



T.C.
KIRŞEHİR AHI EVRAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**VANKOMİSİN DİRENÇLİ ENTEROKOKLARA
(VRE) KARŞI BAZI UÇUCU YAĞLARIN
ANTİBAKTERİYEL AKTİVİTELERİ**

REVZA ÇELİK

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KIRŞEHİR / 2019



T.C.
KIRŞEHİR AHI EVRAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**VANKOMİSİN DİRENÇLİ ENTEROKOKLARA
(VRE) KARŞI BAZI UÇUCU YAĞLARIN
ANTİBAKTERİYEL AKTİVİTELERİ**

REVZA ÇELİK

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

PROF. DR. ERGİN KARİPTAŞ

KIRŞEHİR / 2019

“Vankomisin Dirençli Enterokoklara (VRE) Karşı Bazı Uçucu Yağların Antibakteriyel Aktiviteleri” adlı bu çalışma, 24/04/2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Biyoloji Anabilim Dalı, Mikrobiyoloji dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

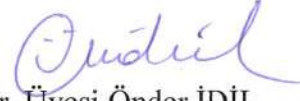
Tez Jürisi



Prof. Dr. Ergin KARIPTAŞ
Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi
Tıp Fakültesi



Doç. Dr. Belgin ERDEM
Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi
Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu



Dr. Öğr. Üyesi Önder İDİL
Amasya Üniversitesi
Eğitim Fakültesi

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Bu çalışma Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri biriminin TIP.A4.07005 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

Revza ÇELİK



ÖNSÖZ

Bu çalışma, Ahi Evran Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında yüksek lisans tezi olarak hazırlanmıştır. Araştırmada, Vankomisin Dirençli Enterokoklara (VRE) Karşı Bazı Uçucu Yağların Antibakteriyel Aktiviteleri etkileri tespit edilmiştir.

Yüksek lisans çalışmam süresince her türlü yardım ve desteğini esirgemeyen, bilgilerini ve tecrübelerini paylaşan saygıdeğer danışmanım Sayın Prof. Dr. Ergin KARİPTAŞ ve Sayın Arş. Gör. Dr. Esin KIRAY'a, bitki özütlerinin hazırlanması için yardımcı olan Sayın Prof. Dr. Harun ÇİFTÇİ, Sayın Doç. Dr. Gani KOZA, Sayın Öğr. Gör. Dr. Çiğdem ER ÇALIŞKAN'a ve eğitimim süresince maddi-manevi desteklerini esirgemeyen sevgili aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Nisan, 2019

Revza ÇELİK

İÇİNDEKİLER

TEZ BİLDİRİMİ	İV
ÖNSÖZ	V
ŞEKİLLER LİSTESİ	İX
TABLOLAR LİSTESİ	Xİ
SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ	Xİİİ
ÖZET	XV
ABSTRACT	XVI
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	3
2.1. Enterokoklar	3
2.1.1. Tarihçe	3
2.1.2. Morfoloji ve Üreme Özellikleri	4
2.1.3. Sınıflandırma ve Tanımlama	6
2.1.4. Enterokok Grupları	8
2.1.4.1. Grup 1	8
2.1.4.2. Grup 2	8
2.1.4.3. Grup 3	8
2.1.4.4. Grup 4	8
2.1.4.5. Grup 5	8
2.1.5. Bazı Enterokok Türlerinin Özellikleri	9
2.1.6. Enterokok Enfeksiyonlarının Epidemiyolojisi	10
2.1.7. Patojenite ve Virülans Faktörleri	12
2.1.8. Hemolizin veya Sitolizin	13
2.1.9. Agregasyon Faktörü (Af)	13
2.1.10. Ekstraselüler Süperoksid	14
2.1.10.1. Enterokokal Yüzey Proteini	14
2.1.10.2. Jelatinaz	15
2.1.10.3. Lipoteikoikasit (LTA)	15
2.1.10.4. Kollajen Bağlayıcı Adezin (MSCRAMM Ace)	15
2.1.10.5. Kapsül, Hücre Duvarı Polisakkaritleri	16

2.1.10.6. Seks Feromonları	16
2.1.10.7. Hyaluronidaz	16
2.1.10.8. Enterococcus faecalis Antijen A Proteini (efaA Proteini)	17
2.1.10.9. AS-48	17
2.1.10.10. Antibiyotik Direnci	17
2.1.11. Enterokok İnfeksiyonları	18
2.2. Uçucu Yağlar	19
2.2.1. Uçucu Yağların Genel Özellikleri	19
2.2.2. Uçucu Yağların Kimyasal Özellikleri	20
2.2.2.1. Kromatografi / Kütle Spektrometresi	20
2.2.3. Uçucu Yağların Antimikrobiyal Etki Mekanizması	20
2.2.4. Antimikrobiyal Aktivite Üzerinde Etkili Faktörler	21
2.2.4.1. Uçucu Yağların Özellikleri	21
2.2.4.2. Mikroorganizmaların Özellikleri	22
2.2.4.3. Diğer Faktörler	23
2.2.5. Bitki Uçucu Yağlarının Antimikrobiyal Etkinliklerinin Belirlenmesinde Kullanılan Metodlar	24
2.2.5.1. Dilüsyon Yöntemi	24
2.2.5.2. Difüzyon Yöntemi	25
2.2.6. DNA Görüntüleme Tekniklerinden Agaroz Jel Elektrofarezi	27
3. MATERYAL VE METOD	29
3.1. Materyal	29
3.1.1. Kullanılan Test Suşları	29
3.1.2. Kullanılan Bitki Ekstraktları	29
3.1.3. Kullanılan Kimyasallar	30
3.1.4. Kullanılan Aletler	30
3.1.5. DNA Cleavage Aktivitesinin Tespiti için Kullanılan Materyaller	30
3.1.6. Kullanılan Besiyerleri	31
3.1.6.1. Tryptic Soy Agar (TSA) (Merck 1.05458)	31
3.1.6.2. Tryptic Soy Broth (TSB) (Merck 1.05459)	31
3.1.6.3. Nutrient Broth (NB)(Merck 1.05443)	31
3.1.7. Kullanılan Çözeltiler	31

3.1.7.1. Fizyolojik Tuzlu Su (FTS)	31
3.1.8. Kullanılan Antibiyotik Diskleri	32
3.1.9. Diskler.....	32
3.2. Metod.....	32
3.2.1. Soxhlet Cihazı İle Bitki Özütlerinin Elde Edilmesi.....	32
3.2.2. Bitki Uçucu Yağlarının Farklı Derişimlerde Hazırlanması	33
3.2.3. Özütlerin Antibiyotik Disklerinin Hazırlanması	34
3.2.4. Besiyerlerinin Hazırlanması ve Saklanması	34
3.2.5. Antimikrobiyal Aktivite Tayini	34
3.2.5.1. Mikroorganizma Kültürlerinin Hazırlanması	34
3.2.5.2. Agar Kuyu Yöntemiyle Antimikrobiyal Aktivitenin Belirlenmesi	34
3.2.5.3. Disk Difüzyon Yöntemiyle Antimikrobiyal Aktivitenin Belirlenmesi	35
3.2.6. Bitki Ekstratlarında DNA Cleavage Aktivitesinin Tespiti	36
3.2.7. Minimal İnhibisyon Konsantrasyon (MİK) Değeri Tespiti	36
3.2.8. Gaz Kromatografi-Kütle Spektrometresi (GC-MS) Analizi.....	37
4. BULGULAR	38
4.1. Farklı Bitki Uçucu Yağlarının Test Suşları Üzerine İnhibisyon Etkisinin Değerlendirilmesi.	38
4.2. Bazı endüstriyel bitki uçucu yağlarının test suşları üzerine inhibisyon etkisinin değerlendirilmesi.	54
4.3. Mikroorganizmaların Antibiyotik Duyarlılık Testleri	55
4.4. Bitki Eksratlarının DNA Cleavage Aktivitesi	56
4.5. Minimal İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK) Değerleri.....	56
4.6. Gaz Kromatografi-Kütle Spektroskopi (GC-MS) Analizi.....	58
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	76
6. KAYNAKÇA.....	85
7. ÖZGEÇMİŞ	105

ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 2.1: <i>Enterococcus faecalis</i>	5
Şekil 2.2: Enterokokların Diğer Gram Pozitif ve Katalaz Negatif Koklardan Ayırımı (Klein, 2003).	5
Şekil 2.3: Enterokokların Tanımlanmasında İzlenmesi Önerilen Akış Şeması.	7
Şekil 3.1: Soxhlet Ekstrasyonu Sonucu Elde Edilen Bitki Özütleri.	30
Şekil 3.2: Soxhlet Ekstrasyonu ve Rotary Evaporatörde Bitki Özütlerinin Elde Edilmesi.	33
Şekil 3.3: Bitki Özütlerinin Farklı Derişimlerde Hazırlanması.	33
Şekil 3.4: Agar Kuyu Yöntemi İle Antimikrobiyel Aktivite Tayini.	35
Şekil 3.5: Agoroz jel tankı (solda), agoroz jel ünitesi (ortada), jel görüntüleme sistemi (sağda).	36
Şekil 4.1: <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213'un Agar Kuyucuk ve Disk Difüzyon Yöntemi ile Antibakteriyel Aktivitesinin Belirlenmesi.....	40
Şekil 4.2: VRE ATCC 51299'nin Agar Kuyucuk ve Disk Difüzyon Yöntemi ile Antimikrobiyel Aktivitesinin Belirlenmesi.....	53
Şekil 4.3: Şerit 1: pBr322 DNA kontrol H ₂ O, Şerit 2: pBR322 kontrol DMSO, Şerit 3: İğde, Şerit 4: Tarçın, Şerit 5: Çörekotu, Şerit 6: Kekik, Şerit 7: Adaçayı, Şerit 8: Nane, Şerit 9: İhlamur, Şerit 10: Biberiye, Şerit 11: Defne, Şerit 12: Maydanoz.	56
Şekil 4.4: Adaçayı Yağının (Endüstriyel) GC-MS Analizi Sonuçları.	60
Şekil 4.5: Adaçayı Yağının (Endüstriyel) GC-MS Analizi Sonuçları.	60
Şekil 4.6: Adaçayı Özütünün GC-MS Analizi Sonuçları.	61
Şekil 4.7: Adaçayı Özütünün GC-MS Analizi Sonuçları.	62
Şekil 4.8: Biberiye Yağının (Endüstriyel) GC-MS Analizi Sonuçları.....	64
Şekil 4.9: Biberiye Yağının (Endüstriyel) GC-MS Analizi Sonuçları.....	64
Şekil 4.10: Biberiye Özütünün GC-MS Analizi Sonuçları.	65
Şekil 4.11: Biberiye Özütünün GC-MS Analizi Sonuçları.	66
Şekil 4.12: Kekik Yağının (Endüstriyel) GC-MS Analizi Sonuçları.....	67
Şekil 4.13: Kekik Yağının (Endüstriyel) GC-MS Analizi Sonuçları.....	68

Şekil 4.14: Kekik Özütünün GC-MS Analizi Sonuçları.....	69
Şekil 4.15: Kekik Özütünün GC-MS Analizi Sonuçları.....	69
Şekil 4.16: Nane Yağının (Endüstriyel) GC-MS Analizi Sonuçları.....	71
Şekil 4.17: Nane Yağının (Endüstriyel) GC-MS Analizi Sonuçları.....	71
Şekil 4.18: Nane Özütünün GC-MS Analizi Sonuçları.....	72
Şekil 4.19: Nane Özütünün GC-MS Analizi Sonuçları.....	72
Şekil 4.20: Tarçın Yağının (Endüstriyel) GC-MS Analizi Sonuçları.....	73
Şekil 4.21: Tarçın Yağının (Endüstriyel) GC-MS Analizi Sonuçları.....	74
Şekil 4.22: Tarçın Özütünün GC-MS Analizi Sonuçları.....	75
Şekil 4.23: Tarçın Özütünün GC-MS Analizi Sonuçları.....	75

TABLÖLAR LİSTESİ

	Sayfa No
Tablo 2.1: <i>Enterococcus</i> Cinsi İçerisinde Yer Alan Türler.	6
Tablo 2.2: Enterokokların Sınıflandırılması.....	6
Tablo 2.3: Enterokok Türlerinin Gruplara Göre Dağılımı (Teixeira ve ark., 2009).....	9
Tablo 2.4: Önemli Enterokok Türleri, Bulunduğu Canlılar ve Ortamlar (Gültekin, 2014).....	10
Tablo 4.1: <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212'in Gelişimi Üzerine Uçucu Yağların Etkisi.	38
Tablo 4.2: <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213'un Gelişimi Üzerine Uçucu Yağların Etkisi.	39
Tablo 4.3: <i>Enterobacter aerogenes</i> ATCC 13048'nin Gelişimi Üzerine Uçucu Yağların Etkisi....	41
Tablo 4.4: <i>Bacillus subtilis</i> ATCC 23857'in Gelişimi Üzerine Uçucu Yağların Etkisi.	42
Tablo 4.5: <i>Bacillus cereus</i> ATCC 14579'un Gelişimi Üzerine Uçucu Yağların Etkisi.	43
Tablo 4.6: <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853'nin Gelişimi Üzerine Uçucu Yağların Etkisi.	44
Tablo 4.7: <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922'nin Gelişimi Üzerine Uçucu Yağların Etkisi.	45
Tablo 4.8: <i>Aeromonas hydrophila</i> ATCC 7966'nin Gelişimi Üzerine Uçucu Yağların Etkisi.....	46
Tablo 4.9: <i>Shigella dysenteriae</i> ATCC 11835'in Gelişimi Üzerine Uçucu Yağların Etkisi.	47
Tablo 4.10: <i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 19111'in Gelişimi Üzerine Uçucu Yağların Etkisi. ...	48
Tablo 4.11: VRE <i>Enterococcus faecium</i> 'un Gelişimi Üzerine Uçucu Yağların Etkisi.....	49
Tablo 4.12: VRE 1'in Gelişimi Üzerine Uçucu Yağların Etkisi.....	50
Tablo 4.13: VRE 2'nin Gelişimi Üzerine Uçucu Yağların Etkisi.....	51
Tablo 4.14: VRE 3 <i>Enterococcus faecalis</i> 'in Gelişimi Üzerine Uçucu Yağların Etkisi.....	52
Tablo 4.15: VRE ATCC 51299'nin Gelişimi Üzerine Uçucu Yağların Etkisi.	53
Tablo 4.16: Test Suşlarının Gelişimi Üzerine Endüstriyel Bitki Yağlarının Etkisi.	54
Tablo 4.17: VRE İzolatları Antibiyogram Sonuçları.	55
Tablo 4.18: Yabani Tip Mikroorganizmalara Karşı Komplekslerin Minimal Inhibitory Concentration (MIC) Değerleri (µg/ml).....	57
Tablo 4.19: Endüstriyel Adaçayı Yağının GC-MS Analiz Sonuçları.	58
Tablo 4.19 (devam): Endüstriyel Adaçayı Yağının GC-MS Analizi Sonuçları.....	59

Tablo 4.20: Adaçayı Bitki Özütünün GC-MS Analizi Sonuçları.....	61
Tablo 4.21: Endüstriyel Biberiye Yağının GC-MS Analizi Sonuçları.....	62
Tablo 4.21 (devam): Endüstriyel Biberiye Yağının GC-MS Analizi Sonuçları.....	63
Tablo 4.22: Biberiye Bitki Özütünün GC-MS Analizi Sonuçları.	65
Tablo 4.23: Endüstriyel Kekik Yağının GC-MS Analizi Sonuçları.....	66
Tablo 1.23 (devam): Endüstriyel Kekik Yağının GC-MS Analizi Sonuçları.....	67
Tablo 1.24: Kekik Bitki Özütünün GC-MS Analizi Sonuçları.....	68
Tablo 1.25: Endüstriyel Nane Yağının GC-MS Analizi Sonuçları.....	70
Tablo 1.26: Nane Bitki Özütünün GC-MS Analizi Sonuçları.....	71
Tablo 1.27: Endüstriyel Tarçın Yağının GC-MS Analizi Sonuçları.....	72
Tablo 1.28: Tarçın Bitki Özütünün GC-MS Analizi Sonuçları.....	73

SİMGE VE KISALTMA LİSTESİ

Kısaltmalar	Açıklama
ABD	:Amerika Birleşik Devletleri
Ace	:Kollojen Bağlayıcı Adhezin
Af	:Agrerasyon faktörü
ARA	:Arabinos
AS-48	:Plazmidde kodlanan peptit yapılı bir bakteriyosin
BE	:Bile-eskülin
BOS	:Beyin-omurilik sıvısı
C	:Chloramphenicol
CDC	:Centers For Disease Control
CLSI	:Clinical and Laboratory Standards Institu
CN	:Gentamicin
Cna	:Collagen adhesin gene
DA	:Clindamycin
DMSO	:Dimetilsülfoksit
DNA	:Deoksiribo Nükleik asit
EfaA proteini	: <i>Enterococcus faecalis</i> antijen A proteine
EtBr	:Ethidium Bromür
Esp	:Enterokokal yüzey proteini
FTS	:Fizyolojik tuzlu su
GC/MS	:Gas Chromotography/Mass Spectrometry
Hyl	:Hyaluronidaz
H ₂ S	.Hidrojen sülfür
IPM	:Imipenem
LAP	:Lösin aminopeptidaz
LTA	:Lipoteikoik asit
MAN	:Monnitol
MBK	:Minimum Bakterisidal Konsantrasyon
MİK	:Minimum İnhibitör Konsantrasyonu
mg	:Miligram
mL	:Mililitre

MMP	:Matriks Metalloproteinaz
MRKNS	:Metisiline dirençli koagülaz negatif stafilokok
MRSA	:Mestiline dirençli <i>Staphylococcus aureus</i>
MSCRAMM	:Mikrobiyal Yüzey Komponenti Tanıyan Yapıştırıcı Matriks Molekülleri
NaCl	:Sodyum Klorür
NB	:Nutrien Broth Sıvı Besiyeri
NNIS	:National Nosocomial Infections Surveillance Systems
PMNL	:Polimorfonükleer lökosit
PYR	:Pyrrolidonyl Arylamidase
RAF	:Raffiinos
rRNA	:Ribo zamal Ribonükleikasit
SAM	:Sulbaktam-Ampicilin
SBL	:Sorbitol
TE	:Tetracycline
TEC	:Teicoplanin
TPM-SMX	:Trimetoprim-sulfametaksazol
TSB	:Tryptic soy broth
VA	:Vancomycin
VRE	:Vancomycin Resistant Enterococcus
WHO	:World Health Organization

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

VANKOMİSİN DİRENÇLİ ENTEROKOKLARA (VRE) KARŞI BAZI UÇUCU YAĞLARIN ANTİBAKTERİYAL AKTİVİTELERİ

Revza ÇELİK

Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Ergin KARİPTAŞ

Bu çalışmamızda ülkemizde yetişen, kolay elde edilen ve piyasada çokça bulunan kekik, biberiye, adaçayı, ıhlamur, çörekotu, defne yaprağı, nane, maydanoz, tarçın ve ığde gibi bitki uçucu yağlarını laboratuvar ortamında elde ederek, son yıllarda önemli bir sorun olarak karşımıza çıkan VRE'lere karşı anti-bakteriyal aktivitelerini tespit etmek amaçlanmıştır. Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarından alınan 5 VRE izolatu üzerinde ülkemizde doğal olarak yetişen 10 bitkiye ait ekstratlardan 2,5 ve 5 mg/ml konsantrasyonlar hazırlanarak Disk Difüzyon ve Agar Kuyucuk Difüzyon Yöntemi ile inhibisyon zonları tespit edilmiş ve bu bitki ekstratlarının antibakteriyel etkileri incelenmiştir. Bulgulara göre biberiye ve adaçayı bitkilerine ait ekstratların patojenik bakterilere karşı yüksek antibakteriyel etki gösterdiği tespit edilmiştir. Biberiye ekstresinin 5 VRE'nin hepsine orta dereceli antibakteriyel etki göstererek en etkili özüt olduğu saptanmıştır. ığde, ıhlamur, kekik ve nane özütlerinde 5 VRE'nin 4'ü üzerine orta dereceli antibakteriyel etki gösterdiği görülmüştür. Çalışmamızda kullanılan bitkilerin toprak üstü kısımlarından ekstraksiyon yöntemi ile elde edilen uçucu yağların kompozisyonu gaz kromatografisi/kütle spektrometresi ile ortaya koyulmuştur. Ayrıca farklı bitkilerden elde edilen ekstratların DNA'nın yapısında herhangi bir değişime sebep olup olmadığı araştırılmıştır. Hiç bir bitki ekstraktının DNA yapısında herhangi bir bozulmaya sebep olmadığı saptanmıştır.

Nisan 2019, 121 Sayfa.

Anahtar Kelimeler: Anti-bakteriyal aktivite, Vankomisin dirençli enterokoklar, Bitki uçucu yağları.

ABSTRACT

M.Sc. THESIS

ANTIBACTERIAL ACTIVITIES OF SOME PLANT VOLATILE OILS AGAINST VANCOMYCIN-RESISTANT ENTEROCOCCUS (VRE)

Revza ÇELİK

**Kırşehir Ahi Evran University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Biology Department**

Supervisor: Prof. Dr. Ergin KARİPTAŞ

In this study, it was aimed to determine anti-bacterial activities against VREs which emerged as an important problem in recent years by obtaining plant essential oils such as thyme, rosemary, sage, lime, nigella, laurus nobilis, mint, parsley, cinnamon and spindle, which are grown in our country, obtained and found in the market easily. The inhibition zones were determined by Disc Diffusion and Agar Kuyucuk Diffusion Method and the antibacterial effects of these plant extracts were investigated by having prepared 2,5 and 5 mg/ml concentrations of extracts of 10 plants grown naturally in our country on 5 VRE isolation obtained from the Microbiology Laboratory of Kırşehir Ahi Evran University. According to the findings, it was ascertained that extracts of rosemary and sage plants have high antibacterial effect against pathogenic bacteria. Rosemary extract was found to be the most effective extract by showing moderate antibacterial effect to all 5 VRE. It was observed that lime, thyme and mint extracts have a moderate antibacterial effect on 4 of 5 VREs. The composition of volatile oils obtained by extraction method from the top soil of the plants used in our study was determined by gas chromatography/mass spectrometry. Furthermore, it was explored whether the extracts obtained from different plants cause any changes in the structure of DNA. It was concluded that no plant extract has caused any disturbance in the DNA structure.

April 2019, 121 Pages.

Keywords: Antibacterial activity. Vancomycin-resistant enterococci (VRE), Plant volatile oils.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Enterokoklar, insan bağırsak yüzeyinde ağız, vajina, safra yolları ve üretrada normal ortam bakterileri olarak görülürler (Çaylan, 2004). Çok düşük hastalık yapma yeteneğine sahip olmalarına karşın ciddi hastalıklara sebep olabilirler (Shepard, 2002). Yoğunlukla karın boşluğunda bulunan bu bakteriler çoğunlukla enfeksiyon ve çeşitli hastalıklara (bakteriyemi ve endokardite) yol açarken, ender olarak menenjit, deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarına sebebiyet verirler. Enterobakterlerin bazı üyeleri, konak organizması dışında, değişen sıcaklıkta, pH düzeylerinde ve hatta bazı bakterilerin ölümüne sebep olan deterjanların varlığında bile canlılığını koruyabilmektedir (Lautenbach ve diğ., 1999; Patterson, 2000; Shepard ve diğ., 2002).

1970’li yıllardan itibaren bilhassa nozokomiyal enfeksiyon nedenleri arasındaki durumu ve önemi gittikçe artmaktadır. Enterokoklar hastane ortamında kolaylıkla yaşayabilen mikroorganizmalardır. Uzun süreli hastanede yatma, altta yatan ciddi hastalıklar, uzun süreli geniş spektrumlu antibiyotik kullanımı, vankomisine dirençli enterokok (VRE) kolonizasyonu ve enfeksiyonu için tehlike etkeni olarak söylenebilir. Fakat sağlıklı bireylerdeki VRE kolonizasyonu, ciddi bir enfeksiyon riski oluşturmamaktadır (Çiçekler, 2006).

Son yıllarda VRE bazı Avrupa ülkeleri ve Amerika Birleşik Devletleri’nde problem olmaya başlamıştır. Türkiye’de ise VRE salgını ilk kez 1998 yılında Antalya’dan bildirilmiştir. 2003 yılından itibaren VRE’ye rastlayan sağlık merkezi sayısı on’u (10) geçmiştir. Tüm gelişmeler, enterokoklar cinsi bakterilerde glikopeptid direncinin çok yakın zamanda ülkemizde de oldukça ciddi bir problem olarak önümüze geleceğinin göstergesidir (Çiçekler, 2006).

Çoklu ilaç direncinin artması, yeni antimikrobiyal bileşiklerin belirlenmesi için yeni kaynakların araştırılmasını zorunlu kılmıştır (Akgül, 2014). Doğal bitki içeriklerinden elde

edilen maddeleri kullanarak patojen mikroorganizmalara karşı etkili olan bitki türleri ve bu türlerin içerdikleri etken maddelerin tespit edilmesi, dünya üzerinde yoğun bir şekilde çalışılan bir alan haline gelmiştir. Uçucu yağlar, farklı bileşenleri içeren kompleks karışımlar olduklarından biyolojik etkileri yönünden de farklılıklar göstermektedirler. Etki dereceleri içerdikleri etken maddenin özelliğine bağlı olarak pek çok uçucu yağ farklı antimikrobiyal etkiler gösterebilmektedir (Ertürk ve ark, 2010)

Hastane kaynaklı enfeksiyonlara sebep olan mikroorganizmalar, hastane dışı enfeksiyona sebep mikroorganizmalara kıyasla çok daha dirençli olduğundan pahalı antibiyotikler kullanılmak durumunda kalındığı ve dolayısıyla antibiyotik maliyetlerinin artışına neden olduğu belirtilmektedir. Bakterilerin antibiyotiklere karşı geliştirdikleri direnç nedeniyle hali hazırda kullanılanabilecek antibiyotiklerin kısıtlı olması ve maddi açıdan masraflı olması insanları alternatif olarak doğal antibiyotiklere yöneltmektedir (Akgül, 2014).

Bütün dünyada olduğu gibi, Türkiye’de de tıbbi yönden önemli olan bitkiler, yüzyıllardır toplum içinde hastalıkların tedavisi amacıyla kullanılmaktadır. Geleneksel tıpta kullanılan bitki özütlerinin yeni antimikrobiyal bileşenlerin potansiyel bir kaynağı olarak, bilimsel açıdan incelenmeleri oldukça önem arz etmektedir. Diğer taraftan, tabii ürünler olmaları yanında etkili ve güvenilirlikleri sebebiyle doğal terapilerde ve artan tüketici talebi de bitki uçucu yağları ile ilgili daha ayrıntılı çalışma zorunluluğunu beraberinde getirmektedir (Çelik ve Çelik, 2007).

Bu çalışmamızda hem ülkemizde (Kırşehir il sınırları içinde) yetişen, kekik, biberiye, adaçayı, ıhlamur, çörekotu, defneyaprağı, nane, maydanoz, tarçın ve ığde bitki özütlerinin hemde piyasada satışa sunulan bitki uçucu yağlarının VRE’lere karşı anti-bakteriyel etkinliğinin çeşitli yöntemlerle belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Enterokoklar

2.1.1. Tarihçe

Günümüzde “enterokoklar” olarak adlandırılan mikroorganizmalar uzun seneler *Streptococcus* cinsinin grupları içerisinde sınıflandırılmış, fakat kimyasal ve fiziksel ajanlara dirençli olmaları ve genellikle grup-D streptokokları bünyesinde bulundurmaları ile streptokok grubundan ayrılmıştır. Enterokok ismi, ilk defa Thiercelin (1899) tarafından bakterinin bağırsak odaklı olduğunu açıklamak üzere kullanılmıştır. *Streptococcus faecalis* tür ismi ise ilk defa F.W.Andrews ve T.J.Horder (1906) tarafından kullanılmıştır (Andrews ve Horder 1906, Facklam ve Teixeira, 1998). Orla-Jensen (1919) *Streptococcus faecium* olarak adlandırılan ikinci organizmayı tanımlamışlardır (Kandler ve diğ., 1968). Helen U. Wing ve M. Sherman tarafından (1935 ve 1937) yıllarında *S. faecium*’a benzer özellik gösteren ve daha az fermentasyon yapan 3. bir tür olan *Streptococcus durans*’ı tanımlamışlardır. Graham (1937-1938), 9.6 pH’da, 10-45 °C arasındaki sıcaklıklarda ve %6,5 NaCl içeren sıvı besiyerinde üreyebilen ve 60 °C’de 30 dakika canlı kalabilen streptokoklar için “enterococcal grup” ifadesi kullanmıştır (Graham ve Bartley 1939). Nowlan ve Deibel (1967) bu gruba *Streptococcus avium*’u ilave etmiştir. A.P. Kalina (1970) *S. faecalis* ve *S. faecium*’un *Streptococcus* cinsinden değişik bir genetik yapıya sahip olmaları nedeniyle farklı bir cinse alınmalarını önermiştir (Facklam ve Teixeira, 1998). 1984 senesinde K.H. Schleifer ve R. Klipper-Baltz tarafından genetik özellikleri de göz önünde bulundurularak *S. faecalis* ve *S. faecium*’un streptokoklardan ayrı olduklarını öne çıkararak bunların *Streptococcus* cinsinden *Enterococcus* cinsine aktarılmasını önermişlerdir (Murray 1990, Yıldırım 2007, Ludwig ve ark. 2009). Enterokok cinsi içinde *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus mundtii*, *Enterococcus raffinosus*, *Enterococcus pseudoavium*, *Enterococcus faecium*, *Enterococcus durans*, *Enterococcus avium*, *Enterococcus gallinarum*, *Enterococcus flavescens*, *Enterococcus dispar*, *Enterococcus casseliflavus*, *Enterococcus malodoratus*, *Enterococcus hirae*, *Enterococcus sulfureus*,

Enterococcus saccharolyticus, *Enterococcus columbae* ve *Enterococcus cecorum* yer almaktadır (Koneman, 2005).

2.1.2. Morfoloji ve Üreme Özellikleri

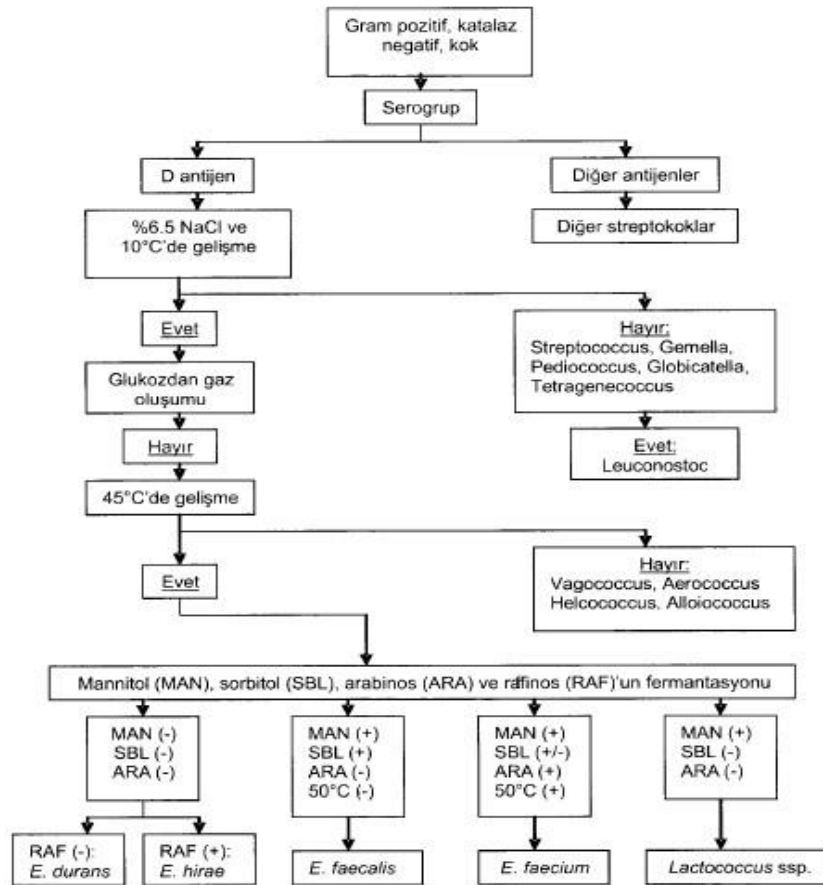
Enterokok cinsi bakterilerin karbonhidratları parçalayıp laktik aside dönüştürme özelliklerinden ötürü fermentatif laktik asit bakterileri içinde bulunan, gram pozitif, *E. flavescens*, *E. gallinarum* ve *E. casseliflavus* gibi bazı türleri hariç hareketsiz, aerobik, fakültatif anaerop, bazı suşların yalancı katalaz reaksiyonu göstermesine karşın enterokoklar genellikle katalaz negatif (oksijen varlığında gelişen ve pseudokatalaz üreten bazı türleri hariç), oksidaz negatif, spor oluşturmayan, Şekil 2.1.de gösterildiği gibi oval kok formunda, genellikle diplokok veya kısa zincir görünümündedirler. Gram negatif bakterilere kıyasla, beslenme gereksinimleri daha seçicidirler. Geliştirdikleri besiyerinde daha fazla üreme faktörüne gereksinim duymaları açısından da diğer pek çok gram pozitif bakterilerden ayrılırlar (Halkman, 2013).

Enterokoklar 10–45 °C’de üreyebilen, %6,5 NaCl bulunan ortamda ve %40 safra varlığında üremeyi sürdürebilen, 60 °C’de yarım saat canlılık özelliği gösteren ve eskülini hidrolize edebilen bakterilerdir. Aynı zamanda pH 9.6’da ve %40 safra tuzu içeren besiyerinde çoğalabilirler. Kanlı agarda 0,5 – 2 mm çapında (streptokoklardan daha büyük) kabarık, gri – beyaz renkte parlak, buğulu koloniler oluştururlar. Alfa, beta hemolitik ya da non-hemolitiklerdir. Glikozdan gaz oluşturmazlar. *E. cecorum*, *E. columbae* ve *E. saccharolyticus* dışında kalan tüm kökenler PYR (Pyrrolidonyl arylamidase) maddesini hidrolize ederler. *E. faecalis*, *E. faecium*’un tersine %0.04 tellürit içeren ortamda ürer ve agarda siyah koloniler yaparlar. Bu özellikleri enterokokları tanımlamada yeterli ise de, daha az rastlanan *Lactococcus*, *Aerococcus*, *Pediococcus* ve *Leuconostoc* türleri gibi bazı gram pozitif, katalaz negatif koklarda da benzer özellikler bulunur. *Lactococcus* ve *Aerococcus* türleri grup D antiserumu ile reaksiyon vermemeleri; *Pediococcus* ve *Leuconostoc* türleri de PYR negatif olmaları ile enterokoklardan ayrılırlar (Teixeria ve Facklam, 2003).



Şekil 2.1: *Enterococcus faecalis*.

Enterokokların gram pozitif, katalaz negatif koklardan ayırımında kullanılan algoritma Şekil 2.2.'de gösterilmektedir (Klein,2003).



Şekil 2.2: Enterokokların Diğer Gram Pozitif ve Katalaz Negatif Koklardan Ayırımı (Klein, 2003).

2.1.3. Sınıflandırma ve Tanımlama

Enterokoklar 1984 yılına kadar Lancefield sınıflamasında D grubu streptokoklara dâhil edilmiş, bu yıldan sonra yapılan genetik çalışmalar sonucunda *S. faecalis* ve *S. faecium* türlerinin bu streptokok cinsinden ayrı bir cins olarak ele alınması gerektiğine karar verilmiştir. 1984 yılında Schleifer ve Kilpper-Balnz tarafından *Enterococcus* cinsinin tanımlanmasından sonra, günümüzde *Enterococcus* cinsinde otuzdört ayrı tür bulunmuştur (Akçimen, 2010). Bu türler Tablo 2.1. de gösterilmektedir.

Tablo 2.1: *Enterococcus* Cinsi İçerisinde Yer Alan Türler.

<i>E. aquimarinus</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. pallens</i>
<i>E. asini</i>	<i>E. faecium</i>	<i>E. phoeniculicola</i>
<i>E. avium</i>	<i>E. gallinorum</i>	<i>E. pseudoavium</i>
<i>E. caccae</i>	<i>E. gilvus</i>	<i>E. ratti</i>
<i>E. canintestini</i>	<i>E. haemoperoxidus</i>	<i>E. raffinosus</i>
<i>E. canis</i>	<i>E. hermanniensis</i>	<i>E. saccharolyticus</i>
<i>E. casseliflavus</i>	<i>E. hirae</i>	<i>E. silesiacus</i>
<i>E. cecorum</i>	<i>E. italicus</i>	<i>E. sulfureus</i>
<i>E. columbae</i>	<i>E. malodoratus</i>	<i>E. termitis</i>
<i>E. devriesei</i>	<i>E. moraviensis</i>	<i>E. thailandicus</i>
<i>E. dispar</i>	<i>E. mundtii</i>	<i>E. villorum</i>
<i>E. durans</i>		

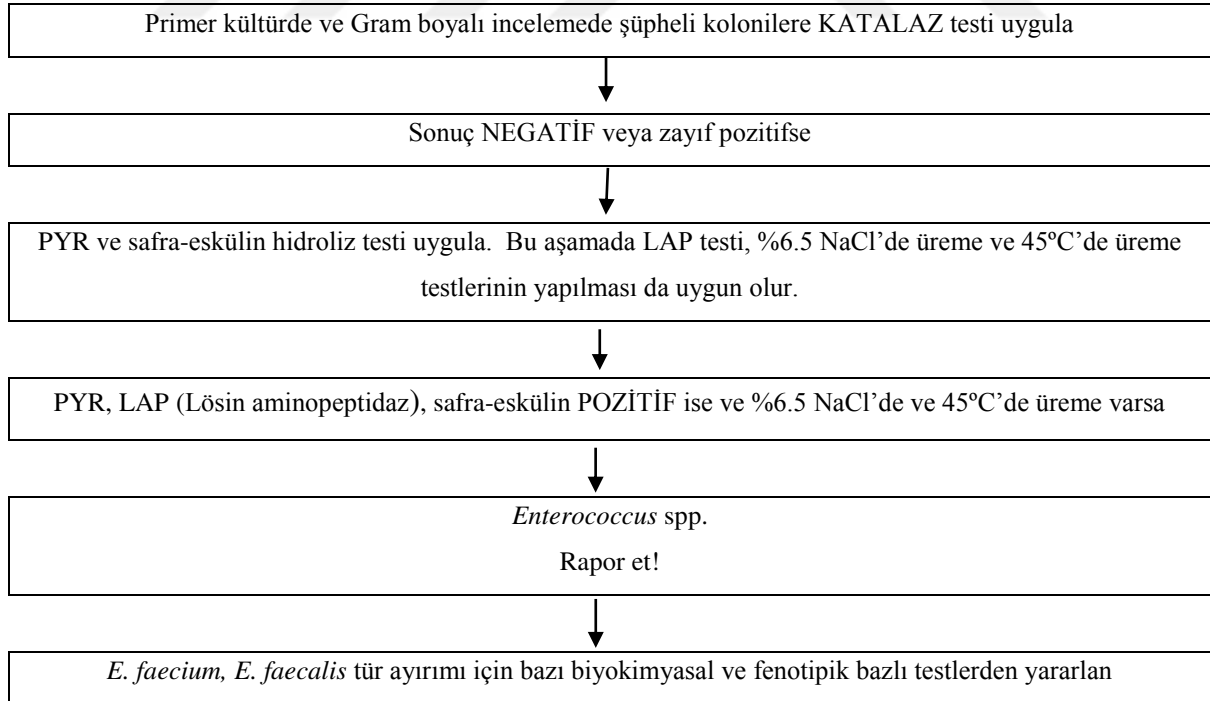
1984 yılında *Enterococcus* cinsinin adının konulmasından sonra, streptokoklardan ayrı bir cins olarak kabul edilen enterokoklar Tablo 2.2. de gösterildiği gibi sınıflandırılmaktadır (Akçimen, 2010).

Tablo 2.2: Enterokokların Sınıflandırılması

ALEM	Bakteriler
Şube	<i>Firmicutes</i>
Sınıf	<i>Bacilli</i>
Takım	<i>Lactobacillales</i>
Aile	<i>Enterococcaceae</i>
Cins	<i>Enterococcus</i>

Bergey's Manual of Systematic Bacteriology'de gram pozitif koklar, katalaz (+) pozitif *Micrococcaceae* ailesi ve katalaz (-) negatif *Streptococcaceae* ailesi olarak 2 grupta

incelenmektedir (Mollering, 2000). Dış yapı özelliklerindeki farklılıkların yanında 16SrRNA gen dizi analizi metodu kullanılarak gerçekleştirilen katalaz negatif gram pozitif kokların filogenetik analizi sonuçlarına göre, enterokokların; streptokoklar ve laktokoklar'dan çok *Vagococcus*, *Tetragenococcus* ve *Carnobacterium* cinslerine çok daha benzer oldukları tespit edilmiştir. Önceleri, katalaz negatif, gram pozitif koklardan; BE (bile-eskülin), PYR (Pyrrolidonyl Arylamidase) ve LAP (Lösin aminopeptidaz) testi pozitif olan, % 6,5 Sodyum klorür varlığında 45 °C'de üreyen suşlar enterokok olarak tanımlanmıştır. Enterokoklar bu sınıflandırma ile kendilerine çok benzerlik gösteren *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* ve *Vagococcus*'dan sadece BE reaksiyonu ve % 6,5 NaCl içeren besiyerinde üreyebilme kabiliyetleri ile farklılık göstermiş, lakin yoğunlukla kusurlu neticeler alınarak sınıflandırmada hatalar yapılmıştır (Teixeira ve diğ., 2009; Fisher ve Phillips, 2009). Öte yandan enterokokların %80'lik bir kısmında saptanan Grup-D antijeninin taksonomik sınıflandırmada yeteri kadar etkili olmadığı görülmüştür. İlaveten *Leuconostoc*, *Pediococcus* ve bir kısım *Vagococcus*'larda grup-D antijeni taşıyabilir. Enterokokların tanımlanmasında izlenmesi önerilen akış şeması Şekil 2.3.'te gösterilmiştir.



Şekil 2.3: Enterokokların Tanımlanmasında İzlenmesi Önerilen Akış Şeması.

2.1.4. Enterokok Grupları

Enterokoklar mannitol, sorbitol, sorboz içeren sıvı besiyerlerinde asit oluşturmalarına ve arjinini hidrolize etmelerine göre beş gruba ayrılırlar (Sansar Yıldırım, 2015).

2.1.4.1. Grup 1

E. avium, *E. gilvus*, *E. malodoratus*, *E. pallens*, *E. pseudoavium*, *E. raffinosus*, *E. saccharolyticus*, türlerinden meydana gelir. İsimleri sayılan bakteriler mannitol, sorbitol ve sorboz içeren sıvı besiyerinde asit oluşturmakta, fakat arjinini su ile parçalayamamaktadır (Gültekin, 2014).

2.1.4.2. Grup 2

E. casseliflavus, *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. gallinarum*, *E. haemoperoxidus*, *E. mundtii* ve türlerinden meydana gelir. Bu bakteriler mannitol içeren sıvı besiyerinde asit oluştururken, sorboz içeren besiyerinde asit oluşturmazlar ve sorbitollü besiyerinde dalgalı tepkime verirler. Ayrıca grup 1'den farklı olarak arjinini hidrolize ederler (Gültekin, 2014).

2.1.4.3. Grup 3

E. dispar, *E. durans*, *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. hirae*, *E. ratti* ve *E. villorum*, 'un mannitol negatif olan türevleri bu grubun oluşmasında etkilidir. Bu gruptaki türler arjinini su ile parçalayarak hidrolize eder ve D antijeni içermez. Fakat mannitollü, sorbitollü besiyerlerinde ve sorboz içeren besiyerlerinin hiç birinde asit oluşturmamaktadır (Gültekin, 2014).

2.1.4.4. Grup 4

E. asini, *E. caccae*, *E. cecorum*, *E. phoeniculicola* ve *E. sulfurens*, bu grubu oluşturmaktadır. Bu türler mannitollü besiyeri ve sorboz ihtiva eden sıvı besiyerlerinde asit oluşturmaz ve arjinini hidrolize edemezler. *Enterococcus cecorum* sorbitol ihtiva eden sıvı besiyerinde asit oluştururken, *E. sulfurens* asit oluşturmaz (Gültekin, 2014).

2.1.4.5. Grup 5

Bu grupta *E. canis*, *E. casseliflavus*, *E. columbae*, *E. faecalis*, *E. hermanniensis*, *E. italicus* ve *E. moraviensis* bulunur. Grupta bulunan enterokok türleri arjinini hidrolize (su ile parçalamak) etmezler, sorbozdan asit oluşturmazlar, mannitol ihtiva eden sıvı besiyerinde

asit oluştururlar ve sorbozdan asit oluşturmazlar (Sansar Yıldırım, 2015). Enterokok türlerinin gruplara göre dağılımı Tablo 2.3. deki gibidir.

Tablo 2.3: Enterokok Türlerinin Gruplara Göre Dağılımı (Teixeira ve ark., 2009).

Grup I	Grup II	Grup III	Grup IV	Grup V
<i>E. avium</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. durans</i>	<i>E. asini</i>	<i>E. canis</i>
<i>E. malodoratus</i>	<i>E. faecium</i>	<i>E. hiare</i>	<i>E. cecorum</i>	<i>E. columbae</i>
<i>E. raffinosus</i>	<i>E. casseliflavus</i>	<i>E. ratti</i>	<i>E. sulfurens</i>	<i>E. moraviensis</i>
<i>E. pseudoavium</i>	<i>E. mundtii</i>	<i>E. dispar</i>	<i>E. phoeniculicola</i>	<i>E. hermannienseis</i>
<i>E. pallens</i>	<i>E. haemoperoxidus</i>	<i>E. villorum</i>	<i>E. caccae</i>	<i>E. italicus</i>
<i>E. gilvus</i>	<i>E. gallinorum</i>			
<i>E. hawaiienseis</i>	<i>E. sanguinicola</i>			
<i>E. saccharolyticus</i>				

2.1.5. Bazı Enterokok Türlerinin Özellikleri

İnsanlardan ve hayvanlardan sıklıkla izole edilen entrokok türlerinin genel özellikleri aşağıda yer almaktadır.

Enterococcus faecalis, insanlarda gastrointestinal sistemin doğal üyesidir. Ağız, hepatobiliyer sistem ve vajinadan da izole edilmiştir. İnsan odaklı enfeksiyonlardan en çok sorumlu tutulan türdür. Genellikle üriner enfeksiyon, yara, karın boşluğu sıvısı, derin pelvik (karın alt kısmı) apse, endokardit ve kan kültürlerinden elde edilmiştir. Bununla birlikte bir kısım hayvanlarda da mevcuttur. Bazen beta hemolitiktir. % 6,5'luk NaCl (Sodyum Klorür) ve pH 9,6'da üreyebilir. *E. faecium*, insan ve boynuzlu büyükbaş hayvanların gastrointestinal sisteminde bulunan ve Enterokok enfeksiyonlarında en sık soyutlanan ikinci türdür. Yem, yiyecek ve sebzelerden izole edilmiştir. İki biyotipi vardır. *E. faecalis*'e oranla antimikrobiyal maddelere oldukça dirençlidir. Kanlı agarda alfa hemoliz yapar, % 6,5'luk NaCl ve pH 9,6'da üreyebilir. *E. durans*, süt ve kuru gıdadan yalıtılarak ele edilmiştir. Seyrek olarak İnsan ve hayvanlarda, bağırsak ve üriner sistemden izole edilmiştir. Alfa hemolitiktir. % 6,5'luk NaCl ve pH 9,6'da ürer. Ancak 50 °C'de çoğalmamaktadır. *E. avium*, başta kümes hayvanları köpek gibi hayvanlardan da izole edilmiştir. İnsan gastrointestinal sistem florası doğal üyesidir. Apendisit, otit ve beyin apse kültürlerinden izole edilmiştir. Alfa hemoliz yapar ve % 6,5'luk NaCl'de üremesi zordur.

H₂S (hidrojen sülfür) üretir ve pigment üretmez. *E. casseliflavus*, bitki ve toprakta içerisinde bulunur. Vankomisine doğal dirençlidir. Fırsatçı enfeksiyon etkenleri arasındadır. % 6,5'luk NaCl ve pH 9,6'da üreyebilir. Hareket kabiliyetine sahiptir ve sarı renkli pigment üretir. *E. gallinarum*, evcilleştirilmiş kanatlı hayvanların gastrointestinal sisteminde bulunur. Hemodiyalizli bir hastadan elde edilmiştir. Vankomisine doğal dirençlidir. Koyun kanlı agarda gama hemolitikdir (nonhemolitik). At kanlı agarda beta hemoliz yapabilir. % 6,5'luk NaCl ve pH 9,6'da üreyebilir. Hareket özelliğine sahiptir ve pigment üretemez. *E. hirae*, domuz ve tavuklarda bulunur. Önceleri atipik *E. faecium* olarak bilinirdi. Hemoliz yapmaz. 10-45 °C arasında çoğalabilir. % 6,5'luk NaCl ve pH 9,6'da ürer (Facklam ve Teixeira, 1998; Fisher ve Phillips, 2009; Gültekin, 2014).

Tablo 2.4: Önemli Enterokok Türleri, Bulunduğu Canlılar ve Ortamlar (Gültekin, 2014).

Enterokok türleri	Yaşam ortamları
<i>E. faecalis</i>	İnsanlar, hayvanlar, su, besinler
<i>E. faecium</i>	İnsanlar, hayvanlar, su, besinler
<i>E. gallinarum</i>	İnsanlar, evcil kuşlar, besinler
<i>E. casseliflavus</i>	Toprak, bitki, besinler, insan
<i>E. avium</i>	Hayvanlar
<i>E. hirae</i>	Hayvanlar
<i>E. durans</i>	İnsanlar, hayvanlar, besinler

2.1.6. Enterokok İnfeksiyonlarının Epidemiyolojisi

Enterokoklar, hayvan ve insan gastrointestinal sisteminin mühim bir elemanıdır. Enterokoklar nozokomiyal enfeksiyonların önde gelen etkeni olarak kabul edilmektedir. İnsanlarda gastrointestinal sistemin normal florasında bulunurlar. Enterokoklar, üriner sistem enfeksiyonu başta olmak üzere endokardit, yara enfeksiyonu ile ilişki olup, aynı zamanda nozokomiyal bakteriyemi etkeni olarak izole edilmektedir (Edwards, 2000). *E. faecalis* diğer enterokok türlerine göre en sık izole edilen türdür (Gültekin, 2004). Hayvanlarda *E. faecium* öbür enterokok türlerine kıyasla daha çok görülürken, bitkilerde ise *E. casseliflavus* ve *E. mundtii* bulunur. Gerçekleştirilen pekçok araştırmaya göre enterokoklar arasında en çok tanımlanan türler *E. faecalis* ve *E. faecium*'dur (Çetinkaya ve diğ., 2000). Enterokoklar dış etkenlere karşı oldukça dayanıklı olduklarından her çeşit

koşulda canlılıklarını sürdürebilirler. Buna dayanarak enterokoklar kimi zaman kullanılan hastane araç-gereçleri aracılığıyla kimi zaman da sağlık çalışanı ile taşınarak hastane enfeksiyonu oluşturarak salgınlara sebep olabilmektedir (Lawrence ve diğ., 1992).

1984 yılında Hastalık Kontrol Merkezi [Centers For Disease Control (CDC)] verilerince, enterokoklar hastane kökenli enfeksiyonlarda %10,4 ile 3. sıradadır. 1980'li yıllarda Enterokoklarda beta-laktam antibiyotiklere ve aminoglikozidlere direncin ortaya çıkması üzerine Vankomisin uzun süre tek uygun antibiyotik olarak kullanılmıştır (Çiçekler, 2006). Vankomisine dirençli enterokok suşları ilk defa 1988 senesinde İngiltere'den Uttley ve arkadaşları tarafından, Fransa'dan Leclercq ve arkadaşları tarafından, rapor edilmiştir (Uttley ve diğ., 1988; Leclercq ve diğ., 1989). ABD'de ise 1989'da New York'da sonrasında ise bazı Avrupa ülkelerinde ve Avusturalya, Kanada gibi ülkelerden bildirilmiştir. VRE hemen hemen tüm dünya ülkelerinde görülmeye başlamıştır (Vural ve diğ., 1999, Murray, 2000; Sood ve diğ., 2008). VRE enfeksiyonlarının Avrupa ülkelerinde daha fazla görülmesinin nedeni, Avrupa'da hayvan yiyecğinde, bilhassa kanatlı kümes hayvanlarının gelişme hızlarını artıran bir glikopeptid antibiyotik olan avoparsin kullanılmasının tetiklediği düşünülmektedir (Alp ve Çetinkaya, 2008; Sood ve diğ., 2008). Diğer taraftan 1994 senesinden sonra pekçok devletin Avoparsini yasaklaması ve hasta bireylerde glikopeptit grubu antibiyotiklerin kısıtlı tüketimi neticesinde bu devletlerde VRE miktarlarında düşme tespit edilmiştir (Wegener, 1998).

Ülkemizde 1998 yılında, Akdeniz Üniversitesi'nden ilk önce vankomisin dirençli *E. faecium* suşu, Vural ve arkadaşları tarafından, izole edilmiştir (Alp ve Çetinkaya, 2008). Türkiye'de hastane kökenli enfeksiyon nedenleri arasında 1. olarak metisiline dirençli koagülaz negatif stafilokok (MRKNS), 2. sırada metisiline dirençli *Staphylococcus aureus*, ardından 3. sırada VRE enfeksiyonları gelmektedir.

Enterokoklar ABD'de Ulusal Nozokomiyal Enfeksiyon Sürveyansınca [National Nosocomial Infections Surveillance System (NNIS)] yayınlanan veriler gereğince enterokoklarda vankomisin direncinin 1989-1993 yılları aralığında 20 kat fazlalaştığı görülmektedir. Yoğun bakım birimlerindeyse bu oranın 34 kat arttığı açıklanmaktadır (Durmaz ve diğ., 2002; Sood ve diğ. 2008).

2.1.7. Patojenite ve Virölans Faktörleri

Enterokoklar, düşük virulanslı bakteriler olmalarına karşın önemli hastane infeksiyonu etkenleri arasında yer almaktadır. Mikroorganizmanın çok sayıda antibiyotiğe intrinsek (kromozomal) direnç göstermesi ve çevreye adaptasyonunun oldukça iyi olması diğer patojenlerden daha yararlı olmasını sağlar. Enterokoklarda türler arasındaki farklılık, mikroorganizmanın antibiyotik direnci karakterini ve enfeksiyonun ilerlemesini etkilemektedir (Ulusoy, 2003; Çiçekler, 2006; Fisher ve Phillips, 2009).

Enterokoklar gastro-intestinal sistemde hem parazit ile hem de bağırsak ortamının diğer ögeleri ile uyum içinde yaşayan kommensal bakteri olmalarına karşın kişinin hastalığa yakalanma oranını artıran hallerde bağırsak dışındaki bölgelere sıçrayarak hastalıklara neden olurlar. Antibiyotik tedavisi, konakçı yaralanması ve azalan konakçı bağışıklığı gibi konakçı-kommensal birlikteliğinin etkenlerindeki değişiklikler, bu mikroorganizmanın ülseratif kolitin sistematik konakçı bölgelerine ulaşmasına ve enfeksiyon meydana gelmesine sebep olabilir. Enterokokların ortak yaşam davranışına aykırı hareket etmesine sebep olan diğer düzenek ise konakçının savunmasından kurtulmak için yeni özellikler kazanması ve yeni koşullarda kolonize olabilmesidir (Kayaoglu ve Orstavik, 2004; Devriese ve diğ., 2006; Upadhyaya ve diğ., 2009).

Uzun yıllardır birden fazla çalışma ile enterokokal virölans faktörlerinin tanımlanmasına değinilmiştir (Hancock ve diğ., 2000).

Enterokoklar için önemli olan virölans faktörler aşağıda verilmiştir:

1. Hemolizin veya Sitolizin
2. Agregasyon faktörü
3. Ekstraselüler süperoksitler
4. Enterokokal yüzey proteini
5. Jelatinaz
6. Lipoteikoik asit

7. Kollajen Bağlayıcı Adezin MSCRAMM Ace (Microbial surface component recognizing adhesive matrix molecule adhesin of collagen from Enterococci)

8. Kapsül, hücre duvarı polisakkaritleri

9. Seks feromonları

10. Hyaluronidaz

11. Efa (Enterococcus faecalis Antijen A Proteini)

12. AS-48

13. Antibiyotik direnci

2.1.8. Hemolizin veya Sitolizin

E. faecalis izolatlarında bulunabilen, önceleri hemolizin olarak tanımlanan ve plazmid ile kodlanan sitolizin insan, at ve tavşan eritrositlerine karşı litik aktivite gösteren bir sitotoksik proteindir. Sitolizin eritrositler dışında, makrofajlar, gram pozitif organizmalar ve polimorfonükleer lökosit (PMNL)'ler, için de litik aktivite gösterir. Buna rağmen toksinin gram negatif bakterilere ve koyun eritrositlerine karşı etkisiz olduğu gösterilmiştir (Kayaoğlu ve Orstavik, 2004). Sitolizin'in diğer yandan bir bakteriosin olduğu ve yıkıcı aktivitenin yanında tüm gram pozitif mikroorganizmalar için öldürücü olduğu saptanmıştır (Upadhyaya ve diğ., 2009).

Gerçekleştirilen bir araştırmada infeksiyon ile ilgili malzemeden yalıtılan *E. faecalis* suşlarının %60 dolaylarının dışkı izolatlarının ise %17'sinin sitolizin meydana getirdiği bulunmuş, lakin amacı benzer olan birçok araştırmada endokardit, sepsisemi veya sağlıklı kişilerin gaitalarından yalıtılan *E. faecalis* izolatları içerisinde sitolizin üretimi bakımından bir farklılık tespit edilememiştir (Elsner ve diğ., 2000).

2.1.9. Agregasyon Faktörü (Af)

Af, mikroorganizma üzerinde bulunan saç benzeri, protein yapılı bir adhesindir. Hücreler arası ilişkiyi organize etme, hücre dışı matriks proteinlerine adhezyonla konak organizmaya yapışma ve hücre yüzey hidrofobisitesini fazlalaştırma gibi nitelikleriyle

virulansa katkı sağlayan *Af*, feromon-responsif plazmidde kodlanır. Alıcı ve verici mikroorganizmalar arasında temasa yardımcı olan *Af*, plazmid aktarımını rahatlatır. Plazmid aktarımını kolaylaması sonucunda, antibiyotik direncine neden olan genetik parçalar *E. faecalis* ve öbür türler arasında aktarım yapabilmektedir. Diğer taraftan mikroorganizmaların agregasyonunu da sağlayarak virulansa katkı sağlamaktadır (Kayaoğlu ve Orstavik, 2004).

2.1.10. Ekstraselüler Süperoksit

Enterokoklar önemli miktarda süperoksit üretme yeteneğine sahiptir. *E. faecalis*'lerin çoğu ve bazı *E. faecium* türleri tarafından ekstraselüler süperoksitlerin sentezlenip mikro-çevreye salındığı, bunun da bakterinin hayat süresini uzattığı belirlenmiştir. Enterotoksik bakteriyemi ve endokarditli hastalardan izole edilen klinik suşların gaita kökenli izolatlarından daha fazla süperoksit radikali ürettiği belirlenerek, süperoksit üretiminin virulansla ilişkili olabileceği ileri sürülmüştür (Kayaoğlu ve Orstavik, 2004; Devriese, 2006; Upadhyaya ve diğ., 2009).

2.1.10.1. Enterokokal Yüzey Proteini

Moleküler ağırlığa oldukça yüksek olan, *Esp* (enterokokal surface proteini) patojenite bölgesinde bulunan *esp* geninde kodlanır ve konjugasyonla enterokok izolatları arasında nakledilebilir özelliğe sahiptir. Salgına neden olan *Esp*, *E. faecalis* ve *E. faecium* izolatlarında mevcut olduğundan, epidemik suşları belirleyen şartleyici olduğu tahmin edilmektedir. Bu genin daha az patojen olan suşlarda bulunmadığı da gösterilmiştir (Oancea ve Klare, 2004; Coque ve Willems, 2005).

Enterokokal yüzey proteini *Esp*, ilk olarak virulent gentamisin dirençli bir *E. faecalis* izolatından identifiye edilmiştir. *Esp*, bakteriyemi ve endokardit ile alakalı suşlarda yüksek miktarda mevcutken, dışkı kaynaklı izolatlarında çok az görülür. Bu proteinin bakterinin immün yanıtı kaçışına yardımcı olduğu düşünülmektedir (Kayaoğlu ve Orstavik, 2004; Sood ve diğ., 2008; Fisher ve Phillips, 2009).

2.1.10.2. Jelatinaz

Enterokoklarda jelatinaz enziminin varlığı ilk kez Bleiweis ve Zimmerman tarafından 1964'te *E.faecalis* suşlarında gösterilmiştir. Gerçekleştirilen bir araştırmada; *E. faecalis* olan hastane izolatlarının %45'lik kısmının jelatinaz meydana getirdiği hâlbuki herhangi bir *E. faecium* ve *E. avium* izolatının jelatinaz (+) olmadığı gözlenmiştir (Portenier ve diğ., 2003).

Besinlerdeki *E. faecalis* suşlarında da jelatinaz oluşturma oranı fazladır. Bazı araştırmalarda genetik yapıda jelatinaz geninin mevcut olmasına rağmen dış görünüş özelliklerinde göstermeyen bir kısım suşların olduğu tespit edilmiştir (Özmen ve diğ., 2011).

2.1.10.3. Lipoteikoikasit (LTA)

Enterokokların D grubu antijenini oluşturur. Lipoteikoik asit verici hücreden üretilen agregasyon maddesi nedeniyle alıcı hücre üzerinde reseptör vazifesi yapan *E. faecalis*'in bağlayıcı elementinin bir parçası olarak kabul görmüştür. Bu kuram *E. faecalis*'ten yalıtılan bağımsız Lipoteikoik asitin, hücresel bağlanma maddesinin rekabetçi bir inhibitörü olarak tepki vererek feromon kaynaklı hücre toplanmasını geciktirmesi çalışmalarından kaynaklandığı bilinmektedir. Yani Lipoteikoik asitin, toplanma düzenini ve plazmid transferini pratik hale getirerek *E. faecalis*'in virulensine katkı sağlayan bir molekül olduğu varsayılmaktadır (Kayaoglu ve Orstavik, 2004).

2.1.10.4. Kollajen Bağlayıcı Adezin (MSCRAMM Ace)

Yapısal ve işlevsel olarak *Staphylococcus aureus*'un kollajen bağlayabilen proteini Cna (collagen adhesin gene)'ya benzer niteliklere haiz olan MSCRAMM Ace, hücre dışı matriks proteinlerine bağlanmayı gerçekleştiren protein yapıda bir adhezindir. Ace, *E. faecalis*'in kommensal ve patojenik izolatları arasında yaygın olup, bireylerde infeksiyon süresi zarfında salınır ve insandan çoğaltılan antikorlar ekstrasellüler matriks proteinlerinin in vitro ahengini durdurabilir (Tendolkar ve diğ., 2003; Kayaoglu ve Orstavik., 2004; Upadhyaya ve diğ., 2009).

2.1.10.5. Kapsül, Hücre Duvarı Polisakkaritleri

E. faecalis ve *E. faecium*'un üzerinde kimyasal olarak gerçekleştirilen saflaştırma işlemi sonucunda polisakkarit yapıda ikinci bir kapsül bulunmakta ve saf hücre duvarı içeriğinin gliserol fosfat, glikoz ve galaktoz kalıntılarından meydana geldiği söylenmektedir. *E. faecalis* A, B, C ve ya D polisakkaritlerinden herhangi birini üretebilmektedir. Saf hale getirilmiş kapsüller karbohidrat bileşenlerine karşı meydana gelen antikorların sistemik enfeksiyonlarda koruyucu olduğu belirtmektedir (Rice, 2005).

2.1.10.6. Seks Feromonları

Seks feromonları kromozomda kodlanan, yedi-sekiz amino asit uzunluğunda *cpd*, *cob*, *ccf*, *cad* genlerinde kodlanan küçük, sudan kaçan peptidlerdir. *E. faecalis*'te işaret peptidleri olarak işlev yürütürler. *Enterococcus faecalis*'te bilinen konjugatif plazmidlerin aktarımı seks feromon düzeni ile bir kaç kat fazlalaştırılabilir. Kültür ortamında *E. faecalis* suşları, farklı seks feromonlar salgılamaktadırlar (Kayaoglu ve Orstavik, 2004; Devriese ve Baele, 2006).

Öte yandan antibiyotik direnci ve hücrenin lizise olmasına sebep olan antikorlar gibi virulans etkenler seks feromon sistemi ile *E. faecalis* suşları içerisinde yayılım gösterebilir. Bir kısım seks feromonları nötrofiller için kimyasal olarak çekici olduklarından, süper oksit üretimini ve lizozomal enzim sekresyonunu indükler ve doku hasarı oluşturur (Kayaoglu ve Orstavik, 2004).

2.1.10.7. Hyaluronidaz

Hyaluronidaz enzimi *hyl* geninde kodlanır ve streptokokların yanı sıra stafilokoklar gibi bazı gram pozitif bakterilerde bulunabilir. Bakteriler dışında zehirli yılanlar, kancalı kurtlar, sülük ve spermatozoa gibi memeli hücreleri tarafından da üretilmektedir. Hyaluronidaz, hyaluronik asiti tahrip ederek doku hasarına yol açan bir enzimdir. Bakterilerce hyaluronidaz üretiminin saptanması, hyaluronik asit ihtiva eden yarı-katı ortama inokülasyonu ile sağlanmıştır. Bağ dokudaki mukopolisakkaritlerin kısmen depolimerize ederek hem bakteriye hyaluronik asidin parçalanmasıyla besin kaynağı sağlar hem de bakterinin yayılmasını kolaylaştırır. Hyaluronidaz kendi zarar verici etkilerinin yanında diğer bakteriyel toksinlerin zararlı etkilerinin ortaya çıkmasını kolaylaştırabilir ve

bu da dokuda oluşacak hasarının şiddetini artırır. Diş çürüklerindeki doku hasarında rol oynayan hyaluronidaz enzimi, enterokokların diş kök kanallarından periapikal lezyonlara geçişmesine fırsat tanımaktadır (Kayaoglu ve Orstavik, 2004; Fisher ve Phillips, 2009).

2.1.10.8. *Enterococcus faecalis* Antijen A Proteini (*efaA* Proteini)

İlk defa insanlarda endokardite sepep olan *E. faecalis* suşlarında tanımlanan *efaA* proteini, *efaA* geninde kodlanır. *efaA*'nın aminoasit dizisi, streptokokkal adezinler olarak adlandırılan proteinlerle %50-60 benzerlik göstermektedir. *EfaA* üretimi *E. faecalis* suşlarında yaygındır. Bakterinin hayatta kalması ve üremesi için mangan elementi gereklidir ve *efaA* mangandan yoksun ortamda fazla oranda eksprese edilir. *EfaA*, endokarditler de adhezin olarak işlem gördüğü ayrıca süt, peynir ve et gibi klinik izolatlarda dışında izole edilen *E. faecalis* suşlarında da *efaA*'nin bulunduğu tespit edilmiştir (Kayaoglu ve Orstavik, 2004).

2.1.10.9. AS-48

İlk kez *E. faecalis* suşundan izole edilen, plazmid de kodlanan peptit yapılı bir bakteriyosin olan AS-48, gram(+) ve gram (-) bakterileri inhibe ve lize eder. Bu basit peptit, ulaşmak istediği hücrelerin sitoplazmik yapılarında gözenek meydana getirerek litik aktivite göstermesini sağlar (Kayaoglu ve Orstavik, 2004).

2.1.10.10. Antibiyotik Direnci

Nozokomiyal enterokokal enfeksiyonlar, hasta bireyin antibiyotik tüketimi neticesinde intestinal sistemde bulunan duyarlı suşların yok olmaları ile birlikte antibiyotik dirençli, sitolitik toksin meydana getirme gibi virülans niteliklere sahip suşların intestinal flora ege men olması ile başlamaktadır. Antibiyotik direnci enterokoklarda intrensek ve ya kazanılmış olabilir. Plazmidler, kromozomlar ve transpozonlardaki direnç genlerine endeksli olan kazanılmış direnç ve hazır direnç genlerinin ayrı tür ve cinsteki mikroorganizmalara transfer edilebilmesinden söz edilebilir. Söz konusu mikroorganizmaların sebep olduğu enfeksiyonların tedavisi klinikte rastlanan çok hayati problemlerden bir tanesidir (Başustaoğlu, 2004; Şardan, 2004)

Enterokoklar başta beta laktamlar ve aminoglikozitler olmak üzere birçok antibiyotiğe intrensek dirençlidir. Kimi antibiyotiklere de oldukça hızlı direnç geliştirirler.

Enterokoklarda antimikrobiklere çoklu direncin artmasında, mikroorganizmaların pekçok antibiyotiğe intrinsek direnç göstermelerinin yanında plazmid, transpozon ve kromozomlardaki direnç genlerine bağlı kazanılmış direnç ve direncin bir bakteriden diğerine aktarılabilmesi etkili olmaktadır (Aktaş ve Derbentli, 2009).

İnterensek Direnç: İnterensek direnç türe ve cinse özgüdür ve enterokok türlerinin hepsinde boy gösteren kromozomal direnci gösterir. Enterokok türleri penisilinlere, trimetoprim-sulfametaksazol (TMP-SMX)'e, sefalosporinlere, linkozamidlere, aminoglikozidlere düşük seviyede, polimiksinlere, monobaktamlara ve kinopristin/dalfopristin'e karşı genetik anlamda dirençlidir (Çetinkaya ve diğ., 2000).

Eksterensek (Kazanılmış) Direnç: Enterokokları pekçok antibiyotiğe karşı kazanılmış direnç mekanizmalarına sahiptir. Kazanılmış direnç, özellikle bir DNA mutasyonu veya yeni bir DNA segmentinin transferi sonucu ortaya çıkmaktadır. Enterokoklar veya başka mikroorganizmalar arasında mutasyon sonucu oluşan dirençli genler nakil edilebilir. Enterokoklarda yeni DNA segmenti nâkilinden maksimum sorumlu olan düzen, konjugasyondur. Farklı bakteriler için nitelendirilmiş olan transdüksiyon ve transformasyon gibi mekanizmalar enterokoklarda doğal şartlarda DNA transferine sebep olmaz. Tetrasiklin direnci enterokoklarda konjugasyon aracılığıyla kazanılan direncin en özgün örneklerindendir (Çetinkaya ve diğ., 2000; Sood ve diğ., 2008).

2.1.11. Enterokok İnfeksiyonları

Enterokokların sebep olduğu infeksiyonlar son yıllarda belirgin bir artış göstermekte ve özellikle hastane enfeksiyonlarına sebep olan etkenler arasında ilk başlarda yer almaktadır. Bütün enterokok enfeksiyonlarının %85-95'inden *E. faecalis*, %5-10'inden ise *E. faecium* sorumludur. *E. gallinarum*, *E. casseliflavus*, *E. avium* ve *E. raffinosus* gibi diğer enterokok türleri klinik numunelerin %5'inden izole edilmiştir (Başustaoğlu ve Aydoğan, 2002).

Enfekte hasta bireylerin dışkıları ile geniş bir alanı kontamine eden enterokoklar, hassas hastalarda kan, idrar yolları, BOS (Beyin Omirilik Sıvısı) gibi arınık bölümlere yerleşerek, sepsis, endokardit, bakteriyemi, üriner sistem enfeksiyonları, pelvik enfeksiyonlar, karın içi

enfeksiyonlar, cerrahi yara enfeksiyonları ve menenjit etkeni olmaktadır (Murray, 2000; Zirakzadeh ve Patel, 2006).

Son yıllarda çoklu antibiyotik direnci gösteren *E. faecium* kökenlerinin klinik enfeksiyonlardaki fazlalaşma dikkat çekmektedir. Nadir olarak *E. durans*, *E. casseliflavus*, *E. gallinorum*, *E. raffinosus*, *E. mundtii*, *E. hirae*, *E. avium* ve *E. flavescens* gibi enterokok türleri klinik enfeksiyonlarda etken mikroorganizma olarak ayırt edilebilmektedir (Dutka-Malen ve ark., 1995; Meriç ve ark., 2004; Aktaş ve ark., 2007; Fisher ve Phillips, 2009). *E. malodoratus*, *E. pseudoavium* ve *E. sulfureus*, türleri ile PYR testi negatif olan ve atipik enterokoklar olarak adlandırılan *E. saccharolyticus*, *E. columbae* ve *E. cecorum* türleri hala insanlardan soyutlanmamıştır (Sood ve diğ., 2008).

2.2. Uçucu Yağlar

2.2.1. Uçucu Yağların Genel Özellikleri

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından yeryüzünde tedavi amacı ve baharat olarak kullanılabilen yaklaşık 20.000 bitki olduğu rapor edilmiş, bu türlerinin de yaklaşık %30 kadarı uçucu yağ içerdiği tespit edilmiştir (Faydaoğlu ve Sürücüoğlu, 2013). Günümüzde de pekçok ileri ülkede çeşitli hastalıkların tedavisinde tüketilen maddelerin %80'inin bitkisel kaynaklı olduğu dikkat çekmektedir. Esansiyel yağlar adı da verilen uçucu yağlar, bitkilerin kabuk, yaprak, rizom, çiçek, meyve, reçine ve odunsu bölümlerinden destilasyon, presyon ya da ekstraksiyon yöntemleriyle sağlanan, genel olarak oda sıcaklığında likit formda bulunan, kolayca kristalleşlebilen, çoğunlukla renksiz, uçucu, keskin kokulu, su buharı ile taşınabilen kompleks yapılardır (Karapınar ve Aktuğ, 1986; Korukluoğlu ve diğ., 2005). Güzel kokulu olmalarından dolayı esans ya da eterik yağ da denilmektedir. Su ile karışmadıkları için yağ olarak tanımlanırlar.

Bitki uçucu yağları oldukça geniş kullanım alanına sahiptirler. Antiseptik, antioksidan, sindirim uyarıcı, antimikrobiyal ve enzimatik etkilerinin yanında gıdaların muhafazasında da kullanılmaktadır (Kabara, 1991). Bilimsel ve ticari pekçok alanda, başta ilaç, gıda, sanayi, kozmetik, fitoterapi ve aromaterapi olmak üzere pek çok sahada kullanılmaktadır (Hammer ve diğ., 1999).

2.2.2. Uçucu Yağların Kimyasal Özellikleri

Uçucu yağlar destilasyon (damıtma), ekstraksiyon, soğuk sıkma, maserasyon vb. değişik metotlarla elde edilirler (Solórzano-Santos ve Miranda-Novales, 2012). Uçucu yağ birleşenlerinin ayrıntılı tahlilleri ise genellikle gaz kromatografisi/kütle spektrometresi (GC/MS) sistemi ile yapılır (Delaquis ve diğ., 2002).

Bitki uçucu yağları çok sayıda bileşiğin farklı oranlarda birleşmesiyle oluşan doğal karışımlardır. Oldukça kompleks yapıya sahiptirler. Kimyasal bileşimleri bakımından elde edildikleri bitkilere göre dört sınıfta anılırlar. Bunlar terpenik maddeler, aromatik maddeler, düz zincirli hidrokarbonlar, azot ve kükürt taşıyan bileşiklerdir. Uçucu yağların yapısını oluşturan ana bileşenlerin büyük çoğunluğu (%90) terpenik maddelerden oluşmuştur. Terpenlerin oksitlenmesiyle ortaya çıkan oksijenli türevler, bitki uçucu yağlarının kendine has tadını, kokusunu ve terapik niteliğini oluşturur. Bu sebeple uçucu yağ içeren bitkiler araştırılırken içerdikleri oksijenli bileşikler esas alınır (Kutlular, 2007). Uçucu yağların antimikrobiyal etkinliği kimyevi yapılarıyla ilişkilidir. Çoğunlukla başlıca birleşenler, uçucu yağın biyolojik niteliklerini belirlerken yapılan birtakım araştırmalar (bir kısım kekik türleri ve mercanköşkle yapılan) eser derecede bulunan birleşenlerin de öbür bileşenlerle karşılıklı etki oluşturarak antibakteriyel aktivitede kilit rol aldığını göstermiştir (Paster ve diğ., 1995; Marino ve diğ., 1999).

2.2.2.1. Kromatografi / Kütle Spektrometresi

Gaz kromatografisi / kütle spektrometresi (GC/MS), komplike organik ve biyokimyasal bileşiklerin analizi için kullanılan bir sistemdir. Kromatografi, karışımda bulunan maddeleri ayırmaya yarayan bir yöntem olmakla birlikte kütle spektrometresi, inorganik organik ve biyolojik moleküllerin tüm yapısı hakkında bilgi veren ve çoğu kez molekül kütlelerinin ve molekül formülünün de bulunmasını sağlayan bir yöntemdir (Flanagan ve diğ., 2007; Siegel ve diğ., 2006).

2.2.3. Uçucu Yağların Antimikrobiyal Etki Mekanizması

Uçucu yağların antimikrobiyal aktivitelerini ölçmek ve değerlendirmek genellikle kolay değildir. Uçucu olmaları yanında suda çözünme oranlarının az olması ve kompleks yapıda bulunmaları deneyleri zorlaştırmaktadır. Gerçekleştirilen araştırmalar uçucu yağların

antimikrobiyal etkilerinin uçucu yağ çeşidine, konsantrasyonuna ve bakteri türüne bağlı olarak değiştiğini göstermektedir. Öte yandan bazı uçucu yağların besinlerin organoleptik niteliğinde zayıflığa sebep olmaksızın bakteriyel bozunumu erteledikleri ve bu nedenle koruyucu olarak kullanılması gerektiği tespit edilmiştir (Giese, 1994; Hulin ve diğ., 1998; Ünner ve diğ., 2000).

Uçucu yağlarda mevcut olan kimyasal bileşenlerin, farklı gruplarının çokluğu dikkate alınırsa antibakteriyel aktivitenin yalnız bir mekanizmaya endeksli olmadığı, hücrede pekçok hedefin olduğu çıkarımı yapılabilir. Bu yağların antimikrobiyal etkisi, sitoplazma zarında tespit edilmiştir. Çok yıllık bitkilerden sağlanan antimikrobiyal maddeler, mikrobiyel metabolizmanın enzimatik reaksiyonlarını önleyebilir, ortamdaki besin maddelerinin alımına mani olabilir, zarın yapısında değişiklik gerçekleştirebilir, ribozomal ve çekirdek düzeyinde enzim sentezine engel olabilir (Toroğlu ve Tekgüler, 2006; Uçan, 2008; Evren ve diğ., 2011).

Hücrede bulunan zarın geçirgenliğinin, hücre zarının kompozisyonuna ve hücre zarını geçmeye çalışan maddenin hidrofobikliğine bağlı olduğu ifade edilmiştir (Holley ve Patel, 2005). Bununla birlikte uçucu yağların birleşimindeki aldehitler oldukça kuvvetli elektronegatiflik göstermektedirler. Elektronegatiflik gösteren birleşikler, nükleik asit ve protein gibi azotlu bileşiklerle tepkimeye girerek mikroorganizmanın gelişimine engel olur ve yüksek oranda antimikrobiyal etkinlik gösterir (Dorman ve Deans, 2000).

2.2.4. Antimikrobiyal Aktivite Üzerinde Etkili Faktörler

2.2.4.1. Uçucu Yağların Özellikleri

Uçucu yağın içeriği, toplanma zamanı ve ekstraksiyon tekniği uçucu yağın antimikrobiyal niteliklerine etki etmektedir.

Bitki uçucu yağlarının bileşimi, bu bitkilerin (çiçek, sap, yaprak, tohum, meyve ve kök) herhangi bölümünden sağlandığına göre değişiklik göstermektedir (Novak ve diğ., 2005; Olawore ve diğ., 2005). *Achillea ptarmica* bitkisinin ayrı bölümlerinden elde edilen uçucu yağlar üzerine yaptıkları araştırmalarda bitkinin yeşil olan bölümlerinden ve kökünden çıkarılan uçucu yağdaki antimikrobiyal aktiviyeti gerçekleştirdiği tahmin edilen mono-

terpen miktarının, bitkinin çiçekli kısımlarından temin edilen uçucu yağa kıyasla çok az tespit edildiği görülmüştür (Kuropka ve diğ., 1991). Kışniş çekirdeklerinden çıkarılan uçucu yağ ile bitkinin yaprak kısımlarından sağlanan uçucu yağ bileşkelerinin birbirinden ayrı olduğu tespit edilmiştir (Delaquis ve diğ., 2002; Gutierrez ve diğ., 2008; Rodríguez ve diğ., 2009).

Hatta aynı sene içerisinde değişik zamanlarda toplanan limon otu bitkisinden çıkarılan uçucu yağların antimikrobiyal etkinliğinin farklı olduğu bildirilmiştir (Lopez-Malo Vigil ve diğ., 2005). Yılın 5. ve 12. ayları aralığında toplanan limon otundan sağlanan uçucu yağ test edilen bakterilerin %100'nün üremesine engel olurken, yılın 2 ve 4. ayları arasında hasat edilen limon otu uçucu yağının yalnızca %73-80 oranında etkili olduğu tespit edilmiştir.

Kekikteki antimikrobiyal etkinliği gerçekleştirdiği tahmin edilen timol miktarının, dikilme sıklığı ve toplanma zamanından etkilenme düzeyi incelediğinde, antimikrobiyal etkinliğin dikilme sıklığından etkilenmediğini lakin toplanma zamanından etkilendiğini tespit etmişlerdir (Badi ve diğ., 2004).

Uçucu yağların elde edilme yöntemi uçucu yağların bileşkelerini değiştirdiği, bu nedenle uçucu yağların antimikrobiyal niteliklerini de etkilediği tahmin edilmektedir. 2002 yılında Packiyasothy ve Kyle gerçekleştirdikleri bir araştırmada uçucu yağların elde edilmesinde, buhar distilasyon ve sıcak solvent ekstraksiyon yöntemlerini kullanarak sonuçları karşılaştırmışlardır. Hekzanın çözücü olarak kullandığı solvent ekstraksiyon yöntemiyle ele geçen uçucu yağın, buhar distilasyon tekniği ile çıkarılan yağa kıyasla daha fazla antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu belirtmişlerdir.

2.2.4.2. Mikroorganizmaların Özellikleri

Bakterinin türü, gram özellikleri ve sayısı uçucu yağın mikroorganizmalar üstünde etkinliğini değiştirmektedir.

Gram (-) negatif bakterilerin hidrofilik hücre çeperi olması nedeniyle, gram (+) pozitif bakterilere kıyasla uçucu yağlara oldukça dayanıklı olduğu tahmin edilmektedir (Kim ve diğ., 2011; Ravichandran ve diğ., 2011). Ne var ki 50 kadar uçucu yağın 25 bakteri türüne

karşı etkinliğini araştıran bilim adamları yaptıkları çalışmalarda gram negatif ve gram-pozitif bakterilerin, uçucu yağlardan aynı oranda etkilendiklerini bildirmişlerdir (Deans ve Ritchie, 1987). Uçucu yağların, ayrı mikroorganizmalara farklı antimikrobiyal etkinlik gösterdiği bilinmektedir.

Uçucu yağlar ile bakteri miktarı arasında bağlantı bulunmadığı bilinmektedir. Yalnız bazı araştırmalar inokulum oranı çoğaldıkça bakteriyi engellemek için lazım olan antimikrobiyal element miktarının artması gerektiğini bildirmişlerdir (Seow ve diğ., 2013).

2.2.4.3. Diğer Faktörler

Uçucu yağlar, yağın konsantrasyonundan, sıcaklık ve bulunduğu ortamın oksijen seviyesinden etkilenmektedir.

Uçucu yağların antimikrobiyal etkisinin, yağın derişimine bağlı olduğu bildirilmiştir (Sivropoulou ve diğ., 1996). Düşük derişimlerde enerji üretiminde rol alan enzimler üzerine etkili iken, yüksek derişimlerde protein denatürasyonuna sebep olduğu bildirilmiştir. Uçucu yağlarda ki etken birleşenler genellikle protein, karbonhidrat, yağ, tuz vb. bileşenlere bağlanmakta iken toplam uçucu yağın sadece ufak bir bölümü bağımsız antimikrobiyal aktivite göstermektedirler (Davidson, 1997).

Saklama ısısının azaltılmasının uçucu yağların etkinliğini yükselttiği tahmin edilmektedir (Burt, 2004; Friedly ve diğ., 2009). Düşük ısının uçucu yağların çözünme oranını azalttığını ve çeperin yağ fazının girişine engel olduğunu belirtmişlerdir (Wanda ve diğ. 1976). Friedman ve ark. 2004 yılında bir kısım uçucu yağların, elma suyunda bulunan *Escherichia coli* O157:H7 ve *Salmonella hadar* üzerinde ki antimikrobiyal aktiviteyi araştırmışlardır. Etkinliğin inkübasyon sıcaklığından ve saklama zamanından etkilendiği lakin asitlikten pek etkilenmediğini belirtmişlerdir.

Ortamdaki oksijen mevcudiyeti uçucu yağların antimikrobiyal etkinliğini etkilemektedir. Gerçekleştirilen araştırmada mercanköşk uçucu yağını düşük oksijenli ortamda ve oksijensiz ortamlarda inkübe edilen *Staphylococcus aureus* ve *Salmonella enteritidis* üzerinde aktivitesi incelenmiştir. Bulunan sonuçlar oksijensiz koşullardaki antimikrobiyal etkinliğin diğerine nazaran daha az olduğunu ve az oksijenin bulunan ortamdaki uçucu

yağda daha cüzi miktarlarda da olsa oksidatif farklılıklar olduğu gözlenmiştir (Paster ve diğ., 1990-1995).

2.2.5. Bitki Uçucu Yağlarının Antimikrobiyal Etkinliklerinin Belirlenmesinde Kullanılan Metodlar

Antimikrobiyal etkinliğin belirlenmesinde kullanılan yöntemler dilüsyon yöntemi (agar dilüsyon ve broth dilüsyon yöntemi) ve difüzyon (disk difüzyon ve agar kuyucuk difüzyon yöntemi) yöntemidir. Antibakteriyel duyarlılık testleri antibiyotikler için kullanılırken daha sonra bitki uçucu yağlarına da uyarlanmış lakin uçucu yağın ekstraksiyonunda kullanılan teknik, besiyeri, inkübasyon süresi, kullanılan inokulum miktarı, sıcaklığı vs. pek çok faktör analiz sonuçlarını etkilemiştir. Bu durum verilerin birbirleriyle kıyaslanmasını da zorlaştırmaktadır (Turhan, 2015).

Antimikrobiyal aktivitenin saptanmasında yaygın olarak kullanılan iki yöntem aşağıda açıklanmaktadır.

2.2.5.1. Dilüsyon Yöntemi

Bu teknik uçucu yağların Minimum İnhibitör Konsantrasyon (MİK) saptamak için kullanılmaktadır. Farklı konsantrasyonlarda ki antimikrobiyal maddelerin, inkübasyon süresi sonucunda gözle görünür üremeyi, açıkçası mevcut canlı hücre sayısının artışını engelleyen en düşük derişimi, **Minimum İnhibitör Konsantrasyon (MİK)** olarak tanımlanır ve (mg/L) şeklinde gösterilir. Antimikrobiyal madde için MİK sabit bir değer değildir, zira kullanılan test organizmasının özelliği, kültür besiyerinin içeriği, inkübasyon zamanı, inokulum miktarı, sıcaklık ve pH gibi analiz şartlarına bağlı olarak değişiklik gösterebilmektedir (Çopuroğlu, 2013; Şahin, 2006). MİK tespit etmek için katı besiyerlerinde veya sıvı besiyerlerinde antimikrobiyal etkiye sahip maddelerin seyreltilmiş olarak belirli miktarlarda eklenmesiyle hazırlanan besi ortamları kullanılmaktadır. Minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK); üremenin varlığı veya yokluğundaki bulanıklık tespiti ile gerçekleştirilmekte ve çoğalmanın olmadığı en düşük yoğunluk miktarı olarak tanımlanmaktayken, bir mikroorganizmayı tamamen yok eden konsantrasyon ve ya yeni hazırlanan besiyerine geçirildikten sonra çoğalmanın görülmediği en düşük derişim minimum bakterisidal konsantrasyon (MBK) değeri olarak

nitelendirilmektedir (Burt, 2004). MBK testi MİK testinden sonra yapılır. MİK testi neticesinde gelişim göstermeyen tüplerden alınan numuneler katı besiyerine ekilir. Katı haldeki besiyerinde çoğalmanın olmadığı birinci besiyeri MBK değerini gösterir (Altuner, 2008).

Dilüsyon yöntemi, broth dilüsyon ve agar dilüsyon yöntemi olarak 2 ayrı biçimde yapılabilmekte olup, aşağıda açıklanmıştır.

Broth Dilüsyon Yöntemi: Broth dilüsyon metodu makrodilüsyon (tüp dilüsyon yöntemi) ve mikrodilüsyon yöntemi olarak 2 farklı çeşitte yapılabilir. Bu iki yöntem aslında prensip olarak birbiri ile aynıdır. Makrodilüsyon yöntemi steril tüpte sulandırma yöntemi olup daha çok araştırma amacıyla kullanılır. Mikrodilüsyon yönteminde 96 kuyucuklu plaklar kullanılmaktadır. Bu iki yöntemde de farklı derişimlerde hazırlanan bitki uçucu yağı veya antimikrobiyal maddelerin belirli konsantrasyonlarda ki mikroorganizmalara karşı etkisi araştırılmaktadır. Mikrodilüsyon yöntemi makrodilüsyon yöntemine kıyasla daha pratik ve kolay uygulanabilir olduğundan sık kullanılan bir yöntemdir. Daha çok mikroorganizmaya karşı bitki uçucu yağlarının MİK ve MBK değerleri belirlenmeye çalışılır (İşcan ve diğ., 2002; Çelik ve Çelik, 2007)

Agar Dilüsyon Yöntemi: Agar dilüsyon yöntemi de makrodilüsyon yöntemine benzemektedir. Farklı olarak, agar dilüsyon yönteminde bitki uçucu yağların belli sıcaklıkta farklı çözücüler kullanılarak, henüz katılaşmamış agar içine konması ve petri plaklarına dökülmesidir. Böylece her petride bitki uçucu yağının farklı konsantrasyonları bulunur. Petri plaklarına dökülen agarın katılaşmasından sonra nokta veya sürme ekim yöntemleriyle farklı miktarlarda inokulum (1-100 µL), agar yüzeyine ekilmektedir. Bu yöntemde başka ekim teknikleri uygulanmasına karşın ulaşılan MİK değeri aşağı yukarı benzerdir (Pintore ve diğ., 2002; Turhan, 2015).

2.2.5.2. Difüzyon Yöntemi

Basit bir teknik olmasına karşın aşağıdaki parametrelere dikkat edilmesi gerekmektedir. Analiz yapılırken analizin sonucunu etkileyecek potansiyel hata kaynakları şunlardır.

Besiyeri; besiyerlerinin uygun saklanmaması, talimatlara uygun hazırlanmaması, seriler arasında değişkenlik, katkı maddeleri (seriler arasında değişkenlik, yanlış miktar veya son kullanım tarihinin geçmesi), pH uygunsuzluğu, agar derinliğinin yetersizliği, son kullanma tarihi, 15-15-15 kuralına uyulmaması (bakteri süspansiyonunun 15 dakika içinde kullanılması, disklerin 15 dakika içinde agar yüzeyine yerleştirilmesi ve plakların 15 dakika içinde inkübasyona kaldırılması).

Test Koşulları; inkübasyon koşullarında (sıcaklık, atmosfer, süre) uygunsuzluk, yanlış inokülasyon, yanlış okuma (Ör. Yansıyan ışıktaki okuma yerine geçirgen ışıktaki okuma), zon sınırlarının değerlendirilmesi, yanlış disk kullanımı (etken maddenin veya disk içeriğinin yanlış olması).

Diskler; diskin potensinde kayıp (uygun koşullarda saklamama, maddede kararsızlık, son kullanma tarihi), disklerin içinde bulunduğu kapların diskler oda sıcaklığına gelmeden açılması, plakta disk sayısının fazla olması (maddeler arası etkileşim).

Kontrol Suşları; yanlış kalite kontrol suşu kullanılması, mutasyon, kontaminasyon, kültürün eksikliği (Gür, 2016).

Disk Difüzyon Yöntemi (Kirby-Bauer Testi): Bitki uçucu yağların antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesinde en çok kullanılan yöntemdir. Kirby- Bauer tarafından geliştirilen, Kirby- Bauer yöntemi olarak da bilinen, ucuz ve uygulaması basit olan bu yöntem, belirli miktar antimikrobiyal madde emdirilmiş kâğıt disklerin, duyarlılığı araştırılan mikroorganizmanın inoküle edildiği besiyerine difüze olması temeline dayanmaktadır. Agar içeren besiyeri üstüne, araştırılacak uygun dilüsyondaki bakteri kültüründen ekim yaparak besiyerinin bakteri süspansiyonunu çekmesi sağlanıp, sonra antimikrobiyal madde emdirilmiş steril diskler yerleştirilmektedir. Böylelikle, diskte bulunan antimikrobiyal madde besiyeri içerisine dağılır ve etki ettiği yerlerde bakterinin çoğalmasına engel olur. Sonuçta, antimikrobiyal madde emdirilmiş disk etrafında bakterilerin çoğalmadığı dairesel bir inhibisyon alanı meydana gelir. Bu alanın ölçülen çapı ile duyarlı (S), intermediate (İ) ve duyarsız (R) olarak bir sonuca varılır. Uygun sıcaklık ve inkübasyon süresi sonunda inhibisyon zonları kompas veya cetvelle ölçülerek bitki uçucu yağın çalışılan mikroorganizma üzerine antimikrobiyal etkisi değerlendirmek mümkündür

(Jorgensen, 1997; Gülay, 1999; Adıgüzel ve diğ., 2005; Benli ve Yiğit, 2005; Wayne, 2011).

İnhibisyon zonunun çapı; petri kutularındaki agarın kalın olma durumuna, diske emdirilen antimikrobiyal maddenin miktarına ve difüzyon yeteneğine endeksli olarak değişkenlik göstermektedir. Bu metot, bitki uçucu yağının antimikrobiyal aktivitesinin tespit edilebilmesi için yeterli ise de mevcut neticelerin yayınlanmış bilgilerle kıyaslanması için uygun değildir (Deans ve diğ., 1993; Dorman ve Deans, 2000).

Agar Kuyucuk Difüzyon Yöntemi: Bitki uçucu yağlarının antimikrobiyal aktivitesinin gözlenmesinde sık kullanılan bir yöntemdir (Deans ve diğ., 1993; Dorman ve Deans, 2000). Agar kuyucuk difüzyon yönteminde, test edilen mikroorganizmanın bulunduğu müsait besiyeri üstüne, belli çapta açılan kuyulara homojen olarak konulan esansiyel yağ karışımının besiyerine diffüze olması ve bu alanda test mikroorganizmasının üremesine engel olup olmadığının belirlenmesi prensibine dayanmaktadır. İnkübasyon süresi sonunda, kullanılan antimikrobiyal madde etkiliyse kuyucukların çevresinde belirgin olarak üremenin gerçekleşmediği inhibisyon zonları oluşmaktadır. Oluşan inhibisyon zonlarının çap uzunlukları ölçülerek değerlendirmeye alınmaktadır (Burt, 2004; Schelz ve diğ., 2006).

2.2.6. DNA Görüntüleme Tekniklerinden Agaroz Jel Elektrofarezi

Agaroz jel orta büyüklükteki DNA ile büyük DNA moleküllerini elektroforezle ayırtmak için yaygın olarak kullanılan bir ortamdır. Maximum 50 kb'a olan nükleik asitler agaroz jel elektroforez tekniği ile ayrıştırılabilirler. Agaroz jel farklı yoğunluklarda ayarlanarak moleküllerin hareket ettiği porların çapında değişiklikler oluşturulabilir. Agaroz jel yoğunluğu arttığında, porların çapıda küçülmeye başlar. Böylelikle küçük DNA parçaları için yüksek agaroz jel konsantrasyonları, büyük DNA parçaları için düşük agaroz jel konsantrasyonları tercih edilerek nükleik asitlerin en mükemmel biçimde ayrışmaları sağlanır. Agaroz jeller çoğunlukla floresan etkisi gösteren ethidium bromide'le boyanır, ardından UV ışığı altında DNA görüntülenir. DNA parçalarının agaroz jelde görüntülenebilmesi, DNA'nın iki zinciri arasına giren ethidium bromide'in 300 veya 360

nm dalga boyundaki ışığı soğurması neticesinde floresan etki göstermesiyle olur (Bardakçı ve Yenidünya, 2007; Güleş ve Eren 2008).



3. MATERİYAL VE METOD

3.1. Materyal

3.1.1. Kullanılan Test Suşları

Antimikrobiyal etkinliği tespit etmek için kullanılacak olan *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Bacillus subtilis* ATCC 23857, *Bacillus cereus* ATCC 14579, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Aeromonas hydrophila* ATCC 7966, *Shigella dysenteriae* ATCC 11835, *Listeria monocytogenes* ATCC 19111, *Proteus mirabilis* ATCC 29906 suşları, Ahi Evran Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarından, VRE *E. faecium*, VRE1, VRE2, VRE3, *E. faecalis*, VRE ATCC 51299 Ahi Evran Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarından temin edilmiştir.

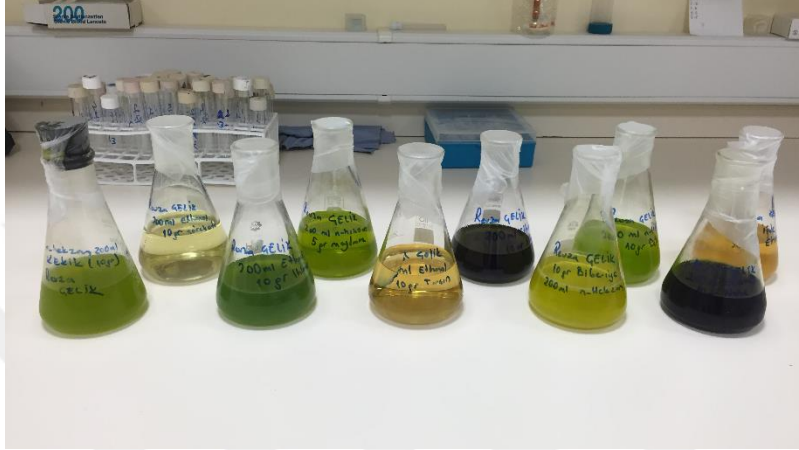
3.1.2. Kullanılan Bitki Ekstraktları

Uçucu yağları içeren bitki familyaları Apiaceae (Maydonozgiller), Asteraceae (Papatyagiller), Brassicaceae (Turpgiller), Chenopodiaceae (Sirkengiller), Compositaceae (Bileşikgiller), Cupressaceae (Servigiller), İridaceae (Süsengiller), Lamiaceae (Ballıbabagiller), Lauraceae (Defnegiller), Myrtaceae (Mersingiller), Pineaceae (Çamgiller), Poaceae (Buğdaygiller), Rosaceae (Gülgiller), Rutaceae (Sedefotugiller), Zingiberaceae (Zencefilgiller) olarak sayılabilir (Öztürk ve diğ., 2002; İşcan ve diğ., 2002; Grassmann ve Elstner, 2003).

Bu çalışmamızda biberiye (*Rosmarinus officinalis*), defne (*Laurus nobilis*), iğde (*Elaeagnus angustifolia*), kekik (*Thymus vulgaris*), ıhlamur (*Tilia Cordata*), adaçayı (*Salvia officinalis*), maydanoz (*Petroselinum crispum*), çörekotu (*Nigella sativa*), nane (*Mentha Piperita*), tarçın (*Cinnamomum zeylanicum*)' kullanılmıştır. Temin edilen örneklerin yenilebilen kısımları kök ve saplarından ayıklandıktan sonra oda koşullarında ve gölgede kurutulmuştur. Analizlerde kullanılmak üzere cam kavanozlarda muhafaza

edilmiştir. Daha sonra bu bitkiler soxhlet ekstraksiyon işlemine tabi tutularak Şekil 3.1. deki bitki özütleri elde edilmiştir.

Ayrıca endüstriyel olarak üretilen biberiye, adaçayı, maydanoz, kekik, nane, iğde ve çörekotu yağda tüketime sunulan marketlerden alınarak kullanılmak üzere laboratuvara getirilmiştir.



Şekil 3.1: Soxhlet Ekstrasyonu Sonucu Elde Edilen Bitki Özütleri.

3.1.3. Kullanılan Kimyasallar

Çalışmamızda metanol, etanol, n-hekzan, dimetil sülfoksit asit (DMSO), olmak üzere 4 adet kimyasal kullanılmıştır.

3.1.4. Kullanılan Aletler

Etüv, deep-freeze, buzdolabı, vorteks, hassas terazi, otoklav, pastör fırını, soxhlet cihazı, rotary evaporator, elektrikli ısıtıcı, gaz kromatografisi/kütle spektrometresi (GC/MS) olmak üzere çeşitli aletler kullanılmıştır.

3.1.5. DNA Cleavage Aktivitesinin Tespiti için Kullanılan Materyaller

Marker DNA'sı, yürütme boyası, elektroforez tamponu (TBE tamponu) agarose, Ethidium bromür (EtBr), elektroforez ünitesi ve güç kaynağı, steril mikrofij tüp, mikropipet ve mikropipet ucu, jel görüntüleme ünitesi (UV ışık ve kamera).

3.1.6. Kullanılan Besiyerleri

3.1.6.1. Tryptic Soy Agar (TSA) (Merck 1.05458)

Tryptic Soy Agar 60 gr

Distile su 1500,0 ml

Otoklavda 1,1 atmosfer basınç ve 121 °C'de 15 dakika sterilize edilip kullanılmıştır.

3.1.6.2. Tryptic Soy Broth (TSB) (Merck 1.05459)

Tryptic Soy Broth (TSB) 9 gr

Distile su 300,0 ml

Otoklavda 1,1 atmosfer basınç ve 121 °C'de 15 dakika sterilize edilip kullanılmıştır.

Ayrıca VRE'lerin üremesi için Ahi Evran Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarından yeteri kadar hazır koyun kanlı agar temin edilmiştir.

3.1.6.3. Nutrient Broth (NB)(Merck 1.05443)

Nutrient Broth 8gr

Distile su 1000 ml

Otoklavda (Nüve) 121°C'de 15 dk steril edildikten sonra kullanılıncaya kadar 4°C'de saklanmıştır.

3.1.7. Kullanılan Çözeltiler

3.1.7.1. Fizyolojik Tuzlu Su (FTS)

Sodyum klorür 0,89 gr

Distile su 1000 ml

Fizyolojik tuzlu su çözeltisi sodyum klorür distile su içerisinde çözülerek kullanılmıştır. Çözeltiden 2 ml alınarak cam tüplere eşit şekilde paylaştırılmış ve otoklavda 1,1 atmosfer basınç ve 121 °C'de 15 dakika sterilize edilip kullanılmıştır.

3.1.8. Kullanılan Antibiyotik Diskleri

Chloramphenicol (C) 30 µg

Gentamicin (CN) 10 µg

Vancomycin (VA) 30 µg

Tetracycline (TE) 30 µg

Imipenem (IPM) 10 µg

Sulbactam–Ampicillin (SAM) (10/10 µg)

Clindamycin (DA) 2 µg

Teicoplanin (TEC) 30 µg

3.1.9. Diskler

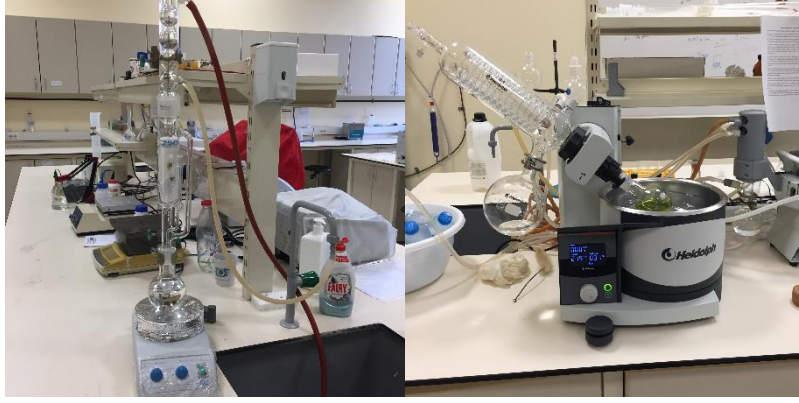
Bitkilerden hazırlanmış özütleri emdirmek için kurutma kağıtlarından her biri 6mm olacak şekilde zımba yardımı kesilmiş ve petri kaplarına yerleştirilip otoklavda 121 °C’de 15 dakika sterilize edililerek kullanılmıştır.

3.2. Metod

3.2.1. Soxhlet Cihazı İle Bitki Özütlerinin Elde Edilmesi

Araştırmamızda ülkemizdeki bitki çeşitleri arasında çok sık rastlanan defneyaprağı, iğde, maydanoz, kekik, biberiye, adaçayı, tarçın, çörekotu, nane ve ıhlamur bitkileri laboratuara getirilerek uygun koşullarda (oda sıcaklığında) kurumaya bırakılmıştır. Kurutulan bitkilerin mikroptan arındırılmış koşullarda bir parçalayıcı alet (blender) aracılığıyla ufak parçalar haline getirilerek, Soxhlet cihazında (isolab soxhlet NS 29/32 30 mL) özüt elde etmek için 10g’lık paketler halinde hazır hale getirilmiştir (Şekil 3.2.). Hazır haldeki bitkiler 200ml çözücü ile 8 saat boyunca muamele edilmiş ve bu işlemde çözücü olarak ethanol ve n-hekzan kullanılmıştır. Elde edilen özütler rotary evaporatörde (Heidolph Hei-Vap Advantage ML/G1) (Şekil 3.2.) bitki özütü kalana dek buharlaştırma işlemine tabi tutulmuştur. Buharlaştırma aşamasında kullanılan çözücülerin kaynama noktasına göre

cihaz ayarlanmıştır. Sonuçta hazırlanan özütler kullanılacağı zamana kadar +4 °C de muhafaza edilmiştir.

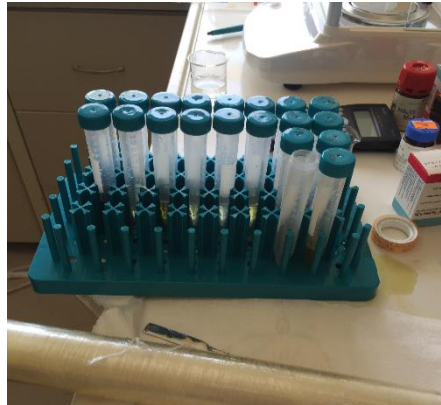


Şekil 3.2: Soxhlet Ekstrasyonu ve Rotary Evaporatörde Bitki Özütlerinin Elde Edilmesi.

Yoğunlaştırılmış özütlerden 5 mgr tartılarak 5 mL % 30' luk DMSO (dimetil sulfoksit asit) içerisinde çözülerek 5mg/ml'lik stok çözelti elde edilmiş, daha sonra elde edilen çözelti seyreltilerek 2.5 mg/ml lik ikinci bir derişim hazırlanmış ve bu stok çözeltiler kullanılıncaya kadar -20°C' de buzdolabında saklanmıştır.

3.2.2. Bitki Uçucu Yağlarının Farklı Derişimlerde Hazırlanması

Elde ettiğimiz bitki uçucu yağlarından 5mg tartıldıktan sonra 5 ml'lik DMSO ilave edilerek sıcak su banyosunda çözünmesini sağlanmış, tam çözünme sağlandıktan sonra hazırladığımız 5mg/ml'lik derişimden seyrelterek 2,5 mg/ml'lik ikinci derişim elde edilmiştir.



Şekil 3.3: Bitki Özütlerinin Farklı Derişimlerde Hazırlanması.

3.2.3. Özütlerin Antibiyotik Disklerinin Hazırlanması

Yoğunlaştırılmış özütlerden 0.5 gr tartılarak 5 mL %30'luk DMSO içerisinde çözülerek stok çözelti elde edilmiştir. Ardından seyreltilen özütler mikro pipet yardımı ile 6 mm çapındaki boş steril Whatman kurutma kağıtlarının delgeç yardımı ile kesilmesi sonucu oluşturulan disklerle emdirilmiştir (Wayne, 2011).

3.2.4. Besiyerlerinin Hazırlanması ve Saklanması

Besiyerleri, üretici firmanın belirlediği kurallara uyularak hazırlanmıştır. Otoklavdan çıkarılan katı besiyerleri daha önce pastör fırınında 240 °C de 1,5 saat kadar steril edilen petri kutularına steril şartlarda dökülmüştür. Hazır hale getirilen besiyerlerinin soğuması beklendikten sonra 37 °C'lik etüv de bir gün kadar bekletilerek kontaminasyona uğrayıp uğramadığının denetimi yapılmıştır. Temiz olan besiyerleri deneyimizde kullanılmak için buzdolabında saklanmıştır.

3.2.5. Antimikrobiyal Aktivite Tayini

3.2.5.1. Mikroorganizma Kültürlerinin Hazırlanması

Antimikrobiyal aktivite tespit etmede kullanılacak bakteri suşları Tryptic Soy Broth (TSB) sıvı besiyerine ekilerek besiyeri ortamında 37 °C'de 24 saat inkübe edilerek aktifleştirilmiştir. Şekil 3.4. de gösterildiği gibi sıvı kültürde üretilen bakteriler Tryptic Soy Agar katı besiyerine ekilerek çalışmalarda kullanılmak üzere stok kültürler hazırlanmış ve +4 °C'de saklanmıştır.

3.2.5.2. Agar Kuyu Yöntemiyle Antimikrobiyal Aktivitenin Belirlenmesi

Antimikrobiyal etkinliği agar kuyucuk difüzyon tekniği ile tespit edilmiştir (Kalemba ve Kunicka, 2003). Petri kaplarına 20'şer mL 121 °C'de 15 dk otoklavda dezenfekte duruma getirilen TSA dökülmüştür. Agarın katılaşması beklenip ardından 0,5 McFarland bulanıklık standartı ile belirlenmiş 100 µL bakteri süspansiyonunun petri kaplarına ekimi yayma plak tekniğiyle gerçekleştirilmiştir. Besiyerleri oda sıcaklığında kısa bir süre kurumaya bırakılmıştır. Akabinde besiyerlerine 6 mm çapındaki steril mikro pipet ucu yardımıyla 10'er tane kuyucuk açılmış ve bu kuyucukların hem diğerlerine hem de petri kutusunun kenarlarına eş mesafede olmasına dikkat edilmiştir. Kuyulara incelenecek

yağlar (Biberiye, nane, iğde, kekik, ıhlamur, çörekotu, maydanoz, adaçayı, defne, tarçın) farklı yoğunlukta eklenmiş ve besiyerleri 35 °C 'de 24 saat süreyle inkübe edilmiştir.

Çalışmamız her mikroorganizma ve yağ için iki kez yapılmıştır. Kaynak madde olarak 5 mg/mL yoğunluğun da stok çözeltiden ve 2,5 mg/ml seyreltilmiş olan çözeltiden kullanılmıştır. 37 °C'de 24 saat inkübasyon neticesinde uçucu yağların inhibisyon zonu ölçülmüştür. 12.0 mm ve daha dar olan çaptaki uçucu yağın mevcut bakteri üzerinde yeterince antibakteriyel etkiye sahip olamadığı (-), 12 ve 21 mm sınırlarındaki çaplar orta seviyede aktif (+), 21mm'den ve 30 mm'ye kadar olan çaplar aktif (++) , 30 mm ve üstü çaplar ise çok aktif (+++) olduğu şeklinde nitelendirilmiştir (Djabou ve ark., 2013).



Şekil 3.4: Agar Kuyu Yöntemi İle Antimikrobiyel Aktivite Tayini.

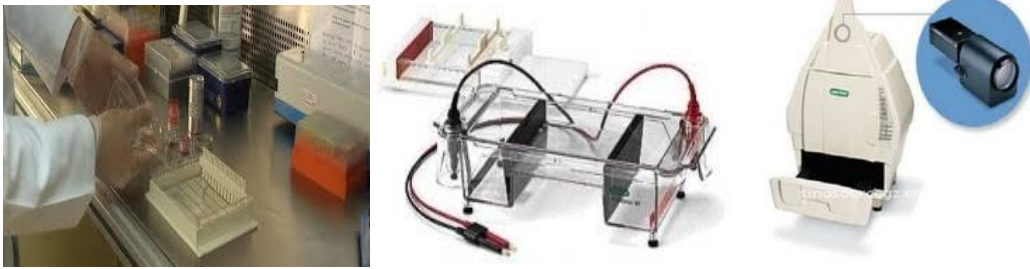
3.2.5.3. Disk Difüzyon Yöntemiyle Antimikrobiyal Aktivitenin Belirlenmesi

Antimikrobiyal aktivitenin tespit edilmesinde ayrıca disk difüzyon tekniği da kullanılmıştır. Bu yöntemde; bakterilerin TSB sıvı besiyerine ekilen ve bir gece etüvde

üreyen bakteri kültürlerinden 100 µl alınarak TSA katı besiyeri içeren petrilere yayma ekim yapılmıştır (Sandri ve diğ. 2007). Önceden hazırlanmış 5 mg/ml konsantrasyonlardaki bitki özütlerinden 10 ar µl steril boş disklere (6 mm) emdirilip petrilere yerleştirilmiştir. Petriler 37 °C'de 24 saatlik inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan sonra petrillerdeki disklerin etrafında oluşan zonların çapı mm cinsinden ölçülmüştür.

3.2.6. Bitki Ekstratlarında DNA Cleavage Aktivitesinin Tespiti

Bu çalışma Amasya Üniversitesi Eğitim Fakültesi Laboratuvarı tarafından yapılmıştır. Elde edilen ekstraktlar pBR322 DNA yarıma çalışması agaroz jel elektroforezi ile yapılmıştır. Ekstraktlar 2mg/mL konsantrasyonda DMSO'da çözülerek hazırlanmıştır. pBR322 plazmid DNA (0.25 ug / mL), her bir ekstrakt ile muamele edilmiş ve karışım 4 saat boyunca 37 °C'de inkübasyona bırakılmıştır. Sadece su (H₂O kontrol) ve 1 µl DMSO (DMSO kontrol) ile muamele edilen pBR322 plazmid DNA kontrol olarak kullanılmıştır. Hazırlanan inkübasyon örnekleri 1% agaroz jele yüklendikten sonra, elektroforez'de 120 V'da 80 dk TAE buffer'da (40 mM Tris/asetate and 1 mM EDTA, pH 8.0) yürütülmüş ve elde edilen jeller EtBr'de (Ethidium Bromür) (1 mg/mL) boyama işleminden sonra UV illuminatör'de incelenmiştir.



Şekil 3.5: Agoroz jel tankı (solda), agoroz jel ünitesi (ortada), jel görüntüleme sistemi (sağda).

3.2.7. Minimal İnhibisyon Konsantrasyon (MİK) Değeri Tespiti

Bu çalışma Amasya Üniversitesi Eğitim Fakültesi Laboratuvarı tarafından yapılmıştır. Bakterilerin üretilmesi ve antibiyotik MİK (Minimal İnhibisyon Konsantrasyonu) değerlerinin belirlenmesinde kullanılan besiyeri Nutrient Broth sıvı besiyeridir. Besiyeri uygun koşullarda hazırlandıktan sonra stok kültürlerden öze ile alınan bakteri örneği

nutrient broth besiyerine aktarılmıştır. Sıvı besiyerinde (Nutrient Broth- NB) sulandırma yöntemiyle yapılan çalışmada, kültürler 5ml NB'da 37 °C'de 18 saat, 175 rpm sallamalı inkübatörlerde büyütülmüştür. Büyütülen bakteri ve maya hücreleri 1 ml'de yaklaşık 10^6 hücre olacak şekilde 50 ml NB'a, 0.5 McFarland turbidity standartlarına uygun olacak şekilde ilave edilmiştir. Mikroorganizma bulunan NB'dan test tüplerine 1'er ml ilave edilerek, üzerine uygun konsantrasyonlarda bitki ekstraktları eklenmiş ve tüm tüplerde seri sulandırma yapılmıştır. Seri sulandırma yapılan tüpler 37 °C'de 24 saat inkübatörde inkübasyona bırakılarak, bakteri büyümesinin olmadığı son tüp MİK değeri olarak tespit edilmiştir. Yapılan çalışmada elde edilen MIC değerleri µg/ml olarak gösterilmiştir.

3.2.8. Gaz Kromatografi-Kütle Spektrometresi (GC-MS) Analizi

Bu çalışmada elde edilen uçucu yağların analizleri Aksaray Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Uygulama ve Araştırma Merkezinde mevcut olan Gaz Kromatografisi Kütle Spektrometresi (GC/MS) sistemi kullanılarak yapılmıştır. Adaçayı, biberiye, kekik, nane ve tarçın bitkilerinin özütlerinden bir miktar alınarak metanolde seyreltilmiş, aynı bitkilerin endüstriyel olarak üretilen yağlarından kekik yağı metanolde diğer yağlar ise n-hekzanda seyreltilip, numuneler kalitatif analizleri gerçekleştirilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Farklı Bitki Uçucu Yağlarının Test Suşları Üzerine İnhibisyon Etkisinin Değerlendirilmesi.

Yapılan çalışmada 10 farklı uçucu yağın (kekik, nane, defneyaprağı, maydanoz, ığde, ıhlamur, biberiye, adaçayı, çörekotu ve tarçın), farklı konsantrasyonlarının belirtilen bakteriler üzerine etkileri agar kuyucuk difüzyon yöntemi ve disk difüzyon yöntemi ile belirlenmiştir. Bitki uçucu yağlarına karşı elde edilen inhibisyon zonlarına ait bulgular aşağıdaki çizelgelerde gösterilmiştir. *Enterococcus faecalis* ATCC 29212'in gelişimi üzerine uçucu yağların etkisi Tablo 4.1. de gösterilmiştir.

Tablo 4.1: *Enterococcus faecalis* ATCC 29212'in Gelişimi Üzerine Uçucu Yağların Etkisi.

Yağ Adı	İnhibasyon Zonu (mm)		
	Agar Kuyu Yöntemi		Disk Difüzyon Yöntemi
Miktar (mg/ml)	5	2,5	-
İğde	15	14	EG
Maydanoz	12	10	EG
Biberiye	16	12	EG
İhlamur	10	9	EG
Çörekotu	11	11	EG
Adaçayı	19	16	8
Kekik	14	13	EG
Nane	14	12	8
Defneyaprağı	12	12	EG
Tarçın	12	12	EG

“EG: Etki görülmedi”

Çalışmamızda 2,5-5 mg/ml olarak hazırlanan iki ayrı derişimdeki uçucu yağ miktarlarında maydanoz, ıhlamur ve çörekotu uçucu yağları *E. faecalis* ATCC 29212 suşunun gelişimi üzerine yeterli etki göstermezken, ığde, biberiye, adaçayı, kekik, nane, defneyaprağı ve tarçın esansiyel yağları orta derecede antibakteriyel etki göstermiştir. Farklı derişimde hazırlanan uçucu yağlarda yüksek derişime sahip olan daha geniş inhibasyon zonu oluştururken, düşük derişime sahip olan yağ yüksek derişime oranla daha dar bir zon çapı

oluşturmuştur. Ancak defneyaprağı ve tarçın uçucu yağlarının her iki derişimide *E. faecalis* ATCC 29212 suşunun gelişimi üzerinde bir fark yaratmayarak aynı inhibisyon zon çapı oluşturmuştur. Adaçayı uçucu yağı *E. faecalis* ATCC 29212 suşuna karşı diğer yağlara göre en yüksek antimikrobiyal aktiviteyi göstermiş, en geniş inhibisyon zonlarını oluşturmuştur.

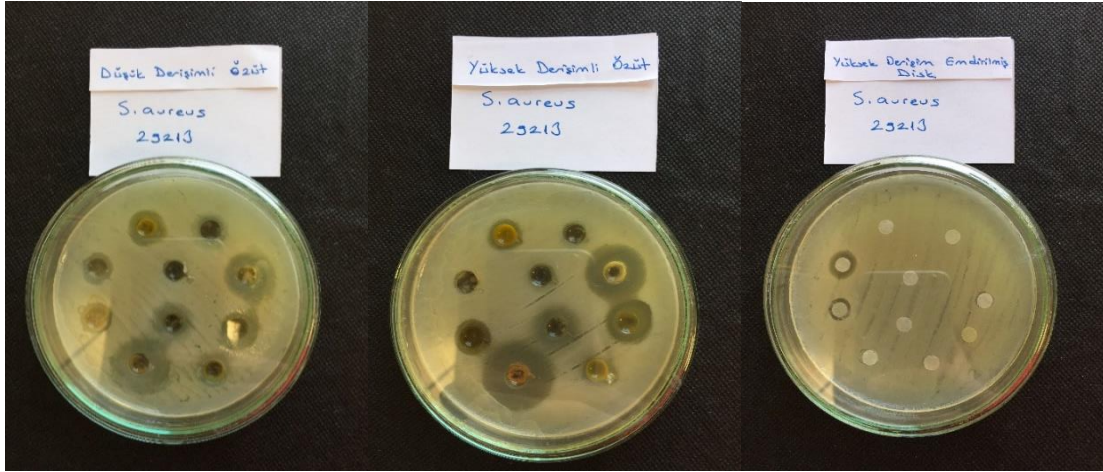
Ayrıca steril disklerle emdirilmiş uçucu yağlardan, ığde, maydanoz, biberiye, ıhlamur, çörekotu, kekik, defneyaprağı ve tarçında hiç etki göstermezken; adaçayı ve nane uçucu yağında yeterli etkiye sahip olmasa da inhibisyon zonu oluşturmuştur.

Staphylococcus aureus ATCC 29213'un gelişimi üzerine uçucu yağların etkisi Tablo 4.2. ve Şekil 4.1'de gösterilmiştir.

Tablo 4.2: *Staphylococcus aureus* ATCC 29213'un Gelişimi Üzerine Uçucu Yağların Etkisi.

Yağ Adı	İnhibasyon Zonu (mm)		
	Agar Kuyu Yöntemi		Disk Difüzyon Yöntemi
Miktar (mg/ml)	5	2,5	-
İğde	EG	9	EG
Maydanoz	11	14	EG
Biberiye	20	18	10
İhlamur	EG	EG	EG
Çörekotu	EG	12	7
Adaçayı	16	12	9
Kekik	15	14	EG
Nane	12	11	EG
Defneyaprağı	10	10	EG
Tarçın	24	20	EG

"EG: Etki görülmedi"



Şekil 4.1: *Staphylococcus aureus* ATCC 29213'un Agar Kuyucuk ve Disk Difüzyon Yöntemi ile Antibakteriyel Aktivitesinin Belirlenmesi.

Yaptığımız çalışmamızda 5 mg/ml olarak hazırlanan uçucu yağ miktarlarında iğde, ıhlamur ve çörekotu uçucu yağları ve 2,5 mg/ml ıhlamur uçucu yağı *S. aureus* ATCC 29213 suşunun gelişimi üzerine herhangi bir etki göstermezken, iğde ve çörekotu uçucu yağının 2,5 mg/ml'lik derişimi de yeterli miktarda bir etki gösterememiştir. 2,5-5 mg/ml olarak hazırlanan iki ayrı yağ derişiminde maydanoz, nane ve defneyaprağı yeterli etki gösteremezken; biberiye, adaçayı, kekik, tarçın ve maynanoz uçucu yağının 2,5 mg/ml derişimi antibakteriyel etki göstermiştir. Biberiye, adaçayı, kekik uçucu yağları orta derece aktiflik gösterirken, tarçın uçucu yağı diğer yağlara göre en geniş inhibisyon zonu oluşurmuş ve yüksek antibakteriyel etki göstermiştir.

Diğer taraftan steril disklere emdirilmiş uçucu yağlardan, biberiye, çörekotu ve adaçayı haricindeki uçucu yağlar hiç bir etki göstermezken; diğer uçucu yağlar yeterli etkiye sahip olmasa da inhibasyon zonu oluşturmuştur.

Enterobacter aerogenes ATCC 13048'in gelişimi üzerine uçucu yağların etkisi Tablo 4.3. de gösterilmiştir.

Tablo 4.3: *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048'nın Gelişimi Üzerine Uçucu Yağların Etkisi.

Yağ Adı	İnhibasyon Zonu (mm)		
	Agar Kuyu Yöntemi		Disk Difüzyon Yöntemi
Miktar (mg/ml)	5	2,5	-
İğde	12	10	8
Maydanoz	17	12	8
Biberiye	15	12	8
İhlamur	19	11	EG
Çörekotu	15	13	7
Adaçayı	19	13	8
Kekik	12	12	EG
Nane	14	12	EG
Defneyaprağı	13	10	9
Tarçın	15	14	8

“EG: Etki görülmedi”

Bu çalışmamızda 2,5 mg/ml ve 5 mg/ml olarak hazırlanan iki ayrı derişim uçucu yağ miktarlarında iğde ve kekik uçucu yağları *Enterobacter aerogenes*'nin gelişimi üzerine yeterli etki göstermezken, maydanoz, biberiye, ihlamur, çörekotu, adaçayı, nane ve defneyaprağı uçucu yağlarında orta dereceli antibakteriyel etki göstermiştir. İhlamur ve adaçayı uçucu yağının 5 mg/ml lik derişimi *Enterobacter aerogenes*'nin gelişimi üzerinde diğer yağlara göre daha yüksek antibakteriyel etki göstererek en geniş inhibisyon zonu oluşturmuştur.

Öte yandan steril disklere emdirilmiş uçucu yağlardan, ihlamur, kekik ve nane uçucu yağları hiç bir etki göstermezken; diğer uçucu yağlar yeterli etkiye sahip olmasa da inhibisyon zonu oluşturmuştur.

Bacillus subtilis ATCC 23857'in gelişimi üzerine uçucu yağların etkisi Tablo 4.4. de gösterilmiştir.

Tablo 4.4: *Bacillus subtilis* ATCC 23857'in Gelişimi Üzerine Uçucu Yağların Etkisi.

Yağ Adı	İnhibasyon Zonu (mm)		
	Agar Kuyu Yöntemi		Disk Difüzyon Yöntemi
Miktar (mg/ml)	5	2,5	-
İğde	13	13	EG
Maydanoz	19	18	EG
Biberiye	25	18	8
İhlamur	18	13	EG
Çörekotu	14	12	EG
Adaçayı	22	20	EG
Kekik	18	14	EG
Nane	20	15	EG
Defneyaprağı	16	16	EG
Tarçın	22	20	7

“EG: Etki görülmedi”

Çalışmamızda 2,5 mg/ml ve 5 mg/ml olarak hazırlanan iki ayrı derişim uçucu yağ miktarlarında iğde, maydanoz, ıhlamur, çörekotu, kekik, nane ve defneyaprağı uçucu yağları *B. subtilis*'in gelişimi üzerine orta derecede antibakteriyel etki gösterirken; biberiye, adaçayı, ve tarçın uçucu yağlarında yüksek antibakteriyel etki göstermiştir. En yüksek antibakteriyel etkiye biberiye uçucu yağının 5 mg/ml lik derişimi göstermiş ve en geniş inhibisyon zonu oluşturmuştur.

Ayrıca steril disklere emdirilmiş uçucu yağlardan, biberiye ve tarçın uçucu yağları dışında diğer uçucu yağlar hiç bir etki göstermezken; biberiye ve tarçın uçucu yağları yeterli etkiye sahip olmasa da inhibisyon zonu oluşturmuştur.

Bacillus cereus ATCC 14579'un gelişimi üzerine uçucu yağların etkisi Tablo 4.5. de gösterilmiştir.

Tablo 4.5: *Bacillus cereus* ATCC 14579'un Gelişimi Üzerine Uçucu Yağların Etkisi.

Yağ Adı	İnhibasyon Zonu (mm)		
	Agar Kuyu Yöntemi		Disk Difüzyon Yöntemi
Miktar (mg/ml)	5	2,5	-
İğde	10	16	EG
Maydanoz	14	12	EG
Biberiye	24	23	12
İhlamur	13	12	EG
Çörekotu	11	10	7
Adaçayı	18	18	EG
Kekik	12	12	EG
Nane	13	13	EG
Defneyaprağı	14	12	EG
Tarçın	20	19	7

"EG: Etki görülmedi"

Yaptığımız çalışmada 2,5 mg/ml ve 5 mg/ml olarak hazırlanan iki ayrı derişim uçucu yağ miktarlarında iğde, çörekotu uçucu yağları *B. cereus*'un gelişimi üzerine yeterli etki göstermezken, maydanoz, ihlamur, adaçayı, kekik, nane, defneyaprağı ve tarçın uçucu yağları orta derecede antibakteriyel etki göstermiştir. Biberiye uçucu yağının *B. cereus*'un gelişimi üzerinde diğer yağlara kıyasla daha yüksek antibakteriyel etki göstermiş ve en geniş inhibisyon zonu oluşturmuştur.

Bununla birlikte steril disklere emdirilmiş uçucu yağlardan, çörekotu ve tarçın *B. cereus*'a karşı yeterli etki göstermezken, biberiye uçucu yağı orta derecede antibakteriyel etki göstermiştir. Diğer uçucu yağlar ise *B. cereus*'a karşı herhangi bir etki göstermemiştir.

Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853'nın gelişimi üzerine uçucu yağların etkisi Tablo 4.6. da gösterilmiştir.

Tablo 4.6: *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853’nın Gelişimi Üzerine Uçucu Yağların Etkisi.

Yağ Adı	İnhibasyon Zonu (mm)		
	Agar Kuyu Yöntemi		Disk Difüzyon Yöntemi
Miktar (mg/ml)	5	2,5	-
İğde	11	8	EG
Maydanoz	21	20	EG
Biberiye	19	18	10
İhlamur	12	12	EG
Çörekotu	19	17	EG
Adaçayı	16	14	10
Kekik	12	11	EG
Nane	14	13	EG
Defneyaprağı	14	14	EG
Tarçın	16	15	8

“EG: Etki görülmedi”

Bu çalışmamızda 2,5 mg/ml ve 5 mg/ml olarak hazırlanan iki ayrı derişim uçucu yağ miktarlarında iğde, uçucu yağında *P. aeruginosa* gelişimi üzerine herhangi bir etki göstermezken, maydanoz, biberiye, ıhlamur, çörekotu, adaçayı, kekik, nane, tarçın ve defneyaprağı uçucu yağlarında orta seviyede antibakteriyel etki göstermiştir. Maydanoz uçucu yağı *P. aeruginosa*’ya karşı diğer yağlara göre en yüksek antibakteriyel etki göstermiş ve en geniş inhibisyon zonu oluşturmuştur.

Ayrıca steril disklere emdirilmiş uçucu yağlardan biberiye, adaçayı ve tarçın uçucu yağları dışındaki diğer yağlar herhangi bir antibakteriyel etki göstermezken; bu yağlar yeterli etkiye sahip olmasa da inhibisyon zonu oluşturmuştur.

Escherichia coli ATCC 25922’nin gelişimi üzerine uçucu yağların etkisi Tablo 4.7. de gösterilmiştir.

Tablo 4.7: *Escherichia coli* ATCC 25922’nin Gelişimi Üzerine Uçucu Yağların Etkisi.

Yağ Adı	İnhibasyon Zonu (mm)		
	Agar Kuyu Yöntemi		Disk Difüzyon Yöntemi
Miktar (mg/ml)	5	2,5	-
İğde	11	EG	EG
Maydanoz	EG	EG	7
Biberiye	16	14	7
İhlamur	EG	12	EG
Çörekotu	15	13	9
Adaçayı	16	15	8
Kekik	EG	EG	EG
Nane	13	13	10
Defneyaprağı	EG	EG	EG
Tarçın	15	13	EG

“EG: Etki görülmedi”

Çalışmamızda 2,5 mg/ml ve 5 mg/ml olarak hazırlanan iki ayrı derişim uçucu yağ miktarlarında maydanoz, kekik ve defneyaprağı uçucu yağları ve 2,5 mg/ml’lik iğde uçucu yağı *E. coli*’nin gelişimi üzerine herhangi bir etki göstermezken, biberiye, çörekotu, adaçayı, nane ve tarçın uçucu yağlarında antibakteriyel etki göstermiştir. Biberiye ve adaçayı uçucu yağı *E. coli* ‘ye karşı diğer yağlara kıyasla daha yüksek antibakteriyel aktivite göstermiş ve en geniş inhibisyon zonlarını oluşturmuştur.

Steril disklere emdirilmiş uçucu yağlardan iğde, ihlamur, kekik, defneyaprağı ve tarçın uçucu yağları herhangi bir antibakteriyel etki göstermezken; diğer uçucu yağlar yeterli etkiye sahip olmasa da inhibisyon zonu oluşturmuştur.

Aeromonas hydrophila ATCC 7966’nın gelişimi üzerine uçucu yağların etkisi Tablo 4.8. de gösterilmiştir.

Tablo 4.8: *Aeromonas hydrophila* ATCC 7966'nın Gelişimi Üzerine Uçucu Yağların Etkisi.

Yağ Adı	İnhibasyon Zonu (mm)		
	Agar Kuyu Yöntemi		Disk Difüzyon Yöntemi
Miktar (mg/ml)	5	2,5	-
İğde	11	15	EG
Maydanoz	14	13	8
Biberiye	14	14	EG
İhlamur	13	12	EG
Çörekotu	11	10	EG
Adaçayı	16	14	EG
Kekik	15	14	EG
Nane	12	12	7
Defneyaprağı	9	14	EG
Tarçın	16	14	EG

“EG: Etki görülmedi”

İğde ve defneyaprağı uçucu yağlarının 2,5 mg/ml’lik seyreltilmiş derişimi 5 mg/ml olarak hazırlanan yüksek konsantrasyonda ki derişimine göre *A. hydrophila*’ya karşı daha yüksek antibakteriyel etki göstermiş ve daha geniş zon çapı oluşturmuştur. Çörekotu uçucu yağı *A. hydrophila*’nın gelişimi üzerinde yeterli etki gösteremezken, maydanoz, biberiye, ıhlamur, adaçayı, kekik, nane ve tarçın uçucu yağları *A. hydrophila*’ya karşı antibakteriyel etki göstermiştir. Tarçın ve adaçayı uçucu yağı *A. hydrophila*’ya karşı diğer yağlara kıyasla daha yüksek antibakteriyel aktivite göstermiş ve en geniş inhibisyon zonlarını oluşturmuştur.

Steril disklere emdirilmiş uçucu yağlardan maydanoz ve nane uçucu yağları dışındaki diğer yağlar herhangi bir antibakteriyel etki göstermezken; maydanoz ve nane uçucu yağlar yeterli etkiye sahip olmasa da inhibisyon zonu oluşturmuştur.

Shigella dysenteriae ATCC 11835’in gelişimi üzerine uçucu yağların etkisi Tablo 4.9. da gösterilmiştir.

Tablo 4.9: *Shigella dysenteriae* ATCC 11835’in Gelişimi Üzerine Uçucu Yağların Etkisi.

Yağ Adı	İnhibasyon Zonu (mm)		
	Agar Kuyu Yöntemi		Disk Difüzyon Yöntemi
Miktar (mg/ml)	5	2,5	-
İğde	12	12	EG
Maydanoz	18	14	8
Biberiye	19	16	EG
İhlamur	14	13	EG
Çörekotu	14	13	8
Adaçayı	19	15	10
Kekik	14	12	EG
Nane	15	12	7
Defneyaprağı	12	12	EG
Tarçın	21	17	EG

“EG: Etki görülmedi”

Çalışmamızda 2,5 mg/ml ve 5 mg/ml olarak hazırlanan iki ayrı derişim uçucu yağ miktarlarında *S. dysenteriae* karşı bütün uçucu yağlar antibakteriyel etki göstermiştir. Bunlardan tarçın uçucu yağının diğer yağlara oranla *S. dysenteriae* karşı daha yüksek antibakteriyel etki gösterdiği ve daha geniş zon çapı oluşturduğu gözlenmiştir.

Diğer taraftan steril disklere emdirilmiş uçucu yağlardan iğde, biberiye, ıhlamur, kekik, defneyaprağı ve tarçın uçucu yağları *S. dysenteriae* karşı herhangi bir antibakteriyel etki göstermezken; maydanoz, çörekotu adaçayı ve nane uçucu yağları yeterli etkiye sahip olmasa da inhibisyon zonu oluşturmuştur.

Listeria monocytogenes ATCC 19111’in gelişimi üzerine uçucu yağların etkisi Tablo 4.10. da gösterilmiştir.

Tablo 4.10: *Listeria monocytogenes* ATCC 19111’in Gelişimi Üzerine Uçucu Yağların Etkisi.

Yağ Adı	İnhibasyon Zonu (mm)		
	Agar Kuyu Yöntemi		Disk Difüzyon Yöntemi
Miktar (mg/ml)	5	2,5	-
İğde	13	13	EG
Maydanoz	12	11	7
Biberiye	13	12	EG
İhlamur	12	11	EG
Çörekotu	14	12	EG
Adaçayı	14	12	EG
Kekik	10	10	EG
Nane	12	10	7
Defneyaprağı	13	11	EG
Tarçın	14	13	7

“EG: Etki görülmedi”

Çalışmamızda 2,5 mg/ml ve 5 mg/ml olarak hazırlanan iki ayrı derişim kekik ve uçucu yağı ve 2,5 mg/ml’lik maydanoz, ıhlamur, nane ve defneyaprağı uçucu yağları *L. monocytogenes*’in gelişimi üzerine yeterli bir etki göstermezken, iğde, biberiye, çörekotu, adaçayı, tarçın ve 5 mg/ml’lik hazırlanan maydanoz, ıhlamur, nane ve defneyaprağı uçucu yağlarında antibakteriyel etki göstermiştir. Çörekotu, tarçın ve adaçayı uçucu yağı *L. monocytogenes*’e karşı diğer yağlara kıyasla daha yüksek antibakteriyel aktivite göstermiş ve en geniş inhibisyon zonlarını oluşturmuştur.

Öte yandan steril disklere emdirilmiş uçucu yağlardan maydanoz, nane ve tarçın uçucu yağları dışında kalan uçucu yağlar herhangi bir antibakteriyel etki göstermezken; bu uçucu yağlar yeterli etkiye sahip olmasa da inhibisyon zonu oluşturmuştur.

VRE *Enterococcus faecium*’un gelişimi üzerine uçucu yağların etkisi Tablo 4.11. de gösterilmiştir.

Tablo 4.11: VRE *Enterococcus faecium*'un Gelişimi Üzerine Uçucu Yağların Etkisi.

Yağ Adı	İnhibasyon Zonu (mm)		
	Agar Kuyu Yöntemi		Disk Difüzyon Yöntemi
Miktar (mg/ml)	5	2,5	-
İğde	EG	9	EG
Maydanoz	11	10	7
Biberiye	17	12	EG
İhlamur	14	12	EG
Çörekotu	11	11	8
Adaçayı	17	14	10
Kekik	11	11	EG
Nane	19	16	7
Defneyaprağı	11	10	EG
Tarçın	12	10	EG

“EG: Etki görülmedi”

Bu çalışmamızda 2,5 mg/ml ve 5 mg/ml olarak hazırlanan iki ayrı derişim iğde, maydanoz, çörekotu, kekik, defneyaprağı ve tarçın uçucu yağları VRE *E. faecium* suşunun gelişimi üzerine yeterli bir etki göstermezken, biberiye, ihlamur, adaçayı ve nane uçucu yağları orta derecede antibakteriyel etki göstermiştir. Nane uçucu yağı VRE *E. faecium* ‘ye karşı diğer yağlara kıyasla daha yüksek antibakteriyel aktivite göstermiş ve en geniş inhibisyon zonlarını oluşturmuştur.

Steril disklere emdirilmiş uçucu yağlardan maydanoz, nane, çörekotu ve adaçayı uçucu yağları dışında kalan uçucu yağlar herhangi bir antibakteriyel etki göstermezken; bu uçucu yağlar yeterli etkiye sahip olmasa da inhibisyon zonu oluşturmuştur.

VRE 1’in gelişimi üzerine uçucu yağların etkisi Tablo 4.12. de gösterilmiştir.

Tablo 4.12: VRE 1'in Gelişimi Üzerine Uçucu Yağların Etkisi.

Yağ Adı	İnhibasyon Zonu (mm)		
	Agar Kuyu Yöntemi		Disk Difüzyon Yöntemi
Miktar (mg/ml)	5	2,5	-
İğde	18	14	EG
Maydanoz	11	EG	8
Biberiye	15	15	EG
İhlamur	11	10	EG
Çörekotu	11	11	7
Adaçayı	14	14	8
Kekik	12	12	9
Nane	14	12	9
Defneyaprağı	15	14	EG
Tarçın	12	11	EG

“EG: Etki görülmedi”

Çalışmamızda 2,5 mg/ml ve 5 mg/ml olarak hazırlanan iki ayrı derişim ihlamur, çörekotu ve 2,5 mg/ml’lik tarçın ve 5 mg/ml’lik maydanoz uçucu yağları VRE 1’nin gelişimi üzerine yeterli bir etki göstermezken; 2,5 mg/ml’lik maydanoz uçucu yağı VRE 1’e karşı herhangi bir etkide bulunmamıştır. İğde, biberiye, adaçayı, kekik, nane, defneyaprağı uçucu yağları ve tarçın uçucu yağının 5mg/ml’lik derişimi orta derecede antibakteriyel etki göstermiştir. İğde uçucu yağı VRE 1’e karşı diğer yağlara kıyasla daha yüksek antibakteriyel aktivite göstermiş ve en geniş inhibisyon zonlarını oluşturmuştur.

Ayrıca steril disklere emdirilmiş uçucu yağlardan maydanoz, çörekotu, adaçayı, kekik ve nane uçucu yağları dışında kalan uçucu yağlar herhangi bir antibakteriyel etki göstermezken; bu uçucu yağlar yeterli etkiye sahip olmasa da inhibisyon zonu oluşturmuştur.

VRE 2’nin gelişimi üzerine uçucu yağların etkisi Tablo 4.13. de gösterilmiştir.

Tablo 4.13: VRE 2'nin Gelişimi Üzerine Uçucu Yağların Etkisi.

Yağ Adı	İnhibasyon Zonu (mm)		
	Agar Kuyu Yöntemi		Disk Difüzyon Yöntemi
Miktar (mg/ml)	5	2,5	-
İğde	12	11	EG
Maydanoz	14	14	EG
Biberiye	20	15	EG
İhlamur	18	18	EG
Çörekotu	14	13	EG
Adaçayı	13	11	EG
Kekik	12	12	EG
Nane	12	12	EG
Defneyaprağı	15	14	EG
Tarçın	11	10	EG

“EG: Etki görülmedi”

Yaptığımız çalışmada 2,5 mg/ml ve 5 mg/ml olarak hazırlanan iki ayrı derişim tarçın, 2,5 mg/ml’lik iğde ve adaçayı uçucu yağları VRE 2’nin gelişimi üzerine yeterli bir etki göstermezken; maydanoz, biberiye, ihlamur, çörekotu, kekik, nane, defneyaprağı ayrıca 5mg/ml’lik iğde ve adaçayı uçucu yağları orta derecede antibakteriyel etki göstermiştir. Biberiye uçucu yağı VRE 2’ye karşı diğer yağlara kıyasla daha yüksek antibakteriyel aktivite göstermiş ve en geniş inhibisyon zonlarını oluşturmuştur.

Bununla birlikte steril disklere emdirilmiş uçucu yağlardan hiçbir VRE 2’ye karşı herhangi bir antibakteriyel etki göstermemiş ve inhibisyon zonu oluşturmamıştır.

VRE 3 *Enterococcus faecalis*’in gelişimi üzerine uçucu yağların etkisi Tablo 4.14. de gösterilmiştir.

Tablo 4.14: VRE 3 *Enterococcus faecalis*'in Gelişimi Üzerine Uçucu Yağların Etkisi.

Yağ Adı	İnhibasyon Zonu (mm)		
	Agar Kuyu Yöntemi		Disk Difüzyon Yöntemi
Miktar (mg/ml)	5	2,5	-
İğde	13	12	8
Maydanoz	11	10	EG
Biberiye	15	14	EG
İhlamur	14	14	EG
Çörekotu	14	12	9
Adaçayı	11	9	EG
Kekik	12	10	EG
Nane	10	10	EG
Defneyaprağı	11	10	EG
Tarçın	11	11	EG

“EG: Etki görülmedi”

Çalışmamızda 2,5 mg/ml ve 5 mg/ml olarak hazırlanan iki ayrı derişim maydanoz, adaçayı, nane, defneyaprağı ve tarçın ile 2,5 mg/ml’lik kekik uçucu yağları VRE 3 *E. faecalis*’in gelişimi üzerine yeterli bir etki göstermezken; iğde, biberiye, ihlamur, çörekotu ve 5mg/ml’lik kekik uçucu yağları orta derecede antibakteriyel etki göstermiştir. Biberiye uçucu yağı VRE 3 *E. faecalis* ‘e karşı diğer yağlara kıyasla daha yüksek antibakteriyel aktivite göstermiş ve en geniş inhibisyon zonlarını oluşturmuştur.

Diğer taraftan steril disklere emdirilmiş uçucu yağlardan iğde ve çörekotu uçucu yağları dışında kalan uçucu yağlar herhangi bir antibakteriyel etki göstermezken; bu uçucu yağlar yeterli etkiye sahip olmasa da inhibisyon zonu oluşturmuştur.

VRE ATCC 51299’nin gelişimi üzerine uçucu yağların etkisi Tablo 4.15. ve Şekil 4.2’de gösterilmiştir.

Tablo 4.15: VRE ATCC 51299'nin Gelişimi Üzerine Uçucu Yağların Etkisi.

Yağ Adı	İnhibasyon Zonu (mm)		
	Agar Kuyu Yöntemi		Disk Difüzyon Yöntemi
Miktar (mg/ml)	5	2,5	-
İğde	12	12	EG
Maydanoz	12	11	EG
Biberiye	14	14	EG
İhlamur	15	13	EG
Çörekotu	13	10	EG
Adaçayı	10	11	EG
Kekik	12	12	EG
Nane	13	12	10
Defneyaprağı	11	10	EG
Tarçın	11	12	EG

“EG: Etki görülmedi”



Şekil 4.2: VRE ATCC 51299'nin Agar Kuyucuk ve Disk Difüzyon Yöntemi ile Antimikrobiyel Aktivitesinin Belirlenmesi.

Bu çalışmamızda 2,5 mg/ml ve 5 mg/ml olarak hazırlanan iki ayrı derişim adaçayı, nane, defne, 5mg/ml’lik tarçın ile 2,5 mg/ml’lik maydanoz ve çörekotu uçucu yağları VRE ATCC 51299’in gelişimi üzerine yeterli bir etki göstermezken; iğde, biberiye, ıhlamur, kekik, nane, 5mg/ml’lik çörekotu ve 2,5mg/ml’lik tarçın uçucu yağları orta derecede antibakteriyel etki göstermiştir. İhlamur uçucu yağı VRE ATCC 51299’e karşı diğer yağlara kıyasla daha yüksek antibakteriyel aktivite göstermiş ve en geniş inhibisyon zonlarını oluşturmuştur.

Ayrıca steril disklerle emdirilmiş uçucu yağlardan nane uçucu yağları dışında kalan uçucu yağlar herhangi bir antibakteriyel etki göstermezken; nane uçucu yağlar yeterli etkiye sahip olmasa da inhibisyon zonu oluşturmuştur.

4.2. Bazı endüstriyel bitki uçucu yağlarının test suşları üzerine inhibisyon etkisinin değerlendirilmesi.

Gerçekleştirilen çalışmada 7 ayrı endüstriyel bitki uçucu yağın (kekik, nane, maydanoz, ığde, biberiye, adaçayı ve çörekotu) belirtilen bakteriler üzerine etkileri agar kuyucuk difüzyon yöntemi ile belirlenmiştir. Bitki uçucu yağlarına karşı elde edilen inhibisyon zonlarına ait bulgular aşağıdaki çizelgelerde gösterilmiştir.

Tablo 4.16: Test Suşlarının Gelişimi Üzerine Endüstriyel Bitki Yağlarının Etkisi.

Endüstriyel yağlar	Biberiye yağı	Adaçayı yağı	Maydanoz yağı	Kekik yağı	Nane yağı	İğde yağı	Çörekoto yağı
Mikroorganizmalar							
<i>E. fecalis</i> ATCC 29212	-	-	-	24	-	19	-
<i>E. coli</i> ATCC 25922	-	-	-	25	-	17	-
<i>P. mirabilis</i> ATCC 29906	-	-	-	25	-	15	-
<i>B. subtilis</i> ATCC 23857	-	-	-	24	-	19	-
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	-	-	-	40	-	24	-
<i>S. dysenteriae</i> ATCC 11835	-	-	-	26	-	18	-
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	-	-	-	42	-	25	14
<i>L. monocytogenes</i> ATCC 19111	-	-	-	22	-	15	-
<i>A. hydrophila</i> ATCC 7966	-	-	-	20	-	12	-
VRE ATCC 51299	-	-	-	17	-	19	11
VRE 1	-	-	-	30	-	15	-
VRE 2	-	-	-	16	-	16	-
VRE3 <i>E.fecalis</i>	-	-	-	18	-	15	-

Endüstriyel olarak üretilen ve piyasadan aldığımız kekik ve ığde uçucu yağlarının test suşlarımız üzerinde aktif olarak antimikrobiyal etki gösterdiği Tablo 4.16.'da gösterilmektedir. Kekik uçucu yağı *P. aeruginosa* ATCC 27853 ve *S. aureus* ATCC 29213'e karşı diğer yağlara kıyasla daha yüksek antibakteriyel aktivite göstermiş ve en geniş inhibisyon zonlarını oluşturmuştur.

Çörekotu yağı sadece *S. aureus* ATCC 29213 ve VRE ATCC 51299 üzerinde orta dereceli antibakteriyel etki gösterirken diğer endüstriyel yağlar antibakteriyel etki göstermemiştir ve inhibisyon zonu oluşturmamıştır.

4.3. Mikroorganizmaların Antibiyotik Duyarlılık Testleri

İnvitro antimikrobiyal duyarlılık testleri “*Clinical and Laboratory Standards Institute*” (CLSI) tavsiyeleri istikametinde, Koyun kanlı agar besiyerinde Disk difüzyon (Kirby-Bauer yöntem) yöntemi ile gerçekleştirilmiş (Akgül, 2014) ve Çizelge 4.2.1 VRE izolatlarının antibiyogram sonuçları gösterilmiştir. Antibiyotik disklerinin VRE’ler üzerindeki etkisi Di: dirençli, Du: duyarlı olarak Tablo 4.17. üzerinde belirtilmiştir. Yarı hassas sonuçlar ise duyarlı (Du) olarak kabul edilmiştir.

Tablo 4.17: VRE İzolatları Antibiyogram Sonuçları.

İZOLATLAR	VRE ATCC 51299		VRE 1		VRE 2		VRE 3 <i>E. faecalis</i>		VRE <i>E. faecium</i>	
ANTİBİYOTİK DİSKLERİ	Zon Çapı (mm)	Etkisi	Zon Çapı (mm)	Etkisi	Zon Çapı (mm)	Etkisi	Zon Çapı (mm)	Etkisi	Zon Çapı (mm)	Etkisi
(CN) 10 µG	EG	Di	EG	Di	EG	Di	EG	Di	EG	Di
(TE) 30 µG	29	Du	9	Di	21	Du	EG	Di	22	Du
(VA) 30 µG	14	Du	EG	Di	EG	Di	11	Di	EG	Di
(IPM) 10 µG	30	Du	EG	Di	EG	Di	24	Du	EG	Di
SULBACTAM10µG (SAM)	13	Di	EG	Di	EG	Di	10	Di	EG	Di
(DA) 2 µG	EG	Di	EG	Di	EG	Di	EG	Di	EG	Di
(C)30µG	EG	Di	10	Di	19	Du	7	Di	14	Du
(TEC) 30 µG	14	Du	EG	Di	EG	Di	14	Du	EG	Di

“EG: Etki görülmedi”

“Di: Dirençli”

“Du: Duyarlı”

VRE ATCC 51299 izolatı deneylerde kullanılan 8 tane antibiyotik disklerinden 3 tanesine (%37,5) direnç göstermiştir, VRE 1 antibiyotik disklerinin tümüne direnç göstermiş (%100), VRE 2, VRE 3 *E. faecalis* ve VRE *E. faecium* izolatları, yapılan deneylerde

kullanılan 8 tane antibiyotik disklerinden 6 tanesine (%75) direnç göstermiştir (Çizelge 4.2.1).

4.4. Bitki Eksratlarının DNA Cleavage Aktivitesi

Bu çalışmada, farklı bitkilerden elde edilen özütlerin DNA'nın yapısında herhangi bir değişime sebep olup olmadığı araştırılmıştır. Şekil 4.3.'de 1 ve 2 numaralı örnekler kontrol olarak kullanılmıştır. Yapılan çalışma sonucunda bitkilerden elde edilen ekstraktların DNA üzerine etkileri incelenmiş fakat hiç bir bitki ekstraktının DNA yapısında herhangi bir bozulmaya sebep olmadığı, dolayısı ile plazmit DNA üzerinde herhangi bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir.



Şekil 4.3: Şerit 1: pBr322 DNA kontrol H₂O, Şerit 2: pBR322 kontrol DMSO, Şerit 3: İğde, Şerit 4: Tarçın, Şerit 5: Çörekotu, Şerit 6: Kekik, Şerit 7: Adaçayı, Şerit 8: Nane, Şerit 9: Ihlamur, Şerit 10: Biberiye, Şerit 11: Defne, Şerit 12: Maydanoz.

4.5. Minimal İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK) Değerleri

Antimikrobiyal çalışma Minimal İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK) metoduna göre yapılmıştır.

Kullanılan bitki ekstraktlarının stok solüsyonları DMSO'da hazırlanarak kullanılmıştır.

Tablo 4.18: Yabani Tip Mikroorganizmalara Karşı Komplekslerin Minimal Inhibitory Concentration (MIC) Değerleri (µg/ml).

	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. aerogenes</i>	<i>A. hydrophila</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. dysenteriae</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>B. cereus</i>
Defne	1875	937	3750	3750	3750	3750	3750	937	1875	937
Kekik	234	58.5	234	468	234	468	234	234	117	58.5
Çörekotu	1875	468	3750	1875	1875	3750	3750	1875	937	58.5
İhlamur	1875	937	1875	1875	937	3750	3750	3750	3750	3750
Maydonoz	937	468	1875	937	1875	3750	3750	4000	4000	4000
İğde	937	1875	1875	1875	937	3750	1875	468	1875	1875
Biberiye	3750	1875	1875	3750	468	1875	4000	4000	7500	3750
Tarçın	1875	937	1875	1875	3750	937	1875	468	937	468
Nane	1875	3750	3750	3750	3750	3750	3750	3750	3750	1875
Adaçayı	3750	937	3750	3750	3750	3750	3750	3750	3750	3750
DMSO	>5000	>5000	>5000	>5000	>5000	>5000	>5000	>5000	>5000	>5000

Bu çalışmada, 10 farklı bitki ekstraktının antimikrobiyal aktivitesi test edilmiştir. Tüm kompleksler DMSO'da çözülerek hazırlanmıştır. Kontrol olarak sadece DMSO kullanılmıştır. Kontrol örneklerinde MİC değerlerinin >5000 µg/ml olduğu belirlenmiştir. Bunun yanında ekstraktların MİC değerlerine bakıldığında ise bu değer 58.5-4000 µg/ml arasında değiştiği görülmüştür. Buradan da anlaşılabileceği gibi bakterilerin yaşamı üzerine bazı bitki ekstraktlarının etkisi oldukça fazla olmuştur.

Tablo 4.18.'de görüldüğü gibi, defne bitkisinden elde edilen ekstraktın *E. faecalis*, *B. subtilis* ve *B. cereus* (937 µg/ml) üzerinde orta derecede etkiye sahip olduğu, bunun yanında diğer mikroorganizmalar üzerinde önemli bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir. Kekik'ten elde edilen ekstrakt incelendiğinde ise, tüm mikroorganizmalar üzerinde önemli antimikrobiyal etkisinin olduğu görülmektedir. Kekiğin antimikrobiyal etkisine bakıldığında, MİK değerinin, *P. aeruginosa*, *E. aerogenes*, *E. coli*, *L. monocytogenes* ve *B. subtilis* için 234 µg/ml olduğu tespit edilmiştir. Bunun yanında, *E. faecalis* ve *B. cereus* için bu değer 58.5 µg/ml, *S. aureus* için 117 µg/ml ve *A. hydrophila* ve *S. dysenteriae* için 468 µg/ml olduğu belirlenmiştir. Çörekotundan elde edilen bitki ekstraktının sadece *E. faecalis* ve *B. cereus* üzerinde etkili olduğu (MİK değerleri *E. faecalis* için 468 µg/ml, *B. cereus* için 58.5 µg/ml), fakat bunun yanında diğer mikroorganizmalar üzerinde önemli

bir etkiye sahip olmadığı görülmektedir. Maydonozun sadece *E. faecalis* (468 µg/ml) üzerinde, İğdenin sadece *B. subtilis* (468 µg/ml) üzerinde, Biberiyenin sadece *E. coli* (468 µg/ml) üzerinde, Tarçın'ın ise *B. subtilis* ve *B. cereus* (468 µg/ml) üzerinde önemli etkilere sahip olduğu belirlenmesine rağmen, diğer mikroorganizmalar üzerinde önemli etkilerinin olmadığı yapılan bu çalışma belirlenmiştir.

4.6. Gaz Kromatografi-Kütle Spektroskopi (GC-MS) Analizi

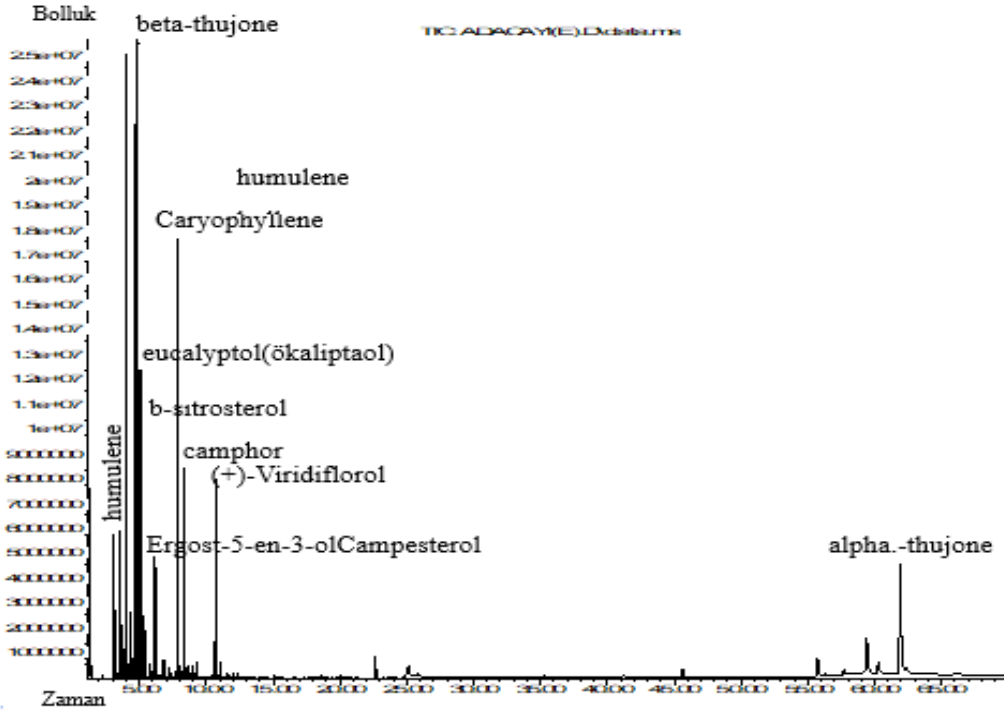
Bu çalışmada, 10 farklı bitki özütünden en çok antimikrobiyal etki gösteren 5 tanesi seçilerek analiz yapılmıştır. Bunlar adaçayı, biberiye, nane, kekik ve tarçın bitki özütleridir. Bu bitki özütleri analizimiz (Ö) olarak kodlanmış, endüstriyel olarak üretilenler ise (E) olarak kodlanmıştır.

Tablo 4.19: Endüstriyel Adaçayı Yağının GC-MS Analiz Sonuçları.

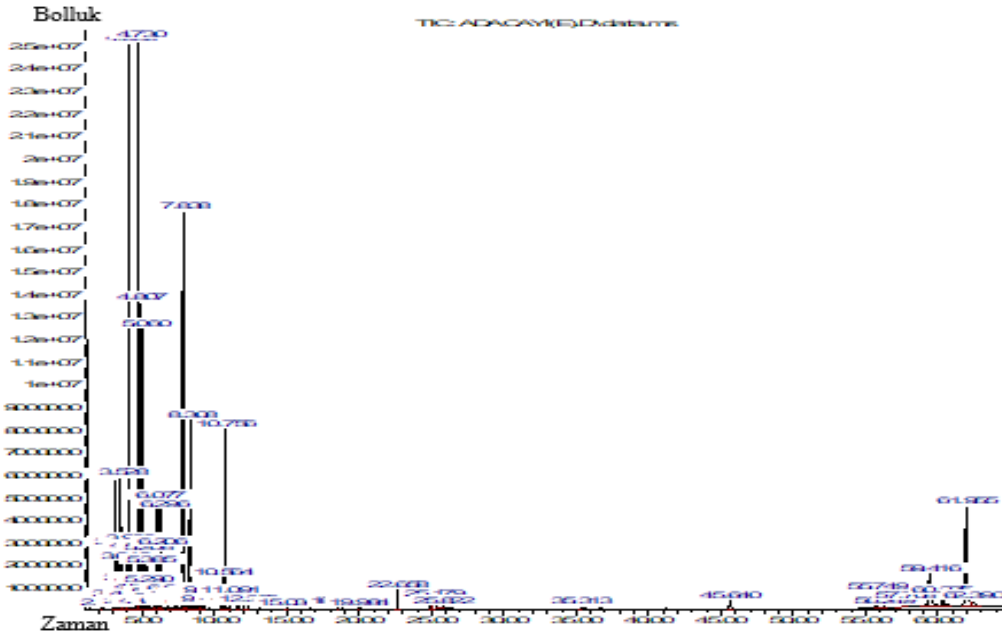
Adı	Yaygın Adı	Bileşim Oranı %
	Adaçayı(E)	
	DMSO	0,05
5-isopropyl-2-methyl bicyclo hex-2-ene	alpha-Thujene	0,28
(5S)-4,6,6-trimethylbicyclo[3.1.1]hept-3-ene	1S-.alpha.-Pinene	2,49
bicyclo[2.2.1]heptane	norbornane	1,19
bicyclo[3.1.1]heptane		2,4
1,6-octadiene, 7-methyl-3-methylene	β-myrcene	0,78
2-methyl-5-propan-2-ylcyclohexa-1,3-diene	1-phellandrene	0,1
1,3-cyclohexadiene	alpha.-terpine	0,43
1-methyl-2-(1-methylethyl)	o-cymene	1,19
1,3,3-trimethyl-2-oxabicyclo[2.2.2]octane	eucalyptol(ökaliptaol)	11,19
1-methyl-4-propan-2-ylcyclohexa-1,4-diene	gamma-terpinene	0,83
5-isopropyl-2-methylbicyclo[3.1.0]hex-3-en-2-ol	4-thujanol	0,26
1-methyl-4-(1-methylethylidene)-1-cyclohexene	alpha.-terpinolen	0,29
3,7-dimethylocta-1,6-dien-3-ol	hydrate linalool	0,58
1-isopropyl-4-methyl bicyclo[3.1.0] hexan-3-one	beta-thujone	11,91
1-isopropyl-4-methylbicyclo[3.1.0] hexan-3-one	alpha.-thujone	3,54
(4s)-4,7,7-trimethylbicyclo[2.2.1]heptan-3-one	camphor	5,92
4,7,7-trimethylbicyclo[2.2.1]heptan-3-ol	borneol	1
2-ethoxy-1-methyl-4-propan-2-ylcyclohex-3-en-1-ol	(-)-4-Terpineol	0,56
(5R)-5-methyl-2-propan-2-ylidenecyclohexan-1-one	pulegone	0,23
(E)-3-phenylprop-2-enal	Cinnamaldehyde	2,59

Tablo 4.19 (devam): Endüstriyel Adaçayı Yağının GC-MS Analizi Sonuçları.

	Acetic acid	1,45
	phenol	1,40
3,7,7-trimethylbicyclo[4.1.0]hept-4-ene	4-carene	0,54
	(-)-alpha-Copaene	0,33
	beta-Bourbonene	0,22
	benzene	0,15
(1R,4aS,8aS)-7-methyl-4-methylidene-1-propan-2-yl-2,3,4a,5,6,8a-hexahydro-1H-naphthalene	gamma-cadinene	0,16
(1R,4E,9S)-4,11,11-trimethyl-8-methylidenebicyclo[7.2.0]undec-4-ene	Caryophyllene	11,57
(1R,4aS,8aR)-4,7-dimethyl-1-propan-2-yl-1,2,4a,5,6,8a-hexahydronaphthalene	(+)-alpha-Amorphene	0,2
1,1,7-trimethyl-4-methylidene-2,3,4a,5,6,7,7a,7b-octahydro-1aH-cyclopropa[e]azulene	aromadendrene	0,34
(1E,4E,8E)-2,6,6,9-tetramethylcycloundeca-1,4,8-triene	humulene	4,23
	alpha.-amorphene	0,35
	Eicosane	0,17
(1aR,7R,7aS,7bR)-1,1,4,7-tetramethyl-1a,2,3,5,6,7,7a,7b-octahydrocyclopropa[e]azulene	Ledene	0,54
(4S)-1-methyl-4-(6-methylhepta-1,5-dien-2-yl)cyclohexene	beta-Bisabolene	0,16
(1S,8aR)-4,7-dimethyl-1-propan-2-yl-1,2,3,5,6,8a-hexahydronaphthalene	delta-Cadinene, (+)-	0,46
	(-)-Caryophyllene oxide	1
1,1,4,7-Tetramethyldecahydro-1H-cyclopropa[e]azulen-4-ol	(+)-Viridiflorol	5,08
12-Oxabicyclo[9.1.0]dodeca-3,7-diene, 1,5,5,8-tetramethyl-	ledane	0,13
1,1,2b-trimethyl-6-methylidene-2,2a,3,4,5,6a,7,7a-octahydrocyclobuta[a]indene	beta-Clovene	0,1
4,4,8a-trimethyl-7-methylidene-8-[(2E)-3-methylpenta-2,4-dienyl]-2,3,4a,5,6,8-hexahydro-1H-naphthalene	Biformen	0,14
hexadecanoic acid	Palmitic Acid	0,06
1-Naphthalenepropanol	Manool	0,95
9,12-Octadecadienoic acid	Linolic acid	0,72
	Oleic Acid	1,01
11-hydroxyundecanoic acid	lactone	0,13
tetracos-2,6,10,14,18,22-hexaene	Squalene	0,76
(2R)-2,7,8-trimethyl-2-[(4R,8R)-4,8,12-trimethyltridecyl]-3,4-dihydrochromen-6-ol	Gama-Tokoferol	1,32
(2R)-2,5,7,8-tetramethyl-2-[(4R,8R)-4,8,12-trimethyltridecyl]-3,4-dihydrochromen-6-ol	alpha-Tocopherolvitamin E	0,33
	Ergost-5-en-3-olCampesterol	3,66
	Stigmasterol	1,09
	b-sitosterol	9,77



Şekil 4.4: Adaçayı Yağının (Endüstriyel) GC-MS Analizi Sonuçları.

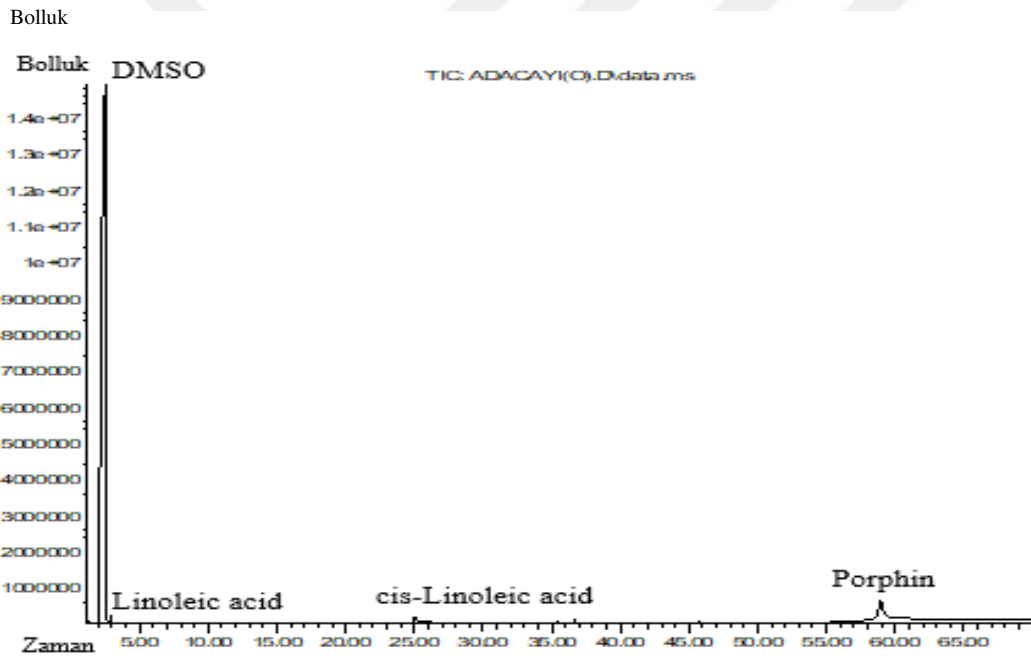


Şekil 4.5: Adaçayı Yağının (Endüstriyel) GC-MS Analizi Sonuçları.

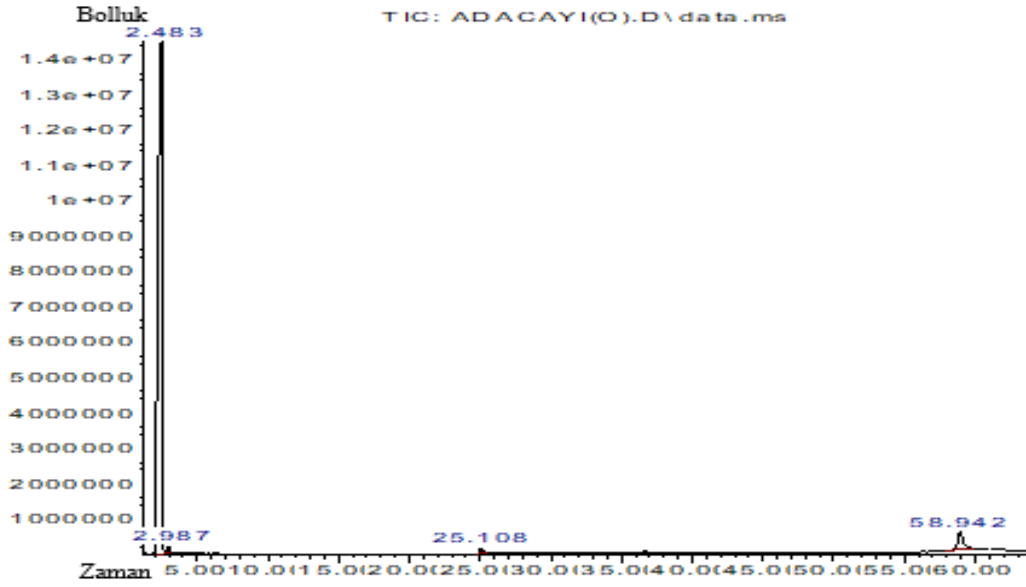
Tablo 4.19. ve Şekil 4.4.- Şekil 4.5. de gösterilen endüstriyel olarak üretilen adaçayı yağının GC-MS analizinde 53 bileşene rastlanmıştır. Ana bileşenler olarak Beta-Thujone (%11,91), Caryophyllene (%11,57), Eucalyptol (Ökaliptaol) (%11,19) olarak belirlenmiştir.

Tablo 4.20: Adaçayı Bitki Özütünün GC-MS Analizi Sonuçları.

Adı	Yaygın Adı	Bileşim oranı %
	Adaçayı(Ö)	
	DMSO	94,21
9,12-Octadecadienoic acid	Linoleic acid	0,27
(9e,12e)-9,12-octadecadienoic acid	cis-Linoleic acid	0,59
	Porphin	4,93



Şekil 4.6: Adaçayı Özütünün GC-MS Analizi Sonuçları.



Şekil 4.7: Adaçayı Özütünün GC-MS Analizi Sonuçları.

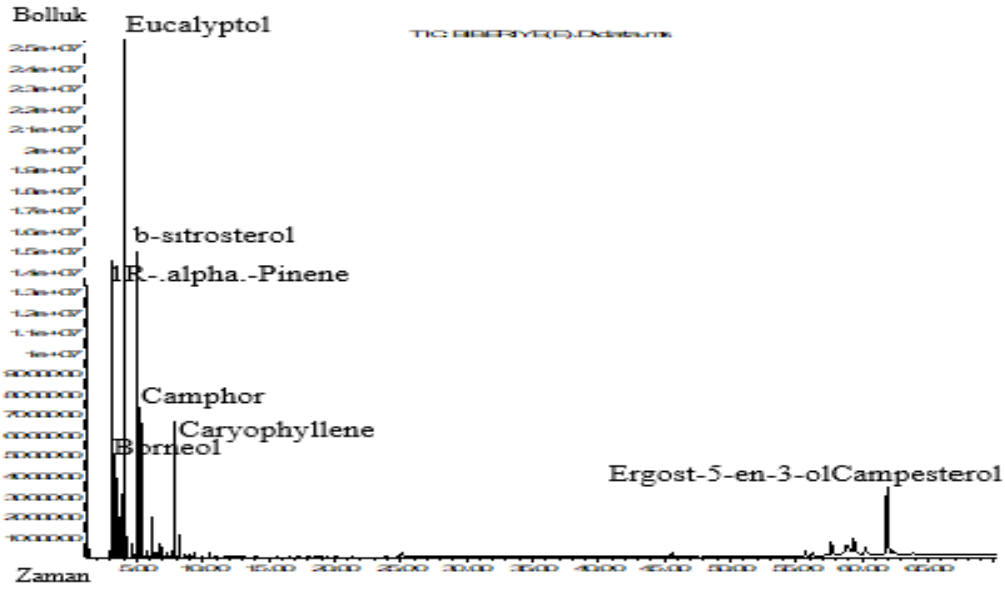
Tablo 4.20. ve Şekil 4.6.-Şekil 4.7.'de gösterilen adaçayı bitki özütünün GC-MS analizleri sonucunda 4 bileşen bulunmuş ve bileşimde oran olarak en çok bulunan kimyasal madde Porphin (%4,93) olmuştur.

Tablo 4.21: Endüstriyel Biberiye Yağının GC-MS Analizi Sonuçları.

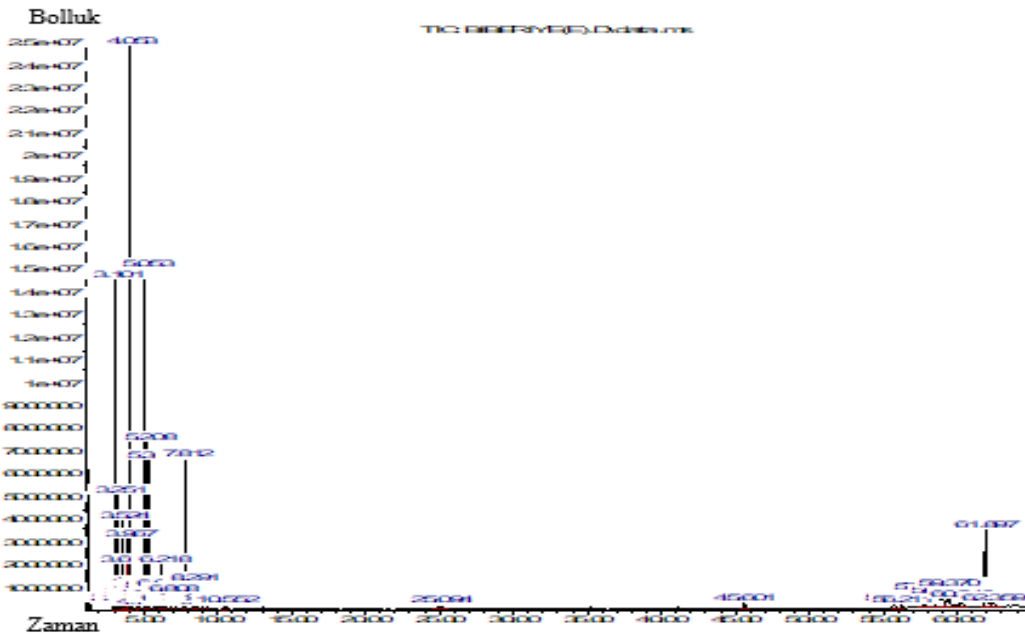
Adı	Yaygın Adı	Bileşim Oranı %
	Biberiye(E)	
(5S)-4,6,6-trimethylbicyclo[3.1.1]hept-3-ene	1S-.alpha.-Pinene	0,25
	1R-.alpha.-Pinene	11,47
3,3-dimethyl-2-methylidenbicyclo[2.2.1]heptane	Camphene	3,42
Bicyclo[3.1.1]heptane, 6,6-dimethyl-2-methylene-, (1S)-	Beta-Pinene	1,38
1,6-Octadiene, 7-methyl-3-methylene-	B-Myrcene	1,06
	alpha.-felandrene	0,2
1,3-cyclohexadiene, 1-methyl-4-Methylethyl)	Alpha. Terpinene	0,57
1-methyl-2-(1-methylethyl)	O-cymene	1,69
2,2,4-trimethyl-3-oxabicyclo[2.2.2]octane	Eucalyptol	24,78
1-methyl-4-propan-2-ylcyclohexa-1,4-diene	Gamma-terpinene	0,56
2,2,4-trimethylbicyclo[2.2.1]heptan-3-one	Fenchone	0,37
6,6-dimethyl-4-methylidenbicyclo[3.1.1]heptane	Beta-pinene	0,27
1,3,3-trimethylbicyclo[2.2.1]hepta n-2-ol	Fenchyl alcohol	0,08
(4S)-4,7,7-trimethylbicyclo[2.2.1]heptan-3-one	Camphor	7,49
4,7,7-trimethylbicyclo[2.2.1]heptan-3-ol	Borneol	3,74

Tablo 4.21 (devam): Endüstriyel Biberiye Yağının GC-MS Analizi Sonuçları.

1-isopropyl-4-methyl-3-cyclohexen-1-ol	4-carvomenthenol	0,54
2-(4-methyl-3-cyclohexen-1-yl)-2-propanol	Terpineol	3,31
(5R)-5-methyl-2-propan-2-ylidenecyclohexan-1-one	Pulegone	0,21
(E)-3-phenylprop-2-enal	Cinnamaldehyde	0,64
	Isobornyl Acetate	2,31
2,4-decadienal, (2e,4e)-		0,26
1,3,7-Octatriene, 3,7-dimethyl-	Alpha-Ocimene	0,63
	(-)-alpha-Copaene	0,16
1,4-methanoazulene, decahydro-4,8, 8-trimethyl-9-methylene-	Longofolene	0,29
(1R,4E,9S)-4,11,11-trimethyl-8-methylidenebicyclo[7.2.0]undec-4-ene	Caryophyllene	5,04
(1E,4E,8E)-2,6,6,9-tetramethylcycloundeca-1,4,8-triene	Humulene	0,89
	alpha.-amorphene	0,26
	Docosane	0,16
(4S)-1-methyl-4-(6-methylhepta-1,5-dien-2-yl)cyclohexene	Beta.-Bisabolene	0,3
(1S,8ar)-4,7-dimethyl-1-propan-2-yl-1,2,3,5,6,8a-hexahydronaphthalene	Delta-Cadinene, (+)-	0,3
	(-)-Caryophyllene oxide	0,37
9,12-Octadecadienoic acid	Linolic acid	0,32
(9e)-9-octadecenoic acid	Oleic acid	0,81
Tetracos-2,6,10,14,18,22-hexaene	Squalene	0,89
(2R)-2,7,8-trimethyl-2-[(4R,8R)-4,8,12-trimethyltridecyl]-3,4-dihydrochromen-6-ol	Gama-Tokoferol	0,82
	Ergost-5-en-3-olCampesterol	3,66
(2R)-2,5,7,8-tetramethyl-2-[(4R,8R)-4,8,12-trimethyltridecyl]-3,4-dihydrochromen-6-ol	Alpha-TocopherolVitamin E	1,6
	Stigmasterol	1,28
	b-sitosterol	11,67



Şekil 4.8: Biberiye Yağının (Endüstriyel) GC-MS Analizi Sonuçları.

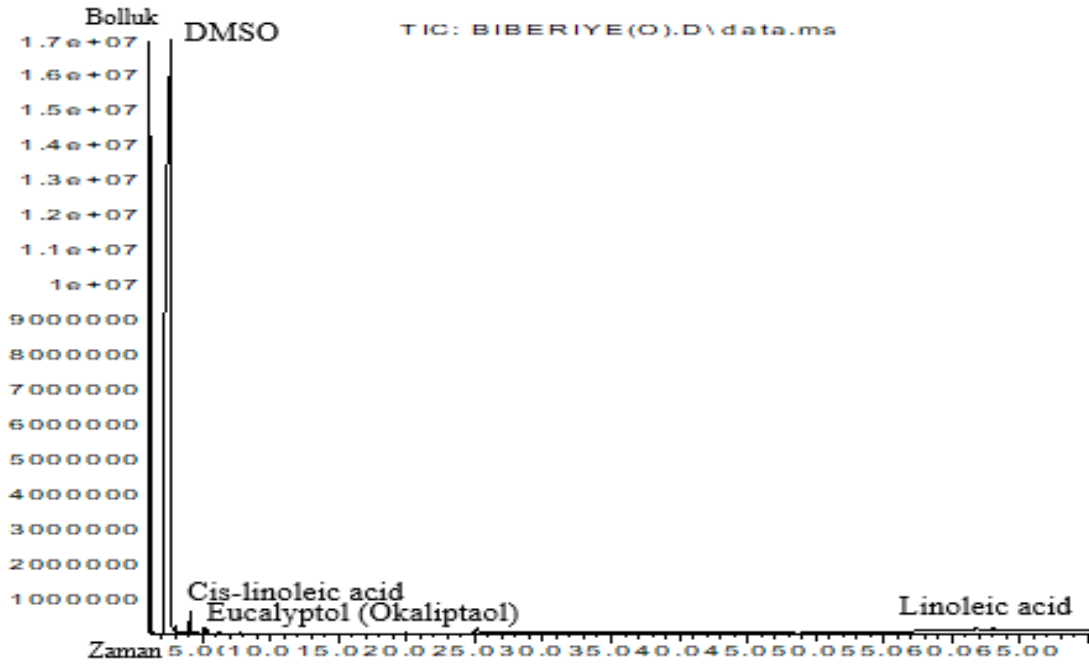


Şekil 4.9: Biberiye Yağının (Endüstriyel) GC-MS Analizi Sonuçları.

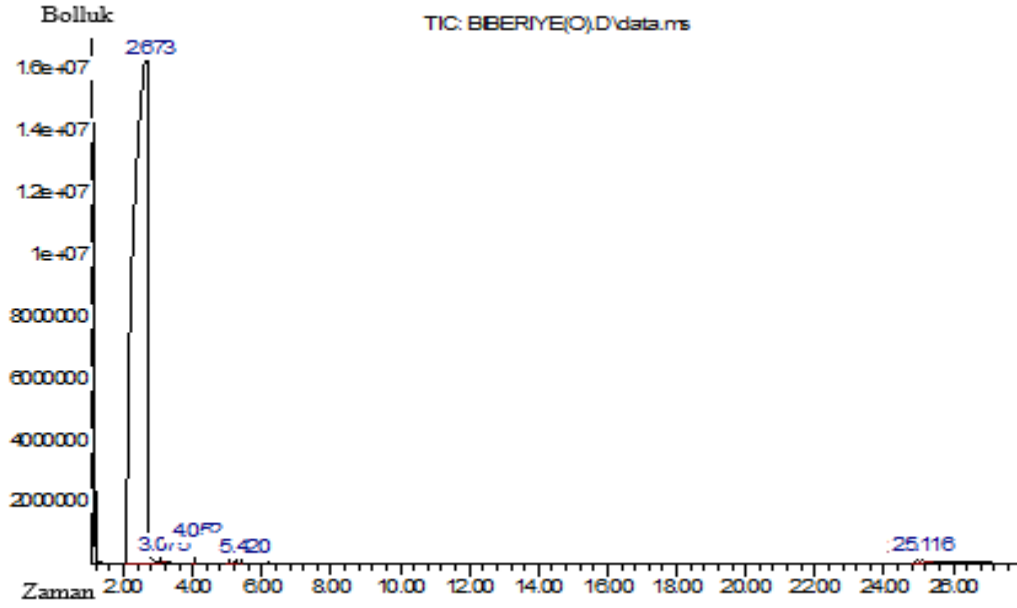
Tablo 4.21. ve Şekil 4.8.-Şekil 4.9.'da gösterilen endüstriyel olarak üretilen biberiye yağının GC-MS analizinde 39 bileşen bulmuşlardır. Ana bileşenleri Eucalyptol (%24,78), B-Sitosterol (%11,67), 1R-.alpha.-Pinene (%11,47) şeklinde sıralanmıştır.

Tablo 4.22: Biberiye Bitki Özütünün GC-MS Analizi Sonuçları.

Adı	Yaygın adı	Bileşim oranı %
Biberiye(Ö)		
	DMSO	99,30
1,3,3-Trimethyl-2-oxabicyclo[2.2.2]octane	Eucalyptol (Ökalyptaol)	0,18
Bicyclo[2.2.1]heptan-2-one, 1,7,7-trimethyl	Camphor (Kafur)	0,05
1,7,7-trimethylbicyclo[2.2.1]heptane	Borneol	0,04
2-(4-Methyl-3-cyclohexen-1-yl)-2-propanol	Alpha-terpineol	0,04
9,12-Octadecadienoic acid	Linoleic acid	0,13
(9e,12e)-9,12-octadecadienoic acid	Cis-linoleic acid	0,27



Şekil 4.10: Biberiye Özütünün GC-MS Analizi Sonuçları.



Şekil 4.11: Biberiye Özütünün GC-MS Analizi Sonuçları.

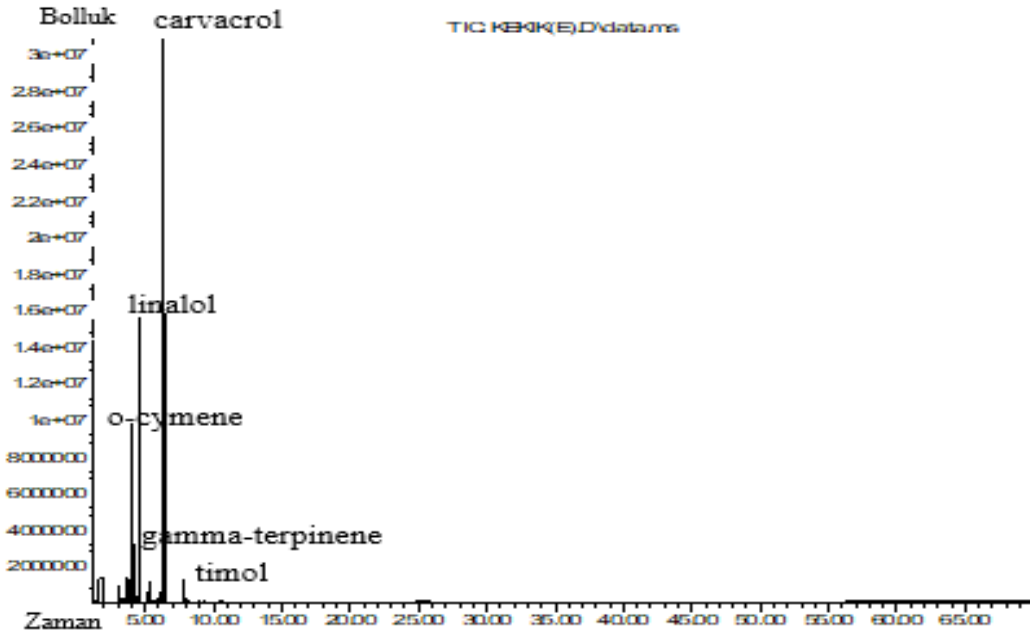
Tablo 4.22. ve Şekil 4.10.-Şekil 4.11.'de gösterilen biberiye bitki özütünün GC-MS analizleri sonucunda 7 bileşene rastlanmış, bileşiminde oran olarak en çok bulunan kimyasal maddeler cis-Linoleic acid (%0,27) Eucalyptol (Ökalyptaol) (%0,18) olarak belirtilmiştir.

Tablo 4.23: Endüstriyel Kekik Yağının GC-MS Analizi Sonuçları.

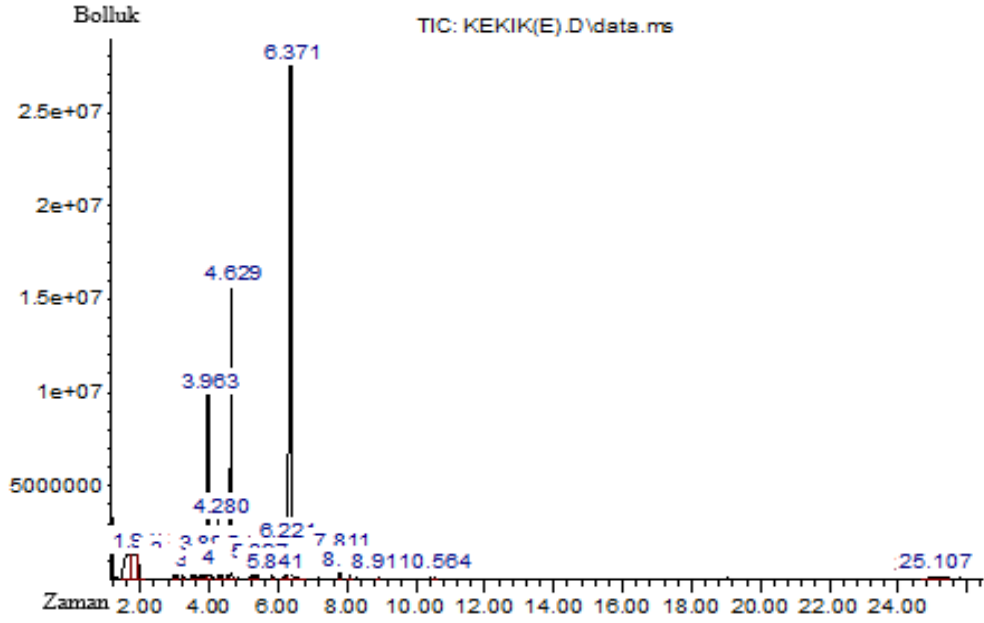
Adı	Yaygın Adı Kekik(E)	Bileşim Oranı %
2-methyl-5-propan-2-ylcyclohexa-1,3-diene	alpha-phellandrene	0,52
(5s)-4,6,6-trimethylbicyclo[3.1.1]hept-3-ene	alpha.-pinene	0,49
	beta.-pinene	0,22
1,6-octadiene, 7-methyl-3-methylene-	β-myrcene	0,82
1,3-cyclohexadiene, 1-methyl-4-methylethyl)	alpha. terpinene	0,87
1-methyl-2-(1-methylethyl)	o-cymene	4,73
1-methyl-4-propan-2-ylcyclohexa-1,4-diene	gamma-terpinene	2,06
5-isopropyl-2-methyl bicyclo[3.1.0] hexan-2-ol	4-thujanol	0,28
2-(5-methyl-5-vinyltetrahydro-2-furanyl)-2-propanol	furfuryl alcohol	0,23
1,6-octadien-3-ol	linalol	9,83
	borneol	0,53
1-isopropyl-4-methyl-1-cyclohexene	4-terpineol	0,71
5-isopropenyl-2-methyl-2-cyclohexene n-1-one	-carvone	0,16
	timol	1,76

Tablo 4.23 (devam): Endüstriyel Kekik Yağının GC-MS Analizi Sonuçları.

5-isopropyl-2-methyl-phenol	carvacrol	55,45
	caryophyllene	1,19
1,1,7-trimethyl-4-ethylene decahydro-1h-cycloprop[e]azulene	alloaromadendrene	0,31
	beta.-caryophyllene epoxide	0,21
9,12-octadecadienoic acid	linoleic acid	0,3
(9e,12e)-9,12-octadecadienoic acid	cis-linoleic acid	0,57



Şekil 4.12: Kekik Yağının (Endüstriyel) GC-MS Analizi Sonuçları.

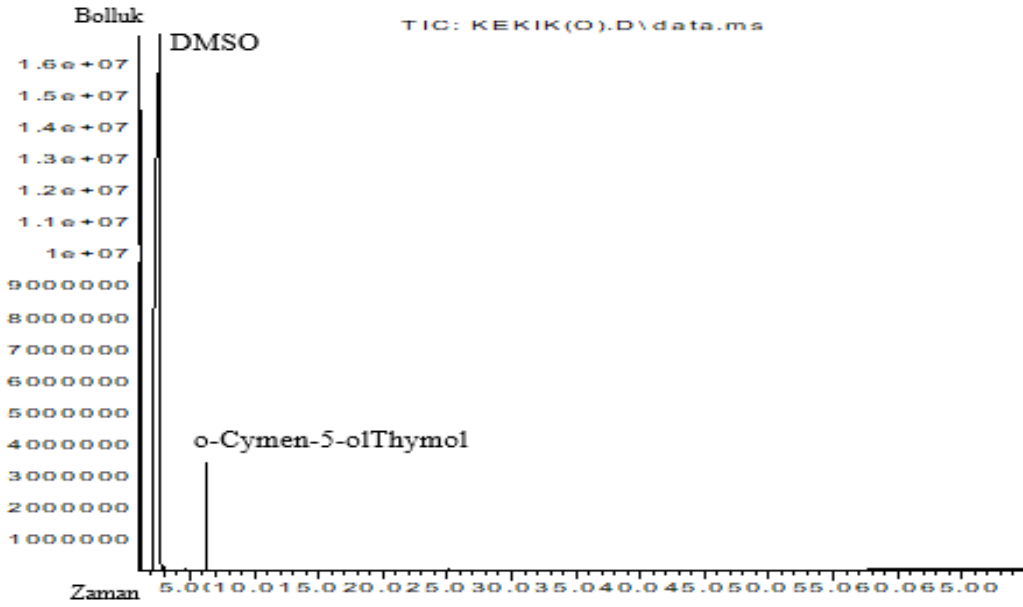


Şekil 4.13: Kekik Yağının (Endüstriyel) GC-MS Analizi Sonuçları.

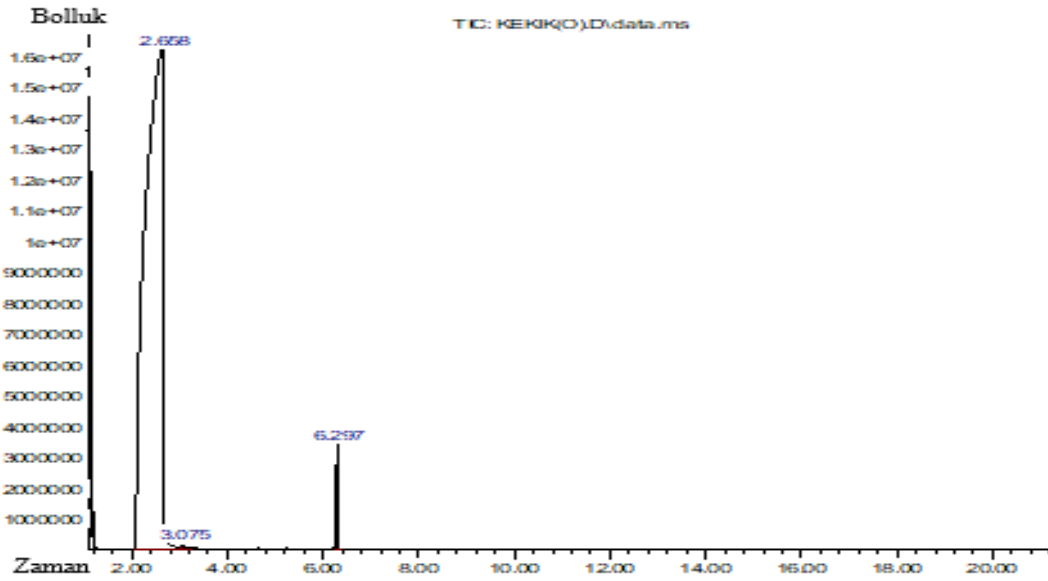
Tablo 4.23. ve Şekil 4.12.-Şekil 4.13.'de gösterilen endüstriyel olarak üretilen kekik yağının GC-MS analizi sonucunda 20 bileşen bulunmuştur. Ana bileşenleri Carvacrol (%55,45), linalol (%9,83) şeklinde sıralanmıştır.

Tablo 4.24: Kekik Bitki Özütünün GC-MS Analizi Sonuçları.

Adı	Yaygın Adı	Bileşim Oranı %
	Kekik(Ö)	
	DMSO	98,86
3-Methyl-4-isopropylphenol	o-Cymen-5-olThymol	1,14



Şekil 4.14: Kekik Özütünün GC-MS Analizi Sonuçları.

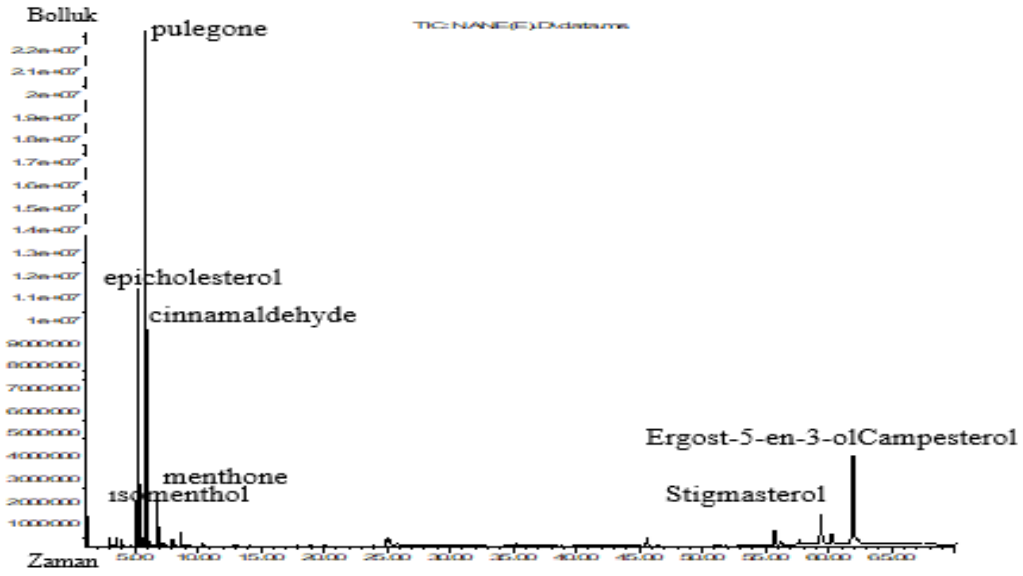


Şekil 4.15: Kekik Özütünün GC-MS Analizi Sonuçları.

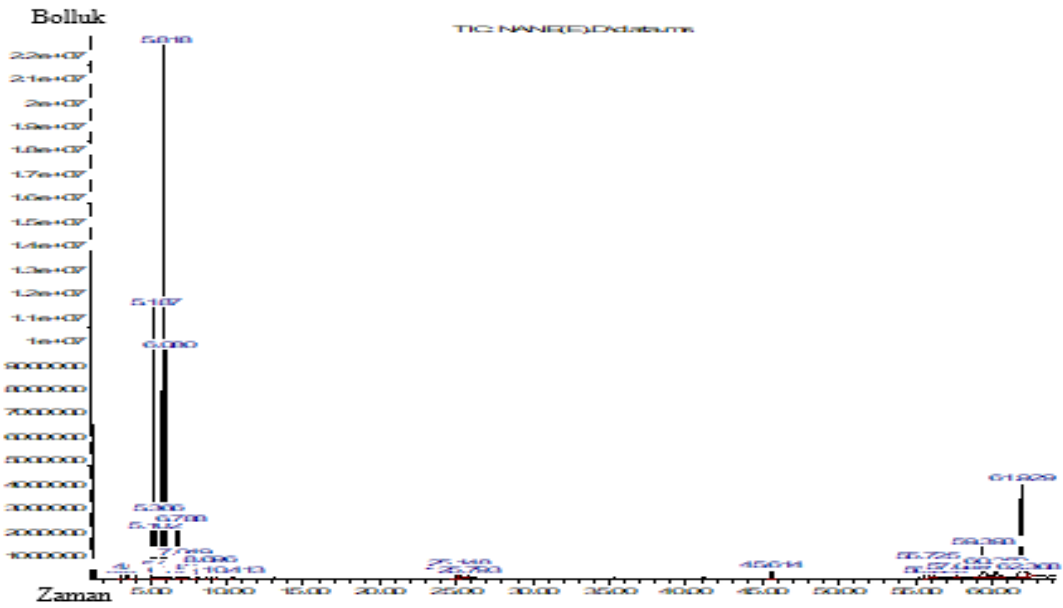
Tablo 4.24.ve Şekil 4.14.-Şekil 4.15.'de gösterilen kekik bitki özütünün GC-MS analizleri sonucunda bileşiminde bulunan tek kimyasal madde o-Cymen-5-ol Thymol (%1,14)'dir.

Tablo 4.25: Endüstriyel Nane Yağının GC-MS Analizi Sonuçları.

Adı	Yaygın Adı Nane(E)	Bileşim Oranı %
(5S)-4,6,6-trimethylbicyclo[3.1.1]hept-3-ene	Alpha.-Pinene	0,37
	beta.-pinene	0,61
1,6-Octadiene, 7-methyl-3-methylene-	β -myrcene	0,21
4-isopropenyl-1-methyl-cyclohexene	(4r)-limonene	0,5
2-isopropyl-5-methylcyclohexanone	menthone	1,56
	menthone	6,73
	isomenthol	2,88
P-Menth-4(8)-en-3One	pulegone	28,10
2-Cyclohexen-1-one, 3-methyl-6- (1-methylethyl)-	piperitone	0,54
(E)-3-phenylprop-2-enal	cinnamaldehyde	9,36
5-isopropyl-2-methyl-phenol	carvacrol	0,15
2-Cyclohexen-1-one, 3-methyl-6- (1-methylethyl)-	piperitone	2,07
	piperitenone oxide	0,75
	(-)-alpha-copaene	0,13
	beta.-bourbonene	0,34
3,4,5-trihydroxy-6-(hydroxymethyl)oxan-2-one	delta-gluconolactone	0,39
(1Z,6Z)-1-methyl-5-methylidene-8-propan-2-ylcyclodeca-1,6-diene	germacrene d	0,82
(1ar,4ar,7S,7ar,7br)-1,1,7-trimethyl-4-methylidene-1a,2,3,4a,5,6,7a,7b-octahydrocyclopropa[h]azulen-7-ol	Spathulenol	0,24
(9e,12e)-9,12-octadecadienoic acid	Cis-linoleic acid	1,16
(9e)-9-octadecenoic acid	Oleic acid	2,06
9,12-Octadecadienoic acid	Linoleic acid	0,31
Tetracos-2,6,10,14,18,22-hexaene	Squalene	1,81
(2R)-2,7,8-trimethyl-2-[(4R,8R)-4,8,12-trimethyltridecyl]-3,4-dihydrochromen-6-ol	Gama-Tokoferol	3,08
	Stigmastan-3,5-diene	0,64
	Alpha-TocopherolVitamin E	0,82
	Ergost-5-en-3-olCampesterol	7,5
	Stigmasterol	2,42
cholest-5-en-3-ol	epicholesterol	21,44
	stigmast-5-en-3-ol	1,55



Şekil 4.16: Nane Yağının (Endüstriyel) GC-MS Analizi Sonuçları.

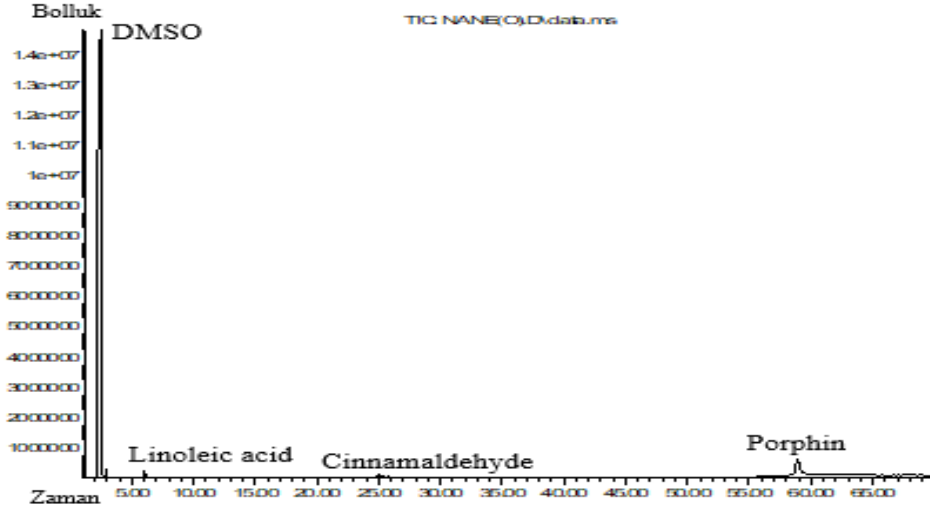


Şekil 4.17: Nane Yağının (Endüstriyel) GC-MS Analizi Sonuçları.

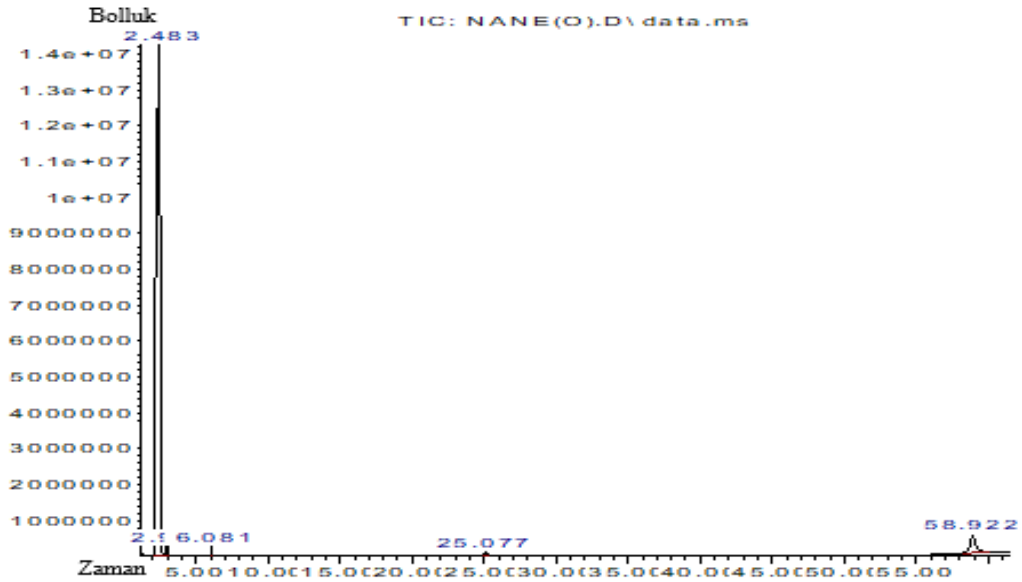
Tablo 4.25. ve Şekil 4.16.-Şekil 4.17.'da gösterilen endüstriyel olarak üretilen nane yağının GC-MS analizinde 29 adet bileşen bulunmuştur. Ana bileşenleri ise Pulegone (%28,1) ve Epicholesterol (%21,44) olarak belirlenmiştir.

Tablo 4.26: Nane Bitki Özütünün GC-MS Analizi Sonuçları.

Adı	Yaygın Adı Nane(Ö)	Bileşim Oranı %
	DMSO	94,37
(E)-3-phenylprop-2-enal	Cinnamaldehyde	0,17
9,12-Octadecadienoic acid	Linoleic acid	0,31
	Porphin	4,96



Şekil 4.18: Nane Özütünün GC-MS Analizi Sonuçları.

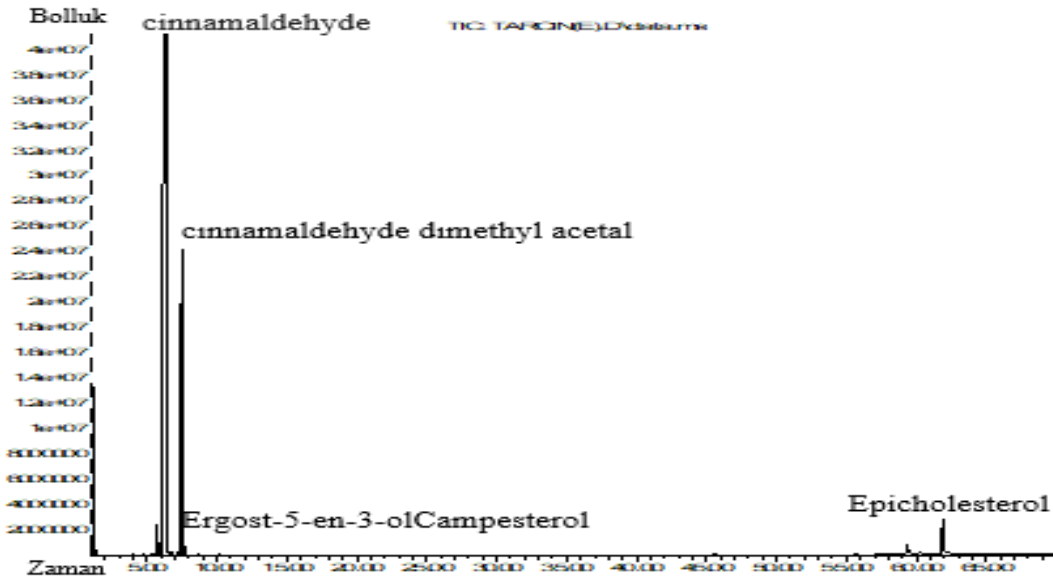


Şekil 4.19: Nane Özütünün GC-MS Analizi Sonuçları.

Tablo 4.26.ve Şekil 4.8.-Şekil 4.19.'de gösterilen nane bitki özütünün GC-MS analizleri sonucunda rastlanan 4 bileşenden en çok oranda bulunan kimyasal madde Porphin (%4,96) dir.

Tablo 4.27: Endüstriyel Tarçın Yağının GC-MS Analizi Sonuçları.

Adı	Yaygın Adı	Bileşim oranı %
	Tarçın (E)	
	gamma-terpinen	0,06
(1S,4S,5R)-4-methyl-1-propan-2-ylbicyclo[3.1.0]hexan-3-one	beta.-thujone	0,03
	benzoic acid	0,09
3-Phenylprop-2-enal	formylstyrene	0,76
5-Methyl-2-isopropylidenecyclohexanone	pulegone	0,23
	cinnamaldehyde	81,87
	cinnamaldehyde dimethyl acetal	10,72
	trans-Cinnamic acid	0,43
1-Naphthalenol, 2-methyl-	alpha.-naphthol	0,07
	Benzoic acid	0,07
	Squalene	0,22
	gamma.-Tocopherol	0,23
	Ergost-5-en-3-olCampesterol	1,08
	Stigmasterol	0,28
cholest-5-en-3-ol	Epicholesterol	3,31



Şekil 4.20: Tarçın Yağının (Endüstriyel) GC-MS Analizi Sonuçları.

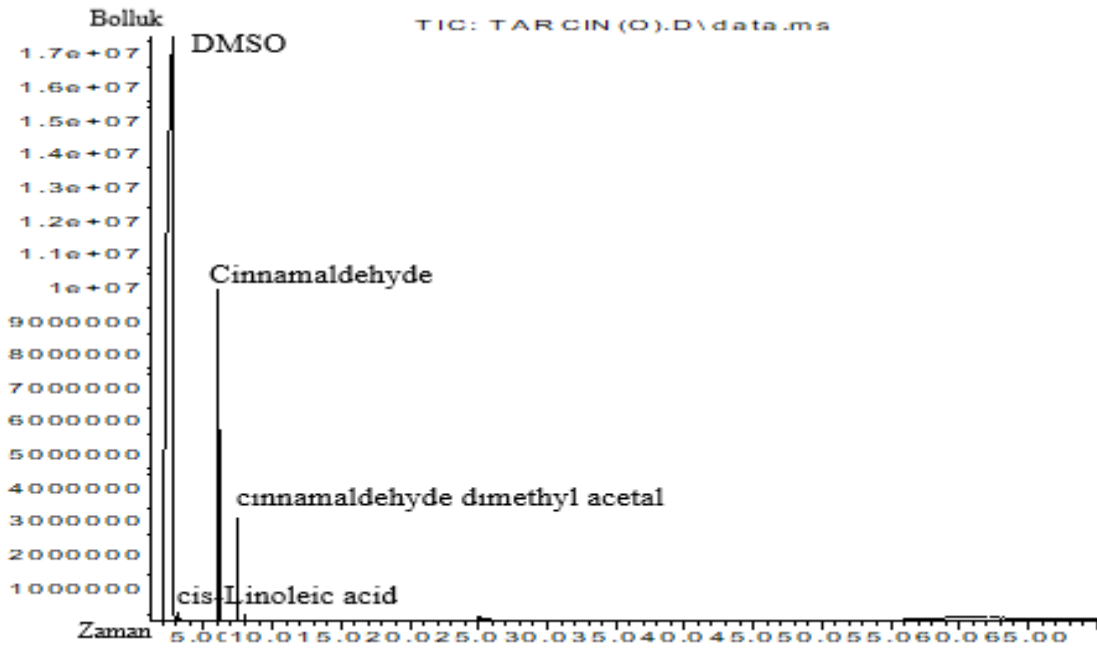


Şekil 4.21: Tarçın Yağının (Endüstriyel) GC-MS Analizi Sonuçları.

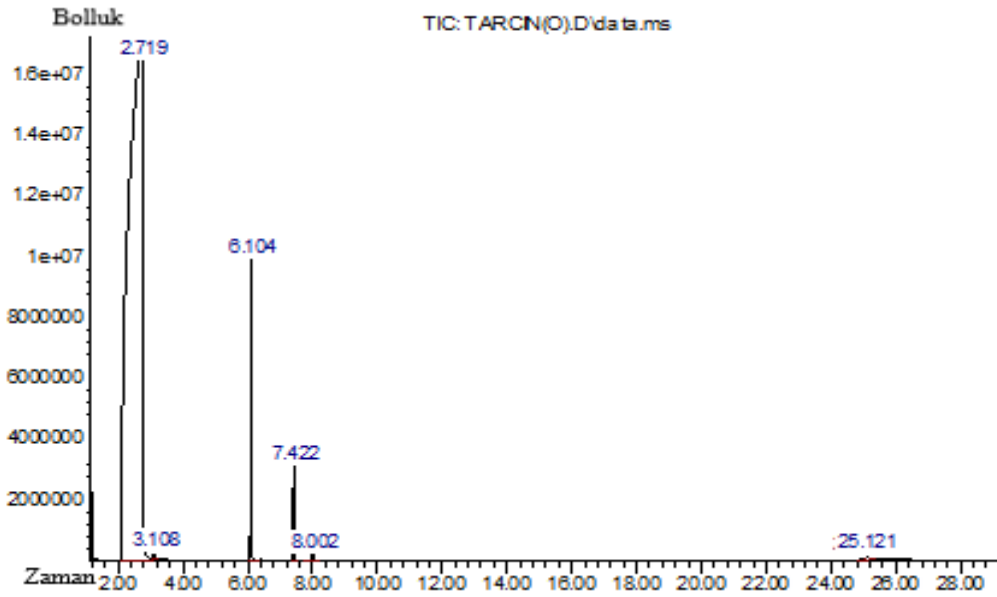
Tablo 4.27. ve Şekil 4.20.-Şekil 4.21.'da gösterilen endüstriyel olarak üretilen tarçın yağının GC-MS analizinde 15 adet bileşen bulunmuştur. Ana bileşenler Cinnamaldehyde (% 81,87) ve Cinnamaldehyde Dimethyl Acetal (%10,72) olarak belirlenmiştir.

Tablo 4.28: Tarçın Bitki Özütünün GC-MS Analizi Sonuçları.

Adı	Yaygın Adı	Bileşim Oranı %
	Tarçın(Ö)	
	DMSO	95,58
(E)-3-phenylprop-2-enal	Cinnamaldehyde	2,75
[(E)-3,3-dimethoxyprop-1-enyl]benzene	cinnamaldehyde dimethyl acetal	1,21
[(E)-3-phenylprop-2-enyl] acetate	Cinnamyl Acetate	0,14
9,12-Octadecadienoic acid	Linoleic acid	0,1
(9e,12e)-9,12-octadecadienoic acid	cis-Linoleic acid	0,22



Şekil 4.22: Tarçın Özütünün GC-MS Analizi Sonuçları.



Şekil 4.23: Tarçın Özütünün GC-MS Analizi Sonuçları.

Tablo 4.28.ve Şekil 4.22.-Şekil 4.23.'de gösterilen tarçın bitki özütünün GC-MS analizi sonucunda 6 adet bileşene rastlanmıştır. Aana bileşenleri Cinnamaldehyde (%2,75) ve Cinnamaldehyde Dimethyl Acetal (%1,21) olarak belirtilmiştir.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Fransız araştırmacı Thiercelin tarafından “enterocoque” olarak tanımlanan enterokoklar insan gastrointestinal sisteminin tabii elemanıdır. Enterokokların doğası gereği dirençli oldukları sefalosporinlerin yoğun olarak kullanıldığı 1970’li senelerden bu zamana kadar klinik infeksiyon nedenleri içerisinde enterokokların etkisi giderek artmıştır (Akdemir 2010).

Nozokomiyal infeksiyonların sayılı etkenleri içinde sayılan enterokoklar hastane kökenli infeksiyonların %12’sine sebep olmaktadır. Enterokok infeksiyonları sırasıyla üriner sistem infeksiyonları, intraabdominal ve pelvik infeksiyonlar, bakteriyemi, endokardit, deri ve yumuşak doku infeksiyonları, menenjit, yenidoğan sepsisi sayılabilir (Akdemir 2010, Karagöz, 2005).

Yapılan birçok araştırmaya göre; VRE’ler dahil birçok enterokok enfeksiyonunun hastadan hastaya doğrudan doğruya veya personelin ellerinden, bakteri bulaşmış hasta bakım aletlerinden ve çevre yoluyla dolaylı olarak geçiş yapmasının mümkün olacağı bildirilmiştir (Koneman 2005).

Enterokokların en kayda değer özelliği, gram pozitif bakteri infeksiyonlarının tedavisinde kullanılan pekçok antimikrobiyal etkene karşı direnç göstermeleridir. Bütün dünyada olduğu üzere Türkiye’de de enterokoklardaki çoklu antibiyotik direnci mühim bir problem olarak karşımıza çıkmaktadır. Yani enterokokal infeksiyonların tedavisinde kullanılabilecek antibiyotik alternatifleri oldukça sınırlıdır (Berzeg, 2005; Karagöz, 2005).

Bu çalışmada patojenik mikroorganizma olarak Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Mikrobiyoloji Laboratuvarında bulunan tip suşlardan yararlanılmıştır. Ayrıca Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı tarafından hastalardan izole edilen VRE’ler bu çalışmamızda kullanılmıştır.

Akdemir (2010), yaptıkları çalışmada çeşitli klinik materyalden elde edilen 100 enterokok suşu izole edilmiş ve bunların VITEK-2 cihazı ile türleri, dirençlilikleri ve E test ile MİK

değerleri araştırılmış antibiyotik direnç profilleri oluşturulmuştur. İzole edilen 100 enterokok suşunun 56'sı *E. faecalis*, 40'ı *E. faecium*, ikisi *E. casseliflavus*, biri *E. gallinarum*, bir tanesi *E. avium* olarak belirlendi. Ampisilin (AMP), gentamicin (CN), imipenem (IPM), sulphamethoxazole/trimethoprim (SXT), ciprofloxacın (CIP), moxalactam (MOX), erythromycin (E), cephalixin (CL), teicoplanin (TEC), linezolid (LZD), vancomycin (VA), tetracycline (TE) direnç profili Vitek2 cihazı ile araştırıldı. Ayrıca AMP, CN, IPM, P, CIP, LZD, VA, TEC MIC değerleri E-test ile belirlendi sırasıyla : %58 AMP, %56 CN, %49 IPM, %47 CIP, %60P dirençli bulunmuştur. VA, LZD ve TEC direnç görülmemiştir.

Iraz ve ark. (2012), Ekim 2011- Mayıs 2012 arasında Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'ne başvuran hastaların çeşitli klinik örneklerinden *Enterococcus faecalis* ve *Enterococcus faecium* suşlarını izole ederek antibiyotik direnç oranlarını belirlemişlerdir. İncelenen 129 suşun 81'i (% 63) *E. faecalis*, 48'i (% 37) *E. faecium* olarak tanımlanmış, antibiyotik duyarlılık oranları VITEK-2 otomatize sistem ile belirlenmiştir. Çalışmaya alınan suşların % 61'i siprofloksasine, % 37'si ampisiline, % 11'i vankomisin ve teikoplanine ve % 2'si linezolide dirençli bulunmuştur. Toplam 3 suş linezolide orta duyarlı veya dirençli bulunmuştur. Yüksek düzey aminoglikozid direnci ise gentamisin için % 52, streptomisin için % 58 olarak saptanmıştır.

Aktepe ve ark. (2011), toplam 137 enterokok suşunun antibiyotik direnç oranları gözden geçirmiştir. Ampisiline % 81.5, imipeneme % 51.9, siprofloksasine % 61.1 ve moxifloksasine % 38.9 oranında direnç gözlenirken, vankomisin, teikoplanin, linezolit ve tigesikline direnç saptanmamıştır. Yüksek düzey aminoglikozit direnci gentamisin için % 46, streptomisin için % 44.5 olarak belirlenmiştir.

Güçkan ve ark. (2013), yaptıkları çalışmada VITEK-2 otomatize sistem ile incelenen 117 suşun 62'si (%53) *Enterococcus faecium*, 55'i (%47) *Enterococcus faecalis* olarak tanımlanmış, antibiyotik duyarlılık oranları disk difüzyon yöntemi ile The Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) standartlarının enterokok türleri için önerdiği zon çapları dikkate alınarak belirlenmiştir. Çalışmaya alınan suşların %97'si ampisiline, %47'si siprofloksasin ve moksifloksasine dirençli bulunmuştur. Toplam 5 suş linezolide

orta duyarlı veya dirençli bulunmuştur. Vankomisin, teikoplanin ve tigesikline direnç saptanmamıştır. Yüksek düzey aminoglikozid direnci ise gentamisin için %42, streptomisin için %53 olarak saptanmıştır.

Çalışmamızda Tablo 4.17. de görüldüğü gibi VRE izolatlarının antibiyogram sonuçlarına bakıldığında VRE ATCC 51299 izolatı deneylerde kullanılan 8 tane antibiyotik disklerinden 3 tanesine (%37,5) direnç göstermiştir, VRE 1 antibiyotik disklerinin tümüne direnç göstermiş (%100), VRE 2, VRE 3 *E. faecalis* ve VRE *E. faecium* izolatları, yapılan deneylerde kullanılan 8 tane antibiyotik disklerinden 6 tanesine (%75) direnç göstermiştir VRE'lerin çoklu antibiyotik dirençleri bir sorun olarak karşımıza çıkmakta ve yeni alternatiflere yönelme gereği duyulmaktadır. Bu sebeple antibiyotiklere karşı farklı bir seçenek olan bitkilerin ve bitkisel ürünlerin antimikrobiyaller olarak kullanılmaları tavsiye edilmektedir. Diğer taraftan sentetik kökenli ilaçların beklenmedik yan etkilerine karşı bitki ve bitkisel ürünlerin kullanılması bu bakımından avantajlıdır (Nakipoğlu ve Otan 1992).

Demirkol ve ark. (2017), bu çalışmada, Ordu ilinin farklı bölgelerinden temin edilen sakarca bitkilerinin kimyasal bileşimleri, antimikrobiyal aktiviteleri ve toplam fenolik madde içeriklerini araştırmıştır. Antibakteriyel test sonuçlarına göre sekiz örneğe ait ekstraktların gram (+) bir bakteri olan *S. aureus*'a karşı etkili olduğu görülürken bunlardan S3 ve S9 numaralı örneklerin etkilerinin nispeten daha düşük oldukları belirlenmiştir. Örneklerden sadece 2 tanesi (S9 ve S10) *E. coli*'ye karşı antimikrobiyal etki gösterirken, *Listeria monocytogenes*'e karşı test edilen örneklerden hiçbirisi antimikrobiyal etki göstermemiştir. Bu sonuçlar, *Ornithogalum umbellatum* yabani bitki türü ekstraktının doğal tıpta ve gıdalarda fonksiyonel gıda bileşeni olarak uygulanabileceğini göstermektedir.

Berber ve ark. (2013), yaptıkları çalışmada, Sinop'da yetişen 15 adet bitki türünden elde edilen ekstraktların 3 Gram-pozitif, 2 Gram-negatif ve 3 maya olmak üzere toplam 8 farklı mikroorganizmaya karşı antimikrobiyal aktivitelerini disk difüzyon yöntemi kullanılarak test etmişlerdir. Farklı bitki türlerinden elde edilen özütlerin, test edilen mikroorganizmalara karşı önemli düzeyde antimikrobiyal etkiye sahip olduğunu, bu

bitkilerin içerdği etken maddelerin enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde bazı sentetik antibiyotiklere alternatif olabileceğini belirlemişlerdir.

Haşimi ve ark.(2015), bu çalışmada rezene ve adaçayı bitkilerinden elde edilen uçucu yağların antimikrobiyal aktivitelerini araştırmıştır. Antimikrobiyal aktivite disk difüzyon metoduna göre Gram negatif ve Gram pozitif bakterilere karşı belirlenmiştir. Rezene uçucu yağı *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 25923, *S. pyogenes* ATCC 19615 bakterileri üzerinde orta düzeyde (inhibisyon zonu <20-12 mm); *P. aeruginosa* ATCC 27853 üzerinde ise düşük düzeyde (inhibisyon zonu <12 mm) antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Adaçayı uçucu yağı da rezene uçucu yağına benzer şekilde *P. aeruginosa* dışında test edilen bakteriler üzerinde orta düzeyde, *P. aeruginosa* üzerinde ise düşük düzeyde antimikrobiyal aktivite göstermiştir.

Ertürk ve ark. (2010), yaptıkları çalışmada kekik ve nane uçucu yağlarının 21 bakteri (*Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Moraxella catarrhalis* ATCC 49143, *Streptococcus pyogenes* ATCC19615, *Acinetobacter lwoffii* ATCC 19002, *S. pneumoniae* ATCC 49619, *Enterobacter aerogenes* ATCC 13043, *Enterococcus faecalis* ATCC 29211, *Escherichia coli* ATCC 25922, *E.faecium* ATCC 6057, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883, *Bacillus cereus* ATCC 11778, *Proteus mirabilis* ATCC 7002, *Listeria monocytogenes* F 1483, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *L. Monocytogenes* F 1462, *Salmonella typhimurium* ATCC14028, *L. ivanovii* F 4084, *L. innocua* F 4078, *L. welshimeri* F 4083, *L. seeligeri* F 4088) ve 7 maya üzerindeki antimikrobiyal etkinliği, disk difüzyon yöntemi kullanılarak test edilmiş ve araştırmanın verileri istatistiksel olarak değerlendirmiştir. Kekik yağı *Pseudomonas aeruginosa* hariç test edilen mikroorganizmalara karşı güçlü antimikrobiyal etkinlik göstermiştir. Nane yağı test edilen pek çok mikroorganizmaya karşı kekik yağından daha az antimikrobiyal etkinlik göstermiştir. Her iki yağında çalışmada kullanılan maya kökenlerine karşı oldukça etkili olduğu görülmüştür.

Ünlü ve ark. (2008), *Tanacetum cadmeum* bitkisine ait uçucu yağların *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853, *Micrococcus flavus*, *Cowan liyofili*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* ATCC11230, *Marginella morgani*, *Micrococcus luteus*, *Escherichia coli* ATCC25322, *Yersinia enteritidis* ve *Proteus vulgaris* RSKK96026

suşları kullanılmıştır. Sonuçta *T. cadmeum* bitkisinin bazı bakteri türleri üzerine önemli oranda antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir.

Yiğit ve ark. (2009), Erzincan yöresinden topladıkları ceviz (*Juglans regia* L.)'in bazı Gram (+) ve Gram (-) bakterilere (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*) karşı disk difüzyon yöntemi ile araştırılmış ve MİK değerleri belirlenmiştir. Ceviz yeşil kabuk ve yaprak su ve metanol özütleri *S. aureus*, *S. epidermidis*, *P. aeruginosa*, *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis* ve *C. kefyr* suşlarına karşı antimikrobiyal aktivite göstermiştir.

Türkiye bitki muhteviyatı ve potansiyeli yönünden oldukça zengin olup, tıbbi olarak kullanılan nice bitki türü bulunmaktadır. Gerek yurt dışında, gerekse Türkiye'de yapılan araştırmalarda bu bitkilerin pekçoğunun antimikrobiyal etkileri olduğu saptanmıştır. Bu çalışmamızda ülkemizde yetişen ve rahatlıkla piyasada bulabileceğimiz 10 tane bitkinin (nane, kekik, biberiye, ıhlamur, tarçın, ığde, defneyaprağı, çörekotu, maydanoz ve adaçayı) çeşitli kimyasallarla (ethanol, n-hekzan) özütleri elde edilerek patojenik bakteriler ve birçok antibiyotiğe direnç gösteren entrokoklar üzerine antimikrobiyal aktiviteleri incelenmiştir.

Bu çalışmamızın ilk kısmında yukarıda belirttiğimiz 10 bitki örneği 200ml çözücü (ethanol, n-hekzan) ile 8 saat Soxhlet ekstraksiyonu işlemine tabi tutulmuş, elde edilen özütler 5mg/ml ve 2,5 mg/ml olarak iki ayrı derişimde hazırlanmıştır. Araştırmamızda ekstraksiyon işlemi için toksiditesi diğer çözücülere oranla düşük olan, polaritesi yüksek, ekonomik yönden hesaplı ve rahat elde edilebilecek kimyasalara öncelik verilmiştir (Selen İşbilir 2008). Çeşitli patojenik mikroorganizmalar ve VRE'ler üzerinde bu özütlerin antimikrobiyal aktivitesi agar kuyu ve disk difüzyon yöntemleri ile tespit edilmiştir.

Araştırmamızda incelenen bitkilere özgü ekstratların belirli miktarlarda patojen mikroorganizmalar ve VRE'lere karşı antimikrobiyal aktiviteye sahip oldukları görülmüştür. Özütlere karşı en duyarlı bakteri suşları *B. Subtilis* ve *S. dysenteriae* VRE2'dir. Çalışmamızda kullandığımız bitki ekstratların infeksiyon hastalıklarının tedavisi amacıyla üretilen modern ilaçların antimikrobiyal ajanları olarak kullanılması mümkündür.

Yapılan çalışmada iğde ekstarının tüm konsantrasyonları ile orta derecede antimikrobiyal aktivite gösterdiği 4 patojenik mikroorganizma ve 3 VRE olduğu gözlenmiştir. Aynı şekilde diğer bitki özütlerinin antimikrobiyal aktivitelerini kısaca belirtecek olursak, maydanoz ekstarının tüm konsantrasyonları ile orta derecede antimikrobiyal aktivite gösterdiği 6 patojenik mikroorganizma ve 1 VRE, aktif antimikrobiyal etki gösterdiği 1 patojenik mikroorganizma, biberiye ekstarının tüm konsantrasyonları ile orta derecede antimikrobiyal aktivite gösterdiği 8 patojenik mikroorganizma ve 5 VRE, aktif antimikrobiyal etki gösterdiği 2 patojenik mikroorganizma, Ihlamur ekstarının tüm konsantrasyonları ile orta derecede antimikrobiyal aktivite gösterdiği 6 patojenik mikroorganizma ve 4 VRE, çörekotu ekstarının tüm konsantrasyonları ile orta derecede antimikrobiyal aktivite gösterdiği 6 patojenik mikroorganizma ve 2 VRE, Adaçayı ekstarının tüm konsantrasyonları ile orta derecede antimikrobiyal aktivite gösterdiği 9 patojenik mikroorganizma, aktif antimikrobiyal etki gösterdiği 1 patojenik mikroorganizma ve 2 VRE, kekik ekstarının tüm konsantrasyonları ile orta derecede antimikrobiyal aktivite gösterdiği 7 patojenik mikroorganizma ve 3 VRE, nane ekstarının tüm konsantrasyonları ile orta derecede antimikrobiyal aktivite gösterdiği 8 patojenik mikroorganizma ve 4 VRE, defneyaprağı ekstarının tüm konsantrasyonları ile orta derecede antimikrobiyal aktivite gösterdiği 5 patojenik mikroorganizma ve 2 VRE, tarçın ekstarının tüm konsantrasyonları ile orta derecede antimikrobiyal aktivite gösterdiği 7 patojenik mikroorganizma, aktif antimikrobiyal etki gösterdiği 3 mikroorganizma olduğu yapılan çalışmamızda gözlenmiştir.

Bu çalışmada biberiye ve adaçayı eksterlerinin diğer bitki ekstratlarına göre daha fazla antimikrobiyal aktivite gösterdiği görülmüştür. Yüksek derişimli bitki özütleri düşük derişimli bitki özütlerine göre daha fazla zon çapı oluşturmuş ve daha fazla antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Ancak iğde ekstersinin *B.cereus* üzerindeki antibakteriyel aktivitesi incelenirken düşük konsantrasyona (2,5 mg/ml) sahip derişimi, yüksek konsantrasyonlu (5mg/ml) haline göre daha fazla antimikrobiyal etki göstermiştir. Aynı şekilde iğde ve defneyaprağı ekstersinde de düşük yoğunluklu özütü *A. hydrophila* üzerinde daha fazla antibakteriyel aktive göstermiştir.

Ayrıca yapılan çalışmada biberiye ekstratı 5 VRE'nin tamamı üzerinde orta dereceli antimikrobiyal etki göstererek en etkili bitki özütü olmuştur. İhlamur ve nane ekstatları ise 5 VRE'nin 4'ü üzerinde orta seviyede antimikrobiyal etki göstermiştir.

Endüstriyel olarak üretilen bitki uçucu yağları ile yaptığımız çalışmada kekik ve ığde uçucu yağı antibakteriyel etki göstererek tüm test suşlarımız üzerinde etkili olmuştur. Diğer bitki uçucu yağları herhangi bir etki göstermemiştir. Çalışmamızın diğer kısmında elde ettiğimiz bitki özütlerinden biberiye, adaçayı ve tarçın antibakteriyel etki göstermiş lakin piyasadan aldığımız aynı yağlar test mikroorganizmalar üzerinde etki göstermemiştir. VRE'ler üzerinde antibakteriyel etki gösteren endüstriyel kekik ve ığde uçucu yağı gibi, ekstraksiyon yoluyla elde ettiğimiz kekik ve ığde uçucu yağı da antibakteriyel etki göstererek, inhibisyon zonu oluşturmuştur. Bitki uçucu yağlarının antimikrobiyal özellikleri yapılarında bulunan fenolik (timol, kavrakrol, eugenol, vb.) ve terpenoid bileşenlerden gelmekte ve bu bileşenlerce zengin bitkiler tedavi amacıyla da kullanılmaktadır. Burada önemli olan, bu bileşenleri yapısında herhangi bir zarar oluşturmaksızın elde ederek uygun doz ve kombinasyonlarda kullanabilmektir (Faydaoğlu ve Sürücüoğlu, 2013). Bu çalışmamızda bitki uçucu yağlarının endüstriyel üretime, işleme ve depolama şartlarına, bağlı olarak, güçlü antioksidan ve antimikrobiyal etkiye sahip olan bazı uçucu yağların bu özelliklerini kaybettikleri ve test suşlar üzerine antibakteriyel etki göstermedikleri tespit edilmiştir.

Bu çalışmada, 10 farklı bitki ekstraktının antimikrobiyal aktivitesi test edilmiştir. Tüm kompleksler DMSO'da çözülerek hazırlanmıştır. Kontrol olarak sadece DMSO kullanılmıştır. Kontrol örneklerinde MİC değerlerinin >5000 µg/ml olduğu belirlenmiştir. Bunun yanında ekstraktların MİC değerlerine bakıldığında ise bu değerin 58.5-4000 µg/ml arasında değiştiği görülmüştür. Buradan da anlaşılabileceği gibi bakterilerin yaşamı üzerine bazı bitki ekstraktların etkisi oldukça fazla olmuştur. Özellikle kekik bitki özütünün tüm mikroorganizmalar üzerinde önemli antimikrobiyal etkisinin olduğu görülmektedir.

Ayrıca bu tez çalışmasında farklı bitkilerden elde edilen ekstraktların DNA'nın yapısında herhangi bir değişime sebep olup olmadığına bakılmıştır. Ekstraktlar 2mg/mL konsantrasyonunda DMSO'da çözülerek hazırlanmış ve Pbr322 plazmid DNA üzerine

etkisi agaroz jel elektroforezi yöntemi ile incelenmiştir. Yapılan çalışma sonucunda bitkilerden elde edilen ekstraktların DNA üzerine etkileri incelenmiş fakat hiç bir bitki ekstraktının DNA yapısında herhangi bir bozulmaya sebep olmadığı, dolayısı ile plazmit DNA üzerinde herhangi bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir.

Çalışmamızda elde ettiğimiz uçucu yağların kimyasal içeriklerinin aydınlatılması için GC-MS analizi yapılmıştır. Gaz kromatografisi karışımdaki bileşenleri ayırmayı sağlarken kütle spektroskopisi her bir bileşenin yapısal olarak tanımlanmasını sağlar. Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometresi (GC-MS) cihazı kimyasal karışımları ayırır ve bileşenleri moleküler düzeyde tanımlar. GC-MS analizleri, sıvı, gaz ve katı numuneler üzerinde çalışabilir fakat esas olarak uçucu ve yarı uçucu bileşiklerle sınırlandırılmıştır (Giryan, 2017). Bu çalışmamızda en çok antimirobiyal etki gösteren 5 adet uçucu yağın ve aynı yağların endüstriyel olarak üretilen numunelerinin GC-MS analizi yapılmıştır.

Sonuç olarak endüstriyel olarak üretilen 5 adet uçucu yağın GC-MS analizlerinde daha çok bileşen tespit edilmişken, ekstraksiyon sonucu elde ettiğimiz bitki özütlerinden daha az bileşen elde edilmiştir. Elde edilen bitki özütlerinin DMSO’de çözülerek seyreltilmesi GC-MS analizinde DMSO’nun diğer bileşenleri baskılayarak ön plana çıkmasına neden olmuş ve bu özütlerde daha az bileşene rastlanmıştır.

Ülkemizde önemli bir yeri olan ve bu çalışmamızda kullanılan bitkilerin gerek halk arasında kullanılması, gerekse literatürde değinilen ulusal ve uluslararası birçok biyolojik aktivite araştırmalarının yapılmış olması dikkate alınacak olursa bu bitkilerden eczacılık ve tıp alanlarında farklı amaçlarla yararlanılabileceği ve bu sebepten üzerinde daha çok çalışmaya değer olduğu görülmektedir.

İnfeksiyon hastalıkları hemen hemen insanlık kadar eski olup, insanlar her zaman bu amansız düşmanla savaşmak zorunda kalmışlardır. Önceleri bitki kökleri, şarap, küf gibi doğal maddeler kullanılmış olmasına rağmen, M.Ö. 2500 yıllarında Çin’de küfün Stafilokoksik adı verilen deri hastalıklarında kullanıldığı bilinmektedir (Unat, 1985).

Hastane enfeksiyonlarının ve standart antibiyotiklere karşı gelişen direncin halk sağlığı için oldukça önemli olduğu bilinmektedir. Bu yüzden acil olarak ve patojenik

mikroorganizmaların büyümelerini ve gelişmelerini etkili bir şekilde durduracak yeni sınıf antimikrobiyaller geliştirilmelidir. Bu amaçla doğada var olan bitkilerin antimikrobiyal özelliklerinin bilinmesi ve bu amaca uygun bitki ekstraktların elde edilmesi amaçlanmalıdır. Bütün mikroorganizmalar ve bitki ekstraktları gözönüne alındığında, bitki ekstraktlarının tamamının antimikrobiyal etkiye sahip olmadığı, fakat özellikle biberiye, adaçayı, kekik ve tarçının yüksek oranda antimikrobiyal etkisinin olduğu ifade edilebilir. Buradan yola çıkarak yeni geniş spektrumlu antimikrobiyal üretiminde bu bitkilerin kullanılmasının önemli olacağı düşünülmektedir.

Bu çalışmanın sonuçları incelendiğinde, araştırmada kullanılan bitkilere ait özütlerin bazı patojen mikroorganizmalara ve VRE'lere karşı antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir. Bakterilerin antibiyotiklere karşı direncinin artmasına rağmen antimikrobiyal özelliğe sahip bitkilere ve bitkisel ürünlere direnç kazandığı görülmemektedir. Öte yandan günümüzde hastalıkların tedavisinde kullanılan antibiyotiklerin birtakım yan etkilerinin olması, bitkilerle tedaviye olan eğilim artmasına sebep olmuştur. Bitkilerin halk tarafından geleneksel olarak kullanımlarının bilimsel açıklamasının yapılması, bitkilerin niçin ve nasıl kullanılmaları gerekliliği ile ilişkin çalışmalar her geçen gün artarak devam etmektedir. Yaptığımız araştırmada, bu çeşit çalışmaların sonuçlarının pratikte uygulanabilirliğine ilişkin belli başlı bilgiler belirlenmeye özen gösterilmiştir. Çalışmamızda ulaştığımız veriler göz önüne alındığında, bundan sonra yapılacak araştırmalarda, bitkilerin toprakaltı ve topraküstü kısımlarına ait özütlerin antibakteriyel aktivitesi ayrı ayrı test edilmelidir. Böylelikle bitkiye ait hangi kısmın daha güçlü antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu ortaya konabilir. Buradan hareketle antimikrobiyal aktivitesi tespit edilen bitki özütlerinin etken maddeleri de belirlenebilir. Bu bitkilerden elde edilen bileşiklerin patojen mikroorganizmalar ve VRE'lerin sebep olduğu hastalıklara karşı ilaç yapımında kullanılması söz konusu olabilir.

6. KAYNAKÇA

- Adıgüzel, A. ve diğerleri, 2005, Antimicrobial Effects of Ocimum Basilicum (Labiatae) Extract. *Turk Journal of Biology*, pp. 155-160.
- Akçimen, B., 2010, Hastane İnfeksiyonlarından İzole Edilen Vankomisin Dirençli Enterokokların Pulsed Field Jel Elektroforez Yöntemiyle Genotip Tayini. *Uzmanlık Tezi, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Adana*, pp.4.
- Akdemir, Y., 2010, Enterokok Suşlarında Antibiyotik Direnç Profilinin Saptanması. *Yükseklisans tezi, Afyonkocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Afyonkarahisar*, pp. 56-71.
- Akgül, Y., 2014, İdrar Yolu Enfeksiyonlarına Neden Olan Pseudomonas Aeruginosa Ve Klebsiella Pneumoniae İzolatlarına Karşı Bazı Bitki Ekstraktlarının Antibakteriyel Aktiviteleri. *Yüksek Lisans Tezi, Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Nevşehir*, pp. 57-58.
- Aktaş, G. & Derbentli, Ş., 2009, Vankomisine dirençli Enterokokların önemi ve epidemiyolojik özellikleri. *İnfeksiyon Dergisi (Turkish Journal Of Infection)*, pp. 23 (4), 201-209.
- Aktaş, Z. ve diğerleri, 2007, Vankomisine dirençli Enterococcus faecium kökenlerinin fenotipik ve genotipik analizi. *Mikrobiyol Bülteni*, pp. 41(3), 347-356.
- Aktepe, O. C., Aşık, G., Çiftçi, İ. H. & Çetinkaya, Z., 2011, Klinik Örneklerden İzole edilen enterokok Suşlarının Antibiyotik Direnç Oranları. *Türk Mikrobiyol Cemiyeti Dergisi*, pp. 41(2):86-90.
- Alp, Ş. & Çetinkaya Şardan, Y., 2008, Vankomisine dirençli enterokokların epidemiyolojisi ve kontrolü. *Hacettepe Tıp Dergisi*, pp. 39(2), 89-95.
- Altuner, M. E., 2008, Bazı karayosunu türlerinin antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesi. *Doktora tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara*, pp. 26-44.

- Andrews, F. & Horder, T., 1996, A study of Streptococci pathogenic for man. *Lancet*, pp. 2,708-713.
- Badi, H. N., Yazdani, D., Ali, S. M. & Nazari, F., 2004, Effects of spacing and harvesting time on herbage yield and quality/quantity of oil in thyme. *Thymus vulgaris L. Industrial Crops and Products*, pp. 19, 231-236.
- Bardakçı, F. & Yenidünya, A. F., 2007, *Moleküler biyoloji teknikleri 1: Nükleik asit teknikleri (in) Moleküler Biyoloji. Yıldırım A., Bardakçı F., Karataş M., Tanyolaç B. (Editör). Ankara: Nobel Yayın.*
- Baser, K. H. C., Özek, T., Kırimer, N. & Tümen, G., 2004, A comparative study of the essential oils of wild and cultivated *Satureja hortensis*. *Journal of Essential Oil Research*, pp. 16: 422-424.
- Basustaoğlu, A. & Aydoğan, H., 2002, Enterokoklar. %1 içinde *Enfeksiyon Hastalıkları Serisi*. Ankara : Bilimsel Tıp Yayınevi, pp. 5(2):45-60.
- Başustaoğlu, A., 2004, Enterokoklarda antibakteriyel direnç mekanizmaları ve direnç sorunu. %1 içinde *Gram Pozitif Bakteri Enfeksiyonları*. Ankara: Bilimsel Tıp Yayınevi , pp. 141-158.
- Başustaoğlu, A., Aydoğan, H. & Beşirbellioğlu, B., 2000, GATA’da izole edilen ikinci glikopeptid direnci *E.faecium* [Özet]. %1 içinde *XXIX. Türk Mikrobiyoloji Kongresi (8-13 Ekim 2000, Antalya) Program ve Özet Kitabı*. İstanbul: Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti & Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Derneği, p. 349.
- Bates, J., 1998, Epidemiology of vancomycin-resistant enterococci in the community and the relevance of farm animals to human infection.. *Journal Hospital Infection*, pp. 39:75-7.
- Benli, M. & Yigit, N., 2005, Ülkemizde yaygın kullanımı olan kekik (*Thymus vulgaris*) bitkisinin antimikrobiyel aktivitesi. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*, pp. 03(08):1-8.

- Berber, İ. ve diğerleri, 2013, Sinop’da yetişen bazı bitkilerin metanolik ekstraktlarının antibakteriyel ve antifungal aktivitelerinin belirlenmesi. *Karaelmas Fen ve Mühendislik Dergisi*, pp. 3 (1), 10-16).
- Berzeg, D., 2005, *Çeşitli Klinik Materyallerden İzole Edilen Enterokok Suşlarında Antibiyotik Direnci, Yüksek Düzey Aminoglikozid Direnci Ve E Test İle Vankomisin MİK Değerlerinin Değerlendirilmesi*, İstanbul: Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği .
- Bilgehan, H., 2000, *Klinik Mikrobiyoloji*. İzmir : Barış Yayınları Fakülteler Kitabevi. Onuncu baskı.
- Bilgehan, H., 2002, *Klinik Mikrobiyolojik Tanı*. İzmir: Barış Yayınları Fakülteler Kitabevi Üçüncü baskı.
- Burt, S., 2004, Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods--a review. *International Journal of Food Microbiology*, pp. 94, 223-253.
- Butaye, P., Devriese, L. A. & Haesebrouck, F., 1999, Phenotypic Distinction in Enterococcus faecium and Enterococcus faecalis Strains Between Susceptibility and Resistance to GrowthEnhancing Antibiotics. *Antimicrobial Agents and Chemoterapy*, pp. Vol. 43, No.10.
- Cinquepalmi, V. ve diğerleri, 2013, Enviromental contamination by dog’s faeces : a public health problem ?. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, pp. 10(1), 72-84.
- Coque, T. M. ve diğerleri, 2005, Population Structure of Enterococcus faecium Causing Bacteremia in a Spanish University Hospital: Setting the Scene for a Future Increase in Vancomycin Resistance. *Antimicrobial Agent and Chemotherapy*, pp. 49:2693-2700.
- Coskun, F., 2006, Gıdalarda Bulunan Doğal Koruyucular. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, pp. 2: 27-33.

- Craig, W. A., 1998, Pharmacokinetic/pharmacodynamic parameters: rationale for antibacterial dosing of mice and men. *Clinical Infectious Diseases*, p. 26:1.
- Çaylan, R. ve diğerleri, 2004, Fekal ve Klinik Örneklerden İzole Edilen Enterokok Suşlarının Antibiyotiklere Duyarlılıkları. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, pp. 34: 24-28.
- Çelik, E. & Çelik, G. Y., 2007, Bitki uçucu yağlarının antimikrobiyel özellikleri. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*, pp. 05(2):1-6.
- Çetinkaya, Y., Falk, P. & Mayhall, C. G., 2000, Vancomycin-Resistant Enterococci. *Clinical Microbiology Reviews*, pp. 13: 686-707.
- Çiçekler, T. N., 2006, Enterokoklarda Vankomisin Direnci. *Uzmanlık Tezi, Sağlık Bakanlığı Haydarpaşa Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği, İstanbul*, p. 1.
- Çopuroğlu, Ö., 2013, Niğde Yöresindeki Bazı Endemik Bitki Türlerinin Antimikrobiyal Aktiviteleri. *Yüksek Lisans Tezi, Niğde Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Niğde*, pp. 15-16.
- Damborg, P. ve diğerleri, 2009, Dogs are a reservoir of ampicillin-resistant Enterococcus faecium lineages associated with human infections. *Applied and Environmental Microbiology*, pp. 75, 2360–2365 10.
- Danielle, M. Z. ve diğerleri, 2005, Infection Control Policies and Hospital-Associated Infections Among Surgical Patients: Variability and Associations in a Multicenter Pediatric Setting. *Pediatrics*, pp. 115: 387-397.
- Davidson, P. M., 1997, Chemical preservatives and natural antimicrobial compounds. . %1 içinde *In Food microbiology Fundamentals and Frontiers*. New York: ASM Press, pp. 520-56.
- Davidson, P. & Naidu, E., 2000, %1 içinde *Phyto-Antimicrobials in Natural Food Antimicrobial Systems*. basım yeri bilinmiyor: CRC Press, pp. 1128/AEM.02035-08 .

- Deans, S. G. & Ritchie, G., 1987, Antimicrobial properties of plant essential oils. *International Journal of Food Microbiology*, pp. 5, 165-180.
- Deans, S. ve diğerleri, 1993, Natural antioxidants from *Thymus vulgaris* (thyme) volatile oil: the beneficial effects upon mammalian lipid metabolism. *Acta Horticulturae*, pp. 332, 177– 182.
- Delaquis, P. J., Stanich, K., Girard, B. & Mazza, G., 2002, Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oils. *International Journal of Food Microbiology*, pp. 74, 101-109.
- Demirkol, M., Çelik, Ö. F. & Tarakçı, Z., 2017, Ordu İlinde Yetişen Sakarca (*Ornithogalum umbellatum*) Bitkisinin Antibakteriyel Aktivitesi ve Toplam Fenolik Madde İçeriği. *Ordu Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi*, pp. 7(2): 312-318.
- Derbentli, Ş., 1998, Nozokomiyal enterokok infeksiyonları. *Galenos*, pp. 23: 14-17.
- Descheemaeker, P. R. M. ve diğerleri, 1999, Comparison of glycopeptide resistant *Enterococcus faecium* isolates and glycopeptide resistance genes of human and animal origins. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, pp. 43: 2032-2037.
- Devriese, L. A. ve diğerleri, 1996, Presence of vancomycin-resistant enterococci in farm and pet animals. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, pp. 40:2285-2287.
- Devriese, L., Baele, M. & Butaye, P., 2006, The Genus *Enterococcus*: Taxonomy. *Prokaryotes*, pp. 4:163-174.
- Devriese, L., Van De Kerckhove, A., Kilpper-Bälz, R. & Schleifer, K. H., 1987, Characterization and identification of *Enterococcus* species isolated from the intestines of animals. *International Journal of Systematic Bacteriology*, p. 37:257– 259.
- Diao, W. R., Hu, Q. P., Zhang, H. & Xu, J. G., 2014, Chemical composition, antibacterial activity and mechanism of action of essential oil from seeds of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.). *Food Control*, pp. 35, 109-116.

- Djabou, N. ve diğeri, 2013, Phytochemical composition of Corsican Teucrium essential oils and antibacterial activity against foodborne or toxi-infectious pathogens.. *Food Control*, pp. 354-363.
- Dorman, H. J. D. & Deans, S. G., 2000, Antimicrobial agents from plants, antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*, pp. 88, 308-316.
- Durmaz, G. ve diğeri, 2002, Hematolojik malignansili hastalarda sürveyans kültürleri ile saptanan vankomisin dirençli enterokok (VRE) ve methicillin dirençli Staphylococcus aureus (MRSA) kolonizasyon sıklığı.. *İnfeksiyon Dergisi*, pp. 16(2): 171-174.
- Dutka-Malen, S., Evers, S. & Courvalin, P., 1995, Detection of glycopeptide resistance genotypes and identification to the species level of clinically relevant Enterococci by PCR. *Journal of Clinical Microbiology*, p. 33(1): 24– 27.
- Ed: Ulusoy, S. U. G. Ü. S., 2004, Enterokoklar . %1 içinde *Mikrobiyoloji, epidemiyoloji ve patogeneze Gram Pozitif Bakteri İnfeksiyonları*. Ankara: yazarı bilinmiyor, pp. 121-140.
- Edwards, D. D., 2000, Enterococci attract attention of concerned microbiologists. *American Society for Microbiology News*, pp. 66 : 540-5.
- Elsner, H. A. ve diğeri, 2000, Virulence factors of Enterococcus faecalis and Enterococcus faecium blood culture isolates. *European Journal of Clinical Microbiology Infectious Diseases*, pp. 19:39-42.
- Emborg, H. D., Andersen, J. S., Seyfarth, A. M. & Wegener, H. C., 2003, Relations between the consumptions of antimicrobial growth promoters and the occurrence of resistance among Enterococcus faecium isolated from broiler. *Epidemiology Infection*, pp. 132:95-105.
- Ertürk, R., Çelik, C., Kaygusuz, R. & Aydın, H., 2010, Ticari olarak satılan kekik ve nane uçucu yağlarının antimikrobiyal aktiviteleri. *Cumhuriyet Tıp Dergisi*, pp. 32: 281-286.

- Evren, M. & Tekgüler, B., 2011, Uçucu Yağların Antimikrobiyel Özellikleri. *Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi TR (Eski adı: OrLab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi)*, pp. 28-40.
- Faydaoğlu, E. & Sürücüoğlu, M. S., 2013, Tıbbi Ve Aromatik Bitkilerin Antimikrobiyal, Antioksidan Aktiviteleri Ve Kullanım Olanakları. *Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi* , 6(2), pp. 233-265 .
- Fisher, K. & Phillips, C., 2009, The ecology, epidemiology and virulence of Enterococcus. *Microbiology*, pp. 155:1749-1757.
- Flanagan, R., Taylor, A., Watson, I. & Whelpton, R., 2007, *Fundamentals of Analytical Toxicology John Wiley & Sons Ltd pp*, pp. 145-176, 249-280, 353-398.
- Franz, C. M., Halzapfel, W. H. & Stiles, M. E., 1999, Enterococci at the crossroads o food safety?. *International Journal of Food Microbiology*, p. 47: 1 – 24.
- Franz, C. M. ve diğerleri, 2001, Incidence of virulence factors and antibiotic resistance among enterococci isolated from food. *Applied and Environmental Microbiology*, p. 67: 4385– 4389.
- Friedly, E. C. ve diğerleri, 2009, In vitro antilisterial effects of citrus oil fractions in combination with organic acids. *Journal of Food Science*, pp. 74, M67M72.
- Friedman, M., Henika, P. R., Levin, C. E. & Mandrell, R. E., 2004, Antibacterial activities of plant essential oils and their components against Escherichia coli O157:H7 and Salmonella Enterica in apple juice. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, pp. 52, 6042-6048.
- Ghosh, A., Dowd, S. E. & Zurek, L., 2011, Dogs leaving the ICU carry a very large multi-drug resistant enterococcal population with capacity for biofilm formation and horizontal gene transfer. *PLOS ONE*, p. 6:e22451 10.1371/journal.pone.0022451.

- Giese, J., 1994, Spices and seasoning blends: A taste for all seasons. *Food Technology*, pp. 48(4):87-98.
- Gilmore, M. S. ve diğerleri, 2002, The Enterococci –Pathogenesis, Molecular Biology, and Antibiotic Resistance. *American Society for Microbiology Press Washington*, p. 72.
- Giryan, Ç., 2017, <https://www.tech-worm.com/>
- Gómez-Gila, R. ve diğerleri, 2009, Nosocomial outbreak of linezolid-resistant *Enterococcus faecalis* infection in a tertiary care hospital. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, pp. 65:175-179.
- Graham, N. C. & Bartley, E. O., 1939, Some observations on the classification of Enterococci. *Journal of Hygiene*, pp. 39:538-552.
- Grassmann, J. & Elstner, E. F., 2003, Essential Oils/properties and uses. *Encyclopaedia of Food Science, Food Technology and Nutrition (Elsevier Science Ltd.)*, pp. 2177-2184.
- Gutierrez, J., Barry-Ryan, C. & Bourke, P., 2008, The antimicrobial efficacy of plant essential oil combinations and interactions with food ingredients. *International Journal of Food Microbiology*, pp. 124(1) 91-97.
- Güçkan, R., Elmas, A., Tilgel, S. & Yüksel, G., 2013, Çeşitli Klinik Örneklerden İzole Edilen Enterokok Suşlarının Antibiyotik Direnç Oranları. *International Journal of Basic and Clinical Medicine Uluslararası Temel ve Klinik Tıp Dergisi*, pp. 1(2):74-77.
- Gülay, Z., 1999, Antimikrobiyal ilaçlara direnç. %1 içinde *Temel ve Klinik Mikrobiyoloji*. Ankara: Güneş Kitabevi, pp. 91-108.
- Güleş, Ö. & Eren, Ü., 2008, Apoptozun Belirlenmesinde Kullanılan Yöntemler. *Y.Y.Ü. Veteriner Fakültesi Dergisi*, pp. (2) 73-78.
- Gültekin, M., 2004, Enterokoklar. %1 içinde *Mikrobiyoloji, epidemiyoloji ve patogenezi. Gram Pozitif Bakteri Enfeksiyonları*. . Ankara : yazarı bilinmiyor, pp. 121-140.

- Gür, D., 2016, Antibiyotik Duyarlılık Testleri. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi Hacettepe Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı*, p. Cilt 46. 10.
- Halkman, A. K., 2013, Gıda Mikrobiyolojisi ders notları. *Ank. Üniv. Mühendislik Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü*.
- Hammer, K. A., Carson, C. F. & Riley, T. V., 1999, Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *Journal of Applied Microbiology*, pp. 86, 985-990.
- Hancock, L. E. & Gilmore, M. S., 2000, Pathogenicity of enterococci. %1 içinde *Gram-Positive Pathogens*. Washington: American Society for Microbiology, p. pp. 251–258.
- Haşimi, N., Kızıl, S. & Tolan, V., 2015, Rezene Ve Adaçayı Uçucu Yağlarının Antimikrobiyal Aktivitesi Üzerine Bir Araştırma. *Batman Üniversitesi Batman University Batman Üniversitesi Yaşam Bilimleri Dergisi*, , p. Cilt 5 Sayı 2 .
- Herrero, I., Fernández-Garayzábal, J. F., Moreno, M. A. & Domínguez, L., 2004, Dogs should be included in surveillance programs for vancomycin-resistant enterococci. *Journal of Clinical Microbiology*, p. 42:1384– 1385.
- Holley, R. A. & Patel, D., 2005, Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials. *Food Microbiology*, pp. 22:273-292.
- Hulin, V., Mathot, A. G., Mafart, P. & Dufosse, L., 1998, Les Proprietes Antimicrobiennes des Huiles Essentielles et Composes D'aromes. *Sciences des Aliments*, pp. 18, 563-582.
- Iraz, M., Ceylan, A. & Akkoyunlu, Y., 2012, Klinik Örneklerden İzole Edilen Enterokok Suşlarının Antibiyotik Duyarlılıkları. *ANKEM Dergisi*, Cilt doi:10.5222/ankem.2012.176 , pp. 26(4):176-180 .

- İşcan, G. ve diğerleri, 2002, Bazı Umbelliferae türlerinden elde edilen uçucu yağların antimikrobiyel etkileri. *Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, Bildiriler (29-31 Mayıs, Eskisehir)*, pp. 355-366. ISBN 975-94077-2-8.
- Jackson, C. R., Fedorka-Cray, P. J. & Davis, J. A. B. J. B. F. J. G., 2009, Prevalence, species distribution and antimicrobial resistance of enterococci isolated from dogs and cats in the United States. *Journal of Applied Microbiology*, pp. 107,1269–1278.
- Jorgensen, J. H., 1997, Laboratory issues in the detection and reporting of antibacterial resistance. *Infectious Disease Clinics of North America*, pp. Vol.11, p. 785-802.
- Kabara, J. J., 1991, Phenols and chelators. %1 içinde *In Food Preservatives*. London: yazarı bilinmiyor, pp. 200-214.
- Kalemba, D. & Kunicka, A., 2003, Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Current medicinal chemistry*, pp. 10, 813-829.
- Kandler, O., Schleifer, K. H. & Dandl, R., 1968, Differentiation of *Streptococcus fecalis* Andrewes and Horder and *Streptococcus faecium* Orla-Jensen based on the Amino acid composition of their murein. *Journal of Bacteriology*, pp. 96:1935-1939.
- Karagöz, G. D., 2005, Dr. Lütfi Kırdar Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Enfeksiyon hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Kliniği Yoğun Bakım Ünitesinde Vankomisin Dirençli Enterokok Taşıyıcılığının Araştırılması. pp. 5-65.
- Karapınar, M. & Aktuğ, Ş. E., 1986, Baharatların antimikrobiyal etkileri I. Bitkinin yaprak veya çiçek kısmından köken alan baharatlar. *Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Dergisi*, pp. B4(2), 115-126.
- Kataoka, Y. ve diğerleri, 2013, Identification and Antimicrobial Susceptibility of Enterococci Isolated from Dogs and Cats Subjected to Differing Antibiotic Pressures. *The Journal of Veterinary Medical Science*, p. 75(6): 749–753.

- Kayaoglu, G. & Orstavik, D., 2004, Virulence Factors of *Enterococcus faecalis*: Relationship To Endodontic disease. *Critical Reviews in Oral Biology Medicine*, pp. 15:308-320..
- Kim, S. Y. ve diğlerleri, 2011, Antimicrobial activity of plant extracts against *Salmonella Typhimurium*, *Escherichia coli* O157:H7, and *Listeria monocytogenes* on fresh lettuce. *Journal of Food Science*, pp. 76, M41-M46.
- Klare, I. ve diğlerleri, 2003, Occurrence and spread of antibiotic resistances in *Enterococcus faecium*. *International Journal of Food Microbiology*, p. 88: 269–290.
- Klein, G., 2003, Taxonomy, Ecology and Antibiotic Resistance of Enterococci From Food and Gastro-Intestinal Tract. *International Journal of Food Microbiology*, pp. 88, 2-3, 123-131.
- Koneman, E. W. ve diğlerleri, 1997, Enterobacteriaceae. %1 içinde *Color Atlas and Textbook of 78 Diagnostic Microbiology*, 5th ed. Philadelphia, Newyork: Lippincott Company, p. 171.
- Koneman, E. W. ve diğlerleri, 2005, Color Atlas and Textbook of Diagnostik Microbiology.. *Sixth edition. Philadelphia: Lippincott Co*, pp. 700-711.
- Korten, V., 2005, Enterokok infeksiyonları. %1 içinde *Temel İç Hastalıkları. İkinci baskı*. Ankara: Güneş Kitabevi Ltd. Şti. , pp. 3118-3120.
- Korukluoğlu, M., Sertel, S. & Karakaş, R., 2005, *Salmonella ve Shigella'nın gelişmesini engelleyen tıbbi bitkiler ve esansiyel yağlar*.. Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi İzmir, yazarı bilinmiyor, pp. 334-337.
- Kotzekidou, P., Giannakidis, P. & Boulamatsis, A., 2006, Antimicrobial activity of some plant extracts and essential oils against foodborne pathogens in vitro and on the fate of inoculated pathogens in chocolate. *LWT Food Science and Technology*, pp. 41:119-127.

- Kuropka, G., Neugebauer, M. & Glombitza, K. W., 1991, Essential oils of *Achillea ptarmica*. *Planta Medica*, pp. 57, 492-494.
- Kutlular, Ö., 2007, Bazı Adaçayı Ve Kekik Türlerinin Uçucu Yağlarının Süper Isıtılmış Su İle Ekstraksiyonları Ve Gc-MS İle Karakterizasyonları. *Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Denizli*, pp. 19-20.
- Lacroix, M., Saucier, L., Caillet, S. & Qussalah., 2006, Inhibitory effects of selected plant essential oils on growth of four pathogenic bacteria: *E. coli* O157:H7, *Salmonella* Typhimurium, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*. *Food Control*, pp. 18(5):414-420.
- Lautenbach, E., Bilker, W. & Brennan, P., 1999, Enterococcal bacteremia: Risk factors for vancomycin resistance and predictors of mortality. *Infection Control Hospital Epidemiology*, p. 20:318.
- Lawrence, L., Livornese, J. M. D. & Dias., S., 1992, Hospitalacquired Infection with vancomycinresistant *Enterococcus faecium* transmitted by electronic thermometers. *Annals of Internal Medicine*, pp. 117:112-116.
- Leclercq, R., Derlot, E., Duval, J. & Courvalin, P., 1989, Plasmid-mediated resistance to vancomycin and teicoplanin in *Enterococcus faecium*. *Antimicrob Agents Chemother*, pp. 33(1):10-15.
- Lefort, A., Mainandi, J. L., Tod, M. & Lortholory, O., 2000, Antienterococcal antibiotics. *Medical Clinics of North America*, pp. 6:1471-1495.
- Lewis, C. & Zervos, M., 1990, Clinical manifestations of enterococcal infection. *European Journal of Clinical Microbiology-Infectious Diseases*, pp. 9: 111-117.
- Lopez-Malo Vigil, A., Palou, E. & Alzamora, S. M., 2005, Naturally occurring compounds plant sources.. %1 içinde *Antimicrobials in food*. Boca Raton, Florida: CRC Press, pp. (3rd ed., pp. 429–446).

- Ludwig, W., Schleifer, K. H., Whitman, W. B. & Family, I. V., 2009, Enterococcaceae fam. nov.: %1 içinde *Bergey's Manual of Systematic Bacterology Volume Three The Firmicutes*. Springer Dordrecht Heidelberg London New York: Second Edition, pp. 594-607.
- Marino, M., Bersani, C. & Comi, G., 1999, Antimicrobial activity of the essential oils of *Thymus vulgaris* L. measured using a bioimpedometric method. *Journal of Food Protection* , pp. 62 (9), 1017– 1023.
- Meriç, M., Rüzgar, M., Gündeş, S. & Willke, A., 2004, Hastanede yatan hastalardan izole edilen Enterokok türleri ve antibiyotiklere direnç durumu. *Antibiyotik ve Kemoterapi Derneği*, pp. 18(3): 141-144.
- Moellerig, R. C., 1992, Jr. Emergence of enterococcus as a significant pathogen. *Clinical Infectious Diseases*, pp. 14:1173-1178.
- Moellering, J. C., 2000, Enterococcus Species. %1 içinde *Principles and Practise of Infectious Diseases, 5th Ed.* . NewYork: Churcill Livingstone, pp. 2147-2156.
- Murray, B. E., 1990, The life and times enterococcus. *Clinical Microbiology Reviews*, p. 3: 45 – 65.
- Murray, B. E., 1998, Diversity among Multidrug-Resistant Enterococci. *Emerging Infectious Diseases*, pp. 4:37-47.
- Murray, B. E., 2000, Vancomycin-resistant enterococcal infections. *The New England Journal of Medicine*, pp. 342(10):710-721.
- Nakipoğlu, M. & Otan, H., 1992, Tıbbi Bitkilerin Flavanoitleri. *Anadolu Ege Tarımsal Araştırma Enstitüsü Dergisi*, pp. 4 (1): 70-93.
- Novak, J., Draxler, L., Gohler, I. & Franz, C. M., 2005, Essential oil composition of *Vitex agnus-castus* - comparison of accessions and different plant organs. *Flavor and Fragrance Journal*, pp. 20, 186-192.

- Oancea, C., Klare, I., Witte, W. & Werner, G., 2004, Conjugative transfer of the virulence gene, esp, among isolates of *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, pp. 54:232-235.
- Olawore, N. O., Ogunwande, I. A., Ekundayo, O. & Adeleke, K. A., 2005, Chemical composition of the leaf and fruit essential oils of *Murraya paniculata* (L.) Jack. (Syn. *Murraya exotica* Linn.). *Flavor and Fragrance Journal*, pp. 20, 54-56.
- Öngen, B. ve diğerleri, 1999, Glikopeptidlere ve denendiği bütün antibiyotiklere dirençli *Enterococcus faecium* susu. *Antibiyotik ve Kemoterapi Derneği*, pp. 13:501-505.
- Özmen, T. S. & Temiz, A., 2011, Gıda kaynaklı enterokokların gıda ve insan sağlığı yönünden önemi. *Gıda* , pp. 36 (5):303-310.
- Öztürk, B., Karabay, N. Ü. & Gökgünneç, L., 2002, *Türkiye’de doğal yayılış gösteren bazı Menta L. taxonlarından elde edilen uçucu yağların karşılaştırmalı antimikrobiyal etkileri*. Eskişehir, yazarı bilinmiyor, pp. 341-343. ISBN 975-94077-2-8.
- Özyurtlu, N., Yeşilmen, S. & Kaya, N., 2008, Diyarbakır ve Çevresindeki Sağlıklı Dış Sokak Köpeklerinde Siklus Dönemine Göre Vaginal Aerobik Bakteriyel Floranın Saptanması. p. 1 (1): 7 – 10.
- Paster, N. ve diğerleri, 1990, Inhibitory effect of oregano and thyme essential oils on moulds and foodborne bacteria. *Letters in Applied Microbiology* , pp. 11: 33-7.
- Paster, N., Menashero, M., Ravid, U. & Juven, B., 1995, Antifungal activity of oregano and thyme essential oils applied as fumigants against fungi attacking stored grain. *Journal of Food Protection*, pp. 58: 81-85.
- Patterson, J., 2000, New Gram-positive agents in nosocomial infection. *Current Opinion in Infectious Diseases*, p. 13:593.
- Pfaller, M. A., Tenover, F. C. & Tenover, R. H., 1999, In *Manual of Clinical Microbiology*. 7th Ed. Washington: American Society for Microbiology.

- Pintore, G. ve diğerleri, 2002, Chemical composition and antimicrobial activity of *Rosmarinus officinalis* L. oils from Sardinia and Corsica. *Flavour and Fragrance Journal* , pp. 17, 15-19.
- Portenier, I., Waltimo, T. M. & Haapasalo, M., 2003, *Enterococcus faecalis* – the root canal survivor and ‘star’ in posttreatment disease. *Endodontic Topics* , p. 6: 135–159.
- Ravichandran, M. ve diğerleri, 2011, Enhancement of antimicrobial activities of naturally occurring phenolic compounds by nanoscale delivery against *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella Typhimurium* in broth and chicken meat system. *Journal of Food Safety*, pp. 31, 462-471.
- Rice, L. B., 2005, Antibiotics and gastrointestinal colonizasyon by vancomycin-resistant *Enterococci*. *Journal of Clinical Microbiology Infectious Diseases*, pp. 24(12):804-814.
- Robert, C. & Moellering, R. C., 2005, *Enterococcus* species, *Streptococcus bovis* and *Leuconostoc* species. %1 içinde *Principles and Practice of Infectious Disease. Vol 2. sixth edition*. basım yeri bilinmiyor:Elsevier Churchill Livingstone , pp. 2411-2417.
- Rodrigues, J., Poeta, P., Martins, A. & Costa, D., 2002, The importance of pets as reservoirs of resistant *Enterococcus* strains, with special reference to vancomycin. *Journal of Veterinary Medicine B, Infectious Diseases and Veterinary Public Health*, pp. 49: 278-280.
- Rodríguez, H. ve diğerleri, 2009, Food phenolics and lactic acid bacteria. *International Journal of Food Microbiology*, pp. 132, 79–90.
- Roura, S. I., Valle, C. E., Ponce, A. & Moreira, M., 2005, Inhibitory parameters of essential oils to reduce a food born pathogen. *LWT - Food Science and Technology*, pp. 38(5): 565-570.
- Sandri, I. G. ve diğerleri, 2007, Antimicrobial activity of the essential oils of Brazilian species of the genus *Cunila* against foodborne pathogens and spoiling bacteria. *Food Chemistry*, Issue 103, p. 823–828.

- Sansar Yıldırım, D., 2015, Fekal ve Klinik Örneklerden Soyutlanan Enterokok Kökenlerinin Antibiyotik Duyarlılıklarının Saptanması. *Yüksek Lisans Tezi, Balıkesir Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Balıkesir*, pp 7-8.
- Schelz, Z., Molnar, J. & Hohmann, J., 2006, Antimicrobial and antiplasmod activities of essential oils. *Fitoterapia*, pp. 77: 279-285.
- Schleifer, K. H. & Klipper, B. R., 1987, Molecular and chemotaxonomic approaches to the classification of streptococci, enterococci and lactococci: a review. *Systematic and Applied Microbiology*, p. 10: 1 – 19.
- Schouten, M. A., Voss, A. & Hoogkamp, J., 1977, VRE and meat. *Lancet*, pp. 349:1259-9.
- Selen İşbilir, Ş., 2008, Yaprakları Salata-Baharat Olarak Tüketilen Bazı Bitkilerin Antioksidan Aktivitelerinin İncelenmesi. *Doktora Tezi, Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Edirne*, pp. 91-104.
- Seow, Y. X., Yeo, C. R., Chung, H. L. & Yuk, H. G., 2013, Plant Essential Oils as Active Antimicrobial Agents. *Food Science & Technology Programme*.
- Shankar, N. ve diğerleri, 2004, Enterococcal cytolysin: activities and association with other virulence traits in a pathogenicity island. *International Journal of Medical Microbiology*, pp. 293:609-618.
- Shepard, B. D. & Gilmore, M. S., 2002, Antibiotic resistant enterococci: the mechanisms and Dynamics of drug introduction and resistance. *Microbes and Infection*, pp. 4(2):215-24.
- Siegel, J., Knupfer, G. & Saukko, P., 2006, *Encyclopedia Of Forensic Sciences Vols 1-3 Elsevier pp*, pp. 146-161 .
- Simjee, S. ve diğerleri, 2002, Characterization of Tn1546 in vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* isolated from canine urinary tract infections: evidence of gene

exchange between human and animal enterococci. *Journal of Clinical Microbiology*, pp. 40,4659-4665.

Singh, A., Goering, R. V., Simjee, S. & Foley, S. L. Z. M. J., 2006, Application of Molecular Techniques to the Study of Hospital Infection. *Clinical Microbiology Reviews*, pp. 19: 512-530.

Sivropoulou, A. ve diğeri, 1996, Antimicrobial and cytotoxic activities of Origanum essential oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, pp. 44, 1202-1205.

Soković, M. ve diğeri, 2010, Antibacterial effects of the essential oils of commonly consumed medicinal herbs using an in vitro model. *Molecules*, pp. 15, 7532–7546.

Solórzano-Santos, F. & Miranda-Novales, M. G., 2012, Essential oils from aromatic herbs as antimicrobial agents. *Current Opinion in Biotechnology*, pp. 23, 136-141.

Sood, S., Malhotra, M. & Das-Arti Kapil, B. K., 2008, Enterococcal infections - Antimicrobial resistance. *Indian Journal of Medical Research*, pp. 128:111-112.

Spelman, D., 2002, Hospital-acquired infections. *MJA Practice Essentials*, pp. 176:286-29.

Svec, P. ve diğeri, 2001, Enterococcus haloperoxidase sp. nov. and Enterococcus moraviensis sp. nov., isolated from water. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, pp. 51:1567-1574.

Şahin, E., 2006, Bitkisel kaynaklı antimikrobiyallerin gıda kaynaklı bazı patojen mikroorganizmalar üzerinde etkileri. *Yüksek Lisans Tezi, İ.T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul*, p. 9.

Şardan, Y. Ç., 2004, Enterokoklarda direnç sorunu. %1 içinde *Yeni ve Yeniden Gündeme Gelen Enfeksiyonlar* . Ankara : Bilimsel Tıp Yayınevi, pp. 10-16.

Teixeira, L. A. & Facklam, R. R., 2003, Enterococcus. %1 içinde *Manual of Clinical Microbiology*. Washington: Eighth edition, ASM Pres, pp. 422-433.

- Teixeria, L. M., Carvalho, M. G. S. & Facklam, R. R., 2009, Enterococcus. %1 içinde *Klinik Mikrobiyoloji. 9.baskı*. Ankara: Atlas Kitapcılık, pp. 430-438.
- Tendolkar, P. M., Baghdayan, A. S. & Shankar, N., 2003, Pathogenic enterococci: new developments in the 21st century. *CMLS, Cellular and Molecular Life Sciences*, p. 60:2622–2636. 04.2004.
- Tenover, F. C. ve diğerleri, 1993, Ability of Clinical Laboratories to Detect Antimicrobial Agent-Resistant Enterococci. *Journal of Clinical Microbiology*, p. 3: (17).
- Toroglu, S., Dıgırak, M. & Çenet, M., 2006, Baharat olarak tüketilen Laurus nobilis Linn ve Zingiber officinale Roscoe bitki uçucu yağlarının antimikrobiyel aktiviteleri ve antibiyotiklere in-vitro etkilerinin belirlenmesi. *KSÜ. Fen ve Mühendislik Dergisi*, pp. 9 (1), 20-26.
- Turhan, D., 2015, Bazı Esansiyel Yağların Staphylococcus Aureus Ve Escherichia Coli Üzerine Antimikrobiyal Etkisinin Araştırılması. *Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul*, p. 14.
- Türkyılmaz, S., Erdem, V. & Bozdoğan, B., 2010, Investigation of antimicrobial susceptibility for enterococci isolated from cats and dogs and the determination of resistance genes by polymerase chain reaction.. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, pp. 34(1): 61-68.
- Uçan, F., 2008, DL-Limonenin mayalar üzerine antifungal etkisi. *Yüksek lisans tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana*, p. 62.
- Ultee, A., Bennink, M. H. J. & Moezelaar, R., 2002, The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen Bacillus cereus. *Applied and Environmental Microbiology*, pp. 68 (4), 1561–1568. PhD thesis, ISBN 90- 5808-219-9.
- Unat, E. K., 1985, *Temel Mikrobiyoloji*. İstanbul: Beta Basım Yayım AŞ..

- Unat, E. K., 1986, Gram Pozitif Koklar. %1 içinde *Tıp Bakteriyolojisi ve Virolojisi*, 2. Baskı. basım yeri bilinmiyor:İstanbul:Emek Matbaacılık, pp. 429-480 .
- Upadhyaya, P. M. G., Ravikumar, K. & Umapathy, B. L., 2009, Review of virulence factors of enterococcus: An emerging nosocomial pathogen. *Indian Journal of Medical Microbiology*, pp. 27:301-305.
- Uttley, A. H. C., Collins, C., Naidoo, J. & George, R., 1988, Vancomycin resistant enterococci. *Lanset*, pp. 1:57-58.
- Üner, Y., Aksu, H. & Ergün, Ö., 2000, Baharatın Çeşitli Mikroorganizmalar Üzerine Etkileri. *İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Vetfak dergi*, p. 1.
- Ünlü, F. N. ve diğerleri, 2008, *Tanacetum cadmeum* Bitkisinin Uçucu Bileşikleri ve Antimikrobiyal Aktivitesi. Trabzon, Karadeniz Teknik Üniversitesi.
- Van de Braak, S. A. A. J. & Leijten, G. C. J. J., 1999, Essential Oils and Oleoresins: A Survey in the Netherlands and other Major Markets in the European Union. *CBI, Centre for the Promotion of Imports from Developing Countries, Rotterdam*, p. 116.
- Vural, T., Şekercioğlu, A. S. & Ögünç, D., 1999, Vankomisine dirençli *Enterococcus faecium* suşu. *Antibiyotik ve Kemoterapi Derneği*, pp. 13(1):1-4.
- Wanda, P. ve diğerleri, 1976, Inactivation of the enveloped bacteriophage o6 by butylated hydro-xytoluene and butylated hydroxyanisole. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, p. 10 96.
- Wayne, P. A., 2011, Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. *Twenty-First Informational Supplement* , p. M 100 – S21 .
- Wegener, H. C., 1998, Historical yearly usage of glycopeptides for animals and humans: the American- European paradox revisited. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, p. 42:3049.

- Wegener, H. C. ve diğeri, 1999, Use of antimicrobial growth promoters in food animals and *Enterococcus faecium*. Resistance to Therapeutic Antimicrobial Drugs in Europe. *Emerging Infectious Diseases*, pp. 5:329-55.
- Wolter, N. ve diğeri, 2005, Novel Mechanism of Resistance to Oxazolidinones, Macrolides, and Chloramphenicol in Ribosomal Protein L4 of the *Pneumococcus*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, pp. 4:3554-3557.
- Yiğit, D., Yiğit, N., Aktaş, E. & Özgen, U., 2009, Ceviz (*Juglans regia* L.)'in Antimikrobiyal Aktivitesi. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, pp. 39(1-2): 7-11.
- Zirakzadeh, A. & Patel, R., 2006, Vancomycin-resistant *Enterococci*: Colonization, infection, detection and treatment. *Mayo Clinic Proceedings*, pp. 81(4): 529-536.

7. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı	Revza ÇELİK
Doğum Yeri	Kütahya
Doğum Tarihi	14.10.1982
Uyruğu	T.C.
Telefon	0505 746 9410
E-Posta Adresi	revzacelik@gmail.com

Eğitim Bilgileri	
Lisans	
Üniversite	Sakarya Üniversitesi
Fakülte	Eğitim Fakültesi
Bölümü	Fen Bilgisi Öğretmenliği
Mezuniyet Yılı	2004

Yüksek Lisans	
Üniversite	Ahi Evran Üniversitesi
Enstitü Adı	Fen Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı	Biyoloji
Programı	Mikrobiyoloji
Mezuniyet Tarihi	Devam ediyor