



T.C.
BURDUR MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**YEŞİL YAPRAK UÇUCULARININ BAĞIRSAKLARDAKİ “İYİ
HUYLU” (KOMMENSAL) VE “KÖTÜ HUYLU” (PATOJEN)
BAKTERİLER ÜZERİNE UYARICI VE BASKILAYICI
ETKİLERİ**

GAMZE GÖKER

YÜKSEK LİSANS TEZİ

VETERİNER FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman
Dr. Öğr. Üyesi Ahu DEMİRTAŞ

BURDUR-2019

T.C.
BURDUR MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**YEŞİL YAPRAK UÇUCULARININ BAĞIRSAKLARDAKİ “İYİ
HUYLU” (KOMMENSAL) VE “KÖTÜ HUYLU” (PATOJEN)
BAKTERİLER ÜZERİNE UYARICI VE BASKILAYICI
ETKİLERİ**

GAMZE GÖKER

YÜKSEK LİSANS TEZİ

VETERİNER FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman
Dr. Öğr. Üyesi Ahi DEMİRTAŞ

Bu Araştırma Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
Koordinatörlüğü tarafından 0493-YL-18 proje numarası ile desteklenmiştir.

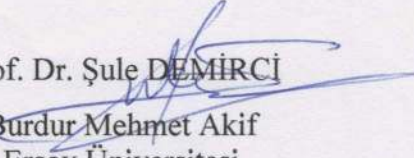
BURDUR-2019

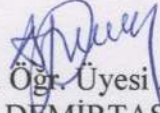
KABUL ve ONAY

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

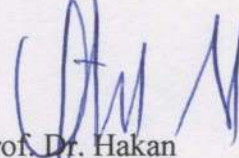
Gamze GÖKER tarafından *Dr. Öğr. Üyesi Ahu DEMİRTAŞ* yönetiminde hazırlanan *"Yeşil yaprak uçucularının bağırsaklardaki "iyi huylu" (kommensal) ve "kötü huylu" (patojen) bakteriler üzerine uyarıcı ve baskılayıcı etkileri"* başlıklı tez çalışması jüri üyeleri olarak tarafımızdan okunmuş; kapsamı ve niteliği açısından Veteriner Fizyoloji Anabilim Dalında *Yüksek Lisans Tezi* olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi
28/06/2019


Prof. Dr. Şule DEMİRCİ
Burdur Mehmet Akif
Ersoy Üniversitesi
Veteriner Fakültesi
Fizyoloji Anabilim Dalı
Başkan


Dr. Öğr. Üyesi Ahu
DEMİRTAŞ
Burdur Mehmet Akif Ersoy
Üniversitesi
Veteriner Fakültesi
Fizyoloji Anabilim Dalı

Jüri

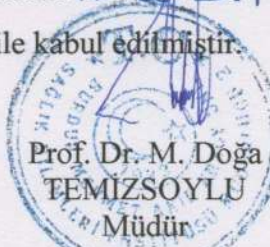

Prof. Dr. Hakan
ÖZTÜRK
Ankara Üniversitesi
Veteriner Fakültesi
Fizyoloji Anabilim Dalı

Jüri

ONAY

Bu tez, Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Lisans Üstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu 16/08/2019 Tarih ve 32... sayılı kararı

ile kabul edilmiştir.


Prof. Dr. M. Doğa
TEMİZSOYLU
Müdür

Sağlık Bilimleri Enstitüsü

TEŞEKKÜR

Lisansüstü eğitimim boyunca benden yardımlarını esirgemeyen, hem bilimsel hem de manevi anlamda yanımda bulunan, yapmış olmanın değil öğrenmenin önemini anlatan, öğrencisi olmaktan gurur duyduğum danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi Ahu DEMİRTAŞ başta olmak üzere, Anabilim Dalımızın değerli hocaları, Prof. Dr. Şule DEMİRCİ'ye, Prof. Dr. Mehmet Şükrü GÜLAY'a ve Doç. Dr. Özlem YILDIZ GÜLAY'a teşekkürlerimi sunarım. Sadece lisansüstü eğitim hayatım boyunca değil, hayatımın her anında maddi ve manevi desteklerini ve sevgilerini eksik etmeyen çok kıymetli annem Zeynep YÖRÜMEZ, babam Kenan YÖRÜMEZ, abim Coşkun YÖRÜMEZ ve kardeşim Selim Arda YÖRÜMEZ'e minnettarım. Beni lisansüstü eğitime başlamaya teşvik eden arkadaşım Gizem ARSLAN'a, bu zorlu eğitim sürecinde beraber aynı sıraları paylaştığım arkadaşım Gülşah CANDAN'a ve manevi desteklerinden dolayı arkadaşım Merve ASİ ve Duygu BİÇER'e teşekkürü bir borç bilirim. Hayatıma girdiği ilk günden bu yana, aldığım her kararda arkamda duran, yoğun eğitim sürecimde göstermiş olduğu anlayış ve yaptığı fedakarlıklardan dolayı sevgili eşim Serhan GÖKER'e teşekkür ederim.

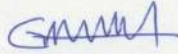
ETİK BEYAN

“Yeşil Yaprak Uçucularının Bağırsaklardaki “İyi Huylu” (Kommensal) ve “Kötü Huylu” (Patojen) Bakteriler Üzerine Uyarıcı ve Baskılayıcı Etkileri” başlıklı tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda 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 olmadığı beyan ederim.

Tarih

28.06.2019

"GAMZE GÖKER"



İÇİNDEKİLER

İÇ KAPAK SAYFASI	i
KABUL VE ONAY SAYFASI	ii
TEŞEKKÜR	iii
BEYAN SAYFASI	iv
İÇİNDEKİLER	v
ŞEKİLLER	vi
TABLolar	viii
SİMGELER ve KISALTMALAR	ix
TÜRKÇE ÖZET	x
İNGİLİZCE ÖZET (ABSTRACT)	xi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Bağırsaklardaki Yerleşik Mikroflora ve Fizyolojik Görevleri	4
2.1.1. Bağırsak Bakterilerinin Fizyolojik Görevleri	5
2.1.1.1. Metabolik etki	5
2.1.1.2. Trofik (Geliştirici) Etki	8
2.1.1.3. Protektif (Koruyucu) Etki	9
2.1.1.4. Bağırsak Bakterileri ve Beyin	12
2.2. Bağırsaklardaki İyi Huylu Bakteriler ile Kötü Huylu Bakteriler Arasındaki Denge ve Antibiyotikler	16
2.3. Antibiyotiklerin Alternatifi Olarak Bitki Ekstraktları ve Sekonder Bitki Metabolitleri	19
2.3.1. Yeşil Yaprak Uçucuları	22
2.3.1.1. Yeşil Yaprak Uçucularının Biyosentezi	22
2.3.1.2. Yeşil Yaprak Uçucularının Antimikrobiyel Etkileri	24
2.4. Minimal İnhibitör Konsantrasyon (MİK)	25
3. GEREÇ ve YÖNTEM	27
3.1. Kullanılan Yeşil Yaprak Uçucuları	27
3.2. Bakteri Suşları, Kullanılan Besiyerleri ve Kültür Koşulları	27
3.3. Minimal İnhibitör Konsantrasyon (MİK) Tayini	31
3.4. İstatistiksel Analizler	33
4. BULGULAR	34
4.1. Yeşil Yaprak Uçucularının İyi Huylu (Kommensal) Bağırsak Bakterileri Üzerine Etkileri	34
4.2. Yeşil Yaprak Uçucularının Kötü Huylu (Patojen) Bağırsak Bakterileri Üzerine Etkileri	44
5. TARTIŞMA	63
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	70
KAYNAKLAR	71
ÖZGEÇMİŞ	82

ŞEKİLLER

Şekil 2.1.	Karbonhidratların ve proteinlerin kolon bakterilerince fermentasyonu	7
Şekil 2.2.	Bağırsak bariyeri	11
Şekil 2.3.	Kolon bakterilerinin beyin ile iletişim yolları	14
Şekil 2.4.	Antibiyotik tedavisinin bağırsak mikroflorası üzerine etkileri	17
Şekil 2.5.	Yeşil yaprak uçucularının biyosentez yolları	23
Şekil 3.1.	Besiyeri bileşeni olarak kullanılan berrak rumen sıvısı	29
Şekil 3.2.	Besiyerinin karbondioksitle doyurulması	30
Şekil 3.3.	Besiyerinin karbondioksitle doyurulma öncesi (a) ve sonrası (b) görünümü	30
Şekil 3.4.	Üremiş bakteri suşunda gözle ayırt edilen bulanıklık (a) ve McFarland yoğunluk değeri (b)	31
Şekil 3.5.	Çalışmada kullanılan anaerobik kabin	32
Şekil 4.1.	<i>Trans-2-hekzenal</i> 'ın <i>Bifidobacterium bifidum</i> üzerine uyarıcı/baskılayıcı etkileri	35
Şekil 4.2.	<i>Cis-3-hekzenal</i> 'ın <i>Bifidobacterium bifidum</i> üzerine uyarıcı/baskılayıcı etkileri	35
Şekil 4.3.	<i>Trans-2-nonenal</i> 'ın <i>Bifidobacterium bifidum</i> üzerine uyarıcı/baskılayıcı etkileri	36
Şekil 4.4.	<i>Trans-2-dekanal</i> 'ın <i>Bifidobacterium bifidum</i> üzerine uyarıcı/baskılayıcı etkileri	36
Şekil 4.5.	<i>Trans-2-hekzenal</i> 'ın <i>Bifidobacterium longum</i> üzerine uyarıcı/baskılayıcı etkileri	37
Şekil 4.6.	<i>Cis-3-hekzenal</i> 'ın <i>Bifidobacterium longum</i> üzerine uyarıcı/baskılayıcı etkileri	38
Şekil 4.7.	<i>Trans-2-nonenal</i> 'ın <i>Bifidobacterium longum</i> üzerine uyarıcı/baskılayıcı etkileri	38
Şekil 4.8.	<i>Trans-2-dekanal</i> 'ın <i>Bifidobacterium longum</i> üzerine uyarıcı/baskılayıcı etkileri	39
Şekil 4.9.	<i>Trans-2-hekzenal</i> 'ın <i>Lactobacillus acidophilus</i> üzerine uyarıcı/baskılayıcı etkileri	40
Şekil 4.10.	<i>Cis-3-hekzenal</i> 'ın <i>Lactobacillus acidophilus</i> üzerine uyarıcı/baskılayıcı etkileri	40
Şekil 4.11.	<i>Trans-2-nonenal</i> 'ın <i>Lactobacillus acidophilus</i> üzerine uyarıcı/baskılayıcı etkileri	41
Şekil 4.12.	<i>Trans-2-dekanal</i> 'ın <i>Lactobacillus acidophilus</i> üzerine uyarıcı/baskılayıcı etkileri	41
Şekil 4.13.	<i>Trans-2-hekzenal</i> 'ın <i>Lactobacillus casei</i> üzerine uyarıcı/baskılayıcı etkileri	42
Şekil 4.14.	<i>Cis-3-hekzenal</i> 'ın <i>Lactobacillus casei</i> üzerine uyarıcı/baskılayıcı etkileri	43
Şekil 4.15.	<i>Trans-2-nonenal</i> 'ın <i>Lactobacillus casei</i> üzerine uyarıcı/baskılayıcı etkileri	43
Şekil 4.16.	<i>Trans-2-dekanal</i> 'ın <i>Lactobacillus casei</i> üzerine uyarıcı/baskılayıcı etkileri	44

Şekil 4.17.	<i>Trans-2-hekzenal</i> 'ın <i>Clostridium perfringens</i> üzerine uyarıcı/baskılayıcı etkileri	45
Şekil 4.18.	<i>Cis-3-hekzenal</i> 'ın <i>Clostridium perfringens</i> üzerine uyarıcı/baskılayıcı etkileri	46
Şekil 4.19.	<i>Trans-2-nonenal</i> 'ın <i>Clostridium perfringens</i> üzerine uyarıcı/baskılayıcı etkileri	46
Şekil 4.20.	<i>Trans-2-dekanal</i> 'ın <i>Clostridium perfringens</i> üzerine uyarıcı/baskılayıcı etkileri	47
Şekil 4.21.	<i>Trans-2-hekzenal</i> 'ın <i>Staphylococcus aureus</i> üzerine uyarıcı/baskılayıcı etkileri	48
Şekil 4.22.	<i>Cis-3-hekzenal</i> 'ın <i>Staphylococcus aureus</i> üzerine uyarıcı/baskılayıcı etkileri	48
Şekil 4.23.	<i>Trans-2-nonenal</i> 'ın <i>Staphylococcus aureus</i> üzerine uyarıcı/baskılayıcı etkileri	49
Şekil 4.24.	<i>Trans-2-dekanal</i> 'ın <i>Staphylococcus aureus</i> üzerine uyarıcı/baskılayıcı etkileri	49
Şekil 4.25.	<i>Trans-2-hekzenal</i> 'ın <i>Escherichia coli</i> üzerine uyarıcı/baskılayıcı etkileri	50
Şekil 4.26.	<i>Cis-3-hekzenal</i> 'ın <i>Escherichia coli</i> üzerine uyarıcı/baskılayıcı etkileri	51
Şekil 4.27.	<i>Trans-2-nonenal</i> 'ın <i>Escherichia coli</i> üzerine uyarıcı/baskılayıcı etkileri	51
Şekil 4.28.	<i>Trans-2-dekanal</i> 'ın <i>Escherichia coli</i> üzerine uyarıcı/baskılayıcı etkileri	52
Şekil 4.29.	<i>Trans-2-hekzenal</i> 'ın <i>Salmonella typhimurium</i> üzerine uyarıcı/baskılayıcı etkileri	53
Şekil 4.30.	<i>Cis-3-hekzenal</i> 'ın <i>Salmonella typhimurium</i> üzerine uyarıcı/baskılayıcı etkileri	53
Şekil 4.31.	<i>Trans-2-nonenal</i> 'ın <i>Salmonella typhimurium</i> üzerine uyarıcı/baskılayıcı etkileri	54
Şekil 4.32.	<i>Trans-2-dekanal</i> 'ın <i>Salmonella typhimurium</i> üzerine uyarıcı/baskılayıcı etkileri	54
Şekil 4.33.	<i>Trans-2-hekzenal</i> 'ın <i>Fusobacterium nucleatum</i> üzerine uyarıcı/baskılayıcı etkileri	55
Şekil 4.34.	<i>Cis-3-hekzenal</i> 'ın <i>Fusobacterium nucleatum</i> üzerine uyarıcı/baskılayıcı etkileri	56
Şekil 4.35.	<i>Trans-2-nonenal</i> 'ın <i>Fusobacterium nucleatum</i> üzerine uyarıcı/baskılayıcı etkileri	56
Şekil 4.36.	<i>Trans-2-dekanal</i> 'ın <i>Fusobacterium nucleatum</i> üzerine uyarıcı/baskılayıcı etkileri	57
Şekil 5.1.	<i>Trans-2-hekzenal</i> (A), <i>cis-3-hekzenal</i> (B), <i>trans-2-nonenal</i> (C) ve <i>trans-2-dekanal</i> 'ın (D) kimyasal yapısı	65

TABLÖLER

Tablo 3.1.	Zorunlu anaerob bağırsak bakterileri için kullanılan Medyum 2'nin içeriği (100 ml)	28
Tablo 3.2.	Mikrodilüsyon yönteminde kullanılan 96-kuyucuklu mikropalakaların çalışmadaki düzeni	33
Tablo 4.1.	Yeşil yaprak uçucularının iyi huylu ve kötü huylu bağırsak bakterileri üzerine minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri	57
Tablo 4.2.	Yeşil yaprak uçucularının <i>Bifidobacterium bifidum</i> üzerine uyarıcı/baskılayıcı etkileri	58
Tablo 4.3.	Yeşil yaprak uçucularının <i>Bifidobacterium longum</i> üzerine uyarıcı/baskılayıcı etkileri	58
Tablo 4.4.	Yeşil yaprak uçucularının <i>Lactobacillus acidophilus</i> üzerine uyarıcı/baskılayıcı etkileri	59
Tablo 4.5.	Yeşil yaprak uçucularının <i>Lactobacillus casei</i> üzerine uyarıcı/baskılayıcı etkileri	59
Tablo 4.6.	Yeşil yaprak uçucularının <i>Clostridium perfringens</i> üzerine uyarıcı/baskılayıcı etkileri	60
Tablo 4.7.	Yeşil yaprak uçucularının <i>Staphylococcus aureus</i> üzerine uyarıcı/baskılayıcı etkileri	60
Tablo 4.8.	Yeşil yaprak uçucularının <i>Escherichia coli</i> üzerine uyarıcı/baskılayıcı etkileri	61
Tablo 4.9.	Yeşil yaprak uçucularının <i>Salmonella typhimurium</i> üzerine uyarıcı/baskılayıcı etkileri	61
Tablo 4.10.	Yeşil yaprak uçucularının <i>Fusobacterium nucleatum</i> üzerine uyarıcı/baskılayıcı etkileri	62

SİMGELER ve KISALTMALAR

µg	Mikrogram
13-HPL	13-hidroperoksit liyaz
13-HPODE	13(S)-hidroperoksi 9- <i>cis</i> ,11- <i>trans</i> ,15- <i>cis</i> -oktadekatrienoik asit
13-HPOTE	13-hidroperoksit
AAD	Antibiotic-associated diarrhoea (Antibiyotik-ilişkili diyare)
AAT	Alkol asiltransferaz
ACTH	Adrenokortikotropik hormon
ADH	Alkol dehidrogenaz
ANOVA	Analysis of variance (Varyans analizi)
ATCC	American type culture collection (Amerikan tipi kültür koleksiyonu)
ATP	Adenozin trifosfat
BDNF	Brain derived neurotrophic factor (Beyin-türevli nörotrofik faktör)
CLSI	Clinical Laboratory Standards Institute (Klinik Laboratuvar Standartları Enstitüsü)
CRH	Corticotropin releasing hormone (Kortikotropin salgılatıcı hormon)
DNA	Deoksiribo nükleik asit
FMT	Fekal mikroorganizma transplantasyonu
g	Gram
GABA	Gama amino bütirik asit
GF	Germ-free
GPCR43	G-protein coupled receptor 43 (G-protein bağlı reseptör 43)
HT29	Human colon cancer cell line (İnsan kolon kanseri hücre hattı)
IC₅₀	Yarım minimal inhibitör konsantrasyon (IC ₅₀)
KZYA	Kısa zincirli yağ asidi
LB	Luria-Bertani besiyeri
LOX	Lipooksijenaz enzimi
MİK	Minimal inhibitör konsantrasyon
ml	Mililitre
mM	Milimolar
MRS	Mann Rogosa Sharpe besiyeri
NMDA	N-metil-D-aspartat reseptörü
p.p.m	Parts per million (Milyonda bir birim)
PF	Patojen free
pH	Power of hydrogen (Hidrojenin gücü)
rpm	Revolution per minute (Dakikadaki devir sayısı)
TSB	Tryptic Soy Broth besiyeri
UZYA	Uzun zincirli yağ asidi
α	Alfa
β	Beta

ÖZET

Yeşil Yaprak Uçucularının Bağırsaklardaki “İyi Huylu” (Kommensal) ve “Kötü Huylu” (Patojen) Bakteriler Üzerine Uyarıcı ve Baskılayıcı Etkileri*

Bağırsaklardaki iyi huylu bakteriler ile kötü huylu bakteriler arasındaki denge, bağırsak fizyolojisi ve immunitesi açısından büyük önem taşımaktadır. Bu çalışmada, yeşil yaprak uçucularına dahil olan aldehit bileşiklerin (*trans*-2-hekzenal, *cis*-3-hekzenal, *trans*-2-nonenal ve *trans*-2-dekanal) iyi huylu (*Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum*, *Lactobacillus acidophilus* ve *Lactobacillus casei*) ile kötü huylu patojen bakteriler (*Fusobacterium nucleatum*, *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* ve *Salmonella typhimurium*) üzerine uyarıcı ve baskılayıcı etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Kullanılan bakterilerden fakültatif anaerob olan *E. coli*, *S. typhimurium* ve *S. aureus* 37°C’de inkübatör içerisinde bakteriye özgü besiyerleri kullanılarak büyütülmüşlerdir. Zorunlu anaerob olan diğer bağırsak bakterileri ise anaerobik besiyeri kullanılarak anaerobik kabin içerisinde 37°C’de 24-48 saat süreyle üretilmişlerdir. Yeşil yaprak uçucularının bağırsak bakterileri üzerine minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri mikrodilüsyon yöntemi ile 3,9; 7,8; 15,6; 31,3; 62,5; 125, 250, 500 ve 1000 µg/ml konsantrasyon aralığında araştırılmıştır. Yeşil yaprak uçucularının bağırsak bakterileri üzerine en düşük MİK değerleri 500 µg/ml olarak belirlenmiştir. İyi huylu bağırsak bakterilerinin yeşil yaprak uçucularına karşı, patojenlere göre daha dirençli oldukları gözlenmiştir. *B. bifidum*’un üremesi, *trans*-2-hekzenal ve *trans*-2-dekanal tarafından 3,9-250 µg/ml dozlarda (P<0,05), *cis*-3-hekzenal tarafından 15,6 ve 31,3 µg/ml (P<0,05) dozlarda ve *trans*-2-nonenal tarafından ise 3,9-500 µg/ml (P<0,05) dozlarda uyarılmıştır. *Trans*-2-dekanal *L. acidophilus*’un üremesini de 31,3 ve 62,5 µg/ml konsantrasyonlarda ılımlı bir şekilde uyarmıştır (P<0,05). *Trans*-2-hekzenal, *cis*-3-hekzenal ve *trans*-2-nonenal, *B. longum* dışında kalan iyi huylu bakteriler üzerine baskılayıcı etki göstermemiştir. *C. perfringens*, *F. nucleatum* ve *S. aureus*’u 500 µg/ml konsantrasyonunda baskılayan (P<0,05) *trans*-2-dekanal’ın patojenler üzerine en etkili bileşik olduğu gözlenmiştir. *Trans*-2-dekanal ayrıca, patojenleri baskıladığı dozda iyi huylu bakterileri korumuştur. Kullanılan tüm bileşikler kolorektal kanser ajanlarından biri olan *F. nucleatum*’u 500 µg/ml dozunda baskılamışlardır (P<0,05). Patojenlerden *S. aureus* sadece *trans*-2-dekanal tarafından 500 µg/ml dozda baskılanırken (P<0,05), *E. coli* ve *S. typhimurium*’un ise tüm bileşiklere karşı dirençli olduğu gözlenmiştir. Sonuç olarak, kullanılan yeşil yaprak uçucularının iyi huylu bakteriler üzerine uyarıcı, kötü huylu bakteriler üzerine ise baskılayıcı etkiler göstererek bağırsak sağlığı üzerine olumlu etkiler oluşturabilecekleri düşünülmektedir. Yeşil yaprak uçucularının bağırsak bakterilerinin karma kültürleri üzerine etkilerinin araştırılacağı *in vitro* ve *in vivo* denemeler konunun aydınlatılmasına katkı sağlayacaktır.

Anahtar kelimeler: Antibakteriyel, Bağırsak bakterileri, Minimal inhibitör konsantrasyon (MİK), Yeşil yaprak uçucuları

*Bu Araştırma Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 0493-YL-18 proje numarası ile desteklenmiştir.

ABSTRACT

Stimulatory and Inhibitory Effects of Green Leaf Volatiles on “Good” (Commensal) and “Bad” (Pathogenic) Bacteria in the Intestine*

The balance between beneficial and pathogenic bacteria in the intestine has a great importance in terms of gut physiology and immunity. The aim of the study was to investigate the stimulatory and inhibitory effects of aldehydes from green leaf volatiles (*trans*-2-hexenal, *cis*-3-hexenal, *trans*-2-nonenal and, *trans*-2-decenal) on beneficial (*Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum*, *Lactobacillus acidophilus* and, *Lactobacillus casei*) and pathogenic bacteria (*Fusobacterium nucleatum*, *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and, *Salmonella typhimurium*) from the intestine. *E. coli*, *S. typhimurium* and, *S. aureus*, which are facultative anaerobes, were grown using bacterial-specific media in the incubator at 37°C. Other intestinal bacteria, which are strictly anaerob, were grown in anaerobic cabinet at 37°C for 24-48 hours using anaerobic media. Minimal inhibitory concentration (MIC) values of green leaf volatiles on intestinal bacteria were investigated by microdilution method in the range of 3.9, 7.8, 15.6, 31.3, 62.5, 125, 250, 500 and, 1000 µg/ml concentrations. The lowest MIC value of green leaf volatiles determined on intestinal bacteria was 500 µg/mL. It was observed that beneficial gut bacteria were more resistant to green leaf volatiles than pathogens. The growth of *B. bifidum* was stimulated by *trans*-2-hexenal and *trans*-2-decenal at 3.9-250 µg/mL ($P<0.05$), by *cis*-3-hexenal at 15.6 and 31.3 µg/mL ($P<0.05$) and, by *trans*-2-nonenal at 3.9-500 µg/mL doses ($P<0.05$). *Trans*-2-decenal also stimulated moderately growth of *L. acidophilus* at 31.3 and 62.5 concentrations ($P<0.05$). *Trans*-2-hexenal, *cis*-3-hexenal and, *trans*-2-nonenal did not exhibit inhibitory effect on beneficial intestinal bacteria except *B. longum*. *Trans*-2-decenal was most effective aldehyde on pathogens, with growth-inhibitory effect on *C. perfringens*, *F. nucleatum* and, *S. aureus* at the concentration of 500 µg/ml ($P<0.05$). *Trans*-2-decenal also protected beneficial bacteria at the dose that it inhibited pathogen ones. All used compounds inhibited *F. nucleatum* as one of the agents of colorectal cancer, at 500 µg/ml dose ($P<0.05$). *E.coli* and *S. typhimurium* from pathogens were resistant to all green leaf volatiles while *S. aureus* was inhibited only by *trans*-2-decenal at 500 µg/mL dose ($P<0.05$). In conclusion, it is thought that the used green leaf volatiles might have beneficial effects on gut health by regulating beneficial bacteria and inhibiting pathogenic bacteria. *In vitro* and *in vivo* trials investigating the effects of green leaf volatiles on the mixed cultures of intestinal bacteria will contribute to the elucidation of the subject.

Key words: Antibacterial, Intestinal bacteria, Minimal inhibitory concentration (MIC), Green leaf volatiles

*This study was supported by Burdur Mehmet Akif Ersoy University Scientific Research Projects Unit with project number BAP-0493-YL.

1. GİRİŞ

Sindirim kanalı sahip olduğu büyük ve dinamik mikroflora ile yeryüzündeki doğal mikrobiyel habitatlardan biridir. İnsanlarda söz konusu mikrofloranın çok önemli bir kısmı bağırsaklarda yerleşmiştir. Ev sahibi canlı ile simbiyotik bir ilişki içinde yaşayan bağırsak bakterileri sahip oldukları fizyolojik görevler ile canlıya çeşitli faydalar sağlarlar. Metabolik ve trofik görevleri dışında bağırsak bakterilerinin en önemli görevlerinden bir diğeri, kolonize oldukları bölgede bir bariyer oluşturup tutunulacak yüzey ve substratlar için patojenlerle yarışarak, bağırsakların patojen bakterilerce istilasına engel olmaktır. Bu anlamda, bağırsaklardaki iyi huylu bakteriler ile patojen bakteriler arasındaki denge, bağırsak sağlığı açısından büyük önem taşımaktadır.

Gastrointestinal hastalıkların tüm dünyadaki insidensi son yıllarda büyük bir artış göstermiştir. Konvansiyonel olarak kullanılan antibiyotiklerin çoğu vücuttaki iyi huylu ve kötü huylu mikroorganizmaları ayırt etmeksizin etkileyebilmektedir. Antibiyotikler, bakterilerin toksonomik, genomik ve fonksiyonel özelliklerini değiştirebilmekte ve söz konusu etkileri hızlı ve uzun süreli olabilmektedir. Özellikle geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı bağırsaklardaki patojen mikroorganizmalarda antibiyotik direnci oluşturmakta, bu ise antibiyotik kullanımının toplum sağlığı üzerine olumsuz etkileri ile ilgili gün geçtikçe artan kaygıların oluşmasına neden olmaktadır. Yeşil yaprak uçucularının, bağırsaklardaki kötü huylu bakterileri baskılarken iyi huylu bakterileri korumaları ya da üremelerine uyarıcı etkiler yapma olasılıkları, söz konusu metabolitlerin bağırsak enfeksiyonlarının tedavisinde antibiyotiklere alternatif olmaları ve bağırsaklardaki mikrobiyel dengeyi düzenleyici gıda takviyesi olarak kullanılmalarının önünü açacaktır.

2. GENEL BİLGİLER

Yeryüzünde canlıların var oluşuna ilişkin en erken yaşam kanıtları 3,8 milyar yaşındaki kaya oluşumlarının içinde yığınlar oluşturmuş olan ipliksi formda mavi-yeşil bakteri kolonileridir (Schopf, 1993). Dünyanın erken evrim sürecinde ilkel atmosfer ve okyanuslarda oksijene yer olmadığı ve bu habitatların anaerobik olduğu bilinmektedir. Bu nedenle bakterilerin dünya üzerindeki varlığı dinazorlardan ve hatta oksijen tarafından oluşturulan atmosferden bile eskidir (Woese, 1994). Anaerobik habitatlar dünyanın tüm tarihi boyunca var olmakla birlikte mikrobiyel fermentasyonun en yoğun ve etkili olduğu yer sindirim kanalıdır. Evcil hayvanların gastrointestinal kanalında yaşayan mikroorganizma sayısı ise 2×10^{27} iken bu sayı toprakta bunun sadece % 2'si ve okyanuslarda ise % 0,1'i kadardır (Mackie ve ark., 2000). İnsanların ise sindirim kanalında 10^{13} - 10^{14} kadar mikroorganizma yaşamakta olup bu sayı tüm vücut hücrelerinin sayısının yaklaşık 10 katı kadardır (Gill ve ark., 2006).

İnsanlar da dahil tüm canlılar, mikroorganizmalar tarafından oluşturulan bir dünyadaki yaşama adapte olmuşlardır. Toprak, hava ve suyun da dahil olduğu doğal habitatlarda sıcaklık, nem, oksijen, besin maddeleri gibi çevresel faktörler, oldukça geniş bir yelpazede değişkenlik göstermektedir. Oysa sindirim kanalının koşulları diğer habitatlara oranla oldukça değişmez olup hayvanın hücresel ve sıvısal savunma mekanizmaları, ortamı yabancı ve zararlı olan diğer mikroorganizmaların istilasından da korumaktadır (Hungate, 1960). Sindirim kanalı bu yönleriyle, konakçı mikroorganizmalar için bulunmaz bir yerleşim alanı haline gelmektedir. Bununla birlikte, bazı hayvan türlerinde mikroorganizmalar sindirim kanalının asıl mideden önce gelen bölümlerinde faaliyet gösterirken, bazı türlerde ise mikrobiyel yerleşim mideden sonraki kısımlarda yoğunlaşmıştır. Buna göre, besin maddelerinin asıl midede kimyasal yani canlının kendi enzimleri ile gerçekleşen sindirime maruz kalmadan önce mikroorganizmalar tarafından fermente edildiği türlere “ön mide (pregastrik) fermenterleri” denilmektedir. Bu türlerde fermentasyon, ön mideler olarak adlandırılan rumen ve retikulumda yerleşmiş olan mikroorganizmalar tarafından gerçekleştirilir. Pregastrik fermenterler, ruminantlar (geviş getirenler) ve

ruminant benzeri hayvanlar olarak ikiye ayrılır. Fermentasyon faaliyetlerinin sindirim kanalının mideden sonra gelen kısımlarında gerçekleştiği hayvanlara ise “kalın bağırsak fermenterleri” denir. Bu hayvanlar da fermentasyonun şekillendiği bölüme göre “sekum fermenterleri” ve “kolon fermenterleri” olarak ikiye ayrılırlar. Tavşan, kobay ve sıçan sekum fermentörlerine örnek olarak gösterilebilir. İnsanın da içinde bulunduğu domuz, kedi ve köpek gibi canlılarda ise mikrobiyel fermentasyon ağırlıklı olarak kolonda gerçekleşir (Bölükbaşı, 1989).

Kalın bağırsakların bir bölümü olan kolon başlıca su, elektrolitler, kısa zincirli yağ asitleri ve buraya kadar taşınmış ise glikozun emiliminden ve dışkının dışarı atılınca kadar depo edilmesinden sorumludur. Sindirime ait bu görevlerinin yanında kolon, birçok mikroorganizma türüne ev sahipliği yapan büyük bir mikrobiyel ekosistemdir. Kolonda 10^{11} - 10^{12} bakteri/g, az miktarda arkea, virus, maya ve mantar yaşarken, protozoon ise bulunmamaktadır (Guarner ve Malagelada, 2003). Dolayısıyla kolondaki en büyük mikroorganizma grubunu bakteriler oluşturmaktadır. Kolonda yaklaşık 300-500 farklı bakteri türü yaşıyor olmakla birlikte bunlardan sadece % 30’u kültüre edilebilmiştir. Dışkının da % 60’ını bakteriler oluşturmaktadır (Stephen ve Cummings, 1980).

Mikroorganizmalarla ilk karşılaşma doğum kanalında olmaktadır. Yani canlı için mikroorganizmaların ilk kaynağı annedir. Normal doğum ve sezeryan ile doğan bebeklerin bağırsak mikroflorası karşılaştırıldığında, normal doğumla doğan bebeklerin bağırsak mikroflorasının sezeryan ile doğan bebeklerin bağırsak mikroflorasına göre daha çok sayıda ve türde bakteri içerdiği görülmüştür (Tlaskalová-Hogenová ve ark., 2011). Yavru, uterus gibi steril bir ortamdan mikroorganizmalarca kuşatılmış bir dünyaya doğar ve doğum kanalında başlamak üzere mikroorganizmalar tüm deri ve mukozal yüzeylere kolonize olurlar. Kolondaki mikrobiyel ekosistemin, yaşamın ilk 1-2 yılında stabilize olduğu ve yaşamın ilerleyen evrelerinde, yoğun antibiyotik tedavilerini takip eden süreçlerde bile kompozisyonunu büyük oranda koruduğu bildirilmiştir (Guarner ve Malagelada, 2003).

2.1. Bağırsaklardaki Yerleşik Mikroflora ve Fizyolojik Görevleri

Bağırsak bakterilerinin büyük bir kısmı zorunlu anaerob iken küçük bir kısmı ise oksijen varlığında da üreyebilmektedir. Dominant ve zorunlu anaerob olan türleri karbonhidratları fermente eden (sakkarolitik), proteinleri fermente eden (putrefaktif), ve hem karbonhidratları hem proteinleri fermente edebilen (hem sakkarolitik hem putrefaktif) türler olarak üçe ayırabiliriz. Sakkarolitik bakteri türleri başlıca *Bacteriodes*, *Eubacteria*, *Bifidobacteria*, *Lactobacilli* ve *Ruminococci* iken, putrefaktif bakterilere *Peptococci* ve *Clostridia* örnek verilebilir. *Peptostreptococci* ise hem sakkarolitik hem putrefaktif bakteri türüne örnektir. Oksijenli ortamda da üreyebilen subdominant fakültatif anaeroblar ise *Escherichia*, *Enterobacter*, *Enterococcus*, *Klebsiella*, *Lactobacillus* ve *Proteus*’tur (Cummings ve Macfarlane, 1991).

Yukarıda adı geçen bakterilerden *Bifidobacteria*, *Lactobacilli*, *Bacteriodes* ve *Ruminococci* türleri yerleşik mikrofloranın “iyi huylu” olarak tanımlanan ve pek çok fizyolojik görevi olan bakterileri arasındadır. *Eubacteria*, *Peptococci*, *Clostridia*, *Peptostreptococci*, *Escherichia*, *Enterobacter*, *Enterococcus*, *Klebsiella*, *Staphylococci*, *Salmonella* ve *Proteus*’un başını çektiği türler ise normal bağırsak florasında belli bir miktarda bulunup fizyolojik görevlere katılmakla birlikte, travma, bağırsak yangıları ve immun sistemin baskılanması gibi uygun koşullar oluştuğunda sayıları artan ve hastalıklara neden olabilen “fırsatçı patojenler” grubunda yer alırlar (Serino ve ark., 2009). Kendi olağan ekosistemleri içerisinde makul sayılarda iken zararsız olan bu bakteriler, sayıca üstün hale gelip daha derin dokulara ilerlediklerinde bağırsak enfeksiyonlarına neden olabilmektedirler (Ribet ve Cossart, 2015).

Bağırsaklardaki yerleşik floranın genel fizyolojik görevleri ise aşağıdaki gibidir.

2.1.1. Bağırsak Bakterilerinin Fizyolojik Görevleri

Ev sahibi olan canlılar ile onların sindirim kanlındaki konakçıları olan mikroorganizmalar arasında kurulan ilişki türleri yarışma, iş birliği, yarı yarışma-yarı iş birliği gibi başlıklar altında incelenmiştir (Demirtaş, 2013). Kolonda yaşayan bakteriler ile ev sahibi olan insan arasındaki ilişki ise “iş birliği” olarak da bilinen “simbiyotik ilişki” modeline dahildir. Bu ilişkide insan, bakterilerin yaşamını sürdürebileceği optimal koşulları sağlarken, bakteriler ise metabolik, trofik ve protektif olarak üç başlık altında toplayabileceğimiz olumlu etkileri ile ev sahibi olan insana çeşitli faydalar sağlarlar. Kolon bakterileri sayılan görevleri dışında beyin ile kurdukları iletişim sayesinde duygular, ruh hali, bilişsel faaliyetler, iştahın kontrolü ve uyku düzeni gibi çeşitli beyin faaliyetlerini etkileyebilmektedirler (Grenham ve ark., 2011).

2.1.1.1. Metabolik Etki

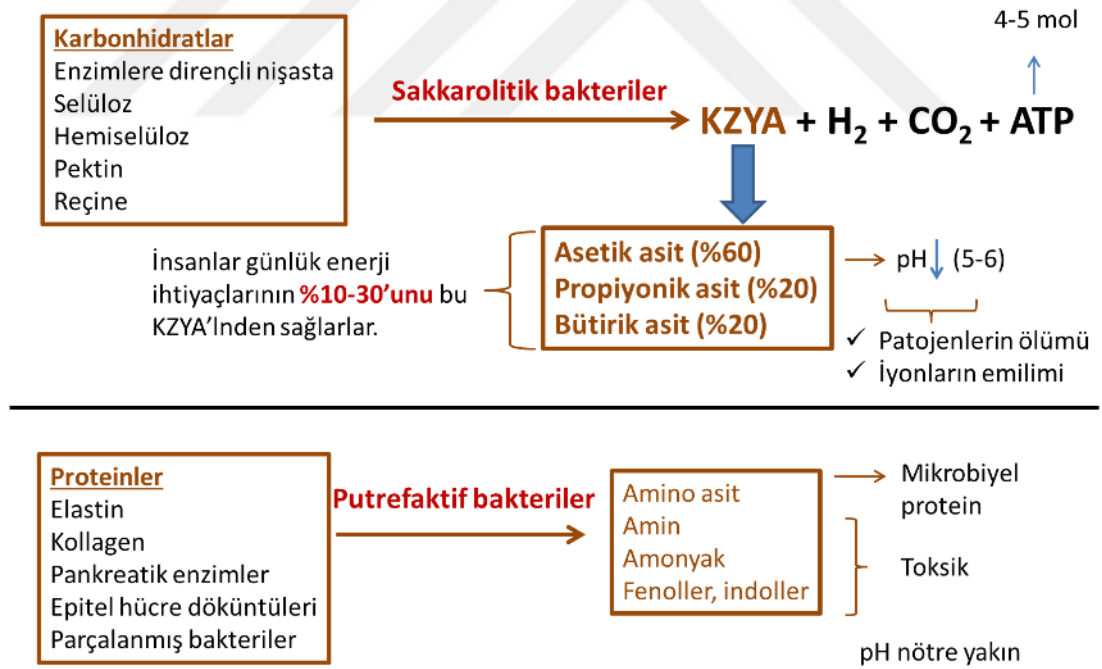
Bağırsaklarda yerleşmiş olan mikrobiyel flora, neredeyse gerçek bir organinkine eş değer olacak şekilde metabolik aktivite göstermektedir. Kolondaki mikroorganizmaların en büyük metabolik aktivitesi, sindirilmeden kolona gelmiş olan ya da sindirilemeyen besin maddelerini ve mukusu fermente ederek kısa zincirli yağ asitlerini (asetik asit, propiyonik asit ve bütirik asit) üretmek ve konak canlıya enerji kaynağı olarak sunmaktır. Bunu da “fermentasyon” dediğimiz metabolik bir aktivite ile gerçekleştirirler. Karbonhidratların ve proteinlerin bakterilerce anaerobik yıkımına fermentasyon denir. Kolonda temel olarak iki çeşit fermentasyondan söz edilebilir. Bunlar, karbonhidratların fermentasyonu ve proteinlerin fermentasyonudur. Kolon bakterilerinin diğer metabolik görevleri ise K vitamini sentezlemek ve iyonların emilimine aracılık etmektir (Guarner ve Malagelada, 2003).

Karbonhidrat fermentasyonu, kalın bağırsaktaki mikroorganizmaların metabolik aktivitelerinin önemli ve büyük bir kısmını oluşturur. Ortaya çıkan ürünlerin etkileri ve değeri göz önünde bulundurulduğunda, protein metabolizmasına göre çok daha önemli bir yere sahiptir. Karbonhidratların sindiriminden sorumlu sakkorolitik bakteriler, daha çok substrat olması nedeniyle proksimal kolonda

yerleşmişlerdir. Dolayısıyla buradaki bakteriyel üreme daha hızlı ve pH da daha asidiktir (pH 5-6) (Fallingborg, 1999). Sindirim enzimlerine dirençli nişastalar, selüloz, hemiselüloz, pektin ve reçine gibi substratların sakkarolitik bakterilerce anaerobik yıkımı sonucunda kısa zincirli yağ asitleri (KZYA) meydana gelir (Şekil 2.1). KZYA'leri 6 karbondan daha az sayıda karbon taşıyan, düz ya da dallı bir yapıya sahip uçucu yağ asitleridir (Ríos-Covián ve ark., 2016). Başlıcalarını (% 90-95) asetik asit, propiyonik asit ve bütirik asit oluşturur. Asetat, bütirat ve propiyonatın dışındaki molar oranları 60:20:20'dir (Besten ve ark., 2013). KZYA'nin başlıca kaynağı karbonhidratlar olmakla birlikte proteinlerin sindirimi ile açığa çıkan valin, lösin ve izolösinin mikrobiyel fermentasyonu sonucu şekillenen ve dallı kısa zincirli yağ asitleri olarak da adlandırılan izobütirat, izovalerat ve iki-metil bütirat da toplam KZYA'nin % 5 ini oluşturur. Laktat ise bir KZYA olmamakla birlikte kolondaki *Bifidobacteria* ve *Proteobacteria* gibi laktik asit bakterileri tarafından üretilen bir son üründür. Fakat normal fizyolojik koşullarda *Eubacterium hallii* gibi bakterilerce hızla diğer KZYA'ne dönüştürüldüğünden kolonda birikmesi söz konusu değildir. Oluşan KZYA, insanların günlük enerji ihtiyaçlarının yaklaşık olarak % 10-30'unu karşılamaktadır (Cummings ve Macfarlane, 1991). Üçüncü dünya ülkeleri için ise bu oran daha yüksektir.

Asetat, kolonda en yoğun miktarda bulunan KZYA'dir. Dışındaki toplam KZYA'nin yarısından fazlasını oluşturur. Çoğunlukla karbonhidratların fermentasyonu sonucu oluşan asetatin bir kısmı da hidrojen ve karbondioksitin birleşmesi ile veya formik asitten Wood-Ljungdahl yolağı ile şekillenir (Louis ve ark., 2014). Kolonik bakteriyel fermentasyon sonucu oluşan eksojen asetat, kana geçerek doku ve organlardan salınan endojen asetat ile birleşir. Asetatin % 70'i hem enerji kaynağı olarak kullanılmak hem de kolesterol, uzun zincirli yağ asidi (UZYA), glutamin ve glutamat sentezinde kullanılmak üzere karaciğere geçer. Asetatin geri kalan kısmı ise kalp, yağ doku, böbrekler ve kaslar için enerji kaynağı olarak kullanılır. Özellikle kas hücreleri asetatu aktif bir şekilde enerji kaynağı olarak kullanır (Besten ve ark., 2013). Asetatla birlikte bütiratın önemli bir kısmı lipit biyosentezinde kullanılır. Adipogenezis üzerine olan etkilerini, G proteinine bağlı GPCR43 reseptörü (G-protein-coupled receptor 43) üzerinden gerçekleştirdiği

bildirilmiştir (Hong ve ark., 2005). Kolon bakterilerinin ürettiği bir diğer KZYA olan propiyonatın % 30'u kolondan emildikten sonra portal vena ile karaciğere gider. Asetat ve bütirat başlıca lipid sentezinde kullanılırken, propiyonat ise karaciğerde glikoneogenezise katılarak glikoza dönüşmektedir. Propiyonatın % 23'lük bir kısmı da diğer doku hücrelerinde kullanılır. Asetat ve propiyonatın karaciğer ve doku hücrelerinde enerji ve lipid metabolizmasına katılmasının, canlının standart diyetle aldığı oral glikoza olan glisemik cevabını düşürdüğü bildirilmiştir (Brighenti ve ark., 1995). Bu durum sindirimi zor olan bol lifli gıdaların, düşük glisemik indekse sahip olmasının gerekçelerinden biridir. Özellikle bütiratın ve propiyonatın diyetle bağlı obezite gelişimine karşı koruyucu etkilerinin asetattan daha belirgin olduğu bildirilmiştir (Lin ve ark., 2012). Ayrıca propiyonat uygulanan rat ve domuzlarda, kandaki kolesterol ve glikoz düzeyinin azaldığı rapor edilmiştir (Thacker ve ark., 1981). Bu yönüyle de propiyonatın canlıda diyabet oluşma riskini azaltabileceği kanısına varılmıştır (Thacker ve ark., 1981).



Şekil 2.1. Karbonhidratların ve proteinlerin kolon bakterilerince fermentasyonu KZYA: Kısa zincirli yağ asitleri

KZYA'den biri olan bütiratın en önemli görevi kolonik epitelyumun enerji ihtiyacının çok büyük bir kısmını karşılamaktır. Kolon epitel hücreleri, enerji

ihtiyaçlarının yaklaşık olarak % 60-70'ini bütirattan sağlamaktadır. Yapılan çalışmalardan elde edilen genel kanı, kolonositlerin bütiratu asetat ve propiyonata tercih ettiği yönündedir. Kolonositler bütiratu okside ederek keton cisimcikleri ile karbondioksite çevirirler (Besten ve ark., 2013).

Peptid ve proteinlerin anaerobik fermentasyonu “putrifikasyon” olarak isimlendirilmektedir. *Peptococci* ve *Clostridia* gibi putrifaktif bakteriler, elastin, diyetle gelen kollajen, pankreatik enzimler ve epitel hücre döküntülerini sahip oldukları endopeptidazlarla hidrolize ederek daha küçük peptidlere dönüştürürler (şekil 2.1) (Guarner ve Malagelada, 2003). Proteolizis olarak adlandırılan bu süreç, kalın bağırsaktaki diğer bakterilere nitrojen kaynağı oluşturması bakımından ekolojik ve fizyolojik önem taşımaktadır. Özellikle sakkorolitik bakteriler, putrefaktif bakterilerin proteinleri parçalaması sonucunda oluşan nitrojen ve amino asitleri bakteriyel proteine dönüştürüp üremek için kullanırlar (şekil 2.1). Protein metabolizmasında oluşan diğer son ürünler arasında asetat, propiyonat ve bütiratin başını çektiği KZYA ve izovalerat gibi dallı zincirli yağ asitleri de bulunur. Bu KZYA'nin yanında protein metabolizması sonucunda amonyak, amin, fenol ve indol gibi toksik son ürünler de oluşmaktadır (şekil 2.1). Protein metabolizmasının son ürünlerinden biri olan amonyak, aminoasitlerin deaminasyonu sonucu oluşur ve büyük bir kısmı dışkı ile dışarı atılır. Amonyağın dışkıdaki konsantrasyonu 3-44 mM arasında değişmektedir. Toksik olan ve dışkı ile atılan bu metabolitin 10 mM'den düşük konsantrasyonlarının bağırsak epitel hücrelerinin morfolojisi ve metabolizması için faydalı olduğu ve bağırsak epitel hücrelerindeki DNA sentezini arttırarak hücrelerin yaşam döngüsünü olumlu yönde etkilediği bildirilmiştir. Amonyağın bir diğer kısmı ise karaciğere giderek burada üreye dönüştürölmekte ve idrar aracılığı ile vücuttan uzaklaştırılmaktadır. Bu nedenle karaciğer hastalarında amonyağın fazlası vücut sıvılarında birikerek portal-sistemik ensefelopati ve hepatik komaya yol açabilmektedir (Macfarlane ve Macfarlane, 1997).

2.1.1.2. Trofik (Geliştirici) Etki

Kolon bakterilerinin bir diğer önemli görevi, sentezledikleri KZYA'leri ile bağırsak epitel hücrelerinin çoğalmasını ve farklılaşmasını uyarmaktır. Kolon

bakterilerinin bağırsak endoteli üzerine olan bu geliştirici etkileri “trofik etki” olarak tanımlanmaktadır. Yapılan bir çalışmada, mikroorganizmadan ari yetiştirilen ratların kolonlarındaki kript hücrelerinin çoğalma oranı azalmıştır. Yine bu ratların kriptlerinde, kolonlarında yaygın floraya sahip ratlara göre daha az hücre bulunduğu gözlenmiştir (Alam ve ark., 1994). Bununla birlikte, endotel hücreler üzerine olan trofik etki çoğunlukla asetat ve propiyonat tarafından oluşturulurken, bütirat ise kolon epitel hücrelerinin üremesini engelleyip farklılaşmasını stimüle etmektedir (Siavoshian ve ark., 2000). Hücrel büyüme G1 fazında durdurarak, epitel hücrelerinin başkalaşımını ve hücre iskeletinin organize olmasını stimüle eder. Hücrel farklılaşma üzerine olan etkisini kolonositlerdeki gen ekspresyonunu kontrol ederek ve değiştirerek gösterdiği bildirilmiştir (Macfarlane ve Macfarlane, 2011). Özellikle kanserli epitel hücre hatlarıyla yapılan *in vitro* çalışmalarda bütirat, hücrelerin çoğalmasını engellerken farklılaşmasını uyarmıştır. Yine bütirat, neoplastik hücrelerin (kanser hücreleri), non-neoplastik (kanser hücresi olmayan) fenotipteki hücelere dönüşümünü uyarmıştır. (Gibson ve ark., 1992). Bütiratın kanser hücrelerinin apoptozisini (hücrel ölüm) uyardığı da bildirilmektedir (Keku ve ark., 2015). İnsanlardan elde edilen kolonositlerde ve HT29 tümör hücrelerinde, H₂O₂ tarafından oluşturulan oksidatif DNA hasarına karşı koruyucu etkileri olduğu ortaya konmuştur (Rosignoli ve ark., 2001). Bu yönüyle epitel hücrelerinin çoğalmasını uyaran asetat ve propiyonatın aksine, hücrelerin çoğalmasını engelleyip farklılaşmasına aracılık eden bütiratın kolon kanseri, kronik ülseratif kolitis gibi patolojik durumların önüne geçilmesinde etkili olabileceği bildirilmektedir (Guarner ve Malagelada, 2003).

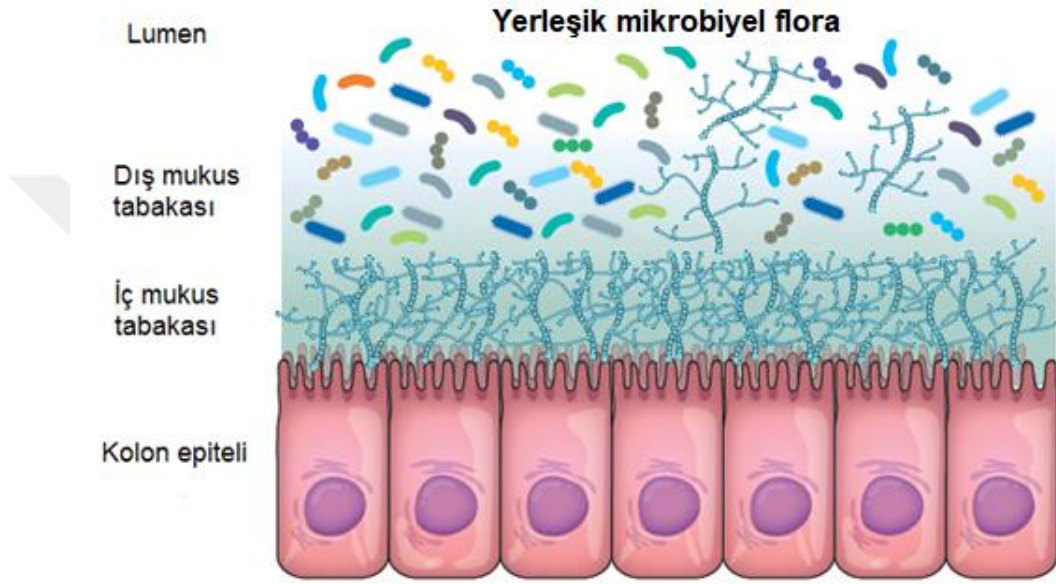
2.1.1.3. Protektif (Koruyucu) Etki

Bağırsak mikroorganizmalarının kritik görevlerinden bir diğeri bağırsak yüzeyinde bir bariyer oluşturarak bağırsak dokusunun patojenlerce istilasına engel olmaktır. Mikroorganizmaların bağırsak immünolojisine etkisi, mikroorganizmalardan ari yetiştirilen (germ-free) hayvanlar ile bağırsaklarında kolonize olmuş bir mikroflora bulunan hayvanlar arasındaki karşılaştırmalı çalışmalar ile ortaya konmuştur. Germ-free hayvanların enfeksiyonlara daha duyarlı

olduğu, bağırsak vasküleritesinin ve kas tabakası kalınlığının, sitokin üretiminin ve serum immunglobulin düzeylerinin daha düşük düzeyde olduğu ayrıca bu hayvanların daha küçük payer plaklarına sahip oldukları bildirilmiştir (Shanahan, 2002).

Bağırsak lümenindeki toksik maddeler ve patojen mikroorganizmalar ile bağırsak dokusunu birbirinden ayıran “bağırsak bariyeri” üç tabakadan oluşmaktadır. Bunlar; en altta intestinal epitel hücreleri, bunların üzerini örten mukus tabakası ve en üstte biyofilm oluşturmuş olan mikroorganizmalardan oluşmaktadır (Şekil 2.2). Bu tabakalardan ikinci sırada yer alan mukus tabakası, bağırsak epitel hücreleri arasında yerleşmiş olan goblet hücreleri tarafından salgınp, hücreler üzerine adeta koruyucu bir membran olarak yayılmıştır (Şekil 2.2). Mukus tabakasının lümene bakan dış yüzeyi, bağırsaktaki yerleşik mikroflora için güvenli bir yaşam alanı ve besin kaynağı oluştururken bağırsak dokusuna bakan iç yüzeyi, bu mikroorganizmaların bile penetrasyonuna izin vermeyecek bir yapılanma gösterir (Macfarlane ve ark., 2000). Mukus tabakasının dış yüzeyinde mikroorganizmaların bir biyofilm tabakası oluşturdukları görölmektedir. Yapılan çalışmalarda, bakterilerin ve diğerk mikroorganizmaların uygun bir yüzey ve ortam bulduklarında, biyofilm tabaka oluşturma yönünde kuvvetli bir eğilim gösterdikleri bildirilmiştir. Bu yüzeyler, katater, kalp kapakları ve diğerk medikal protezler gibi basit ve tekli yapıda olabileceğı gibi toprak, ağız boşluğu ve sindirim kanalı gibi daha kompleks ortamlar da olabilir (Bradshaw ve ark., 1997). Sindirim kanalı ise sahip olduğu değışmez koşullar sayesinde, bakterilerin biyofilm tabaka oluşturmaları için son derece uygun bir ortam oluşturmaktadır. Burada oluşan biyofilm komitelerinin ağız boşluğundaki biyofilm tabakaları ile büyük ölçüde benzerlik gösterdiği görölmüştür (Kolenbrander, 1989). Çalışmalar biyofilm oluşumunun, yüzeyler üzerine ilk bakterilerin ya da küçük mikroorganizma gruplarının tutunmalarını takiben lineal olmayan bir şekilde çoğalmalarıyla oluştuğunu göstermiştir. Bir takım şüpheler olmakla birlikte, yüzeye ilk tutunmanın bakteri yüzeyindeki elektrostatik kuvvetler ya da tutunulan yüzey hücreleri tarafından oluşturulan kalın bir glikokaliks tabaka ile mümkün olduğu düşünülmektedir. Biyofilm tabakaya dahil olan bakterilerin, diğerk bakterilerden farklı davrandıkları, metabolizma verimliliklerinin de değıştiğı bildirilmektedir (Van

Loosdrecht ve ark., 1990). Örneğin; biyofilm tabakada yaşayan bakteriler, lümen içinde serbest gezen planktonik bakterilere göre antibiyotiklere daha büyük direnç göstermektedirler. Bu bakterilerin, kompleks ve çözünmeyen polimerik maddelere etkiye kabiliyetlerinin serbest gezen bakterilere göre daha iyi olduğu ve bu özelliklerinin ekosistem içerisinde besin maddesi için yarış konusunda, biyofilm oluşturan bakterilere avantaj sağladığı bildirilmektedir (Macfarlane ve ark., 2000).



Şekil 2.2. Bağırsak bariyeri (Bäumle ve Sperandio, 2016).

Bağırsak yüzeyinde biyofilm oluşturan mikrobiyel flora, substrat ve tutunacak yüzey için patojen mikroorganizmalarla yarışarak, fiziksel olarak yer bırakmayarak ve ürettikleri bakteriyosin adı verilen toksik maddelerle patojen mikroorganizmaların ölümüne sebep olarak patojenlerin bağırsakta kolonize olmalarına engel olurlar. Bu anlamda, bağırsak yüzeyinde bariyer görevi gören bu bakteriler ile patojen mikroorganizmalar arasındaki mevcut denge, bağırsak dokusunun patojen mikroorganizmalarca istilasına engel olmaktadır. Dolayısıyla bu bakteriler, bağırsaklarda optimal sayıda ve kompozisyonda olduklarında, patojen ve virulent mikroorganizmaların bağırsak epitel hücrelerine tutunmalarını ve kana geçmelerini engellerler (Tlaskalová-Hogenová, 2011).

2.1.1.4. Bağırsak Bakterileri ve Beyin

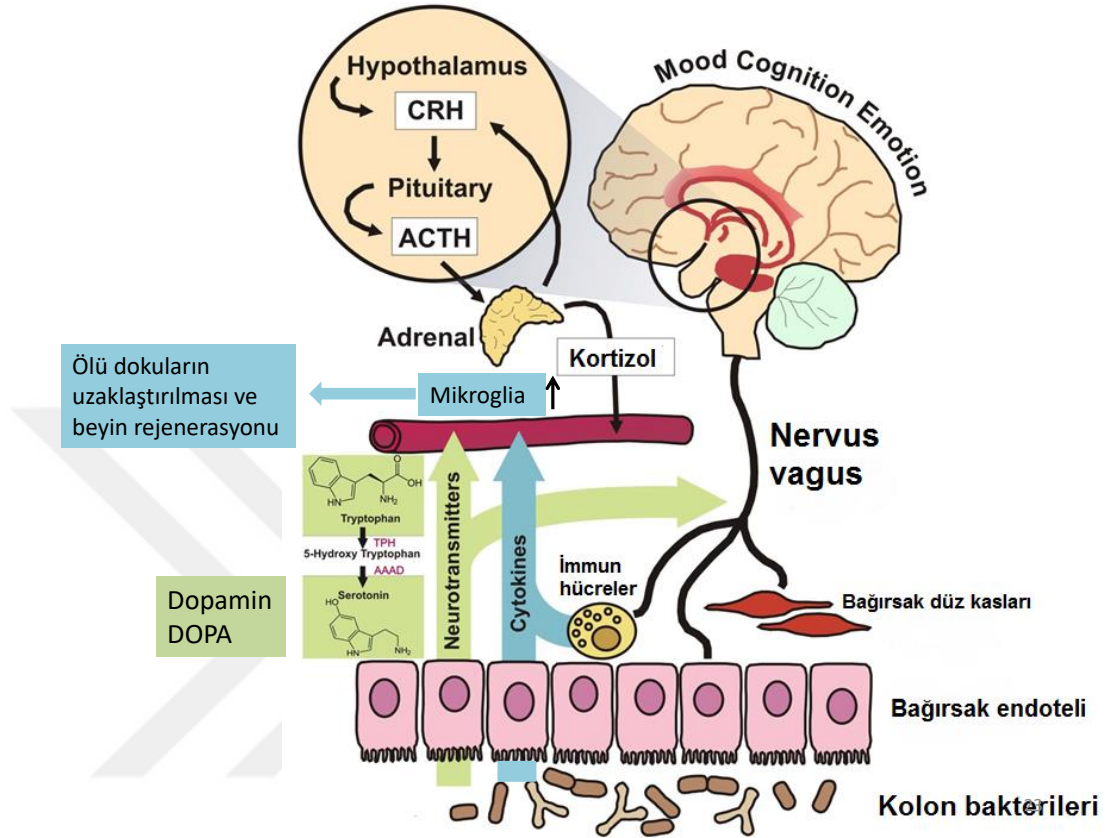
Son on yıl içerisinde yapılan bilimsel çalışmalar ile sindirim kanalındaki yerleşik mikrofloranın, gastrointestinal fonksiyonlar üzerine olan fizyolojik ve immünolojik etkilerinin yanında beyin tarafından yürütülen mental, bilişsel, duygusal ve psikolojik süreçler üzerine de önemli etkilerinin olduğu ortaya konmuştur (Grenham ve ark., 2011). Bu anlamda gastrointestinal kanal ile merkezi sinir sistemi arasında “sindirim kanalı-beyin yolağı” (gut-brain axis) olarak adlandırılan kompleks ve çift yönlü etkileşimden sorumlu bir haberleşme sisteminden bahsedebiliriz (Yarandi ve ark., 2016). Bu çift yönlü iletişim sisteminde intestinal mikrobiyel floradan beyine ulaşan afferent bilgiler, merkezi sinir sisteminde sindirim ile ilgili merkezlerin yanında bilişsel ve duygusal birçok beyin aktivitesini etkilerken, beyinden çıkan efferent sinyaller de gastrointestinal kanalın motor ve salgısal birçok fonksiyonunu değiştirmektedir. Sindirim kanalı-beyin yolağına nöroendokrin ve nöroimmun sistemlerin yanında otonom sinir sisteminin sempatik ve parasempatik kolları, enterik sinir sistemi ve intestinal mikrobiyel floranın dahil olduğu bildirilmektedir (Grenham ve ark., 2011).

Sindirim kanalındaki mikrofloranın beyin üzerine etkileri ilk defa germ-free ve patojen-free (patojenlerden arı) fareler üzerinde yapılan bir çalışma ile ortaya konmuştur (Sudo ve ark., 2004). Germ-free farelerde patojen-free farelere göre beyin gelişimine önemli etkileri olan “beyin-türevli nörotrofik faktör” (brain derived neurotrophic factor, BDNF) yapımının ve öğrenme ve bellek oluşumunda görev alan NMDA (anti-N-methyl-D-aspartat) reseptörlerin sayısında azalma olduğu bildirilmiştir. Bunun yanında her iki gruptaki fareler strese maruz bırakıldıklarında, germ-free farelerde, patojen-free farelere göre strese daha büyük ve orantısız bir yanıt oluştuğu, adrenokortikotropik hormon (ACTH) ve kortikostreon salınımının çok daha yüksek düzeyde olduğu kaydedilmiştir. Doğumdan sonra 0-28. günler aralığında, germ-free farelere patojen-free farelerden alınan mikrobiyol flora inoküle edildiğinde ise BDNF ve NMDA düzeylerinin arttığı, strese yanıtın da makul düzeylere indiği gözlenmiştir. Dolayısıyla, bağırsaktaki bakterilerin doğum sonrası kritik bir dönemde beynin gelişiminin yanı sıra hipotalamus-hipofiz-adrenal aks

düzeyinde strese makul bir cevap oluşmasına da büyük bir katkı sağladığı sonucuna varılmıştır. Yine germ-free fareler ilk 28 gün boyunca bir probiyotik olan *Lactobacillus rhamnosus* (JB-1) ile tedavi edildiğinde strese karşı oluşan kortikosteron oranları düşmüş, zorlayıcı bir yüzme testinde depresif davranışların oranı azalmış ve daha az anksiyete gözlenmiştir (Bravo ve ark., 2011). Bu farelerde beyinde davranışları yöneten nörotransmitter madde (Gama-Aminobütrik asit; GABA) miktarında değişiklikler gözlenmiştir. Aynı çalışmada n. vagus kesildiğinde ise söz konusu etkiler ortadan kalkmıştır. Bu sonuca dayanarak n. vagus'un bakteriler ile beyin arasındaki iletişimde önemli bir yere sahip olduğu fikri ortaya çıkmıştır.

Kolon bakterilerinin beyini iki önemli yolla etkiledikleri düşünülmektedir (Hong ve ark., 2005). Bunlardan ilkinde kolon bakterileri, bağırsaktaki immun sistem hücrelerini uyararak sitokin salgılamalarına neden olurlar (Şekil 2.3). Salgılanan sitokinler kan damarları aracılığı ile beyine iletilirler ve beyinde bulunan mikrogliaları uyararak aktive ederler. Aktive olan mikroglialar da beyinde mekanik, bilişsel, duygusal ve içgüdüsel süreçleri yöneten çeşitli merkezlerde ölü dokuların fagositozla uzaklaştırılmasını sağlar ve bu yolla beyinin rejenerasyonuna katkıda bulunurlar. İkinci etkileme yolu ise kolon bakterilerinin sentezledikleri kendi nörotransmitterleri aracılığıyla gerçekleşir (Şekil 2.3). Kolondaki bakterilerin etkin bir şekilde triptofanı serotonine dönüştürebildikleri bildirilmektedir (Lyte, 2011). *Bifidobacterium infantis* 35624'ün ise kandaki triptofan düzeyini arttırdığı rapor edilmiştir (Desbonnet ve ark., 2008). Kolon bakterilerinin söz konusu etkileri, triptofanın parçalanmasında kilit bir rol üstlenen indolamin-2,3-dioksigenaz enziminin sentezini arttırarak oluşturdukları düşünülmektedir (Desbonnet ve ark., 2008). *Escherichia* ve *Bacillus* türlerinin noradrenalin, *Bacillus* ve *Serratia* 'ların ise dopamin üretebildikleri bildirilmektedir (Lyte, 2011). Kolondaki bakteriler salgıladıkları bu nörotransmitter maddeler ile ya n. vagusu uyararak sinirsel yolla ya da direkt kana geçmesiyle humoral yolla beyni etkilerler (Şekil 2.3) (Grenham ve ark., 2011). Söz konusu nörotransmitterlerin dahil olduğu serotonerjik, dopaminerjik ve adrenerjik yollar beyinde anksiyete, tepkisellik, asabiyet, ruh hali, öğrenme, uyku düzeni, iştah, cinsellik, keyif, mutluluk, motivasyon, konsantrasyon gibi birçok bilişsel, duygusal ve psikolojik olgunun oluşmasında rol almaktadır (Drevets, 2001).

Dolayısıyla kolon bakterileri sentezledikleri nörotransmitterler ile adeta “ikinci bir beyin” gibi çalışarak yukarıda adı geçen beyin fonksiyonlarını etkilemektedirler.



Şekil 2.3. Kolon bakterilerinin beyin ile iletişim yolları (Grenham ve ark., 2011).
CRH: Kortikotropin salgılatıcı hormon, ACTH: Adrenokortikotropik hormon

Yapılan çalışmalar kolon bakterilerinin sedatif ve yatıştırıcı etkilerinin de bulunabileceğini göstermektedir. *Lactobacillus rhamnosus* gibi bazı bakteriler beyinde inhibitör bir nörotransmitter olan GABA (Gama amino bütirik asit) reseptörlerinin sentezini artırarak beyin kortikal bölgelerindeki (singulat ve prelimbik korteks) nöral iletimde inhibisyon ve sedasyona neden olmuşlardır (Grenham ve ark., 2011). *Lactobacillus* türlerinin intestinal epitelyal hücreler üzerindeki opioid reseptörlerin sentezini uyarıp bu reseptörlere bağlanarak morfin etkisini taklit edebildikleri de bildirilmiştir (Rousseaux ve ark., 2006). Söz konusu etkiler ile kolon bakterilerinin stresin olumsuz etkilerini azaltıp kişinin daha dingin bir ruh haline ulaşmasına katkı sağlayabileceği düşünülmektedir.

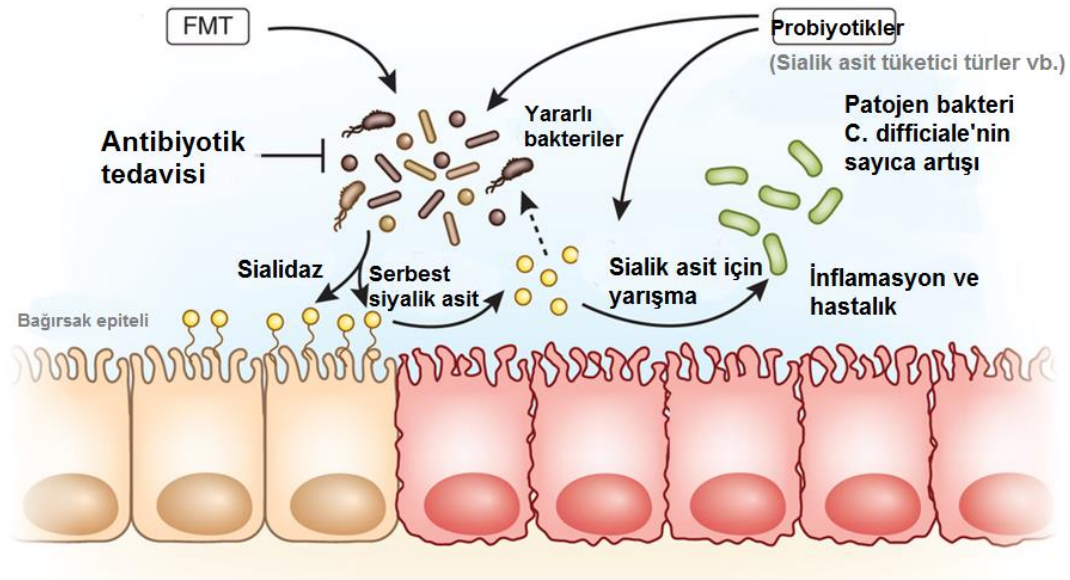
Kolon bakterilerinin iştah ve obezite üzerine olan etkileri ise biri obez diğeri sağlıklı ve normal kiloya sahip olan ikiz kardeşler üzerinde araştırılmıştır. İkiz kardeşlerin bağırsak mikroflorasından alınan örnekler alıcı farelere inoküle edilmiş ve sonrasında her iki fare de düşük yağlı ve yüksek lifli standart bir diyetle beslenmiştir. Sağlıklı ikizden alınan bağırsak mikroflorasının verildiği farenin kilosunu korurken, obez olan ikizden alınan bağırsak mikroflorasının verildiği farede yağ dokuda ve canlı ağırlıkta artış gözlenmiştir (Ridaura ve ark., 2013). Kolon bakterilerinin salgıladıkları bazı maddelerin, beyinde leptin ve ghrelin etkisini taklit ederek açlık ve tokluk hissini kontrol ettiği de rapor edilen bilgiler arasındadır (Carding, 2015).

Beyin ile ilişkili bir diğer hastalık olan otizm ile de bağırsak bakterileri arasında ilişki olabileceği bildirilmiştir (Mulle ve ark., 2013). Zira otizm hastası her on kişiden dokuzunun yangısal bağırsak hastalığı ve sızdıran bağırsak sendromu gibi gastrointestinal problemlerden muzdarip olduğu rapor edilmiştir (Moyer, 2014). Kolon bakterilerinin otizm üzerine olan etkisini araştırmak için fareler üzerinde yapılan bir deneyde, öncelikli olarak sağlıklı farelere otizm benzeri davranışlar oluşturma için *mock* virüsü enjekte edilmiştir. Farelerde tekrarlayan yalanma ve diğer farelere karşı ilgiyi kaybetme gibi davranışların yanında bağırsak bariyerinin bozulması sonucu bağırsak içeriğinin kana sızması ile karakterize olan ve otistik çocuklarda da sıklıkla rastlanan “sızdıran bağırsak sendromu” tablosunun ortaya çıktığı gözlenmiştir. Farelere probiyotik tedavisi uygulandığında ise bağırsaklardaki mikrobiyel floranın dengelenmesi sonucunda, sızdıran bağırsak sendromunun belirtilerinin ortadan kalktığı görülmüştür. Bunun yanında tekrarlayan yalanma davranışının da kaybolduğu fakat asosyal davranışların devam ettiği gözlenmiştir. Dolayısıyla bağırsak bakterilerinin otizm hastalığının bazı belirtilerini ortadan kaldırabileceği ve rehabilitasyona katkı sağlayabileceği sonucuna varılmıştır (Wright, 2013).

2.2. Bağırsaklardaki İyi Huylu Bakteriler ile Kötü Huylu Bakteriler Arasındaki Denge ve Antibiyotikler

Kolondaki iyi huylu bakteriler ile kötü huylu bakteriler arasındaki denge stres, dengesiz beslenme, aşırı alkol kullanımı, yaşlılık ve antibiyotik kullanımına bağlı olarak bozulabilmektedir. Konvansiyonel olarak kullanılan antibiyotiklerin çoğu vücuttaki iyi huylu ve kötü huylu mikroorganizmaları ayırt etmeksizin etkileyebilmektedir. Antibiyotikler, bakterilerin toksonomik, genomik ve fonksiyonel özelliklerini değiştirebilmekte ve bu etkileri hızlı ve uzun süreli olabilmektedir. Bağırsaklardaki iyi huylu ve yerleşik mikroflora antibiyotiklerce bozulduğunda, *Clostridium difficile* ve *Salmonella typhimurium* gibi patojenler bağırsaklarda çoğalma imkanı bulmakta ve şiddetli ishale seyreden “ölümcül kolitis” gibi hastalıklara sebep olabilmektedirler (Bäumle ve Sperandio, 2016). Bu durumun sebeplerinden biri bağırsaklardaki yerleşik flora ile patojenlerin bazı substratların kullanımı için yarışmalarıdır (Şekil 2.4). Bilindiği gibi bağırsaktaki iyi huylu mikroorganizmalara ev sahipliği yapan mukus tabaka, aynı zamanda kolon bakterilerinin canlılıklarının devamı için gerekli siyalik asit ve fukoz gibi birçok besin maddesini de içinde barındırır (Ley, 2014). *Bacteriodes thetaiotaomicron* gibi iyi huylu kolon bakterilerinden bir bölümü, içinde bulunduğu mukus tabakasını katabolik enzimleri ile parçalayarak siyalik asit ve fukozyu serbestler ve bu substratları, onları serbestleme yeteneğine sahip olmayan diğer iyi huylu bakterilere kullanılabilir bir enerji kaynağı olarak sunar. Diğer bakteriler de bunun karşılığında *B. thetaiotaomicron*’un ihtiyacı olan substratları sentezlerler. Dolayısıyla bu bakteri ile bağırsaktaki diğer bakteriler arasında simbiyotik bir ilişki vardır. Fakat *C. difficile* ve *S. typhimurium* gibi bağırsak patojenlerinin birçoğu da siyalik asit ve fukozyu enerji kaynağı olarak sıklıkla tercih etmektedirler. Onlar da siyalik asidi ve fukozyu ayırabilen enzimlere sahip olmadıklarından, diğer yararlı bakteriler gibi *B. thetaiotaomicron*’un varlığına muhtaçtırlar. Ortamdaki diğer iyi huylu bakterilerin sayıca yetersiz olduğu durumlarda bu boşluğu fırsat bilen patojen mikroorganizmalar siyalik asit ve fukozyu tüketerek büyüme imkanı bulmaktadırlar (Ley, 2014). Uzun süreli antibiyotik kullanımları, iyi huylu bakterilerin ortamdaki uzaklaşmalarına sebep olduklarından patojen mikroorganizmalar için bir avantaj durumuna gelmektedir.

Sayısı artmış olan patojen mikroorganizmaların varlığında ise inflamasyon ve hastalıklar görülmektedir (Grenham ve ark., 2011). Söz konusu patolojik durumlara örnek olarak ülseratif kolitis, irritabl bağırsak sendromu ve kolon kanseri verilebilir (Trombetta ve ark., 2002). “İnflamatuvar bağırsak hastalığı”nın bir alt türü olan “Crohn’un hastalığı”nda iyi huylu bakteriler olan *Faecalibacterium prausnitzii* ve *Bifidobacterium adolescentis*’in sağlıklı kontrol grubu hastalarına göre daha düşük düzeyde, kötü huylulardan *Ruminococcus gnavus*’un ise daha yüksek düzeyde olduğu bildirilmiştir (Joossens ve ark., 2011). Kolon kanseri ve Alzheimer hastalarının bağırsak mikrofloralarında ise patojen bakteriler olan clostridia ve eubacterium türlerinin baskın olduğu buna karşılık iyi huylu laktik asit bakterilerinin ise oldukça düşük düzeyde kaldığı gözlenmiştir (Fujisawa ve ark., 1992). Uzun süreli antibiyotik kullanımına bağlı bağırsak florası bozulmuş ve enfekte olmuş hastalar prebiyotikler (yararlı mikroorganizmalar için besin kaynağı olan maddeler) probiyotikler (yararlı mikroorganizmalar) ya da fekal mikroorganizma transplantasyonu (FMT) ile tedavi edildiğinde yerleşik mikrofloranın yeniden yapılandığı ve yangı belirtilerinin ortadan kalktığı görülmüştür (Şekil 2.4) (Ley, 2014).



Şekil 2.4. Antibiyotik tedavisinin bağırsak mikroflorası üzerine etkileri (Ley, 2014). FMT: Fekal mikroorganizma transplantasyonu

Antibiyotik tedavisinin en iyi bilinen komplikasyonlarından bir diğeri de antibiyotik-ilişkili diyare (antibiotic-associated diarrhoea; AAD) hastalığıdır (Sekirov ve ark., 2010). Antibiyotik tedavisi ile bağırsaklardaki mikrobiyel dengenin bozulması sonucu *Clostridium difficile* patolojik olarak çoğalmakta bunun sonucunda bağırsaklardaki karbonhidrat metabolizması bozulmakta ve glikoz gibi ozmotik olarak aktif olan partiküllerin emilimi sekteye uğramaktadır. Bu hastaların bağırsaklarında bütirat üreten bakterilerin de azaldığı bildirilmektedir (Young ve Schmidt, 2004). Yapılan çalışmalar *Lactobacillus spp.*, *Enterococcus* ve *Saccharomyces boulardii*'den oluşan bir probiyotik tedavisinin antibiyotik-dirençli diyarenin tedavisinde etkili olduğunu göstermiştir (Surawicz, 2003).

Yapılan çalışmalar bebeklik ve çocukluk döneminde kullanılan antibiyotiklerin de bağırsaktaki mikrobiyel denge üzerine oldukça olumsuz etkileri olduğunu göstermiştir. Yenidoğanlara parenteral olarak yapılan antibiyotik tedavileri bifidobacteria türlerinin bağırsaklarda beklenenden daha az kolonize olmalarına ve bağırsak mikrobiyota kompozisyonunun bozulmasına neden olmuştur (Fouch ve ark., 2012; Hussey ve ark., 2011). Yaşamın erken dönemlerinde bağırsakların bakteriler ile etkin bir şekilde kolonizasyonu immun sistemin gelişimi için de oldukça önemli olduğundan, bu dönemde kullanılan antibiyotikler atopi ve alerjik astım gelişme riskini arttırmaktadır (Foliaki ve ark., 2009). Foliaki ve ark.'nın (2009) gerçekleştirdiği geniş ve çok merkezli bir çalışmada, yaşamın ilk bir yılında antibiyotik kullanımı ile 6 ve 7 yaşlarında ortaya çıkan astım, rinokonjunktivit ve egzema semptomları arasında bir ilişki olduğu ortaya konmuştur. Antibiyotik kullanımı genel olarak yetişkinlerde de bağırsaklardaki mikrobiyota çeşitliliğini azaltmaktadır (Claesson ve ark., 2011). Mikrobiyel floranın birkaç gün veya haftalar içerisinde tedavi öncesi durumuna dönebildiği bildirilmekle birlikte (Claesson ve ark., 2011) tedavinin kesilmesine rağmen mikrobiyel kompozisyonadaki değişikliğin uzun süreler boyunca kalıcı olduğunu ve hatta flora üyelerinden bazılarının kalıcı ve süresiz bir şekilde kaybolduğunu bildiren çalışmalar da mevcuttur (Croswell ve ark., 2009; Jakobsson ve ark., 2010). Bağırsaklardaki mikrobiyel dengenin antibiyotiklerle bozulması bağırsak bakterilerinin metabolik aktivitelerini de etkilemektedir. Antibiyotikle tedavi edilen farelerde karbonhidrat, nükleotid ve yağ metabolik

yolakları ile safra asidi, eikozonoid ve steroid hormon sentezleme kapasitelerinin bozulduğu ve bu yolakların son ürünlerinin bağırsaklardaki miktarının önemli derecelerde azaldığı gözlenmiştir (Antunes ve ark., 2011).

Günümüzde çeşitli enfeksiyonların tedavisinde geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı başvuru yaygın yöntemlerden birisidir. Geniş spektrumlu antibiyotik kullanımının dezavantajlarından biri bağırsaklardaki patojen mikroorganizmalarda antibiyotik direncinin oluşumuna neden olmalarıdır. Örneğin, klaritromisin ile tedavi edilen hastaların tedaviden bir yıl sonra klaritromisine yüksek derecede dirençli enterococci klonları taşıdıkları ve bu klonların da ermB adlı klaritromisin benzeri makrolitlere direnç genine sahip oldukları bildirilmiştir. Hastalardan birinde tedavinin kesilmesinden 3 yıl sonrasında bile antibiyotiğe dirençli bakteri klonlarının varlığı tespit edilmiştir (Jernberg ve ark., 2010).

2.3. Antibiyotiklerin Alternatifi Olarak Bitki Ekstraktları ve Sekonder Bitki Metabolitleri

Son yıllarda, bağırsak enfeksiyonlarının yerleşik mikroflora dengesi bozulmadan tedavi edilmesinde antibiyotiklere alternatif olarak üzerinde en çok durulan maddeler, antibiyotiklerle kıyaslandığında minimal yan etki ve toksisiteye sahip olan bitki ekstraktları ve ikincil biyoaktif bitki metabolitleridir. Özellikle son 20 yılı aşkın bir süredir antibiyotiklerin cazip bir alternatifi olarak üzerinde durulan bitki ekstraktlarının pazarı 1990'lardan itibaren hızla büyümeye başlamıştır. Örneğin Avrupa'da, bitki kökenli antimikrobiyel bileşenler olan eterik yağların 1996 yılındaki pazar değeri 413.000 Avro iken, bu değer 2006 yılında 1.643.000 Avro'ya ulaşmıştır (Greathead, 2003). Artan ilginin bir sonucu olarak son yıllarda yapılan pek çok fito-farmakolojik çalışma ile birçok bitkinin antibakteriyel, antiparaziter ve antiviral özellikleri olduğu ortaya konulmuştur (Pandey ve Kumar, 2013; Rios ve Recio, 2005).

Bitkiler; karbonhidratlar, yağlar ve proteinlerden oluşan primer metabolitlerden başka, besleyici değeri olmayan ve büyüme, gelişme ile üremeye doğrudan katkısı bulunmayan çeşitli organik bileşenler sentezlerler. Primer

metabolitler kadar yaygın olmayıp bitkiden bitkiye farklılıklar gösteren ve “ikincil metabolitler” olarak adlandırılan bu maddeler fotosentez, glikoliz ve sitrik asit döngüsü gibi primer metabolizmalardan türetilirler. Bitkiye özgü renk ve kokunun oluşumu dışında bitkiler arasında kimsayal haberleşmenin sağlanmasından da sorumludurlar. Stresör etkenlerin varlığında üretimleri artan ve geniş bir yelpazedeki bakteri, mantar ve parazite karşı antimikrobiyel etkinlik gösteren bu metabolitlerin en önemli işlevleri, bitkileri patojenlere, parazitlere, herbivorlara, yırtıcı hayvanlara ve kendi aralarındaki rekabete karşı korumaktır (Greathead, 2003; Jouany ve Morgavi, 2007). Adeta birer antibiyotik gibi iş gören ve fitokimyasallar olarak da adlandırılan bu metabolitler arasında karotenoidler, alkaloidler, fenolik asitler, flavonoidler ve tanenlerin de içinde bulunduğu fenolik bileşikler (Liu, 2004) saponinler ve eterik yağlar (Patra ve Saxena, 2009) yer alır. Bitki ekstraktlarında bol miktarda bulunan ve adeta doğal birer antibiyotik gibi iş gören bu metabolitlerin iyi huylu (kommensal) bakteriler üzerine zararlı etkiler oluşturmadığı bildirilmiştir (Park ve ark., 2005; Puupponen-Pimia ve ark., 2001). Örneğin, okyanus mersini (*Leptospermum scoparium*) tohumlarından izole edilen eterik yağlar bağırsak patojenlerinden *Clostridium difficile* ve *Clostridium perfringens*'i inhibe ederken *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium longum* ve *Lactobacillus casei* gibi iyi huylu kommensal bakteriler üzerine olumsuz etki oluşturmamıştır (Jeong, 2009). Aynı şekilde, Gallo Rhois'den ekstrakte edilen tanenlerden biri olan metil galat'ın *Clostridium perfringens* ve *Clostridium paraputrificum*'u inhibe ederken bifidobacteria ve lactobacilli gruplarını ise etkilemediği bildirilmiştir (Ahn ve ark., 1998). Bitki metabolitlerinin bağırsaklardaki iyi huylu bakterilerin üremesini uyararak prebiyotik etkiler oluşturma potansiyelleri de bulunmaktadır. Ginseng (*Panax ginseng* C. A. Meyer) ve yeşil çay (*Thea chinensis* L.) ekstraktları clostridia türlerini inhibe etmelerinin yanında iyi huylu bakterilerden bifidobacteria türlerinin üremesini ise stimule etmişlerdir (Ahn ve ark., 1990a; Ahn ve ark., 1990b; Ahn ve ark., 1990c). Üzüm asması (*Vitis vinifera*) ekstraktının da bağırsaklardaki iyi huylu bakterilerden olan *Lactobacillus acidophilus*'un üremesini uyardığı bildirilmektedir (Hervet-Hernandez ve ark., 2009). Thapa ve ark. (2012) da sekonder bitki metabolitleri olan eterik yağların bağırsaklardaki kommensal bakteriler ve patojenler üzerine etkilerini araştırmışlardır. Araştırmacılar, nerolidol, timol, öganol ve geraniol'un patojen

bakterilerden *Escherichia coli* O157:H7(VT), *Clostridium difficile* DSM1296, *Clostridium perfringens* DSM11780, *Salmonella typhimurium* 3530 ve *Salmonella enteritidis* S1400 üzerine olan yarım minimal inhibitör konsantrasyonlarının (IC₅₀) 50 ile 500 p.p.m arasında değiştiğini bildirmişlerdir. Ayrıca eterik yağların birçoğunun, patojenler üzerine iyi huylu bakterilerden daha büyük bir toksisite gösterdiği gözlemlenmiştir. Bununla birlikte, iyi huylu bakterilerden biri olan *Faecali bacterium prausnitzii*'nin, aynı ve hatta düşük dozlarda bile eterik yağlara patojen bakterilerden daha duyarlı olduğu bildirilmiştir. Eterik yağların bakteri grupları üzerine etkileri göz önünde bulundurularak dikkatli bir seçim yapıldığı takdirde, bağırsak bakterileri üzerine olan seçici etkilerinin bağırsak sağlığı üzerine olumlu etkiler oluşturabileceği sonucuna varılmıştır. Phoem ve Voravuthikunchai (2012) ise popüler bitki ekstraktları ve saf bitki metabolitlerinin bağırsaklardaki kommensal flora ile patojenik bakteriler üzerine etkilerini araştırmışlardır. Yeşil çay (*Camellia sinensis*) ekstraktı ve *Eleutherine americana* iyi huylu bakterileri etkilemezken Gram-pozitif patojenleri inhibe etmişlerdir. Saf bitki metabolitleri ise eleutherin hariç, iyi huylu ve patojen tüm bakteriler üzerine antibakteriyel etki göstermişlerdir. Yararlı bakterileri koruyup patojen bakterileri inhibe eden *E. americana* ekstraktı ve eleutherin'in bu özellikleri dolayısıyla konak canlıya fayda sağlayabileceği sonucuna varılmıştır (Phoem ve Voravuthikunchai, 2012). Ancak bitki ekstraktları yüzlerce farklı metabolitin kompleks birer karışımı olup içeriklerindeki etken maddelerin türü ve miktarı; bitkilerin kullanılan bölümü, hasat zamanı, işlenme biçimleri, saklanma koşulları ve ekstraksiyon yöntemi gibi faktörlere bağlı olarak değişiklik gösterebilmektedir (Cobellis ve ark., 2016). Ortaya çıkan olumlu etkiden ekstraktlar içerisinde bulunan hangi etken maddenin sorumlu olduğunu saptamak oldukça güç olduğundan bitkinin kendisi ya da ekstraktı yerine içeriğinde bulunan sekonder metabolitlerin ayrı ayrı etkilerinin araştırılmasının literatüre etkene yönelik daha belirgin ve bilimsel katkılar sağlayacağı düşünülmektedir.

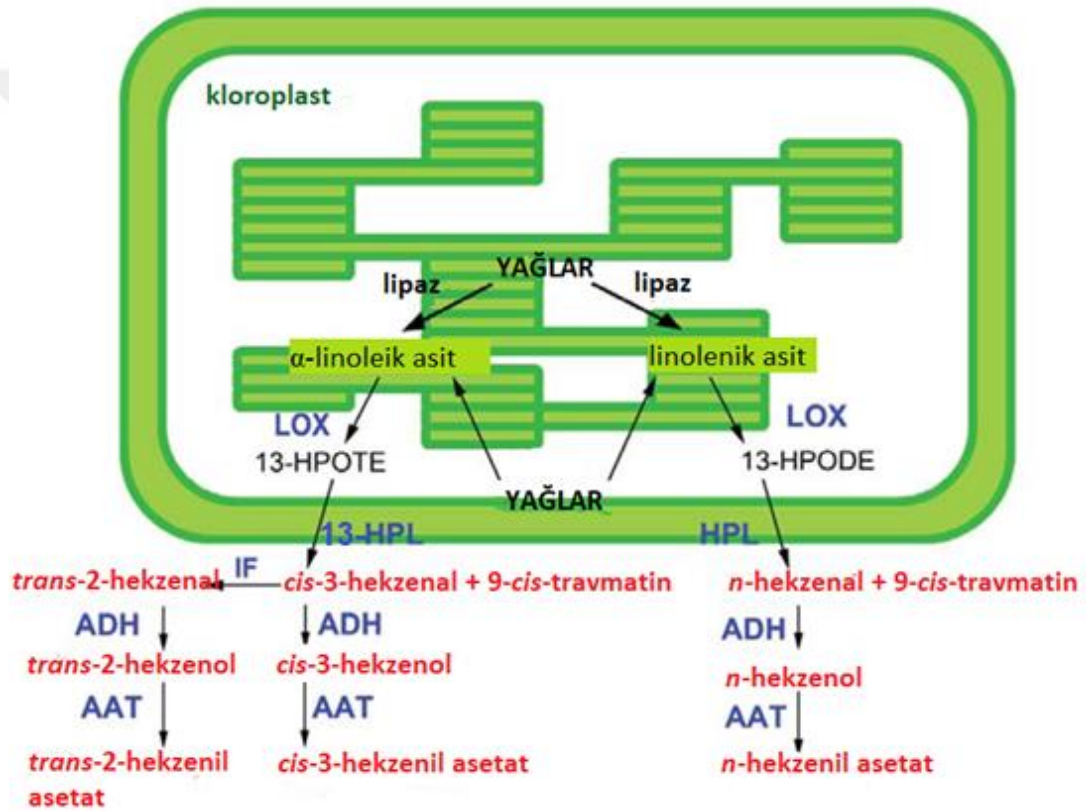
2.3.1. Yeşil Yaprak Uçucuları

“Yeşil yaprak uçucuları” (green leaf volatiles) olarak tanımlanan derivatlar bitkilerdeki yağ metabolizmasının son ürünleri olup C6 aldehit ve alkol bileşikleri ile bunların esterlerinden oluşurlar (Nakamura ve Hatanaka, 2002). Bitkilerin kesilme, kırılma, kırılma gibi zarar görmeleri ya da herbivor, patojen veya insekt saldırısına uğramalarını takip eden birkaç saniye içinde yeşil yaprak uçucuları salınmakta ve bu uçucular, çevreye yayılan çim kokusuna benzeyen taze kokudan ötürü “yeşil koku” (green odour) ya da “taze yeşil koku” (fresh green odor) olarak da anılmaktadırlar (Matsui, 2006). Yeşil yapraklı tüm bitkilerde sentezlenen bu bileşiklerin salınım miktarları sıcaklık, kuraklık, dölleme gibi çevresel stres faktörlerinin varlığında artış göstermektedir. Yeşil yaprak uçucuları, bitkilerin ve aynı zamanda insektlerin çevreyle ve birbirleriyle olan iletişimlerini sağlayan birer semiyokimyasal olarak iş görmelerinin yanında, haşere, patojen ve herbivor saldırılarına karşı bitkilerin en hızlı ve etkili silahları olarak görev yaparlar (Scala, 2013).

2.3.1.1. Yeşil Yaprak Uçucularının Biyosentezi

Doymamış yağ asitleri olan linolenik ve linoleik asitlerin oksilipin (lipooksijenaz) yolağında bir dizi enzimatik reaksiyondan geçerek oksitlenmesi sonucu oluşan yeşil yaprak uçucuları temel olarak dört adet C6 alifatik alkol (hekzenol, *trans*-2-hekzenol, *cis*-3-hekzenol ve *trans*-3 hekzenol) ile dört adet C6 aldehit bileşikten (hekzenal, *trans*-2-hekzenal, *cis*-3-hekzenal ve *trans*-3-hekzenal) oluşmaktadırlar (Nakamura ve Hatanaka, 2002). Yeşil yaprak uçucu bileşenlerinin biyosentez yolları genel olarak Şekil 2.5’de görüldüğü gibidir (Scala ve ark., 2013). Galaktolipitler üzerine lipazların etkisi ile α -linolenik ve linoleik asitler açığa çıkmaktadır. 13-lipooksijenaz (LOX) enzimi, α -linolenik asite oksijen ekleyerek 13(S)-hidroperoksi 9-*cis*,11-*trans*,15-*cis*-oktadekatrienoik asit ya da diğer ismi ile 13-hidroperoksit (13-HPOTE) sentezlenmesini katalizler. 13-HPOTE, 13-hidroperoksit liyaz (13-HPL) enzimi ile *cis*-3-hekzenal ve 9-*cis*-travmatine dönüşür. Bir izomerizasyon faktörü olan (3-*cis*):(2-*cis*)-enal izomeraz (IF), *cis*-3-hekzenal’ın izomeri olan *trans*-2-hekzenal’a dönüşümünden sorumludur. *Cis*-3-hekzenal ve *trans*-2-hekzenal, alkol dehidrogenaz (ADH) enzimi ile sırasıyla *cis*-3-hekzonol ve

trans-2-hekzenol'a indirgenir. *Cis*-3-hekzenol ve *trans*-2-hekzenol ise alkol asiltransferaz (AAT) enzimi ile *cis*-3-hekzenil asetat ve *trans*-2-hekzenil asetat'a dönüşür. Diğer taraftan, 13-lipooksijenaz (LOX) enzimi ise linoleik asite oksijen ekleyerek 13(S)-hidroperoksi 9-*cis*,11-*trans*-oktadekatrienoik (13-HPODE) sentezlenmesini katalizler. 13-HPODE, 13-HPL enzimi ile *n*-hekzenal ve 9-*cis*-travmatin'e dönüştürülür. *n*-hekzenal, alkol dehidrogenaz enzimi (ADH) ile *n*-hekzenol'e çevrilir. *n*-hekzenol'den ise alkol akil transferaz ile *n*-hekzenil asetat oluşturulur (Scala ve ark., 2013).



Şekil 2.5. Yeşil yaprak uçucularının biyosentez yolları (Scala ve ark., 2013). LOX: lipooksijenaz, 13-HPOTE: 13-hidroperoksit, 13-HPODE: 13(S)-hidroperoksi 9-*cis*,11-*trans*,15-*cis*-oktadekatrienoik asit, 13-HPL: 13-hidroperoksit liyaz, IF: izomerizasyon faktörü, ADH: alkol dehidrogenaz, AAT: alkol asiltransferaz

Oksilipin yolağında şekillenen 1,2-dimetil hidroperoksit gibi ara ürünler ve *trans*-2-dekanal ve *trans*-2-nonenal gibi uzun zincirli C9 aldehytler de yeşil yaprak uçucularına dahil olan derivatlardandır (Lee ve ark., 2007). LOX enziminin farklı bir türü, 9-hidroperoksitlerin oluşumunu katalizlemektedir. Hem 9-hidroperoksitler hem

de 13-hidroperoksitler, HPL (9/13 HPL) enzimi tarafından ayrıştırılarak C9 aldehyitler olan *trans*-2-nonenal ve *trans*-2-dekanal'a dönüştürülürler (Matsui, 2006).

2.3.1.2. Yeşil Yaprak Uçucularının Antimikrobiyel Etkileri

Yeşil yaprak uçucularının, bitkilerden, patojenlerin neden olduğu biyotik strese cevap olarak salındıklarına dair pek çok örnek vardır. Örneğin; lima fasulyesi yapraklarının patojenik bakterilerden *Pseudomonas syringae* pv *phaseolicola* ile enfekte edildiğinde *trans*-2-hekzenal ve *cis*-3-hekzenol saldığı bildirilmektedir (Croft ve ark., 1993). *Nicotiana tabaccum* (tütün bitkisi) de aynı bakteri ile enfekte edildiğinde *trans*-2-hekzenal sentezleyerek salmaktadır (Heiden ve ark., 2003). Her iki örnekte de yeşil yaprak uçucularının salınımı, bitkilerin enfekte edilmesini takiben bakterinin bölünme fazında olduğu 18-20. saatlerde başlamakta ve 3 gün sürmektedir. Yeşil yaprak uçucuları bakteriler dışında bitkilerin mantar enfeksiyonlarında da salınmaktadırlar. *Cis*-3-hekzenal, *trans*-2-hekzenal, *cis*-3-hekzenol, *trans*-2-hekzenol ve *cis*-3-hekzenil asetat gibi yeşil yaprak uçucu bileşenlerinin, mısır bitkisi tarafından *Fusarium* spp. enfeksiyonunu takip eden 3 gün içinde salındığı ve 7.günde halen yüksek düzeylerde olduğu bildirilmiştir (Piesik ve ark., 2011). *Arabidopsis* (fare kulağı teresi) bitkisinin *Botrytis cinerea* ile enfekte edilmesini takiben ise *cis*-hekzenal, *trans*-2-hekzenal ve *n*-hekzenal salınımı gerçekleşmektedir (Kishimoto ve ark., 2008).

Yeşil yaprak uçucularının, bitkilerin mikrobiyel saldırı veya hasara maruz kaldıklarında salınıyor olmaları adı geçen bileşiklerin kuvvetli antimikrobiyel özelliğe sahip olabileceklerini akla getirmiştir. Nitekim yapılan çalışmalar ile yeşil yaprak uçucularının antifungal özelliklerinin yanı sıra (Neri ve ark., 2006a; Neri ve ark., 2006b) deri, solunum ve gastrointestinal kanala yerleşen birçok Gram-pozitif ve Gram-negatif bakteri grubu üzerine geniş yelpazede antibakteriyel etkilerinin olduğu ortaya konmuştur (Bisignano ve ark., 2001; Kubo ve ark., 1995; Kubo ve Kubo, 1995).

Yeşil yaprak uçucularından *trans*-2-hekzenal'ın *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis* ve *Listeria monocytogenes*'e karşı yüksek derecede bakterisidal etkinliğe

sahip olduğu bildirilmiştir (Lanciotti ve ark., 2003). Karşılaştırmalı bir antibakteriyal aktivite testinde ise en ylık etkinliğe sahip yeşil yaprak uçucularının *cis*-3-hekzenal ve *trans*-3-hekzenal olduğu gözlenmiştir (Nakamura ve Hatanaka, 2002). Bu ęalıřmada, *cis*-3-hekzenal'ın *Staphylococcus aureus* IFO 12732 ve metisiline direnęli *S. aureus* zerine en dşlk inhibitör konsantrasyona sahip bileşen olduğu rapor edilmiştir. İlgili bileşenlerin antibakteriyel etkinliği, α , β -doymamış karbonil paręalarının bakteriyel proteinlerdeki sülfidril ve amino gibi nükleofilik gruplara ylık bağlanma affinitesi ile ilişkilendirilmiştir (Almras ve ark., 2003). *Trans*-2-hekzenal ve *trans*-2-nonenal'ın ylık derecede antimikrobiyel aktivitesine karşın hekzenal ve nonenal'ın bu özellikten tamamen yoksun olmaları, ilgili hipotezi desteklemektedir (Trombetta ve ark., 2002). Yeşil yaprak uçucularına dahil olan alkol bileşikler de gğl antibakteriyal etkinliğe sahip olmakla birlikte, aldehit bileşiklerin bakteriyostatik etkilerinin alkol bileşiklerine nazaran belirgin bir şekilde daha kuvvetli olduğu bildirilmiştir (Nakamura ve Hatanaka 2002). Yeşil yaprak uçucularından bazı bileşenlerin geviş getiren hayvanların n midelerindeki Gram-pozitif bakteriler üzerine de antimikrobiyel etkinlik gösterdiklerini bildiren ęalıřmalar mevcuttur (Demirtas ve ark., 2019; Huws ve ark., 2013). Yeşil yaprak uçucularının bazı bağırsak patojenleri üzerine etkileriyle ilgili sınırlı sayıda ęalıřma bulunmakla birlikte (Bisignano ve ark., 2001; Kubo ve ark., 1995; Nakamura ve Hatanaka, 2002) bu bileşiklerin bağırsaklardaki iyi huylu bakteriler üzerine etkileri ile ilgili herhangi bir literatüre rastlanamamıştır.

2.4. Minimal İnhibitör Konsantrasyon (MİK)

Minimal inhibitör konsantrasyon (MİK), antimikrobiyel etkili bir maddenin, 1 günlük (24 saatlık) inkübasyon sresinin sonunda, bir mikroorganizmanın gözle görülür üremesini durduran en dşlk konsantrasyonudur. MİK değerleri genel olarak 2 temel yöntemle belirlenir. Bunlar sıvı dilüsyon ve agar dilüsyon yöntemleridir. Sıvı dilüsyon yönteminin de makrodilüsyon (tp) ve mikrodilüsyon olmak üzere 2 türü vardır. Mikrodilüsyon yönteminde etken maddenin farklı konsantrasyondaki dilüsyonları, her biri en fazla 500 μ l kapasiteli olan mikropłaka kuyucuklarına dağıtılır (Sümerkan ve Gökahmetođlu, 1998). Her bir kuyucuğa eřit miktarda bakteri

eklendikten sonra inkübasyona bırakılan kuyucuklardaki bakteriyel üreme optik dansite ölçen cihazlarla belirlenir. Optik dansitenin 0 (Bussmann ve ark., 2010) ya da $\leq 0,1$ (Kang ve ark., 2008) olduğu kuyucuktaki etken madde konsantrasyonu MİK değeri olarak kabul edilir.

Tez çalışmamızın amacı, antimikrobiyel etkiye sahip yeşil yaprak uçucularının bağırsak mikroflorasına dahil olan iyi huylu (kommensal) ve kötü huylu (patojen) bakteriler üzerine inhibe edici ve uyarıcı etkilerini, MİK değerlerini belirleyerek araştırmaktır. Bu amaçla, yeşil yaprak uçucularına dahil olan aldehit bileşiklerden *trans*-2-hekzenal, *cis*-3-hekzenal, *trans*-2-nonenal ve *trans*-2-dekanal'ın iyi huylu bağırsak bakterilerinden *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum*, *Lactobacillus acidophilus* ve *Lactobacillus casei* ile bağırsak patojenlerinden *Fusobacterium nucleatum*, *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* ve *Salmonella typhimurium* üzerine olan MİK belirlenmiştir.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Kullanılan Yeşil Yaprak Uçucuları

Çalışmamızda yeşil yaprak uçucularına dahil olan saf aldehit bileşiklerden *cis*-3-hekzenal (W256102), *trans*-2-nonenal (W321303) ve *trans*-2-dekanal (W236608) Sigma-Aldrich'ten, *trans*-2-hekzenal (A11513) ise Alfa Aesar'dan temin edilmiştir.

3.2. Bakteri Suşları, Kullanılan Besiyerleri ve Kültür Koşulları

Çalışmamızda iyi huylu bağırsak bakterilerinden *Bifidobacterium bifidum* ATCC 29521, *Bifidobacterium longum* ATCC 15697, *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 ve *Lactobacillus casei* ATCC 393 kullanılmıştır. Kötü huylu-patojen bakterilerden ise *Fusobacterium nucleatum* ATCC 25586, *Clostridium perfringens* ATCC 13124, *Staphylococcus aureus* ATCC 12600, *Escherichia coli* ATCC 11775 ve *Salmonella typhimurium* ATCC 29630 kullanılmıştır.

Kullanılan anaerob bakterilerden *L. acidophilus*, MRS (Mann Rogosa Sharpe) sıvı besiyerinde, *B. bifidum* ise % 0,05 oranında sistein ilave edilmiş MRS sıvı besiyeri içerisinde (MRS-C) büyütülmüştür. *E. coli* ve *S. typhimurium* için Luria–Bertani (LB) besiyeri, *S. aureus* için ise TSB besiyeri (tryptic soy broth) kullanılmıştır. *B. longum*, *L. casei*, *C. perfringens* ve *F. nucleatum* için anaerobik bir besiyeri olan ve kaziton yerine triptikaz pepton eklenerek modifiye edilen Medyum 2 (Hubson, 1969) kullanılmıştır (Tablo 3.1). Medyum 2'nin içerisinde bir besiyeri bileşeni olarak bulunan rumen sıvısı önceden mezbahaneden taze olarak alınmış ve termos kaplar içerisinde laboratuvara transferi gerçekleştirilmiştir. Laboratuvarda steril gazlı bezler ile süzme işlemine tabi tutulduktan sonra 15 ml'lik tüplere alınarak 15000 rpm'de oda sıcaklığında santrifüj edilmiş ve berrak supernatant besiyeri bileşeni olarak kullanılmıştır (Şekil 3.1). Hazırlanan besiyeri (pH 6,7-7,0) su banyosunda 65 °C'ye kadar kademeli olarak ısıtılırken yaklaşık 45 dakika süreyle CO₂ gazı uygulanmış ve böylece içerisindeki oksijen uzaklaştırılmıştır (Şekil 3.2). Besiyeri içerisinde bulunan ve bir redoks potansiyeli indikatörü olan resazurin'in

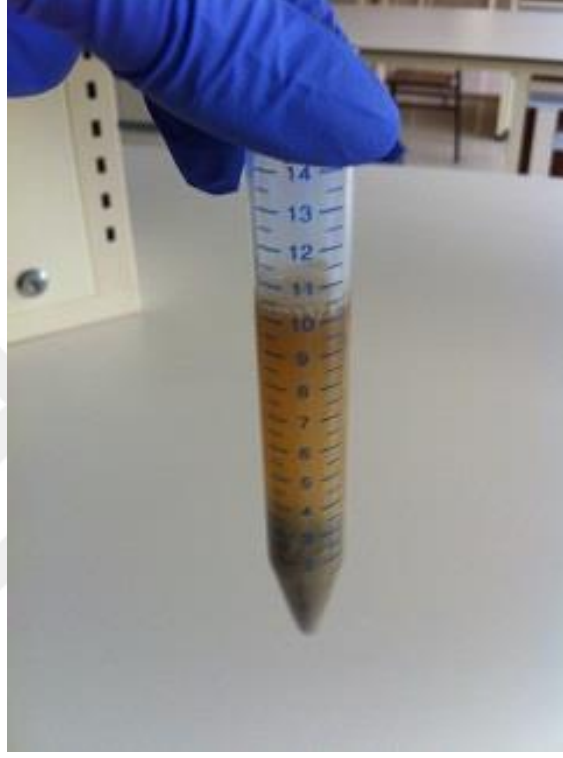
besiyerinin rengini mavimsi mor renkten donuk sarı renge dönüştürmesi ortamdaki oksijenin uzaklaştığının göstergesi olarak kabul edilmiştir (Şekil 3.3). Bu işlemden sonra ağzı sıkıca kapatılan ve otoklavlanan (121°C’de 15 dakika) besiyeri anaerobik kabine (Whitley DG250, Don Whitley, West Yorkshire, UK) (Şekil 3.5) konulmuş ve bakteri inokülasyonundan önce en az bir gece süreyle kabin içerisinde 37 °C’de bekletilmiştir. Bakterilerin üretileceği ağzı kapaklı tüpler de en az 12 saat öncesinde anaerobik kabine yerleştirilmek suretiyle içlerinde bulunan oksijenin uzaklaşması sağlanmıştır.

Tablo 3.1. Zorunlu anaerob bağırsak bakterileri için kullanılan Medyum 2’nin içeriği (100 ml)

Besiyeri bileşeni	
Tryptikaz pepton (BD 211921 Bacto™)	1,0 g
Maya özütü (Sigma Y1625)	0,25 g
Mineral solüsyon 1*	15 ml
Mineral solüsyon 2**	15 ml
Berrak rumen sıvısı	20 ml
Resazurin (Sigma R7017)	0,0001 g
Sodyum laktat (%70 w/v)	1,0 g
Glikoz	0,2 g
Maltoz	0,2 g
Sellobiyoz (Sigma 22150)	0,2 g
Sistein HCl (Sigma C7880)	0,05 g
NaHCO ₃ (Sigma S5761)	0,4 g
Deiyonize su	100 ml’ye tamamlayacak miktarda
*Mineral solüsyon 1: 3 g/l K ₂ HPO ₄ (Sigma P3786)	
**Mineral solüsyon 2: 3 g/l KH ₂ PO ₄ (Sigma P9791), 6 g/l (NH ₄) ₂ SO ₄ (Sigma A4915), 6 g/l NaCl (Sigma S7653), 0,6 g/l MgSO ₄ •7H ₂ O (Sigma 230391) ve 0,6 g/l CaCl ₂ (Sigma C1016)	

Kullanılan bakterilerden fakültatif anaerob olan *E. coli*, *S. typhimurium* ve *S. aureus* inkübatör içerisinde (Memmert IN160) 37°C’de üretilmiştir. Zorunlu anaerob olan diğer bağırsak bakterileri ise anaerobik kabin (Whitley DG250) içinde, % 80 N₂, % 10 CO₂ ve % 10 H₂ gazları tarafından oluşturulan anaerobik bir atmosfer altında 37 °C’de 24-48 saat süreyle büyütülmüşlerdir. Gözle ayırt edilen bulanıklık dışında densitometrede (Den-1B, Biosan) McFarland yoğunluk değerinin başlangıçtaki değere göre (yaklaşık McFarland 4,5-5) artışı (McFarland 8-14) üreme göstergesi olarak kabul edilmiştir (Şekil 3.4). Büyüyen bakteri kültürlerinden alınan 25 µl’lik

inokulum MİK testinde kullanılmak üzere 10 ml'lik anaerobik sıvı besiyeri içerisine inokule edilerek 37°C'de 24 saat süreyle tekrar üretilmiştir. Geriye kalan bakteri kültüründen ise % 15 (v/v)'lik gliserol uygulaması ile 2 ml'lik vida kapaklı özel steril kriyo tüplerde gerektiğinde tekrar kullanılmak üzere stoklar oluşturulmuş ve -80°C'de ultra derin dondurucuda muhafaza edilmiştir.



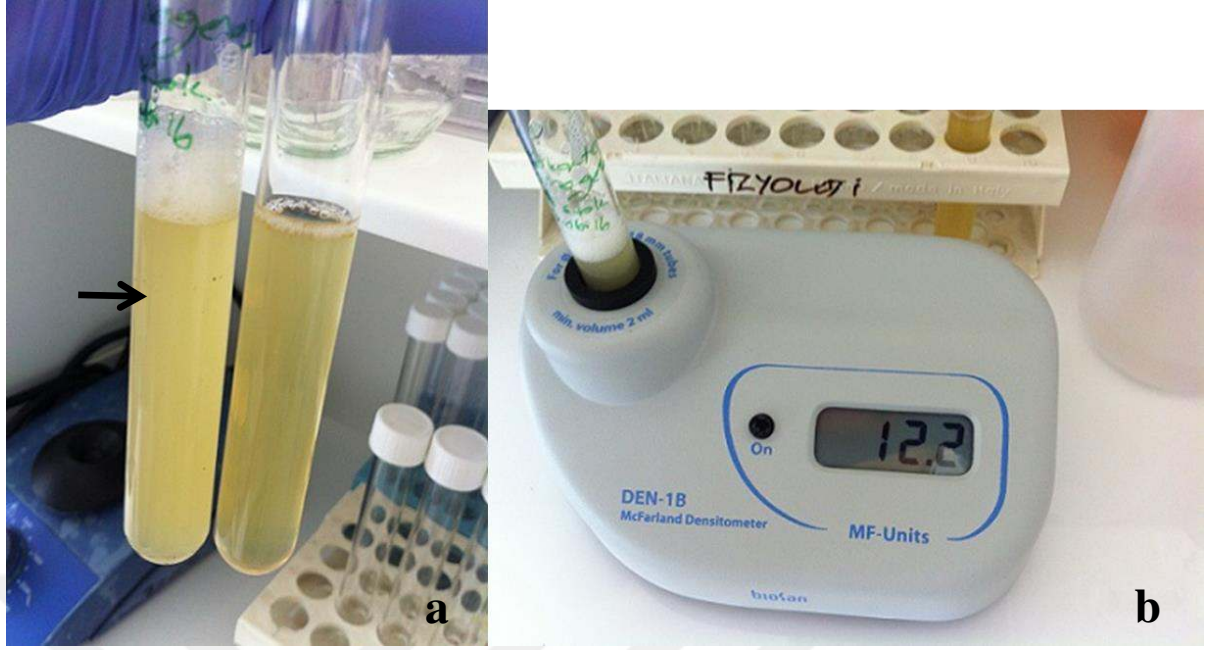
Şekil 3.1. Besiyeri bileşeni olarak kullanılan berrak rumen sıvısı



Şekil 3.2. Besiyerinin karbondioksitle doyurulması



Şekil 3.3. Besiyerinin karbondioksitle doyurulma öncesi (a) ve sonrası (b) görünümü



Şekil 3.4. Üremiş bakteri suşunda gözle ayırt edilen bulanıklık (a) ve McFarland yoğunluk değeri (b)

3.3. Minimal İnhibitör Konsantrasyon (MİK) Tayini

Yeşil yaprak uçucularının zorunlu anaerob bağırsak bakterileri üzerine MİK değerleri Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı'nda bulunan anaerobik kabin (Whitley DG250) (Şekil 3.5) içerisinde, Klinik Laboratuvar Standartları Enstitüsü (Clinical Laboratory Standards Institute, CLSI) (CLSI, 2016) kriterleri temel alınarak mikrodilüsyon yöntemi ile belirlenmiştir. Fakültatif anaerob olan *E. coli*, *S. typhimurium* ve *S. aureus* için ise biyogüvenlik kabini ClassII A2 (Bilser BLF 2000) kullanılmıştır. Yeşil yaprak uçucuları etanol içerisinde çözündürülerek % 50 (v/v) konsantrasyonda stok solüsyonlar hazırlanmıştır. Hazırlanan stok solüsyonlardan ilgili bakterinin üretildiği besiyeri içerisinde (1000, 500, 250, 125, 62,5; 31,3; 15,6; 7,8 ve 3,9 µg/ml) seri dilüsyonlar elde edilmiştir. Anaerobik kabinde 96-kuyucuklu steril ve kapaklı mikrolakaların (Corning 3599, Flatbottom) her kuyucuğuna 200 µl miktarında eklenmiştir (Tablo 3.2). Üzerine sıvı besiyerinde üretilen 4×10^{10} hücre/ml yoğunluktaki bakteriden 20 µl inokule edilmiştir (Tablo 3.2). Kuyucuk başına inokule edilen bakteri miktarını belirlemek üzere bakteri kültüründen alınan örnek, besiyeri ile 10 kat sulandırıldıktan sonra 1:9 oranında uygulanan % 37'lik

formaldehitte tespit edilmiştir. Faz-kontrast mikroskobu (Olympus CX41) kullanılarak Thoma bakteri sayım lamında (derinlik: 0.02 mm, küçük kare alanı: 0.0025 mm²) bakteri sayımı yapılmış ve ortalama sayı yaklaşık 4×10^{10} hücre/ml olarak belirlenmiştir. Her bir örnek konsantrasyonu için üç kuyucuk kullanılmış ve her bir test örneği için besiyeri kontrolü ve üreme kontrolü (0 konsantrasyon) kuyucukları bulundurulmuştur (Tablo 3.2). Mikroplakalar anaerobik kabin içerisinde 37 °C’de 24 saat süreyle (*E. coli*, *S. typhimurium* ve *S. aureus* ise inkübatör içerisinde 37 °C’de) inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda mikrobiyel gelişme, Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Bilimsel ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi’nde bulunan mikrolaka okuyucusu (Epoch, BioTek) kullanılarak 600 nm’de belirlenmiştir. Mikrobiyel gelişmenin olmadığı ve OD₆₀₀ değerinin $\leq 0,1$ bulunduğu en düşük madde konsantrasyonu MİK değeri olarak kabul edilmiştir.



Şekil 3.5. Çalışmada kullanılan anaerobik kabin (Whitley DG250, Don Whitley, West Yorkshire, UK)

Tablo 3.2. Mikrodilüsyon yönteminde kullanılan 96-kuyucuklu mikroplakaların çalışmadaki düzeni

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	B	B+Bak (0)	3,9 Bak	7,8 Bak	15,6 Bak	31,3 Bak	62,5 Bak	125 Bak	250 Bak	500 Bak	1000 Bak	
B	B	B+Bak (0)	3,9 Bak	7,8 Bak	15,6 Bak	31,3 Bak	62,5 Bak	125 Bak	250 Bak	500 Bak	1000 Bak	
C	B	B+Bak (0)	3,9 Bak	7,8 Bak	15,6 Bak	31,3 Bak	62,5 Bak	125 Bak	250 Bak	500 Bak	1000 Bak	
D	B	B+Bak	3,9 Bak	7,8 Bak	15,6 Bak	31,3 Bak	62,5 Bak	125 Bak	250 Bak	500 Bak	1000 Bak	
E	B	B+Bak	3,9 Bak	7,8 Bak	15,6 Bak	31,3 Bak	62,5 Bak	125 Bak	250 Bak	500 Bak	1000 Bak	
F	B	B+Bak	3,9 Bak	7,8 Bak	15,6 Bak	31,3 Bak	62,5 Bak	125 Bak	250 Bak	500 Bak	1000 Bak	
G	B	B+Bak	3,9 Bak	7,8 Bak	15,6 Bak	31,3 Bak	62,5 Bak	125 Bak	250 Bak	500 Bak	1000 Bak	
H	B	B+Bak	3,9 Bak	7,8 Bak	15,6 Bak	31,3 Bak	62,5 Bak	125 Bak	250 Bak	500 Bak	1000 Bak	

B: Besiyeri, Bak: Bakteri, 1. kuyucuk: Besiyeri kontrol kuyucuğu, 2. kuyucuk: Üreme kontrol kuyucuğu, 3-11. kuyucuklar: Etken maddenin seri dilüsyonlarının eklendiği kuyucuklar

3.4. İstatistiksel Analizler

İstatistiksel analizler Minitab 15 programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Araştırmaya ait veriler varyans analizi ile (one-way ANOVA) değerlendirilmiş ve devamında etken madde içermeyen kontrol grubu (0 µg/ml) ile farklı konsantrasyonlarda etken madde içeren deneme grupları arasındaki farklılıkların önem derecesi Dunnett testi ile belirlenmiştir. Önemlilik derecesi olarak $P < 0,05$ düzeyi kullanılmıştır.

4. BULGULAR

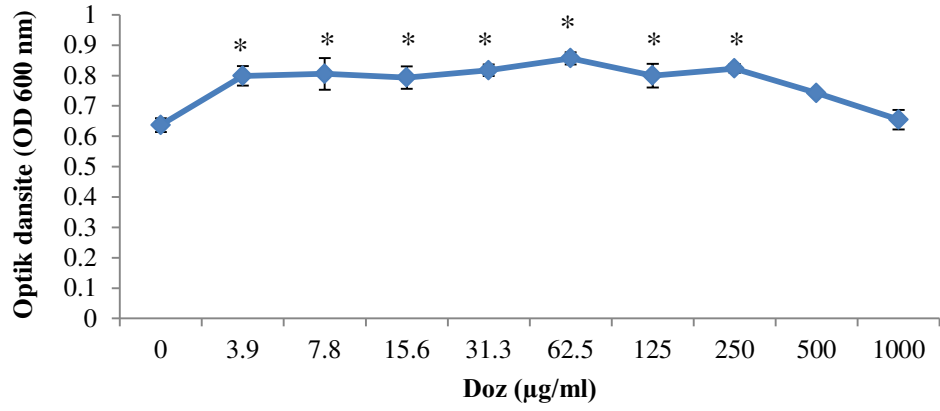
Yeşil yaprak uçucularının iyi huylu ve kötü huylu bağırsak bakterileri üzerine uyarıcı (stimilatör) ve baskılayıcı (inhibitör) etkileri Şekil 4.1-4.36'de ve Tablo 4.2-4.10'da verilmiştir. Yeşil yaprak uçucularının MİK değerleri ise Tablo 4.1'de özetlenmiştir. İyi huylu bakterilerden *B. longum* tüm yeşil yaprak uçucuları tarafından 1000 µg/ml dozunda baskılanırken, *trans*-2-dekanal aynı dozda tüm iyi huylu bağırsak bakterilerini baskılamıştır. Kötü huylu bağırsak bakterilerinden *F. nucleatum*, tüm yeşil yaprak uçucuları tarafından 500 µg/ml dozda baskılanmıştır. *Cis*-3-hekzenal ve *trans*-2-nonenal *C. perfringens*'i 1000 µg/ml dozda, *trans*-2-dekanal ise *C. perfringens* ve *S. aureus*'u 500 µg/ml dozda baskılamıştır. Kullanılan yeşil yaprak uçucuları *E. coli* ve *S. typhimurium*'un üremesini baskılayamamışlardır.

4.1. Yeşil Yaprak Uçucularının İyi Huylu (Kommensal) Bağırsak Bakterileri Üzerine Etkileri

Araştırmamızda iyi huylu bağırsak bakterilerinin yeşil yaprak uçucularına karşı, kötü huylu bakterilere göre daha dirençli olduğu gözlenmiştir. *Trans*-2-hekzenal, *cis*-3-hekzenal ve *trans*-2-nonenal *B. longum* dışındaki diğer iyi huylu bakteriler üzerine baskılayıcı etki oluşturmamıştır (Tablo 4.1).

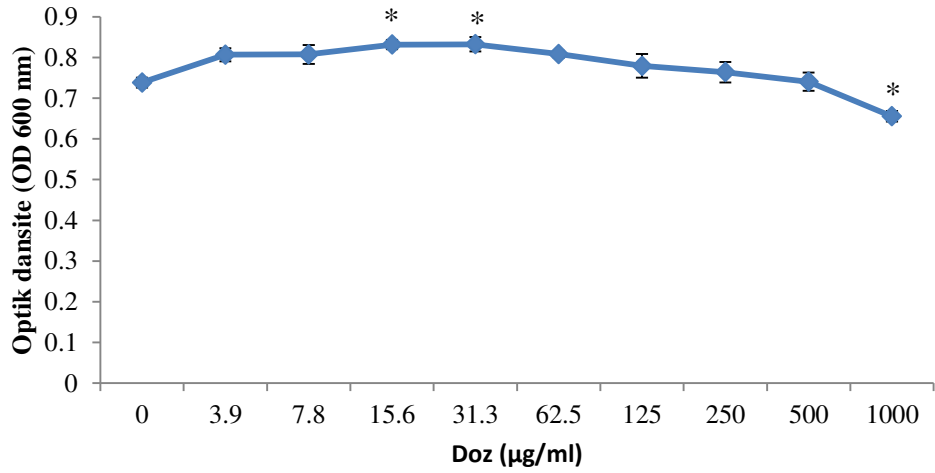
İyi huylu bakterilerden *B. bifidum*'un üremesi *trans*-2-hekzenal (Şekil 4.1) ve *trans*-2-dekanal (Şekil 4.4) tarafından 3,9-250 µg/ml dozlarında, *cis*-3-hekzenal (Şekil 4.2) tarafından 15,6 ve 31,3 µg/ml dozlarında ve *trans*-2-nonenal (Şekil 4.3) tarafından ise 3,9-500 µg/ml dozlarında uyarılmıştır ($P<0,05$). *Cis*-3-hekzenal ve *trans*-2-nonenal 1000 µg/ml dozunda *B. bifidum* üzerine antimikrobiyel etki göstermiş olmakla birlikte ($P<0,05$) bu bakterinin üremesi sadece *trans*-2-dekanal tarafından 1000 µg/ml dozunda baskılanmıştır ($P<0,05$) (Tablo 4.2).

Trans-2-hekzenal

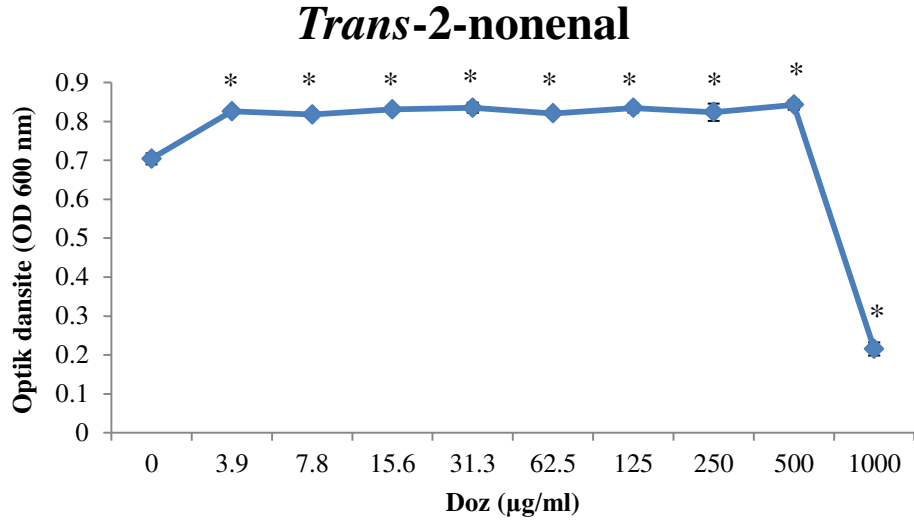


Şekil 4.1. *Trans*-2-hekzenal'ın *Bifidobacterium bifidum* üzerine uyarıcı/baskılayıcı etkileri. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edilmiştir. İstatistiksel olarak ($P < 0,05$) optik dansitenin kontrol grubundan (0 µg/ml) farklı olduğu konsantrasyonlar * ile işaretlenmiştir.

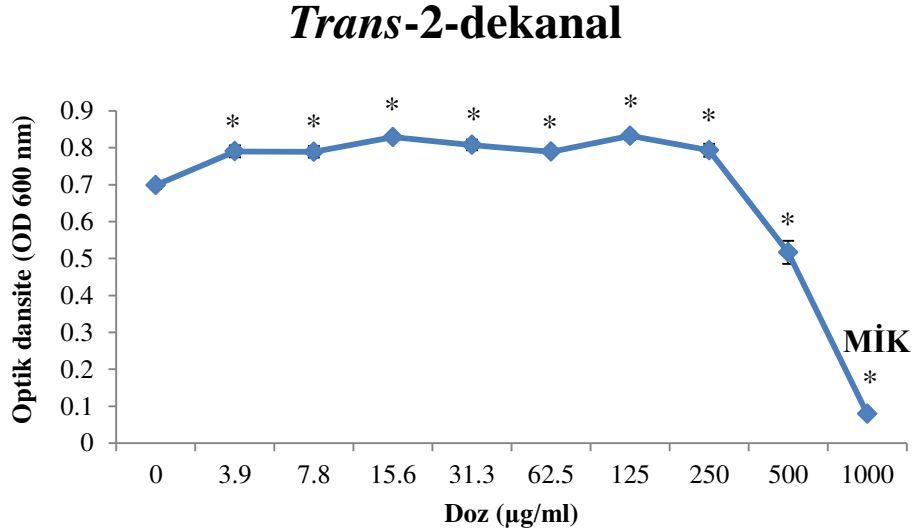
Cis-3-hekzenal



Şekil 4.2. *Cis*-3-hekzenal'ın *Bifidobacterium bifidum* üzerine uyarıcı/baskılayıcı etkileri. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edilmiştir. İstatistiksel olarak ($P < 0,05$) optik dansitenin kontrol grubundan (0 µg/ml) farklı olduğu konsantrasyonlar * ile işaretlenmiştir.



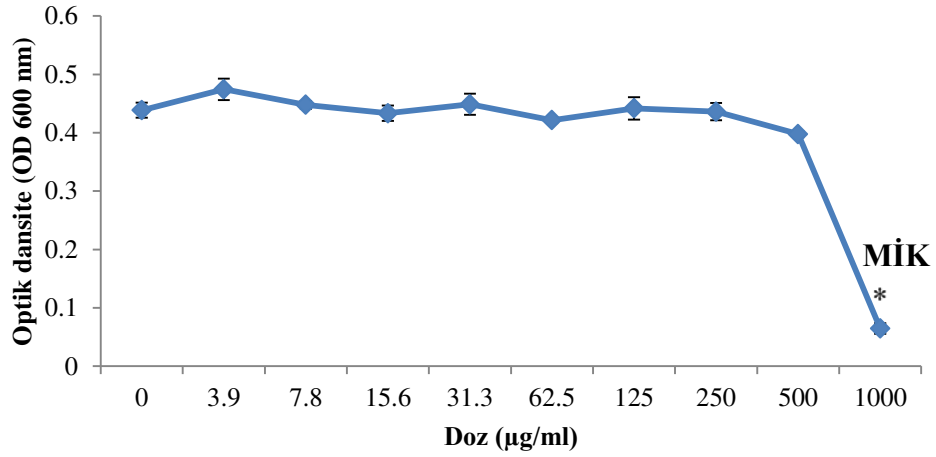
Şekil 4.3. *Trans*-2-nonenal'ın *Bifidobacterium bifidum* üzerine uyarıcı/baskılayıcı etkileri. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edilmiştir. İstatistiksel olarak ($P<0,05$) optik dansitenin kontrol grubundan (0 $\mu\text{g/ml}$) farklı olduğu konsantrasyonlar * ile işaretlenmiştir.



Şekil 4.4. *Trans*-2-dekanal'ın *Bifidobacterium bifidum* üzerine uyarıcı/baskılayıcı etkileri. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edilmiştir. İstatistiksel olarak ($P<0,05$) optik dansitenin kontrol grubundan (0 $\mu\text{g/ml}$) farklı olduğu konsantrasyonlar * ile işaretlenmiştir. MİK: Minimal inhibitör konsantrasyon

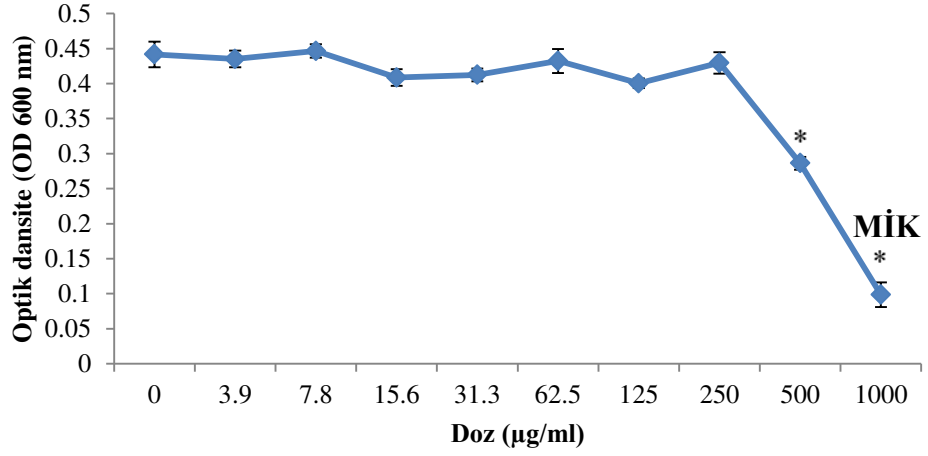
İyi huylu bakterilerden *B. longum* üzerine yeşil yaprak uçucularının uyarıcı etkilerinin olmadığı gözlenmiştir. Bunun yanında, yeşil yaprak uçucularından *trans*-2-dekanal 7,8-500 µg/ml ($P<0,05$; Şekil 4.8), *trans*-2-nonenal 125-500 µg/ml ($P<0,05$; Şekil 4.7) ve *cis*-3-hekzenal 500 µg/ml konsantrasyonlarında ($P<0,05$) (Şekil 4.6) antimikrobiyel etki göstermiş olmakla birlikte, kullanılan tüm yeşil yaprak uçucuları bu bakteriyi 1000 µg/ml dozunda baskılamışlardır ($P<0,05$; Şekil 4.5, 4.6, 4.7 ve 4.8) (Tablo 4.3).

***Trans*-2-hekzenal**



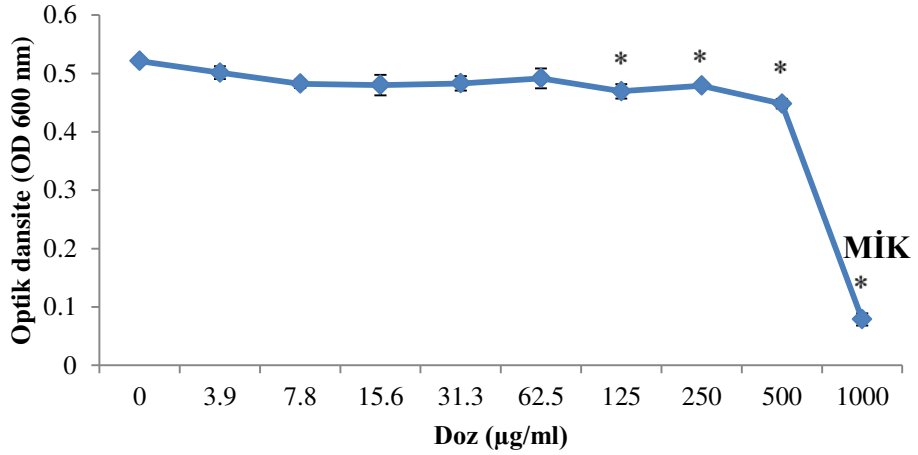
Şekil 4.5. *Trans*-2-hekzenal'ın *Bifidobacterium longum* üzerine uyarıcı/baskılayıcı etkileri. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edilmiştir. İstatistiksel olarak ($P<0,05$) optik dansitenin kontrol grubundan (0 µg/ml) farklı olduğu konsantrasyonlar * ile işaretlenmiştir. MİK: Minimal inhibitör konsantrasyon

Cis-3-hekzenal



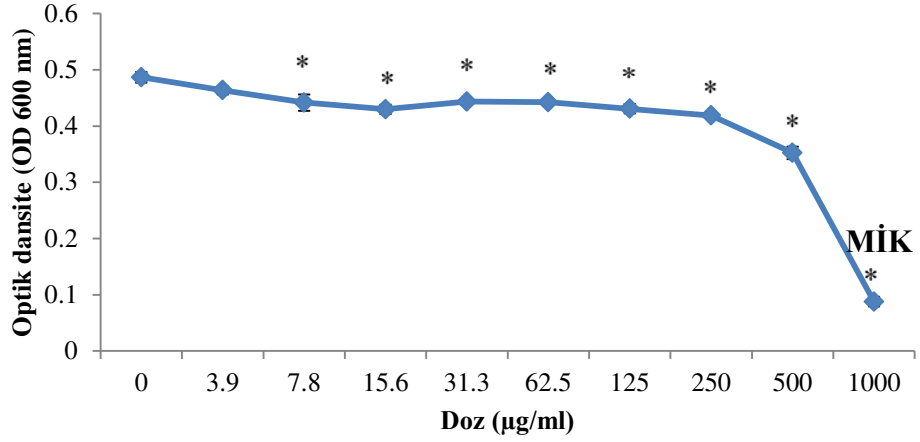
Şekil 4.6. *Cis-3-hekzenal*'ın *Bifidobacterium longum* üzerine uyarıcı/baskılayıcı etkileri. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edilmiştir. İstatistiksel olarak ($P < 0,05$) optik dansitenin kontrol grubundan (0 µg/ml) farklı olduğu konsantrasyonlar * ile işaretlenmiştir. MİK: Minimal inhibitör konsantrasyon

Trans-2-nonenal



Şekil 4.7. *Trans-2-nonenal*'ın *Bifidobacterium longum* üzerine uyarıcı/baskılayıcı etkileri. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edilmiştir. İstatistiksel olarak ($P < 0,05$) optik dansitenin kontrol grubundan (0 µg/ml) farklı olduğu konsantrasyonlar * ile işaretlenmiştir. MİK: Minimal inhibitör konsantrasyon

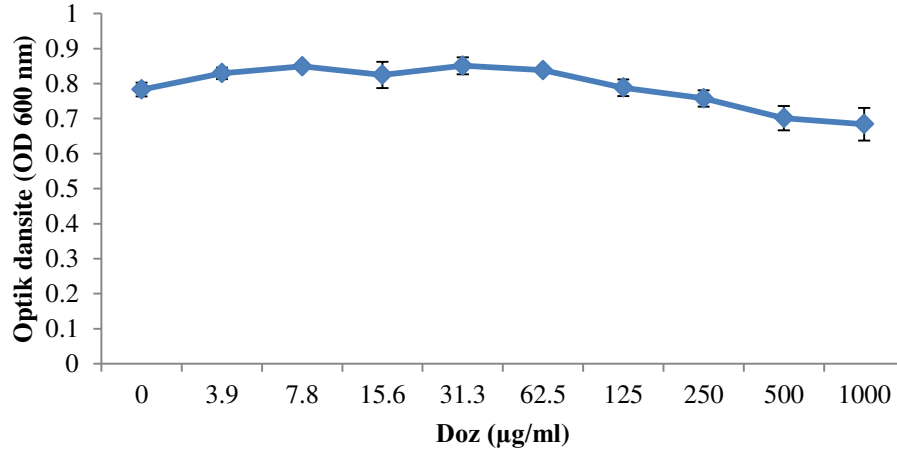
Trans-2-dekanal



Şekil 4.8. *Trans*-2-dekanal'ın *Bifidobacterium longum* üzerine uyarıcı/baskılayıcı etkileri. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edilmiştir. İstatistiksel olarak ($P < 0,05$) optik dansitenin kontrol grubundan (0 $\mu\text{g/ml}$) farklı olduğu konsantrasyonlar * ile işaretlenmiştir. MİK: Minimal inhibitör konsantrasyon

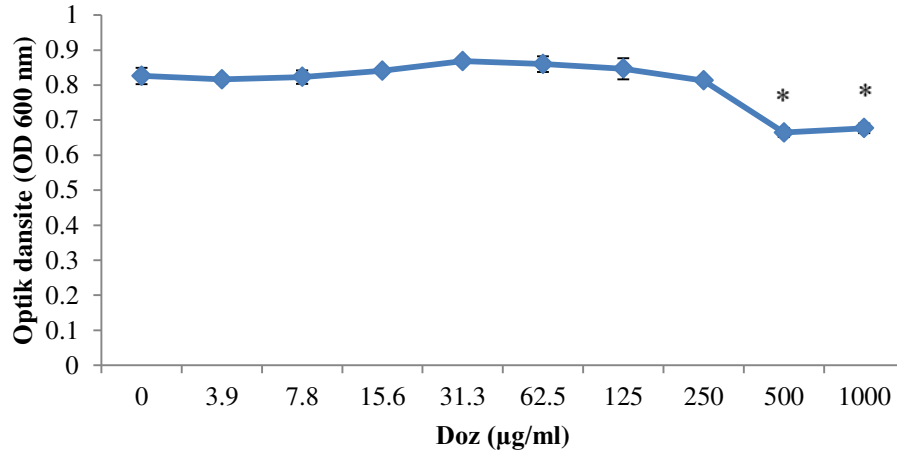
İyi huylu bağırsak bakterilerinden *L. acidophilus* üremesi yeşil yaprak uçucularından sadece *trans*-2-dekanal tarafından 31,3-62,5 $\mu\text{g/ml}$ dozlarında uyarılmıştır ($P < 0,05$; Şekil 4.12). Bununla birlikte *trans*-2-dekanal bu bakteri üzerine 500 $\mu\text{g/ml}$ dozunda antimikrobiyel etki göstermeye başlamış, 1000 $\mu\text{g/ml}$ dozunda ise baskılamıştır ($P < 0,05$; Şekil 4.12). *Trans*-2-hekzenal bu bakteri üzerine uyarıcı ya da baskılayıcı herhangi bir etki göstermemiştir (Şekil 4.9). *Cis*-3-hekzenal 500-1000 $\mu\text{g/ml}$ ($P < 0,05$; Şekil 4.10) ve *trans*-2-nonenal ise 1000 $\mu\text{g/ml}$ dozunda ($P < 0,05$; Şekil 4.11) antimikrobiyel etki göstermiş olmakla birlikte, bu bileşiklerin *L. acidophilus*'u kullanılan hiçbir dozda tam olarak baskılamadıkları görülmüştür (Tablo 4.4).

***Trans*-2-hekzenal**



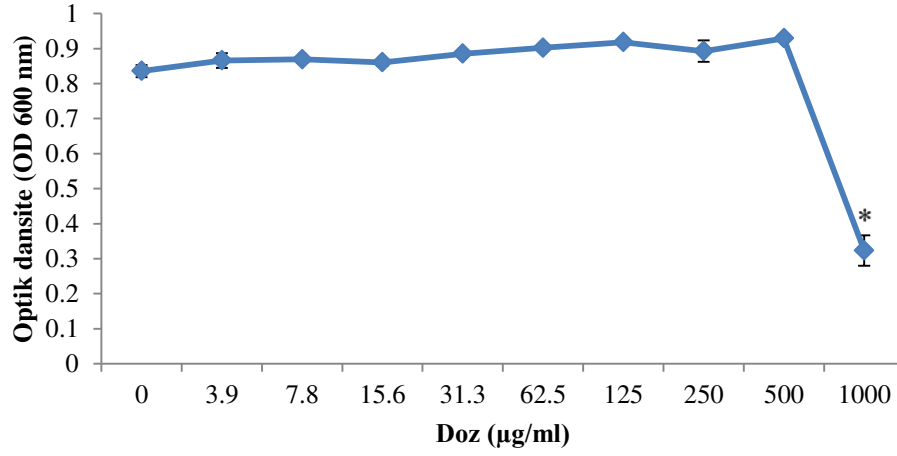
Şekil 4.9. *Trans*-2-hekzenal'ın *Lactobacillus acidophilus* üzerine uyarıcı/baskılayıcı etkileri. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edilmiştir. İstatistiksel olarak ($P<0,05$) optik dansitenin kontrol grubundan (0 $\mu\text{g/ml}$) farklı olduğu konsantrasyonlar * ile işaretlenmiştir.

***Cis*-3-hekzenal**



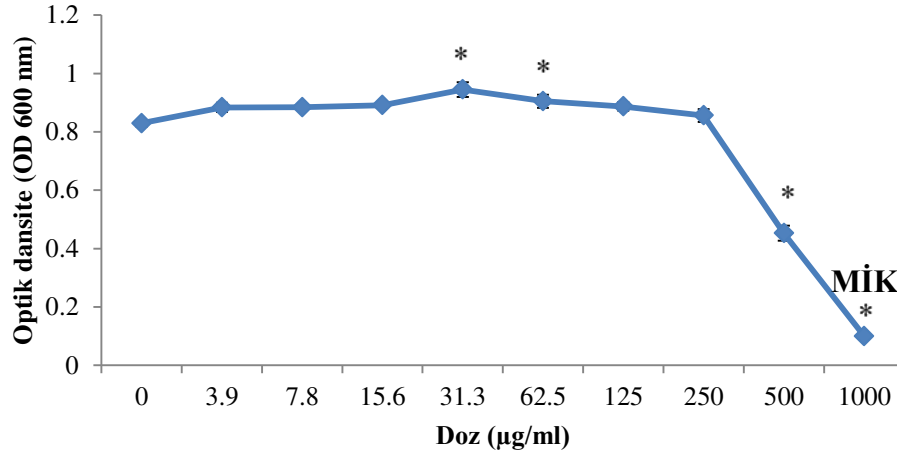
Şekil 4.10. *Cis*-3-hekzenal'ın *Lactobacillus acidophilus* üzerine uyarıcı/baskılayıcı etkileri. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edilmiştir. İstatistiksel olarak ($P<0,05$) optik dansitenin kontrol grubundan (0 $\mu\text{g/ml}$) farklı olduğu konsantrasyonlar * ile işaretlenmiştir.

Trans-2-nonenal



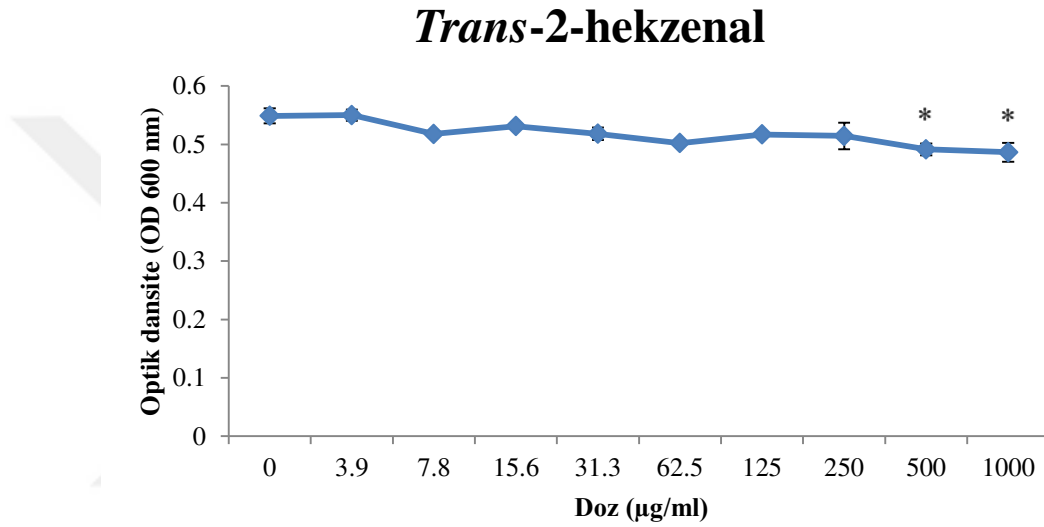
Şekil 4.11. *Trans*-2-nonenal'ın *Lactobacillus acidophilus* üzerine uyarıcı/baskılayıcı etkileri. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edilmiştir. İstatistiksel olarak ($P<0,05$) optik dansitenin kontrol grubundan (0 µg/ml) farklı olduğu konsantrasyonlar * ile işaretlenmiştir.

Trans-2-dekanal



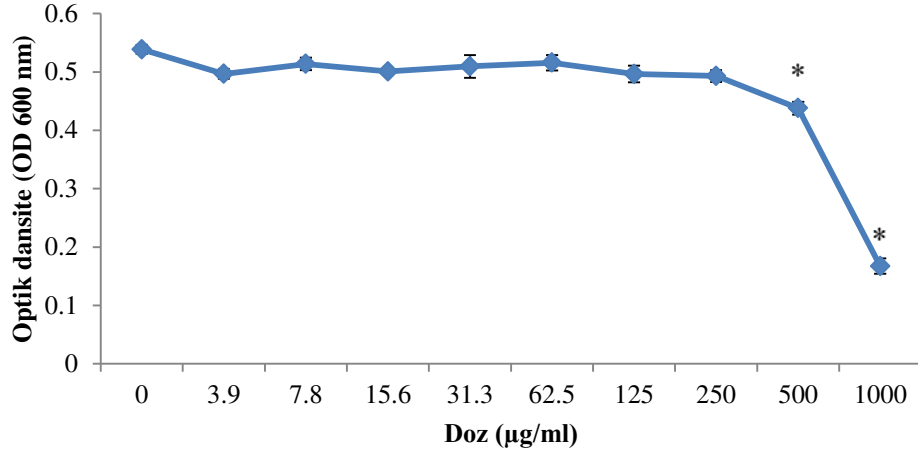
Şekil 4.12. *Trans*-2-dekanal'ın *Lactobacillus acidophilus* üzerine uyarıcı/baskılayıcı etkileri. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edilmiştir. İstatistiksel olarak ($P<0,05$) optik dansitenin kontrol grubundan (0 µg/ml) farklı olduğu konsantrasyonlar * ile işaretlenmiştir. MİK: Minimal inhibitör konsantrasyon

Yeşil yaprak uçucuları iyi huylu bakterilerden *L. casei*'nin üremesi üzerine uyarıcı etki göstermemişlerdir. Bu bakteri üzerine *trans*-2-hekzenal ve *cis*-3-hekzenal 500 ve 1000 µg/ml dozlarında ($P<0,05$; Şekil 4.13 ve 4.14), *trans*-2-nonenal ise 1000 µg/ml dozunda antimikrobiyel etki göstermiş olmakla birlikte ($P<0,05$; Şekil 4.15) baskılayıcı etki oluşturmamışlardır. *Trans*-2-dekanal bu bakteri üzerine 500 µg/ml dozdan itibaren antimikrobiyel etki göstermiş, 1000 µg/ml'de ise ilgili bakteriyi tamamen baskılamıştır ($P<0,05$; Şekil 4.16) (Tablo 4.5).



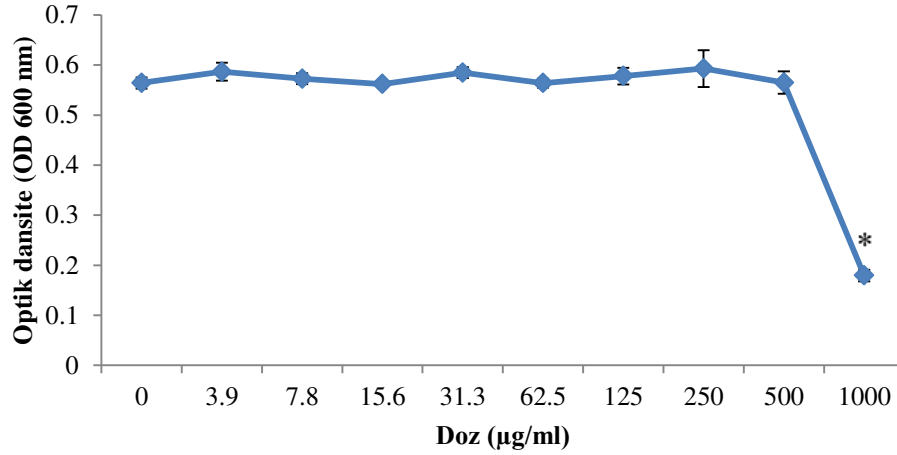
Şekil 4.13. *Trans*-2-hekzenal'ın *Lactobacillus casei* üzerine uyarıcı/baskılayıcı etkileri. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edilmiştir. İstatistiksel olarak ($P<0,05$) optik dansitenin kontrol grubundan (0 µg/ml) farklı olduğu konsantrasyonlar * ile işaretlenmiştir.

Cis-3-hekzenal



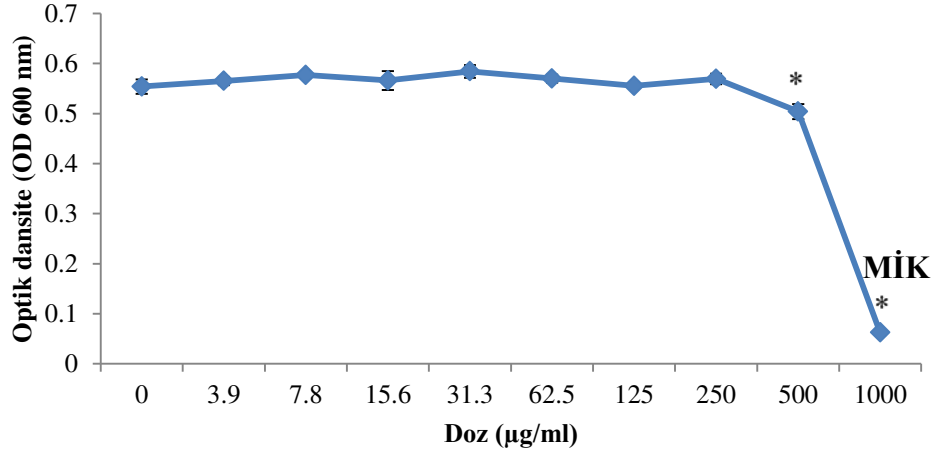
Şekil 4.14. *Cis-3-hekzenal*'ın *Lactobacillus casei* üzerine uyarıcı/baskılayıcı etkileri. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edilmiştir. İstatistiksel olarak ($P<0,05$) optik dansitenin kontrol grubundan (0 $\mu\text{g/ml}$) farklı olduğu konsantrasyonlar * ile işaretlenmiştir.

Trans-2-nonenal



Şekil 4.15. *Trans-2-nonenal*'ın *Lactobacillus casei* üzerine uyarıcı/baskılayıcı etkileri. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edilmiştir. İstatistiksel olarak ($P<0,05$) optik dansitenin kontrol grubundan (0 $\mu\text{g/ml}$) farklı olduğu konsantrasyonlar * ile işaretlenmiştir.

Trans-2-dekanal



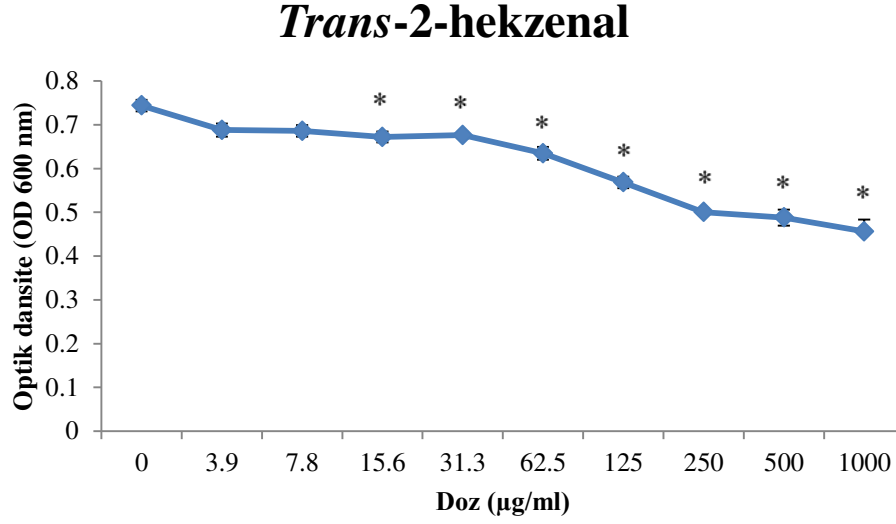
Şekil 4.16. *Trans-2-dekanal*'ın *Lactobacillus casei* üzerine uyarıcı/baskılayıcı etkileri. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edilmiştir. İstatistiksel olarak ($P<0,05$) optik dansitenin kontrol grubundan (0 $\mu\text{g/ml}$) farklı olduğu konsantrasyonlar * ile işaretlenmiştir. MİK: Minimal inhibitör konsantrasyon

4.2. Yeşil Yaprak Uçucularının Kötü Huylu (Patojen) Bağırsak Bakterileri Üzerine Etkileri

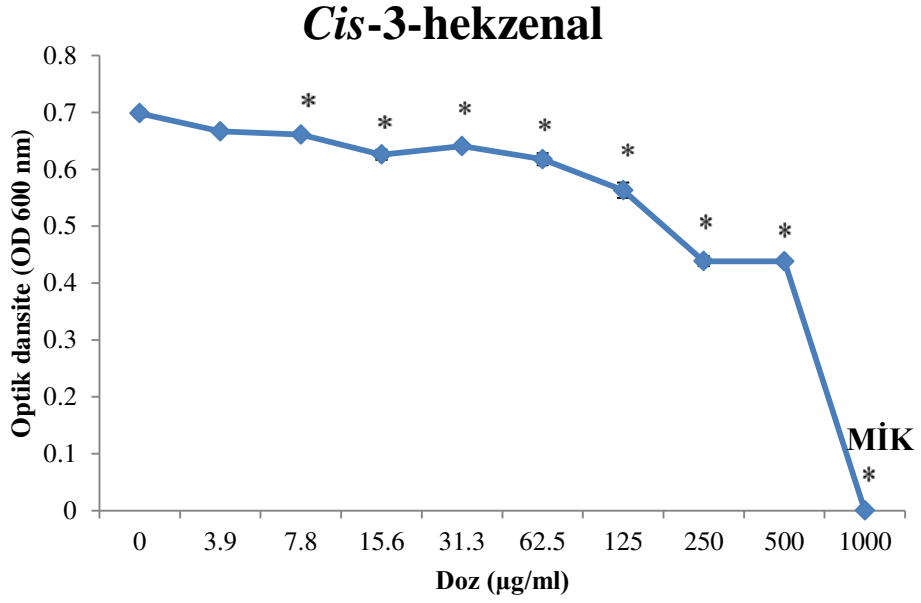
Kötü huylu bağırsak bakterileri üzerine yeşil yaprak uçucuları uyarıcı etki göstermezken, çeşitli dozlarda antimikrobiyel ve inhibitör etkiler göstermişlerdir. Kötü huylu bağırsak bakterileri üzerine en etkili bileşiğin *trans-2-dekanal*, en etkisiz bileşiğin ise *trans-2-hekzenal* olduğu gözlenmiştir. *F. nucleatum*'un yeşil yaprak uçucularına en duyarlı bakteri iken, *E. coli* ve *S. typhimurium*'un ise en dirençli bakteriler olduğu görülmüştür (Tablo 4.1).

Yeşil yaprak uçucularından *trans-2-hekzenal*, kötü huylu bakterilerden *C. perfringens* üzerine 15,6-1000 $\mu\text{g/ml}$ dozlarında antimikrobiyel etki göstermiş olmakla birlikte ($P<0,05$) bu bakteriyi tam olarak baskılayamamıştır (Şekil 4.17). *Cis-3-hekzenal* 7,8 $\mu\text{g/ml}$ ($P<0,05$; Şekil 4.18), *trans-2-nonenal* ise 62,5 $\mu\text{g/ml}$ dozlarından itibaren *C. perfringens* üzerine antimikrobiyel etki göstermeye başlamışlardır ($P<0,05$; Şekil 4.19). İlgili bileşikler 1000 $\mu\text{g/ml}$ dozunda bu bakteriyi tamamen baskılamışlardır ($P<0,05$; Şekil 4.18 ve Şekil 4.19). *Trans-2-dekanal* ise bu bakteri üzerine en etkili bileşik olup 7,8 $\mu\text{g/ml}$ 'den itibaren antimikrobiyel etki

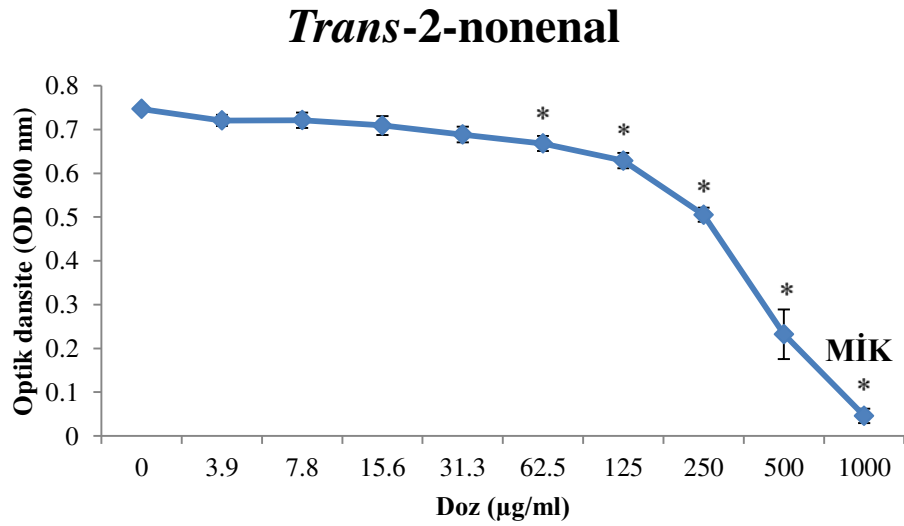
göstermeye başlamış, 500 µg/ml’de ise ilgili bakteriyi tamamen baskılamıştır (P<0,05; Şekil 4.20) (Tablo 4.6).



Şekil 4.17. *Trans*-2-hekzenal’ın *Clostridium perfringens* üzerine uyarıcı/baskılayıcı etkileri. Sonuçlar ortalama ± standart hata olarak ifade edilmiştir. İstatistiksel olarak (P<0,05) optik dansitenin kontrol grubundan (0 µg/ml) farklı olduğu konsantrasyonlar * ile işaretlenmiştir.

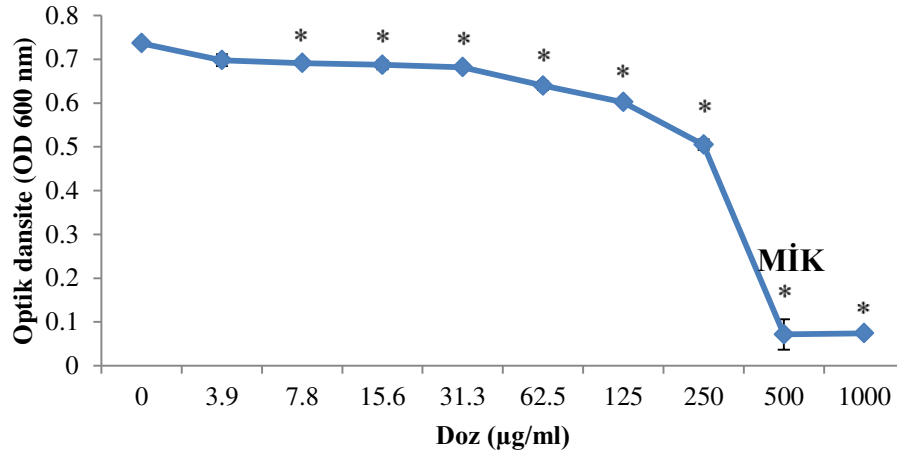


Şekil 4.18. *Cis-3-hekzenal*'ın *Clostridium perfringens* üzerine uyarıcı/baskılayıcı etkileri. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edilmiştir. İstatistiksel olarak ($P < 0,05$) optik dansitenin kontrol grubundan (0 $\mu\text{g/ml}$) farklı olduğu konsantrasyonlar * ile işaretlenmiştir. MİK: Minimal inhibitör konsantrasyon



Şekil 4.19. *Trans-2-nonenal*'ın *Clostridium perfringens* üzerine uyarıcı/baskılayıcı etkileri. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edilmiştir. İstatistiksel olarak ($P < 0,05$) optik dansitenin kontrol grubundan (0 $\mu\text{g/ml}$) farklı olduğu konsantrasyonlar * ile işaretlenmiştir. MİK: Minimal inhibitör konsantrasyon

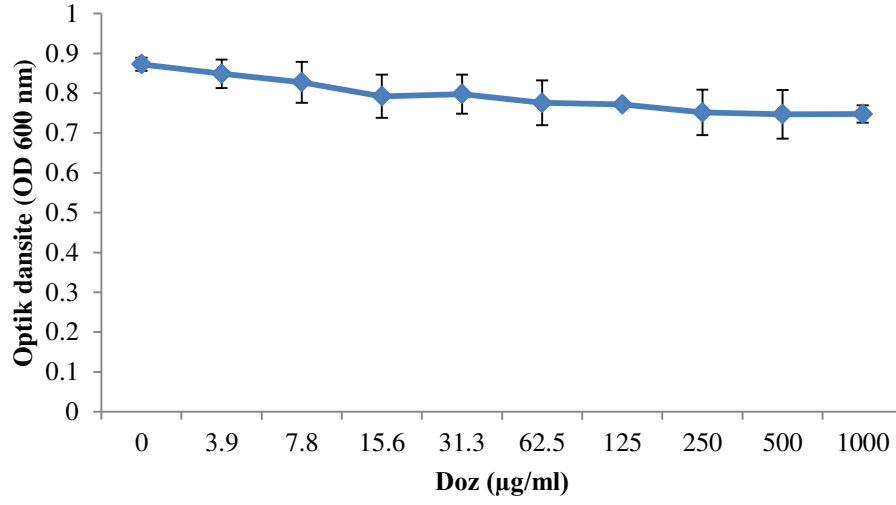
Trans-2-dekanal



Şekil 4.20. *Trans*-2-dekanal'ın *Clostridium perfringens* üzerine uyarıcı/baskılayıcı etkileri. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edilmiştir. İstatistiksel olarak ($P<0,05$) optik dansitenin kontrol grubundan (0 $\mu\text{g/ml}$) farklı olduğu konsantrasyonlar * ile işaretlenmiştir. MİK: Minimal inhibitör konsantrasyon

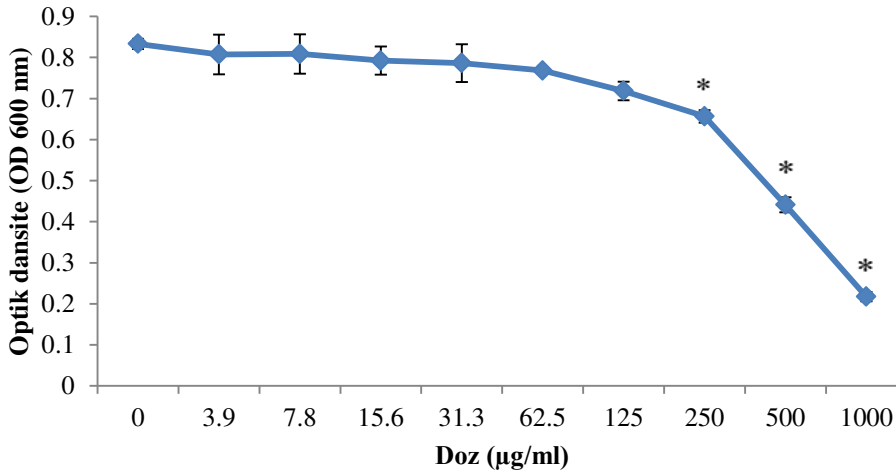
Kötü huylu bağırsak bakterilerinden *S. aureus* üzerine *trans*-2-hekzenal'ın etkisiz olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.21). *Cis*-3-hekzenal ve *trans*-2-nonenal ise bu bakteri üzerine 250-1000 $\mu\text{g/ml}$ dozlarında antimikrobiyel etki göstermiş olmakla birlikte ($P<0,05$) ilgili bakteriyi tam olarak baskılayamamışlardır (Şekil 4.22 ve 4.23). Bu bakteri üzerine de en etkili bileşik *trans*-2-dekanal olup 62,5 $\mu\text{g/ml}$ dozundan itibaren antimikrobiyel etki göstermeye başlamış, 500 $\mu\text{g/ml}$ dozunda ise tam baskılama gerçekleştirmiştir ($P<0,05$; Şekil 4.24) (Tablo 4.7).

Trans-2-hekzenal



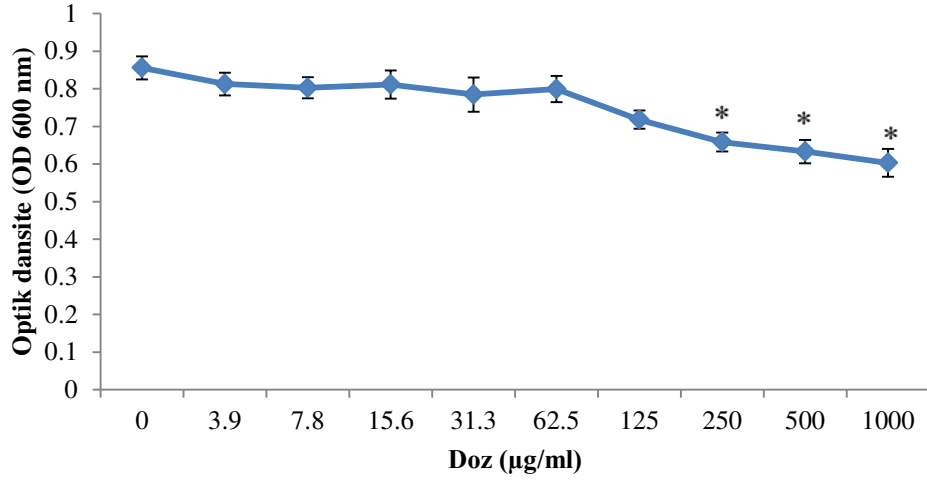
Şekil 4.21. *Trans*-2-hekzenal'ın *Staphylococcus aureus* üzerine uyarıcı/baskılayıcı etkileri. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edilmiştir.

Cis-3-hekzenal



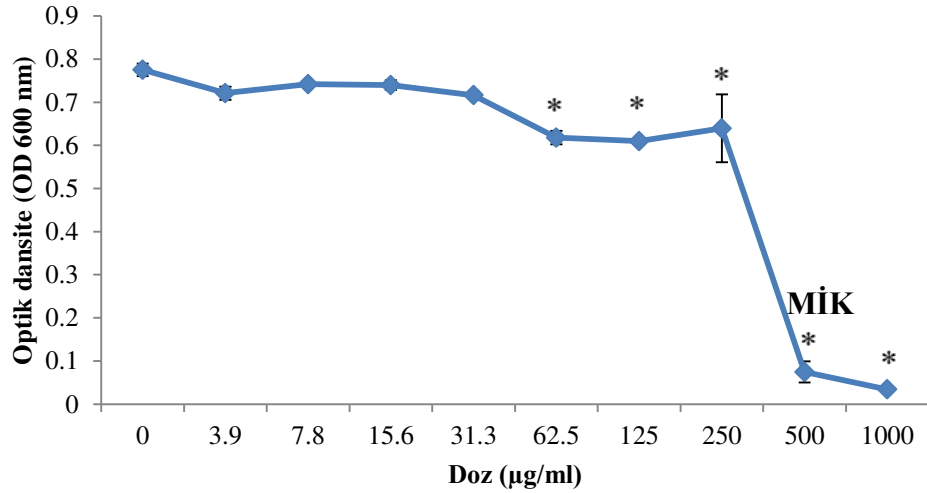
Şekil 4.22. *Cis*-3-hekzenal'ın *Staphylococcus aureus* üzerine uyarıcı/baskılayıcı etkileri. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edilmiştir. İstatistiksel olarak ($P < 0,05$) optik dansitenin kontrol grubundan (0 µg/ml) farklı olduğu konsantrasyonlar * ile işaretlenmiştir.

Trans-2-nonenal



Şekil 4.23. *Trans*-2-nonenal'ın *Staphylococcus aureus* üzerine uyarıcı/baskılayıcı etkileri. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edilmiştir. İstatistiksel olarak ($P<0,05$) optik dansitenin kontrol grubundan (0 µg/ml) farklı olduğu konsantrasyonlar * ile işaretlenmiştir.

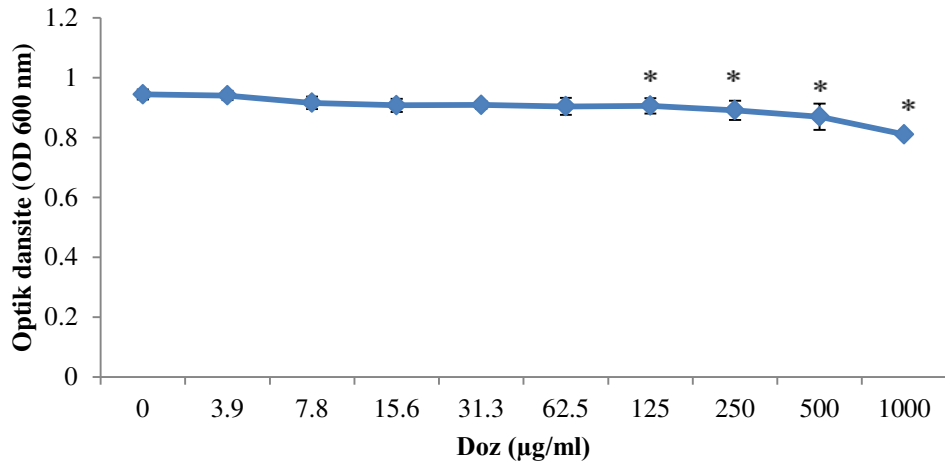
Trans-2-dekanal



Şekil 4.24. *Trans*-2-dekanal'ın *Staphylococcus aureus* üzerine uyarıcı/baskılayıcı etkileri. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edilmiştir. İstatistiksel olarak ($P<0,05$) optik dansitenin kontrol grubundan (0 µg/ml) farklı olduğu konsantrasyonlar * ile işaretlenmiştir. MİK: Minimal inhibitör konsantrasyon

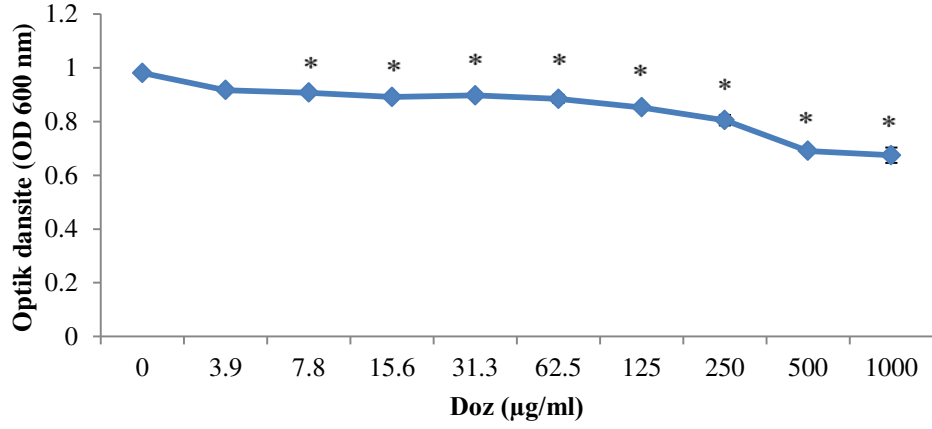
Kötü huylu bağırsak bakterilerinden *E. coli* üzerine *trans*-2-dekanal 3,9-1000 µg/ml ($P<0,05$; Şekil 4.28), *cis*-3-hekzenal 7,8-1000 µg/ml ($P<0,05$; Şekil 4.26), *trans*-2-hekzenal 125-1000 µg/ml ($P<0,05$; Şekil 4.25), *trans*-2-nonenal ise 1000 µg/ml dozlarında ($P<0,05$; Şekil 4.27) antimikrobiyel etki göstermiş olmakla birlikte kullanılan yeşil yaprak uçucuları bu bakteriyi tamamen baskılayamamışlardır (Tablo 4.8).

***Trans*-2-hekzenal**



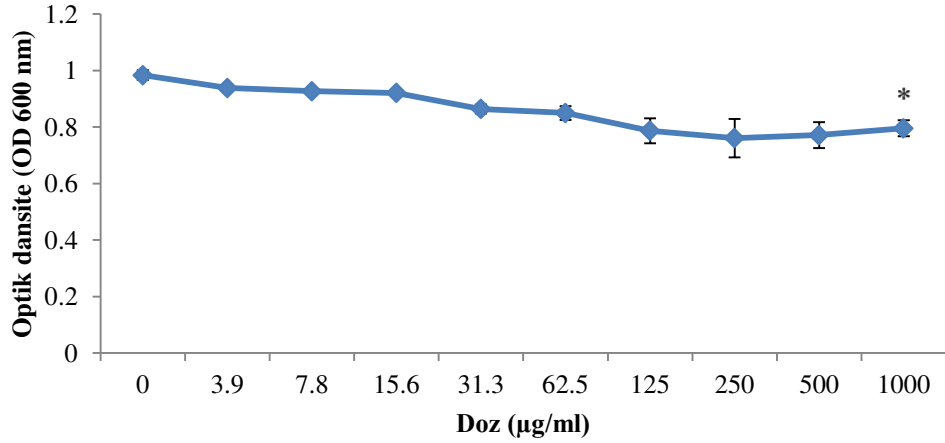
Şekil 4.25. *Trans*-2-hekzenal'ın *Escherichia coli* üzerine uyarıcı/baskılayıcı etkileri. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edilmiştir. İstatistiksel olarak ($P<0,05$) optik dansitenin kontrol grubundan (0 µg/ml) farklı olduğu konsantrasyonlar * ile işaretlenmiştir.

Cis-3-hekzenal



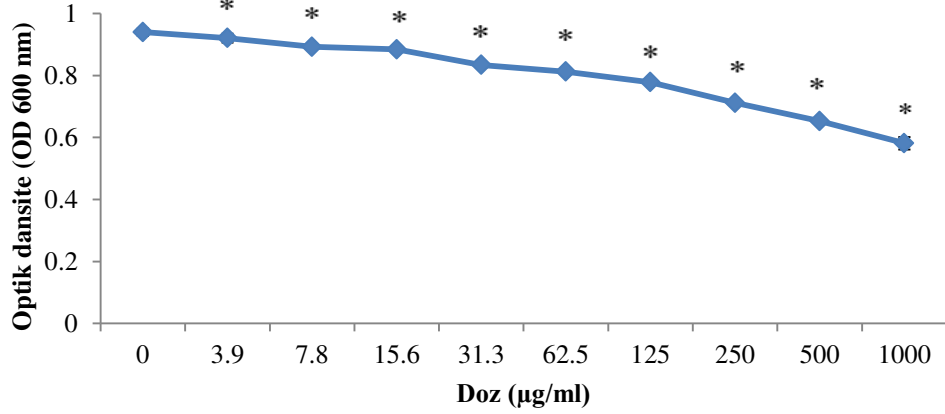
Şekil 4.26. *Cis*-3-hekzenal'ın *Escherichia coli* üzerine uyarıcı/baskılayıcı etkileri. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edilmiştir. İstatistiksel olarak ($P < 0,05$) optik dansitenin kontrol grubundan (0 µg/ml) farklı olduğu konsantrasyonlar * ile işaretlenmiştir.

Trans-2-nonenal



Şekil 4.27. *Trans*-2-nonenal'ın *Escherichia coli* üzerine uyarıcı/baskılayıcı etkileri. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edilmiştir. İstatistiksel olarak ($P < 0,05$) optik dansitenin kontrol grubundan (0 µg/ml) farklı olduğu konsantrasyonlar * ile işaretlenmiştir.

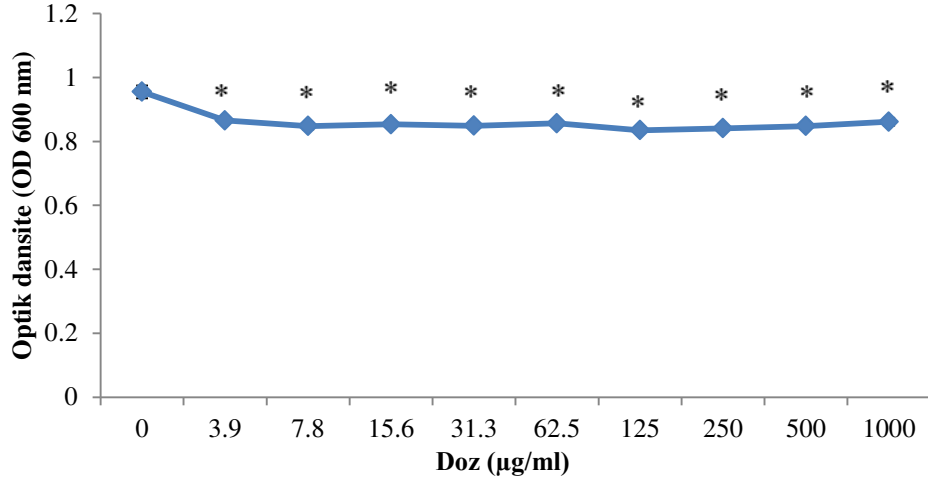
Trans-2-dekanal



Şekil 4.28. *Trans*-2-dekanal'ın *Escherichia coli* üzerine uyarıcı/baskılayıcı etkileri. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edilmiştir. İstatistiksel olarak ($P < 0,05$) optik dansitenin kontrol grubundan (0 $\mu\text{g/ml}$) farklı olduğu konsantrasyonlar * ile işaretlenmiştir.

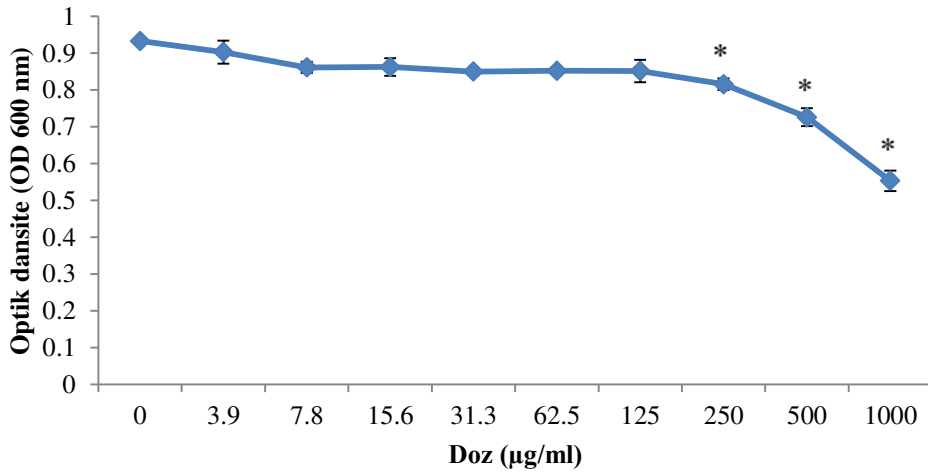
S. typhimurium üzerine de *trans*-2-hekzenal ($P < 0,05$; Şekil 4.29) ve *trans*-2-nonenal 3,9-1000 $\mu\text{g/ml}$ ($P < 0,05$; Şekil 4.31), *trans*-2-dekanal 31,3-1000 $\mu\text{g/ml}$ ($P < 0,05$; Şekil 4.32), *cis*-3-hekzenal ise 250-1000 $\mu\text{g/ml}$ dozlarında antimikrobiyel etki göstermiş ($P < 0,05$; Şekil 4.30) fakat tam baskılama gerçekleştirememişlerdir (Tablo 4.9).

Trans-2-hekzenal



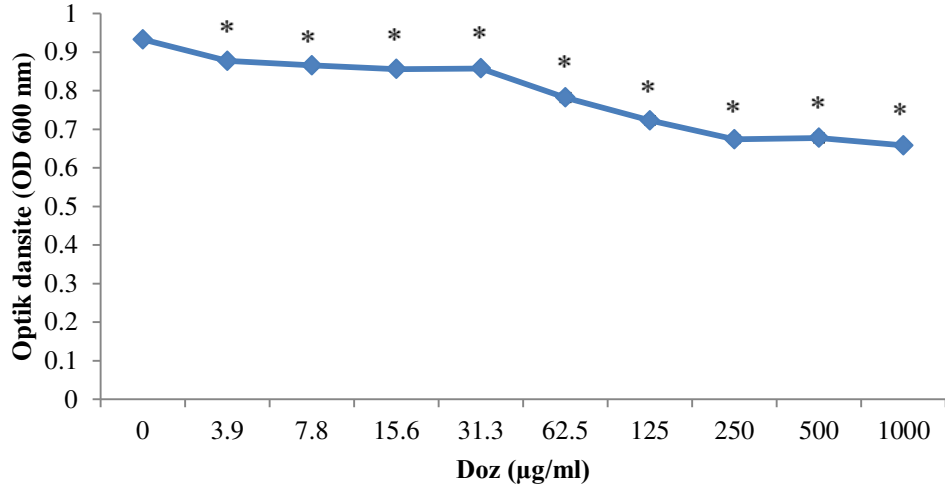
Şekil 4.29. *Trans*-2-hekzenal'ın *Salmonella typhimurium* üzerine uyarıcı/baskılayıcı etkileri. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edilmiştir. İstatistiksel olarak ($P < 0,05$) optik dansitenin kontrol grubundan (0 µg/ml) farklı olduğu konsantrasyonlar * ile işaretlenmiştir.

Cis-3-hekzenal



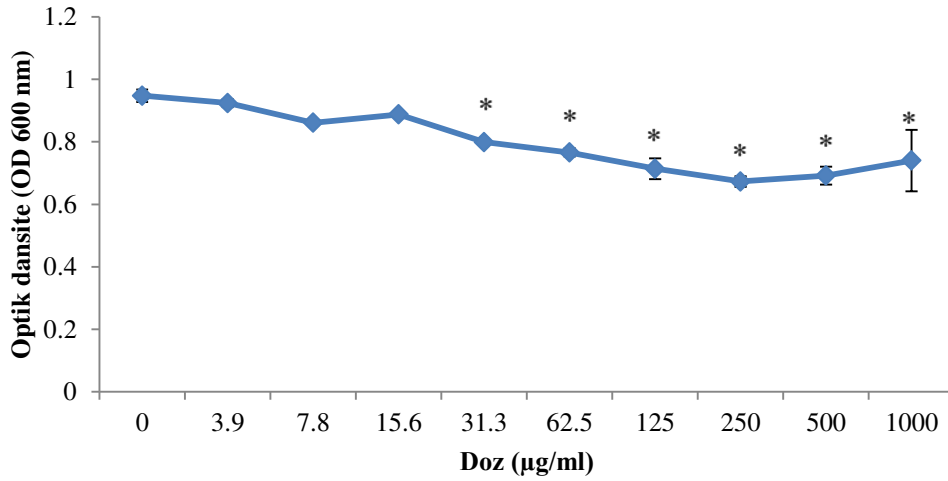
Şekil 4.30. *Cis*-3-hekzenal'ın *Salmonella typhimurium* üzerine uyarıcı/baskılayıcı etkileri. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edilmiştir. İstatistiksel olarak ($P < 0,05$) optik dansitenin kontrol grubundan (0 µg/ml) farklı olduğu konsantrasyonlar * ile işaretlenmiştir.

Trans-2-nonenal



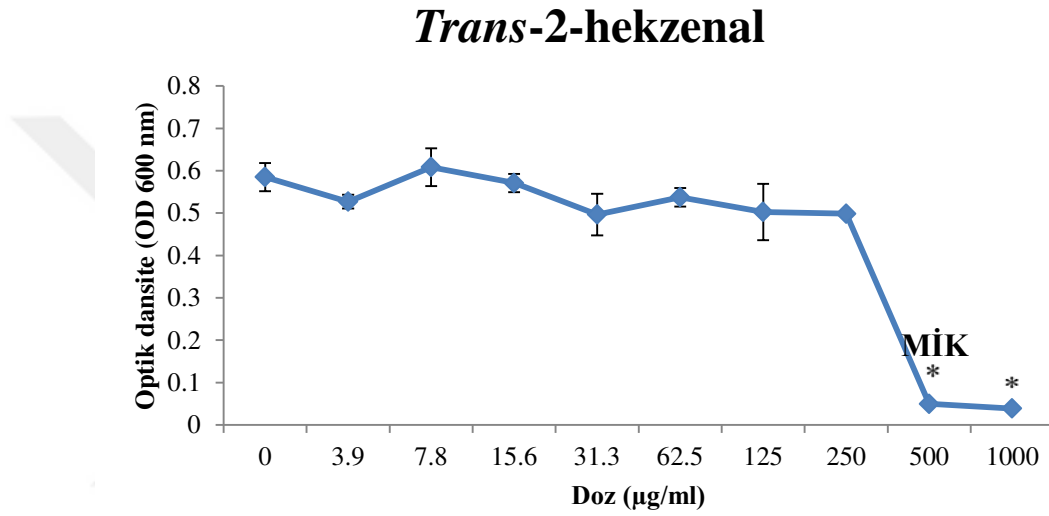
Şekil 4.31. *Trans*-2-nonenal'ın *Salmonella typhimurium* üzerine uyarıcı/baskılayıcı etkileri. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edilmiştir. İstatistiksel olarak ($P < 0,05$) optik dansitenin kontrol grubundan (0 µg/ml) farklı olduğu konsantrasyonlar * ile işaretlenmiştir.

Trans-2-dekanal



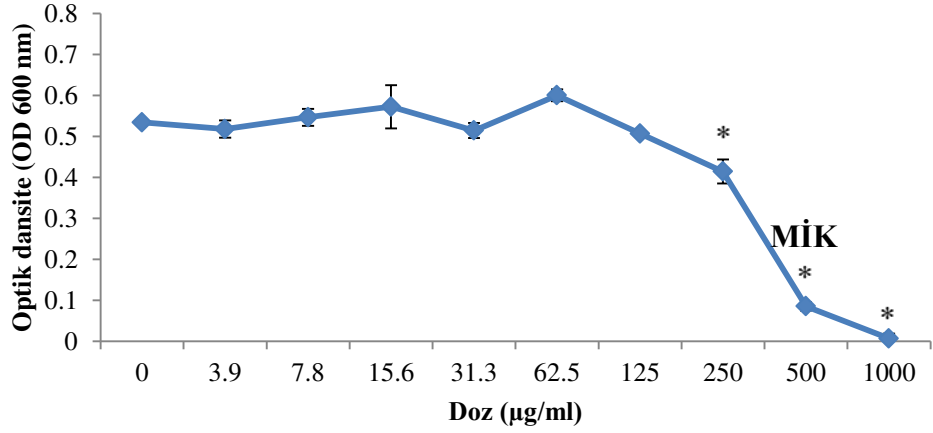
Şekil 4.32. *Trans*-2-dekanal'ın *Salmonella typhimurium* üzerine uyarıcı/baskılayıcı etkileri. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edilmiştir. İstatistiksel olarak ($P < 0,05$) optik dansitenin kontrol grubundan (0 µg/ml) farklı olduğu konsantrasyonlar * ile işaretlenmiştir.

Yeşil yaprak uçucularına en duyarlı patojen olan *F. nucleatum* üzerine ise *trans*-2-hekzenal 500 µg/ml dozda direkt baskılama göstermiştir ($P<0,05$; Şekil 4.33). *Cis*-3-hekzenal ve *trans*-2-nonenal'ın bu bakteri üzerine antimikrobiyel aktiviteleri 250 µg/ml dozda başlamış ($P<0,05$) ve 500 µg/ml dozda ise tam baskılama gerçekleşmiştir ($P<0,05$; Şekil 4.34 ve 4.35). Antimikrobiyel etkisi 3,9 µg/ml dozdan itibaren başlayan *trans*-2-dekanal da bu bakteriyi 500 µg/ml dozunda tamamen baskılamıştır ($P<0,05$; Şekil 4.36) (Tablo 4.10).



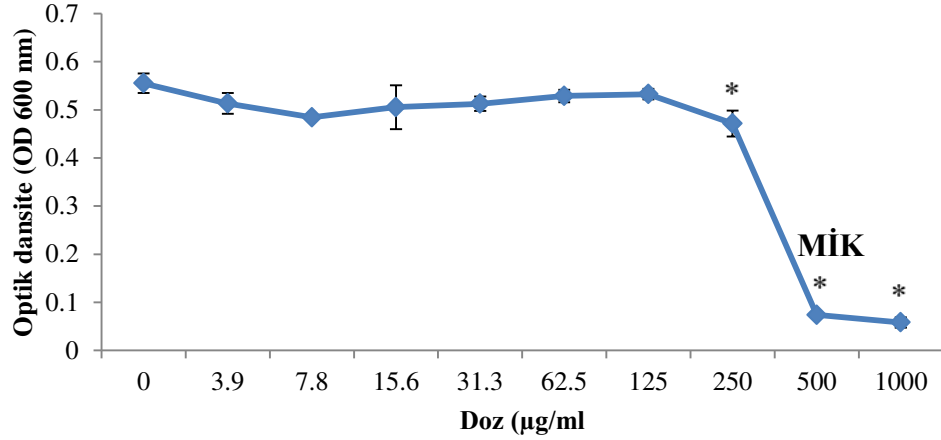
Şekil 4.33. *Trans*-2-hekzenal'ın *Fusobacterium nucleatum* üzerine uyarıcı/baskılayıcı etkileri. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edilmiştir. İstatistiksel olarak ($P<0,05$) optik dansitenin kontrol grubundan (0 µg/ml) farklı olduğu konsantrasyonlar * ile işaretlenmiştir. MİK: Minimal inhibitör konsantrasyon

Cis-3-hekzenal



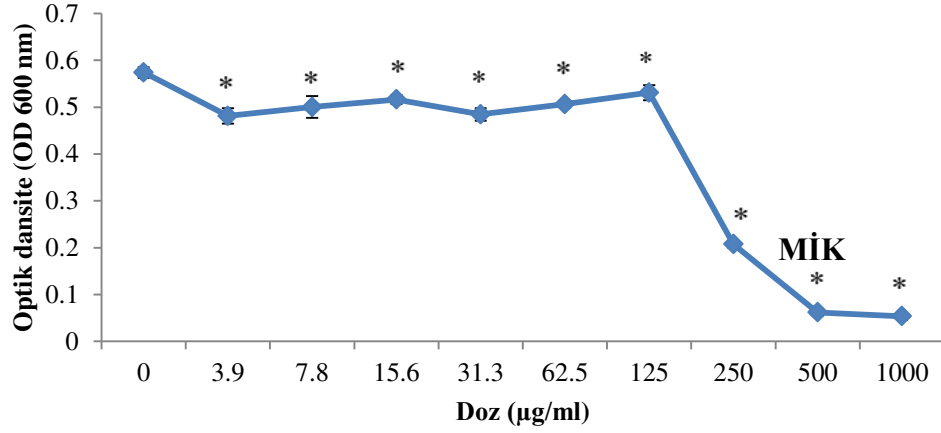
Şekil 4.34. *Cis*-3-hekzenal'ın *Fusobacterium nucleatum* üzerine uyarıcı/baskılayıcı etkileri. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edilmiştir. İstatistiksel olarak ($P<0,05$) optik dansitenin kontrol grubundan (0 µg/ml) farklı olduğu konsantrasyonlar * ile işaretlenmiştir. MİK: Minimal inhibitör konsantrasyon

Trans-2-nonenal



Şekil 4.35. *Trans*-2-nonenal'ın *Fusobacterium nucleatum* üzerine uyarıcı/baskılayıcı etkileri. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edilmiştir. İstatistiksel olarak ($P<0,05$) optik dansitenin kontrol grubundan (0 µg/ml) farklı olduğu konsantrasyonlar * ile işaretlenmiştir. MİK: Minimal inhibitör konsantrasyon

Trans-2-dekanal



Şekil 4.36. *Trans*-2-dekanal'ın *Fusobacterium nucleatum* üzerine uyarıcı/baskılayıcı etkileri. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edilmiştir. İstatistiksel olarak ($P < 0,05$) optik dansitenin kontrol grubundan (0 µg/ml) farklı olduğu konsantrasyonlar * ile işaretlenmiştir. MİK: Minimal inhibitör konsantrasyon

Tablo 4.1. Yeşil yaprak uçucularının iyi huylu ve kötü huylu bağırsak bakterileri üzerine minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri

Bağırsak bakterileri	MİK değerleri (µg/ml)			
	<i>trans</i> -2-hekzenal	<i>cis</i> -3-hekzenal	<i>trans</i> -2-nonenal	<i>trans</i> -2-dekanal
İyi huylular				
<i>Bifidobacterium bifidum</i>	-	-	-	1000
<i>Bifidobacterium longum</i>	1000	1000	1000	1000
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	-	-	-	1000
<i>Lactobacillus casei</i>	-	-	-	1000
Kötü huylular				
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	500	500	500	500
<i>Clostridium perfringens</i>	-	1000	1000	500
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	500
<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-
<i>Salmonella typhimurium</i>	-	-	-	-

(-):MİK değerleri 1000 µg/ml'nin üzerindedir.

Tablo 4.2. Yeşil yaprak uçucularının *Bifidobacterium bifidum* üzerine uyarıcı/baskılayıcı etkileri

Doz (µg/ml)	Optik dansite (OD _{600 nm})			
	<i>Bifidobacterium bifidum</i>			
	<i>trans</i> -2-hekzenal	<i>cis</i> -3-hekzenal	<i>trans</i> -2-nonenal	<i>trans</i> -2-dekanal
0	0,637±0,023	0,739±0,012	0,704±0,015	0,699±0,010*
3,9	0,799±0,032*	0,807±0,016	0,826±0,009*	0,790±0,016*
7,8	0,806±0,052*	0,808±0,023	0,818±0,008*	0,789±0,016*
15,6	0,793±0,037*	0,832±0,012*	0,831±0,003*	0,829±0,004*
31,3	0,817±0,019*	0,833±0,018*	0,835±0,013*	0,808±0,014*
62,5	0,857±0,020*	0,809±0,008	0,821±0,004*	0,789±0,009*
125	0,800±0,039*	0,780±0,029	0,834±0,011*	0,832±0,011*
250	0,823±0,014*	0,764±0,025	0,824±0,023*	0,793±0,017*
500	0,743±0,005	0,741±0,023	0,843±0,012*	0,517±0,031*
1000	0,655±0,032	0,656±0,013	0,215±0,016*	0,080±0,005*#

Sonuçlar ortalama ± standart hata olarak ifade edilmiştir. İstatistiksel olarak (P<0,05) optik dansitenin kontrol grubundan (0 µg/ml) farklı olduğu aynı sütundaki konsantrasyonlar * ile işaretlenmiştir. Minimal inhibitör konsantrasyona (MİK) ait optik dansite değerleri # ile işaretlenmiştir.

Tablo 4.3. Yeşil yaprak uçucularının *Bifidobacterium longum* üzerine uyarıcı/baskılayıcı etkileri

Doz (µg/ml)	Optik dansite (OD _{600 nm})			
	<i>Bifidobacterium longum</i>			
	<i>trans</i> -2-hekzenal	<i>cis</i> -3-hekzenal	<i>trans</i> -2-nonenal	<i>trans</i> -2-dekanal
0	0,438±0,013	0,442±0,018	0,521±0,006	0,487±0,009
3,9	0,474±0,018	0,435±0,012	0,501±0,011	0,464±0,007
7,8	0,448±0,006	0,447±0,010	0,482±0,007	0,442±0,015*
15,6	0,433±0,013	0,409±0,012	0,480±0,018	0,430±0,008*
31,3	0,449±0,018	0,412±0,009	0,483±0,012	0,443±0,001*
62,5	0,421±0,005	0,432±0,017	0,492±0,017	0,442±0,005*
125	0,442±0,019	0,400±0,007	0,469±0,012*	0,431±0,008*
250	0,436±0,015	0,430±0,015	0,479±0,000*	0,419±0,004*
500	0,398±0,005	0,286±0,009*	0,448±0,008*	0,352±0,011*
1000	0,065±0,009*#	0,099±0,018*#	0,079±0,010*#	0,088±0,009*#

Sonuçlar ortalama ± standart hata olarak ifade edilmiştir. İstatistiksel olarak (P<0,05) optik dansitenin kontrol grubundan (0 µg/ml) farklı olduğu aynı sütundaki konsantrasyonlar * ile işaretlenmiştir. Minimal inhibitör konsantrasyona (MİK) ait optik dansite değerleri # ile işaretlenmiştir.

Tablo 4.4. Yeşil yaprak uçucularının *Lactobacillus acidophilus* üzerine uyarıcı/baskılayıcı etkileri

Doz (µg/ml)	Optik dansite (OD _{600 nm})			
	<i>Lactobacillus acidophilus</i>			
	<i>trans</i> -2-hekzenal	<i>cis</i> -3-hekzenal	<i>trans</i> -2-nonenal	<i>trans</i> -2-dekanal
0	0,783±0,019	0,826±0,023	0,836±0,018	0,829±0,012
3,9	0,829±0,016	0,816±0,011	0,866±0,021	0,883±0,016
7,8	0,849±0,010	0,823±0,019	0,869±0,009	0,884±0,008
15,6	0,825±0,037	0,841±0,005	0,861±0,010	0,891±0,008
31,3	0,851±0,024	0,868±0,007	0,885±0,007	0,945±0,025*
62,5	0,838±0,006	0,860±0,023	0,902±0,006	0,905±0,023*
125	0,788±0,024	0,847±0,030	0,918±0,008	0,887±0,015
250	0,758±0,023	0,813±0,009	0,893±0,031	0,856±0,022
500	0,701±0,035	0,665±0,013*	0,929±0,004	0,453±0,026*
1000	0,684±0,046	0,677±0,014*	0,323±0,043*	0,100±0,005**

Sonuçlar ortalama ± standart hata olarak ifade edilmiştir. İstatistiksel olarak (P<0,05) optik dansitenin kontrol grubundan (0 µg/ml) farklı olduğu aynı sütundaki konsantrasyonlar * ile işaretlenmiştir. Minimal inhibitör konsantrasyona (MİK) ait optik dansite değerleri # ile işaretlenmiştir.

Tablo 4.5. Yeşil yaprak uçucularının *Lactobacillus casei* üzerine uyarıcı/baskılayıcı etkileri

Doz (µg/ml)	Optik dansite (OD _{600 nm})			
	<i>Lactobacillus casei</i>			
	<i>trans</i> -2-hekzenal	<i>cis</i> -3-hekzenal	<i>trans</i> -2-nonenal	<i>trans</i> -2-dekanal
0	0,549±0,013	0,539±0,008	0,564±0,011	0,554±0,014
3,9	0,550±0,010	0,497±0,008	0,587±0,018	0,565±0,008
7,8	0,518±0,001	0,514±0,010	0,573±0,011	0,577±0,006
15,6	0,531±0,005	0,501±0,003	0,562±0,002	0,566±0,019
31,3	0,518±0,011	0,510±0,020	0,585±0,011	0,584±0,013
62,5	0,502±0,001	0,516±0,013	0,564±0,009	0,570±0,008
125	0,517±0,004	0,496±0,014	0,578±0,017	0,555±0,004
250	0,514±0,023	0,493±0,010	0,593±0,037	0,569±0,011
500	0,491±0,010*	0,438±0,011*	0,565±0,022	0,504±0,015*
1000	0,486±0,016*	0,167±0,013*	0,179±0,011*	0,062±0,005**

Sonuçlar ortalama ± standart hata olarak ifade edilmiştir. İstatistiksel olarak (P<0,05) optik dansitenin kontrol grubundan (0 µg/ml) farklı olduğu aynı sütundaki konsantrasyonlar * ile işaretlenmiştir. Minimal inhibitör konsantrasyona (MİK) ait optik dansite değerleri # ile işaretlenmiştir.

Tablo 4.6. Yeşil yaprak uçucularının *Clostridium perfringens* üzerine uyarıcı/baskılayıcı etkileri

Doz (µg/ml)	Optik dansite (OD _{600 nm})			
	<i>Clostridium perfringens</i>			
	<i>trans</i> -2-hekzenal	<i>cis</i> -3-hekzenal	<i>trans</i> -2-nonenal	<i>trans</i> -2-dekanal
0	0,744±0,013	0,698±0,007	0,747±0,004	0,737±0,001
3,9	0,688±0,015	0,667±0,002	0,721±0,013	0,698±0,014
7,8	0,686±0,013	0,661±0,004*	0,721±0,018	0,691±0,006*
15,6	0,672±0,013*	0,626±0,009*	0,709±0,022	0,687±0,010*
31,3	0,676±0,007*	0,641±0,006*	0,688±0,018	0,682±0,004*
62,5	0,635±0,015*	0,618±0,011*	0,668±0,017*	0,640±0,010*
125	0,568±0,013*	0,563±0,014*	0,629±0,018*	0,602±0,005*
250	0,501±0,007*	0,439±0,009*	0,505±0,016*	0,505±0,012*
500	0,488±0,019*	0,438±0,000*	0,233±0,057*	0,072±0,035*#
1000	0,456±0,027*	0,000±0,003*#	0,046±0,017*#	0,074±0,006*

Sonuçlar ortalama ± standart hata olarak ifade edilmiştir. İstatistiksel olarak (P<0,05) optik dansitenin kontrol grubundan (0 µg/ml) farklı olduğu aynı sütundaki konsantrasyonlar * ile işaretlenmiştir. Minimal inhibitör konsantrasyona (MİK) ait optik dansite değerleri # ile işaretlenmiştir.

Tablo 4.7. Yeşil yaprak uçucularının *Staphylococcus aureus* üzerine uyarıcı/baskılayıcı etkileri

Doz (µg/ml)	Optik dansite (OD _{600 nm})			
	<i>Staphylococcus aureus</i>			
	<i>trans</i> -2-hekzenal	<i>cis</i> -3-hekzenal	<i>trans</i> -2-nonenal	<i>trans</i> -2-dekanal
0	0,873±0,016	0,833±0,012	0,856±0,031	0,775±0,014
3,9	0,849±0,036	0,808±0,049	0,813±0,030	0,721±0,015
7,8	0,827±0,052	0,809±0,048	0,803±0,028	0,742±0,007
15,6	0,792±0,055	0,792±0,034	0,811±0,038	0,740±0,011
31,3	0,798±0,049	0,786±0,046	0,785±0,045	0,716±0,009
62,5	0,776±0,056	0,768±0,005	0,799±0,035	0,618±0,016*
125	0,772±0,001	0,719±0,023	0,718±0,024	0,610±0,004*
250	0,752±0,057	0,657±0,016*	0,659±0,026*	0,640±0,079*
500	0,747±0,061	0,441±0,018*	0,633±0,031*	0,075±0,025*#
1000	0,748±0,022	0,217±0,011*	0,603±0,037*	0,034±0,004*

Sonuçlar ortalama ± standart hata olarak ifade edilmiştir. İstatistiksel olarak (P<0,05) optik dansitenin kontrol grubundan (0 µg/ml) farklı olduğu aynı sütundaki konsantrasyonlar * ile işaretlenmiştir. Minimal inhibitör konsantrasyona (MİK) ait optik dansite değerleri # ile işaretlenmiştir.

Tablo 4.8. Yeşil yaprak uçucularının *Escherichia coli* üzerine uyarıcı/baskılayıcı etkileri

Doz (µg/ml)	Optik dansite (OD _{600 nm})			
	<i>Escherichia coli</i>			
	<i>trans</i> -2-hekzenal	<i>cis</i> -3-hekzenal	<i>trans</i> -2-nonenal	<i>trans</i> -2-dekanal
0	0,944±0,017	0,981±0,009	0,984±0,017	0,940±0,012
3,9	0,940±0,016	0,917±0,010	0,938±0,005	0,921±0,015*
7,8	0,916±0,021	0,907±0,009*	0,927±0,009	0,893±0,003*
15,6	0,908±0,022	0,892±0,008*	0,920±0,010	0,884±0,006*
31,3	0,909±0,013	0,898±0,002*	0,864±0,016	0,834±0,008*
62,5	0,904±0,028	0,884±0,015*	0,850±0,024	0,813±0,007*
125	0,906±0,026*	0,853±0,003*	0,787±0,044	0,778±0,002*
250	0,891±0,032*	0,805±0,020*	0,761±0,068	0,712±0,004*
500	0,870±0,044*	0,691±0,008*	0,771±0,046	0,653±0,004*
1000	0,811±0,008*	0,675±0,029*	0,796±0,029*	0,582±0,021*

Sonuçlar ortalama ± standart hata olarak ifade edilmiştir. İstatistiksel olarak (P<0,05) optik dansitenin kontrol grubundan (0 µg/ml) farklı olduğu aynı sütundaki konsantrasyonlar * ile işaretlenmiştir.

Tablo 4.9. Yeşil yaprak uçucularının *Salmonella typhimurium* üzerine uyarıcı/baskılayıcı etkileri

Doz (µg/ml)	Optik dansite (OD _{600 nm})			
	<i>Salmonella typhimurium</i>			
	<i>trans</i> -2-hekzenal	<i>cis</i> -3-hekzenal	<i>trans</i> -2-nonenal	<i>trans</i> -2-dekanal
0	0,955±0,020	0,933±0,009	0,933±0,008	0,948±0,020
3,9	0,865±0,005*	0,903±0,031	0,877±0,007*	0,924±0,013
7,8	0,848±0,010*	0,861±0,015	0,865±0,008*	0,861±0,008
15,6	0,854±0,003*	0,862±0,024	0,856±0,006*	0,888±0,009
31,3	0,849±0,007*	0,850±0,009	0,858±0,008*	0,799±0,008*
62,5	0,856±0,008*	0,852±0,007	0,782±0,012*	0,766±0,013*
125	0,835±0,007*	0,852±0,030	0,723±0,011*	0,714±0,034*
250	0,841±0,004*	0,816±0,015*	0,674±0,010*	0,673±0,017*
500	0,848±0,008*	0,726±0,024*	0,678±0,012*	0,692±0,029*
1000	0,862±0,012*	0,553±0,028*	0,658±0,002*	0,740±0,098*

Sonuçlar ortalama ± standart hata olarak ifade edilmiştir. İstatistiksel olarak (P<0,05) optik dansitenin kontrol grubundan (0 µg/ml) farklı olduğu aynı sütundaki konsantrasyonlar * ile işaretlenmiştir.

Tablo 4.10. Yeşil yaprak uçucularının *Fusobacterium nucleatum* üzerine uyarıcı/baskılayıcı etkileri

Doz (µg/ml)	Optik dansite (OD _{600 nm})			
	<i>Fusobacterium nucleatum</i>			
	<i>trans</i> -2-hekzenal	<i>cis</i> -3-hekzenal	<i>trans</i> -2-nonenal	<i>trans</i> -2-dekanal
0	0,585±0,033	0,535±0,006	0,555±0,020	0,574±0,011
3,9	0,527±0,016	0,518±0,021	0,513±0,022	0,481±0,017*
7,8	0,609±0,045	0,547±0,021	0,485±0,003	0,501±0,024*
15,6	0,571±0,022	0,573±0,053	0,506±0,046	0,517±0,010*
31,3	0,497±0,049	0,515±0,019	0,513±0,015	0,485±0,013*
62,5	0,537±0,022	0,601±0,015	0,529±0,013	0,507±0,008*
125	0,503±0,067	0,507±0,005	0,533±0,011	0,531±0,016*
250	0,499±0,002	0,415±0,030*	0,472±0,027*	0,208±0,008*
500	0,050±0,004* [#]	0,085±0,011* [#]	0,074±0,003* [#]	0,062±0,008* [#]
1000	0,039±0,004*	0,007±0,012*	0,058±0,011*	0,054±0,008*

Sonuçlar ortalama ± standart hata olarak ifade edilmiştir. İstatistiksel olarak (P<0,05) optik dansitenin kontrol grubundan (0 µg/ml) farklı olduğu aynı sütundaki konsantrasyonlar * ile işaretlenmiştir. Minimal inhibitör konsantrasyona (MİK) ait optik dansite değerleri [#] ile işaretlenmiştir.

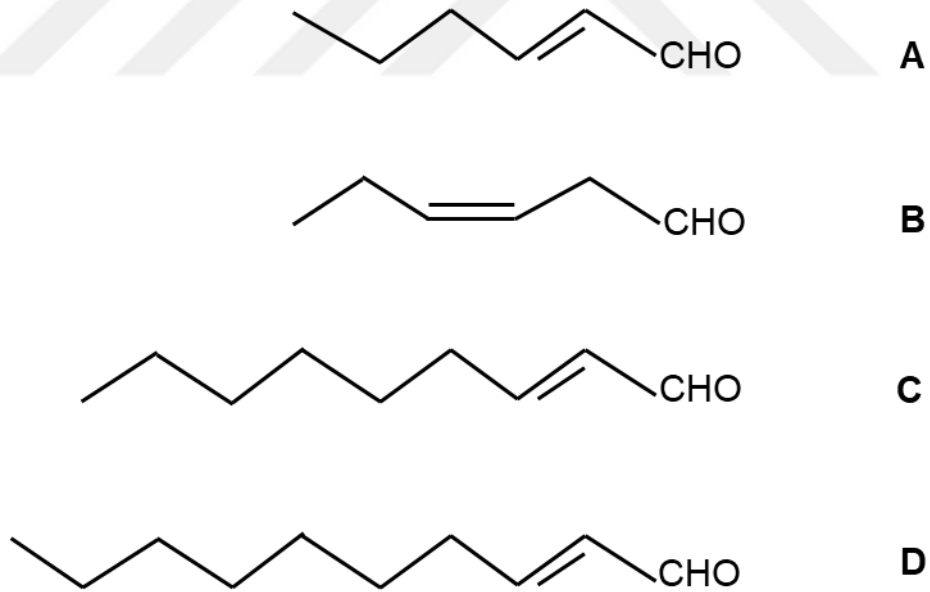
5. TARTIŞMA

İnsan ve hayvanların vücudundaki deri ve mukozalar gibi epitelyal yüzeyler, çok sayıda mikroorganizmanın birbirleriyle ve aynı zamanda canlı ile simbiyotik bir ilişki içinde yaşadığı doğal habitatlardır. Bunlardan biri olan bağırsaklarda bulunan mikrobiyel flora, neredeyse canlı bir organınkine eşdeğer düzeyde fizyolojik fonksiyonlara sahiptir (O'Hara ve Shanahan, 2006). Bağırsaklardaki iyi huylu mikroorganizmaların en önemli fizyolojik fonksiyonları sindirilemeyen karbonhidratları fermente ederek başlıca asetat, propiyonat ve bütiratın oluşturduğu kısa zincirli yağ asitlerini oluşturmalarıdır. Söz konusu metabolik son ürünler bağırsak epitel hücrelerinin en önemli enerji kaynakları arasında yer almaktadır (Canny ve McCormick, 2008). Bunlardan asetat ve propiyonat bağırsak epitel hücrelerinin çoğalmasını ve büyümesini uyarırken, bütirat ise üremelerini engelleyip farklılaşmasını stimüle etmektedir (Siavoshian ve ark., 2000). Bu özelliği sayesinde bütiratın kolorektal kanser hücre hatlarının canlılığını ve üremelerini baskıladığı bilinmektedir (Bultman, 2014). Kolon mikrobiyotasının insan ve hayvanlardaki kolorektal kanser üzerine etkilerini araştıran 31 adet orijinal makalenin sonuçlarının derlendiği bir çalışmada (Borges-Canha ve ark., 2015), kolorektal kanser vakalarında, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Ruminococcus* ve *Faecali bacterium* spp. gibi iyi huylu bağırsak bakterilerinin miktarlarının kalıcı bir şekilde sınırlandığı buna karşılık, *Fusobacteria* ve *Staphylococcaceae* gibi kötü huylu bakterilerin sayılarının ise belirgin düzeyde arttığı bildirilmektedir. Özellikle, kolorektal kanser hücrelerindeki DNA hasarını ve yangısal reaksiyonu uyaran, tümör hücrelerini immun sistemin saldırısından da koruyan *F. nucleatum*'un kolorektal kanser ile sıkı bir şekilde bağlantılı olduğu bilinmektedir (Bultman, 2016). Bu çalışmada, kullanılan tüm yeşil yaprak uçucu bileşenleri, 500 µg/ml dozunda, *F. nucleatum*'un büyümesini baskılarken aynı dozda iyi huylu bakterileri ise korumuşlardır. Yeşil yaprak uçucularının bu bakteri üzerine etkileri ile ilgili herhangi bir literatüre rastlanamamıştır. Bununla birlikte, bir seri medikal bitki ekstraktının, periodontik hastaların ağızlarındaki periodontal ceplerden izole edilen *F. nucleatum* üzerine 16384 mg/l doza kadar etkisiz olduğu gözlenmiştir (Iauk ve ark., 2003). Aynı

çalışmada ticari olarak kullanılan bir antibiyotik olan spiramisin'in *F. nucleatum* üzerine MİK değerini 64 mg/l olduğu bildirilmiştir.

C. perfringens ve *S. aureus* Gram-pozitif karakterde gıda kökenli patojenler olup bağırsaklardaki miktarları arttığında enterotoksemi ve şiddetli gastrointestinal hastalıklara neden olabilmektedirler (Rajkovic, 2014). Hayvanlarda *C. perfringens*'in sebep olduğu enteritis ve enterotoksemilerde bağırsakta oluşan toksinler dolaşıma geçerek vücuttaki diğer organları da etkileyebilmektedirler (Uzal ve ark., 2010). Bu bakterinin antibiyotik tedavisi gören hastaların % 5-40'ında gözlenen, antibiyotik ile ilişkili ishal vakalarının yaklaşık % 5-15'inden sorumlu olduğu bildirilmektedir (McFarland, 2007). *S. aureus* da, global çapta morbidite ve mortalite oranları oldukça yüksek birçok hastalığın sebebi olan en yaygın fırsatçı patojenlerden biridir (Sannasiddappa ve ark., 2011). Psödomembranöz enterokolit *S. aureus*'un birincil düzeyde etkeni olduğu hastalıklar arasındadır (Froberg ve ark., 2004). *S. aureus* ile enfekte olan hastalarda gözlenen şiddetli ishal çevrenin kontaminasyonu ile hastalığın yayılmasına da neden olmaktadır (Ray ve ark., 2003). Bu çalışmada *trans*-2-dekanal 500 µg/ml konsantrasyonda her iki bakteri üzerine de baskılayıcı etki göstermiştir. Yine bu çalışmada, *trans*-2-dekanal *S. aureus* üzerine baskılayıcı etki gösteren tek bileşik olmuştur. Bisignano ve ark. (2001)'nın *trans*-2-dekanal'ın *S. aureus* (ATCC 6538)'u 250 µg/ml ve metisiline dirençli *S. aureus*'u ise 125-500 µg/ml dozda baskıladığını bildirdikleri araştırmalarının sonuçları, bu çalışmanın bulguları ile benzerlik göstermektedir. Çalışmamızda ayrıca, *trans*-2-dekanal'ın *C. perfringens* üzerine MİK değerinin, *trans*-2-nonenal ve *cis*-3-hekzenal'ın MİK değerinden düşük olduğu gözlenmiştir. Araştırmamızda kullandığımız bileşikler doymamış yağ asitlerinden köken alan α (*trans*) ve β (*cis*) grubu doymamış aldehitlerdir. Kubo ve ark. (1995), α/β doymamış alkol ve aldehitlerin antimikrobiyel aktivite derecelerini, bu bileşiklerin hidrofobik alkil zincir (kuyruk) uzunlukları ve test edilen mikroorganizmanın türü ile ilişkilendirmişlerdir. Araştırmacılar uzun zincirli aldehitlerin Gram-pozitif bakteri ve mantarlar üzerine daha güçlü antimikrobiyel aktivite gösterdiklerini bildirmişlerdir (Kubo ve ark., 1995). Aldehitler içerisindeki oksijen atomunun elektronegativitesinin, aldehitin karbon atomlarından oluşan alkil zincir uzunluğundan etkilenebileceğini öne sürmüşlerdir.

Uzun bir kuyruğun (alkil zincirin) daha büyük bir elektronegativite yaratabileceği, bunun da mikroorganizmanın hücre zarı üzerindeki nükleofilik gruplarla hidrojen bağları oluşturma yönünde daha büyük bir affiniteye neden olacağı, dolayısıyla aldehitlerin mikrobiyel hücre zarını tahrip etme yeteneklerinin artacağı sonucuna varılmıştır. Aynı araştırmacıların daha önceki bir çalışmalarında (Kubo ve ark., 1993) alkil zincir kısmında 10 adet karbon bağı içeren (C10) geranilasetol, *S. aureus*'a karşı antimikrobiyel aktivite oluştururken alkil zincir kısmında 6 adet karbon bağı içeren (C6) linalool aynı bakteri üzerine herhangi bir etki oluşturmamıştır. *Trans*-2-dekanal'ın karboksil grubundan ayrılan alkil zincir kısmında Şekil 5.1'de de görüldüğü gibi 10 adet karbon bağı (C10) bulunmaktadır. *Trans*-2-nonenal 9 karbonluk (C9) bir alkil zincire sahipken, *trans*-2-hekzenal ve *cis*-3-hekzenal ise 6 karbonluk (C6) birer alkil zincire sahiptirler (Şekil 5.1). Dolayısıyla çalışmamızda *trans*-2-dekanal'ın diğer aldehitlere üstün gelen antimikrobiyel aktivitesi hedef mikroorganizmanın türü dışında bu aldehitin diğerlerinden farklı olan alkil zincir uzunluğu ile de açıklanabilir.



Şekil 5.1. *Trans*-2-hekzenal (A), *cis*-3-hekzenal (B), *trans*-2-nonenal (C) ve *trans*-2-dekanal'ın (D) kimyasal yapısı

Trans-2-dekanal'da daha baskın olmakla birlikte çalışmamızda kullanılan yeşil yaprak uçucularının adı geçen patojen bakteriler üzerine gösterdikleri

antimikrobiyel etkilerin, sahip oldukları α/β konfigürasyonu ile da ilişkili olduğu düşünülmektedir. Trombetta ve ark. (2002), 6 adet α/β doymamış aldehitin (*trans*-2-hekzenal, *trans*-2-eptenal, *trans*-2-oktenal, *trans*-2-nonenal, *trans*-2-dekanal ve *trans-trans*-2,4-dekadienal), mikrobiyel hücre membranlarının lipid fraksiyonlarında bozulmalara neden olarak hücreye penetre olmak suretiyle birçok bakteri ve mantar türü üzerine antimikrobiyel etki oluşturduklarını bildirmişlerdir. Doymuş bir aldehit olan hekzenal'ın ise mikrobiyel hücre zarlarına penetre olamadığı ve antimikrobiyel etki oluşturmadağı görülmüştür (Trombetta ve ark. (2002). Aynı araştırma grubu daha önceki çalışmalarında da doymamış aldehitlerden *trans*-2-hekzenal ve *trans*-2-nonenal'ın kuvvetli antimikrobiyel etkiye sahipken, doymuş versiyonları olan hekzenal ve nonenal'ın bu özellikten tamamen yoksun olduklarını bildirmişlerdir (Bisignano ve ark., 2001). Dolayısıyla, bileşiklerin söz konusu etkilerinin zincir uzunluklarının yanında, sahip oldukları α/β çift bağları ile de yakından ilişkili olduğu sonucuna varmışlardır.

Çalışmamızda, *trans*-2-hekzenal, *cis*-3-hekzenal ve *trans*-2-nonenal'ın *S. aureus* üzerine baskılayıcı etkilerinin bulunmadığı görülmektedir. Nakamura ve Hatanaka (2002) bazı yeşil yaprak uçucularının bir seri patojen bakteri üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmalarında, *trans*-2-hekzenal ve *cis*-3-hekzenal'ın 3,13-100 $\mu\text{g/ml}$ doz aralığında metisiline dirençli *S. aureus* üzerine bakteriyostatik etkiler oluşturduğunu bildirmişlerdir. Çalışmamızda ise *S. aureus*'un NCTC 8532 suşu kullanılmıştır. Sonuçlar arasındaki farklılığın, çalışmalarda *S. aureus*'un farklı suşlarının kullanılmış olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

E. coli ve *S. typhimurium* bağırsak florasında yerleşik olarak bulunan ve uygun koşullar oluştuğunda hastalıklara neden olabilen fırsatçı bağırsak patojenleri arasında yer almaktadır. *E. coli*'nin özellikle toksin üreten suşlarının, gelişmekte olan ülkelerde beş yaş altı çocuklarda şiddetli ishale seyrederip ölüm ile sonuçlanan ishal vakalarının % 20'sinden sorumlu olduğu rapor edilmiştir (Qadri ve ark., 2005). Enterotoksijenik *E. coli*'nin aynı zamanda, seyahatlerde ortaya çıkan ishal vakalarının da % 10-60'ından sorumlu olduğu bilinmektedir (Black, 1990). İnsanlarda *S. typhimurium* tarafından oluşturulan salmonellozis ise 24 saat içerisinde

ortaya çıkan ateş, akut bağırsak yangısı ve ishal ile karakterizedir (Gart ve ark., 2016). *S. typhimurium* bağırsaklarda kolonize olmasının önüne geçen unsurların üstesinden gelmek amacı ile birçok virulans faktör kullanma yetisine sahip olduğundan, bağırsaklardaki yangısal reaksiyonu hızlı ve etkili bir şekilde uyarabilmektedir. Çalışmamızda kullanılan yeşil yaprak uçucularının ise *E. coli* ve *S. typhimurium*'un üremesini baskılayamadıkları görülmektedir. Kubo ve ark. (1995) da *trans*-2-dekanal'ın *E. coli* üzerine 800 µg/ml doza kadar etkisiz olduğunu bildirmişlerdir. Cho ve ark. (2004) ise *trans*-2-nonenal'ın *E. coli* O157:H7 ve *S. typhimurium*'u baskılayabilmesi için 1000 ppm (µg/ml) gibi yüksek konsantrasyonlarda kullanılması gerektiğini rapor etmişlerdir. Diğer taraftan *trans*-2-hekzenal ve *cis*-3-hekzenal'ın *E. coli*'nin O-157:H7 suşu üzerine 6,25 ile 100 µg/ml doz aralığında inhibitör etki gösterdiğine dair literatür bilgisi de mevcuttur (Nakamura ve Hatanaka, 2002). Çalışmamızda kullanılan *E. coli*'nin suşu ise O1:K1:H7'dir. Sonuçlar arasındaki söz konusu farklılıkların çalışmalarda bakterilerin farklı suşlarının kullanılmış olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Probiyotikler, “gastrointestinal kanaldaki mikroorganizma dengesine katkıda bulunarak konakçı hayvan için faydalı etkiler oluşturan canlı mikroorganizmalar” olarak tanımlamıştır (Fuller, 1989). *Bifidobacterium* spp. ve *Lactobacillus* spp. cinsi bakteriler sindirim kanalı homeostazisinde baskın rollere sahip olan iyi huylu bakterilerden olup bağırsaklardan izole edilen formları yaygın bir şekilde probiyotik olarak kullanılmaktadır (Sánchez ve ark., 2017). Her iki bakteri de zararlı bakterilerin üremesini engelleyerek bağırsak enfeksiyonlarının önüne geçmelerinin yanı sıra kolesterol düzeylerini düşürmekte, immun cevabı iyileştirmekte, antikanserojenik aktivite göstermekte ve vitamin üretmektedirler (Perdigon ve ark., 2003; Steer ve ark., 2000). *Bifidobacteria* türlerinin bağırsak mikroflorası içinde sayıca baskın türler arasında yer almamakla birlikte gastrointestinal sağlığı destekleyen kilit rollere sahip oldukları bildirilmektedir (Schell ve ark., 2002). Yetişkinlerdeki fekal floranın sadece % 3-6'sını oluşturan *Bifidobacteria*, ishalin önlenmesi, laktoz intoleransının düzeltilmesi ve immun modülasyon gibi bağırsak sağlığına faydalı etkiler ile ilişkilendirilmektedir (Biavati ve Mattarelli, 2001).

Çalışmamızda kullanılan yeşil yaprak uçucuları *B. bifidum* ve *L. acidophilus*'un üremesini düşük konsantrasyonlarda ılımlı bir şekilde uyarmışlardır. Yeşil yaprak uçucularının bağırsaklardaki iyi huylu bakteriler üzerine etkileriyle ilgili literatür bilgisine rastlanamamıştır. Bununla birlikte, *trans*-2-hekzenal ve *trans*-2-dekanal'ın ruminantlarda selülozun pregastrik fermentasyonuna katkıda bulunan *Fibrobacter succinogenes*'in saf kültürlerinin üremesi üzerine de uyarıcı etki gösterdiği bildirilmiştir (Demirtas ve ark., 2019). Aynı çalışmada, *cis*-3-hekzenal'ın ise *in vitro* rumen ortamında *Butyrivibrio fibrisolvens* ve *Streptococcus bovis* gibi Gram-pozitif bakterilerin sayılarını ve rumen bakterilerinin fermentasyon son ürünlerinden olan asetik ve bütirik asit miktarlarını arttırdığı gözlenmiştir. Fitokimyasallardan bir diğeri olan saponinlerin düşük dozlarda rumendeki bakterilerin üremelerini ve yem maddelerinin bakterilerce kullanımını arttırdığı buna karşılık yüksek dozlarda ise baskıladığı rapor edilmiştir (Patra ve ark., 2012). Araştırmacılar sindirim kanalında bulunan bakterilerin flavanoidler ve fenolik asitler gibi bazı ikincil bitki metabolitlerini, kendilerini bu bileşiklerin toksik etkilerinden koruyabilmek için hidrolize edebildiklerini bildirmişlerdir (Aura, 2008; Lampe ve Chang, 2007). Örneğin flavanoidlerden izo-kuarsetin (Schneider ve ark., 1999) ve kuarsetinin (Winter ve ark., 1989) bakteriyel hidrolizasyonu sonucu 3,4-dihidroksifenilasetik asit, naringenin (Winter ve ark., 1989) hidrolizasyonu sonucu ise fenilasetik asit şekillenmektedir. Biyolojik olarak önceki formlarına göre daha aktif olan bu fenolik asitler ise aromatik aminoasitlerin sentezlenmesine aracılık ederek bazı bakteri gruplarının üremelerini ve enzimatik faaliyetlerini uyarabilmektedir. Söz konusu hidrojenizasyon son ürünlerinin anaerobik koşullarda bakterilerce karbon kaynağı olarak kullanılabilirdiği de belirtilmektedir (Chesson ve ark., 1982). Mao ve Zhu (2011) ise 6 adet flavonoid bileşiğin fekal mikroorganizmalar üzerine *in vitro* etkilerini araştırdıkları çalışmalarında, her bir uçucu yağ asidi için değişmekle birlikte baissalin hariç tüm flavonoidlerin toplam UYA üretimini arttırdığını ve bu nedenle prebiyotik olarak kullanılabileceklerini önermişlerdir. Greathead (2003) da bazı bitkilerin ve baharatların kimi bakteri grupları üzerine olan uyarıcı etkilerini “prebiyotik tipi etki” olarak sınıflandırmıştır. Gibson ve Roberfroid (1995), prebiyotikleri “kolondaki sınırlı sayıdaki bakteri gruplarının üremesini ve aktivitelerini seçici bir şekilde uyarmak suretiyle konakçı canlı üzerinde olumlu

etkiler oluşturan ve canlının kendi enzimleriyle sindirilemeyen diyet bileşenleri” olarak tanımlamışlardır. Prebiyotikleri substrat olarak kullanan iki önemli bakteri grubunun *Bifidobacterium* spp. ve *Lactobacillus* spp. olduğu bilinmektedir (Verstegen ve Williams, 2002). Sindirilemeyen lifli bileşenlerden oligosakkaritler grubuna dahil olan fruktooligosakkaritler (oligofruktoz ve inülin) ve galaktooligosakkaritler en yaygın kullanılan prebiyotikler arasındadır (Kusina ve ark., 2003). Çalışmamızda kullanılan bileşiklerin doymuş türevleri olan dekanal ve nonenal “genel anlamda güvenli olarak tanınan” statüsündedir (Feron ve ark., 1991). Hemen hemen bütün bitki türlerinin vejetatif kısımlarında bulunan baskın uçucu bileşenlerden olan *trans*-2-hekzenal’in ise mutajenite testi sonuçlarının negatif olduğu bildirilmiştir (Andersen ve ark., 1994). Bununla birlikte söz konusu bileşenlerin prebiyotik statüsüne alınabilmeleri için mide ve bağırsaklarda stabilite ve etkinliklerini ne derece koruyabildiklerinin ortaya konulması gerektiği düşünülmektedir.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Yeşil yaprak uçucularının bağırsaklardaki “iyi huylu” (kommensal) ve “kötü huylu” (patojen) bakteriler üzerine uyarıcı ve baskılayıcı etkilerinin araştırıldığı bu çalışmada genel olarak, iyi huylu bakterilerin yeşil yaprak uçucularına karşı patojenlere göre daha dirençli oldukları gözlenmiştir. *Trans*-2-hekzenal, *cis*-3-hekzenal ve *trans*-2-nonenal, *B. longum* dışında kalan iyi huylu bakteriler üzerine baskılayıcı etki göstermemiştir. Kullanılan bileşiklerin *B. bifidum* ve *L. acidophilus*’un üremesini düşük konsantrasyonlarda ılımlı bir şekilde uyarmış olmalarının bağırsak sağlığı açısından olumlu sonuçlar oluşturabileceği düşünülmektedir. Bunun yanında, kolorektal kanser ajanlarından biri olan *F. nucleatum*’un üremesini baskılayan yeşil yaprak uçucularının kolon kanserine karşı koruyucu etkilerinin yapılacak *in vitro* ve *in vivo* denemelerle araştırılması konunun aydınlatılmasına katkı sağlayacaktır. Patojen bakteriler üzerine en etkili bileşik olduğu gözlenen *trans*-2-dekanal’ın patojen bakterileri baskıladığı dozda iyi huylu bakterileri korumasının ise bu bileşiğin bağırsak sağlığını düzenlemek amacıyla kullanılması açısından avantaj oluşturacağı düşünülmektedir. Farklı olumlu etkilere sahip olan yeşil yaprak uçucularının ikili ya da üçlü kombinasyonlarının bağırsak bakterileri üzerine etkilerinin incelenmesinin de konuya farklı bakış açıları kazandıracağı düşünülmektedir. Bununla birlikte, yeşil yaprak uçucularının bağırsak sağlığını iyileştiren ve bağırsak enfeksiyonlarını önleyen birer gıda takviyesi olarak kullanılabilmesi için, bu bileşiklerin bağırsak bakterilerinin karma kültürleri üzerine etkilerinin inceleneceği *in vitro* çalışmalara ve mide ve bağırsaklarda stabilite ve etkinliklerini ne derece koruyabildiklerini ortaya koyacak olan *in vivo* denemelere ihtiyaç olduğu düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Ahn YJ, Kim M, Kawamura T, Yamamoto T, Fujisawa T, Mitsuoka T (1990a).** Effects of Panax ginseng extract on growth responses of human intestinal bacteria and bacterial metabolism. *Korean. J. Food. Sci. Anim. Resour.*, **14**, 253–264.
- Ahn YJ, Kim M, Yamamoto T, Fujisawa T, Mitsuoka T (1990b).** Selective growth responses of human intestinal bacteria to Araliaceae plant extracts. *Microb. Ecol. Health Dis.*, **3**, 169–175.
- Ahn YJ, Lee CO, Kweon JH, Ahn JW, Park JH (1998).** Growth-inhibitory effects of Galla Rhois-derived tannins on intestinal bacteria, *J. Appl. Microbiol.*, **84**, 439–443.
- Ahn YJ, Sakanaka S, Kim M, Kawamura T, Fujisawa T, Mitsuoka T (1990c).** Effect of green tea extract on growth of intestinal bacteria. *Microb. Ecol. Health. Dis.*, **3**, 335–338.
- Alam M, Midtvedt T, Uribe A (1994).** Differential cell kinetics in the ileum and colon of germ free rats. *Scand. J. Gastroenterol.*, **29**, 445–51.
- Alméras E, Stolz S, Vollenweide S, Reymond P, Mène-Saffrané L, Farmer EE (2003).** Reactive electrophile species activate defense gene expression in Arabidopsis. *Plant J.*, **34**, 205–216.
- Andersen RA, Hamilton-Kemp TR, Hildebrand DF, McCracken CT, Collins RW, Fleming PD (1994).** Structure antifungal activity relationships among volatile C6 and C9 aliphatic aldehydes, ketones, and alcohols. *J. Agric. Food Chem.*, **42**, 1563–1568.
- Antunes LCM, Han J, Ferreira RB, Lolić P, Borchers CH, Finlay BB (2011).** Effect of antibiotic treatment on the intestinal metabolome. *Antimicrob. Agents. Ch.*, **55**(4), 1494–1503.
- Aura AM, (2008).** Microbial metabolism of dietary phenolic compounds in the colon. *Phytochem. Rev.*, **7**, 407–429.
- Bäumle AJ, Sperandio V (2016).** Interactions between the microbiota and pathogenic bacteria in the gut. *Nature.*, **535**, 85–93.
- Besten GD, Eunen KV, Groen AK, Venema K, Reijngoud DJ, Bakker BM (2013).** The role of short-chain fatty acids in the interplay between diet, gut microbiota, and host energy metabolism. *J. Lipid. Res.*, **54**, 2325–2340.
- Biavati B, Mattarelli P (2001).** *The Family Bifidobacteriaceae*. In: Dworkin M, Falkow S, Rosenberg E, Schleifer KH, Stackebrandt E (Eds), *The Prokaryotes Springer, New York*. pp: 1–70.

Bisignano G, Lagana MG, Trombetta D, Arena S, Nostro A, Uccella N, Mazzanti G, Saija A (2001). *In vitro* antibacterial activity of some aliphatic aldehydes from *Olea europaea* L FEMS. *Microbiol. Lett.*, **198**, 9-13.

Black RE (1990). Epidemiology of travelers' diarrhea and relative importance of various pathogens. *Rev. Infect. Dis.*, **12**, 73-79.

Borges Canha M, Portela Cidade JP, Dinis Ribeiro M, Leite Moreira AF, Pimentel Nunes P (2015). Role of colonic microbiota in colorectal carcinogenesis: a systematic review. *Rev. Esp. Enferm. Dig.*, **107**, 659-671.

Bölükbaşı MF (1989). *Vücut Isısı ve Sindirim*. Ankara: Ankara Üniversitesi Basımevi, s: 91.

Bradshaw DJ, Marsh PD, Watson K, Allison C (1997). *Inter-species interactions in microbial communities*. In: Wimpenny J, Handley P, Gilbert P, Lappin-Scott H, Jones M (Eds), *Bio lms. Community Interactions and Controls*. Bioline, Cardiff. p: 63-71.

Bravo JA, Forsythe P, Chew MV, Escaravage E, Savignac HM, Dinan TG, Bienenstock J, Cryan JF (2011). Ingestion of *Lactobacillus* strain regulates emotional behavior and central GABA receptor expression in amouseviathe vagus nerve. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **108**, 16050-16055.

Brighenti F, Castellani G, Benini L, Casiraghi MC, Leopardi E, Croveti R, Testolin G (1995). Effect of neutralized and native vinegar on blood glucose and acetate responses to a mixed meal in healthy subjects. *Eur. J. Clin. Nutr.*, **49**, 242-47.

Bultman SJ (2014). Molecular pathways: gene-environment interactions regulating dietary fiber induction of proliferation and apoptosis via butyrate for cancer prevention. *Clin. Cancer Res.* **20**, 799-803.

Bultman SJ (2016). The microbiome and its potential as a cancer preventive intervention. *Semin. Oncol.*, **43**, 97-106.

Bussmann RW, Malca-García G, Glenn A, Sharon D, Chait G, Díaz D, Aguirre C (2010). Minimum inhibitory concentrations of medicinal plants used in Northern Peru as antibacterial remedies. *J. Ethnopharmacol.*, **132**, 101-108.

Canny GO, McCormick BA, (2008). Bacteria in the intestine, helpful residents or enemies from within? *Infect. Immun.*, **76**, 3360-3373.

Carding S (2015). Gut bacteria and mind control. https://www.youtube.com/watch?v=mioR_WrkRaU (Erişim tarihi: 27.05.2019).

Chesson A, Colin SS, Wallace RJ (1982). Influence of plant phenolic acids on growth and cellulolytic activity of rumen bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.*, **44(3)**, 597-603.

Cho MJ, Buescher RW, Johnson M, Janes, M (2004). Inactivation of pathogenic bacteria by cucumber volatiles (E, Z)-2, 6-nonadienal and (E)-2-nonenal. *J. Food. Prot.*, **67**, 1014-1016.

Claesson MJ, Cusack S, O'Sullivan O, Greene-Diniz R, de Weerd H, Flannery E, Stanton C (2011). Composition, variability, and temporal stability of the intestinal microbiota of the elderly. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **108**, 4586-4591.

CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) (2016). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: 26th Informational Supplement. CLSI document M100-S26. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, p: 100-121.

Cobellis G, Trbalza-Marinucci M, Yu Z (2016). Critical evaluation of essential oils as rumen modifiers in ruminant nutrition: a review, *Sci. Total Environ.*, **545**, 556-568.

Croft K, Juttne F, Slusarenko A (1993). Volatile products of the lipoxygenase pathway evolved from *Phaseolus vulgaris* (L.) leaves inoculated with *Pseudomonas syringae* pv *phaseolicola*. *Plant. Physiol.*, **101**, 13-24.

Croswell A, Amir E, Tegatz P, Barman M, Salzman NH (2009). Prolonged impact of antibiotics on intestinal microbial ecology and susceptibility to enteric *Salmonella* infection. *Infect. Immun.*, **77**, 2741-2753.

Cummings JH, Macfarlane GT (1991). The control and consequences of bacterial fermentation in the human colon. *J. Appl. Bacteriol.*, **70**, 443-459.

Demirtas A, Ozturk H, Sudagidan M, Keyvan E, Yavuz, O, Gulay O, Musa SAA, (2019). Effects of commercial aldehydes from green leaf volatiles (green odour) on rumen microbial population and fermentation profile in an artificial rumen (Rusitec). *Anaerobe*. **55**, 83-92.

Demirtaş A (2013). *Isırgan Otu (Urtica dioica L.), Papatya (Matricaria chamomilla L.) ve Hayıt Meyvesi (Vitex agnus-castus L.) Ekstraktlarının Normal Koşullarda ve Asidoz Koşullarında Rumen Mikrobiyel Fermentasyonuna in vitro Etkileri*. Doktora tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

Desbonnet L, Garrett L, Clarke G, Bienenstock J, Dinan TG (2008). The probiotic *Bifidobacteria* infantis: An assessment of potential antidepressant properties in the rat. *J. Psychiatr. Res.*, **43**, 164-174.

Drevets WC (2001). Neuroimaging and neuropathological studies of depression: implications for the cognitive-emotional features of mood disorders. *Curr. Opin. Neurobiol.*, **11**, 240-249.

Fallingborg J (1999). Intraluminal pH of the human gastrointestinal tract. *Dan. Med. Bull.*, **46**, 183-96.

Feron VJ, Til HP, De Vrijer F, Woutersen RA, Cassee FR, Van Bladeren PJ (1991). Aldehydes: occurrence, carcinogenic potential, mechanism of action and risk assessment. *Mutat. Res.* **259**, 363-385.

Foliaki S, Pearce N, Björkstén B, Mallol J, Montefort S, Von Mutius E, Allergies in Childhood Phase III Study Group (2009). Antibiotic use in infancy and symptoms of asthma, rhinoconjunctivitis, and eczema in children 6 and 7 years old: International Study of Asthma and Allergies in Childhood Phase III. *J. Allergy. Clin. Immunol. Pract.*, **124**, 982-989.

Fouhy F, Guinane CM, Hussey S, Wall R, Ryan CA, Dempsey EM, Cotter PD (2012). High-throughput sequencing reveals the incomplete, short-term recovery of infant gut microbiota following parenteral antibiotic treatment with ampicillin and gentamicin. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **56**, 5811-5820.

Froberg MK, Palavecino E, Dykoski R, Gerding DN, Peterson LR, Johnson S (2004). *Staphylococcus aureus* and *Clostridium difficile* cause distinct pseudomembranous intestinal diseases. *Clin. Infect. Dis.*, **39**, 747-750.

Fujisawa T, Kuno M, Kokubu T, Hirata R, Sasaki K, Fujisawa Y, Nakamura K, Mitsuoka T (1992). Effects of apple and corn fiber supplemented with bifidobacteria and fructo cytooligosaccharides preparation (A & C) on the fecal microflora and fecal properties in patients with dementia senilis. *EFSA. J.*, **5**, 173-176.

Fuller R (1989). Probiotics in man and animals. *J. Appl. Bacteriol.*, **66**, 365-378.

Gart EV, Suchodolski JS, Welsh Jr TH, Alaniz RC, Randel R D, Lawhon SD (2016). *Salmonella typhimurium* and multidirectional communication in the gut. *Front. Microbiol.* **7**, 1827.

Gibson PR, Moeller I, Kagelari O, Folino M, Young GP (1992). Contrasting effects of butyrate on the expression of phenotypic markers of differentiation in neoplastic and non-neoplastic colonic epithelial cells *in vitro*. *J. Gastroenterol. Hepatol.*, **7**, 165-72.

Gibson GR, Roberfroid MB (1995). Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *J. Nutr.* **125**, 1401-1412.

Gill SR, Pop M, Deboy RT, Eckburg PJ, Samuel BS, Gordon JI, Relman DA, Fraser-Liggett CM, Nelson K (2006). Metagenomic analysis of the human distal gut microbiome. *Science.*, **312**, 1355-1359.

Greathead H (2003). Plants and plant extracts for improving animal productivity. *Proc. Nutr. Soc.*, **62**, 279-290.

Grenham S, Clarke G, Cryan JF, Dinan TG (2011). Brain-gut-microbe communication in health and disease. *Front. Physiol.*, **2**, 1-15.

Guarner F, Malagelada JR (2003). Gut flora in health and disease. *Lancet.*, **361**, 512-19.

Heiden AC, Kobel K, Langebartels C (2003). Emissions of oxygenated volatile organic compounds from plants Part I: Emissions from lipoxygenase activity. *J. Atmos. Chem.*, **45**, 143-172.

Hervert-Hernandez D, Pintado C, Rotgu R, Goni I (2009). Stimulatory role of grape pomace polyphenols on *Lactobacillus acidophilus* growth. *Int. J. Food. Microbiol.*, **136**, 119-122.

Hobson PN (1969). *Rumen bacteria*. In: Methods in microbiology. London and New York: Academic Press, p:133-149.

Hong YH, Nishimura Y, Hishikawa D, Tsuzuki H, Miyahara H, Gotoh C, Choi KC, Feng DD, Chen C, Lee HG, Katoh K, Roh SG, Sasaki S (2005). Acetate and propionate short chain fatty acids stimulate adipogenesis via GPCR43. *Endocrinology.*, **146**, 5092-5096.

Hungate RE (1960). *Microbial ecology of the rumen*. Selected Topics in Microbial Ecology Symposium. Annual Meeting of the Society of American Bacteriologists. Philadelphia/ 24, 353-364.

Hussey S, Wall R, Gruffman E, O'Sullivan L, Ryan C.A, Murphy B, Ross RP (2011). Parenteral antibiotics reduce Bifidobacteria colonization and diversity in neonates. *Int. J. Microbiol.*, **2011**, 130574.

Huws SA, Scott MB, Tweed JKS, Lee MRF (2013). Fatty acid oxidation products ('green odour') released from perennial ryegrass following biotic and abiotic stress, potentially have antimicrobial properties against the rumen microbiota resulting in decreased biohydrogenation. *J. Appl. Microbiol.*, **115**, 1081-1090.

Iauk L, Lo Bue AM, Milazzo I, Rapisarda A, Blandino G (2003). Antibacterial activity of medicinal plant extracts against periodontopathic bacteria. *Phytother Res.* **17**, 599-604.

Jakobsson HE, Jernberg C, Andersson AF, Sjölund-Karlsson M, Jansson JK, Engstrand L (2010). Short-term antibiotic treatment has differing long-term impacts on the human throat and gut microbiome. *PloS One.*, **5**, e9836.

Jeong EY, Jeon JH, Kim HW, Kim MG, Lee HS (2009). Antimicrobial activity of leptospermone and its derivatives against human intestinal bacteria. *Food. Chem.*, **115**, 1401-1404 .

Jernberg C, Löfmark S, Edlund C, Jansson JK (2010). Long-term impacts of antibiotic exposure on the human intestinal microbiota. *Microbiology.*, **156**, 3216-3223.

Joossens M, Huys G, Cnockaert M, De Preter V, Verbeke K, Rutgeerts P, Vandamme P, Vermeire S (2011). Dysbiosis of the faecal microbiota in patients with Crohn's disease and their unaffected relatives. *Gut.*, **60**, 631-637.

Jouany JP, Morgavi DP (2007). Use of 'natural' products as alternatives to antibiotic feed additives in ruminant production. *Animal.*, **1**, 1443-1466.

Kang MS, Oh JS, Kang IC, Hong, SJ, Choi CH (2008). Inhibitory effect of methyl gallate and gallic acid on oral bacteria. *J. Microbiol.*, **46**, 744-750.

Keku TO, Dulal S, Deveau A, Jovov B, Han X (2015). The gastrointestinal microbiota and colorectal cancer. *J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, **308**, 351-363.

Kishimoto K, Matsui KO, Zawa R, Takabayashi J (2008). Direct fungicidal activities of C6-aldehydes are important constituents for defense responses in *Arabidopsis* against *Botrytis cinerea*. *Phytochemistry.*, **69**, 2127-2132.

Kolenbrander PE (1989). Surface recognition among oral bacteria: multigeneric coaggregations and their mediators. *Crit. Rev. Microbio.*, **17**, 137-59.

Kubo A, Kubo I (1995). Antimicrobial agents from *Tanacetum balsamita*. *J. Nat. Prod.*, **58**, 1565-1569.

Kubo A, Lunde CS, Kubo I (1995). Antimicrobial activity of the olive oil flavor compounds. *J. Agric. Food. Chem.*, **43**, 1629-1633

Kubo I, Muroi H, Masaki H, Kubo A (1993). Antibacterial activity of long-chain alcohols: the role of hydrophobic alkyl groups. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **3**, 1305-1308.

Kusina J, Kusina NT, Pettigrew JE (2003). "Effect of Diet on Intestinal Bacterial Populations in Swine". 64th Minnesota Nutrition Conference and Preconference Symposium: "The World of Corn" Proceedings, September 16-17, 2003.

Lampe JW, Chang JL (2007). Interindividual differences in phyto-chemical metabolism and disposition. *Semin. Cancer Biol.*, **17**, 347-353.

Lanciotti R, Belletti N, Patrignani F, Gianotti A, Gardini F, Guerzoni ME (2003). Application of hexanal, (E)-2-hexenal, and hexyl acetate to improve the safety of fresh-sliced apples. *J. Agric. Food Chem.*, **51(10)**, 2958-2963.

Lee MRF, Huws SA, Scollan ND, Dewhurst RJ (2007). Effects of fatty acid oxidation products (green odor) on rumen bacterial populations and lipid metabolism *in vitro*. *J. Dairy. Sci.*, **90**, 3874-3882.

Ley RE (2014). Harnessing microbiota to kill a pathogen: The sweet tooth of *Clostridium difficile*. *Nat. Med.*, **20**, 248-249.

LIU RH (2004). Potential synergy of phytochemicals in cancer prevention: Mechanism of action. *J. Nutr.*, **134**, 3479-3485.

Lin HV, Frassetto A, Kowalik EJ, Nawrocki AR, Lu MM, Kosinski JR, Hubert JA, Szeto D, Yao X, Forrest G, Marsh DJ (2012). Butyrate and propionate protect

against diet-induced obesity and regulate gut hormones via free fatty acid receptor 3-independent mechanisms. *Plos One.*, **7**, 1-9.

Louis P, Hold GL, Flint HJ (2014). The gut microbiota bacterial metabolites and colorectal cancer. *Nat. Rev. Microbiol.*, **12**, 661-672.

Lyte M (2011). Probiotics function mechanistically as delivery vehicles for neuroactive compounds: Microbial endocrinology in the design and use of probiotics. *Bioessays.*, **33**, 574-581

Macfarlane GT, Macfarlane S (1997). Human colonic microbiota: Ecology, physiology and metabolic potential of intestinal bacteria. *Scand. J. Gastroenterol.*, **32**, 3-9.

Macfarlane GT, Macfarlane S (2011). Fermentation in the human large intestine its physiologic consequences and the potential contribution of prebiotics. *J. Clin. Gastroenterol.*, **45**, 120-127.

Macfarlane S, Hopkins MJ, Macfarlane GT (2000). Bacterial growth and metabolism on surfaces in the large intestine. *Microb. Ecol. Healt Dis.*, **2**, 64-72.

Mackie RI, Aminov RI, White BA, McSweeney, CS (2000). *Molecular ecology and diversity in gut microbial ecosystems.* In: Cronjé PB. ((Eds). Ruminant physiology: Digestion, metabolism, growth and reproduction. New York: CABI Publishing, p: 61-77.

Mao S, Zhu W (2011). Effects of six flavonoid compounds addition on short-chain fatty acids production and human fecal microbial community change during *in vitro* fermentation. *Afr. J. Microbiol. Res.*, **5**, 4484-4491.

Matsui K (2006). Green leaf volatiles: hydroperoxide lyase pathway of oxylipin metabolism. *Curr. Opin. Plant. Biol.*, **9**, 274-280.

McFarland LV (2007). Diarrhoea associated with antibiotic use. *BMJ.*, **335**, 54-55.

Moyer MW (2014). Gut Bacteria May Play a Role in Autism. <https://www.scientificamerican.com/article/gut-bacteria-may-play-a-role-in-autism/> (Erişim tarihi: 27.05.2019).

Mulle JG, Sharp WG, Cubells JF (2013). The gut microbiome: A new frontier in autism research. *Curr. Psychiatry. Rep.*, **15**, 337.

Nakamura S, Hatanaka A (2002). Green-leaf-derived C6-aroma compounds with potent antibacterial action that act on both gram-negative and gram-positive bacteria. *J. Agric. Food Chem.*, **50**, 7639-7644.

Neri F, Mari M, Brigati S (2006a). Control of *Penicillium expansum* by plant volatile compounds. *Plant. Pathol.*, **55**, 100-105.

Neri F, Mari M, Menniti AM, Brigati S (2006b). Activity of trans-2-hexenal against *Penicillium expansum* in ‘Conference’ pears. *J. Appl. Microbiol.*, **100**, 1186-1193.

O'Hara A, Shanahan F (2006). The gut flora as a forgotten organ. *EMBO Reports.*, **7**, 688-693 .

Pandey AK, Kumar S (2013). Perspective on plant products as antimicrobials agents: A Review. *Pharmacologia.*, **4**, 469-480.

Park B, Kim J, Lee S, Kim KS, Takeoka GR, Ahn Y, Kim JH (2005). Selective growth-inhibiting effects of compounds identified in *Tabebuia impetiginosa* inner bark on human intestinal bacteria. *J. Agr. Food .Chem.*, **53**, 1152-1157.

Patra AK, Saxena J (2009). Dietary phytochemicals as rumen modifiers: A review of the effects on microbial populations. *Antonie Van Leeuwenhoek*, **96**, 363-375.

Patra AK, Stiverson J, Yu Z (2012). Effects of quillaja and yucca saponins on communities and select populations of rumen bacteria and archaea, and fermentation *in vitro*. *J. Appl. Microbiol.*, **113**, 1329-1340.

Perdigon G, Galdeano CM, Valdez JC, Medici M (2003). Interaction of lactic acid bacteria with the gut immune system. *Eur. J. Clin. Nutr.*, **56**, 21-26.

Phoem AN, Voravuthikunchai SP (2012). Growth stimulation/inhibition effect of medicinal plants on human intestinal microbiota. *J. Microbiol. Biotechnol. Food. Sci.*, **21**, 739-745.

Piesik D, Lemńczy G, Skoczek A, Lamparski R, Bocianowski J, Kotwica K, Delaney KJ (2011). Fusarium infection in maize: volatile induction of infected and neighboring uninfected plants has the potential to attract a pest cereal leaf beetle, *Oulema melanopus*. *J. Plant Physiol.*, **168**, 1534-1542.

Puupponen-Pimia R, Nohynek L, Meier C, Kahkonen M, Heinonen M, Kopia A, Oksman-Caldentey KM (2001). Antimicrobial properties of phenolic compounds from berries. *J. Appl. Microbiol.*, **90**, 494-507.

Qadri F, Svennerholm AM, Faruque ASG Sack RB (2005). Enterotoxigenic *Escherichia coli* in developing countries: epidemiology, microbiology, clinical features, treatment, and prevention. *Clin. Microbiol. Rev.*, **18**, 465-483.

Rajkovic A (2014). Microbial toxins and low level of foodborne exposure. *Trends Food Sci. Technol.*, **38**, 149-157.

Ray AJ, Pultz NJ, Bhalla A, Aron DC, Donskey CJ (2003). Coexistence of vancomycin-resistant enterococci and *Staphylococcus aureus* in the intestinal tracts of hospitalized patients. *Clin. Infect. Dis.*, **37**, 875-881.

Ribet D, Cossart P (2015). How bacterial pathogens colonize their hosts and invade deeper tissues. *Microbes. Infect.*, **17**, 173-183.

Ridaura VK, Faith JJ, Rey FE, Cheng J, Duncan AE, Kau AL, Griffin NW, Lombard V, Henrissat B, Bain JR, Muehlbauer MJ, Ilkayeva O, Semenkovich CF, Funai K, Hayashi DK, Lyle BJ, Martini MC, Ursell LK, Clemente JC, Van Treuren

W, Walters WA, Knight R, Newgard CB, Heath AC, Gordon JI (2013). Gut microbiota from twins discordant for obesity modulate metabolism in mice. *Science.*, **341**, 24009397.

Rios JL, Recio MC (2005). Medicinal plants and antimicrobial activity. *J. Ethnopharmacol.*, **100**, 80-84.

Ríos-Covián D, Ruas-Madiedo P, Margolles A, Gueimonde M, Reyes-Gavilán CG, Salazar N (2016). Intestinal short chain fatty acids and their link with diet and human health. *Front Microbiol.*, **7**, 1-9.

Rosignoli P, Fabiani R, De Bartolomeo A, Spinozzi F, Agea E, Pelli MA, Morozzi G (2001). Protective activity of butyrate on hydrogen peroxide-induced DNA damage in isolated human colonocytes and HT29 tumour cells. *Carcinogenesis*, **22**, 1675-1680.

Rousseaux C, Thuru X, Gelot A, Barnich N, Neut C, Dubuquoy L, Dubuquoy C, Merour E, Geboes K, Chamaillard M, Ouwehand A, Leyer G, Carcano D, Colombel JF, Ardid D, Desreumaux P (2006). *Lactobacillus acidophilus* modulates intestinal pain and induces opioid and cannabinoid receptors. *Nat. Med.*, **13**, 35-37.

Sánchez B, Delgado S, Blanco-Míguez A, Lourenço A, Gueimonde M, Margolles A (2017). Probiotics, gut microbiota, and their influence on host health and disease. *Mol. Nutr. Food. Res.*, **61**, 1600240.

Sannasiddappa TH, Costabile A, Gibson GR, Clarke SR (2011). The influence of *Staphylococcus aureus* on gut microbial ecology in an *in vitro* continuous culture human colonic model system. *PloS One.*, **6**, e23227.

Scala A, Allmann S, Mirabella R, Haring MA, Schuurink RC (2013). Green leaf volatiles: a plant's multifunctional weapon against herbivores and pathogens. *Int. J. Mol. Sci.*, **14**, 17781-17811.

Schell MA, Karmirantzou M, Snel B, Vilanova D, Berger B, Pessi G, Pridmore RD (2002). The genome sequence of *Bifidobacterium longum* reflects its adaptation to the human gastrointestinal tract. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **99**, 14422-14427.

Schneider H, Schwiertz A, Collins MD, Blaut M (1999). Anaerobic transformation of quercetin-3-glucoside by bacteria from the human intestinal tract. *Arch. Microbiol.*, **171**, 81-91.

Schopf JW (1993). Microfossils of the early archaean apex chert: New evidence of the antiquity of life. *Science.*, **260**, 640-646.

Sekirov I, Russell SL, Antunes LCM, Finlay BB (2010). Gut microbiota in health and disease. *Physiol. Rev.*, **90**, 859-904.

Serino M, Luche E, Chabo C, Amar J, Burcelin R (2009). Intestinal microflora and metabolic diseases. *Diabetes Metab. J.*, **35**, 262-272.

Shanahan F (2002). The host–microbe interface within the gut. *Best. Pract. Res. Clin. Gastroenterol.*, **16**, 915-931.

Siavoshian S, Segain JP, Kornprobst M, Bonnet C, Cherbut C, Galmiche JP, Blottiere HM (2000). Butyrate and trichostatin A effects on the proliferation/differentiation of human intestinal epithelial cells: induction of cyclin D3 and p21 expression. *Gut.*, **46**, 507-514.

Steer T, Carpenter H, Tuohy K, Gibson GR (2000). Perspectives on the role of the human gut microbiota and its modulation by pro- and prebiotics. *Nutr. Res. Revs.*, **13**, 229-254.

Stephen AM, Cummings JH (1980). The microbial contribution to human faecal mass. *J. Med. Microbiol.*, **13**, 45-56.

Sudo N, Chida Y, Aiba Y, Sonoda J, Oyama N, Yu XN, Kubo C, Koga Y (2004). Postnatal microbial colonization programs the hypothalamic–pituitary–adrenal system for stress response in mice. *J. Physiol.*, **558**, 263-275.

Surawicz CM (2003). Probiotics, antibiotic-associated diarrhoea and *Clostridium difficile* diarrhoea in humans. *Best. Pract. Res. Clin. Gastroenterol.*, **17**, 775-783.

Sümerkan B, Gökahmetoğlu S (1998). MIC, MBC Testleri, Rutindeki Önemi ve Uygulamaları. *Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi*. Kayseri. http://www.floradergisi.org/getFileContent.aspx?op=html&ref_id=62&file_name=1998-3-2-091-095.htm&pk=3f5f6267-1711-4b04-95ca-8d82f4af71ea (Erişim: tarihi 26.05.2019).

Thacker PA, Salomons MO, Aherne FX, Milligan LP, Bowland JP (1981). Influence of propionic acid on the cholesterol metabolism of pigs fed hypercholesterolemic diets. *Can. J. Anim. Sci.*, **61**, 969-975.

Thapa D, Losa R, Zweifel B, Wallace RJ (2012). Sensitivity of pathogenic and commensal bacteria from the human colon to essential oils. *Microbiol.*, **158**, 2870-2877.

Tlaskalová-Hogenová H, Štěpánková R, Kozáková RH, Hudcovic T, Vannucci L, Tučková L, Rossmann P, Hrnčíř T, Kverka M, Zákostelská Z, Klimešová Z, Příbylová J, Bártová J, Sanchez D, Fundová P, Borovská D, Šrůtková D, Zídek Z, Schwarzer M, Drastich P, Funda DP (2011). The role of gut microbiota (commensal bacteria) and the mucosal barrier in the pathogenesis of inflammatory and autoimmune diseases and cancer: contribution of germ-free and gnotobiotic animal models of human diseases. *Cell. Mol. Immunol.*, **8**, 110-120.

Trombetta D, Saija A, Bisignano G, Arena S, Caruso S, Mozzanti G, Uccella N, Castelli F (2002). Study on the mechanisms of the antibacterial action of some plant α,β -unsaturated aldehydes. *Lett. Appl. Microbiol.*, **35**, 285-290.

Uzal FA, Vidal JE, McClane BA, Gurjar AA (2010). *Clostridium perfringens* toxins involved in mammalian veterinary diseases. *Open Toxinology J.*, **2**, 24-42.

Van Loosdrecht MCM, Lyklema J, Norde W, Zehnder AJB (1990). Influence of interfaces on microbial activity. *Microbiol. Rev.*, **54**, 75-87.

Verstegen MWA, BA Williams (2002). Alternatives to the use of antibiotics as growth promoters for monogastric animals. *Anim. Biotechnol.*, **13**, 113-127.

Winter J, Moore LH, Dovell JVR, Bokkensheuer VD (1989). C-ring cleavage of flavonoids by human intestinal bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.*, **55**, 1203-1208.

Woese CR (1994). There must be a prokaryote somewhere: Microbiology's search for itself. *Microbiol. Rev.*, **58**, 1-9.

Wright J (2013). 'Friendly' bacteria treat autism-like symptoms in mice. <https://spectrumnews.org/news/friendly-bacteria-treat-autism-like-symptoms-in-mice/> (Erişim tarihi: 27.05.2019).

Yarandi SS, Peterson DA, Treisman GJ, Moran TH, Pasricha PJ (2016). Modulatory effects of gut microbiota on the central nervous system: how gut could play a role in neuropsychiatric health and diseases. *J. Neurogastroenterol. Motil.*, **22**, 201-212.

Young VB, Schmidt TM (2004). Antibiotic-associated diarrhea accompanied by large-scale alterations in the composition of the fecal microbiota. *J. Clin. Microbiol.*, **42**, 1203-1206.

ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı : Gamze GÖKER
Doğum Yeri ve Yılı : Polatlı/ANKARA, 1993
Medeni Hali : Evli
Yabancı Dili : İngilizce
Uyruğu : T.C.
Telefon No : 0553 283 46 06
Elektronik Posta : gyorumez@hotmail.com
İletişim Adresi : Bağlar Mah. Ofis Cad.
29/6 Merkez/BURDUR



Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl):

Lisans: Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Yüksekokulu Hemşirelik Bölümü, 2012-2016

Yüksek Lisans: Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Veteriner Fizyoloji Anabilim Dalı, 2016-

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl (Mesleki Deneyim):

1. Özel Isparta Hastanesi, Yenidoğan Yoğun Bakım Ünitesi (Hemşire), 2016
2. Burdur Amerikan Kültür Yabancı Dil Kursu (Eğitim Danışmanı), 2016-2017
3. Bucak Özel Oğuzhan Sağlık Koleji (Öğretmen), 2018
4. Süleyman Demirel Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi, Ameliyathane Servisi (Hemşire), 2018-Devam ediyor

Yayınları (SCI ve diğer makaleler):

1. **Polat M, Yörümez G (2016).** *Burdur ilinde yaşayan kadınların aile planlaması hakkındaki bilinç ve tutumlarının ölçülmesi.* II. Ulusal Doğum Sonrası Bakım Kongresi. Antalya (Poster sunumu).
2. **Yörümez G, Demirtaş A (2018).** *Kolon bakterileri ve fizyolojik görevleri.* 1st International Health Sciences and Life Congress. 02-05 Mayıs Burdur/TÜRKİYE, s:173 (Sözlü sunum).

