373-0,648)	0,125±0,037	0,129 (0,064-0,195)	0,086±0,038	0,073 (0,052-0,148)	<0,001

SE: *S. epidermidis*, Ort: Ortalama, SS: Standart Sapma, Med: Medyan, Min: Minimum, Max: Maksimum



Şekil 5.2. *S. epidermidis*'in farklı sıcaklıklardaki 0., 2., 4., 6. ve 24. saatlerdeki üreme düzeyleri

5.5. Kolistin Dirençli *A. baumannii* Biyofilm İnhibisyon Deneyi Sonuçları

Biyofilm inhibisyon düzeyleri her üç sıcaklıkta da en fazla 512 µg/ml quercetin konsantrasyonunda tespit edildi. Tek başına sıcaklık etkisi altında 42 °C ve 45 °C’de sırasıyla %8,68±24,54 ve %13,07±30,22 düzeyinde biyofilm inhibisyonu gözlemlendi. Kolistin dirençli *A. baumannii* için 37 °C, 42 °C ve 45 °C’de değişen quercetin konsantrasyonlarının biyofilm inhibisyonunda tüm konsantrasyonlarda anlamlı bir fark görülmedi ($p>0,05$). Aynı sıcaklıklarda değişen quercetin konsantrasyonlarında biyofilm inhibisyonu açısından 37 °C, 42 °C ve 45 °C’de anlamlı fark görüldü ($p<0,05$) (Tablo 5.7).

Tablo 5. 7. Kolistin dirençli *A. baumannii*’nin quercetin ve hipertermi etkisinde biyofilm inhibisyon düzeyleri

Kons. (µg/ml)	37 °C (%)		42 °C (%)		45 °C (%)		<i>p</i>
	Ort±SS	Med (min-max)	Ort±SS	Med (min-max)	Ort±SS	Med (min-max)	
512	52,46±32,06	55,67 (3,42-98,33)	40,03±35,71	49,98 (0,00-90,93)	51,70±34,58	67,53 (0,00-81,83)	0,579
256	39,39±19,34	39,47 (14,75-66,72)	19,75±33,76	0,95 (0,00-94,49)	45,04±31,23	48,43 (0,00-82,84)	0,149
128	17,18±25,25	6,40 (0,00-72,86)	16,43±30,11	2,22 (0,00-85,18)	38,03±42,06	28,59 (0,00-96,00)	0,808
64	2,95±6,42	0,00 (0,00-18,11)	13,12±32,16	0,00 (0,00-92,18)	23,56±31,15	9,90 (0,00-82,93)	0,381
32	13,02±31,60	0,00 (0,00-90,59)	11,81±33,39	0,00 (0,00-94,45)	28,94±36,97	6,48 (0,00-79,38)	0,391
16	29,38±34,85	18,48 (0,00-97,28)	11,01±31,14	0,00 (0,00-88,07)	23,17±33,23	0,00 (0,00-81,31)	0,160
8	20,05±37,50	0,00 (0,00-89,97)	11,40±29,13	0,00 (0,00-83,15)	15,32±22,39	0,00 (0,00-56,75)	0,908
4	13,93±18,99	4,09 (0,00-51,11)	8,69±24,58	0,00 (0,00-69,52)	20,21±29,70	5,41 (0,00-82,18)	0,328
2	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	11,56±32,69	0,00 (0,00-92,45)	6,58±10,20	0,00 (0,00-26,01)	0,167
1	12,02±30,61	0,00 (0,00-87,40)	11,75±33,22	0,00 (0,00-93,97)	6,09±13,91	0,00 (0,00-39,58)	0,875
HT	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	8,68±24,54	0,00 (0,00-69,42)	13,07±30,22	0,00 (0,00-86,14)	0,336
<i>p</i>	<0,001		0,005		0,035		

Kons: Konsantrasyon, HT: Hipertermi, Ort: Ortalama, SS: Standart Sapma, Med: Medyan, Min: Minimum, Max: Maksimum

5.6. *S. epidermidis* Biyofilm İnhibisyon Deneyi Sonuçları

S. epidermidis için 37 °C, 42 °C ve 45 °C’de değişen quercetin konsantrasyonlarının biyofilm inhibisyonu üzerine etkileri incelendiğinde tüm konsantrasyonlar için anlamlı bir fark görülmedi ($p>0,05$). Ancak tek başına hipertermi etkisinde 42 °C ve 45 °C’deki inhibisyon düzeylerinde anlamlı bir fark görüldü ($p=0,006$). 42 °C ve 45 °C’de sırasıyla %28,92±28,73 ve %44,29±37,18 düzeyinde biyofilm inhibisyonu gözlemlendi. Aynı sıcaklıklarda değişen quercetin konsantrasyonlarında biyofilm inhibisyonu açısından 37 °C, 42 °C ve 45 °C’de anlamlı fark görüldü ($p<0,05$) (Tablo 5.8).

Tablo 5. 8. *S. epidermidis*'in quercetin ve hipertermi etkisinde biyofilm inhibisyon düzeyleri

Kons. (µg/ml)	37 °C (%)		42 °C (%)		45 °C (%)		p
	Ort±SS	Med (min-max)	Ort±SS	Med (min-max)	Ort±SS	Med (min-max)	
512	46,70±30,72	57,62 (0,00-83,00)	52,21±34,92	72,52 (0,00-81,77)	52,92±36,09	71,00 (0,00-86,95)	0,651
256	31,09±28,69	35,82 (0,00-68,71)	46,86±33,82	55,52 (0,00-78,54)	54,11±35,77	74,64 (0,00-84,96)	0,232
128	38,18±32,20	54,16 (0,00-70,18)	30,03±33,37	21,67 (0,00-75,50)	40,13±35,89	27,56 (0,00-90,17)	0,704
64	28,27±25,56	33,56 (0,00-64,82)	22,88±26,04	16,28 (0,00-61,21)	37,64±30,90	40,96 (0,00-88,00)	0,535
32	15,06±22,70	0,00 (0,00-51,88)	22,27±24,22	16,25 (0,00-54,82)	39,06±35,02	44,25 (0,00-84,33)	0,349
16	12,97±19,74	0,00 (0,00-45,18)	10,59±15,26	0,00 (0,00-35,97)	23,80±34,70	0,00 (0,00-84,02)	0,842
8	0,83±2,35	0,00 (0,00-6,64)	9,07±13,81	0,00 (0,00-35,79)	15,22±28,50	0,00 (0,00-68,95)	0,483
4	10,53±18,22	0,00 (0,00-45,80)	8,69±23,11	0,00 (0,00-65,78)	28,18±35,57	8,42 (0,00-82,65)	0,412
2	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	6,30±17,81	0,00 (0,00-50,37)	19,43±35,84	0,00 (0,00-88,04)	0,127
1	2,45±6,01	0,00 (0,00-17,18)	11,46±24,32	0,00 (0,00-68,07)	30,93±36,76	17,70 (0,00-88,35)	0,267
HT	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	28,92±28,73	23,33 (0,00-70,59)	44,29±37,18	50,00 (0,00-86,67)	0,006
p	<0,001		<0,001		0,043		

Kons: Konsantrasyon, HT: Hipertermi, Ort: Ortalama, SS: Standart Sapma, Med: Medyan, Min: Minimum, Max: Maksimum

5.7. Kolistin Dirençli *A. baumannii* ve *S. epidermidis* Üreme İnhibisyon Sonuçlarının Karşılaştırılması

Kolistin dirençli *A. baumannii* ve *S. epidermidis*'in 37 °C'deki üreme inhibisyon düzeyleri karşılaştırıldığında 512 µg/ml quercetin konsantrasyonunda anlamlı bir fark görüldü ($p<0,001$). 256 µg/ml quercetin konsantrasyonunda *S. epidermidis* için inhibisyon görüldü fakat anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0,05$). 128-1 µg/ml arasındaki konsantrasyonlarda her iki bakteri için de üreme inhibisyonu görülmedi ve anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0,05$) (Tablo 5.9).

42 °C'deki üreme inhibisyon düzeyleri karşılaştırıldığında 37 °C'deki üreme inhibisyon düzeyleri ile benzer sonuçlar elde edildi. 512 µg/ml quercetin konsantrasyonunda anlamlı bir fark görüldü ($p<0,001$), 256 µg/ml quercetin konsantrasyonunda her iki bakteri için de inhibisyon görüldü. Ancak inhibisyon düzeyleri arasında anlamlı bir fark görülmedi ($p>0,05$) (Tablo 5.10).

Kolistin dirençli *A. baumannii*'ye kıyasla *S. epidermidis* 45 °C'de 256 µg/ml quercetin konsantrasyonunda anlamlı düzeyde daha fazla inhibisyon gösterdi ($p<0,001$). 128-1 µg/ml arasındaki quercetin konsantrasyonlarında kolistin dirençli *A. baumannii* ve *S. epidermidis* arasında üreme inhibisyon düzeyleri açısından anlamlı bir fark görülmedi ($p>0,05$) (Tablo 5.11).

Tablo 5. 9. Kolistin dirençli *A. baumannii* ve *S. epidermidis*'in 37 °C'deki üreme inhibisyon düzeylerinin karşılaştırılması

İzolatlar	Konsantrasyon (µg/ml)	37 °C (%)		p
		Ort±SS	Med (min-max)	
ColRAB	512	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	<0,001
SE		27,01±14,81	28,67 (3,39-46,98)	
ColRAB	256	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	0,105
SE		13,78±14,86	11,55 (0,00-29,34)	
ColRAB	128	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	1,000
SE		0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	
ColRAB	64	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	1,000
SE		0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	
ColRAB	32	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	1,000
SE		0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	
ColRAB	16	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	1,000
SE		0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	
ColRAB	8	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	1,000
SE		0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	
ColRAB	4	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	1,000
SE		0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	
ColRAB	2	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	1,000
SE		0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	
ColRAB	1	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	1,000
SE		0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	
ColRAB	HT	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	1,000
SE		0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	

ColRAB: Kolistin dirençli *A. baumannii*, SE: *S. epidermidis*, HT: Hipertermi, Ort: Ortalama, SS: Standart Sapma, Med: Medyan, Min: Minimum, Max: Maksimum

Tablo 5. 10. Kolistin dirençli *A. baumannii* ve *S. epidermidis*'in 42 °C'deki üreme inhibisyon düzeylerinin karşılaştırılması

İzolatlar	Konsantrasyon (µg/ml)	42 °C (%)		p
		Ort±SS	Med (min-max)	
ColRAB	512	26,16±23,46	21,13 (0,00-66,70)	<0,001
SE		96,95±21,55	90,99 (63,68-132,02)	
ColRAB	256	32,63±16,51	27,79 (12,53-66,13)	0,721
SE		29,93±16,59	33,07 (0,00-57,88)	
ColRAB	128	1,80±5,08	0,00 (0,00-14,37)	0,721
SE		0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	
ColRAB	64	1,84±5,19	0,00 (0,00-14,68)	0,721
SE		0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	
ColRAB	32	0,60±1,13	0,00 (0,00-2,83)	0,442
SE		0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	
ColRAB	16	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	1,000
SE		0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	
ColRAB	8	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	1,000
SE		0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	
ColRAB	4	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	1,000
SE		0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	
ColRAB	2	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	1,000
SE		0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	
ColRAB	1	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	1,000
SE		0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	
ColRAB	HT	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	1,000
SE		0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	

ColRAB: Kolistin dirençli *A. baumannii*, SE: *S. epidermidis*, HT: Hipertermi, Ort: Ortalama, SS: Standart Sapma, Med: Medyan, Min: Minimum, Max: Maksimum

Tablo 5. 11. Kolistin dirençli *A. baumannii* ve *S. epidermidis*'in 45 °C'deki üreme inhibisyon düzeylerinin karşılaştırılması

İzolatlar	Konsantrasyon (µg/ml)	45 °C (%)		p
		Ort±SS	Med (min-max)	
ColRAB	512	60,91±17,38	61,54 (36,79-88,04)	0,161
SE		79,16±20,96	67,59 (60,28-114,66)	
ColRAB	256	7,66±10,22	3,22 (0,00-26,30)	<0,001
SE		33,74±9,82	34,03 (17,19-50,10)	
ColRAB	128	11,51±7,84	14,54 (0,00-19,97)	0,279
SE		7,67±11,86	0,00 (0,00-29,44)	
ColRAB	64	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	1,000
SE		0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	
ColRAB	32	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	1,000
SE		0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	
ColRAB	16	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	1,000
SE		0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	
ColRAB	8	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	1,000
SE		0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	
ColRAB	4	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	1,000
SE		0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	
ColRAB	2	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	1,000
SE		0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	
ColRAB	1	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	1,000
SE		0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	
ColRAB	HT	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	1,000
SE		0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	

ColRAB: Kolistin dirençli *A. baumannii*, SE: *S. epidermidis*, HT: Hipertermi, Ort: Ortalama, SS: Standart Sapma, Med: Medyan, Min: Minimum, Max: Maksimum

5.8. Kolistin Dirençli *A. baumannii* ve *S. epidermidis* Biyofilm İnhibisyon Sonuçlarının Karşılaştırılması

Kolistin dirençli *A. baumannii* ve *S. epidermidis*'in 37 °C'deki biyofilm inhibisyon düzeyleri karşılaştırıldığında tüm konsantrasyonlar için bakteriler arasında anlamlı bir fark görülmedi ($p>0,05$) (Tablo 5.12).

Kolistin dirençli *A. baumannii* ve *S. epidermidis*'in 42 °C'deki biyofilm inhibisyon düzeyleri karşılaştırıldığında 37 °C'deki sonuçlara benzer şekilde tüm konsantrasyonlar için bakteriler arasında anlamlı bir fark görülmedi ($p>0,05$). Tek başına hipertermi etkisi için anlamlı bir fark görülmedi ($p>0,05$). Ancak *S. epidermidis*, kolistin dirençli *A. baumannii*'ye kıyasla tek başına hipertermi etkisi altında daha fazla inhibisyon gösterdi (Tablo 5.13).

Kolistin dirençli *A. baumannii* ve *S. epidermidis*'in 45 °C'deki biyofilm inhibisyon düzeyleri karşılaştırıldığında 37 °C ve 42 °C'deki sonuçlara benzer şekilde tüm konsantrasyonlar için bakteriler arasında anlamlı bir fark görülmedi ($p>0,05$). Tek başına hipertermi etkisi için anlamlı bir fark görülmedi ($p>0,05$). Ancak *S. epidermidis*, 42 °C'deki sonuçlara benzer şekilde kolistin dirençli *A. baumannii*'ye kıyasla tek başına hipertermi etkisi altında daha fazla inhibisyon gösterdi (Tablo 5.14).

Tablo 5. 12. Kolistin dirençli *A. baumannii* ve *S. epidermidis*'in 37 °C'deki biyofilm inhibisyon düzeylerinin karşılaştırılması

İzolatlar	Konsantrasyon (µg/ml)	37 °C (%)		p
		Ort±SS	Med (min-max)	
ColRAB	512	52,46±32,06	55,67 (3,42-98,33)	0,721
SE		46,70±30,72	57,62 (0,00-83,00)	
ColRAB	256	39,39±19,34	39,47 (14,75-66,72)	0,798
SE		31,09±28,69	35,82 (0,00-68,71)	
ColRAB	128	17,18±25,25	6,40 (0,00-72,86)	0,574
SE		38,18±32,20	54,16 (0,00-70,18)	
ColRAB	64	2,95±6,42	0,00 (0,00-18,11)	0,083
SE		28,27±25,56	33,56 (0,00-64,82)	
ColRAB	32	13,02±31,60	0,00 (0,00-90,59)	0,878
SE		15,06±22,70	0,00 (0,00-51,88)	
ColRAB	16	29,38±34,85	18,48 (0,00-97,28)	0,195
SE		12,97±19,74	0,00 (0,00-45,18)	
ColRAB	8	20,05±37,50	0,00 (0,00-89,97)	0,645
SE		0,83±2,35	0,00 (0,00-6,64)	
ColRAB	4	13,93±18,99	4,09 (0,00-51,11)	0,721
SE		10,53±18,22	0,00 (0,00-45,80)	
ColRAB	2	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	1,000
SE		0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	
ColRAB	1	12,02±30,61	0,00 (0,00-87,40)	0,959
SE		2,45±6,01	0,00 (0,00-17,18)	
ColRAB	HT	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	1,000
SE		0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	

ColRAB: Kolistin dirençli *A. baumannii*, SE: *S. epidermidis*, HT: Hipertermi, Ort: Ortalama, SS: Standart Sapma, Med: Medyan, Min: Minimum, Max: Maksimum

Tablo 5. 13. Kolistin dirençli *A. baumannii* ve *S. epidermidis*'in 42 °C'deki biyofilm inhibisyon düzeylerinin karşılaştırılması

İzolatlar	Konsantrasyon (µg/ml)	42 °C (%)		p
		Ort±SS	Med (min-max)	
ColRAB	512	40,03±35,71	49,98 (0,00-90,93)	0,442
SE		52,21±34,92	72,52 (0,00-81,77)	
ColRAB	256	19,75±33,76	0,95 (0,00-94,49)	0,234
SE		46,86±33,82	55,52 (0,00-78,54)	
ColRAB	128	16,43±30,11	2,22 (0,00-85,18)	0,721
SE		30,03±33,37	21,67 (0,00-75,50)	
ColRAB	64	13,12±32,16	0,00 (0,00-92,18)	0,574
SE		22,88±26,04	16,28 (0,00-61,21)	
ColRAB	32	11,81±33,39	0,00 (0,00-94,45)	0,161
SE		22,27±24,22	16,25 (0,00-54,82)	
ColRAB	16	11,01±31,14	0,00 (0,00-88,07)	0,505
SE		10,59±15,26	0,00 (0,00-35,97)	
ColRAB	8	11,40±29,13	0,00 (0,00-83,15)	0,721
SE		9,07±13,81	0,00 (0,00-35,79)	
ColRAB	4	8,69±24,58	0,00 (0,00-69,52)	0,798
SE		8,69±23,11	0,00 (0,00-65,78)	
ColRAB	2	11,56±32,69	0,00 (0,00-92,45)	0,959
SE		6,30±17,81	0,00 (0,00-50,37)	
ColRAB	1	11,75±33,22	0,00 (0,00-93,97)	0,798
SE		11,46±24,32	0,00 (0,00-68,07)	
ColRAB	HT	8,68±24,54	0,00 (0,00-69,42)	0,065
SE		28,92±28,73	23,33 (0,00-70,59)	

ColRAB: Kolistin dirençli *A. baumannii*, SE: *S. epidermidis*, HT: Hipertermi, Ort: Ortalama, SS: Standart Sapma, Med: Medyan, Min: Minimum, Max: Maksimum

Tablo 5. 14. Kolistin dirençli *A. baumannii* ve *S. epidermidis*'in 45 °C'deki biyofilm inhibisyon düzeylerinin karşılaştırılması

İzolatlar	Konsantrasyon (µg/ml)	45 °C (%)		p
		Ort±SS	Med (min-max)	
ColRAB	512	51,70±34,58	67,53 (0,00-81,83)	0,878
SE		52,92±36,09	71,00 (0,00-86,95)	
ColRAB	256	45,04±31,23	48,43 (0,00-82,84)	0,382
SE		54,11±35,77	74,64 (0,00-84,96)	
ColRAB	128	38,03±42,06	28,59 (0,00-96,00)	0,798
SE		40,13±35,89	27,56 (0,00-90,17)	
ColRAB	64	23,56±31,15	9,90 (0,00-82,93)	0,382
SE		37,64±30,90	40,96 (0,00-88,00)	
ColRAB	32	28,94±36,97	6,48 (0,00-79,38)	0,721
SE		39,06±35,02	44,25 (0,00-84,33)	
ColRAB	16	23,17±33,23	0,00 (0,00-81,31)	1,000
SE		23,80±34,70	0,00 (0,00-84,02)	
ColRAB	8	15,32±22,39	0,00 (0,00-56,75)	0,878
SE		15,22±28,50	0,00 (0,00-68,95)	
ColRAB	4	20,21±29,70	5,41 (0,00-82,18)	0,798
SE		28,18±35,57	8,42 (0,00-82,65)	
ColRAB	2	6,58±10,20	0,00 (0,00-26,01)	0,878
SE		19,43±35,84	0,00 (0,00-88,04)	
ColRAB	1	6,09±13,91	0,00 (0,00-39,58)	0,279
SE		30,93±36,76	17,70 (0,00-88,35)	
ColRAB	HT	13,07±30,22	0,00 (0,00-86,14)	0,105
SE		44,29±37,18	50,00 (0,00-86,67)	

ColRAB: Kolistin dirençli *A. baumannii*, SE: *S. epidermidis*, HT: Hipertermi, Ort: Ortalama, SS: Standart Sapma, Med: Medyan, Min: Minimum, Max: Maksimum

5.9. *In vitro* Tedavi Modeli Deneyi Sonuçları

Kolistin dirençli *A. baumannii*'ye ait *in vitro* tedavi modeli deneyinin üreme inhibisyonuna etkisi üzerine değişen konsantrasyonlar arasında anlamlı bir fark görülmedi (p=0,44) (Tablo 5.15).

Tablo 5. 15. Kolistin dirençli *A. baumannii*'nin *in vitro* tedavi modeli deneyinde değişen quercetin konsantrasyonlarında üreme inhibisyon düzeylerinin karşılaştırılması

Konsantrasyon (µg/ml)	IVTMD (%)	
	Ort±SS	Med (min-max)
512	0,88±2,47	0,00 (0,00-7,00)
256	1,14±3,24	0,00 (0,00-9,15)
128	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)
64	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)
32	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)
16	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)
8	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)
4	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)
2	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)
1	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)
HT	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)
<i>p</i>	0,44	

IVTMD: *In vitro* tedavi modeli deneyi, HT: Hipertermi, Ort: Ortalama, SS: Standart Sapma, Med: Medyan, Min: Minimum, Max: Maksimum

In vitro tedavi modeli deneyinde 512 µg/ml ve 256 µg/ml quercetin konsantrasyonlarında sırasıyla %0,88±2,47 ve %1,14±3,24 oranında inhibisyon gözlemlendi. Kolistin dirençli *A. baumannii*'ye ait *in vitro* tedavi modelinin üreme inhibisyon deneyi sonuçları ile 37 °C'deki üreme inhibisyon deneyi sonuçları kıyaslandığında sonuçlar arasında anlamlı bir fark gözlemlenmedi ($p>0,05$) (Tablo 5.16).

Tablo 5. 16. Kolistin dirençli *A. baumannii*'nin *in vitro* tedavi modeli deneyi sonuçları ile 37 °C'deki üreme inhibisyon deneyi sonuçlarının karşılaştırılması

Kons. (µg/ml)	IVTMD (%)		37 °C (%)		<i>p</i>
	Ort±SS	Med (min-max)	Ort±SS	Med (min-max)	
512	0,88±2,47	0,00 (0,00-7,00)	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	0,721
256	1,14±3,24	0,00 (0,00-9,15)	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	0,721
128	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	1,000
64	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	1,000
32	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	1,000
16	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	1,000
8	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	1,000
4	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	1,000
2	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	1,000
1	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	1,000
HT	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	0,00±0,00	0,00 (0,00-0,00)	1,000

Kons: Konsantrasyon, IVTMD: *In vitro* tedavi modeli deneyi, HT: Hipertermi, Ort: Ortalama, SS: Standart Sapma, Med: Medyan, Min: Minimum, Max: Maksimum

Kolistin dirençli *A. baumannii*'ye ait *in vitro* tedavi modeli deneyinin biyofilm inhibisyonuna etkisi üzerine quercetin konsantrasyonları arasında anlamlı bir fark görüldü ($p=0,001$) (Tablo 5.17).

Tablo 5. 17. Kolistin dirençli *A. baumannii*'nin *in vitro* tedavi modeli deneyinde değişen quercetin konsantrasyonlarının biyofilm inhibisyon düzeylerinin karşılaştırılması

Konsantrasyon ($\mu\text{g/ml}$)	IVTMD (%)	
	Ort $\pm$ SS	Med (min-max)
512	48,80 $\pm$ 34,03	62,05 (0,00-86,73)
256	44,68 $\pm$ 28,58	40,26 (6,83-97,82)
128	42,30 $\pm$ 36,78	55,44 (0,00-80,10)
64	43,42 $\pm$ 25,53	45,32 (0,00-89,78)
32	20,42 $\pm$ 30,78	6,07 (0,00-88,65)
16	27,01 $\pm$ 23,51	24,90 (0,00-66,02)
8	22,91 $\pm$ 29,04	11,51 (0,00-84,17)
4	20,21 $\pm$ 29,70	5,41 (0,00-82,18)
2	20,75 $\pm$ 28,50	7,88 (0,00-80,08)
1	24,05 $\pm$ 27,80	20,36 (0,00-78,54)
HT	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 (0,00-0,00)
<i>p</i>	0,001	

IVTMD: *In vitro* tedavi modeli deneyi, HT: Hipertermi, Ort: Ortalama, SS: Standart Sapma, Med: Medyan, Min: Minimum, Max: Maksimum

In vitro tedavi modeli deneyinin kolistin dirençli *A. baumannii*'nin biyofilm inhibisyonu üzerine etkisi incelendiğinde sadece 64 $\mu\text{g/ml}$ quercetin konsantrasyonunda anlamlı bir fark görüldü ($p=0,003$) (Tablo 5.18).

Tablo 5. 18. Kolistin dirençli *A. baumannii*'nin *in vitro* tedavi modeli deneyi sonuçları ile 37 °C'deki biyofilm inhibisyon deneyi sonuçlarının karşılaştırılması

Kons. ($\mu\text{g/ml}$)	IVTMD (%)		37 °C (%)		<i>p</i>
	Ort $\pm$ SS	Med (min-max)	Ort $\pm$ SS	Med (min-max)	
512	48,80 $\pm$ 34,03	62,05 (0,00-86,73)	52,46 $\pm$ 32,06	55,67 (3,42-98,33)	0,878
256	44,68 $\pm$ 28,58	40,26 (6,83-97,82)	39,39 $\pm$ 19,34	39,47 (14,75-66,72)	0,798
128	42,30 $\pm$ 36,78	55,44 (0,00-80,10)	17,18 $\pm$ 25,25	6,40 (0,00-72,86)	0,442
64	43,42 $\pm$ 25,53	45,32 (0,00-89,78)	2,95 $\pm$ 6,42	0,00 (0,00-18,11)	0,003
32	20,42 $\pm$ 30,78	6,07 (0,00-88,65)	13,02 $\pm$ 31,60	0,00 (0,00-90,59)	0,574
16	27,01 $\pm$ 23,51	24,90 (0,00-66,02)	29,38 $\pm$ 34,85	18,48 (0,00-97,28)	1,000
8	22,91 $\pm$ 29,04	11,51 (0,00-84,17)	20,05 $\pm$ 37,50	0,00 (0,00-89,97)	0,279
4	20,21 $\pm$ 29,70	5,41 (0,00-82,18)	13,93 $\pm$ 18,99	4,09 (0,00-51,11)	0,878
2	20,75 $\pm$ 28,50	7,88 (0,00-80,08)	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 (0,00-0,00)	0,105
1	24,05 $\pm$ 27,80	20,36 (0,00-78,54)	12,02 $\pm$ 30,61	0,00 (0,00-87,40)	0,279
HT	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 (0,00-0,00)	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 (0,00-0,00)	1,000

Kons: Konsantrasyon, IVTMD: *In vitro* tedavi modeli deneyi, HT: Hipertermi, Ort: Ortalama, SS: Standart Sapma, Med: Medyan, Min: Minimum, Max: Maksimum

S. epidermidis'e ait *in vitro* tedavi modeli deneyinin üreme inhibisyonuna etkisinde anlamlı bir fark görüldü ($p < 0,001$) (Tablo 5.19).

Tablo 5. 19. *S. epidermidis*'in *in vitro* tedavi modeli deneyinde değişen quercetin konsantrasyonlarında üreme inhibisyon düzeylerinin karşılaştırılması

Konsantrasyon ($\mu\text{g/ml}$)	IVTMD (%)	
	Ort $\pm$ SS	Med (min-max)
512	28,61 $\pm$ 14,04	30,28 (5,97-48,70)
256	11,72 $\pm$ 12,59	10,63 (0,00-25,31)
128	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 (0,00-0,00)
64	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 (0,00-0,00)
32	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 (0,00-0,00)
16	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 (0,00-0,00)
8	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 (0,00-0,00)
4	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 (0,00-0,00)
2	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 (0,00-0,00)
1	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 (0,00-0,00)
HT	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 (0,00-0,00)
<i>p</i>	< 0,001	

IVTMD: *In vitro* tedavi modeli deneyi, HT: Hipertermi, Ort: Ortalama, SS: Standart Sapma, Med: Medyan, Min: Minimum, Max: Maksimum

S. epidermidis için *in vitro* tedavi modeli deneyinde 512 $\mu\text{g/ml}$ ve 256 $\mu\text{g/ml}$ quercetin konsantrasyonlarında sırasıyla %28,61 $\pm$ 14,04 ve %11,72 $\pm$ 12,59 oranında inhibisyon gözlemlendi. IVTMD üreme inhibisyon deneyi sonuçları ile 37 °C'deki üreme inhibisyon deneyi sonuçları kıyaslandığında anlamlı bir fark gözlemlenmedi ($p > 0,05$) (Tablo 5.20).

Tablo 5. 20. *S. epidermidis*'in *in vitro* tedavi modeli deneyi sonuçları ile 37 °C'deki üreme inhibisyon deneyi sonuçlarının karşılaştırılması

Kons. ($\mu\text{g/ml}$)	IVTMD (%)		37 °C (%)		<i>p</i>
	Ort $\pm$ SS	Med (min-max)	Ort $\pm$ SS	Med (min-max)	
512	28,61 $\pm$ 14,04	30,28 (5,97-48,70)	27,01 $\pm$ 14,81	28,67 (3,39-46,98)	0,574
256	11,72 $\pm$ 12,59	10,63 (0,00-25,31)	13,78 $\pm$ 14,86	11,55 (0,00-29,34)	0,574
128	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 (0,00-0,00)	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 (0,00-0,00)	1,000
64	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 (0,00-0,00)	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 (0,00-0,00)	1,000
32	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 (0,00-0,00)	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 (0,00-0,00)	1,000
16	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 (0,00-0,00)	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 (0,00-0,00)	1,000
8	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 (0,00-0,00)	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 (0,00-0,00)	1,000
4	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 (0,00-0,00)	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 (0,00-0,00)	1,000
2	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 (0,00-0,00)	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 (0,00-0,00)	1,000
1	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 (0,00-0,00)	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 (0,00-0,00)	1,000
HT	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 (0,00-0,00)	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 (0,00-0,00)	1,000

Kons: Konsantrasyon, IVTMD: *In vitro* tedavi modeli deneyi, HT: Hipertermi, Ort: Ortalama, SS: Standart Sapma, Med: Medyan, Min: Minimum, Max: Maksimum

S. epidermidis'e ait *in vitro* tedavi modeli deneyinin biyofilm inhibisyonuna etkisi üzerine değişen quercetin konsantrasyonları arasında anlamlı bir fark görüldü ($p<0,001$) (Tablo 5.21).

Tablo 5. 21. *S. epidermidis*'in *in vitro* tedavi modeli deneyinde değişen quercetin konsantrasyonlarının biyofilm inhibisyon düzeylerinin karşılaştırılması

Konsantrasyon ($\mu\text{g/ml}$)	IVTMD (%)	
	Ort $\pm$ SS	Med (min-max)
512	56,92 $\pm$ 35,67	71,43 (0,00-86,24)
256	49,10 $\pm$ 31,41	63,46 (0,00-79,83)
128	46,82 $\pm$ 30,31	59,25 (0,00-74,57)
64	34,97 $\pm$ 30,61	43,67 (0,00-75,24)
32	18,55 $\pm$ 30,09	0,00 (0,00-75,91)
16	13,44 $\pm$ 26,29	0,00 (0,00-69,65)
8	8,08 $\pm$ 22,86	0,00 (0,00-64,66)
4	8,85 $\pm$ 24,00	0,00 (0,00-68,20)
2	11,09 $\pm$ 25,71	0,00 (0,00-73,30)
1	19,71 $\pm$ 28,39	0,00 (0,00-70,08)
HT	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 (0,00-0,00)
<i>p</i>	< 0,001	

IVTMD: *In vitro* tedavi modeli deneyi, HT: Hipertermi, Ort: Ortalama, SS: Standart Sapma, Med: Medyan, Min: Minimum, Max: Maksimum

In vitro tedavi modeli deneyinin, *S. epidermidis*'in biyofilm inhibisyonu üzerine etkisi incelendiğinde 37 °C'ye kıyasla anlamlı bir fark görülmedi ($p>0,05$) (Tablo 5.22).

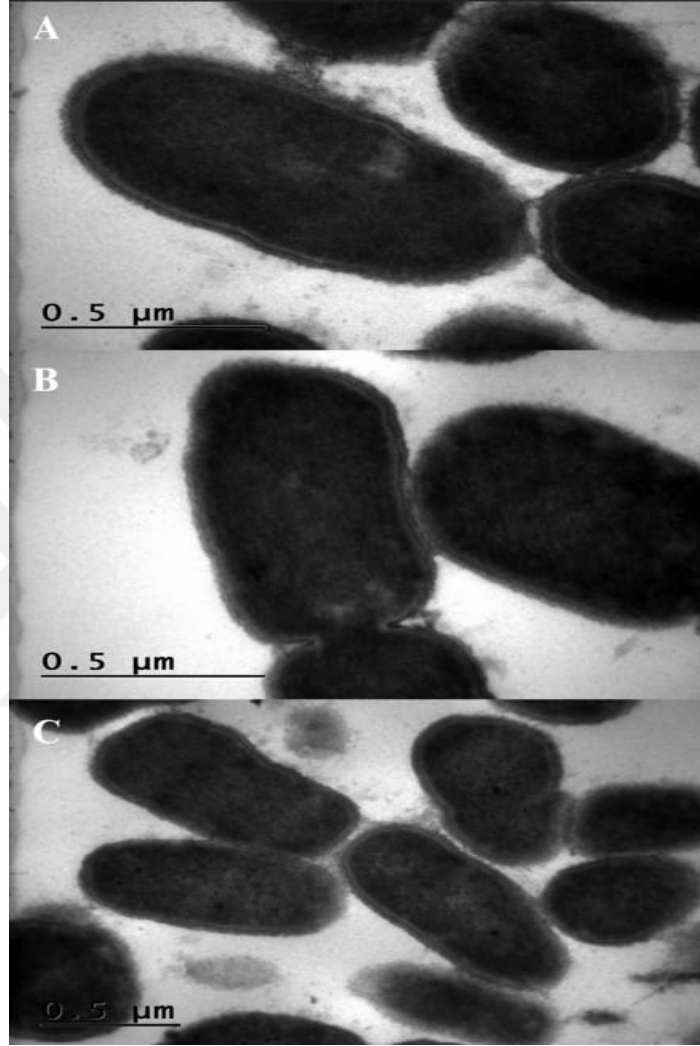
Tablo 5. 22. *S. epidermidis*'in *in vitro* tedavi modeli deneyi sonuçları ile 37 °C'deki biyofilm inhibisyon deneyi sonuçlarının karşılaştırılması

Kons. ($\mu\text{g/ml}$)	IVTMD (%)		37 °C (%)		<i>p</i>
	Ort $\pm$ SS	Med (min-max)	Ort $\pm$ SS	Med (min-max)	
512	56,92 $\pm$ 35,67	71,43 (0,00-86,24)	46,70 $\pm$ 30,72	57,62 (0,00-83,00)	0,161
256	49,10 $\pm$ 31,41	63,46 (0,00-79,83)	31,09 $\pm$ 28,69	35,82 (0,00-68,71)	0,234
128	46,82 $\pm$ 30,31	59,25 (0,00-74,57)	38,18 $\pm$ 32,20	54,16 (0,00-70,18)	0,721
64	34,97 $\pm$ 30,61	43,67 (0,00-75,24)	28,27 $\pm$ 25,56	33,56 (0,00-64,82)	0,505
32	18,55 $\pm$ 30,09	0,00 (0,00-75,91)	15,06 $\pm$ 22,70	0,00 (0,00-51,88)	0,878
16	13,44 $\pm$ 26,29	0,00 (0,00-69,65)	12,97 $\pm$ 19,74	0,00 (0,00-45,18)	0,798
8	8,08 $\pm$ 22,86	0,00 (0,00-64,66)	0,83 $\pm$ 2,35	0,00 (0,00-6,64)	1,000
4	8,85 $\pm$ 24,00	0,00 (0,00-68,20)	10,53 $\pm$ 18,22	0,00 (0,00-45,80)	0,721
2	11,09 $\pm$ 25,71	0,00 (0,00-73,30)	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 (0,00-0,00)	0,442
1	19,71 $\pm$ 28,39	0,00 (0,00-70,08)	2,45 $\pm$ 6,01	0,00 (0,00-17,18)	0,505
HT	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 (0,00-0,00)	0,00 $\pm$ 0,00	0,00 (0,00-0,00)	1,000

Kons: Konsantrasyon, IVTMD: *In vitro* tedavi modeli deneyi, HT: Hipertermi, Ort: Ortalama, SS: Standart Sapma, Med: Medyan, Min: Minimum, Max: Maksimum

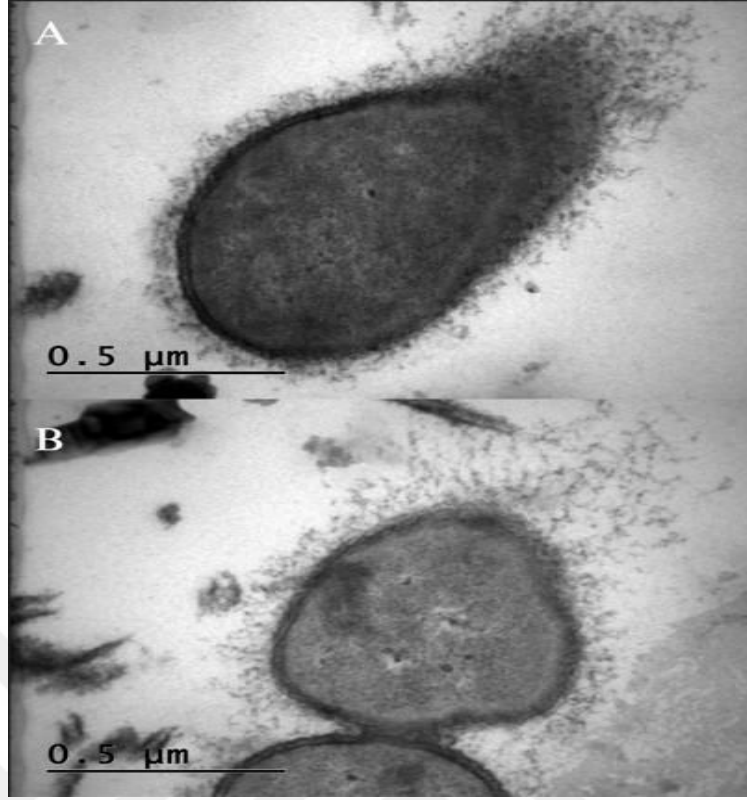
5.10. Geçirimli Elektron Mikroskopi Sonuçları

Kolistin dirençli *A. baumannii*'ye ait 37 °C'de herhangi bir etki olmadan üremede hücresel morfolojisi düzgün, hücre duvarı ve zar yapısı normal, sitoplazma yoğun ve bölünme aşamasındaki hücreler görüldü (Şekil 5.3).



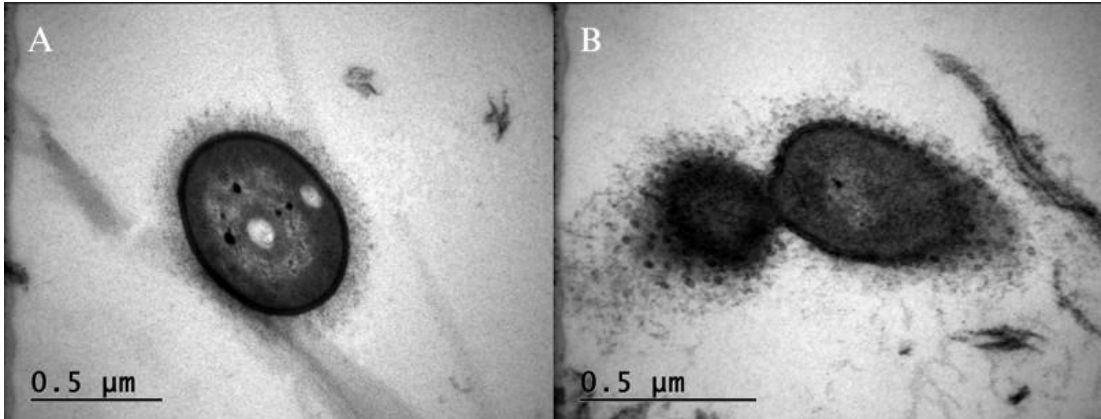
Şekil 5.3. Kolistin dirençli *A. baumannii*'ye ait 37 °C'deki TEM görüntüleri (A: Hücre duvarı ve hücre zarı belirgin, morfoloji düzgün, sitoplazma yoğun, B: Bölünen hücreler, C: Hücresel bölünme normal ve yoğun, hücresel yapılar normal)

Kolistin dirençli *A. baumannii*'ye ait 37 °C'de quercetine maruz bırakılan hücrelerde sitoplazmik yoğunlukta azalma, hücre duvarında yırtılma, sitoplazmik içeriğin dışa sızması ve yeni oluşan hücrelerin hücre duvarında defekt ve hücre yapısında kok yapısına dönüşüm görüldü (Şekil 5.4).



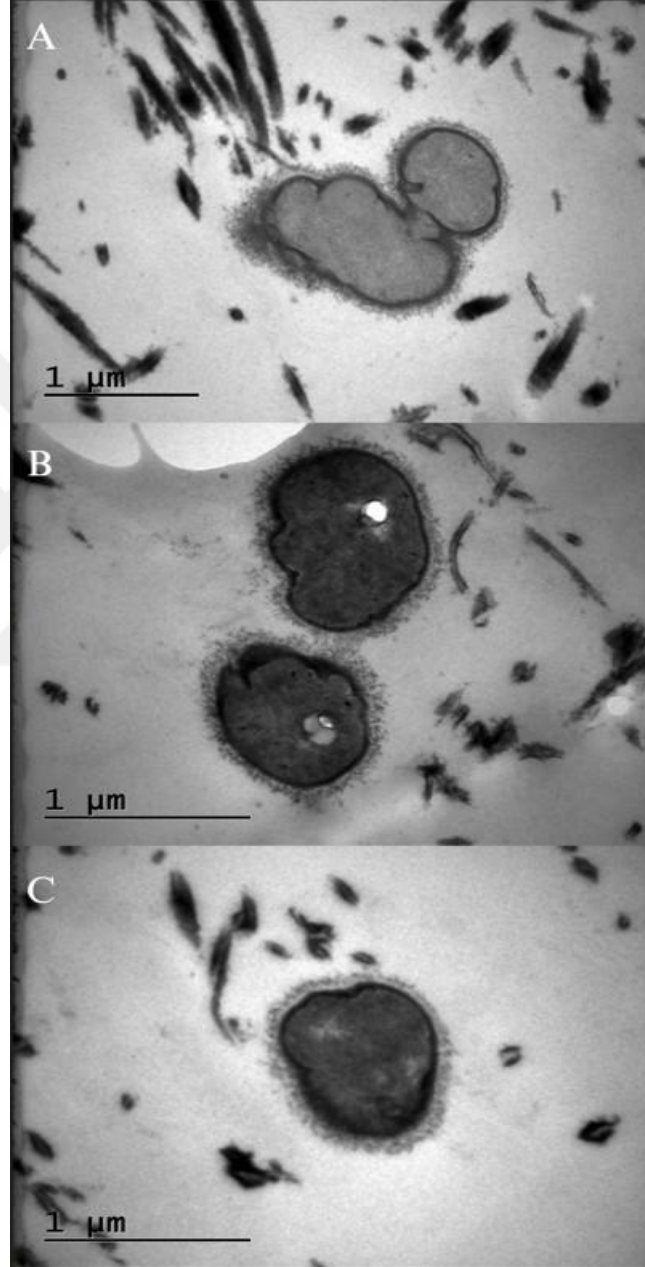
Şekil 5.4. Kolistin dirençli *A. baumannii*'ye ait 37 °C'de quercetine maruz bırakılan hücrelerin TEM görüntüsü (A: Hücre duvarında yırtılma ve sitoplazmik içeriğin dışı sızması, B: Sitoplazmik yoğunluğun azalması ve yeni oluşan hücrenin hücre duvar yapısında defektler)

Kolistin dirençli *A. baumannii*'ye ait 42 °C'de quercetine maruz bırakılan hücrelerde sitoplazmik yoğunlukta azalma, hücre içerisinde vakuol oluşumu, hücre duvarında yırtılma ve sitoplazmik içeriğin hücre dışına sızması, yeni oluşan hücrede hücre duvarı oluşumunda defekt ve kok yapısına dönüşüm görüldü (Şekil 5.5).



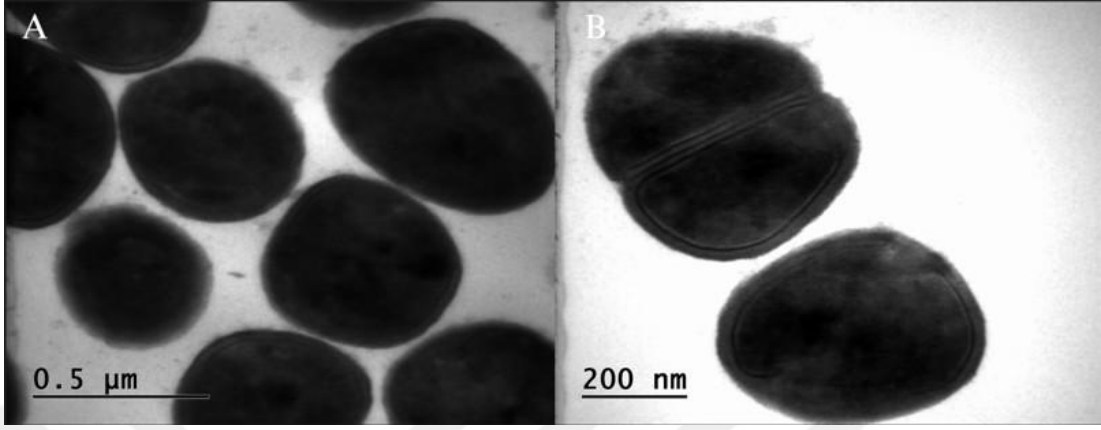
Şekil 5.5. Kolistin dirençli *A. baumannii*'ye ait 42 °C'de quercetine maruz bırakılan hücrelerin TEM görüntüsü (A: Hücrede vakuol oluşumu, sitoplazmik yoğunlukta azalma, B: Hücre duvarında yırtılma, sitoplazmik içeriğin dışı akışı, hücre duvar defekti)

Kolistin dirençli *A. baumannii*'ye ait 45 °C'de quercetine maruz bırakılan hücrelerde sitoplazmik yoğunlukta önemli ölçüde azalma, hücre duvar esnekliğinin kaybı ve bu sebeple invajinasyon oluşumu, sitoplazmik içeriğin hücre dışına akışı, hücre duvar yapısında önemli ölçüde defekt, hücre içerisinde vakuol oluşumları ve kok yapısına dönüşüm gözlemlendi (Şekil 5.6).



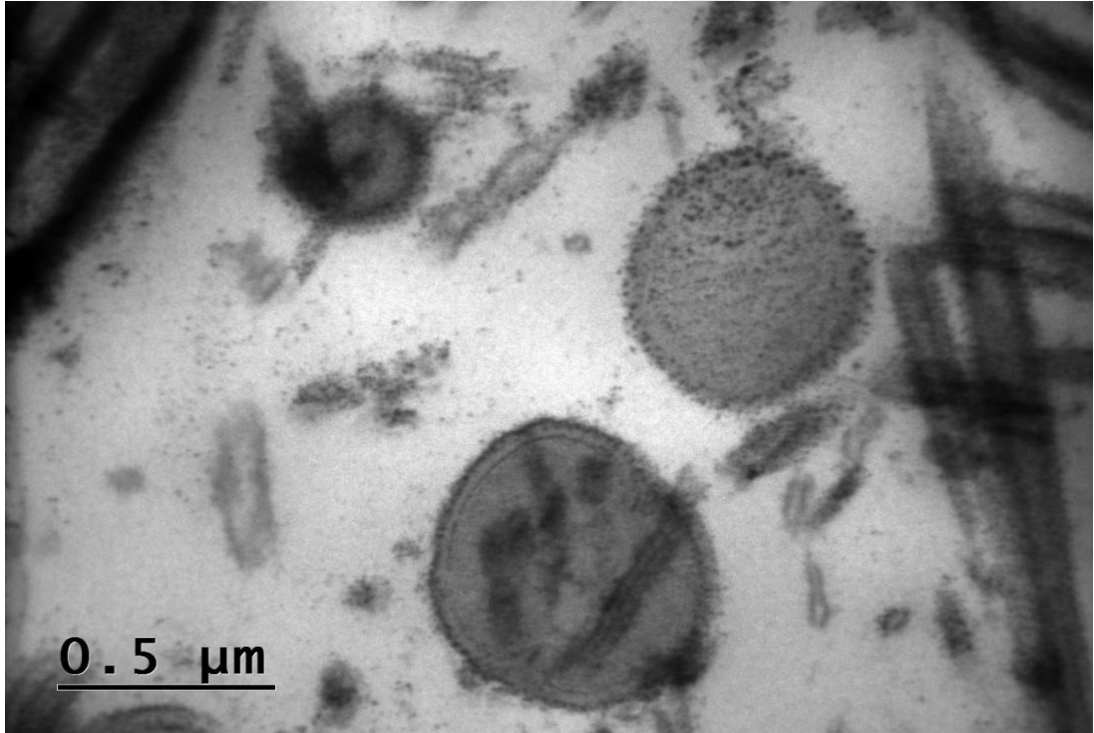
Şekil 5.6. Kolistin dirençli *A. baumannii*'ye ait 45 °C'de quercetine maruz bırakılan hücrelerin TEM görüntüsü (A: Sitoplazmik yoğunlukta azalma, invajinasyon, sitoplazmik içeriğin hücre dışına akışı, B: Hücre duvar yapısında defekt, vakuol oluşumları, sitoplazmik yoğunlukta azalma, invajinasyon, C: Hücre duvar yapısında defekt, sitoplazmik yoğunlukta azalma, invajinasyon)

S. epidermidis'e ait 37 °C'de herhangi bir etki olmadan üreyen hücrelerde hücre morfolojisi düzgün, hücre duvar yapısı belirgin, sitoplazma içeriği yoğun ve normal hücre bölünmesi gerçekleştiren hücreler görüldü (Şekil 5.7).



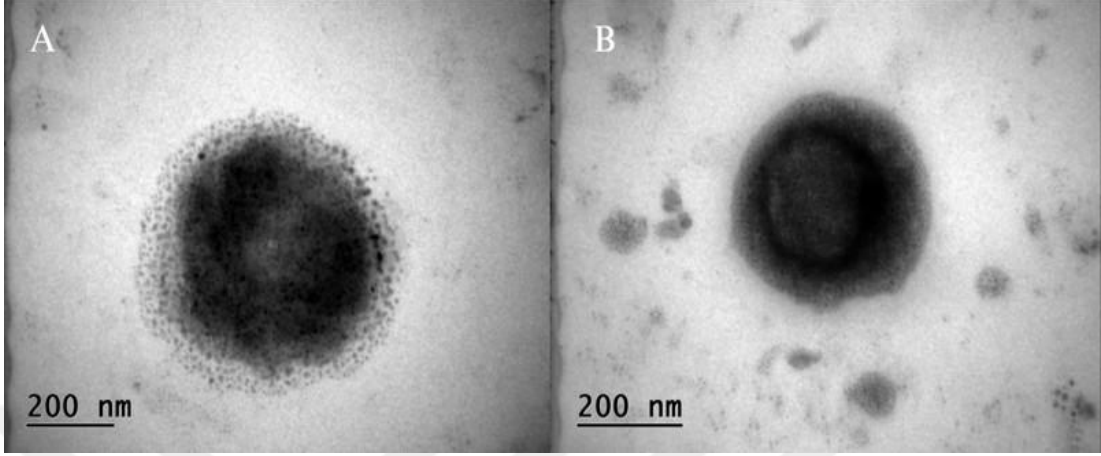
Şekil 5.7. *S. epidermidis*'e ait 37 °C'deki TEM görüntüleri (A: Hücre duvarı ve hücre zarı belirgin, morfoloji düzgün, sitoplazma yoğun, B: Bölünen hücreler)

S. epidermidis'e ait 37 °C'de quercetine maruz bırakılan hücrelerde hücre duvarı oluşumunun inhibisyonu, hücre duvarında minimal düzeyde yırtılma, hücre duvarında incelme ve sitoplazmik yoğunlukta azalma görüldü (Şekil 5.8).



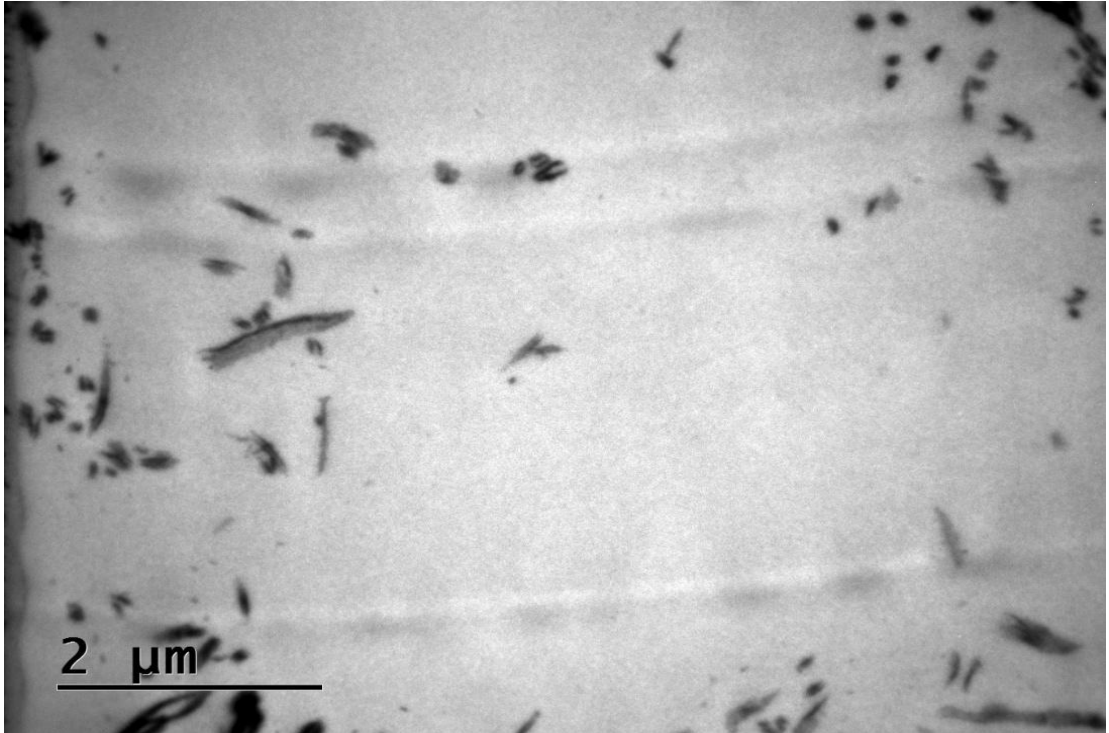
Şekil 5.8. *S. epidermidis*'e ait 37 °C'de quercetine maruz bırakılan hücrelerin TEM görüntüsü (Hücre duvarı oluşumunda inhibisyon, hücre duvarında minimal yırtılma, hücre duvarında incelme, sitoplazma yoğunluğunda azalma)

S. epidermidis'e ait 42 °C'de quercetine maruz bırakılan hücrelerde hücre duvarının tamamen ortadan kalktığı, sitoplazmik yoğunluğun azaldığı, hücre içi homeostazın bozulması sebebiyle hücrenin lizise gittiği görüldü (Şekil 5.9).



Şekil 5.9. *S. epidermidis*'e ait 42 °C'de quercetine maruz bırakılan hücrelerin TEM görüntüsü (A: Hücre duvarı ortadan kalkmış, sitoplazmik yoğunluk azalmış, lizis sürecindeki hücre, B: Hücre duvarı ortadan kalkmış hücre)

S. epidermidis'e ait 45 °C'de quercetine maruz bırakılan hücrelerde TEM ile tarama yapılan alanlarda hücre yapısına rastlanmadı (Şekil 5.10).



Şekil 5.10. *S. epidermidis*'e ait 45 °C'de quercetine maruz bırakılan hücrelerin görüntüsü (Tarama yapılan alanlarda hücresel yapıya rastlanmadı)

6. TARTIŞMA

Bu çalışmada sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle quercetin MİK değerleri 37 °C’de kolistin dirençli *A. baumannii* için test edilen tüm izolatlarda >512 µg/ml, *S. epidermidis* için test edilen izolatlarda 256-512 µg/ml değerlerinde tespit edilmiştir. Odabaş Köse ve ark. çalışmalarında sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile test ettikleri kolistin dirençli *A. baumannii* bakterilerinin dördünde MİK değerini 256 µg/ml, birinde 128 µg/ml olarak tespit etmişlerdir (108). *A. baumannii* izolatları üzerinde yapılan farklı bir çalışmada ise MİK değerleri 11 izolatta 16-128 µg/ml olarak bildirilmiştir (109). *S. epidermidis* üzerinde yapılan farklı bir çalışmada ise quercetin için MİK değerleri 256-384 µg/ml düzeyinde tespit edilmiştir (110). Quercetin farklı patojen bakteriler üzerinde MİK değerlerinin belirlendiği çeşitli çalışmalar mevcuttur. *P. aeruginosa* için 64-128 µg/ml (109), 158 µg/ml (111), 500 µg/ml (112); metisilin dirençli *S. aureus* için 176 µg/ml (111), 300-600 µg/ml (113); *E. coli* için 128-512 µg/ml (114) MİK değerleri tespit edilmiştir. Bakteriler arasında direnç oluşumunda genetik faktörler rol oynamaktadır (19). Quercetin MİK değerlerindeki farklılıklar çalışmalarda bakteri izolatları veya suşları aynı türlere ait olsa da genetik yapılarındaki farklılık sebebiyle ortaya çıkmış olabilir.

Hipertermi etkisinin devreye girmesiyle bu çalışmada test edilen bakterilerin 42 °C ve 45 °C’deki MİK değerlerinde her iki bakteri türü için azalma görüldü. *S. aureus* ATCC 29213 (MSSA) ve *S. aureus* ATCC 700698 (hVISA) suşları üzerinde yapılan çalışmada 45 °C’de 37 °C’ye kıyasla disk difüzyon yöntemiyle farklı antibiyotiklere karşı her iki suşun zon çaplarında artış görülmüştür. Aynı çalışmada sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle yapılan deneylerde MSSA için sefepim ve siprofloksasin MİK değerleri için sırasıyla ×8 ve ×4 katlık; hVISA için imipenem ve siprofloksasinin MİK değerlerinde sırasıyla ×16 ve ×2 katlık azalma bildirilmiştir (62). *P. mirabilis* üzerinde disk difüzyon yöntemi ile yapılan farklı bir çalışmada ise 42 °C ile kombine edildiğinde test edilen izolatların %94’ünde en az bir antibiyotige karşı duyarlılık geliştiği bildirmiştir (63). Bu durum hipertermi etkisinin bakteriler üzerinde antibiyotik direnç profilini değiştirebildiğini ve özellikle daha düşük MİK düzeylerinde tedavi etkinliğinin sağlanabileceğini göstermektedir.

Staphylococcus spp. 6,5-46 °C gibi geniş bir sıcaklık aralığında üreyebilirler fakat optimum üreme sıcaklığı 30-37 °C’dir (115). *A. baumannii* ise 44 °C’ye kadar

olan sıcaklıklarda üreyebilmektedir (116). Hipertermi etkisi tek başına hem *S. epidermidis* hem de kolistin dirençli *A. baumannii* için üreme üzerinde inhibe edici etki gösterememiştir. Hem *S. epidermidis* hem de kolistin dirençli *A. baumannii* 42 °C ve 45 °C'lik sıcaklıklarda üremelerini devam ettirmiştir. Ancak her iki bakteri için de inkübasyon süresi sonunda 37 °C'ye kıyasla önemli ölçüde üreme hızını yavaşlatmıştır. Benzer etki *S. aureus* suşlarında da görülmüştür. Gazel ve ark. (62) 45 °C'de üreme hızının 37 °C'ye kıyasla azaldığını ve bunun optimal üreme sıcaklık eşiğinin aşılması kaynaklı olduğunu bildirmiştir. Bakterilerin üreyerek yeni hücreler oluşturması için ardışık süreçlerin birbirini takip etmesi gerekir. Bir üreme döngüsünde bakteri hücresi DNA'sının çoğaltılması, yeni kromozomların ayrılması, yeni hücre duvarının sentezlenmesi ve sonunda yeni hücreyi oluşturarak bölünmesi gerekir. Bu süreçlerin kontrollü ve düzenli bir şekilde yerine getirilmesi gerekmektedir. Çeşitli proteinler ve protein kompleksleri bir hücrenin bölünerek çoğalmasını sağlamak için işlevlerini koordineli bir biçimde yerine getirir (117). Sıcaklık bakteriyel üreme ile doğrudan ilişkili çevresel etkenlerden biridir. Optimum üreme sıcaklığından daha düşük sıcaklıklarda enzimlerin çalışma hızı yavaşlar, lipid yapıları sertleşme eğilimi gösterir ve membran akışkanlığı azalır. Üreme için gerekli optimum sıcaklığa ulaşılan kadar üreme hızı artar ancak optimum sıcaklık eşiğinin aşılması ile enzimlerin yapılarındaki bozulma sebebiyle üreme hızı tekrar düşmektedir (58). 42 °C ve 45 °C her ne kadar bu çalışmada yer alan bakterilerin üreme gösterebildiği sıcaklıklar olsa da optimal üreme sıcaklıklarının üzerinde sıcaklıklardır. Optimal üreme sıcaklığı eşiğinden yüksek sıcaklıkta enzimlerin yapısındaki bozulma bakteri hücresinin bölünme sürecini yavaşlatmaktadır. Bu durum hipertermi uygulaması ile bakteriyel enfeksiyonların olduğu bölgelerde bakterilerin üremesini yavaşlatmasına ve bakteri popülasyonu artışının kontrol altına alınmasında yardımcı olabileceğini göstermektedir.

Tek başına hiperterminin bakterilerin üremeleri üzerine etkisi incelendiğinde *S. epidermidis* için 2, 4, 6 ve 24. saatlerde sıcaklıklar arasında anlamlı bir farklılık gözlemlendi; kolistin dirençli *A. baumannii* için anlamlı farklılık 6 ve 24. saatlerde görüldü. Yüksek sıcaklıklar, bakterilerin dış hücre katmanlarında değişikliklere neden olabilir. Gram negatif bakterilerde, hücreler hafif bir termal şoka maruz kaldığında dış membranda hasar meydana gelir. Bu hasarın sonucunda morfolojik, yapısal

değişiklikler ve lipopolisakkarit kaybı ortaya çıkmaktadır (118). *S. aureus* gibi bakterilerin hücre duvarı, daha fazla miktarda ve yaygın çapraz bağlı peptidoglikan içerdiğinde çok daha sert yapıya sahiptir (118). Ancak ısıya maruz kalan *S. aureus* hücrelerinde morfolojik değişimler, hücre içi maddelerde çökelme ve sızıntı gibi etkiler olduğu bildirilmiştir (119). *S. epidermidis*, *S. aureus*'a benzer bir hücre yapısına sahiptir ve *A. baumannii*'ye kıyasla daha sert bir hücre yapısına sahip ve 46 °C'ye kadar üreme yeteneği olsa da sıcaklığa daha duyarlı olabilir. Bu sebeple *S. epidermidis* için hiperterminin üreme hızı üzerine etkisi kolistin dirençli *A. baumannii*'ye kıyasla daha hızlı ortaya çıkmış olmasına neden olabilir.

Quercetin potansiyel antibakteriyel etki mekanizmaları; hücre duvar hasarı, hücre permeabilitesinde değişiklik, protein sentezi ve ekspresyonunu etkilemek, enzim aktivitesini azaltmak ve nükleik asit sentesini inhibe etme ile ortaya çıkmaktadır (69). Wang ve ark. (81) çalışmalarında quercetin *in vitro* bakteriyostatik etkisini doğrulamak için *E. coli*, *Salmonella enterica* serovar Typhimurium, *S. aureus* ve *P. aeruginosa* olmak üzere dört farklı bakteriyi sırasıyla $2,2 \times 10^9$, $1,4 \times 10^9$, $2,3 \times 10^9$, ve $2,1 \times 10^9$ kob/ml yoğunluğunda bakteri süspansiyonları üzerinde test etmiş ve başlangıç yoğunluğunun quercetin bakteriyostatik etkisi üzerine etkisi olmadığını bildirmiştir. Ancak *E. coli*, *Salmonella enterica* serovar Typhimurium, *S. aureus* ve *P. aeruginosa* için quercetin MİK sonuçlarının sırasıyla 0,0082, 0,0072, 0,0068 ve 0,0085 µmol/ml olarak tespit etmiş ve artan quercetin konsantrasyonlarında zon çapında anlamlı düzeyde arttığını belirtmiştir. Aynı çalışmada bu sonuçların quercetin gram pozitif bakterilerde bakteriyostatik etkisinin gram negatif bakterilere kıyasla daha güçlü olduğu ve gram pozitif bakterilerin quercetine karşı daha duyarlı olduğu tespit edilmiştir. Zhao ve ark. (120) şeker kamışı bagası (470 mg quercetin/g polifenol içeren) özütünün *S. aureus*, *Listeria monocytogenes*, *E. coli* ve *Salmonella enterica* serovar Typhimurium'un üremesine karşı bakteriyostatik etkisinin olduğunu göstermiştir. Çalışmalarında inhibisyon zonlarının gram pozitif bakterilerde, gram negatif bakterilere kıyasla anlamlı düzeyde daha geniş olduğunu ve *S. aureus*'un inhibisyonun anlamlı düzeyde daha fazla olduğunu tespit etmişlerdir. İki çalışmada da gram pozitif ve gram negatif bakteriler arasındaki bu farkın hücre duvarları arasındaki yapısal farklılıktan kaynaklanıyor olabileceği öne sürülmüştür (81,120). Gram negatif bakterilerin daha yüksek direnç göstermesi, hidrofobik bileşiklerin difüzyonunu

kısıtlayan lipopolisakkarit dış membranından kaynaklanıyor olabileceği bildirilmiştir (120).

Quercetin bakteriyel hücre yapısı üzerine etkileri çeşitli çalışmalarda araştırılmış ve hücrelerin morfolojik yapısı üzerindeki etkileri ortaya koyulmuştur. *E. coli* ve *S. aureus* üzerinde sırasıyla quercetin 50× MİK ve 10× MİK düzeylerinin test edildiği bir çalışmada *E. coli*'de hücre duvarında hasar ve sitoplazmik zarın hücre duvarından ayrılması, hücre duvarı lizisi, sitoplazmik içeriğin sızması ve polarizasyonu gibi anormallikler görülmüştür. *S. aureus*'ta ise hücre duvarında hasar oluşumu ve sitoplazmik zarda incelmeye meydana geldiği bildirilmiştir (81). Aynı bakterilerin yer aldığı başka bir çalışmada da sitoplazmik zarın hücre duvarından ayrılması, sitoplazmik içeriğin sızması ve hücrelerin morfolojik yapılarında bozulmaların olduğu bildirilmiştir (120). Ek olarak *S. aureus* hücrelerinde normal hücrelerde homojen bir hücre için görünüm mevcut iken test edilen hücrelerde plazmoliz, boşluk ve hücre içi koyu renkli kütle kümeleri gibi hücre içi anormallikler olduğu bildirilmiştir (120). Pal ve Tripathi (109) çalışmalarında quercetin *P. aeruginosa* hücre yapısında genişlemiş-oval yani sferoblast benzeri hücre oluşumunu, *A. baumannii*'de ise hücrelerin oldukça uzadığını gözlemlemişlerdir. Aynı çalışmada hücre yüzeylerinde belirgin bir çökme olduğu ve hücre duvar yapısında bozulmalar olduğu da gösterilmiştir (109). Farklı bir çalışmada ise *K. pneumoniae* ve *E. coli* üzerinde quercetin hücre duvar bütünlüğünü bozarak antibakteriyel etki gösterdiği tespit edilmiştir (121).

Quercetin hücre duvarı ve hücre membranı permabilitesi üzerine etki göstermektedir. Wang ve ark. (81) çalışmalarında *E. coli* ve *S. aureus*'un hücre dışı alkalen fosfataz aktivitesinin artan quercetin konsantrasyonları ile korele olarak önemli ölçüde arttığını ve hücre duvarı permeabilitesinin antibiyotiklerin etkisine kıyasla 50× MİK quercetin konsantrasyonunda daha yüksek olduğunu bildirmiştir. Aynı çalışmada *E. coli* ve *S. aureus*'ta β -galaktozidaz aktivitesi ve çözünür protein konsantrasyonları, artan quercetin konsantrasyonlarıyla önemli ölçüde arttığı bildirilmiş ve quercetin *E. coli*'nin ATP aktivitesi üzerinde önemli bir etkiye sahip olmadığı fakat *S. aureus*'un ATP aktivitesinin, artan quercetin konsantrasyonlarıyla önemli ölçüde değiştiği bildirilmiştir (81). Yine aynı çalışmada β -galaktozidaz aktivitesi, çözünür protein

konsantrasyonları ve ATP aktivitesindeki değişikliklerin, hücre zarının geçirgenliğinin quercetin tarafından etkilendiğini ortaya koyduğu bildirilmiştir (81).

Hipertermi uygulaması bakteriler üzerinde çeşitli etkiler göstermektedir. Protein denatürasyonu bakteri hücreleri üzerinde hipertermi etkisiyle ortaya çıkabilmektedir. Yapısal ve işlevsel proteinler, termal inaktivasyonunun hedeflerindendir. Proteinlerin denatürasyonu hücreler termal strese maruz kaldığında meydana gelir (118). Proteinlerin denatürasyonun termodinamik parametreleri ile çeşitli organizmalarda gözlemlenen ölüm oranları arasında sayısal bir korelasyon tespit edilmiş ve bunun da mezofilik bakterilerde hücre ölümünün olası bir nedeni olabileceği bildirilmiştir (122). Ek olarak hipertermi protein sentezini de etkilemektedir. Eshraghi ve ark. (123) 10 dakika süreyle 48 °C'ye maruz bırakıldığında *E. coli*'de protein sentezini azalttığını tespit etmişlerdir.

Hipertermi etkisiyle bakterilerin hücresel yapılarında ve morfolojisinde çeşitli değişimler meydana gelmektedir. Hücreler hipertermiye maruz kaldığında, zarlarının lipit tabakası daha akışkan ve geçirgen hale gelir, böylece iyonlar, besinler ve diğer moleküller hücreden sızarak hücresel homeostazı etkiler. Ayrıca, zardaki proteinlerin denatürasyonu, zarın bütünlüğünü ve işlevini daha da etkiler. Tüm bu olaylar, zarın yırtıldığı ve tüm içeriğın serbest kaldığı, hücre ölümüne yol açan hücre lizisine yol açar (10). Tsuchido ve ark. (124) yaptıkları çalışmalarında sıcaklık etkisine maruz bırakılan bakteri hücrelerinde dış membran yapısının düzensizleşmesine ve bunun sonucunda membran geçirgenliğinde bozulmalara neden olduğunu bildirmiştir. Hücre geçirgenliğinin artması hücre içerisine madde giriş ve çıkışını arttırabilir. Hipertermi sonucu geçirgenliğin artması ve protein sentezinin azalması, sonucunda tedavide kullanılan antibiyotiklerin hücre içine difüzyonunu arttırabilir ve sinerjik etki gösterebilir (62). Farklı çalışmalarda hipertermi etkisiyle bakterilerin antibiyotik duyarlılık düzeylerinde olumlu yönde değişimler olduğu bildirilmiştir (62,63). Bakteri hücrelerinin şekilsel yapısında, hücre iskeleti ve PBP'ler tarafından üretilen peptidoglikan yapısından oluşan hücre duvarı ana belirleyicilerdir (125). Horii ve ark. (126) farklı gram negatif klinik izolat örnekleri üzerinde yaptıkları çalışmalarında karbapenem grubu antibiyotiklerin *in vitro* olarak basil formundaki bakterilerin küresel ve üreyemeyen hücreler oluşturduğunu saptamışlardır. Bu durumun ise PBP-2 inhibisyonu ile ortaya çıktığını bildirmiştir. Hipertermi etkisinin incelendiği bazı

çalışmalarda da benzer sonuçlar görülmüştür. *Proteus mirabilis* ve *P. aeruginosa* zerinde 45  C’lik hipertermi etkisinin ölçüldüğü bir çalışmada *P. mirabilis*’in hipertermiye maruz kalan hücrelerinin basil formundan kok-kokobasil formlarına dönüştüğü ve yayılma yeteneğinin anlamlı düzeyde inhibe olduğu, *P. aeruginosa*’nın ise 37  C’deki hücrelere kıyasla hipertermiye maruz kalan hücrelerin daha ince ve kısa olduğu görülmüştür. Ortaya çıkan bu değişimin hipertermi etkisinin karbapenem grubu antibiyotiklere benzer şekilde PBP-2’yi inhibe etmesi kaynaklı olabileceği bildirilmiştir (59). Rice ve Bayles (127) tarafından vakuolizasyonun tek hücreli canlılar için otoliz ile gerçekleşen hücre ölümünün bir işareti olduğu belirtilmiştir. Yapılan farklı bir çalışmada *P. mirabilis*’in 42 C’lik hipertermi etkisinde hücrelerin kok-kokobasil yapısına dönüştüğü ve hücresel yapısı değişen bakteri hücrelerinde vakuolizasyon oluşumları bildirilmiştir (63). Aynı çalışmada hipertermi etkisiyle bazı apoptotik mekanizmaların devreye girebileceği ve bunun da antibiyotikler ile kullanımının bakterilerin ölümünü kolaylaştırabileceği belirtilmiştir (63). Başka bir çalışmada ise hipertermi sonucu hücre duvarında oluşan hasarın, bakterinin yapısal görünümünde değişikliğe ve hücre iskeletinin bozulmasına neden olabileceği bildirilmiştir ve bu durumun, hücre duvarı sentezini inhibe eden  -laktam antibiyotiklerin etkisini artırabileceği veya hücrede meydana gelen fiziksel değişiklikler hücrenin doğrudan ölmesine yol açabileceği ileri sürülmüştür (62).

Çalışmamızda quercetin’in farklı sıcaklıklarda bakterilerin üreme inhibisyon düzeyleri araştırıldı. Kolistin dirençli *A. baumannii* için farklı sıcaklıklarda 512, 256 ve 128  g/ml quercetin konsantrasyonlarında anlamlı farklar görüldü. 37  C’de herhangi bir inhibisyon görülmedi. Ancak 512  g/ml quercetin konsantrasyonunda 42  C ve 45  C’de sırasıyla %26,16 ve %60,91 düzeylerinde üreme inhibisyonu saptandı. 256  g/ml quercetin konsantrasyonunda üreme inhibisyon düzeyleri 42  C ve 45  C’de sırasıyla %32,63 ve %7,66; 128  g/ml quercetin konsantrasyonunda 45  C’de %11,51 düzeyindeydi. 512 ve 256  g/ml quercetin konsantrasyonlarında 42  C ve 45  C’deki üreme inhibisyon düzeyinin 37  C’ye kıyasla; 128  g/ml konsantrasyonun 45  C’deki üreme inhibisyon düzeyinin 37  C ve 42  C’ye kıyasla daha fazla olduğu gözlemlendi. Benzer sonuçlar *S. epidermidis* için de görüldü. 37  C’de 512  g/ml quercetin konsantrasyonunda üreme inhibisyon düzeyi %27,01 iken hipertermi etkisiyle bu oran 42  C ve 45  C’de sırasıyla %96,95 ve %79,16 düzeylerine çıktı. 256  g/ml quercetin

konsantrasyonunda 37 °C’de %13,78 düzeyinde inhibisyon görülürken, 42 °C ve 45 °C için sırasıyla %29,93 ve %33,74 düzeylerine ulaşmıştır. 128 µg/ml quercetin konsantrasyonunda için ise sadece 45 °C’de %7,67 düzeyinde inhibisyon saptandı. 512 ve 256 µg/ml quercetin konsantrasyonlarında 42 °C ve 45 °C’deki üreme inhibisyon düzeyinin 37 °C’ye kıyasla; 128 µg/ml quercetin konsantrasyonunda 45 °C’deki üreme inhibisyon düzeyinin 37 °C ve 42 °C’ye kıyasla daha fazla olduğu *S. epidermidis* için gözlemlendi. Üreme inhibisyon sonuçları ile ilgili olarak elde edilen bulgular daha önce yapılan çalışmalar ile uyumlu sonuçlar göstermektedir. Benzer şekilde ortaya çıkan anlamlı farklar da daha önce bahsedilen çalışma bulguları ile açıklanabilir. Quercetin etki mekanizması olarak hücre duvarı ve hücre membranı permeabilitesini etkileyebilmektedir. Hücre membranı üzerinde benzer etki hipertermi etkisi ile de görülmektedir. Bakteri hücrelerinde 42 °C ve 45 °C’de, 37 °C’ye kıyasla anlamlı düzeyde fark görülmesinin sebebi hipertermi etkisiyle artan permeabilite sonucunda quercetin hücre içerisine daha yoğun olarak difüze olması ve bunun sonucunda etkinliğinin artması ve hücre permeabilitesini etkileyen iki faktörün sinerjik etki göstermesiyle ortaya çıkmış olabileceğini göstermektedir.

Kolistin dirençli *A. baumannii*’ye ait TEM görüntüleri incelendiğinde 37 °C’de quercetin etkisine maruz bırakılmayan örnekte hücresel morfolojinin düzgün olduğu, hücre duvarı ve hücre membranının belirgin olduğu, hücrelerin yoğun sitoplazma içerdiği gözlemlendi. 37 °C’de quercetin etkisine maruz bırakılan hücrelerde ise hücre duvarında yırtılmalar, hücre içeriğinin dışa sızması, sitoplazmik yoğunluğun azalması, yeni oluşan hücrede hücre duvar defekti ve kok yapısına dönüşüm gibi etkiler görüldü. Hipertermi ve quercetin etkisine 42 °C’de maruz bırakılan hücrelerde sitoplazmik yoğunlukta azalma, hücre duvarında yırtılma, sitoplazmik içeriğin dışa sızması, hücre duvarında defektler, vakuol oluşumları ve kok yapısına dönüşüm gözlemlendi. 45 °C’de quercetine maruz bırakılan hücrelerde sitoplazmik yoğunlukta azalma, hücre duvarında defekt, sitoplazmik içeriğin hücre dışına sızması, vakuol oluşumları, hücre duvarının içe kıvrılması ile morfolojik değişimler ve kok yapısına dönüşüm görüldü. Yine daha önce bahsedilen çalışmaların sonuçlarına göre quercetin ve hipertermi bakterilerin hücresel yapılarını etkilemektedir. Tek başına quercetin kolistin dirençli *A. baumannii*’de 37 °C’de yeni oluşan hücrede hücre duvar defekleri oluşturdu. Yeni hücre oluşumu için çeşitli proteinler ve protein komplekslerinin işlevlerini koordineli

olarak yaptığı daha önce belirtilmiştir. Burada quercetinin muhtemelen protein sentez inhibisyon mekanizmasının devreye girmesiyle yeni oluşan hücrede hücre duvar sentezini etkileyen proteinleri inhibe etmiş olması olasıdır. Hipertermi etkisinin devreye girmesiyle kolistin dirençli *A. baumannii*'de gözlemlenen vakuol oluşumları daha önce de belirtildiği üzere hücrenin apoptotik mekanizmalarının devreye girmesi kaynaklı ortaya çıkmış olabileceğini göstermektedir. 45 °C'de quercetine maruz bırakılan hücrelerde görülen hücre duvarının içe kıvrılması ve bunun sonucunda ortaya çıkan morfolojik değişim ise hücre içeriğinin dışa sızması sonucu gerçekleşen plazmoliz sonucunda homeostazın bozulması nedeniyle hücre yüzeyinde defektler oluşmasına bağlı olabilir. *S. epidermidis* için yapılan TEM görüntülemelerinde 37 °C'deki kontrol örneğinde hücre duvarı ve hücre zarı belirgin, sitoplazmik içeriği yoğun, morfolojik yapısı düzgün ve normal bölünen hücreler gözlemlendi. 37 °C'de quercetin etkisine maruz bırakılan hücrelerde hücre duvarı oluşumunda inhibisyon, hücre duvarında minimal yırtılmalar ve hücre duvarında incelme, sitoplazmik yoğunlukta azalma gibi etkiler görüldü. 42 °C'de quercetin içeren örnekte ise hücre duvarının ortadan kalktığı, sitoplazmik yoğunluğun azaldığı ve hücrenin lizis sürecinde olduğu gözlemlendi. 45 °C'de quercetin içeren örnekte ise farklı kesitlerde birçok alan taranmış ancak hücresel oluşuma rastlanmadı. 37 °C'de quercetin etkisine maruz bırakılan hücrelerde ortaya çıkan hücre duvar oluşumunun inhibisyonu daha önce belirtildiği üzere protein sentez mekanizmasının inhibisyonu sebebiyle ortaya çıkmış olabilir. 42 °C'de quercetin içeren örnekte görülen etki quercetinin hücre duvarında oluşturduğu lizis ile hiperterminin etkisinin bir araya gelmesi sonucu ortaya çıkan sinerji sonucunda hücre lizis süreci başlamış olması muhtemeldir. 45 °C'de quercetin içeren örnekte hücre görülmemesi sebebi ise üreme inhibisyon düzeyinin artması sonucu bakteri yoğunluğunun azalması sonucunda ortaya çıkmış olabilir. Her iki bakteri türü için de görülen hücre duvarındaki yırtılmalar ve bunun sonucunda sitoplazmik içeriğin hücre dışına sızması hem quercetin hem de hiperterminin hücre membranı ve hücre duvarı üzerine etkilerinden kaynaklanıyor olabilir.

Her iki bakterinin 37 °C, 42 °C ve 45 °C'de değişen quercetin konsantrasyonlarında üreme inhibisyon düzeyleri kıyaslandığında 37 °C ve 42 °C'de 512 µg/ml quercetin konsantrasyonunda, 45 °C'de ise quercetin 256 µg/ml konsantrasyonunda bakteriler arasında anlamlı fark görüldü ve *S. epidermidis*'in

kolistin dirençli *A. baumannii*'ye kıyasla üreme inhibisyonu daha fazlaydı. Benzer sonuçların elde edildiği ve gram pozitiflerin quercetine daha duyarlı olduğunu belirten daha önceki çalışmalarda gram negatif bakterilerin hücresel yapı elemanı olan dış membranın hidrofobik bileşenlerin difüzyonunu kısıtlamasına bağlı olabileceği belirtilmiştir.

Quercetin ve hiperterminin bakterilerin oluşturduğu biyofilm yapısına karşı etkinliği çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir. *S. epidermidis* ATCC 35984 ile yapılan bir çalışmada biyofilm oluşumunun dihidroksi gruplarının ikame edilmediği indirgeyici polisakkaritlerden oluşan EPS'ye bağlı olduğu bulunmuştur (128). Mu ve ark. (129) quercetinin *S. epidermidis* tarafından gerçekleştirilen EPS üretimini araştırıldığı çalışmalarında quercetin varlığında *S. epidermidis*'in EPS üretiminin azaldığını tespit etmişlerdir. Aynı çalışmada elde edilen sonuçlarda quercetinin biyofilm oluşumunu doza bağlı bir şekilde önemli ölçüde inhibe ettiği gösterilmiştir. Yine aynı çalışmada elde edilen bir diğer önemli bulgu ise hücreler arası adezyonun azalması sonucu biyofilm oluşumunun azalmasının nedeni olarak biyofilm oluşumunda hücre adezyonu ile ilişkili olan *ica* lokusunun quercetin etkisiyle regülasyonun azalması olduğu bildirilmiştir. Quercetine maruz bırakılan biyofilmlerde daha ince ve kolay yok edilebilir bir yapıya sahip olduğu görülmüştür (129). Farklı bir çalışmada qRT-PCR yöntemi ile *S. aureus*'un biyofilm oluşumu ile ilişkili genleri araştırılmıştır. Çalışmada elde edilen sonuçlar hücreler arası adezyon ile ilişkili *icaA* ve *icaD* genlerinin, çeşitli proteaz genlerinin ve bir QS geni olan *agrA*'nın ekspresyonunun önemli ölçüde baskılandığını bildirmiştir (130). Quercetinin *A. baumannii* tarafından oluşturulan biyofilm üzerine etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada quercetinin EPS üretimini %47,4 düzeyinde azalttığı bildirilmiştir (131). Pourhajibagher ve ark. (131) quercetine maruz bırakılan *A. baumannii* biyofilminde %36,2 düzeyinde azalma olduğunu saptamışlardır. *P. aeruginosa* ile yapılan farklı bir çalışmada ise quercetinin *P. aeruginosa* biyofilmini %43,12-%78,72 oranında inhibe ettiği gösterilmiştir (112). Ouyang ve ark. (132) *P. aeruginosa* üzerinde quercetinin 8, 16, 32 ve 64 µg/ml konsantrasyonlarında sırasıyla %36, %51, %28 ve %20 düzeyinde biyofilm üretimini azalttığını saptamışlardır. Ek olarak *lasI*, *lasR*, *rhlI* ve *rhlR* gibi QS genlerinin ekspresyonunu önemli ölçüde azalttığını ve biyofilm oluşumundaki azalmanın QS üzerindeki etkilerden kaynaklanıyor olabileceğini bildirmişlerdir (132).

Pavlovsky ve ark. (133) alışmalarında bir saat süreyle 60  C'ye maruz bırakılan *S. epidermidis* biyofilminin bütünlüğünün sıcaklık etkisiyle önemli ölçüde azaldığını tespit etmişlerdir. Alumutairi ve ark. (64) *S. aureus* biyofilminin eradikasyonuna karşı hipertermi etkisinin düşük olduğunu ancak antibiyotikler ile kombine kullanımda *S. aureus* biyofilmine karşı bakterisidal bir etki gösterdiğini saptamışlardır. Ortaya çıkan bu etkiyi ise hipertermi etkisi sonucu antibiyotiklerin hücre içerisine daha fazla difüze olması ile ilişkilendirilmiştir. *S. aureus* ve *P. aeruginosa* içeren polimikrobiyal bir biyofilm yapısına siprofloksasin ile hafif hipertermi uygulamasının kombinasyonun sinerjik etki gösterdiği bildirilmiştir (134). Ayrıca bu etkinin ortaya çıkış sebebinin metabolik aktivite ile ilişkili olduğunu ve bunun da biyofilm fazında bakteriler tarafından daha fazla antibiyotik alımını kolaylaştırdığını göstermişlerdir. Palau ve ark. (60) tarafından *A. baumannii*, *Klebsiella pneumoniae*, *P. aeruginosa* ve MRSA'da *in vivo* ve *in vitro* koşullarda 42  C'lik hiperterminin her biri 15 dakika olmak üzere bir, iki ve üç pulse uygulamasının etkinliği test edilmiştir. *In vitro* olarak biyofilm oluşumunun %100 olarak önlenmesi için tüm bakterilerde 42  C'de 15 dakika boyunca üç pulse uygulanması gerektiği saptanmıştır. *In vivo* modelde ise iki *K. pneumoniae* ve iki *P. aeruginosa* suşunda sırasıyla %85 ve %80 düzeyinde biyofilm oluşumu önlediği bildirilmiştir.

Bu çalışmada ise aynı quercetin konsantrasyonlarının 37  C, 42  C ve 45  C'deki kolistin dirençli *A. baumannii* biyofilm inhibisyon düzeyleri arasında anlamlı bir farklılık görülmedi. Tek başına hipertermi etkisiyle 42  C ve 45  C'de sırasıyla %8,68 ve %13,07 düzeyinde inhibisyon görülse de anlamlı bir fark ortaya çıkmadı. 37  C, 42  C ve 45  C'de değişen quercetin konsantrasyonları ile inhibisyon düzeyleri arasındaki ilişki incelendiğinde tüm sıcaklıklarda anlamlı farklar görüldü ve en yüksek inhibisyon 512  g/ml ve 256  g/ml quercetin konsantrasyonlarında tespit edildi. Aynı quercetin konsantrasyonlarının 37  C, 42  C ve 45  C'deki *S. epidermidis* biyofilm inhibisyon düzeyleri arasında anlamlı bir farklılık görülmedi. Ancak tek başına hipertermi etkisiyle 42  C ve 45  C'de sırasıyla %28,92 ve %44,29 düzeyinde inhibisyon görüldü ve 37  C'ye kıyasla anlamlı bir fark tespit edildi. Bu etkinin oluşumdaki muhtemel sebebin quercetin gibi hipertermi de protein sentezini etkilemesi olabilir. Quercetin'in anti-biyofilm mekanizmaları arasında hücresel adezyonu etkileyen adezinlerin ekspresyonunun azaltıldığı daha önce belirtilmiştir.

Hipertermi etkisinin de *S. epidermidis* üzerine etkisinin kolistin dirençli *A. baumannii*'ye kıyasla daha yüksek düzeyde olduğu göz önüne alındığında bu anlamlı farklılık benzer bir sebepten kaynaklanıyor olabilir. 37 °C, 42 °C ve 45 °C'de değişen quercetin konsantrasyonları ile inhibisyon düzeyleri arasındaki ilişki incelendiğinde tüm sıcaklıklarda anlamlı farklar görüldü ve en yüksek inhibisyon 37 °C'de 512 µg/ml ve 128 µg/ml quercetin konsantrasyonlarında; 42 °C ve 45 °C'de ise 512 µg/ml ve 256 µg/ml quercetin konsantrasyonlarında tespit edildi. Her iki bakterinin 37 °C, 42 °C ve 45 °C'de değişen quercetin konsantrasyonlarındaki biyofilm inhibisyon düzeyleri incelendiğinde anlamlı bir farklılık görülmedi. Üreme inhibisyon düzeylerinin aksine quercetin ve hipertermi uygulamasının her iki bakterinin de biyofilm inhibisyonu üzerine benzer etki gösterdiği tespit edildi.

S. aureus ve *S. epidermidis* ile yapılan bir çalışmada 18 saat boyunca biyofilm oluşumunun sağlanıp ardından vankomisin ile kombine iki saatlik hipertermi uygulanıp tekrar 10 saat 37 °C'de inkübe edilen kültürlerde 45 °C'de 37 °C'ye kıyasla biyofilmdeki hücrelerin zar yapılarının bozulduğu ve *S. epidermidis* biyofilminin hipertermi etkisine karşı duyarlı olduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca 1 µg/ml konsantrasyonundaki vankomisin ve 45 °C'lik kombinasyonun sonrasında hücre canlılığının, 37 °C'de 100 µg/ml konsantrasyonundaki vankomisin uygulamasıyla benzer bir öldürme performansı gösterdiği tespit edilmiştir (61). TEM ile yapılan analizlerde ise iki saat hipertermiye maruz bırakılan hücrelerin hücre duvarlarında kolayca tespit edilebilen morfolojik değişiklikler ortaya koymuştur. Bu etkiler arasında her iki bakteri için de hücre duvarlarının önemli ölçüde kalınlaştığı, düzensizleştiği ve genel hücre yapısında değişimler olduğunu tespit etmişlerdir. TEM analizlerinde 45 °C'ye maruz bırakılan hücrelerde hücre duvarında kalınlaşma olduğu bildirilmiştir. Ek olarak bu artışın sıcaklık farkı kaynaklı olduğu bildirilmiştir (61). Bu çalışmada yapılan *in vitro* tedavi modeli deneyi ile iki saatlik 45 °C hipertermi uygulamasıyla quercetin kombinasyonunun etkinliği değerlendirilmiştir. *S. epidermidis* üzerine etkiler 37 °C ile kıyaslandığında hem üreme hem biyofilm inhibisyonu açısından anlamlı bir fark görülmedi. Kolistin dirençli *A. baumannii* üzerine etkilerinde ise üreme inhibisyonu açısından 37 °C ile bir farklılık görülmedi fakat biyofilm inhibisyonu açısından sadece 64 µg/ml konsantrasyonunda anlamlı fark görüldü.

7. SONUÇ

Yapılan çalışmalar ile birlikte değerlendirdiğimizde bu çalışmada diğer çalışmalara benzer şekilde quercetin'in antimikrobiyal etki gösterdiği görüldü. Mikrobiyoloji için yeni bir araştırma alanı sunan hipertermi çalışmaları ile de uyumlu olarak bu çalışmada artan sıcaklıkların bakteriler üzerinde etkinliği saptandı. Her ikisinin bir arada kullanımında ise antibakteriyel etki; üreme ve morfolojik açıdan önemli etkilere sahipti. Bu durum hiperterminin tümör tedavilerinde kullanıldığı gibi aslında bakteriyel etkenlerin tedavisine adjuvan bir etki sağlayabileceğinin göstergesidir. Çalışmamız quercetin ve hipertermi kombinasyonlarının patojen bakteriler üzerinde etkinliğinin araştırıldığı ilk çalışma olma niteliği taşımaktadır. Ancak çalışmamızın çeşitli kısıtlılıkları vardır. Bunların en başlıca olanı *in vitro* testlerde sürecin uzun olması sebebiyle sıcaklığın uzun süre uygulanmasıdır. Hipertermi tedavisi teknik olarak en fazla iki saatlik bir süre ile uygulanmaktadır. Bakterilerin standart üreme süreci ise yaklaşık 18-20 saatlik bir süre olduğundan iki saatlik etkinin net bir biçimde gözlemlenmesini zorlaştırmaktadır. Ayrıca *S. epidermidis* için metisilin direnci gibi spesifik direnç profili olan izolatların değerlendirilmesi daha etkili olabilir. Çalışmada standart suş değerlendirilmedi yalnızca klinik izolatlar çalışıldı. 512 µg/ml üzerindeki konsantrasyonların çalışmada yer almaması sebebiyle kolistin direçli *A. baumannii* izolatlarının MİK değerleri 37 °C'de >512 µg/ml olarak ifade edildi. Sadece hipertermi etkisine maruz bırakılan örneklerin TEM görüntülerinin olmaması nedeniyle sadece sıcaklık etkisi gözlemlenemedi. Ek olarak hem standart suşlar hem de klinik izolatların MİS değerlerinin belirlenmesi ile çalışmalar daha standart hale getirilebilir. Çalışma yalnızca iki patojen bakteri düzeyinde gerçekleştirildi. Bu sebeple özellikle hayvan modelleri üzerinde hipertermi ve antibiyotik, hipertermi ve flavonoidler gibi çeşitli kombinasyonların *in vivo* olarak test edilmesinin tedavide kullanılabilirlik açısından önem arz etmektedir. Ayrıca bu *in vivo* testler öncesinde bakterilerin hipertermi uygulamasıyla oluşan inhibisyon düzeyleri, antibiyotik duyarlılık profilleri, morfolojik yapıya etkileri ve biyofilm yapısına etkileri üzerine daha fazla *in vitro* çalışma yapılarak *in vivo* çalışmalar için daha geniş bir veritabanı oluşturulması için daha fazla çalışmaya ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

1. Ahmed SK, Hussein S, Qurbani K, Ibrahim RH, Fareeq A, Mahmood KA, et al. Antimicrobial resistance: Impacts, challenges, and future prospects. *J Med Surgery, Public Heal.* 2024;2:100081.
2. Khan RT, Sharma V, Khan SS, Rasool S. Prevention and potential remedies for antibiotic resistance: current research and future prospects. *Front Microbiol.* 2024;15:1455759.
3. Liu Y, Zhu J, Liu Z, Zhi Y, Mei C, Wang H. Flavonoids as Promising Natural Compounds for Combating Bacterial Infections. *Int J Mol Sci.* 2025;26(6):2455.
4. Singha B, Singh V, Soni V. Alternative therapeutics to control antimicrobial resistance: a general perspective. *Front Drug Discov.* 2024;4:1385460.
5. Chopra R, Levi-Polyachenko N, Smeltzer MS. Introduction to the special issue on thermal therapy and infectious diseases. *Int J Hyperth.* 2018;34(2):133–4.
6. Sandu AM, Chifiriuc MC, Vrancianu CO, Cristian RE, Alistar CF, Constantin M, et al. Healthcare-Associated Infections: The Role of Microbial and Environmental Factors in Infection Control—A Narrative Review. *Infect Dis Ther.* 2025;14(5):933–71.
7. Novović K, Jovčić B. Colistin Resistance in *Acinetobacter baumannii*: Molecular Mechanisms and Epidemiology. *Antibiotics.* 2023;12(3):516.
8. Vuong C, Otto M. *Staphylococcus epidermidis* infections. *Microbes Infect.* 2002;4(4):481–9.
9. Nguyen TLA, Bhattacharya D. Antimicrobial Activity of Quercetin: An Approach to Its Mechanistic Principle. *Molecules.* 2022;27(8):2494.
10. Naji NA, Alkhafaji SHA, Alsaadi MML, Raafat ASR. Hyperthermia for infectious diseases: Mechanisms and clinical potential. *J Rare Cardiovasc Dis.* 2024;5(1):25–30.
11. Topal M, Uslu Şenel G, Topal Arslan EI, Öbek E. Antibiyotikler ve kullanım alanları. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilim Enstitüsü Derg.* 2015;31(3):121–7.
12. Zapanalıoğlu Gazel Ö. Antimikrobiyal İlaçlar, Aşı ve Serumlar. Ed: Gazel D, Özbek E, Kol Aydoğdu S. *Sağlık Bilimlerinde Klinik Mikrobiyoloji.* 1. Baskı. Akademisyen Yayınevi, Ankara; 2020, s: 265–77.

13. Saikia S, Chetia P. Antibiotics: From Mechanism of Action to Resistance and Beyond. *Indian J Microbiol.* 2024;64(3):821–45.
14. Chhabra S, Taksande AB, Munjewar P. The Penicillin Pioneer: Alexander Fleming's Journey to a Medical Breakthrough. *Cureus.* 2024;16(7):e65179.
15. Hutchings M, Truman A, Wilkinson B. Antibiotics: past, present and future. *Curr Opin Microbiol.* 2019;51:72–80.
16. Ishak A, Mazonakis N, Spervasilis N, Akinosoglou K, Tsioutis C. Bactericidal versus bacteriostatic antibacterials: clinical significance, differences and synergistic potential in clinical practice. *J Antimicrob Chemother.* 2025;80(1):1–17.
17. Yunusoğlu O, Berköz M, Yardım Y. Çoklu antibiyotik direnci gösteren bakterilere karşı geliştirilen yeni antibiyotikler; dalbavansin, telavansin ve oritavansin. *Van Sağlık Bilim Derg.* 2020;13(2):45–54.
18. Klein EY, Impalli I, Poleon S, Denoel P, Cipriano M, Van Boeckel TP, et al. Global trends in antibiotic consumption during 2016-2023 and future projections through 2030. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2024;121(49):e2411919121.
19. Kayış U. Antimikrobiyal Direnç Mekanizmaları. *Aydın Sağlık Derg.* 2019;5(1):1–12.
20. Zhang F, Cheng W. The Mechanism of Bacterial Resistance and Potential Bacteriostatic Strategies. *Antibiotics.* 2022;11(9):1215.
21. Høiby N. A short history of microbial biofilms and biofilm infections. *APMIS.* 2017;125(4):272–5.
22. Altınok Ö, Gürpınar Ö, Eser Ö. Bakteriyel Biyofilmler. *Tıp Fakültesi Klin Derg.* 2018;1(2):45–51.
23. Zhao A, Sun J, Liu Y. Understanding bacterial biofilms: From definition to treatment strategies. *Front Cell Infect Microbiol.* 2023;13:1137947.
24. Sharma S, Mohler J, Mahajan SD, Schwartz SA, Bruggemann L, Aalinker R. Microbial Biofilm: A Review on Formation, Infection, Antibiotic Resistance, Control Measures, and Innovative Treatment. *Microorganisms.* 2023;11(6):1614.
25. Temel A, Erac B. Bakteriyel Biyofilmler: Saptama Yöntemleri ve Antibiyotik

- Direncindeki Rolü. *Türk Mikrobiyol Cem Derg.* 2018;48(1):1–13.
26. Liu HY, Prentice EL, Webber MA. Mechanisms of antimicrobial resistance in biofilms. *NPJ Antimicrob Resist.* 2024;2(1):27.
 27. Rutherford ST, Bassler BL. Bacterial Quorum Sensing: Its Role in Virulence and Possibilities for Its Control. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2012;2(11):a012427.
 28. Otto M, Dickey SW, Wolz C. Editorial: Quorum-sensing in Gram-positive pathogens – mechanisms, role in infection, and potential as a therapeutic target. *Front Cell Infect Microbiol.* 2023;13:1236705.
 29. Miller MB, Bassler BL. Quorum sensing in bacteria. *Annu Rev Microbiol.* 2001;55:165–99.
 30. Motley MP, Banerjee K, Fries BC. Monoclonal Antibody-Based Therapies for Bacterial Infections. *Curr Opin Infect Dis.* 2019;32(3):210–6.
 31. Rios AC, Moutinho CG, Pinto FC, Del Fiol FS, Jozala A, Chaud M V., et al. Alternatives to overcoming bacterial resistances: State-of-the-art. *Microbiol Res.* 2016;191:51–80.
 32. Aflakian F, Mirzavi F, Aiyelabegan HT, Soleimani A, Gholizadeh Navashenaq J, Karimi-Sani I, et al. Nanoparticles-based therapeutics for the management of bacterial infections: A special emphasis on FDA approved products and clinical trials. *Eur J Pharm Sci.* 2023;188:106515.
 33. Gazel D, Yılmaz M. Are infectious diseases and microbiology new fields for thermal therapy research? *Int J Hyperth.* 2018;34(7):918–24.
 34. Farhadi F, Khameneh B, Iranshahi M, Iranshahy M. Antibacterial activity of flavonoids and their structure–activity relationship: An update review. *Phyther Res.* 2019;33(1):13–40.
 35. Górniak I, Bartoszewski R, Króliczewski J. Comprehensive review of antimicrobial activities of plant flavonoids. *Phytochem Rev.* 2019;18:241–72.
 36. Neal-McKinney JM, Lu X, Duong T, Larson CL, Call DR, Shah DH, et al. Production of Organic Acids by Probiotic Lactobacilli Can Be Used to Reduce Pathogen Load in Poultry. *PLoS One.* 2012;7(9):e43928.
 37. Sikorska H, Smoragiewicz W. Role of probiotics in the prevention and treatment of meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections. *Int J*

- Antimicrob Agents. 2013;42(6):475–81.
38. Markowiak P, Ślizewska K. Effects of probiotics, prebiotics, and synbiotics on human health. *Nutrients*. 2017;9(9):1021.
 39. Lahtinen SJ, Jalonon L, Ouwehand AC, Salminen SJ. Specific Bifidobacterium strains isolated from elderly subjects inhibit growth of *Staphylococcus aureus*. *Int J Food Microbiol*. 2007;117(1):125–8.
 40. Lee DH, Kim BS, Kang SS. Bacteriocin of *Pediococcus acidilactici* HW01 Inhibits Biofilm Formation and Virulence Factor Production by *Pseudomonas aeruginosa*. *Probiotics Antimicrob Proteins*. 2020;12(1):73–81.
 41. Olawade DB, Fapohunda O, Egbon E, Ebiesuwa OA, Usman SO, Faronbi AO, et al. Phage therapy: A targeted approach to overcoming antibiotic resistance. *Microb Pathog*. 2024;197:107088.
 42. Vacca F, Sala C, Rappuoli R. Monoclonal Antibodies for Bacterial Pathogens: Mechanisms of Action and Engineering Approaches for Enhanced Effector Functions. *Biomedicines*. 2022;10(9):2126.
 43. Mubeen B, Ansar AN, Rasool R, Ullah I, Imam SS, Alshehri S, et al. Nanotechnology as a Novel Approach in Combating Microbes Providing an Alternative to Antibiotics. *Antibiotics*. 2021;10(12):1473.
 44. Ma X, Wang Q, Ren K, Xu T, Zhang Z, Xu M, et al. A Review of Antimicrobial Peptides: Structure, Mechanism of Action, and Molecular Optimization Strategies. *Fermentation*. 2024;10(11):540.
 45. Chou HT, Kuo TY, Chiang JC, Pei MJ, Yang WT, Yu HC, et al. Design and synthesis of cationic antimicrobial peptides with improved activity and selectivity against *Vibrio* spp. *Int J Antimicrob Agents*. 2008;32(2):130–8.
 46. Talapko J, Meštrović T, Juzbašić M, Tomas M, Erić S, Horvat Aleksijević L, et al. Antimicrobial Peptides—Mechanisms of Action, Antimicrobial Effects and Clinical Applications. *Antibiotics*. 2022;11(10):1417.
 47. Hurwitz M, Stauffer P. Hyperthermia, radiation and chemotherapy: The role of heat in multidisciplinary cancer care. *Semin Oncol*. 2014;41(6):714–29.
 48. Giombini A, Giovannini V, Di Cesare A, Pacetti P, Ichinoseki-Sekine N, Shiraishi M, et al. Hyperthermia induced by microwave diathermy in the management of muscle and tendon injuries. *Br Med Bull*. 2007;83:379–96.

49. Hegyi G, Szigeti GP, Szász A. Hyperthermia versus oncothermia: Cellular effects in complementary cancer therapy. *Evid Based Complement Altern Med*. 2013;2013:672873.
50. Tabuchi Y, Wada S, Furusawa Y, Ohtsuka K, Kondo T. Gene networks related to the cell death elicited by hyperthermia in human oral squamous cell carcinoma HSC-3 cells. *Int J Mol Med*. 2012;29(3):380–6.
51. Sharif-Khatibi L, Kariminia A, Khoei S, Goliaei B. Hyperthermia induces differentiation without apoptosis in permissive temperatures in human erythroleukaemia cells. *Int J Hyperth*. 2007;23(8):645–55.
52. Viglianti B, Stauffer P, Repasky E, Jones E, Vujaskovic Z, Dewhirst M. Hyperthermia. In: Hong W, Bast RJ, Hait W, Kufe D, Pollock R, Weichselbaum R, et al., eds. *Holland Frei Cancer Medicine*. 8th ed. Shelton, CT: People's Medical Publishing House-USA; 2010. p. 528–40.
53. Issels RD, Lindner LH, Verweij J, Wust P, Reichardt P, Schem BC, et al. Neo-adjuvant chemotherapy alone or with regional hyperthermia for localised high-risk soft-tissue sarcoma: A randomised phase 3 multicentre study. *Lancet Oncol*. 2010;11(6):561–70.
54. Wood BJ, Ramkaransingh JR, Fojo T, Walther MM, Libutti SK. Percutaneous tumor ablation with radiofrequency. *Cancer*. 2002;94(2):443–51.
55. Behrouzkia Z, Joveini Z, Keshavarzi B, Eyvazzadeh N, Aghdam RZ. Hyperthermia: How Can It Be Used? *Oman Med J*. 2016;31(2):97.
56. National Cancer Institute. Hyperthermia to Treat Cancer [Internet]. [cited 2025 Jul 31]. Available from: <https://www.cancer.gov/about-cancer/treatment/types/hyperthermia>
57. American Cancer Society. Hyperthermia to Treat Cancer [Internet]. [cited 2025 Jul 31]. Available from: <https://www.cancer.org/cancer/managing-cancer/treatment-types/hyperthermia.html>
58. Hogg S. *Essential Microbiology*. West Sussex: John Wiley & Sons Ltd. West Sussex. 2005, p: 96–97.
59. Gazel D, Zer Y, Büyüktaş Manay A, Akdoğan H. Inhibition of swarming motility using in vitro hyperthermia. *J Therm Biol*. 2021;100:102955.
60. Palau M, Muñoz E, Larrosa N, Gomis X, Márquez E, Len O, et al.

- Hyperthermia Prevents In Vitro and In Vivo Biofilm Formation on Endotracheal Tubes . *Microbiol Spectr*. 2023;11(1):e0280722.
61. Sturtevant RA, Sharma P, Pavlovsky L, Stewart EJ, Solomon MJ, Younger JG. Thermal augmentation of vancomycin against staphylococcal biofilms. *Shock*. 2015;44(2):121–7.
 62. Gazel D, Akdoğan H, Büyüktaş Manay A, Erinmez M, Zer Y. The potential of therapeutic hyperthermia to eradicate *Staphylococcus aureus* bacteria; an in vitro study. *J Therm Biol*. 2024;120:103812.
 63. Gazel D, Demirbakan H, Erinmez M. In vitro activity of hyperthermia on swarming motility and antimicrobial susceptibility profiles of *Proteus mirabilis* isolates. *Int J Hyperth*. 2021;38(1):1002–12.
 64. Alumutairi L, Yu B, Filka M, Nayfach J, Kim MH. Mild magnetic nanoparticle hyperthermia enhances the susceptibility of *Staphylococcus aureus* biofilm to antibiotics. *Int J Hyperth*. 2020;37(1):66–75.
 65. Almutairi LA, Yu B, Dyne E, Ojaym AA, Kim MH. Mild magnetic hyperthermia is synergistic with an antibiotic treatment against dual species biofilms consisting of *S. aureus* and *P. aeruginosa* by enhancing metabolic activity. *Int J Hyperth*. 2023;40(1):2226845.
 66. Van Rhoon GC, Samaras T, Yarmolenko PS, Dewhirst MW, Neufeld E, Kuster N. CEM43°C thermal dose thresholds: A potential guide for magnetic resonance radiofrequency exposure levels? *Eur Radiol*. 2013;23(8):2215–27.
 67. Ulusoy HG, Sanlier N. A minireview of quercetin: from its metabolism to possible mechanisms of its biological activities. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2020;60(19):3290–303.
 68. Ross JA, Kasum CM. Dietary flavonoids: Bioavailability, metabolic effects, and safety. *Annu Rev Nutr*. 2002;22:19–34.
 69. Yang D, Wang T, Long M, Li P. Quercetin: Its Main Pharmacological Activity and Potential Application in Clinical Medicine. *Oxid Med Cell Longev*. 2020;2020:8825387.
 70. Vipin C, Saptami K, Fida F, Mujeeburahiman M, Rao SS, Athmika, et al. Potential synergistic activity of quercetin with antibiotics against multidrug-resistant clinical strains of *Pseudomonas aeruginosa*. *PLoS One*.

2020;15(11):e0241304.

71. Hanasaki Y, Ogawa S, Fukui S. The correlation between active oxygens scavenging and antioxidative effects of flavonoids. *Free Radic Biol Med*. 1994;16(6):845–50.
72. Tang SM, Deng XT, Zhou J, Li QP, Ge XX, Miao L. Pharmacological basis and new insights of quercetin action in respect to its anti-cancer effects. *Biomed Pharmacother*. 2020;121:109604.
73. Xu K, Qu L, Li H, Ren X, Yan N, Fu X. Functional properties of dietary quercetin in cardiovascular health and disease. *Food Front*. 2024;5:1951–67.
74. Rauf A, Imran M, Khan IA, ur-Rehman M, Gilani SA, Mehmood Z, et al. Anticancer potential of quercetin: A comprehensive review. *Phyther Res*. 2018;32(11):2109–30.
75. El-Saber Batiha G, Beshbishy AM, Ikram M, Mulla ZS, Abd El-Hack ME, Taha AE, et al. The pharmacological activity, biochemical properties, and pharmacokinetics of the major natural polyphenolic flavonoid: Quercetin. *Foods*. 2020;9(3):374.
76. Tasdemir D, Kaiser M, Brun R, Yardley V, Schmidt TJ, Tosun F, et al. Antitrypanosomal and antileishmanial activities of flavonoids and their analogues: In vitro, in vivo, structure-activity relationship, and quantitative structure-activity relationship studies. *Antimicrob Agents Chemother*. 2006;50(4):1352–64.
77. Weiss LM, Ma YF, Takvorian PM, Tanowitz HB, Wittner M. Bradyzoite Development in *Toxoplasma gondii* and the hsp70 Stress Response. *Infect Immun*. 1998;66(7):3302.
78. Lehan AM, Saliba KJ. Common dietary flavonoids inhibit the growth of the intraerythrocytic malaria parasite. *BMC Res Notes*. 2008;1:26.
79. Aboody MS Al, Mickymaray S. Anti-fungal efficacy and mechanisms of flavonoids. *Antibiotics*. 2020;9(2):45.
80. Gao M, Wang H, Zhu L. Quercetin Assists Fluconazole to Inhibit Biofilm Formations of Fluconazole-Resistant *Candida Albicans* in In Vitro and in Vivo Antifungal Managements of Vulvovaginal Candidiasis. *Cell Physiol Biochem*. 2016;40(3–4):727–42.

81. Wang S, Yao J, Zhou B, Yang J, Chaudry MT, Wang M, et al. Bacteriostatic effect of quercetin as an antibiotic alternative in vivo and its antibacterial mechanism in vitro. *J Food Prot.* 2018;81(1):68–78.
82. Plaper A, Golob M, Hafner I, Oblak M, Šolmajer T, Jerala R. Characterization of quercetin binding site on DNA gyrase. *Biochem Biophys Res Commun.* 2003;306(2):530–6.
83. Memariani H, Memariani M, Ghasemian A. An overview on anti-biofilm properties of quercetin against bacterial pathogens. *World J Microbiol Biotechnol.* 2019;35(9):143.
84. Mohamed EA, Raafat MM, Samir Mohamed R, Ali AEE. *Acinetobacter baumannii* biofilm and its potential therapeutic targets. *Futur J Pharm Sci.* 2023;9:82.
85. Morris FC, Dexter C, Kostoulas X, Uddin MI, Peleg AY. The Mechanisms of Disease Caused by *Acinetobacter baumannii*. *Front Microbiol.* 2019;10:1601.
86. Shadan A, Pathak A, Ma Y, Pathania R, Singh RP. Deciphering the virulence factors, regulation, and immune response to *Acinetobacter baumannii* infection. *Front Cell Infect Microbiol.* 2023;13:1053968.
87. Lucidi M, Visaggio D, Migliaccio A, Capecchi G, Visca P, Imperi F, et al. Pathogenicity and virulence of *Acinetobacter baumannii*: Factors contributing to the fitness in healthcare settings and the infected host. *Virulence.* 2024;15(1):2289769.
88. Zhang R, Ji J, Blaženović I, Pi F, Wang T, Zhang Y, et al. Investigation into cellular glycolysis for the mechanism study of energy metabolism disorder triggered by lipopolysaccharide. *Toxins (Basel).* 2018;10(11):441.
89. Moubareck CA, Halat DH. Insights into *Acinetobacter baumannii*: A Review of Microbiological, Virulence, and Resistance Traits in a Threatening Nosocomial Pathogen. *Antibiotics.* 2020;9(3):119.
90. Kyriakidis I, Vasileiou E, Pana ZD, Tragiannidis A. *Acinetobacter baumannii* antibiotic resistance mechanisms. *Pathogens.* 2021;10(3):373.
91. Chabi R, Momtaz H. Virulence factors and antibiotic resistance properties of the *Staphylococcus epidermidis* strains isolated from hospital infections in Ahvaz, Iran. *Trop Med Health.* 2019;47:56.

92. Otto M. Molecular basis of *Staphylococcus epidermidis* infections. *Semin Immunopathol.* 2012;34(2):201–14.
93. O’Gara JP, Humphreys H. *Staphylococcus epidermidis* biofilms: Importance and implications. *J Med Microbiol.* 2001;50(7):582–7.
94. Fey PD, Olson ME. Current concepts in biofilm formation of *Staphylococcus epidermidis*. *Future Microbiol.* 2010;5(6):933.
95. Schilcher K, Horswill AR. Staphylococcal Biofilm Development: Structure, Regulation, and Treatment Strategies. *Microbiol Mol Biol Rev.* 2020;84(3):e00026-19.
96. Burke Ó, Zeden MS, O’Gara JP. The pathogenicity and virulence of the opportunistic pathogen *Staphylococcus epidermidis*. *Virulence.* 2024;15(1):2359483.
97. Otto M. *Staphylococcus epidermidis* – the “accidental” pathogen. *Nat Rev Microbiol.* 2009;7(8):567.
98. Siciliano V, Passerotto RA, Chiuchiarelli M, Leanza GM, Ojetti V. Difficult-to-Treat Pathogens: A Review on the Management of Multidrug-Resistant *Staphylococcus epidermidis*. *Life.* 2023;13(5):1126.
99. Freeman DJ, Falkiner FR, Keane CT. New method for detecting slime production by coagulase negative staphylococci. *J Clin Pathol.* 1989;42(8):872–4.
100. Gündoğ DA, Güngör G, Güngör C, Ertaş Onmaz N, Gönülalan Z. Çeşitli Gıda Kaynaklı Patojenik Bakterilerin Biyofilm Oluşturma Yeteneklerinin Tespitinde Kongo Kırmızısı Agar’ın Etkinliğinin Değerlendirilmesi. *Bozok Vet Sci.* 2023;4(1):18–26.
101. Jaisinghani RN. Antibacterial Properties of Quercetin. *Microbiol Res (Pavia).* 2017;8(1):6877.
102. CLSI. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard—Ninth Edition. 2012.
103. Akinduti PA, Motayo B, Idowu OM, Isibor PO, Olasehinde GI, Obafemi YD, et al. Suitability of spectrophotometric assay for determination of honey microbial inhibition. *J Phys Conf Ser.* 2019;1299:012131.
104. Stepanović S, Vuković D, Hola V, Di Bonaventura G, Djukić S, Ćirković I, et

- al. Quantification of biofilm in microtiter plates: Overview of testing conditions and practical recommendations for assessment of biofilm production by staphylococci. *APMIS*. 2007;115(8):891–9.
105. Stepanović S, Vuković D, Dakić I, Savić B, Švabić-Vlahović M. A modified microtiter-plate test for quantification of staphylococcal biofilm formation. *J Microbiol Methods*. 2000;40(2):175–9.
 106. Liu Y, Wu L, Han J, Dong P, Luo X, Zhang Y, et al. Inhibition of Biofilm Formation and Related Gene Expression of *Listeria monocytogenes* in Response to Four Natural Antimicrobial Compounds and Sodium Hypochlorite. *Front Microbiol*. 2021;11:617473.
 107. Uğurlu P, Satar Eİ, Çiçek T. The histopathological, cytopathological and ultrastructural effects of carbaryl on gills of *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1758). *Environ Toxicol Pharmacol*. 2019;71:103217.
 108. Odabaş Köse E, Koyuncu Özyurt Ö, Bilmen S, Er H, Kilit C, Aydemir E. Quercetin: Synergistic Interaction with Antibiotics against Colistin-Resistant *Acinetobacter baumannii*. *Antibiotics*. 2023;12(4):739.
 109. Pal A, Tripathi A. Quercetin potentiates meropenem activity among pathogenic carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*. *J Appl Microbiol*. 2019;127(4):1038–47.
 110. Siriwong S, Teethaisong Y, Thumanu K, Dunkhunthod B, Eumkeb G. The synergy and mode of action of quercetin plus amoxicillin against amoxicillin-resistant *Staphylococcus epidermidis*. *BMC Pharmacol Toxicol*. 2016;17(1):39.
 111. Vijayakumar K, Ganesan V, Kannan S. Antibacterial and antibiofilm efficacy of quercetin against *Pseudomonas aeruginosa* and methicillin resistant *Staphylococcus aureus* associated with ICU infections. *Biofouling*. 2025;41(2):211–24.
 112. Vipin C, Mujeeburahiman M, Ashwini P, Arun AB, Rekha PD. Anti-biofilm and cytoprotective activities of quercetin against *Pseudomonas aeruginosa* isolates. *Lett Appl Microbiol*. 2019;68(5):464–71.
 113. Amin MU, Khurram M, Khattak B, Khan J. Antibiotic additive and synergistic action of rutin, morin and quercetin against methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *BMC Complement Altern Med*. 2015;15:59.

114. Qu S, Dai C, Shen Z, Tang Q, Wang H, Zhai B, et al. Mechanism of Synergy Between Tetracycline and Quercetin Against Antibiotic Resistant *Escherichia coli*. *Front Microbiol*. 2019;10:2536.
115. Onyango LA, Dunstan RH, Gottfries J, von Eiff C, Roberts TK. Effect of low temperature on growth and ultra-structure of staphylococcus spp. *PLoS One*. 2012;7(1):e29031.
116. Bouvet PJM, Grimont PAD. Identification and biotyping of clinical isolates of *Acinetobacter*. *Ann Inst Pasteur Microbiol*. 1987;138(5):569–78.
117. Barbuti MD, Myrbråten IS, Morales Angeles D, Kjos M. The cell cycle of *Staphylococcus aureus*: An updated review. *Microbiologyopen*. 2023;12(1):e1338.
118. Russell AD. Lethal effects of heat on bacterial physiology and structure. *Sci Prog*. 2003;86(Pt 1-2):115–37.
119. Allwood MC, Russell AD. Thermally Induced Changes in the Physical Properties of *Staphylococcus aureus*. *J Appl Bacteriol*. 1969;32(1):68–78.
120. Zhao Y, Chen M, Zhao Z, Yu S. The antibiotic activity and mechanisms of sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) bagasse extract against food-borne pathogens. *Food Chem*. 2015;185:112–8.
121. Pal A, Tripathi A. Demonstration of bactericidal and synergistic activity of quercetin with meropenem among pathogenic carbapenem resistant *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. *Microb Pathog*. 2020;143:104120.
122. Rosenberg B, Kemeny G, Switzer RC, Hamilton TC. Quantitative evidence for protein denaturation as the cause of thermal death. *Nature*. 1971;232(5311):471–3.
123. Eshraghi N, Wainberg RH, Walden TL, Tsuchido T, Yatvin MB. Effects of heat and amino acid supplementation on the uptake of arginine and its incorporation into proteins in *Escherichia coli*. *Int J Hyperth*. 1994;10(1):79–88.
124. Tsuchido T, Katsui N, Takeuchi A, Takano M, Shibasaki I. Destruction of the outer membrane permeability barrier of *Escherichia coli* by heat treatment. *Appl Environ Microbiol*. 1985;50(2):303.
125. Pérez-Núñez D, Briandet R, David B, Gautier C, Renault P, Hallet B, et al. A new morphogenesis pathway in bacteria: Unbalanced activity of cell wall

- synthesis machineries leads to coccus-to-rod transition and filamentation in ovococci. *Mol Microbiol*. 2011;79(3):759–71.
126. Horii T, Kobayashi M, Sato K, Ichiyama S, Ohta M. An in-vitro study of carbapenem-induced morphological changes and endotoxin release in clinical isolates of Gram-negative bacilli. *J Antimicrob Chemother*. 1998;41(4):435–42.
 127. Rice KC, Bayles KW. Death's toolbox: Examining the molecular components of bacterial programmed cell death. *Mol Microbiol*. 2003;50(3):729–38.
 128. Xie TT, Zeng H, Ren XP, Wang N, Chen ZJ, Zhang Y, et al. Antibiofilm activity of three Actinomycete strains against *Staphylococcus epidermidis*. *Lett Appl Microbiol*. 2019;68(1):73–80.
 129. Mu Y, Zeng H, Chen W. Quercetin Inhibits Biofilm Formation by Decreasing the Production of EPS and Altering the Composition of EPS in *Staphylococcus epidermidis*. *Front Microbiol*. 2021;12:631058.
 130. Lee JH, Park JH, Cho HS, Joo SW, Cho MH, Lee J. Anti-biofilm activities of quercetin and tannic acid against *Staphylococcus aureus*. *Biofouling*. 2013;29(5):491–9.
 131. Pourhajibagher M, Javanmard Z, Bahador A. In vitro antibacterial activity of photoactivated flavonoid glycosides against *Acinetobacter baumannii*. *AMB Express*. 2024;14(1):119.
 132. Ouyang J, Sun F, Feng W, Sun Y, Qiu X, Xiong L, et al. Quercetin is an effective inhibitor of quorum sensing, biofilm formation and virulence factors in *Pseudomonas aeruginosa*. *J Appl Microbiol*. 2016;120(4):966–74.
 133. Pavlovsky L, Sturtevant RA, Younger JG, Solomon MJ. Effects of Temperature on the Morphological, Polymeric, and Mechanical Properties of *Staphylococcus epidermidis* Bacterial Biofilms. *Langmuir*. 2015;31(6):2042.
 134. Almutairi LA, Yu B, Dyne E, Ojaym AA, Kim MH. Mild magnetic hyperthermia is synergistic with an antibiotic treatment against dual species biofilms consisting of *S. aureus* and *P. aeruginosa* by enhancing metabolic activity. *Int J Hyperth*. 2023;40(1):2226845.

ÖZGEÇMİŞ

Adı	Hüseyin	Soyadı	AKDOĞAN
Doğum Yeri		Doğum Tarihi	
Uyruğu		Tel	
E-posta			

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Doktora/Uzmanlık	Dicle Üniversitesi	2025
Tezli Yüksek Lisans	Gaziantep Üniversitesi	2021
Lisans	Fırat Üniversitesi	2018
Lise	Nizip Anadolu Öğretmen Lisesi	2014

İş Deneyimi

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
	Büro Personeli	MEB	06.2023-

Yabancı Dil Sınav Notu

KPDS/ÜDS/YDS	YÖKDİL	IELTS	TOEFL IBT	TOEFL PBT	TOEFL CBT	FCE	CAE	CPE
	82.50							

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
ALES Puanı	92.77	91.47	90.00

EKLER

Ek-1. Etik Kurul Onayı

DİCLE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ GİRİŞİMSSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU					
DİCLE UNIVERSITY MEDICAL FACULTY ETHICS COMMITTEE FOR NONINTERVENTIONAL STUDIES					
124					
KARAR					
Prof. Dr. Nezahat AKPOLAT, MSc. Hüseyin AKDOĞAN isimli araştırmacılar tarafından planlanan "Quercetin ve Hipertermi Uygulamalarının Kolistin Dirençli <i>Acinetobacter baumannii</i> ve <i>Staphylococcus epidermidis</i> Üzerine Etkilerinin Araştırılması" başlıklı araştırmaya Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul'u tarafından toplantıda hazır bulunan üyeler tarafından oy birliği ile onay verilmiştir. Klinik araştırma tamamlanıp yayın aşamasına geldiğinde, yayına sunulan bildiri veya makalenin bir örneğinin Etik Kurul'a verilmesi zorunludur.					
DECISION					
The project titled as "Investigation of the Effects of Quercetin and Hyperthermia Applications on Colistin-Resistant <i>Acinetobacter baumannii</i> and <i>Staphylococcus epidermidis</i>" planned by Nezahat AKPOLAT, Hüseyin AKDOĞAN has been approved by Ethics Committee of Dicle University Faculty of Medicine.					
Oturum No (Meeting number):		Tarih (Date): 20.03.2024		Saat (Hour):10:00-12:00	
KURUL BAŞKANI (CHIEF)		Prof. Dr. İbrahim KAPLAN			
KURUL ÜYELERİ / MEMBERS					
	ÜNVANI	ADI-SOYADI	KURUMU	BRANŞI	İMZA
1	Prof. Dr.	İbrahim KAPLAN	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Tıbbi Biyokimya	
2	Doç. Dr.	Fikret SALIK	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Anesteziyoloji ve Reanimasyon	Katılmadı
3	Doç. Dr.	Mehmet TURE	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	
4	Doç. Dr.	Seyfettin ERDEM	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Göz Hastalıkları	
5	Doç. Dr.	Muhammed Akif DENİZ	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Radyoloji	
6	Doç. Dr.	Ulaş ALABALIK	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Tıbbi Patoloji	
7	Dr. Öğretim Üyesi	Diclehan ORAL	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Tıbbi Biyoloji ve Genetik	
8	Dr. Öğretim Üyesi	İsmail YILDIZ	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Biyoistatistik	
9	Dr. Öğretim Üyesi	Mehmet Fatih AKKOÇ	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Plastik Cerrahi	
10	Uzman Dr.	Abdullah ŞEN	Sağlık Bilimleri Üniversitesi Gazi Yaşargil Eğitim ve Araştırma Hastanesi	Acil Tıp	
11	Dr. Öğretim Üyesi	Zeynep ERDOĞMUŞ ÖZGEN	Dicle Üniversitesi Eczacılık Fakültesi	Farmakoloji	
12	Avukat	Şahhanım KAPLAN	Dicle Üniversitesi Rektörlük	Hukuk Müşavirliği	

Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlık Binası Zemin Kat 21280 Kampüs/DIYARBAKIR
Telefon:+90.412 . 248 80 01-16/4631 Faks:+90.412. 248 84 40 kuruletikdiyar@gmail.com

Ek-2. Yayınlar



Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi 2023;53(2):61-74
doi:10.54453/TMCD.2023.79037

Derleme / Review

Ekstraintestinal Patojenik *Escherichia coli*: Virülans Faktörleri

Extraintestinal Pathogenic *Escherichia coli*: Virulence Factors

Hüseyin Akdoğan¹, Nezahat Akpolat²

Dicle Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Diyarbakır, Türkiye

Atf/Cite as: Akdoğan H, Akpolat N. Ekstraintestinal patojenik *Escherichia coli*: Virülans faktörleri. Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi. 2023;53(2):61-74.

ÖZ

Escherichia coli insanlarda hem mikrobiyotaya hem de patojenite açısından en önemli bakterilerden biridir. *E. coli* ekstraintestinal ve intestinal gruplarda yer alan farklı patolojik etkiler gösteren farklı patotiplere sahiptir. Ekstraintestinal *E. coli* grubunda üropatojenik *E. coli*, sepsis ilişkili *E. coli* ve neonatal menenjit ilişkili *E. coli* yer almaktadır. Bunlar arasında en sık enfeksiyon etkeni üropatojenik *E. coli*'dir. Farklı patolojik etkilere sahip enfeksiyonlara neden olması ekstraintestinal *E. coli*'de çeşitli virülans faktörlerinin varlığına bağlıdır. Bu faktörler arasında başlıca adezinler, invazinler, sideroforlar, protektinler/serum direnci ve toksinler yer almaktadır. Bu derlemede ekstraintestinal patojenik *E. coli* enfeksiyonlarının patogenezinde rol alan bu virülans faktörleri ele alınmıştır.

Anahtar kelimeler: ExPEC, virülans faktörleri, ekstraintestinal, *E. coli*

ABSTRACT

Escherichia coli is one of the most important bacteria in humans in terms of both microbiota and pathogenicity. *E. coli* has different pathotypes with different pathological effects in the extra-intestinal and intestinal groups. The extra-intestinal *E. coli* group includes uropathogenic *E. coli*, sepsis-associated *E. coli* and neonatal meningitis-associated *E. coli*. Among them, the most common infectious agent is uropathogenic *E. coli*. Cause of infections with different pathological effects depends on the presence of various virulence factors in extra-intestinal *E. coli*. These factors include mainly adhesins, invasins, siderophores, protectins/serum resistance and toxins. In this review, these virulence factors that play a role in the pathogenesis of extra-intestinal pathogenic *E. coli* infections were discussed.

Keywords: ExPEC, virulence factors, extra-intestinal, *E. coli*

Alındığı tarih / Received:

29.10.2022 / 29.October.2022

Kabul tarihi / Accepted:

02.03.2023 / 02.March.2023

Yayın tarihi / Publication date:

01.06.2023 / 01.June.2023

ORCID Kayıtları

H. Akdoğan 0000-0002-0536-4300
N. Akpolat 0000-0002-8653-6046

✉ akdoganh@outlook.com

Dicle Tıp Dergisi / Dicle Med J (2025) 52 (3) : 543-558



www.diclemedj.org



Original Article / Özgün Araştırma

Hepatitis C Genotype Distribution in Türkiye; Are Genotypes Distributions Changing? A Meta-Analysis

Hüseyin Akdoğan¹, Erdal Özbek¹, Ramazan Yolaçan², Hasan Akkoç³

1 Dicle University, Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Diyarbakır, Türkiye

2 Gaziantep City Hospital, Clinic of Gastroenterology, Gaziantep, Türkiye

3 Dicle University, Faculty of Medicine, Department of Medical Pharmacology, Diyarbakır, Türkiye

Received: 23.07.2025; Revised: 05.09.2025; Accepted: 08.09.2025

Abstract

Background: Hepatitis C virus is one of the leading causes of viral hepatitis in humans. It is clinically characterized by chronic hepatitis developing after acute infection. There are seven genotypes of HCV. Each genotype, numbered one to seven, has several subtypes. Genotype differences play a role in the course of HCV infection, basic pathological features, and response to treatment. In this study, we aimed to determine the genotype distribution of HCV in Türkiye and whether there is a change in the HCV genotype distribution over the years.

Methods: PubMed, Scopus and TR Dizin databases are used to select the appropriate publications to use data in the study. 103 studies were included in this study. Of these, 32036 data were evaluated. This study protocol was developed keeping in view the requirements of the PRISMA guidelines.

Result: A total of 32036 genotype data were found from the studies included in the evaluation. Genotype 1 (82.6%) was the most common genotype. The genotype distribution rates for genotype 2, genotype 3, genotype 4 and other groups are 3.9%, 8.7%, 3.9% and 0.9%, respectively. There was a significant difference between the genders. Genotype 1 incidence is significantly higher in females compared to males, while genotypes 2 and 3 have a higher incidence in males. There was a significant difference between the regions for all genotypes. When the distribution was analyzed according to the years, there was a significant difference according to the years. After 2011, a significant decrease in genotype 1 and a significant increase in genotype 3 were detected.

Conclusion: The most common HCV genotype in Türkiye is genotype 1. The most common genotype has not changed over the years, but we observed that the distribution of genotypes has changed at various rates. This may increase in the future for various reasons.

Keywords: Hepatitis C, HCV, genotype, Türkiye

DOI: 10.5798/dicletip.1785109

Correspondence / Yazışma Adresi: Hüseyin Akdoğan, Department of Medical Microbiology Dicle University, Faculty of Medicine Diyarbakır, Türkiye e-mail: akdoganh@outlook.com

ORJİNALLİK RAPORU

QUERCETİN VE HİPERTERMİ UYGULAMALARININ KOLİSTİN DİRENÇLİ *Acinetobacter baumannii* VE *Staphylococcus epidermidis* ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

ORJİNALLİK RAPORU

% 7 BENZERLİK ENDEKSİ	% 6 İNTERNET KAYNAKLARI	% 5 YAYINLAR	% 1 ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ
---------------------------------	-----------------------------------	------------------------	--------------------------------

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	acikbilim.yok.gov.tr İnternet Kaynağı	% 3
2	ablock.ru İnternet Kaynağı	<% 1
3	Submitted to Recep Tayyip Erdogan University Öğrenci Ödevi	<% 1
4	Submitted to Bahcesehir University Öğrenci Ödevi	<% 1
5	hdl.handle.net İnternet Kaynağı	<% 1
6	Aslan, Ceren. "Hemiplejik Omuz Ağrılı Hastalarda Kinezyobant Uygulamasının Etkinliği", Dokuz Eylul Üniversitesi (Turkey), 2024 Yayın	<% 1
7	acikerisim.dicle.edu.tr İnternet Kaynağı	<% 1
8	Submitted to Harran Üniversitesi Öğrenci Ödevi	<% 1
9	İlgin, Rabia. "Ketojenik diyetin yaşlı sıçanlarda aquaporin-4 (AQP4) aracılı glimfatik sistem üzerindeki etkisinde bağırsak mikrobiyotasının rolünün araştırılması.", Dokuz Eylul Üniversitesi (Turkey) Yayın	<% 1