

**SAKIZ AĞACI (*Pistacia lentiscus* L.)  
VE KIZIL ÇAM (*Pinus brutia* Ten.)  
REÇİNELERİNİN ANTIMİKROBİYAL  
AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Murat YAVUZ

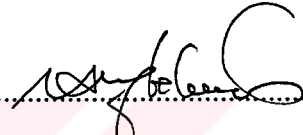

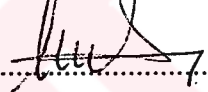
**YÜKSEK LİSANS TEZİ**  
( KİMYA ANABİLİM DALI )

17706

**T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU  
DOKÜMANTASYON MERKEZİ**

**T.C.**  
**DİCLE ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE**  
**DIYARBAKIR**

Bu çalışma, jürimiz tarafından Kimya Anabilim Dalı'nda YÜKSEK LİSANS tezi olarak kabul edilmiştir.

	<u>Jüri Üyesinin Ünvanı</u>	<u>Adı Soyadı</u>	<u>İmzası</u>
Başkan	:.....	Prof. Dr. M. Çetin AYTEKİN.....	
Üye	:.....	Doç.Dr. Necmettin PİRİNÇİOĞLU.....	
Üye	:.....	Yrd.Doç.Dr. Zübeyde BAYSAL.....	

Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

18/12/2000



Prof.Dr. H.İlhan TUTALAR  
Enstitü Müdürü

## TEŞEKKÜR

Çalışmalarımın başından bitimine kadar yakın ilgi ve desteğini gördüğüm, bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, çalışmalarım için bana gerekli koşulları sağlayan Sayın Hocam Prof.Dr. Çetin AYTEKİN'e teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Bu çalışmanın her aşamasında her türlü desteklerini esirgmeden yardımcı olan Dr. Murat KIZIL ve Dr. Göksel KIZIL'a teşekkürü bir borç bilirim.

Çalışmış olduğumuz bakterileri D.Ü. Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalından temin edilmesini sağlayan Doç.Dr. Selahattin ATMACA'ya, resimlerin çekiminde yardımcı olan Doç.Dr. Murat BİRİCİK'e, bitkilerin teşhislerini yapan Doç.Dr. A. Selçuk ERTEKİN'e ve benden yardımlarını esirgemeyen Yrd.Doç.Dr. Zübeyde BAYSAL ve Arş.Gör. Mehmet DOĞRU'ya, laboratuvar çalışmalarım sırasında arkadaşlıklarını esirgemeyen Moleküler Biyoloji Laboratuvarı'ndan Yrd.Doç.Dr. Fikret UYAR ve Arş.Gör. Ebru YILMAZ'a teşekkür ederim.

Ayrıca Yüksek Lisansa başlamam için beni teşvik eden ve aynı zamanda motive olmamı sağlayan Duygu BİLEN'e teşekkür ederim

## İÇİNDEKİLER

<b>1. GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
<b>1.1. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR</b> .....	<b>6</b>
<b>2. MATERYAL VE METOD</b> .....	<b>10</b>
<b>2.1. MATERYAL</b> .....	<b>10</b>
2.1.1. Kullanılan Bitki Reçineleri .....	10
2.1.2. Kullanılan Reçinelerin Elde Edildiği Bitkilerin Morfolojik Özellikleri .....	10
2.1.2.1. <i>Pistacia lentiscus</i> L. ....	10
2.1.2.2. <i>Pinus brutia</i> Ten. ....	11
2.1.3. Kullanılan Mikroorganizmalar .....	13
2.1.3.1. <i>Helicobacter pylori</i> .....	13
2.1.3.2. <i>Staphylococcus aureus</i> .....	14
2.1.3.3. <i>Streptococcus pyogenes</i> .....	15
2.1.3.4. <i>Escherichia coli</i> .....	16
2.1.3.5. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	17
2.1.3.6. <i>Bacillus cereus</i> .....	18
2.1.3.7. <i>Candida albicans</i> .....	18
2.1.4. Kullanılan Kimyasal Maddeler .....	18
2.1.5. Kullanılan Cihazlar .....	19
2.1.6. Kullanılan Besiyerleri .....	19
<b>2.2. METOD</b> .....	<b>20</b>
2.2.1. Biyopsi Örneğinden <i>H. pylori</i> İzolasyonu ve Karakterizasyonu .....	20
2.2.1.1. Gram Reaksiyon .....	20
2.2.1.2. Üreaz Testi .....	20
2.2.1.3. Katalaz Testi .....	20
2.2.1.4. Hareket Testi .....	21
2.2.2. <i>H. pylori</i> 'nin Büyüme Koşulları .....	21
2.2.3. <i>Pistacia lentiscus</i> Bitki Reçinesinin Asidik Fraksiyonunun Elde Edilmesi .....	21
2.2.4. Asidik Fraksiyonun Antibakteriyal Etkisinin Micro Broth Dilüsyon Yöntemi ile İncelenmesi .....	21
2.2.5. <i>Pinus brutia</i> 'dan Elde Edilen Reçinenin Test Edildiği Mikroorganizmalar ve Funguslar .....	22
2.2.6. Mikroorganizmaların Büyüme Koşulları .....	22
2.2.7. <i>Pinus brutia</i> Bitki Ekstraktlarının Hazırlanması .....	22
2.2.8. Stok Reçine Çözeltilerinin Hazırlanması .....	23

2.2.9. Disklerin Mikroorganizmalara Uygulanması .....	23
2.2.10. Disk Diffüzyon Yöntemi ile Antimikrobiyal Aktivitenini Araştırılması .....	23
2.2.11. Disk Diffüzyon Yöntemi .....	24
2.2.12. Dilüsyon Yöntemi .....	24
<b>3. BULGULAR .....</b>	<b>25</b>
3.1. <i>Pistacia lentiscus</i> Ağacından Elde Edilen Reçinenin <i>H. pylori</i> Üremesi Üzerindeki Engelleyici Etkisi .....	25
3.2. <i>Pinus brutia</i> Ağacından Elde Edilen Ham Reçinenin Klinik İzolatların Üremesi Üzerindeki Engelleyici Etkisi .....	25
3.3. <i>Pinus brutia</i> Ağacından Elde Edilen Ham Reçinenin Organik Ekstraktlarının Klinik İzolatların Üremesi Üzerindeki Engelleyici Etkileri .....	27
<b>4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA .....</b>	<b>28</b>
<b>5. TABLOLAR VE RESİMLER .....</b>	<b>33</b>
<b>6. İLAVELER .....</b>	<b>61</b>
6.1. İlaveler I. Bakteri Teşhisleri için Hazırlanan Besiyerlerinin Bileşimi .....	61
6.2. İlaveler II. Bakteri Teşhisleri için Hazırlanan Boyalar ve Reaktiflerin Bileşimi ....	62
<b>7. REFERANSLAR .....</b>	<b>63</b>
<b>5. ÖZGEÇMİŞ .....</b>	<b>67</b>

## AMAÇ

Dünyanın var oluşundan itibaren insanlar, kendi yakın çevrelerindeki bitkilerin yarar ve zararlarını deneme yanılma yöntemi ile keşfetmişler ve binlerce yıldır bitkisel tıbbın başarılarını gözlemlemişlerdir.

Günümüzde bilimin ilerlemesiyle birlikte daha çok kullanılmaya başlanan yarı sentetik antimikrobiyal maddelerin yan etkilerinin de olması ve bazı mikroorganizmaların zamanla bu kullanılan antimikrobiyal maddelere karşı çeşitli direnç mekanizmaları geliştirmeleri bu ilaçların kullanılmasını zamanla anlamsız hale getirmektedir. Bu nedenle yeni modifiye edilmiş antimikrobiyal maddelerin sentezlenmesi zorunlu olmakta ve bunun da ekonomik bir maliyeti olmaktadır. Hastalıkların, bitkilerle tedavi edilebileceği halk tarafından bilinmekle beraber, yan etkilerinin olup, olmadığı bir araştırma konusudur.

Bu çalışmada *Pistacia lentiscus* L. bitki reçinesinin kronik mide ve oniki parmak bağırsağı ülserinin yüzde 90'ından sorumlu *Helicobacter pylori* ve *Pinus brutia* Ten., bitkisinin dal ve gövdelerinden elde edilen ham reçinenin ve bunun metanol, hekzan, kloroform, petrol eteri, etil asetat ve n-bütanol ekstraktlarının *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* K12, *Escherichia coli* DH1, *Bacillus cereus*, *Bacillus brevis* ATCC bakterileri ve mantar olarak da *Candida albicans* üzerindeki antibiyotik etkilerinin belirlenmesi amaçlanmaktadır.

## ÖZET

Bu çalışmada iki farklı ağaçtan elde edilen reçinelerin değişik mikroorganizmalar üzerindeki antimikrobiyal etkileri araştırıldı.

Birincisi, Chios (Sakız) Adasının güneyinde yetişen Scinos (*Pistacia lentiscus*) ağacının gövdesinden salgılanan reçinenin asidik fraksiyonunun *Helicobacter pylori* üzerindeki antimikrobiyal etkisi broth dilisyon yöntemi ile araştırıldı.

*H. pylori* mikroaerofilik, gram negatif, üreaz pozitif ve spiral bir bakteri olup, insan midesinde kronik infeksiyonlara neden olduğu bilinmektedir. Bu kronik mide hastalıkları, peptik ülser ve gastrit kanser için potansiyel bir risk oluşturmaktadır.

Broth dilisyon yöntemi ile *H. pylori*'nin çoğalmasını önleyen en düşük reçine konsantrasyonu 0.06 mg/mL olarak bulundu.

İkinci olarak, Güney Anadolu dağlarında Mersin'in Anamur çevresinde yetişen *Pinus brutia* Ten. (Kızıl Çam) bitkisinin çıralı kök ve gövdesinden elde edilen, yöre halkı tarafından ciltte meydana gelen yaraların, hayvanların (keçi, deve gibi) derilerindeki hastalıkların tedavisinde geleneksel ilaç olarak kullanılan ham reçinenin (halk arasındaki adıyla sorkuç) ve metanol, hekzan, kloroform, petrol eteri, etil asetat ve n-bütanol ekstraktlarının antimikrobiyal aktiviteleri disk diffüzyon yöntemi ile araştırıldı. Çalışmada kullanılan *Staphylococcus aureus* (15 izolat), *Streptococcus pyogenes* (12 izolat), *Escherichia coli* (17 izolat), *Pseudomonas aeruginosa* (12 izolat) ve *Candida albicans* klinik izolatları Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Bölümünden temin edildi. *Escherichia coli* K12, *Escherichia coli* DHI, *Bacillus cereus*, *Bacillus brevis* ATCC bakterileri ise TÜBİTAK Marmara Araştırma Merkezi, Gen Mühendisliği ve Biyoteknoloji Araştırma Merkezinden temin edildi.

Çalışmada kontrol olarak Imipenem (10µg), Erythromycin (15µg), Ampicillin/Sulbactam (10µg/10µg) ve Amoxycillin (25µg) antibiyotikleri kullanıldı.

*Pinus brutia* Ten. bitkisinden elde edilen ham reçinenin ve organik ekstraktlarının denenmesi ile elde edilen zon çapları, test edilen organizmaların cinsine ve kullanılan konsantrasyonla orantılı olarak mikroorganizmaların gelişmelerini değişik oranlarda etkilediği tespit edildi. Elde edilen sonuçlar, geleneksel halk ilaçlarının potansiyel ilaç özelliği olan yeni doğal ürünler için devam eden araştırmalarımızda bir rehber olabileceğini göstermektedir.

## SUMMARY

In this study, resinous exudate obtained from two different trees were tested in respect of their antimicrobial and antifungal activities against different microorganisms.

The tree Scinos (*Pistacia lentiscus* L.) is grown in the south part of Chios Island. Firstly, the acidic fraction of the resinous exudate obtained from the roots and stems of *Pistacia lentiscus* were screened for antimicrobial activity against *H. pylori* by using broth dilution method.

*H. pylori* is a gram negative, microaerophilic, positive urease, curved (2 to 5 µm length, 0.5 to 1 µm diameter) bacterium and morpholog includes spiral, rod, gull-winged, U-shapped and cocoid forms. It is well know that *H. pylori* causes chronic bacterial infection in human stomach. This cronic infections are potential risk factor for peptic ulcer diseases and that is associated with gasrit carcinoma.

The minimal bacterial concentration of the resinous exudate for *H. pylori* were found to be 0.060 mg/mL by broth dilution method.

Secondly, the antimicrobial activity of the resinous exudate obtained from the stems and roots of *Pinus brutia* Ten. was tested against some microorganisms. *Pinus brutia* localised in the inner Taurus mountain of South Anatolia. In this region, resinous is utilised for infections in the skin of human and animals. The antimicrobial activity of crude and methanol, hexane, chloform, petroleum ether, ethyl acetate and n-butanol extracts of resinous obtained from the roots and stems of *Pinus brutia* (red pine) used in the folk medicine of Turkey, were screened *in vitro* for antimicrobial activity against clinically isolated bacterial strains; *Staphylococcus aureus* (15 isolates), *Streptococcus pyogenes* (12 isolates), *Escherichia coli* (17 isolates), *Pseudomonas aeruginosa* (12 isolates) and yeast fungus *Candida albicans* (1 isolate) by paper disc diffusion method. All the clinical test organisms were obtained from the Microbiology Department at the Universty of Dicle. *Escherichia coli* K12, *Escherichia coli* DH1, *Bacillus cereus* and *Bacillus brevis* ATCC were obtained from TÜBİTAK, Marmara Research Center, Gen Engineering and Biotechnology Research Institute.

The antibiotic dise contained, Imipenem (10µg/disc), Erythromycin (15µg/disc), Ampicillin/Sulbactam (10µg/10µg/disc) ve Amoxycillin (25µg/disc) were used as a positive controls.



This study shows that the crude extracts of resinous of *Pinus brutia* exhibited high activity and all organic extracts show similar moderate antimicrobial activity against tested microorganisms. The result suggest that traditional folk medicine could be used a guide in our continuing search for a new natural products with potential medicinal properties.



## 1. GİRİŞ

Doğaya dönüş akımı, her alanda olduğu gibi ilaç ve tedavi alanında da başta Amerika Birleşik Devletleri olmak üzere tüm dünyada hızla yayılmaktadır. Bu akım Fitoterapi olarak adlandırılmaktadır. Fitoterapi bir bilim dalıdır ve hastalıkları iyileştirmek için bitkilerle tedaviyi öngörür. Fitoterapi terimi ilk kez Fransız hekim Henri Leclerc tarafından 1955 yılında telaffuz edilmiştir. Son yıllarda fitoterapinin daha fazla önem kazanmasında; alışlagelmişe karşı olan eğilimin yanı sıra tıbbi bitkilerin yeni formlarda sunulmasının da rolü vardır. Fitoterapi de diğer terapi dalları gibi yani kemoterapi, hidroterapi, elektroterapi gibi tıbbın bir alanıdır. Ülkemizde yeterince anlatılmadığı için belki hemen akla “kocakarı ilaçları” ya da “aktarlar” gelebilir. Oysa Eczacılık Fakültelerinin Farmakognozi anabilim dallarında bu konu ile ilgili dersler yer almaktadır<sup>1</sup>.

17. yüzyılda eczacı tanımı şöyle yapılmıştır “İспенçiyar diye dükkanlarında otlar, eczalar mevcut olup, tabibin ısmarladığı üzere şerbetler macunlar yapan kimseye denir”. Bu tanıma göre ilaç yapımında tıbbi bitkilerin kullanıldığı görülmekte ve bu konuda eczacıların uzman kişiler olduğu belirtilmektedir. Aktarlar ise ilaçların yapılmasında kullanılan bitkisel, hayvansal ve mineral ilkel maddeleri (drog) satanlar için kullanılan bir deyimdir. Eczacı ve aktarlar arasındaki en önemli fark aktarların sadece bitki satmaya yetkili olması, eczacının bitki ile ilgili tavsiyelerde bulunması ve bu bitkilerden preparat hazırlama bilgi birikimine sahip olmasıdır. Ayrıca eczacılar aktarlardan alınan drogların, standartlara uygun olup olmadığını, başka droglarla karıştırılıp karıştırılmadığını, etken madde miktarının uygun olup olmadığını ve en önemlisi satılan drogun gerçekten aranan drog olup olmadığını, mikroskobik ve kimyasal analizlerle belirleyebilecek niteliklere sahip olarak eğitim almış kişilerdir. Aktarlar işi ilaç hazırlamaya vardırıncaya Türk Eczacılar Birliği 1986 yılında bu işe bir nokta koymuş ve Sağlık Bakanlığı aracılığı ile kendilerine neleri yapamayacakları bildirilmiştir. Bugün aktarlar bitki karışımlarını satamamakta sadece ayrı ayrı bitki satabilmektedirler<sup>2</sup>.

Sadece kazanç sağlamak için sağlıkla ilgili bir konuda dolandırıcılık yapmak elbette çok tehlikelidir. Buna engel olmak, kültür düzeyi yüksek, bilinçli kişilere düşmektedir. Sahteciliğe sadece ülkemizde değil, diğer ülkelerde de rastlanmaktadır.

Örneğin Alman İlaç Kontrol enstitüsünde görevli Dr. Manfred Steinigen “Pharmazeutische Zeitung” adlı dergide insan sağlığını tehdit eden veya hiçbir etkiye sahip olmayan ilaç ve kozmetikleri afişe etmiştir<sup>1,3</sup>.

Kimya endüstrisinin gelişmesi ile birlikte bitkilerle tedavi bir kenara itilmiş ve sentetik ilaçlar önem kazanmaya başlamıştır. Prensip olarak fitoterapötikler ile kemoterapötikler birbirinden farklı değildir. Fitoterapötiklerin içinde de temelde kimyasal maddeler bulunmaktadır. Sadece doz ayarlamada zorluklar çıkabilir. Kimyasal maddeler saf halde kullanıldıkları için mg/kg dozajı ayarlamak kolaydır. Bitkilerle tedavide durum farklılıklar gösterir<sup>1</sup>.

Dünyada birçok ülkeye baktığımızda bitkisel ilaçlarla tedavi uygulamalarının pek de az olmadığını görürüz. 1991 yılında Avrupa Topluluğuna üye ülkelerde yapılan bir araştırma 1400 bitkisel drogun kullanıldığını göstermiştir. Halen Almanya’da tüm hekimlerin % 80’i bitkisel ilaçları düzenli olarak reçetelerine yazmaktadırlar ve 1993’te İngiltere’de bitkisel ilaç tüketiminde % 57’lik bir artış meydana gelmiştir. ABD’de her yıl terkininde yüksek bitkilerden en az bir drog bulunan 125 milyon reçete yazılmaktadır. 1996 yılında ABD’de yapılan bir araştırmaya göre beş bitkisel drogun % 33’lük pazar payına sahip olduğu anlaşılmıştır. Bunlar; *echinaceae* % 9.6, sarımsak % 7.2, ginseng % 6.4, *ginkgo* % 5.1 ve hidrastis % 4.7’dir. Japonya’da 1974 ile 1989 yılları arasında tıbbi bitkisel ürün satışında 15 kat büyüme gözlenmiştir. Çin’de nüfusun en az % 85’ini teşkil eden 1 milyar kişi bitkisel ilaç kullanmaktadır. Güney-doğu Asya’da en az 800 milyon kişinin bitkisel ilaçlarla tedavi olduğu tahmin edilmektedir. Hindistan’da 7 bin tıbbi bitki geleneksel tıp sistemlerinde kullanılmaktadır<sup>4</sup>.

Günümüzde dünya nüfusunun % 80’inin bitkisel drogları kullandığı Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından bildirilmektedir. Hastalıkların tedavisinde kullanılan bitkisel drogların % 74’ü geleneksel tıpta kullanılan bitkilerden elde edilmiştir. Tıbbi bitkilerle tedavi kültür ve geleneğe dayanmaktadır. Anadolu halkının yabani bitkileri ilaç olarak kullanışı çok eski devirlere kadar uzanmaktadır. Kırsal bölgelerde ilaç hazırlamak için genellikle çevrede yetişen veya yetiştirilen bitkiler kullanılmaktadır. Bitkilerin organizmaları öldürücü ve insan sağlığı için önemli olan özellikleri 1926 yılından bu yana araştırılmaya başlanmıştır<sup>1,5,6</sup>.

Dünya Sağlık Örgütü'nün 91 ülkenin farmakopelerine ve tıbbi bitkileri üzerine yapılmış olan bazı yayınlara dayanarak hazırladığı bir araştırmaya göre, tedavi amacıyla kullanılan tıbbi bitkilerin toplam miktarı 20 bin civarındadır<sup>4,5</sup>.

Aromatik bitkiler, çay, baharat ve çeşni uçucu yağ ve ekstre kaynağı olarak kullanılmaktadır. Biyolojik etkileri deneysel olarak ispatlandığından tıbbi olarak tedavi edici oldukları kabul edilebilir.

Fitonsidler (bitkilerin sentezlediği ve mikroorganizmaları öldüren veya gelişmelerini engelleyen maddeler) bitki dokularının zedelenmeleri veya herhangi bir enfeksiyon halinde, hücrelerde lokalize olan inaktif haldeki ana bileşenden enzimatik olarak meydana gelmektedir. Oldukça zengin bir floraya sahip ülkemizde 9000'e yakın bitki türü doğal olarak yetişmesine rağmen bunlardan yeterince yararlanılmamaktadır. Kimyasal içerikleri üzerindeki çalışmalar ise çok yavaş yürümektedir<sup>5</sup>. Bu bilgilerin ışığı altında *Pistacia lentiscus* L. ve *Pinus brutia* Ten. bitkilerinin çeşitli organizmalar üzerindeki antimikrobiale aktiviteleri *in vitro* olarak araştırıldı.

Bu çalışmada kullanılan reçinelerden bir tanesi *Anacardiaceae* ailesine ait *Pistacia lentiscus* ağacının gövdesinden salgılanan reçinedir. Bu ağaç 2-3 metre uzunluğunda olup, bazen yüksekliği 5 metreye kadar çıkabilmektedir. *Pistacia lentiscus* bitki reçinesi, Dünya Sağlık Örgütü tarafından 1997 yılında birinci sınıf kanserojen olarak sınıflandırılan *Helicobacter pylori*'ye<sup>7</sup> karşı antimikrobiyal etkisi broth dilisyon yöntemi ile incelendi.

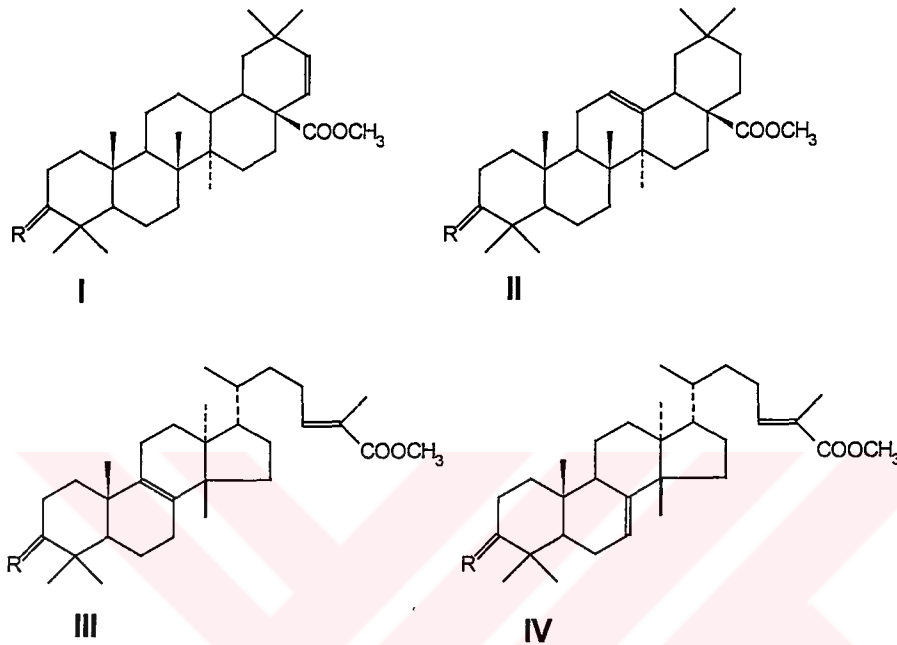
*H. pylori* gram negatif, 2-5 µm uzunluğunda, 0.5–1 µm çapında, 3-6 flajele sahip hareketli bir basil olup, midenin asit şartlarında yaşamını devam ettirebilen nadir mikroorganizmalardan biridir<sup>8</sup>.

*H. pylori* ilk defa Marshall ve Warren tarafından 1983 yılında gastrit biyopsiden izole edilmiştir. Bu bakteri insanoğlunun maruz kaldığı en yaygın enfeksiyonlardan biri olup, Tip B gastrite, peptik ülser ve mide kanseri gibi önemli hastalıklara neden olabileceği bilinmektedir<sup>9</sup>.

Türkiye'de 25 yaşın üzerinde 100 kişiden 84'ünde ülserin faili olan *H. pylori* olduğu ve her 100 kişiden 21'i ülser olabileceği bilinmektedir. Klinik olarak reçinenin gastrit ülser<sup>10</sup> ve duodenal ülser<sup>11</sup> tedavisinde etkili olduğu belirlenmiştir. Ham reçinenin *in vitro* koşullarda *H. pylori*'ye karşı antibakteriyel etkisinin olduğu gösterilmiştir<sup>12</sup>.

Gaz-Kütle Spektrofotometresi ile yapılan çalışmalarda reçinenin triterpenoidlerce zengin olduğu tespit edilmiştir.

Aşağıda reçinenin asidik fraksiyonundan elde edilmiş bazı triterpenoidlerin yapıları gösterilmiştir<sup>13</sup>.



Numara	Triterpenoidler	Yapı Tipi	R
1	Metil moronat	I	O
2	Metil oleanonat	II	O
3	Metil 18 $\alpha$ H-oleanat	II	O
4	Metil oleanolat	II	$\beta$ -OH,H
5	Metil izomastikadienonat	III	O
6	Metil 3-epi-izomastikadienolat	III	$\alpha$ -OH,H
7	Metil mastikadienonat	IV	O
8	Metil mastikadienolat	IV	$\beta$ -OH,H
9	Metil 3-asetoksi-3-epi-izomastikadienolat	III	$\alpha$ -CH <sub>3</sub> COO
10	Metil 3-asetoksi-3-epi-mastikadienolat	IV	$\alpha$ -CH <sub>3</sub> COO

**Şekil 1.1.** *Pistacia lentiscus* bitki reçinesinin asidik fraksiyonundan elde edilen bazı triterpenoidlerin yapıları.

Çalışmamızda *Pistacia lentiscus* ağacından salgılanan ham reçinenin asidik fraksiyonunun *H. pylori* üzerindeki antimikrobiyal etkisi mikro broth dilüsyon yöntemiyle araştırıldı.

Çalışmada kullanılan bir diğer reçine ise *Pinus brutia* Ten. bitkisinden elde edilen ham reçinenin ve organik ekstraktlarının çeşitli klinik bakteri izolatları ve funguslara karşı olan antibakteriyal ve antifungal etkileri disk agar diffüzyon yöntemi ile araştırıldı. Aynı zamanda bu bitkinin çıralı kök ve gövde parçalarının yakılması ile katran (halk arasındaki adıyla pese) da elde edilmektedir.

Katran siyah renkli, bal kıvamında, özel ve kuvvetli kokulu, kalın bir sıvıdır<sup>14</sup>. Ülkemizde Güney Anadolu dağlarında yetişen bazı ağaç türlerinden Dioscorides döneminden beri katran elde edilmektedir<sup>14,15</sup>. Üretim bilhassa Toros dağlarının yaylalarında yapılmaktadır. Katran elde edilmesine yaylalarda karın erimesiyle başlanır ve tekrar kar yağınca kadar devam edilir<sup>16</sup>. Katran elde eden şahıslara “katrancı” ismi verilir. Katran elde edilmesi ile tanınmış bazı dağlara da “Katran dağı” ismi verilmiştir<sup>14</sup>. Katran eldesi Osmanlı İmparatorluğu döneminde şimdikine göre daha yüksek idi. 1913 yılında yalnız Seyhan ve İçel vilayetleri dahilinde elde edilen katran miktarı, yarısı sarı katran (*Cedrus libani* A. Rich. bitkisinden elde edilen katran) olmak üzere 2830 kentali buluyordu<sup>14</sup>.

Bugün elde edilen miktarın, eski yıllara göre çok düşük olmasının başlıca nedeni, katran elde etmenin ormanlarda yaptığı tahribat ve yangınlara sebep olması gibi nedenlerle katran elde etmenin Orman İdaresince sınırlandırılmış olmasıdır<sup>17</sup>.

6831 sayılı orman yasasının 18. maddesi uyarınca, katran ocağı yakılmasına ancak, orman sınırının 4 kilometre uzaklıktaki yerlerde izin verilmesidir.

*Pinus brutia* Ten., bitkisinden elde edilen kara katranın halk tarafından, ciltte meydana gelen yaraların, hayvanların (keçi, deve gibi) derilerindeki hastalıkların tedavisinde çok kullanılmaktadır. Arpa veya leblebi unu ile hap yapılarak dahilen mide hastalıklarına karşı da kullanılmaktadır<sup>14</sup>.

*Pinus brutia*'dan elde edilen ham katran ve metanol, hekzan, kloroform, petrol eteri, etil asetat ve n-bütanol ekstraktlarının *in vitro* koşullarda *S. aureus* (15 izolat), *S. pyogenes* (12 izolat), *E. coli* (17 izolat), *P. aeruginosa* (12 izolat) ve *E. coli* K12, *E. coli* DH1, *B. cereus*, *B. brevis* ATCC bakterileri ve *C. albicans* mayası'na karşı olan antimikrobiyal ve antifungal etkisi araştırıldı.

## 1.1. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Al-Habbal ve ark. (1984), placebo (hastaya ilaç diye verilen tesirsiz madde) ve mastiğin (*Pistacia lentiscus* bitkisinin gövdesinden salgılanan reçine) duodenal ülser üzerine etkilerini, endoskopik olarak duodenal ülserli 38 hastada yaptıkları çalışmada hastaların oral yolla 2 hafta boyunca mastik (günde 1g, 20 hastada) ve placebo (laktoz, günde 1g, 18 hastada) karşı yanıtlarını karşılaştırmışlar. Bu çalışmaları sonucunda, endoskopik iyileşme, mastikte 14 (% 70) hastada ve placeboda 4 (% 22) görmüşlerdir. Ayrıca mastiğin hiç bir yan etki göstermediğini de belirlemişlerdir<sup>11</sup>.

Al-Said ve ark.(1986), *Pistacia lentiscus* bitkisinin gövdesinden salgılanan reçinenin etkisini, gastrit ve duodenal ülserli fareler üzerinde deneysel olarak çalışmışlardır. Reçine 500 mg/kg dozda farelere verildiğinde, aspirin, fenil bütazon ve resperin gibi maddelerin meydana getirmiş olduğu ülserin iyileştiğini belirtmişlerdir<sup>18</sup>.

Schiller ve Grunwald (1987), deneysel amaçlı, arazilerde yetişen farklı bitki kaynaklarından yedi yaşındaki *Pinus brutia* ağaçlarından toplanan cortex reçinesinin analizlerini GLC ve GC-MS yardımıyla yapmışlardır. Aynı ağaçlardan elde edilen *Pinus brutia* subsp. *brutia* cortex reçinesi tekli monoterpen bileşiminin *Pinus brutia* subsp. *eldarica* ve *Pinus halepensis* Mill.'den çarpıcı bir biçimde farklı olduğunu belirlemişlerdir<sup>19</sup>.

Mitrokotsa ve ark. (1993), yeni bir madde olan kaempferol 3-O- $\alpha$ -L-(2''-E-p-coumaroyl)-rhamnopyranoside, flavonoidler olarak bilinen kaempferol 3-O- $\beta$ -D-(6''-E-p-coumaroyl)-glucopyranoside, kaempferol 3-O- $\alpha$ -L-(2'',3''-di-E-p-coumaroyl)-rhamnopyranoside ve kafeik asit *Platanus orientalis* L. buds.'un metanol ekstraktından elde etmişlerdir. Bütün bileşimleri kolon kromatografisi ile ayırıp, NMR ve kütle spektroskopisi teknikleri kullanılarak bunların yapılarını aydınlatmışlardır. *In vitro* koşullarda bütün ekstraktların gram pozitif ve gram negatif organizmalara karşı etkili olduğunu saptamışlardır<sup>20</sup>.

Türkiye'de, *Cedrus libani* (sedir ağacı), *Centaurea solstitialis* ssp. *solstitialis* (peygamber çiçeği), *Cistus laurifolius* (laden), *Hypericum scabrum* (binbirdelik otu), *Plantago major* (sinirli ot), *Sambucus ebulus* (mürver otu) ve *Spartium junceum* (katırtırnağı) bitkilerinin çeşitli kısımları ülser tedavisinde geleneksel ilaç olarak kullanılmaktadır. Yeşilada ve ark. (1993), bu bitkilerin çeşitli ekstraktlarını ülserli fareler üzerinde denemiştir. Bu çalışmalarında farmakolojik deneyler açıkça

göstermiştir ki tüm bitkilerin su ekstraktları farelere oral yoldan verildiğinde önemli anti ülserojenik aktivite gösterdiğini belirlemiştirler<sup>21</sup>.

Tassou ve Nychas (1995), *Pistacia lentiscus* bitki reçinesinin *Staphylococcus aureus*, *Lactobacillus plantarum*, *Pseudomonas fragi* ve *Salmonella enteritidis* mikroorganizmalarının büyümelerini inhibe edici etkilerini incelemiştirler. Gram pozitif bakterilerin büyümesine nispeten, gram negatif bakterilerin büyümelerini inhibe edici etkisinin daha fazla olduğunu belirlemiştirler. Ayrıca *Salmonella enteritidis*'e karşı inhibe edici etkinin EDTA'nın varlığında arttığını tespit etmişlerdir<sup>22</sup>.

Bıçakçı ve ark. (1998), *Thecocarpus carvifolius* (Boiss.) Hedge & Lamond (Umbelliferae)'dan etil asetat, aseton, kloroform ve etanol ekstraktlarını hazırlayarak disk diffüzyon yöntemi ile test mikroorganizmalarına karşı bu ekstraktların antimikrobiyal etkilerini denemiştirler. Test mikroorganizmaları olarak *Klebsiella pneumoniae* UC 57, *Escherichia coli* ATCC 11230, *Salmonella thyphimurium* CCM 5445, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P, *Listeria monocytogenes* ATCC 19117, *Corynebacterium xerocis* CCM 2824, *Mycobacterium simegmatis* CCM 2067, *Candida utilis* LA 991, *Sacchromyces cerevisiae* ATCC 763, *Kluyveromyces fragilis* NRRL 2415, *Rhodotorula rubra*, *Aspergillus terreus*, *Penicillium frequestans*, *Trichoderma viridae* ve *Fusarium oxysporium*'u kullanmışlardır. Sonuç olarak *Thecocarpus carvifolius* ekstrelerinin bazı bakteri (özellikle *Staphylococcus aureus*), maya kültürleri (özellikle *Candida utilis*) ve filamentöz funguslara (özellikle *Aspergillus terreus* ve *Penicillium frequestans*) karşı antagonistik etkilerinin bulunduğunu rapor etmişlerdir<sup>23</sup>.

Huwez ve ark. (1998), Mastiğin (*Pistacia lentiscus*'un dal ve gövdesinden salgılanan reçine) gastrit ve duodenal ülserle neden olan *H. pylori*'ye karşı etkili olduğunu belirlemiştirler. Bu çalışmada, ham mastiğin *H. pylori* NCTC 11637 suşu (bir standart referans suş) ve 6 tane klinik izolat (metronizadola karşı üçü duyarlı diğer üçü ise dirençli) üzerine denemiştir. Bütün suşlar için minimum bakterisidal konsantrasyonun 0.06 mg/mL olduğunu bulmuşlardır<sup>12</sup>.

Sür-Altınar ve ark. (1998), Yaptıkları çalışmada *Ferulago thirkeanea* (Boiss.) Boiss. (Apiaceae) bitkisinin toprak üstü kısımlarından hazırlanan; kloroform-etanol (1:1) ekstresi, *Heracleum sphondylium* L.'nin petrol eteri ve etanol ekstraktların antibakteriyal ve antifungal etkilerini disk diffüzyon yöntemi ile incelemiştirler. *Ferulago thirkeanea* bitkisinin kloroform-etanol (1:1) ekstresinin inceledikleri 8



bakteriye ve 5 mayaya etkisinin olmadığını belirlemişlerdir. *Heracleum sphondylium* bitkisinin ise etanol ekstresinin inceledikleri 8 bakteriden *C. diphteriae*'ye ve *E. faecalis*'e karşı etkili olduğu, inceledikleri 5 mayadan ise *C. guilliermondii*'ye etkili olduğunu saptamışlardır. Aynı bitkinin petrol eteri ekstresinin 8 bakteri ve 5 maya üzerinde etkisinin olmadığını rapor etmişlerdir<sup>24</sup>.

Dığrak ve ark. (1999), Türkiye Kahramanmaraş'da yetişen bazı ağaçların çeşitli bölümlerinden elde edilen maddelerin antimikrobiyal aktivitelerini disk difüzyon yöntemi ile araştırmışlardır. Çalışmalarında *Pinus brutia* Ten., *Juniperus oxycedrus* L., *Abies cilicia* Ant. *Cedrus libani* A. Rich. ve *Pinus nigra* Arn. Bitkilerinin çeşitli kısımlarının kloroform, aseton metanol ekstraktlarını *Bacillus megaterium* DSM 32, *Bacillus subtilis* IMG 22, *Bacillus cereus* FMC 19, *Escherichia coli* DM, *Klebsiella pneumoniae* FMC 3, *Enterobacter aerogenes* CCM 2531, *Staphylococcus aureus* Cowan 1, *Mycobacterium smegmatis* RUT, *Proteus vulgaris* FMC 1, *Listeria monocytogenes* Scoot A, *Pseudomonas aeruginosa* DSM 5007, *Candida albicans* CCM 314, *Candida tropicalis* MDC 86 ve *Penicillium italicum* K. mikroorganizmalarına karşı denemişlerdir. Sonuç olarak hiç bir ekstraktın antifungal etki göstermediği ve *E. coli*'ye karşı *A. calicia* bitkisinin kloroform ve aseton ekstraktları hariç diğer bitki ekstraktlarının etkili olmadığını rapor etmişlerdir<sup>25</sup>.

Larhsini ve ark. (1999), Fas'ta geleneksel ilaç olarak kullanılan *Calotropis procera*, *Piper album*, *Piper nigrum*, *Chenopodium ambrosioides* ve *Lupinus albus* bitkilerinin çeşitli kısımlarının ekstraktlarının antibakteriyal etkisini disk difüzyon yöntemi ile incelemişlerdir. Ayrıca *Sium nodiflorum* bitki ekstraktının ise antiparasidal etkisini incelemişlerdir. Sonuç olarak; test edilen tüm bakterilere karşı *Calotropis procera* bitkisinin n-bütanol ekstraktının en yüksek aktiviteyi gösterdiğini belirlemişlerdir. *Sium nodiflorum* bitkisinin dietil eter ekstraktının *Trichomonas intestinalis* ve *vaginalis* parazitlerine karşı aktivitesini belirlemişlerdir<sup>26</sup>.

Mansouri (1999), *Menta viridis* L., *Myrtus communis* L., *Glycyrrhiza glabra* L., *Eucalyptus globulus* Labill., *Satureia hortensis* L., *Teucrium polium* L., *Achillea santolina* L., *Trigonella foenum gracecum* L., *Echium amoenum* Fisch & Mey., ve *Juglans regia* L. bitkilerinin etanol ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitesini 489 klinik izolat *Staphylococcus aureus*'a karşı test etmiştir. Bu izolatların % 98.6'sı trimet-hoprim-sulfamethoxazole antibiyotiklerine karşı duyarlıdır. *Myrtus communis* L.'nin

izolatların % 99'unun büyümesini inhibe eden antibakteriyal aktivitesini belirlemiştir. *Glycyrrhiza glabra* L., *Eucalyptus globulus* Labill. ve *Menta viridis* L. bitki ekstraktlarının ise sırasıyla % 90.0, % 59.5 ve % 48.7 oranında bakterilerin büyümelerini inhibe ettiğini tespit etmiştir<sup>27</sup>.

Türkiye florasında bulunan 35 bitkiden elde edilen 76 ekstrakt Sökmen ve ark. (1999), tarafından 5 patojenik bakteri ve bir mayaya karşı olan antibakteriyal etkileri *in vitro* olarak incelenmiştir. *Rhus coriaria*, *Pimpinella anisum*, *Hypericum capitatum*, *Hypericum scabrum*, *Thymus fallax*, *Allium scorodoprasum*, *Nigella sativa* ve *Perganum harmala* bitki türlerinden elde edilen 16 ham ekstraktan en az bir ya da daha fazla mikroorganizmaya karşı aktivite gösterdiğini tespit etmişlerdir<sup>28</sup>.

Yeşilada ve ark. (1999), geleneksel ilaç olarak gastrit ve peptik ülserin tedavisinde kullanılan 7 Türk bitkisi ve ekstraktlarının anti-*H. pylori* etkilerini agar dilisyon metodunu kullanarak bir standart suş ve 8 klinik izolat üzerinde çalışmışlardır. *Cistus laurifolius*, *Spartium junceum*, *Cedrus libani*, *Centaurea solstitialis* ssp. *solstitialis*, *Momordica charantia*, *Sambucus ebulus* ve *Hypericum perforatum* çeşitli kısımlarının ekstraktları kullanılmıştır. Sonuç olarak *Spartium junceum* bitki ekstraktı hariç diğer bitki ekstraktlarının MICs' 1.95 ve 250 µg/mL arasında aktivite gösterdiğini tespit etmişlerdir<sup>29</sup>.

Kelmanson ve ark. (2000), Güney Afrika Zulu'da geleneksel ilaç olarak kullanılan 14 bitkinin su, metanol ve etil asetat ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitelerini incelemişlerdir. *Dioscorea sylvatica* bitki ekstraktının gram negatif *E. coli*'ye ve *Dioscorea dregeana*, *Cheilanthes viridis* ve *Vernonia colorate* bitki ekstraktlarının ise *P. aeruginosa* bakterisine karşı aktivitesini belirlemişlerdir. Ekstraktların çoğunun gram pozitif bakterilere karşı aktif olduklarını belirlemişlerdir. Genelde metanol ekstraktlarının, su ve etil asetat ekstraktlarına nazaran daha yüksek aktivite gösterdiğini tespit etmişlerdir<sup>30</sup>.

## 2. MATERYAL VE METOD

### 2.1. MATERYAL

#### 2.1.1. Kullanılan Bitki Reçineleri

Mastic, Chios Gum mastic, The Chios Gum mastic Growers Association P.O. Box 110, Chios 82100-Yunanistan'dan temin edildi. Kızıl çam reçinesi Mersin Anamur çevresinden temin edildi.

#### 2.1.2. Kullanılan Reçinelerin Elde Edildiği Bitkilerin Morfolojik Özellikleri

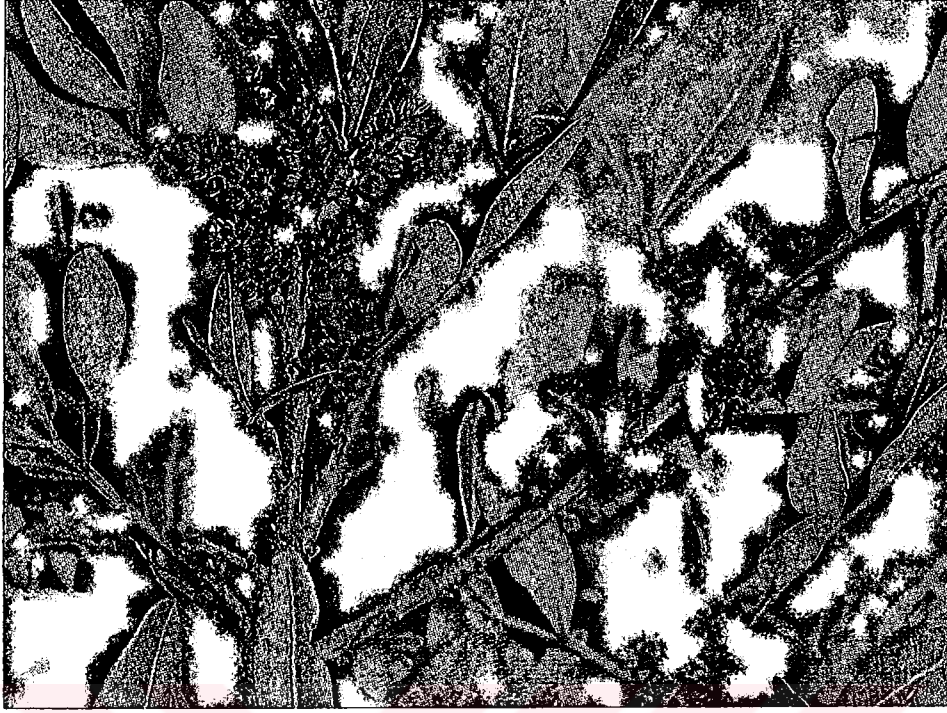
Çalışmanın materyalini oluşturan reçinelerin elde edildiği bitki örnekleri Dr. A. Selçuk ERTEKİN tarafından teşhis edildi. Teşhis edilen bitki örnekleri Dicle Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi Herbaryumunda (DUF) saklanmaktadır.

##### 2.1.2.1. *Pistacia lentiscus* L.

*Pistacia lentiscus* L. (Sakız Ağacı) 3-5 m'ye kadar boylanabilen, sık dallı, herdem yeşil çalimsı bitkiler veya küçük ağaççıklardır. Gövde kabuğu koyu renkli ve pulludur. İlk yıllarda sürgünler kahverengi-kırmızı ve tüysüzdür. Yapraklar paripinnat (çift tüysü), derimsidir. Yaprakcıklar 2-4, nadiren 5-7 çift, tüysüz, mızraksı şekilli, 1.5-3.5 cm boyunda, 0.6-1.5 cm eninde ve uçları küttür. Yaprak eksenini belirgince kanatlıdır.

Çiçekleri küçük, koyu kırmızı renkli olup kısa sürgünler üzerinde salkımlar halinde bulunur. Meyve yuvarlakça olup sivri uçludur. Önceleri kırmızı sonra siyah bir renk alır. Salkım halinde çoğu bir arada bulunur.

**Genel coğrafi yayılışı:** Kanarya Adaları'ndan başlayarak bütün Akdeniz kıyılarında yayılmıştır. Türkiye'nin Batı ve Güney Anadolu kıyılarında yaygındır<sup>31,32</sup>.



**Resim 2.1.1.** *Pistacia lentiscus* L. ağacı.

#### **2.1.2.2. *Pinus brutia* Ten.**

*Pinus brutia* Ten. (Kızıl Çam) bitkisi 15-20 m, bazen 25 m'ye kadar boylanabilen kalın dallı bir ağaçtır. Gövde yüzeyi genellikle düzgün değildir. Bazen düzgün gövdeli ağaçlara da rastlanır. Sürgünleri tüysüz ve ilk yıl genellikle kırmızımsı renktedir. Sonradan gri-kahverengi bir renge dönüşür veya nadiren grimsi olur. Tomurcuklar reçinesiz, tomurcuk parçaları geriye kıvrık ve saçaklıdır. Yapraklar 120-

180 mm uzunluğunda, 0.5-1.5 mm eninde, yumuşak, bükülebilir ve açık yeşil renktedir. Kozalaklar 60-110 mm uzunluğunda parlak, kahverengi ve topaç şeklindedir. Genellikle iki veya daha fazla kozalak bir arada bulunur. Kozalak sapları çok kısa ve bazen yoktur, sürgünler de dikine veya yan durur. Kozalak göbeği büyük ve Halep çamının aksine basıktır. Genellikle baskın bir orman ağacıdır.

**Genel coğrafi yayılışı:** Akdeniz ve Karadeniz kıyılarıdır. Asıl geniş yayılışını Doğu Akdeniz’de gösterir. Filistin, Ürdün, Suriye, Irak, Lübnan, Kıbrıs, Türkiye, Yunanistan ve İtalya’da yayılır<sup>33,34</sup>.



**Resim 2.1.2** *Pinus brutia* Ten. ağacının dalı.

### 2.1.3. Kullanılan Mikroorganizmalar

Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Gastroenteroloji Bilim Dalından, peptik ülseri olan hastalardan endoskopi ile alınan biyopsi örneklerinden *H. pylori* izole edildi. Bir hastadan izole edilen bakteri gram boyama, üreaz ve katalaz testleri yapılarak karakterize edildi.

Çalışmada kullanılan *S. aureus* (15 izolat), *S. pyogenes* (12 izolat), *E. coli* (17 izolat), *P. aeruginosa* (12 izolat) ve *C. albicans* klinik izolatları Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Bölümünden temin edildi. *E. coli K12*, *E. coli DH1*, *B. cereus*, *B. brevis ATCC* bakterileri ise TÜBİTAK Marmara Araştırma Merkezi, Gen Mühendisliği ve Biyoteknoloji Araştırma Merkezinden temin edildi.

#### 2.1.3.1. *Helicobacter pylori*

Kaynaklara bakıldığında; yaklaşık 100 yıl önce köpeklerin ve kedilerin midelerinde spiral bir organizmanın tesadüfen bulunduğu anlaşılmaktadır. 1906 yılında da insanda mide kanserinde benzer organizmaların varlığı gösterilmiştir. 1938 yılında yapılan otopsi çalışmalarında insanların % 43'ünün midesinde spiral bakterilerin bulunduğu görülmüş, ancak bu bakterilerin yutulan materyal ile ağızdan geldiği düşünülmüştür<sup>35</sup>.

1983 yılında Marshall ve Warren<sup>36</sup> tarafından, kronik gastritli hastaların mide biyopsi örneklerinde *H. pylori*'nin gösterilmesinden sonra bu bakteri ile ilgili olarak yapılan klinik ve laboratuvar araştırmalarında çığ gibi artış olmuştur. Günümüzde *H. pylori*'nin kronik nonspesifik gastrit, duodenum ülseri, mide kanseri ve mide MALT (Mucosa-Associated Lymphoid Tissue) lenfoması gibi önemli klinik durumlara neden olduğu bilinmektedir<sup>37,38</sup>.

Tüm dünyada yaklaşık 2 milyar insanın *H. pylori* ile enfekte olduğu hesaplanmaktadır. Özellikle gelişmekte olan ülkelerde *H. pylori* enfeksiyonu çocukluk çağına başlamakta ve uzun sürmektedir. Ülkemizde yapılan bir çalışmada ilkokul çağındaki sağlıklı çocuklarda *H. pylori* sıklığı % 74.4, sağlıklı erişkinlerde ise % 81 olarak bulunmuştur<sup>37,39</sup>.

*H. pylori* bir çok hastalığın patogenezinde rol oynamaktadır. Duodenum ülserli olguların % 90'ında *H. pylori* kaynaklı olduğundan söz edilmektedir. *H. pylori* kronik nonspesifik gastrite de neden olmaktadır. Mide kanserli ve MALT lenfomalı hastaların

% 90'ından fazlasında *H. pylori* enfeksiyonunun daha önceden mevcut olduğu ispatlanmıştır. Prospektif serolojik çalışmalar sonucunda mide kanserinin % 70 oranında *H. pylori*'ye bağlı olduğu kabul edilmiştir<sup>37,40,41</sup>.

*H. pylori*, gram negatif, 2-5 µm uzunluğunda, 0.5-1 µm çapında, 3-6 flajele sahip hareketli bir basil olup midenin asit şartlarında yaşamının sürdürebilen nadir mikroorganizmalardandır<sup>8</sup>. Oral kavite, feçes, kan, su ve yiyecekler başlıca doğal ortamını oluşturur. Flajeli, hareketliliği, immun cevaba ve aside gösterdiği defans, salgıladığı çeşitli enzimler ve toksinler vasıtasıyla hem konak için patojen olmakta, hem de midenin olumsuz şartlarına direnmektedir. Bulaşma yolu kesin olarak bilinmemekle beraber, fekal-oral, oral-oral geçiş olduğu yönünde kanıtlar bulunmaktadır<sup>42</sup>.

*H. pylori* tedavisinde genellikle bir proton pompası inhibitörü (omeprezol veya lansoprazol) ile birlikte ikili antibiyotik (klaritromisin ile birlikte amoksisilin ya da metronidazol) uygulamaları tercih edilmekte olup, bu tedavi ile bakterinin eradikasyonu % 90'ları geçmektedir. İkili antibiyotik uygulaması eradikasyon oranını arttırmakta, antibiyotiğe direnci azaltmaktadır<sup>43</sup>.

### 2.1.3.2. *Staphylococcus aureus*

**Genel özellikleri:** Bu bakteriler oldukça eski zamanlarda bazı bakteriyologlar tarafından cerahatta görülmüş ve kültürleri yapılabilmektedir. İlk defa Rosenbach (1884) tarafından izole edilmiştir.

Kolonileri pigmente göre aureus, albus, citreus diye adlandırılan stafilokok varyeteleri bugün aynı türden sayılmakta, tümü için *S. aureus* adı kullanılmaktadır.

Teker teker incelendikleri zaman stafilokok hücreleri diğer koklara göre daha çok olmak üzere yuvarlağa yakın şekildedir. Yaklaşık olarak 1 mikrometre çapındadır. Üzüm salkımına benzer kümeler yaparlar.

Çeşitli bakteriyolojik boyalarla kolay boyanırlar ve gram pozitiflerdir. Eski kültürlerinde bazı koklar çabuk renksizleşerek gram negatifmiş gibi görünebilirler. Sporsuz, hareketsiz ve kapsülsüzdürler.

Aerob, belli miktarda oksijenli (mikro aerofil) ve hatta tamamen oksijensiz ortamda bile üreyebilirler. Optimal olarak 37 °C'de ve pH 7.4'de ürerler. Jeloz besiyerinde bolca ürer ve yuvarlak kenarlı mat, kabarık, parlak yüzeyli S tipinde 1-2 mm çapında koloniler yaparlar. Stafilokoklar oldukça dayanıklı bakterilerdir. Diğer

bakterilerin çoğu 60 °C'de 30 dakika bekletilmekle öldükleri halde stafilokoklar 1 saat bile canlılıklarını koruyabilirler.

**Bulunduğu yerler:** Doğada oldukça yaygın olmakla beraber, tozda, toprakta, eşya üzerinde, insan ve hayvanlarda deri, ağız, nazofarinks floralarında bulunan bu bakterilerin, günümüz için en önemli özellikleri kullanılmakta olan kemoterapötik maddelerin bir çoğuna hızla dayanıklılık kazanmaları ve bu nedenle infeksiyonlarına daha sık rastlanılmaktadır.

**S. aureus'un yaptığı hastalıklar:** Deri ve mukoza enfeksiyonları, stafilokok pnömonisi, besin zehirlenmeleri<sup>44</sup>.

### 2.1.3.3. *Streptococcus pyogenes*

**Genel özellikleri:** Genel olarak yuvarlak ve yaklaşık 0.6-10 mikrometre çapında koklardır. Streptokoklar zincir yapma alışkanlığındadır. Yaptıkları zincirlerin uzunlukları bulunduğu koşullara ve bazı tiplerine göre farklılık gösterebilir. Besiyerlerinde uzun zincir yapan streptokokların hastalık materyalinde 5-8 kottan ibaret kısa zincirler yaptıkları bilinir.

Sporsuz ve hareketsizdirler. Çoğu streptokoklarda hiyaluronik asit ihtiva eden bir kapsül bulunmaktadır. Özellikle patojen (A Grubu) streptokoklarda bulunan bu kapsül organizmadan yeni ayrıldıklarında ve zengin besiyerlerinde açıktır. Besiyerlerinde üretilmeye devam edildiği takdirde kapsül görünmez olur ve besiyeri içerisinde hiyalüronik asit maddesi dağınık halde saptanabilir.

Genel olarak bakteriyolojik boyalarla kolay boyanırlar. Gram pozitif olup eski kültürlerinde arada gram negatif olanları tespit edildiği gibi, aynı zincir üzerinde gram pozitif ve gram negatif bireylere rastlanabilir.

*S. pyogenes*, genel olarak değişebilen anaerobtur. Adi besiyerlerinde üreseler de besiyerine kan, serum, haben ve glikoz gibi maddeler eklenmesiyle zenginleştirilecek olursa üreme daha kolay ve bol olur.

Ortalama pH 7'de üremeyi severler. Optimal üreme ısısı 37 °C'dir. Kuruluğa oldukça dayanıksızdırlar. Antibiyotiklere karşı güç direnç kazanırlar.

Patojen streptokoklar insan ve hayvanlarda meydana gelen birçok hastalıklardan sorumludurlar. Bu streptokoklar organizma üzerinde etkili olabilecek 20'den çok çeşitli



madde salgırlar. Bu maddelerin bir kısmı hücre dışına salgılanır ve diğerk kısmı ise hücre içinde oluşup, bakteri eridikten sonra (spheroblast) bulunduğu ortama salınır.

Bu maddelerin en önemlileri şunlardır: Streptolysinler, streptokinaz, streptodornaz, hyalüronidaz, eritrojinik toksin.

**Bulunduğu yerler:** Streptokoklar doğada oldukça yaygın olup, insan vücudu normal florasında buldukları gibi, saprofit olarak süt ve süt ürünleri gibi besin maddelerinde rastlanır. Ayrıca patojen olanları insan ve hayvanlarda çeşitli enfeksiyonların etkinidirler.

***S. pyogenes*'in yaptığı hastalıklar:** Yılcık, sepsis, loğusa humması, deri altı lokalizasyonları, streptokok anjini, akut bakteriyal endokarditler, akut eklem romatizması, akut glomerulonefrit, genital organ enfeksiyonları, üriner enfeksiyonlara neden olmaktadır<sup>44</sup>.

#### 2.1.3.4. *Escherichia coli*

**Genel özellikleri:** Kısmen hareketli, şekerleri asit ve gaz yaparak parçalayan, laktozu ve manitolu ayrıştıran bakteriler olup indol oluştururlar.

Yaklaşık 2-4 mikrometre boyunda 0.4-0.7 mikrometre eninde, düz, uçları yuvarlak çomakçık şeklinde bakterilerdir. Genellikle etraflarında bulunan kirpikleri aracılığıyla hareket ederler ama hareketleri yavaştır. Fimbriaları vardır ve sporsızdırlar. Bakteriyolojik boyalarla kolay boyanırlar ve gram negatiftirler.

*E. coli* buyyon ve jeloz gibi besiyeinde kolayca ürer. Değişebilen anaerob olup optimum üreme ısısı 37 °C'dir. 15-45 °C'lerde üreyebilirler. Ortalama pH 7.2'de iyi ürerler.

*E. coli* oldukça dirençli bir bakteridir. 60 °C ısıda 30 dakika, oda ısısında uygun ortamda olmak koşulu ile uzun süre canlı kalabilirler. Soğuşa dirençlidir. Dezenfektanlara karşı dirençsizdir. *E. coli* benzyl penicillin dışında birçok kemo-terapötiğe duyarlı olmakla beraber koli kökenlerinin çoğu bakteriden bakteriye kolayca geçebilen bulaşıcı direnç determinanları taşıdıklarından bugün hastane ortamından ayrılan suşların önemli bir kısmı ampicillin, streptomycin, tetracyclin'ler, sulfonamid, bir kısmıda chloramphenicol, kanamycin ve trimetoprim'e direnç kazanmışlardır.

**Bulunduğu yerler:** Memeli ve kuşların barsaklarında yaşarlar. Aslında normal barsak florasında bulunup ve burada diğerk flora bakterileri ve organizma ile bir denge

altında kaldığı sürece hastalık yapmaz. Normal koşullarda kokuşma-mayalaşma dengesinin düzenlenmesinde ve beslenme ile ilgili bazı hususlara yardımcı olur.

***E. coli*'nin yaptığı hastalıklar:** Uygun olmayan koşullarda *E. coli* insan ve hayvanlar için patojen olup gerek yangı, gerekse sürgün şeklinde ortaya çıkan barsak hastalıklarına etken olur. Barsak kanalı dışına çıkıp diğer dokulara yerleşmeleri patojenlik kazanmaları için en önemli etkidir. Özellikle idrar yolları, safra kesesi ve safra yolları, akciğer, periton ve manejlere ulaşan *E. coli* bakterileri önemli hastalıklara yol açarlar<sup>44</sup>.

#### 2.1.3.5. *Pseudomonas aeruginosa*

**Genel özellikleri:** Uzunlukları çok değişik olmakla beraber pseudomonas basilleri genellikle 1.5-3 mikrometre uzunluğunda ve 0.5 mikrometre kadar genişliğinde bazen çift ve bazen de kısa zincirler halinde görülen sporsuz, kapsülsüz çomakçıklardır. Çoğu kez bir ucunda 1-3 adet flajeli vardır ve çok hareketlidirler. Kolay boyanır ve gram negatiftirler.

Adi besiyerinde kolaylıkla 30-37 °C'lerde hafif alkali ortamda bol olarak ürerler. 41 °C'de üreme yeteneği vardır. Aerob olmakla beraber anaerob üreyebilen türlerine rastlanır. Buyyonda yüzeyde zar yapmak üzere bol ve homojen bir üreme gösterirler ve zarın hemen altında mavi yeşil pigmenti ayırdedilir. *Pseudomonas*'ların kültürlerinde tatlımsı aromatik bir koku vardır.

Isıya dirençsizdirler. 55 °C'de 1 saat ve 60 °C'de 15 dakikada ölürler. Oda koşullarında sulara aylarca canlı kalabilirler. Steril saf su içinde bile oda sıcaklığında üreyebildikleri bildirilmektedir. Diğer bakterilere etkili olan antibiyotikler arasında Polymxin B ve E ile Gentamycin dışında kalanlara değişik oranlarda dirençlilik gösterirler. Özellikle penicillin ve -cephalosporinlerin çoğuna salgıladıkları Beta-laktamaz enzimlerinin aktivitesine bağlı olarak yüksek derecede dirençlilik gösterirler. Methicillin'in az dozları bu enzimi inhibe ettiğinden bu antibiyotik benzylpenicillin ve cephalosporinlerin etkisinde sinerjik etki gösterirler.

**Bulunduğu yerler:** Doğada çok yaygın olup sulara, toprakta, insan ve memeli hayvanların barsağında bulunur.

***P. aeruginosa*'ların yaptığı hastalıklar:** Yanık ve yara enfeksiyonları, idrar yolları enfeksiyonları, menenjitler, göz enfeksiyonları, bronşit ve brokopnömoni, sepsis, dış kulak yolu iltihapları, orta kulak iltihabı<sup>44</sup>.

#### 2.1.3.6. *Bacillus cereus*

**Genel özellikleri:** *Bacillus subtilis* gibi yaygın bulunan bir bakteridir. 3-5 µm boy ve 1-1.2 µm eninde oldukça büyük düz veya hafif kıvrık, uçları kesilmiş gibi düzgün kısa ve bazen uzun zincirler yapabilen bir çomaktır. Bakteri, kapsülsüz olup sporları santral veya sub terminal ve ovaldir. Gram pozitifler.

Ortalama üreme sıcaklığı 28-35 °C ise de 10-48 °C arasında da üreyebilirler.

**Bulunduğu yerler:** Toprak, su, süt tozunda aerop sporlu bakteriler olarak bulunurlar.

***B. cereus*'un yaptığı hastalıklar:** Besin zehirlenmesine yol açarlar. İnsanlarda oluşturduğu enfeksiyonlar nadirdir. Daha çok direnci kırılmış kimselerde fırsatçı patojen olarak abseler, sellülit, göz enfeksiyonları, osteomyelit, idrar yolları enfeksiyonları gibi hastalıklara yol açtığı bildirilmiştir<sup>44</sup>.

#### 2.1.3.7. *Candida albicans*

Tomurcuklanma ile çoğalan mayamsı mantardır. Uygun şartlarda psödohifa, psödomiselyum ve hakiki miselyumlar meydana getirir. İnsan vücudunda hastalığa sebep olmadan bulunabilir veya deri mukoza ve iç organları candidiasisini yapar.

Meydana getirdiği enfeksiyonlar primer ve sekonder olarak ikiye ayrılır

Primer candidiasis, deri ve tırnaklarda, mukozalarda ve iç organlarda teşekkül ederek, çeşitli arızalar gösterir. Deri, tırnak ve mukoza enfeksiyonlarına insanlar arasında sık rastlanır ve kolay teşhis edilir. İç organların candidiasisi ise oldukça nadir görülür ve sekonder enfeksiyondan ayırt edilmesi güçtür<sup>45</sup>.

#### 2.1.4. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Imipenem (IPM, 10µg), Erythromycin (E, 15µg), Ampicillin/Sulbactam (SAM, 10µg/10µg) ve Amoxycillin (AML, 25µg) içeren antibiyotik diskleri ve boş kağıt diskler Oxoid'den, etanol, metanol, hekzan, kloroform, petrol eteri, etil asetat, n-bütanol

ve MgSO<sub>4</sub> Merk Dermstad'dan, agar Bacto'dan ve gliserol Fisher Scientific'ten ticari olarak temin edilmiştir.

#### **2.1.5. Kullanılan Cihazlar**

Spektrofotometre (UV/Visible Recording spektrofotometre), etüv (nüve EN 400), vorteks (FISONS, Whirli Mixer), vakumlu evaporatör (RE 100 B, Bibby Strilin Ltd.), mikroskop (Olympus), terazi (Sauter), membran filtresi (Gelman Science, Ann Arbor, Mich.), otoklav ve defreeze (Harris).

#### **2.1.6. Kullanılan Besiyerleri**

*H. pylori* için Chocolate Horse Blood Agar ve Brain Heart Infusion Broth (Oxoid, Ltd, Basingstoke, UK) kullanıldı. *S. aureus*, *S. pyogenes*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *E. coli K12*, *E. coli DH1*, *B. cereus*, *B. brevis ATCC* bakterileri için ise Muller Hinton Broth ve Muller Hinton Agar (Difco laboratories, Detroit, Mich.) besiyerleri kullanıldı.

*C. albicans* mayası için ise Sabouraud Dextrose Agar (Oxoid, Ltd, Basingstoke, UK) kullanıldı

Besiyerlerinin hazırlanması İlaveler I'de verilmiştir.

## 2.2. METOD

### 2.2.1. Biyopsi Örneğinden *H. pylori* İzolasyonu ve Karakterizasyonu

Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Gastroenteroloji Bilim Dalı hastalarından endoskopi ile biyopsi örnekleri alındı. Biyopsi örnekleri iki lam ile parçalandı. Parçalanmış örneklerden steril bir öze ile bir miktar % 7 Chocolate Horse Blood Agar besiyerine ekim yapıldı. 37 °C'de mikro aerofilik atmosferde (~ % 10 CO<sub>2</sub>) 3 gün inkübasyona bırakıldı.

İzole edilen *H. pylori* gram reaksiyonu, üreaz, katalaz ve hareket testleri yapılarak karakterize edildi.

#### 2.2.1.1. Gram Reaksiyon

Steril öze ile alınan bakteri örneği bir damla steril fizyolojik serum ile lamın üzerinde iyice yayılır. Havada kurutulup, alev ile tespit edilir. Daha sonra jansiyen moru (2 dk süre ile) bırakılır. Çeşme suyu ile yıkanır, 1 dk süre lugol bırakılır. Çeşme suyu ile yıkanır. Etil alkol (1/2 dk süre ile) bırakılır. Saf su ile yıkanır ve havada kurumaya bırakılır. Kuruduktan sonra mikroskopta preparat incelenir. Gram pozitif bakteriler mor, gram negatif bakteriler ise pembe boyanır<sup>46</sup>.

#### 2.2.1.2. Üreaz Testi

1. İki damla üreaz reaktifi mikrotiter pleytin içine konur.
2. Bakteri örneği bir mikrotiter pleytin içine konur, diğer bir pleyt ise kontrol olarak kullanılır.
3. Mikrotiter pleytlerin üzeri plastik ile kapatılır.
4. Pleytler belirli zaman aralıkları ile kontrol edilir. Eğer renk sarıdan morumsu kırmızıya dönüşür ise üreaz pozitif denir.

#### 2.2.1.3. Katalaz Testi

% 3'lük H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> katkılı Nutrient agara ekim yapıp, 37 °C'de 3 günlük inkübasyon sonunda eğer mikroorganizma H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'yi su ve oksijene parçalayan katalaz enzimini salgılıyor ise besiyerinde hava kabarcıklarının oluşmasına neden olacaktır. Bu durumda uygulanan test üzerinde çalışılan mikroorganizma için katalaz pozitif şeklinde değerlendirilir<sup>47</sup>.

#### 2.2.1.4. Hareket Testi

Belli bir düzeye kadar hareket besiyeri ile doldurulmuş bir tüp içerisinde daha küçük çaplı bir cam boru yerleştirilir. Bir iğne öze ile dikkatli bir şekilde cam borunun içindeki besiyerine ekim yapılarak 37 °C'de 18 saatlik inkübasyona bırakılır. Cam borunun dışındaki besiyerinde üremenin olması üzerinde çalışılan mikroorganizmanın hareketli olduğunu gösterir ve test pozitifdir denir<sup>46</sup>.

Teşhis için hazırlanan boyalar ve reaktiflerin bileşimi İlaveler II'de verilmiştir.

#### 2.2.2. *H. pylori*'nin Büyüme Koşulları

Bakteri 37 °C'de % 7 at kanlı katı besiyerinde üretildi. Antibiyotik olarak besiyerine vancomycin (10 mg/mL), trimethoprim lactate (5.0 mg/mL) ve amphotericin B (5.0 mg/mL) ilave edildi.

Sıvı besiyeri olarak % 5 calf serum ve yukarıda bahsedilen antibiyotikler ilave edilmiş Brain Heart Infusion kullanıldı.

Mikroorganizma 37 °C'de mikroaerofilik şartlarda (~ % 10 CO<sub>2</sub>) ve nemli ortamda üretildi.

#### 2.2.3. *Pistacia lentiscus* Bitki Reçinesinin Asidik Fraksiyonunun Elde Edilmesi

35 g toz haline getirilmiş reçine 50 mL dietil eterde çözüldü ve oluşan çözelti 250 mL metanol ile seyreltildi. Çözünmeyen kısımlar filtre edilerek atılıp, vakum altında çözücü uçuruldu. Elde edilen sıvı yine 50 mL dietil eterde çözüldü ve çözelti 250 mL metanol ile seyreltilip, süzülür. Daha sonra elde edilen ürün 250 mL dietil eterde çözülüp, % 5'lik 100 mL sodyum karbonat (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) çözeltisi ile ekstrakte edildi. Eter fazı 0.5 M 66 mL sodyum hidroksit (NaOH) çözeltisi ile ekstrakte edildi. Sulu fazlar birleştirildi ve hidroklorik asit (HCl) ile asitlendirilerek dietil eter ile ekstrakte edildi. Triterpenoidlerce zengin olan eter fazları kuruluğa kadar evapore edilip, reçinenin asidik fraksiyonu (25 g) elde edildi.

#### 2.2.4. Asidik Fraksiyonunun Antibakteriyal Etkisinin Micro Broth Dilüsyon Yöntemi ile İncelenmesi

Bakteri 3 gün % 7 at kanlı katı besiyerinde üretildi. Bu katı besiyerinden birer koloni alınarak Brain Heart Infusion sıvı besiyerine aktarıldı. 48 saat sonra 560 nm'de

absorbans 1 olarak ölçüldü ( $1 \times 10^8$  koloni/mL). Bu kültürlerden 20 µL alınarak içinde 180 µL taze sıvı besiyeri bulunan mikrotiter pleytlere aktarıldı. Besiyerine son konsantrasyonları 0.015 mg/mL, 0.060 mg/mL ve 0.480 mg/mL olacak şekilde reçine ilave edildi. Hiç reçine içermeyen (kontrol) ve yukarıdaki konsantrasyonlarda reçine içeren kültürler 37 °C'de mikro aerofilik atmosferde inkübasyona bırakıldı. Değişik zaman aralıklarında (0, 6, 24 ve 48 saatte) bu kültürlerden 20 µL'lik numuneler alınarak % 7 at kanlı katı besiyerine ekim yapıldı. Kültürler 37 °C mikroaerofilik koşullarda inkübasyona bırakıldı ve üç gün sonra koloni sayımı yapıldı.

### **2.2.5. *Pinus brutia*'dan Elde Edilen Reçinenin Test Edildiği Mikroorganizmalar ve Funguslar**

İyi bir biçimde karakterize edilmiş çok sayıda yeni klinik izolatlar çalışıldı. *S. aureus* (15 izolat), *S. pyogenes* (12 izolat), *E. coli* (17 izolat), *P. aeruginosa* (12 izolat) bakterileri ve *C. albicans* mayası Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Bölümünden temin edildi. Standart suşlar olarak ise *E. coli* K12, *E. coli* DH1, *B. cereus*, *B. brevis* ATCC bakterileri ise TÜBİTAK Marmara Araştırma Merkezi, Gen Mühendisliği ve Biyoteknoloji Araştırma Merkezinden temin edildi. Bakterilerin hepsi Muller Hinton Broth ve Muller Hinton Agar besiyerlerinde üretildi. Bütün izolatlar -70 °C'de Muller Hinton Broth + % 17'lik gliserol karışımında saklandı.

### **2.2.6. Mikroorganizmaların Büyüme Koşulları**

*Pinus brutia*'dan elde edilen reçinenin etkisinin denendiği tüm bakteriler 15 mL'lik Muller Hinton Broth besiyerinde 37 °C'de 3-6 saat arasında absorbans 0.5 olacak şekilde üretildi. Daha sonra mikro pipet ile 100 µL alınıp steril pamuklu çubuklarla Muller Hinton Agar besiyerine yayılıp 37 °C'de etüvde 24 saat süreyle üremeye bırakıldı.

*C. albicans* mayası ise Sabouroud Dextrose agar besiyerinde 37 °C'de 3 gün boyunca inkübasyona bırakılarak üretildi.

### **2.2.7. *Pinus brutia* Bitki Ekstraktlarının Hazırlanması**

3 g toz haline getirilmiş ham reçine oda sıcaklığında 75 mL metanolde iyice çözülünceye kadar karıştırıldı. 30 dk. bekletildikten sonra çözünmeyen kısımlar filtre edilip atıldı. Vakum altında çözücü uçuruldu. 2.78 g sarı renkli katı metanol

ekstraktından 0.4 g alınarak 30 mL destile suda çözülmeye çalışıldı ve sonra 15'er mL'lik etil asetat ile 2 kez (2×15 mL) ekstrakte edildi. Etil asetat ekstraktı MgSO<sub>4</sub> ile kurutuldu ve filtre edildi. Filtre işleminden sonra geri kalan çözeltilerin kuruluğa kadar rotary evaporatör ile çözücüsü uçuruldu. 37 mg kahve renkli etil asetat ekstraktı elde edildi. Metanol ekstraktından 0.4 g alınıp daha önce etil asetat ekstraktı için yapılan işlemler; petrol eteri, hekzan, n-bütanol ve kloroform ekstraktlarını hazırlamak için de yapıldı. Elde edilen organik ekstraktlar; 6.7 mg kahverenkli yağimsı petrol eteri ekstraktı, 8.7 mg kahverenkli yağimsı hekzan ekstraktı, 19.2 mg sarı renkli yağimsı n-bütanol ekstraktı ve 33.8 mg sarı renkli katı kloroform ekstraktı elde edildi.

### **2.2.8. Stok Reçine Çözeltilerinin Hazırlanması**

Stok reçine çözeltileri ham reçinenin % 95'lik etanol içinde 4 mg/mL olacak şekilde çözülmesiyle elde edildi. Diğer organik ekstraktların stok çözeltilerinde 4 mg/mL olacak şekilde etanol içinde hazırlandı. Hazırlanan stok çözeltiler steril 0.22 µm-por çapına sahip polisulfon membran filtresinde steril edildi. Stok çözeltiler hazırlandıktan sonra 10 gün içinde antimikrobiyal etkileri test edildi.

### **2.2.9. Disklerin Mikroorganizmalara Uygulanması**

6 mm çapındaki steril boş kağıt diskler 40, 60 ve 80 µg madde içerecek şekilde hazırlandı. Kağıt disklerin 40 µg madde içermesi için ham reçine ve organik ekstraktların olduğu stok çözeltilerden (4 mg/mL) 10 µL emdirildi. 60 ve 80 µg'lik disklerin hazırlanması için ise sırasıyla 15 ve 20 µL stok ham reçine ve organik ekstraktların emdirilmesiyle hazırlandı. Hazırlanan kağıt diskler 4 °C'de 5-10 dk. bekletildikten sonra mikroorganizmalar üzerinde test edildi. Negatif kontrol olarak ise etanol emdirilmiş kağıt disk kullanıldı.

### **2.2.10. Disk Diffüzyon Yöntemi ile Antimikrobiyal Aktivitenin Araştırılması**

Antimikrobiyal aktivite N.C.C.L.S. (National Committee for Clinical Laboratory Standards) kurallarına göre disk diffüzyon deneyi ile belirlendi<sup>48</sup>. Disk diffüzyon testi Muller Hinton Agar besiyerinde yapıldı. Mikroorganizmaların aşılma işlemi yapılmadan önce katı besiyerleri 35-36 °C'de 30 dak. inkübasyona bırakıldı. Kullanılan bakteri suşları 25 mL Muller Hinton Broth besiyerinde 4-6 saat üretildi. 625 nm'de 0.08



ile 0.1 arasında absorbans ayarı yapıldı. Böylece absorbans 0.5 Mc Farland ( $1 \times 10^8$  cfu/mL) standardına eşitlendi. *C. albicans* ise 25 mL Sabouraud Dextrose Broth besiyerinde 8-10 saat arasında absorbans 0.5 Mc Farland standardına eşitlendi. Bu besiyerinden mikropipet yardımıyla 100 µL alınıp katı besiyerine bırakıldı. Steril pamuklu çubuklar yardımıyla katı besiyerinin yüzeyine homojen bir biçimde yayılmaları sağlandı. Aşılama yapılmış Muller Hinton Agar ve *C. albicans* için kullanılan Sabouraud Dextrose Agar besiyerleri +4 °C'de 10 dk bekletildikten sonra 6 mm çapında 40, 60 ve 80 µg ham katran ve organik ekstraktlar emdirilmiş kağıt diskler besiyerlerine yerleştirildi. Besiyerleri 37 °C'de inkübasyona bırakıldı. *S. aureus* (15 izolat), *S. pyogenes* (12 izolat), *E. coli* (17 izolat), *P. aeruginosa* (12 izolat) *E. coli* K12, *E. coli* DH1, *B. cereus* ve *B. brevis* ATCC bakterileri 24, *C. albicans* ise 48 saat sonra oluşan inhibisyon zonları ölçüldü. Pozitif kontrol olarak Imipenem (10µg), Erythromycin (15µg), Ampicillin/Sulbactam (10µg/10µg) ve Amoxycillin (25µg) antibiyotikleri kullanıldı. Negatif kontrol olarak ise etanol emdirilmiş kağıt diskler kullanıldı.

#### 2.2.11. Disk Diffüzyon Yöntemi

Bu yöntem klinik mikrobiyoloji laboratuvarlarının çoğunda tercih edilen kalitatif bir yöntemdir. Belirli yoğunlukta bakteri besiyerine yayılır ve antibiyotik emdirilmiş diskler bunun üzerine yerleştirilir. Bir gecelik inkübasyondan sonra diskin çevresindeki inhibisyon zon çapı ölçülerek (DAD) bakterinin o antibiyotiğe duyarlı olup olmadığı saptanır. Bu testte sonuçlar “duyarlı”, “dirençli” ve “orta dirençli” şeklinde verilmektedir<sup>48</sup>.

#### 2.2.12. Dilüsyon Yöntemi

Bu testlerde antimikrobiyal ilacın farklı konsantrasyonları buyyon veya agara eklenir, test edilecek mikroorganizma ile birlikte bir gece inkübe edilir ve minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK) belirlenir. Dilüsyon yöntemlerinin uygulamaları daha güç ve pahalı olmakla birlikte bu testler MİK değerini verdiği için tercih edilmektedir. Genellikle MİK değerinin düşük olması, tedavide olumlu sonuç alınacağını göstermektedir.<sup>48</sup>.

### 3. BULGULAR

#### 3.1. *Pistacia lentiscus* Ağacından Elde Edilen Reçinenin *H. pylori* Üremesi Üzerindeki Engelleyici Etkisi

Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Gastroenteroloji Bilim Dalından, peptik ülserli olan hastalardan endoskopi ile alınan biyopsi örneğinden izole edilen *H. pylori*, reçine içermeyen ve 0.015, 0.060, 0.480 mg/mL konsantrasyonlarda reçinenin asidik fraksiyonunu içeren Brain Heart Infusion sıvı besiyerinde üretildi. Reçinenin *H. pylori*'ye karşı olan antibakteriyal etkisini incelemek üzere farklı zaman aralıklarında 0, 6, 24 ve 48. saatlerde bu kültürlerden katı besiyerine ekim yapılarak 3 gün sonra bulunan koloni sayıları Tablo 3.1.'de gösterilmiştir.

Tablo 3.1.'de görüldüğü gibi farklı konsantrasyonlarda reçine içeren kültür örnekleri 6 saat içinde düşüş göstererek 8.00 log<sub>10</sub>'dan 6.00 log<sub>10</sub>'a, yaklaşık 2.00 log<sub>10</sub>'luk düşüş göstermiştir. 48 saat sonunda 0.015 mg/mL reçine içeren kültür örneğinde hücre sayısı yaklaşık yarı yarıya azalma göstermiştir. Buna karşın 0.480 mg/mL konsantrasyonda reçine içeren kültür örneği 48 saat içinde 8.00 log<sub>10</sub>'dan 3.69 log<sub>10</sub>'a düşüş göstermiştir. 0.060 mg/mL reçine içeren kültür örneği ise en fazla düşüşü göstererek, hücre çoğalmasını kesin olarak durdurmamakla beraber 8.00 log<sub>10</sub>'dan 2.60 log<sub>10</sub>'a kadar sürekli bir düşüş gösterip, hücre çoğalmasını büyük bir ölçüde olumsuz etkilemiştir. Bu sonuçlara göre, broth dilüsyon yöntemi ile *H. pylori*'nin çoğalmasını önleyen en düşük reçine konsantrasyonu 0.060 mg/mL olarak bulundu.

#### 3.2. *Pinus brutia* Ağacından Elde Edilen Ham Reçinenin Klinik İzolatların Üremesi Üzerindeki Engelleyici Etkisi

Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalından çeşitli klinik örneklerden izole edilen *S. aureus* (15 izolat), *S. pyogenes* (12 izolat), *E. coli* (17 izolat), *P. aeruginosa* (12 izolat) bakterileri ve *C. albicans* mayası ile TÜBİTAK Marmara Araştırma Merkezi, Gen Mühendisliği ve Biyoteknoloji Araştırma Merkezinden temin edilen *E. coli* K12, *E. coli* DHI, *B. cereus*, *B. brevis* ATCC bakterileri üzerine *Pinus brutia* ağacının dal ve gövdesinden elde edilen ham reçine ve organik ekstraktların antimikrobiyal etkisi disk diffüzyon yöntemi ile incelendi.

*Pinus brutia*'dan elde edilen ham reçinenin ve Imipenem (10µg), Erythromycin (15µg), Ampicillin/Sulbactam (10µg/10µg) ve Amoxycillin (25µg) antibiyotiklerinin 17 farklı *E. coli* klinik izolatları üzerindeki antimikrobiyal etkileri Tablo 3.2.'de verilmiştir. Tabloda görüldüğü gibi ham reçinenin 40 µg'lık denemesinde bakteriler üzerinde oluşturduğu zon çapları 12-14 mm arasında değişmektedir. 60 µg'lık denemelerde ise zon çapları ortalama olarak 14 mm olarak bulunmuştur. 80 µg'lık denemelerde, zon çaplarının 16-20 mm arasında değiştiği görülmektedir. Bu test edilen *E. coli* klinik izolatlarının Erythromycin, Ampicillin/Sulbactam ve Amoxycillin antibiyotiklerine karşı genelde dirençli oldukları, Imipenem'in ise daha ziyade 30 mm zon çapı oluşturduğu ve bu antibiyotiğe karşı duyarlı oldukları görülmektedir.

Ham reçinenin ve standart antibiyotiklerin 15 farklı *S. aureus* klinik izolatları üzerindeki antimikrobiyal etkileri Tablo 3.3.'de verilmiştir. Tabloda görüldüğü gibi ham reçinenin 40 µg'lık denemelerinde bakteriler üzerinde oluşturduğu zon çapları genelde 10-12 mm arasında değişmektedir. 60 µg'lık denemelerde oluşan zon çapları genelde 14 mm olduğu görülmektedir. 80 µg'lık denemelerde ise zon çaplarının 18-20 mm arası olduğu görülmektedir. Klinik izolatlar üzerinde denenen standart antibiyotiklerden, Erythromycin'e karşı bir kaç izolat dışında diğerlerinin dirençli olduğu, Amoxycillin'e karşı az duyarlı ve Imipenem ve Ampicillin/Sulbactam'a karşı ise duyarlı oldukları görülmektedir.

12 farklı *S. pyogenes* klinik izolatları üzerine ham reçinenin ve standart antibiyotiklerin antimikrobiyal etkisi Tablo 3.4.'de verilmiştir. Tabloda görüldüğü üzere 40 µg'lık denemelerde elde edilen zon çapları 10-24 mm arasında değişmektedir. 60 µg'lık denemelerde oluşan zon çapları 14-28 mm arasında olduğu görülmekte ve 80 µg'lık denemelerde ise zon çapları 18-30 mm olduğu görülmektedir. Denenen tüm standart antibiyotiklere karşı bütün klinik izolatların duyarlı oldukları görülmektedir.

*P. aeruginosa*'nın 12 farklı klinik izolatu üzerine ham reçine ve standart antibiyotiklerin antimikrobiyal etkileri Tablo 3.5.'de verilmektedir. Tabloda 40 µg'lık denemelerin hiç zon oluşturmadığı görülmektedir. 60 µg'lık denemelerin 10-12 mm, 80 µg'lık denemelerin ise 12-14 mm arası zon oluşturdukları görülmektedir. Bütün *P. aeruginosa* izolatlarının Erythromycin'e karşı dirençli oldukları görülmektedir. Ampicillin/Sulbactam ve Amoxycillin'e karşı bir kaç izolat hariç diğerlerinin dirençli

oldukları, Imipenem ise 30 mm'lik zonlar oluşturarak bütün izolatlarının bu antibiyotiğe karşı duyarlı oldukları görülmektedir.

### **3.3. *Pinus brutia* Ağacından Elde Edilen Ham Reçinenin Organik Ekstraktlarının Klinik İzolatların Üremesi Üzerindeki Engelleyici Etkileri**

*Pinus brutia* reçinesinden elde edilen organik ekstraktlar, ham reçinenin denenmesi sonucu en büyük zon çaplarının olduğu klinik izolatlar (4 nolu *E. coli*, 2 nolu *S. aureus*, 8 nolu *S. pyogenes* ve 6 nolu *P. aeruginosa*) ile ayrıca standart suşlar (*E. coli* K12, *E. coli* DH1, *B. brevis* ATCC ve *B. cereus*) ve *C. albicans* üzerinde antimikrobiyal etkileri denendi. Denemeler sonucu elde edilen zon çapları Tablo 3.6.'da verilmiştir.

Tablo 3.6.'da görüldüğü gibi, denenen hiç bir organik ekstrakt, ham reçinenin göstermiş olduğu antimikrobiyal aktiviteyi göstermediği görülmektedir. Bu da biyolojik aktif maddenin birden fazla olabileceğini ve her bir maddenin farklı çözücü sistemlerinde olduğunu düşündürmektedir.

Bütün organik ekstraktlardan sonra elde edilen su fazlarının mikroorganizmalar üzerindeki antimikrobiyal etkileri disk diffüzyon yöntemi ile test edildi. Hiç bir su ekstraktının antimikrobiyal aktivite göstermediği tespit edildi. (Resim 3.10.)

Seçilmiş klinik izolatlar ve standart suşlara karşı ham reçine ve organik ekstraktların etkisini gösteren resimler Bölüm 5 Tablolar ve Resimler kısmında verilmiştir.

#### 4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Peptik ülserli hastalardan endoskopi ile alınan biyopsi örneğinden izole edilen bakterinin *H. pylori* olduğu katalaz, üreaz, hareket testi ve gram boyama yapılarak karakterize edildi<sup>8</sup>.

Bulgular başlığı altında, *H. pylori*'ye karşı reçinenin asidik fraksiyonunun kesin olarak antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu gösterilmektedir. Şekil 4.1'den de görüldüğü gibi, broth dilüsyon yöntemi ile *H. pylori* çoğalmasını önleyen en düşük reçine konsantrasyonu (MİK) 0.060 mg/mL olarak belirlendi. Daha yüksek konsantrasyonda reçine (0.480 mg/mL) içeren kültür örneğinin antagonistik etkiden dolayı bakterinin çoğalmasını daha büyük oranda engelleyemediği gözlemlenmiştir.

*H. pylori* tedavisinde genellikle omeprazol ile birlikte ikili antibiyotik (klaritromisin ile birlikte amoksisilin ya da metronidazol) uygulamaları tercih edilmekte olup, bu tedavi ile bakterinin eradikasyonu % 90'ları geçmektedir<sup>37</sup>.

*H. pylori* tedavisinde kullanılan antibiyotiklerin hiç biri bu bakteriye karşı yeterli eradikasyon etkisi gösterememektedir. Bu antibiyotiklerin kısmen etkili olması ve bunun yanında pahalı ve bazı yan etkilerinin bulunması, bu reçinenin tedavi amaçla kullanılmasının önemini artırmaktadır.

Reçinenin ucuz olması ve üçüncü dünya ülkelerinde rahatlıkla temin edilebilir olmasından dolayı bulgularımız gelişmekte olan ülkelerde peptik ülser tedavisinde önemli bir kullanım alanı bulacağını umut etmekteyiz.

Çalışmada kullanılan bir diğer reçine ise Akdeniz bölgemizde yaygın olarak kullanılan ve Mersin'in Anamur ilçesinden getirdiğimiz *Pinus brutia* bitkisinin çıralı kök ve gövdesinden elde edilen, yöre halkı tarafından geleneksel ilaç olarak kullanıldığı bilinen<sup>14</sup> ham reçine ve organik ekstraktlarının (metanol, n-bütanol, petrol eteri, etil asetat, kloroform ve hekzan) çeşitli klinik bakteri izolatları ve funguslara karşı olan antimikrobiyal ve antifungal etkileri disk agar diffüzyon yöntemi ile araştırıldı. Çalışmalar sonucunda görülmüştür ki *Pinus brutia*'dan elde edilen ham reçine test edilen mikroorganizmalar üzerinde oldukça yüksek antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Denenen bütün organik ekstraktlarda yaklaşık olarak ham reçinenin göstermiş olduğu kadar antimikrobiyal aktiviteyi göstermişlerdir. Bu da aktif bileşenin (maddenin) birden fazla olabileceğini ve farklı çözücülere geçtiğinin bir göstergesidir. Bitkilerde

antimikrobiyal aktivite gösteren bileşenlerin flavonoidler, terpenoidler ve alkolooidler olduğu bilinmektedir<sup>49</sup>. Klinik izolatlar olan *E. coli* (17 izolat), *S. aureus* (15 izolat), *S. pyogenes* (12 izolat) ve *P. aeruginosa* (12 izolat) bakterilerinin çoğunun, standart antibiyotikler olarak kullanılan Erythromycin, Ampicillin/Sulbactam ve Amoxycillin'e karşı dirençlidirler. Bu bakterilere karşı ham reçine dikkate değer bir antimikrobiyal aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Bu bakteriler klinik olarak patojen mikroorganizmalardır. Özellikle *S. aureus* genel olarak antibiyotiklere karşı her on yılda bir direnç kazanmaktadır<sup>27</sup>.

Çeşitli bitkilerin antimikrobiyal aktivite gösterdikleri rapor edilmektedir. *Pinus brutia*, *Juniperus oxycedrus*, *Abies cilicia*, *Cedrus libani* ve *Pinus nigra*'nın çeşitli kısımlarının<sup>25</sup>, *Alpinia zerumbet* bitkisinin su ekstraktlarının biyolojik aktivite gösteren flavonoidler içerdiği<sup>50</sup>, *Bridelia ferruginea* bitkisinin meyvelerinin<sup>51</sup> antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirlenmiştir.

Test edilen klinik mikroorganizmalara karşı standart antibiyotiklerin antimikrobiyal etkileri Tablo 4.2.'de verilmiştir. Negatif kontrol olarak 15 µL'lik etanol kullanıldı ve hiç bir inhibisyon zonu oluşturmadığı gözlemlendi. Ayrıca organik ekstraktlar sonucu oluşan su fazları denendi ve kullanılan bakteri ve funguslara karşı hiç bir antibakteriyal ve antifungal etkileri görülmedi. Bütün klinik izolatların, *E. coli*, *S. aureus*, *S. pyogenes* ve *P. aeruginosa* bakterileri Imipemen'e karşı duyarlı oldukları bulunmuştur. Çalışmada kullanılan, 15 *S. aureus* klinik izolatın Erythromycin'e karşı dirençli (% 100) oldukları bulunmuştur. Amoxycillin'e karşı ise % 26,6'sı (4 izolat) dirençli oldukları bulunmuştur. *S. aureus* klinik izolatlarının % 73.3'üne karşı ise Amoxycillin  $\geq$  18 mm'lik inhibisyon zonu oluşturmuştur. Ampicillin/Sulbactam ise *S. aureus* klinik izolatlarının % 80'ine  $\geq$  15 mm'lik inhibisyon zonları oluşturmuştur. 12 *S. pyogenes* klinik izolatlarının 5 tanesi (% 41.6) Erythromycin'e dirençli, 2 tanesi (% 16.6) Ampicillin/Sulbactam'a dirençli ve 6 tanesi (% 50) Amoxycillin'e dirençlidirler.

Tablo 4.1.'de görüldüğü gibi ham reçinenin ve bütün organik ekstraktlarının çoğunun test edilen klinik bakteri izolatları ve funguslara karşı antimikrobiyal aktiviteye sahip oldukları görülmektedir. Özellikle 80 µg'lık denemelerde ham reçinenin *S. pyogenes*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* ve *E. coli* klinik izolatlarına karşı oluşturduğu inhibisyon zonlarının çapı (mm olarak) sırası ile  $\geq$  30 (% 33.3),  $\geq$  24 (% 16.6), 12-14 (% 100) ve 18-20 (% 100) olarak bulunmuştur. *C. albicans*'a karşı 80 µg'lık denemesinde

ise 18 mm'lik inhibisyon zonu oluşturmuştur. Ham reçinenin *S. aureus* ve *S. pyogenes* üzerindeki 80 µg'lık denemelerinde elde edilen sonuçlar Imipenem'le benzer fakat Erythromycin'den daha etkili olduğu bulunmuştur. *P. aeruginosa* klinik izolatlarının % 100'ü Erythromycin'e dirençlidir, 8 tanesi (% 66.6) Ampicillin/Sulbactam'a dirençli ve 8 tanesi (% 66.6) Amoxycillin'e dirençlidirler. Ham reçinenin *P. aeruginosa*'ya karşı 12-14 mm zon çapı oluşturarak büyümesini inhibe etmiştir. Ham reçinenin 40 µg'lık denemelerinde *S. pyogenes*, *S. aureus*, *E. coli* ve *C. albicans*'a karşı 12-14 mm'lik inhibisyon zonları oluşturmuştur. *P. aeruginosa* klinik izolatlarına karşı ise 40 µg'lık denemeler inhibisyon zonu oluşturmamışlardır.

Hemen hemen denenen bütün organik ekstraktların birbirine benzer antimikrobiyal aktiviteye sahip oldukları belirlenmiştir. Bu da biyolojik aktif maddenin tek bir organik faza geçmediğinin bir göstergesidir. Yani biyolojik aktif madde birden fazla olabileceği ve bu maddelerin farklı organik çözücülere geçmiş olabileceğini düşündürmektedir.

Organik ekstraktlar arasında en büyük antimikrobiyal aktivite *C. albicans* ve *S. aureus*'a karşı hekzan ekstraktı göstermiştir. Bu mikroorganizmalara hekzan ekstraktının oluşturmuş olduğu zon çapları sırası ile 22 mm ve 24 mm olarak bulunmuştur. Hekzan ekstraktının *C. albicans* ve *S. aureus* üzerinde göstermiş olduğu bu etki, standart antibiyotikler olarak kullanılan Imipenem ve Amoxycillin ile aynı etkileri gösterdikleri görülmektedir. Metanol, etil asetat, petrol eteri, kloroform ve n-bütanol ekstraktlarının klinik izolatlar üzerinde 80 µg'lık denemeleri sonucu elde edilen zon çapları 10-16 mm arasında bulunmuştur. 40 µg ve 60 µg'lık denemelerde düşük antimikrobiyal etki olduğu görülmektedir (inhibisyon zonu 10-14 mm).

*E. coli* klinik izolatları (17 izolat) standart olarak kullanılan antibiyotiklerden Imipenem hariç diğer bütün antibiyotiklere karşı dirençli olmalarına rağmen *P. brutia*'dan elde edilen ham reçinenin 40 µg'lık uygulamaları bile etkili olduğu Tablo 3.2.'de görülmektedir.

*Pinus brutia*'dan elde edilen ham reçinenin *S. aureus* klinik izolatları üzerinde 80 µg'lık denemelerinde kontrol olarak kullanılan, antibiyotiklerden daha büyük zon çapları oluşturduğu Tablo 3.3.'de görülmektedir.

*S. pyogenes* bilinen en patojen mikroorganizmalardan biri olup, streptokok anjini, bakteriyal endokarditler, akut eklem romatizması ve üriner enfeksiyonlara neden

olduğu bilinmektedir. Kullanılan ham reçinenin 40 µg'lık denemeleri bile bu mikroorganizma üzerinde ciddi bir antimikrobiyal aktivite gösterdiği Tablo 3.4.'de belirgin bir biçimde görülmektedir.

*P. aeruginosa*'nın 12 farklı klinik izolatları üzerine ham reçinenin 40 µg'lık uygulamaları her hangi bir antimikrobiyal aktivite göstermemiş ise de 60 ve 80 µg'lık uygulamalarla elde edilen sonuçlar, standart antibiyotikler olarak kullanılan Erythromycin, Ampicillin/Sulbactam ve Amoxycillin ile kıyaslandığında *P. brutia* reçinesinin antibiyotik gücünün daha fazla olduğu Tablo 3.5.'de görülmektedir.

Elde edilen bulgulara göre, her derişimde ham reçine ve organik ekstraktlar ile bir zon çapı oluşurken Imipenem hariç standart olarak kullanılan Erythromycin, Ampicillin/Sulbactam ve Amoxycillin antibiyotikleri için ise çoğu kez negatif sonuç elde edilmiştir. Standart antibiyotik olarak kullanılan Imipenem'in uygulanması ile elde edilen zon çapları, ham katran ve organik ekstraktların uygulanması ile elde edilen zon çaplarıyla kıyaslandığında daha büyük değerler elde edilmesi ham reçinenin ve organik ekstraktlarının kullanılan antibiyotiklerden daha az etkili olduğu sonucunu doğurmaz. **Eğer denemelerde kullanılan ana etken madde veya maddeler saf olarak kullanılan antibiyotiklerle aynı miktarlarda kullanılabilmiş olsaydı çok daha çarpıcı sonuçların elde edileceği kanısındayız.** Bu sonuçta *P. brutia*'dan elde edilen ham reçinenin daha güçlü antimikrobiyal değere sahip olduğunu göstermektedir. Bu saptama denenen bütün mikroorganizmalar için geçerlidir.

Kullanılan bütün mikroorganizmalara karşı en etkili olan antibiyotik Imipenem'dir. *P. brutia*'dan elde edilen ham reçine ve organik ekstraktlarda benzer inhibisyon zonları oluşturmuşlardır. Karbepenem sınıfından olan Imipenem'in yapısı diğer beta-laktam antibiyotiklerine benzemekle birlikte, bir çok mikroorganizma tarafından salgılanan beta-laktamazlara karşı son derece kararlıdır. Fakat canlı vücudunda süratle metabolize olarak inaktif hale gelmektedir. Bunun sebebi böbreklerin proksimal tübüllerinde bulunan ve Dehidropeptidaz-I ismi verilen enzimin etkisinden kaynaklanmaktadır. Imipenem'in aktive gösterebilmesi için Cilastatin ismi verilen ve spesifik olarak Dehidropeptidaz-I'i inhibe eden madde ile birlikte verilmektedir. Imipenem mikroorganizmalarda hücre duvarı oluşumundaki peptidoglikan sentezini inhibe etmektedir. Bunu yaparken önce sfer oluşumuna ve sonra lizise neden olmaktadır. Denemeler sonucunda *P. brutia*'dan elde edilen ham reçine ve organik



ekstraktlar ile İmipenem'in mikroorganizmalar üzerinde oluşturdıkları zon çapları benzer olduğundan etki mekanizmalarının da benzer bir metabolik yoldan olduğunu düşündürmektedir.

*Pinus brutia*'dan elde edilen ham reçine ve organik ekstraktlarının göstermiş olduğu bu etki önemlidir. Çünkü çalışmalarda kullanılan mikroorganizmalar bir çok enfeksiyon hastalıklarında birinci dereceden sorumlu olan mikroorganizmalardır. Çalışmalarımız sonucu elde edilen bu bulgular, bitki kimyasının ileride önemli bir kullanım alanı bulacağını göstermektedir.

Daha sonraki çalışmalarımız bu bitki ekstraktlarından biyolojik aktif maddelerin saflaştırılmasına yönelik olacaktır. Saflaştırılan bu maddelerin ayrı ayrı ve kombinasyon olarak mikroorganizmalar üzerindeki antimikrobiyal etkileri araştırılacaktır.





## **5. TABLOLAR VE RESİMLER**

**Tablo 3.1.1.** *Pistacia lentiscus*'dan elde edilen reçinenin asidik fraksiyonunun değişik zaman aralıklarında ve farklı konsantrasyonlarda *H. pylori*'nin üremesi üzerindeki antimikrobiyal etkisi.

Zaman (saat)	Reçine Konsantrasyonu (mg/mL)	Seyreltme Oranı	Koloni Sayısı	log <sub>10</sub> Koloni Sayısı/mL*
0	0.000	1x10 <sup>-5</sup>	20	8.00
	0.015	1x10 <sup>-5</sup>	20	8.00
	0.060	1x10 <sup>-5</sup>	20	8.00
	0.480	1x10 <sup>-5</sup>	20	8.00
6	0.000	1x10 <sup>-6</sup>	55	9.40
	0.015	1x10 <sup>-4</sup>	4	6.30
	0.060	1x10 <sup>-3</sup>	11	5.70
	0.480	1x10 <sup>-4</sup>	5	6.39
24	0.000	1x10 <sup>-6</sup>	100	9.69
	0.015	1x10 <sup>-3</sup>	9	5.60
	0.060	1x10 <sup>-1</sup>	2	3.00
	0.480	1x10 <sup>-2</sup>	3	4.10
48	0.000	1x10 <sup>-5</sup>	25	8.10
	0.015	1x10 <sup>-3</sup>	4	5.30
	0.060	1x10 <sup>-1</sup>	1	2.60
	0.480	1x10 <sup>-2</sup>	1	3.69

\*log<sub>10</sub> Koloni Sayısı/mL aşağıdaki şekilde hesaplanmıştır.  
log<sub>10</sub> Koloni Sayısı/mL = 50 x (1/ Seyreltme Oranı) x Koloni Sayısı

**Tablo 3.2.** *Pimus brutia*'dan elde edilen ham reçinenin ve standart olarak kullanılan antibiyotiklerin 17 farklı *E. coli* klinik izolatları üzerinde oluşturduğu zon çapları (mm).

No	Bakteri adı*	İnhibisyon Zonları (mm)									
		Ham reçine					Antibiyotikler				
		40µg	60µg	80µg	IPM	E	SAM	AML			
1	<i>Escherichia coli</i>	12	14	20	30	-	20	24			
2	<i>Escherichia coli</i>	12	13	17	28	10	18	20			
3	<i>Escherichia coli</i>	12	12	14	24	-	-	-			
4	<i>Escherichia coli</i>	13	15	20	26	18	-	-			
5	<i>Escherichia coli</i>	-	12	16	22	-	-	-			
6	<i>Escherichia coli</i>	12	14	20	26	-	-	-			
7	<i>Escherichia coli</i>	12	14	20	28	-	12	-			
8	<i>Escherichia coli</i>	12	14	20	26	-	-	-			
9	<i>Escherichia coli</i>	11	12	16	30	-	-	-			
10	<i>Escherichia coli</i>	14	18	20	26	-	10	-			
11	<i>Escherichia coli</i>	12	13	21	20	20	-	-			
12	<i>Escherichia coli</i>	14	14	20	30	-	24	22			
13	<i>Escherichia coli</i>	12	14	16	24	10	-	-			
14	<i>Escherichia coli</i>	10	12	14	26	-	12	-			
15	<i>Escherichia coli</i>	12	12	14	30	-	-	14			
16	<i>Escherichia coli</i>	12	14	16	24	-	-	-			
17	<i>Escherichia coli</i>	12	12	14	30	-	-	-			

\*Bütün klinik izolatlar Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalından temin edildi.  
 IPM: Imipenem (10µg), E: Erythromycin (15µg), SAM: Ampicillin/Sulbactam (10µg/10µg),  
 AML: Amoxicillin (25 µg), -: zon oluşturmadı.

**Tablo 3.3.** *Pinus brutia*'dan elde edilen ham reçinenin ve standart olarak kullanılan antibiyotiklerin 15 farklı *S. aureus* klinik izolatları üzerinde oluşturduğu zon çapları (mm).

No	Bakteri adı*	İnhibisyon Zonları (mm)									
		Ham reçine					Antibiyotikler				
		40µg	60µg	80µg	IPM	E	SAM	AML			
1	<i>Staphylococcus aureus</i>	12	14	18	-	-	10	-			
2	<i>Staphylococcus aureus</i>	20	21	24	>30	30	18	14			
3	<i>Staphylococcus aureus</i>	12	12	18	20	10	22	20			
4	<i>Staphylococcus aureus</i>	10	14	16	22	-	14	-			
5	<i>Staphylococcus aureus</i>	12	18	18	30	10	18	12			
6	<i>Staphylococcus aureus</i>	12	14	20	-	-	8	-			
7	<i>Staphylococcus aureus</i>	14	14	20	10	-	18	12			
8	<i>Staphylococcus aureus</i>	12	14	16	18	-	20	18			
9	<i>Staphylococcus aureus</i>	12	14	18	20	-	18	14			
10	<i>Staphylococcus aureus</i>	12	14	20	20	-	18	20			
11	<i>Staphylococcus aureus</i>	12	14	20	>30	-	26	20			
12	<i>Staphylococcus aureus</i>	12	14	16	22	-	20	-			
13	<i>Staphylococcus aureus</i>	12	12	14	30	10	20	16			
14	<i>Staphylococcus aureus</i>	10	12	18	20	-	20	18			
15	<i>Staphylococcus aureus</i>	12	16	20	30	30	22	18			

\*Bütün klinik izolatlar Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalından temin edildi.  
 IPM: Imipenem (10µg), E: Erythromycin (15µg), SAM: Ampicillin/Sulbactam (10µg/10µg),  
 AML: Amoxicillin (25 µg), -: zon oluşumadı.

**Tablo 3.4.** *Pinus brutia*'dan elde edilen ham reçinenin ve standart olarak kullanılan antibiyotiklerin 12 farklı *S. pyogenes* klinik izolatları üzerinde oluşturduğu zon çapları (mm).

No	Bakteri adı*	İnhibisyon Zonları (mm)									
		Ham reçine					Antibiyotikler				
		40µg	60µg	80µg	IPM	E	SAM	AML			
1	<i>Streptococcus pyogenes</i>	20	24	>30	30	>30	24	30			
2	<i>Streptococcus pyogenes</i>	10	14	18	30	-	16	-			
3	<i>Streptococcus pyogenes</i>	14	16	22	30	-	26	30			
4	<i>Streptococcus pyogenes</i>	14	24	>30	30	>30	26	30			
5	<i>Streptococcus pyogenes</i>	12	24	30	30	>30	>30	>30			
6	<i>Streptococcus pyogenes</i>	12	16	18	30	22	20	14			
7	<i>Streptococcus pyogenes</i>	16	18	26	30	24	18	10			
8	<i>Streptococcus pyogenes</i>	18	24	30	30	22	-	28			
9	<i>Streptococcus pyogenes</i>	22	22	24	30	26	16	12			
10	<i>Streptococcus pyogenes</i>	24	28	30	30	-	24	30			
11	<i>Streptococcus pyogenes</i>	16	18	24	30	-	18	10			
12	<i>Streptococcus pyogenes</i>	10	14	18	30	-	-	-			

\*Bütün klinik izolatlar Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalından temin edildi.

IPM: Imipenem (10µg), E: Erythromycin (15µg), SAM: Ampicillin/Sulbactam (10µg/10µg),

AML: Amoxicillin (25 µg), -: zon oluşturmadı.

**Tablo 3.5.** *Pinus brutia*'dan elde edilen ham reçinenin ve standart olarak kullanılan antibiyotiklerin 12 farklı *P. aeruginosa* klinik izolatları üzerinde oluşturduğu zon çapları (mm).

No	Bakteri adı*	İnhibisyon Zonları (mm)									
		Ham reçine					Antibiyotikler				
		40µg	60µg	80µg	IPM	E	SAM	AML			
1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	10	12	30	-	-	-			
2	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	10	12	30	-	-	-			
3	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	10	14	30	-	-	-			
4	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	12	14	30	-	18	24			
5	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	10	14	30	-	20	22			
6	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	11	14	30	-	20	24			
7	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	10	12	30	-	-	-			
8	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	10	12	30	10	20	24			
9	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	12	13	30	-	-	-			
10	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	8	10	30	-	-	-			
11	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	10	12	30	-	-	-			
12	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	30	-	-	-			

\*Bütün klinik izolatlar Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalından temin edildi.

IPM: Imipenem (10µg), E: Erythromycin (15µg), SAM: Ampicillin/Sulbactam (10µg/10µg),

AML: Amoxycillin (25 µg), -: zon oluşturmadı.

**Tablo 3.6.** *Pinus brutia*'dan elde edilen ham reçine, organik ekstrakt ve standart antibiyotiklerin oluşturdukları inhibisyon zon çapları (mm).

Test Edilen Mikroorganizmalar	İnhibisyon Zonları (mm)																													
	Ham Reçine						Ekstraktlar																		Antibiyotikler					
	40 µg		80 µg		20 µg		Metanol		Bütanol		Petrol Eteri		Etil Asetat		Kloroform		Hekzan		I		E		S							
	40	80	40	80	40	80	40	60	80	40	60	80	40	60	80	40	60	80	40	60	80	40	60	80						
<i>Escherichia coli</i> <sup>a</sup>	13	15	20	-	12	-	10	14	10	12	14	-	12	-	10	12	-	12	-	10	12	18	-	-						
<i>Staphylococcus aureus</i> <sup>a</sup>	20	21	24	10	15	16	-	10	14	12	12	16	-	14	16	-	12	16	-	14	16	30	30	14						
<i>Streptococcus pyogenes</i> <sup>a</sup>	18	24	30	-	10	14	-	10	10	-	10	16	-	10	16	-	10	15	-	10	14	30	22	-	28					
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> <sup>a</sup>	-	11	14	12	14	14	-	14	14	-	10	15	10	10	16	10	14	14	-	15	14	30	-	20	24					
<i>Escherichia coli K12</i> <sup>b</sup>	12	14	20	-	12	-	12	14	-	12	14	-	18	-	12	-	10	12	12	14	14	30	-	22	14					
<i>Escherichia coli DH1</i> <sup>b</sup>	14	14	21	-	15	-	12	18	-	12	18	-	10	20	-	10	13	-	10	22	-	10	20	30	13					
<i>Bacillus brevis ATCC</i> <sup>b</sup>	20	20	30	12	16	22	-	14	30	16	16	26	14	16	22	-	16	20	16	20	30	30	30	28	20					
<i>Bacillus cereus</i> <sup>b</sup>	20	21	30	-	20	12	14	18	-	10	22	-	12	16	-	18	15	16	28	30	30	23	14	14						
<i>Candida albicans</i> <sup>a</sup>	14	16	18	-	10	12	-	20	20	-	14	18	-	12	-	10	10	14	16	22	nt	nt	nt	nt						

<sup>a</sup>Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalından alınan klinik izolatlar.

<sup>b</sup>TÜBİTAK Marmara Araştırma Merkezi, Gen Mühendisliği ve Biyoteknoloji Araştırma Enstitüsünden temin edilen bakteriler.

IPM: Imipenem (10µg), E: Erythromycin (15µg), SAM: Ampicillin/Sulbactam (10µg/10µg), AML: Amoxicillin (25 µg)

-: zon oluşturmadı, nt:test edilmedi



**Tablo 4.1.** *Pinus brutia*'dan elde edilen reçinenin, metanol, n-bütanol, petrol eteri, etil asetat, kloroform ve hegzan ekstralarının klinik izolatlarla karşı oluşturduğu inhibisyon zonlarının çapı (mm).

Test edilen mikroorganizmalar	µg/kağıt disk	İnhibisyon Zonları (mm)*						
		CR	E <sup>m</sup>	E <sup>c</sup>	E <sup>p</sup>	E <sup>h</sup>	E <sup>c</sup>	E <sup>b</sup>
<i>Streptococcus pyogenes</i>	40	12-14 (50.0) 18-20 (33.3) ≥24 (16.6)	-	-	-	-	-	-
	60	14-16 (50.0) 22-24 (41.6) 28 (8.3)	10	10	10	10	10	-
	80	24-26 (66.6) ≥30 (33.3)	14	16	16	14	15	10
<i>Staphylococcus aureus</i>	40	12-14 (100.0)	10	-	12	-	-	-
	60	14-16 (100.0)	15	14	12	14	12	10
	80	16-20 (93.0) ≥24 (6.6)	16	16	16	26	16	14
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	40	- (100.0)	12	10	-	-	10	-
	60	10-12 (100.0)	14	10	10	14	14	14
	80	12-14 (100.0)	14	16	15	15	14	14
<i>Escherichia coli</i>	40	12-14 (100.0)	-	-	10	-	-	-
	60	12-14 (88.2) 14-18 (11.7)	-	-	12	-	10	10
	80	18-20 (100.0)	12	12	14	12	12	14
<i>Candida albicans</i>	40	14 (100.0)	-	-	-	14	-	-
	60	16 (100.0)	10	-	14	16	10	20
	80	18 (100.0)	12	12	18	22	10	20

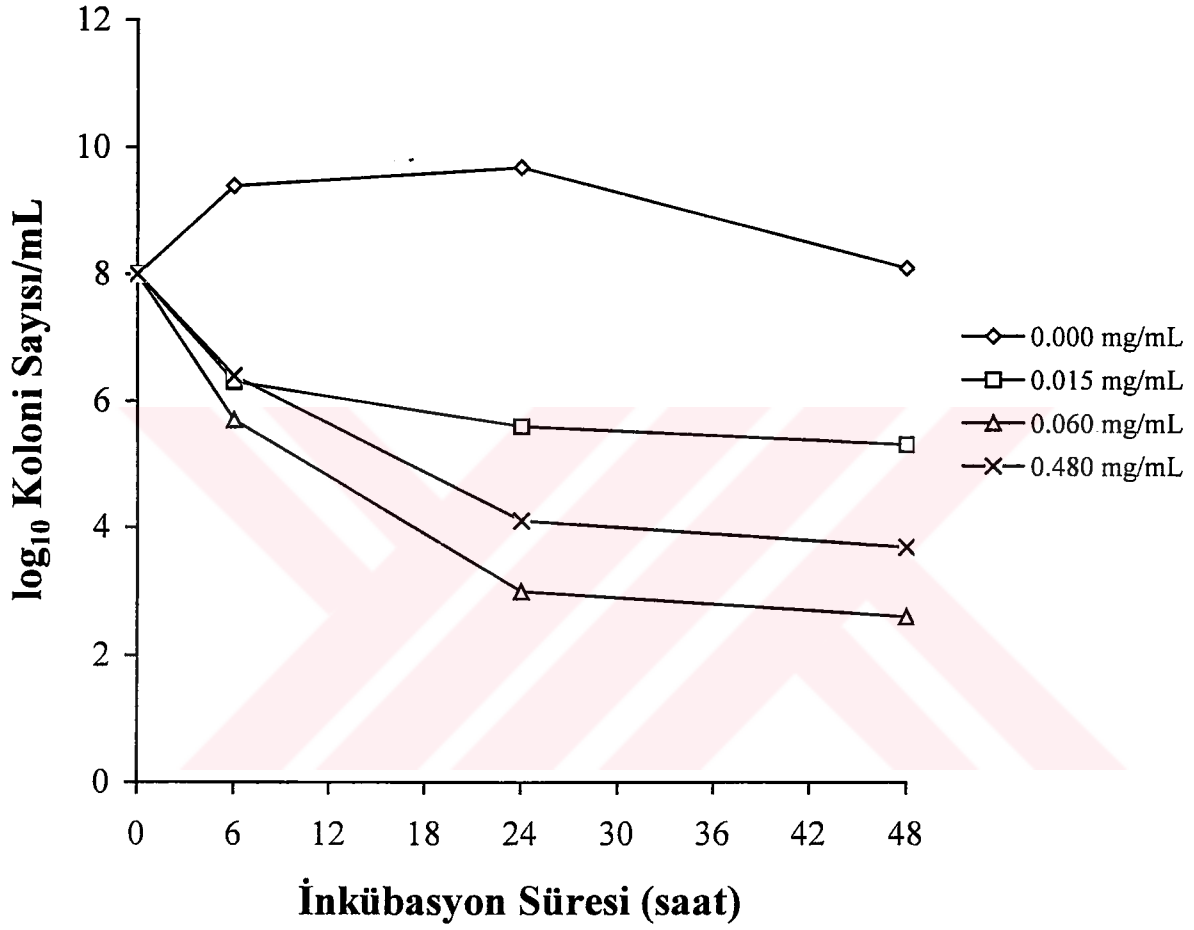
CR: ham reçine; <sup>m</sup>metanol ekstraktı; <sup>c</sup>etil asetat ekstraktı; <sup>p</sup>petrol eteri ekstraktı; <sup>h</sup>hegzan ekstraktı; <sup>k</sup>kloroform ekstraktı; <sup>n</sup>n- bütanol ekstraktı; -: zon oluşturmadı, (%) : yüzde aktivite.

\*Organik ekstraktlar ham reçinenin en büyük zon oluşturduğu her mikroorganizma türünden birer tanesi üzerinde test edildi.

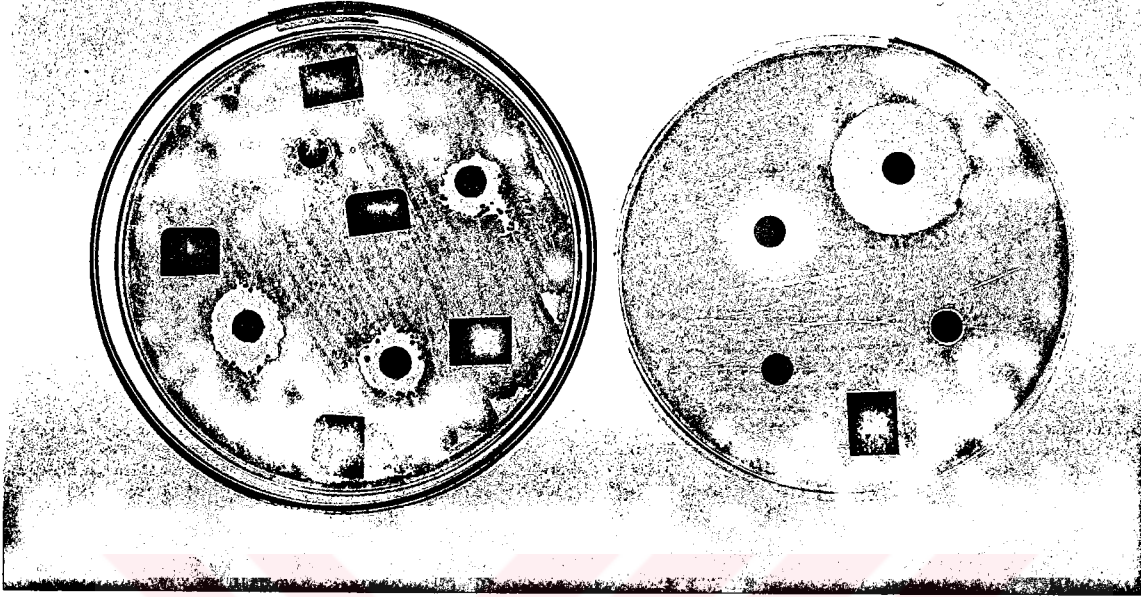
**Tablo 4.2.** Standart antibiyotiklerin mikroorganizmalar üzerinde oluşturduğu zon çapları (mm)<sup>a</sup>.

Test edilen mikroorganizmalar	İnhibisyon Zonları (mm)			
	IPM (10µg/kağıt disk)	E (10µg/kağıt disk)	SAM (10/10µg/kağıt disk)	AML (25µg/kağıt disk)
<i>Staphylococcus aureus</i>	30 (100.0)	R (100.0)	14 (20.0) ≥15 (80.0)	R (26.6) ≥18 (73.3)
<i>Streptococcus pyogenes</i>	30 (100.0)	R (41.6) ≥23 (46.6)	R (16.6) 16 (83.3)	R (50.0) 28 (50.0)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	30 (100.0)	R (100.0)	R (66.6) 20 (33.3)	R (66.6) 22 (33.3)
<i>Escherichia coli</i>	28 (100.0)	R (88.2) 18 (11.7)	R (82.3) 18 (17.6)	R (82.3) 20 (17.6)
<i>Candida albicans</i>	NT	NT	NT	NT

<sup>a</sup> IPM: imipenem; E: erythromycin; SAM: ampicillin/sulbactam; AML: amoxycillin; NT: test edilmedi; (%): yüzde aktivite; R: dirençli.

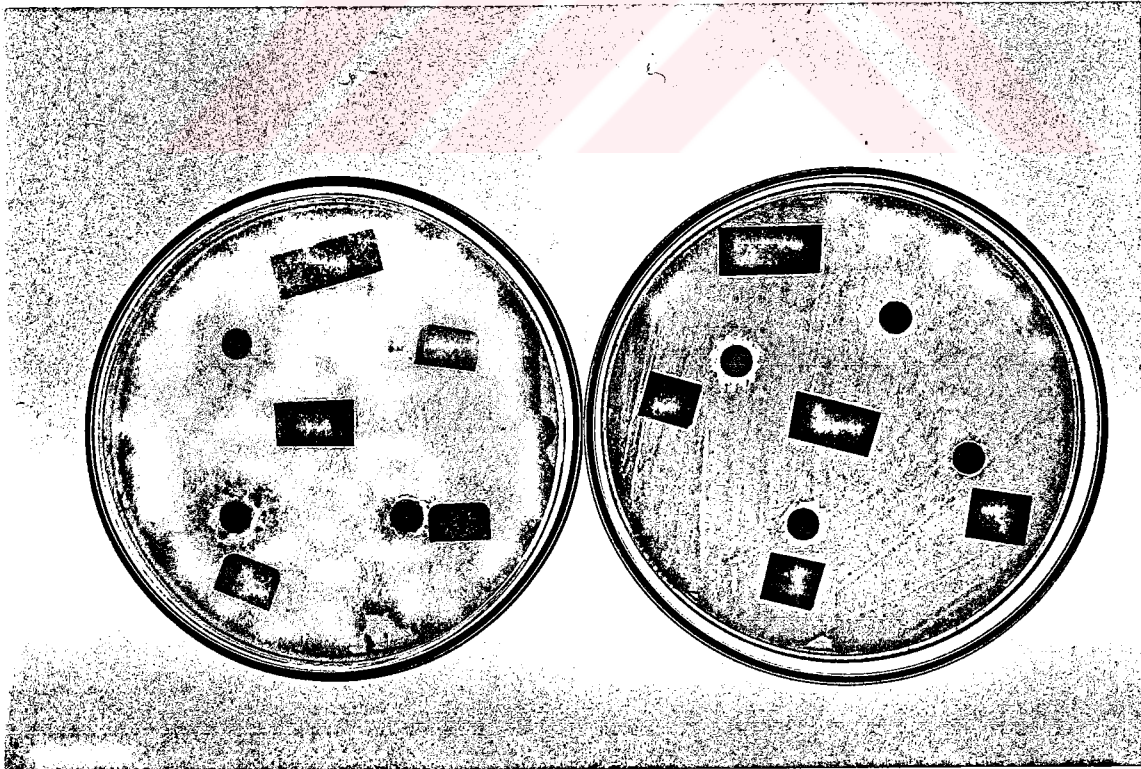


Şekil 4.1. Kontrol (0.000 mg/mL) ve değişik konsantrasyonlarda (0.015 mg/mL, 0.060 mg/mL, 0.480 mg/mL) *Pistacia lentiscus*'dan elde edilen reçinenin asidik fraksiyonunun *H. pylori* üzerindeki antibakteriyal etkisi.



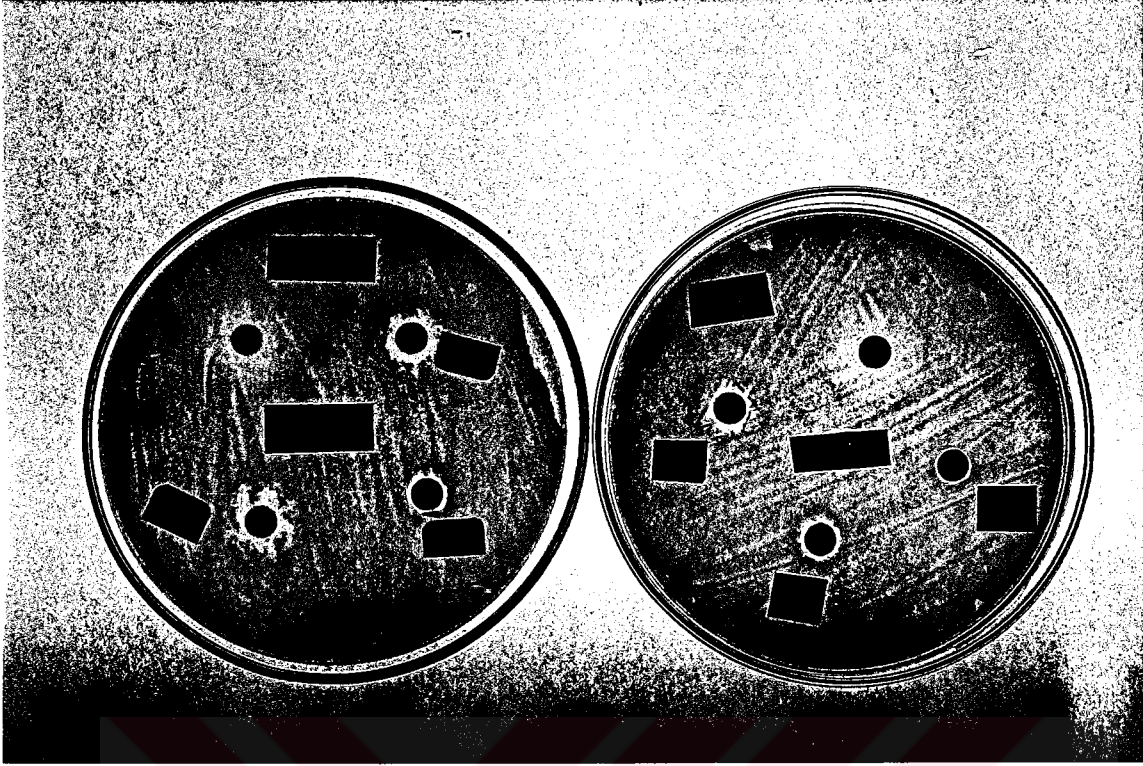
**Resim 3.1.a.** *Pinus brutia*'dan elde edilen reçinenin *E. coli* üremesi üzerine engelleyici etkisi.

**Resim 3.1.b.** Bazı antibiyotiklerin *E. coli* üremesi üzerine engelleyici etkileri.



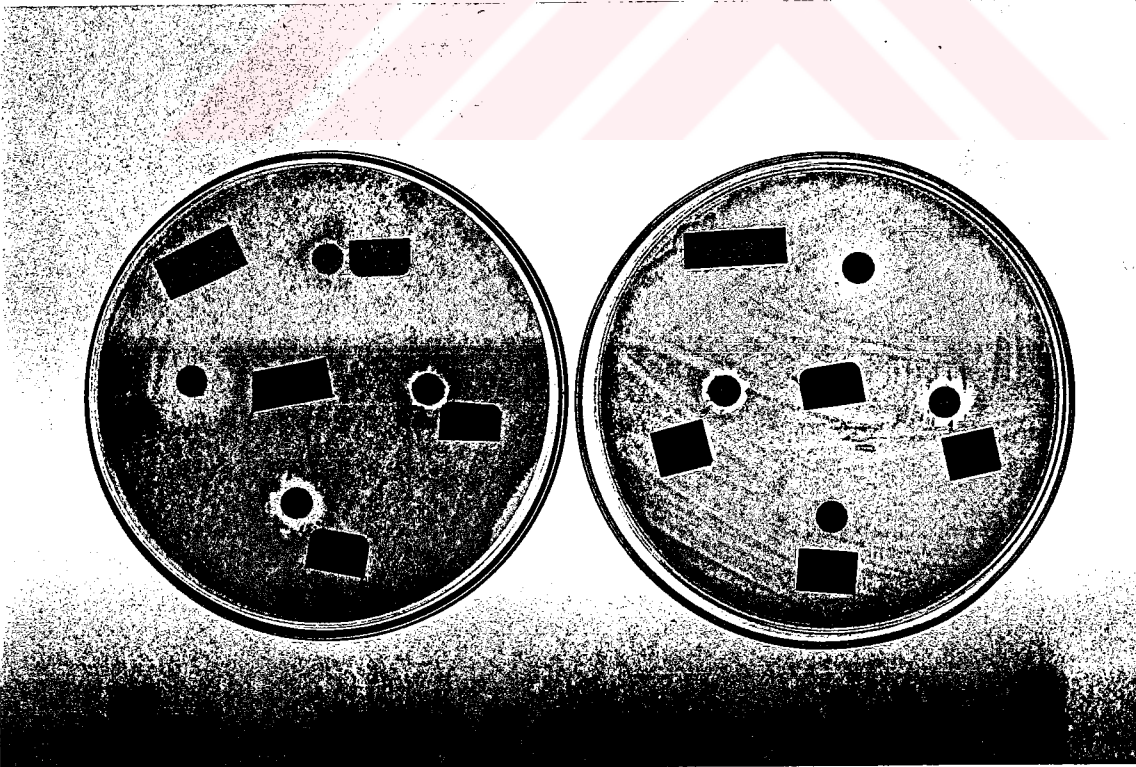
**Resim 3.1.c.** *Pinus brutia*'dan elde edilen reçinenin n-bütanol ekstraktının *E. coli* üremesi üzerine engelleyici etkisi.

**Resim 3.1.d.** *Pinus brutia*'dan elde edilen reçinenin metanol ekstraktının *E. coli* üremesi üzerine engelleyici etkisi.



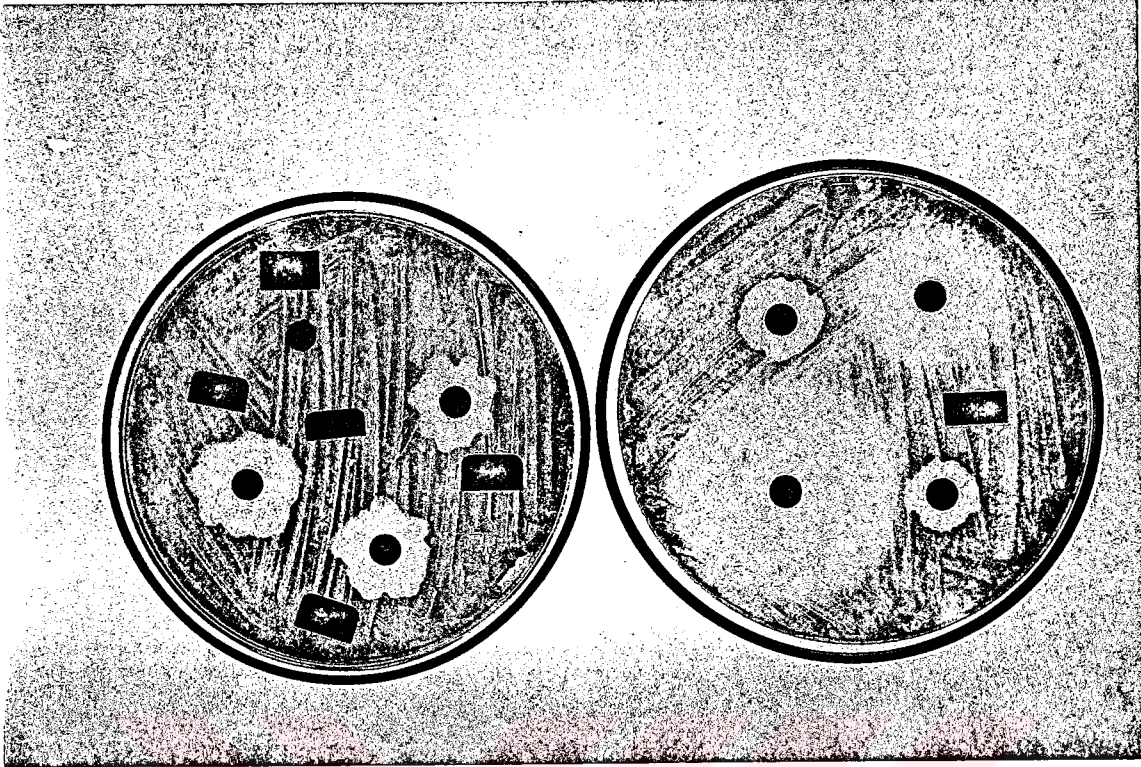
**Resim 3.1.e.** *Pinus brutia*'dan elde edilen reçinenin petrol eteri ekstraktının *E. coli* üremesi üzerine engelleyici etkisi.

**Resim 3.1.f.** *Pinus brutia*'dan elde edilen reçinenin etil asetat ekstraktının *E. coli* üremesi üzerine engelleyici etkisi.



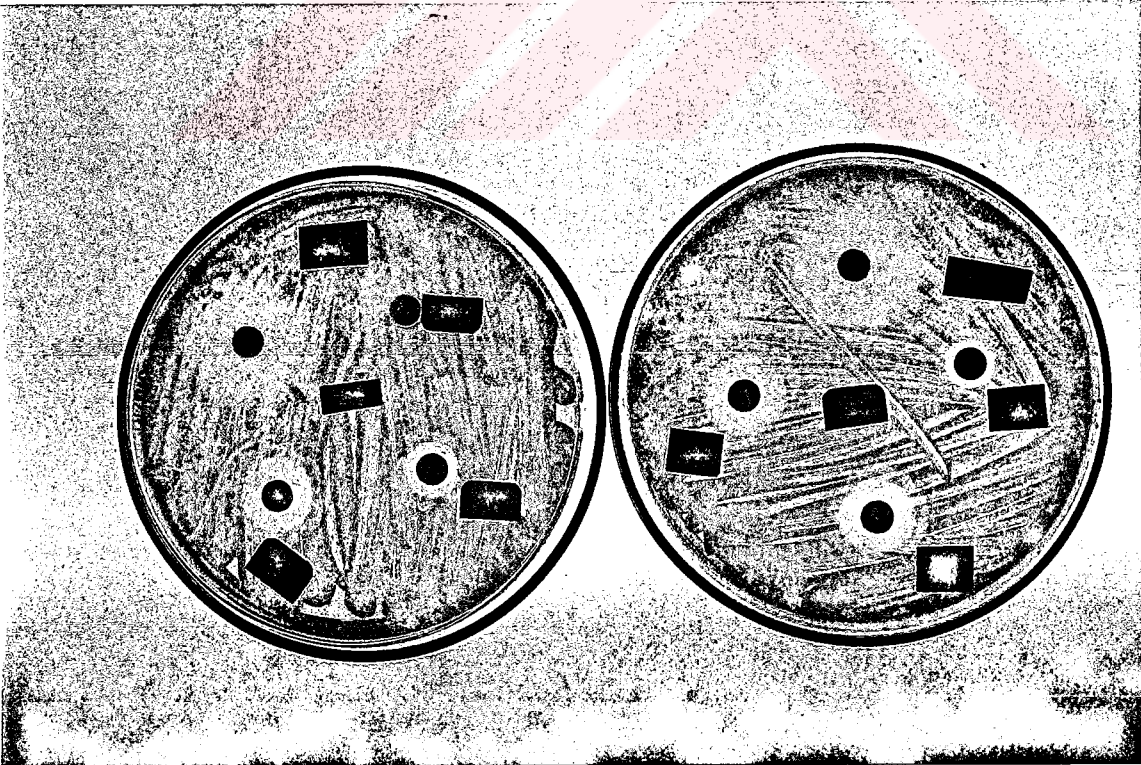
**Resim 3.1.g.** *Pinus brutia*'dan elde edilen reçinenin hekzan ekstraktının *E. coli* üremesi üzerine engelleyici etkisi.

**Resim 3.1.h.** *Pinus brutia*'dan elde edilen reçinenin kloroform ekstraktının *E. coli* üremesi üzerine engelleyici etkisi.



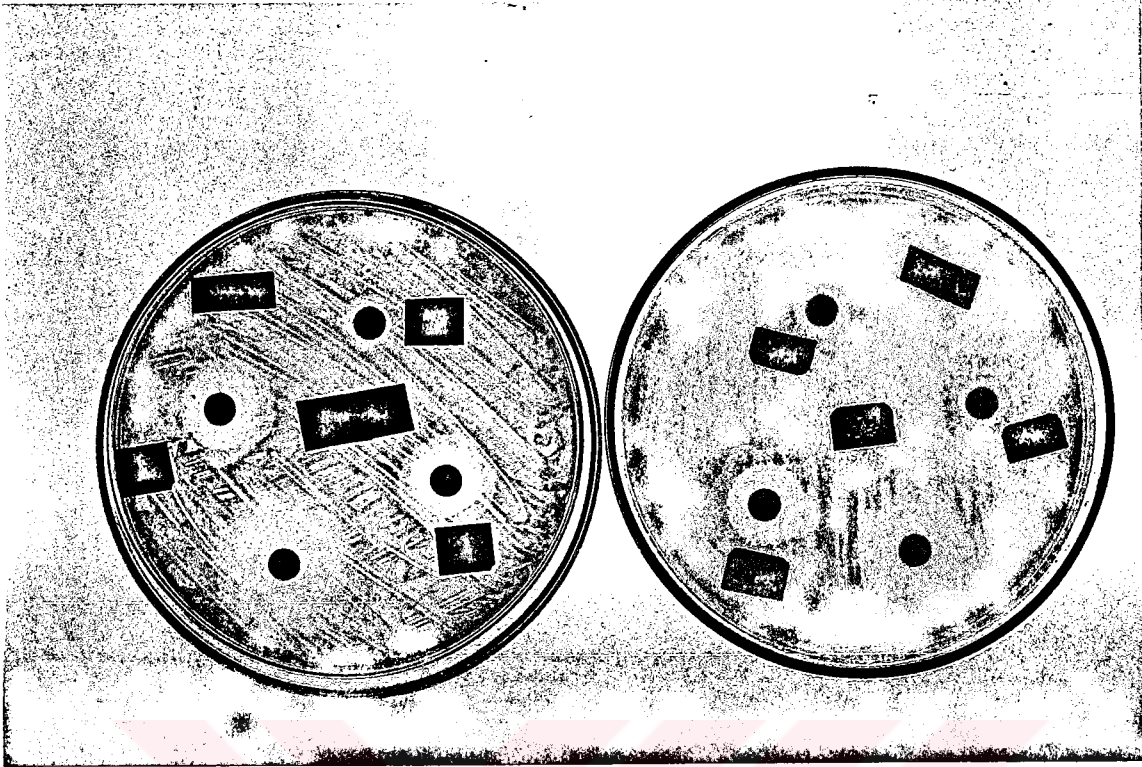
**Resim 3.2.a.** *Pinus brutia*'dan elde edilen reçinenin *S. aureus* üremesi üzerine engelleyici etkisi.

**Resim 3.2.b.** Bazı antibiyotiklerin *S. aureus* üremesi üzerine engelleyici etkileri.



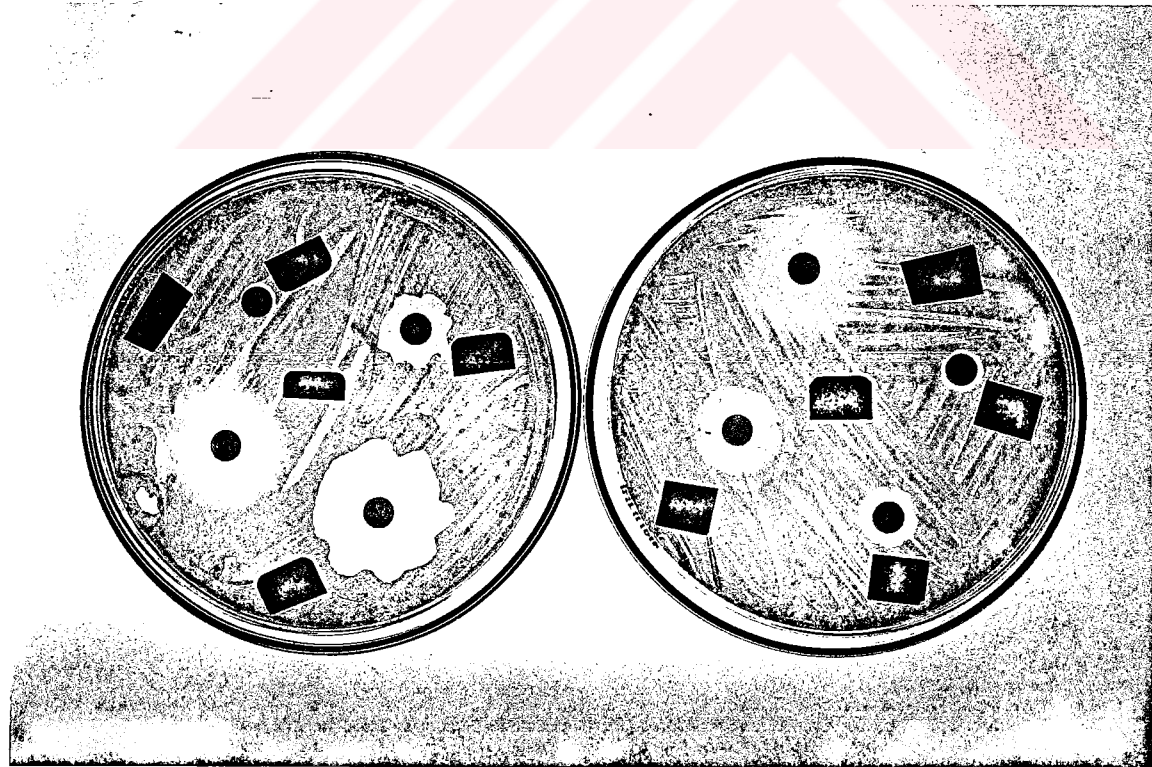
**Resim 3.2.c.** *Pinus brutia*'dan elde edilen reçinenin n-bütanol ekstraktının *S. aureus* üremesi üzerine engelleyici etkisi.

**Resim 3.2.d.** *Pinus brutia*'dan elde edilen reçinenin metanol ekstraktının *S. aureus* üremesi üzerine engelleyici etkisi.



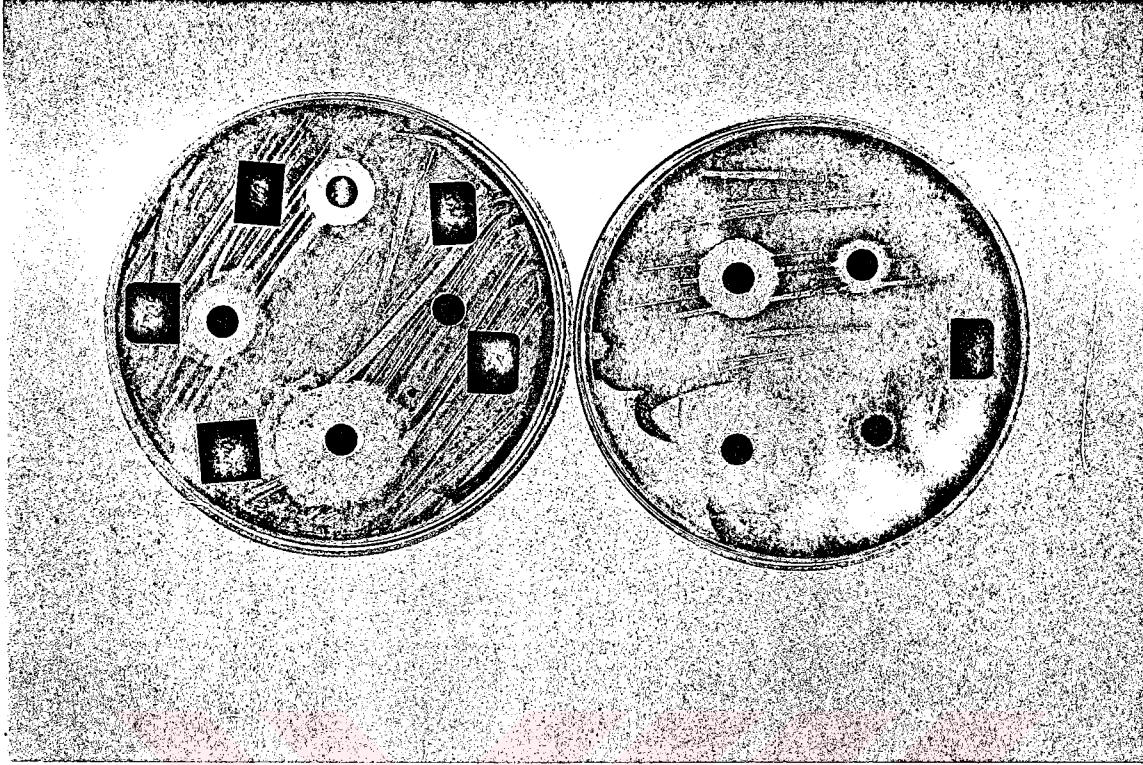
**Resim 3.2.e.** *Pinus brutia*'dan elde edilen reçinenin etil asetat ekstraktının *S. aureus* üremesi üzerine engelleyici etkisi.

**Resim 3.2.f.** *Pinus brutia*'dan elde edilen reçinenin petrol eteri ekstraktının *S. aureus* üremesi üzerine engelleyici etkisi.



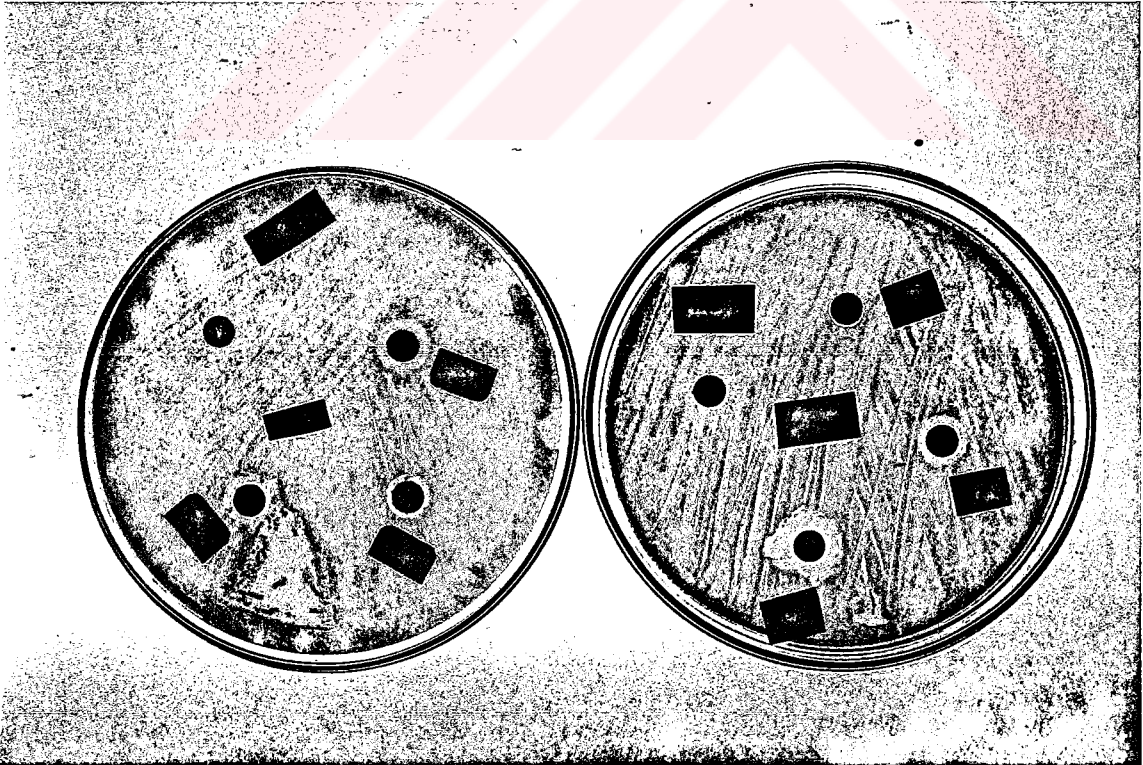
**Resim 3.2.g.** *Pinus brutia*'dan elde edilen reçinenin hekzan ekstraktının *S. aureus* üremesi üzerine engelleyici etkisi.

**Resim 3.2.h.** *Pinus brutia*'dan elde edilen reçinenin kloroform ekstraktının *S. aureus* üremesi üzerine engelleyici etkisi.



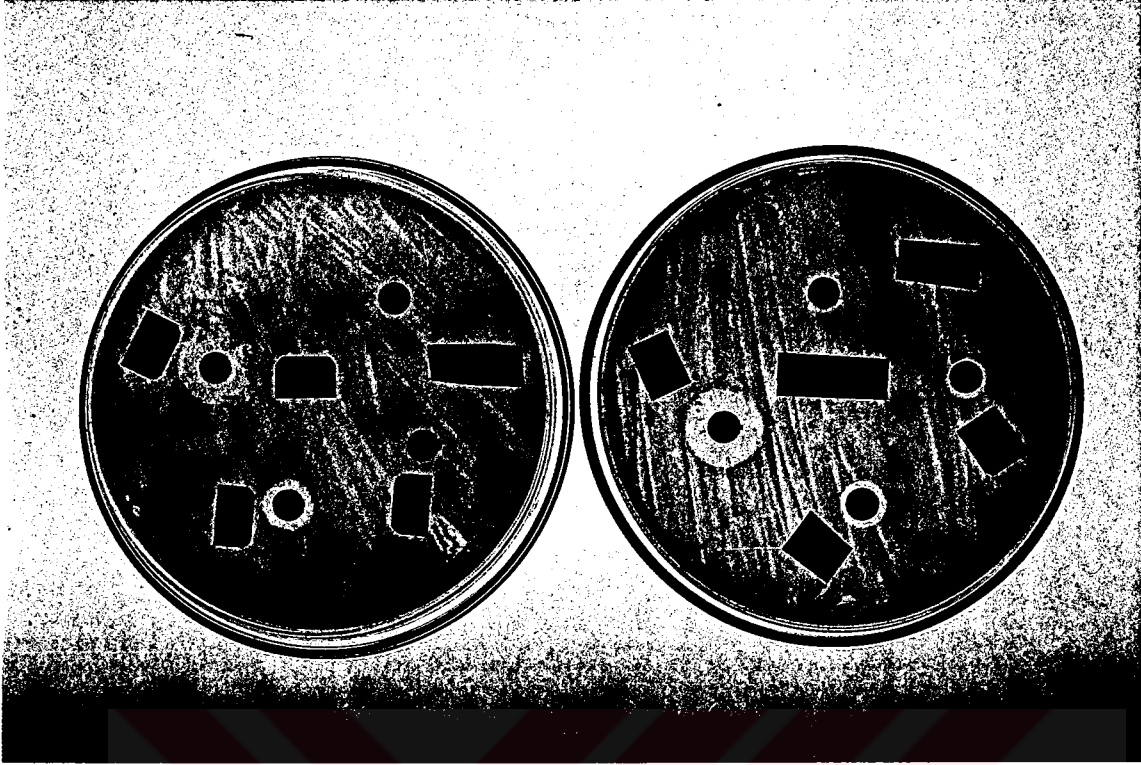
**Resim 3.3.a.** *Pinus brutia*'dan elde edilen reçinenin *S. pyogenes* üremesi üzerine engelleyici etkisi.

**Resim 3.3.b.** Bazı antibiyotiklerin *S. pyogenes* üremesi üzerine engelleyici etkileri.



**Resim 3.3.c.** *Pinus brutia*'dan elde edilen reçinenin n-bütanol ekstraktının *S. pyogenes* üremesi üzerine engelleyici etkisi.

**Resim 3.3.d.** *Pinus brutia*'dan elde edilen reçinenin metanol ekstraktının *S. pyogenes* üremesi üzerine engelleyici etkisi.



**Resim 3.3.e.** *Pinus brutia*'dan elde edilen reçinenin petrol eteri ekstraktının *S. pyogenes* üremesi üzerine engelleyici etkisi.

**Resim 3.3.f.** *Pinus brutia*'dan elde edilen reçinenin etil asetat ekstraktının *S. pyogenes* üremesi üzerine engelleyici etkisi.



**Resim 3.3.g.** *Pinus brutia*'dan elde edilen reçinenin hekzan ekstraktının *S. pyogenes* üremesi üzerine engelleyici etkisi.

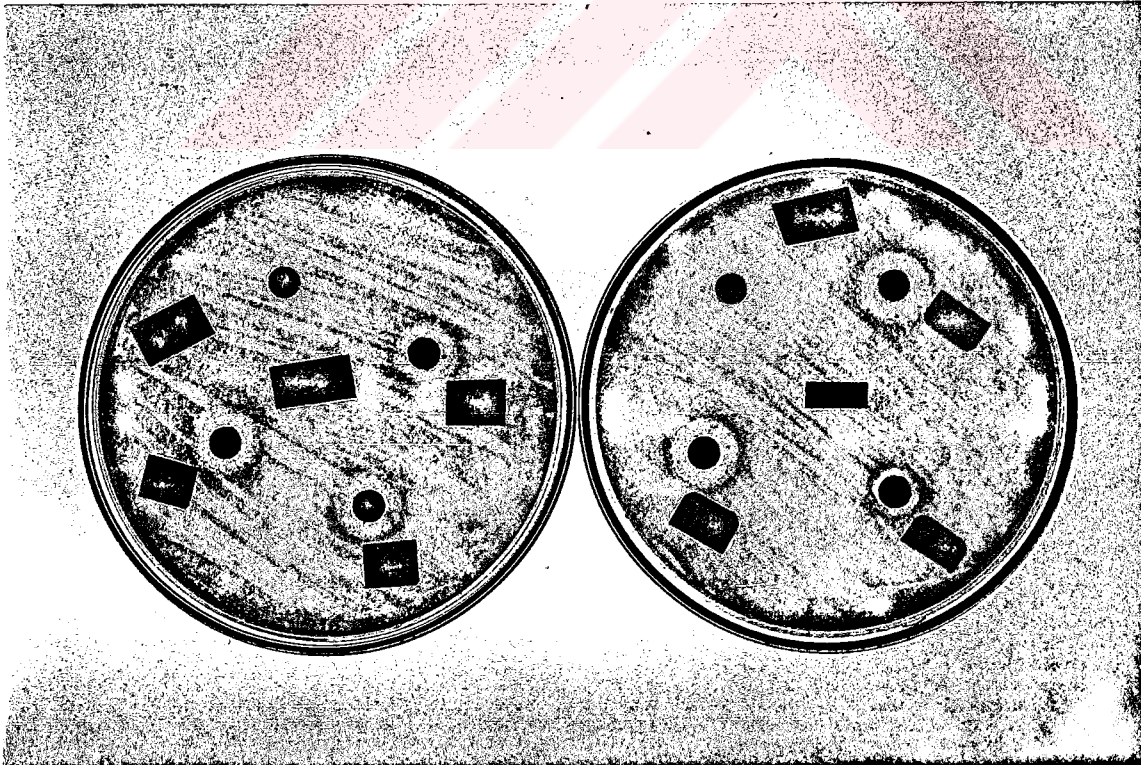
**Resim 3.3.h.** *Pinus brutia*'dan elde edilen reçinenin kloroform ekstraktının *S. pyogenes* üremesi üzerine engelleyici etkisi.





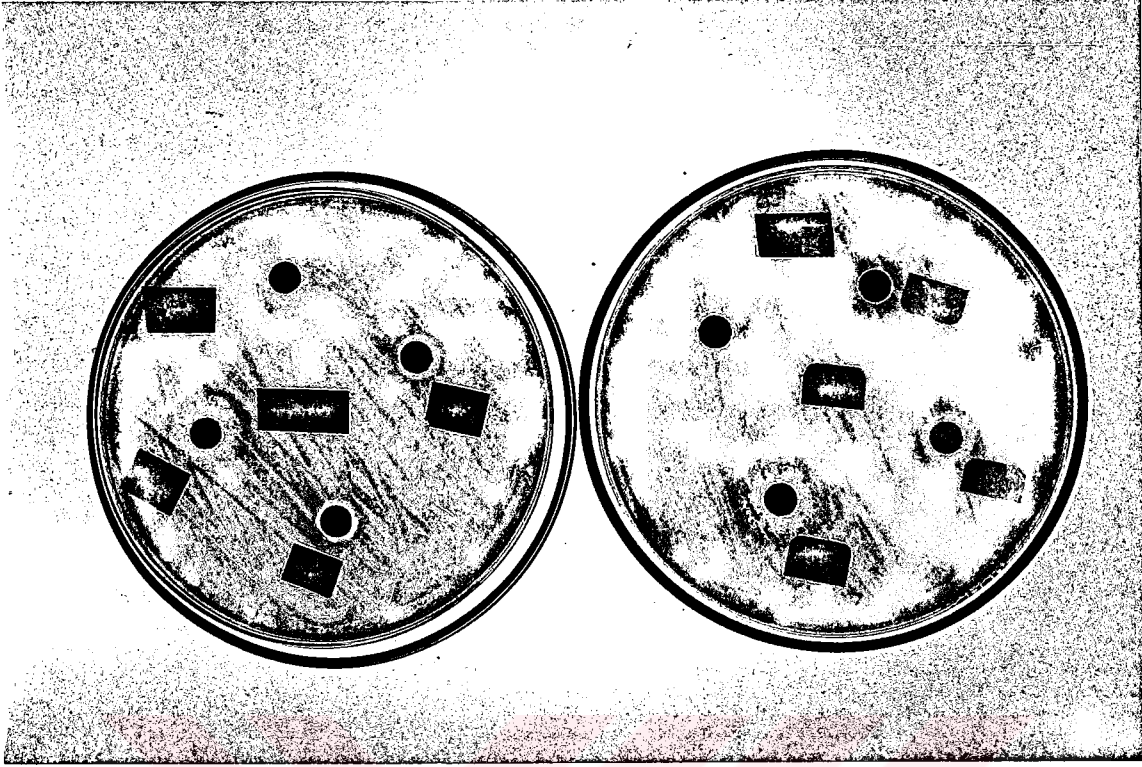
**Resim 3.4.a.** *Pinus brutia*'dan elde edilen reçinenin *P. aeruginosa* üremesi üzerine engelleyici etkisi.

**Resim 3.4.b.** Bazı antibiyotiklerin *P. aeruginosa* üremesi üzerine engelleyici etkileri.



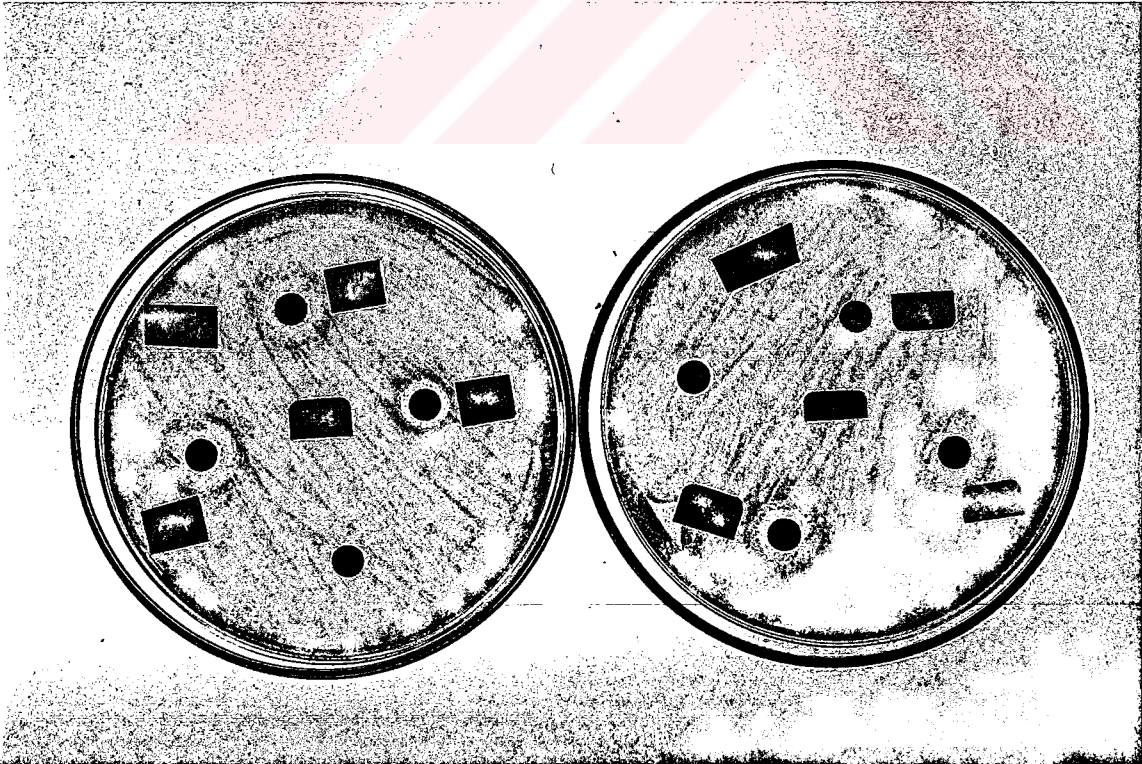
**Resim 3.4.c.** *Pinus brutia*'dan elde edilen reçinenin metanol ekstraktının *P. aeruginosa* üremesi üzerine engelleyici etkisi.

**Resim 3.4.d.** *Pinus brutia*'dan elde edilen reçinenin n-bütanol ekstraktının *P. aeruginosa* üremesi üzerine engelleyici etkisi.



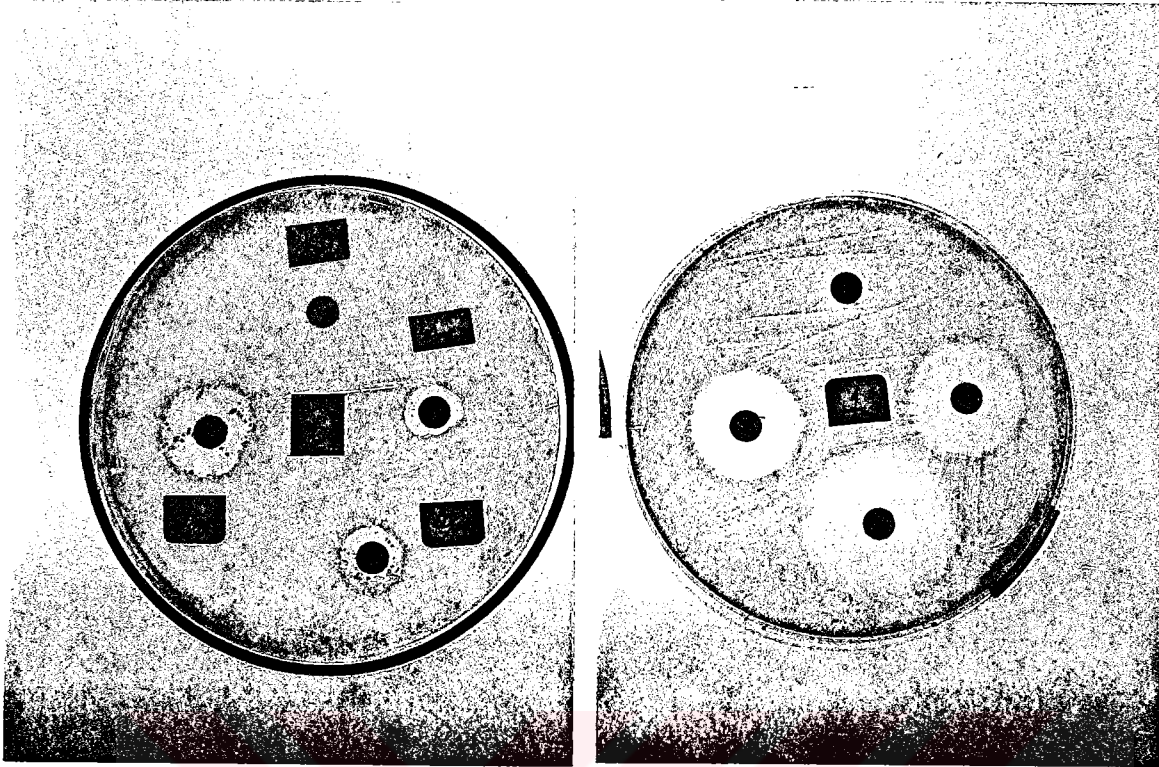
**Resim 3.4.e.** *Pinus brutia*'dan elde edilen reçinenin etil asetat ekstraktının *P. aeruginosa* üremesi üzerine engelleyici etkisi.

**Resim 3.4.f.** *Pinus brutia*'dan elde edilen reçinenin petrol eteri ekstraktının *P. aeruginosa* üremesi üzerine engelleyici etkisi.



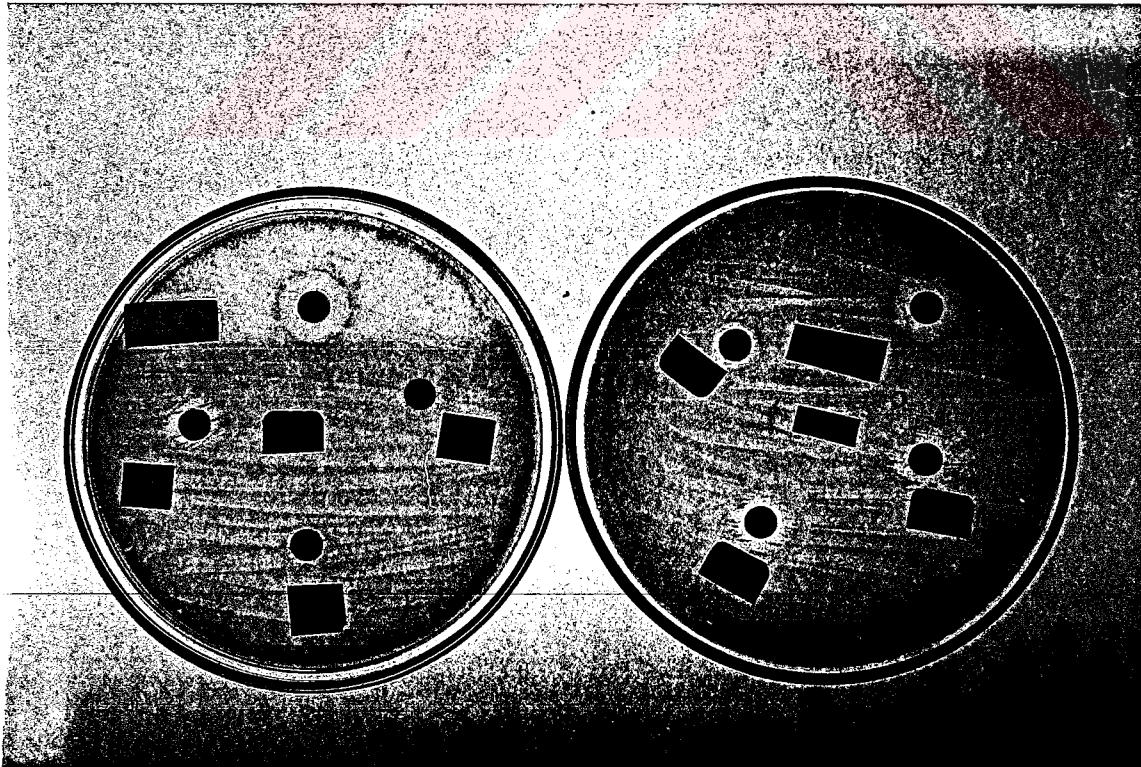
**Resim 3.4.g.** *Pinus brutia*'dan elde edilen reçinenin kloroform ekstraktının *P. aeruginosa* üremesi üzerine engelleyici etkisi.

**Resim 3.4.h.** *Pinus brutia*'dan elde edilen reçinenin hekzan ekstraktının *P. aeruginosa* üremesi üzerine engelleyici etkisi.



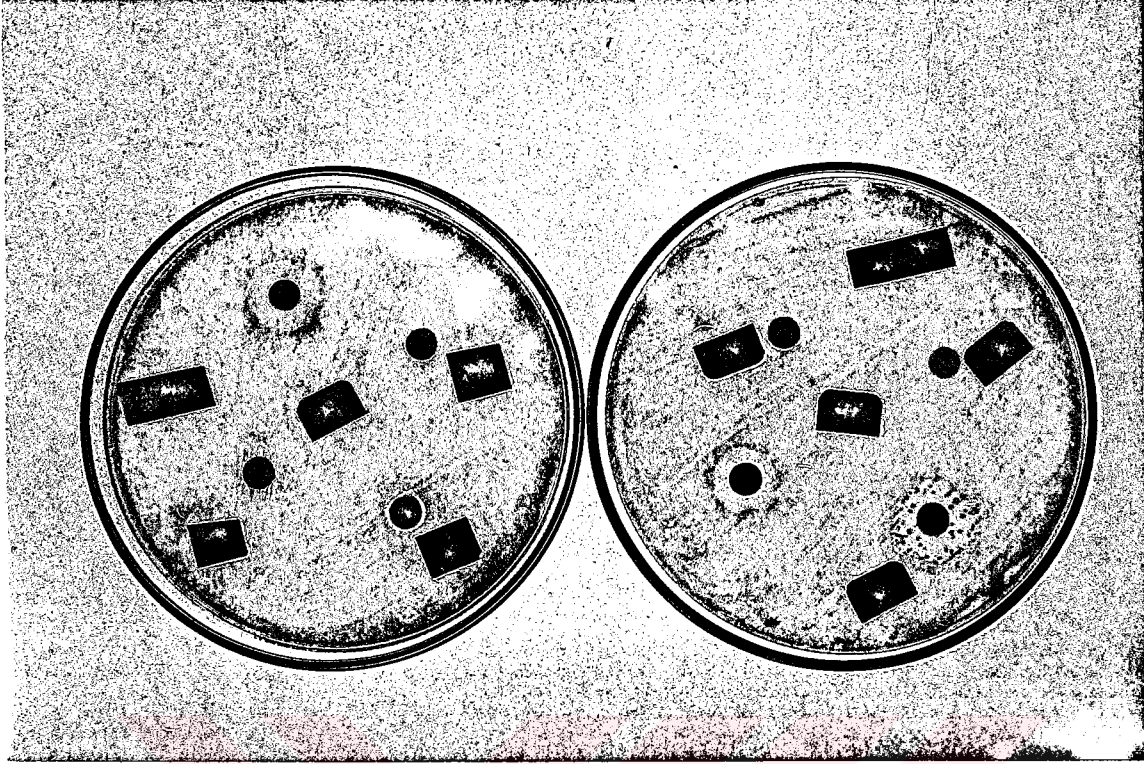
**Resim 3.5.a.** *Pinus brutia*' dan elde edilen reçinenin *E. coli K12* üremesi üzerine engelleyici etkisi.

**Resim 3.5.b.** Bazı antibiyotiklerin *E. coli K12* üremesi üzerine engelleyici etkileri.



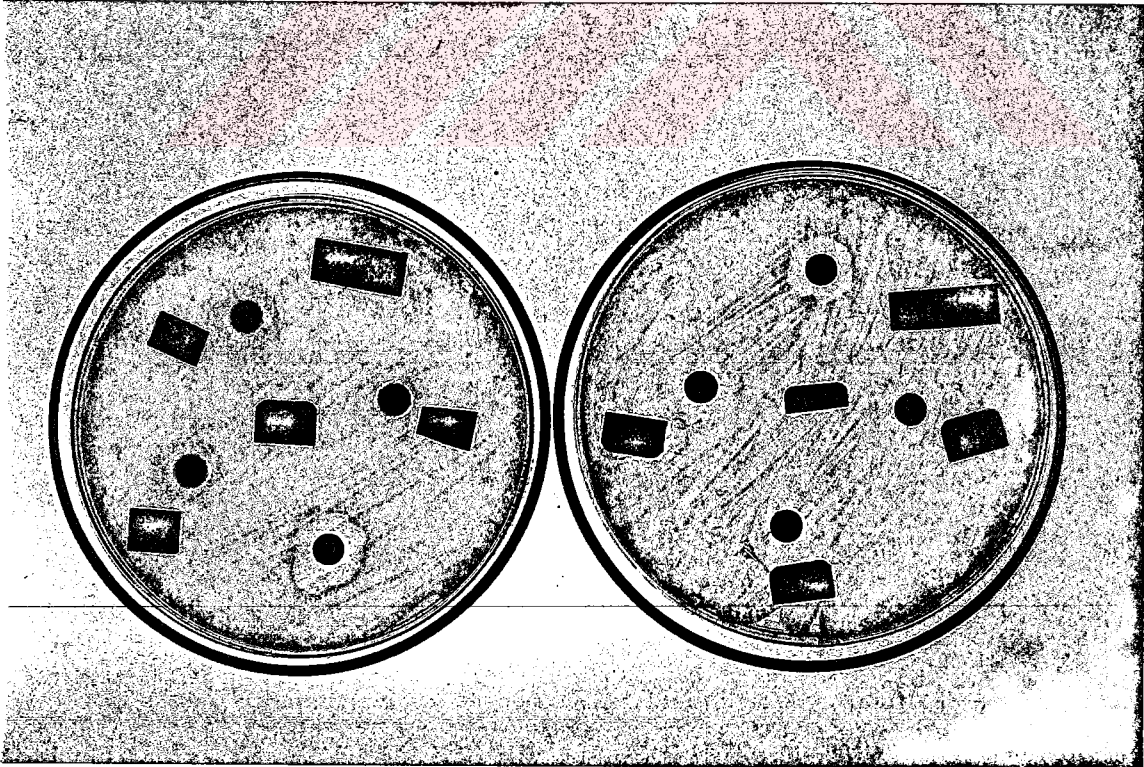
**Resim 3.5.c.** *Pinus brutia*' dan elde edilen reçinenin metanol ekstraktının *E. coli K12* üremesi üzerine engelleyici etkisi.

**Resim 3.5.d.** *Pinus brutia*' dan elde edilen reçinenin n-bütanol ekstraktının *E. coli K12* üremesi üzerine engelleyici etkisi.



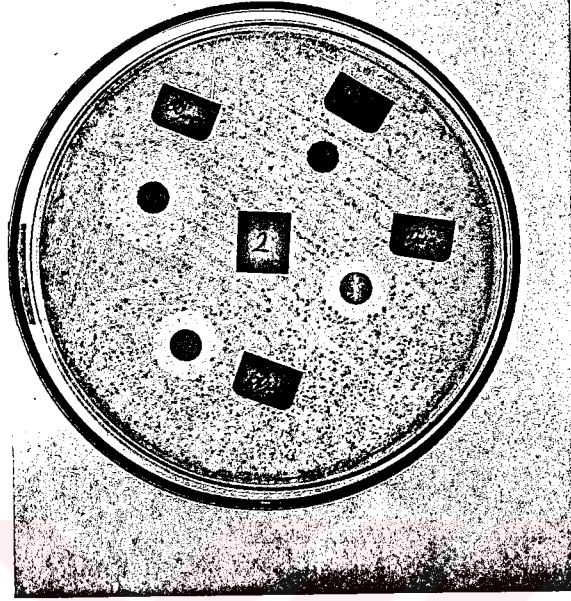
**Resim 3.5.e.** *Pinus brutia*' dan elde edilen reçinenin etil asetat ekstraktının *E. coli K12* üremesi üzerine engelleyici etkisi.

**Resim 3.5.f.** *Pinus brutia*' dan elde edilen reçinenin petrol eteri ekstraktının *E. coli K12* üremesi üzerine engelleyici etkisi.

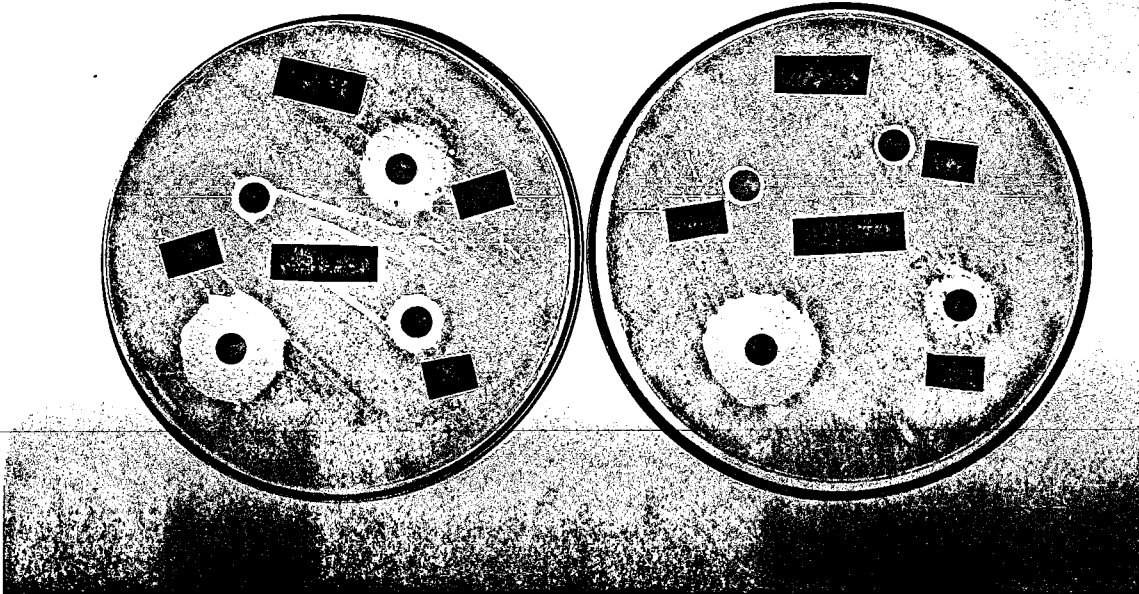


**Resim 3.5.g.** *Pinus brutia*' dan elde edilen reçinenin kloroform ekstraktının *E. coli K12* üremesi üzerine engelleyici etkisi.

**Resim 3.5.h.** *Pinus brutia*' dan elde edilen reçinenin hekzan ekstraktının *E. coli K12* üremesi üzerine engelleyici etkisi.

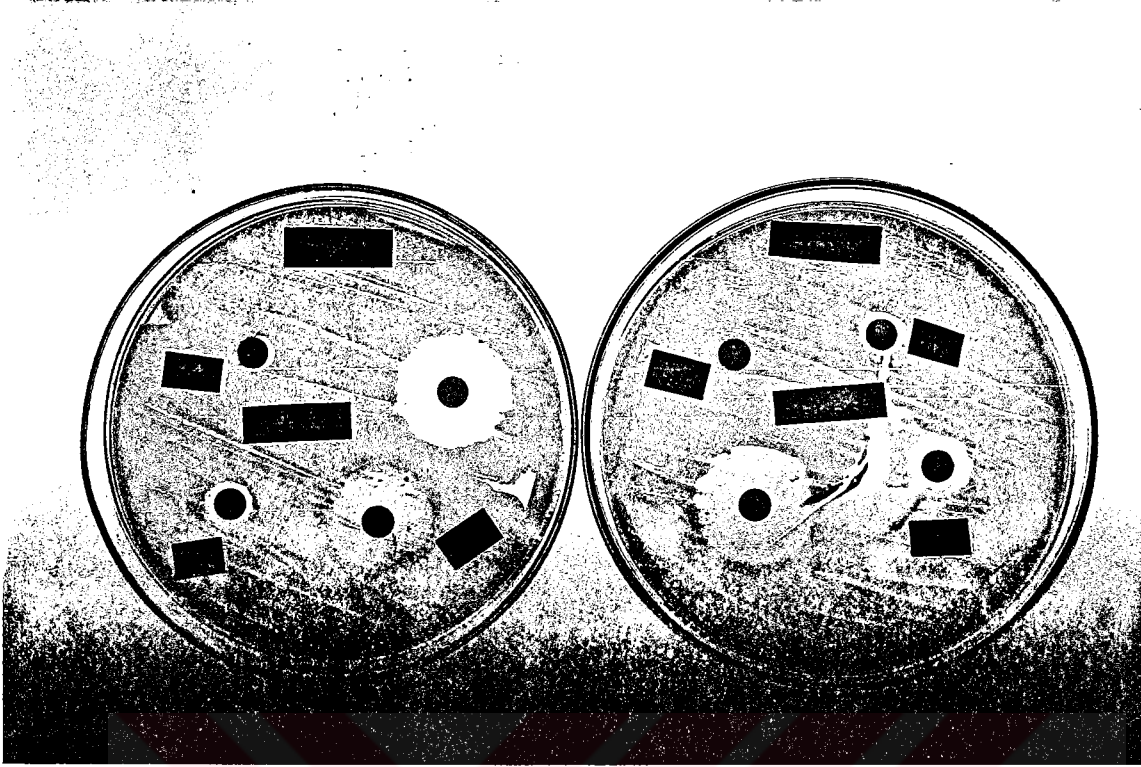


**Resim 3.6.a.** *Pinus brutia*'dan elde edilen reçinenin *E. coli DH1* üremesi üzerine engelleyici etkisi.



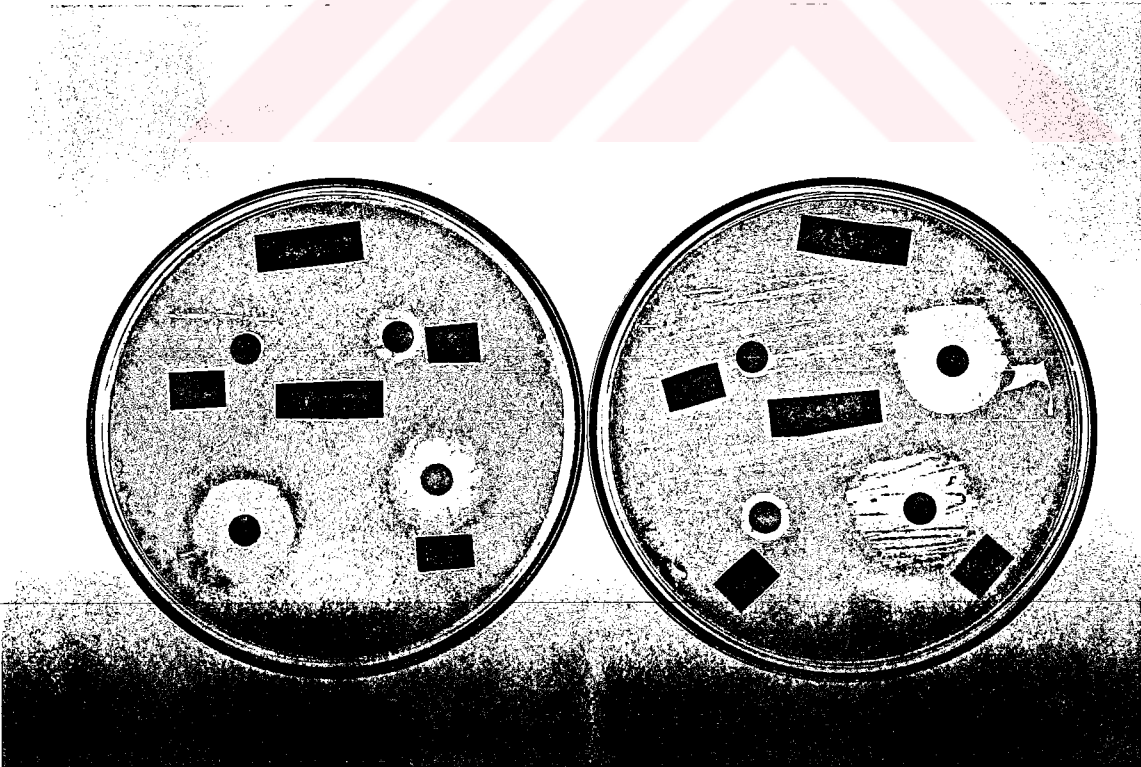
**Resim 3.6.b.** *Pinus brutia*'dan elde edilen reçinenin n-bütanol ekstraktının *E. coli DH1* üremesi üzerine engelleyici etkisi.

**Resim 3.6.c.** *Pinus brutia*'dan elde edilen reçinenin metanol ekstraktının *E. coli DH1* üremesi üzerine engelleyici etkisi.



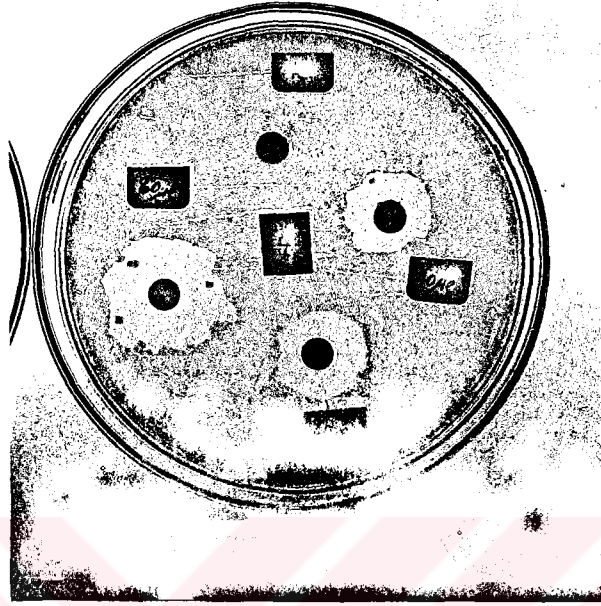
**Resim 3.6.d.** *Pinus brutia*'dan elde edilen reçinenin petrol eteri ekstraktının *E. coli DH1* üremesi üzerine engelleyici etkisi.

**Resim 3.6.e.** *Pinus brutia*'dan elde edilen reçinenin etil asetat ekstraktının *E. coli DH1* üremesi üzerine engelleyici etkisi.

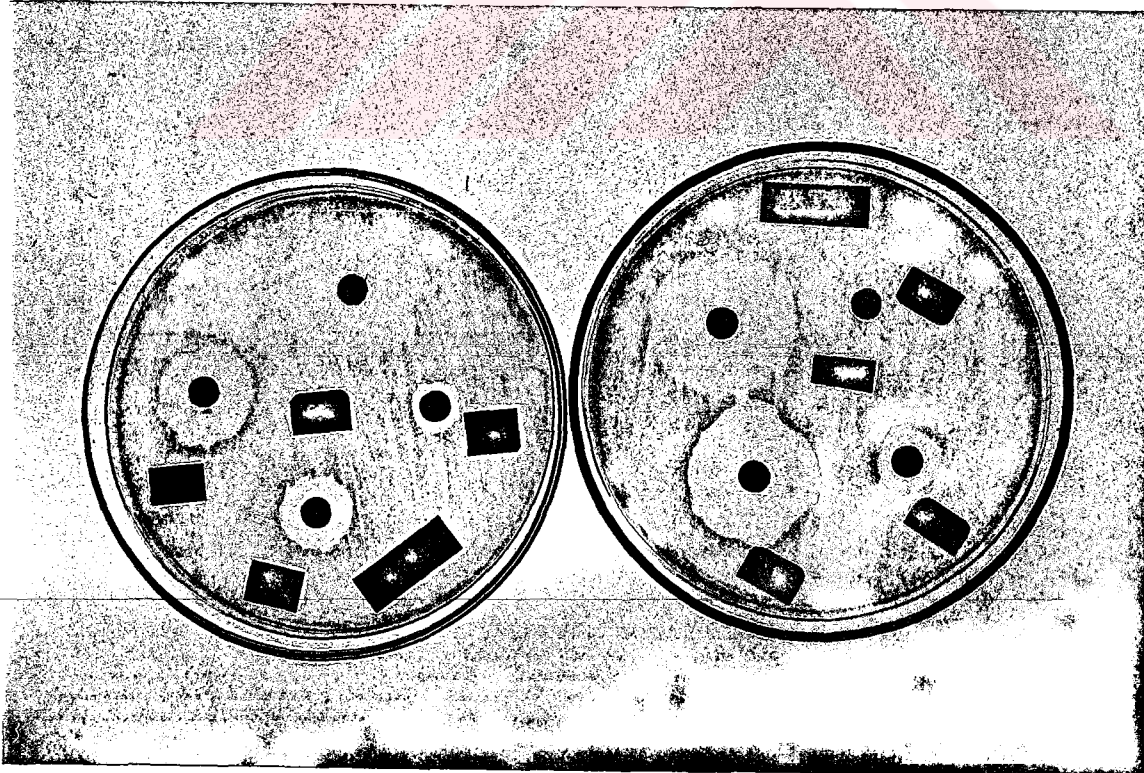


**Resim 3.6.f.** *Pinus brutia*'dan elde edilen reçinenin hekzan ekstraktının *E. coli DH1* üremesi üzerine engelleyici etkisi.

**Resim 3.6.g.** *Pinus brutia*'dan elde edilen reçinenin kloroform ekstraktının *E. coli DH1* üremesi üzerine engelleyici etkisi.



**Resim 3.7.a.** *Pinus brutia*'dan elde edilen reçinenin *B. brevis* ATCC üremesi üzerine engelleyici etkisi.



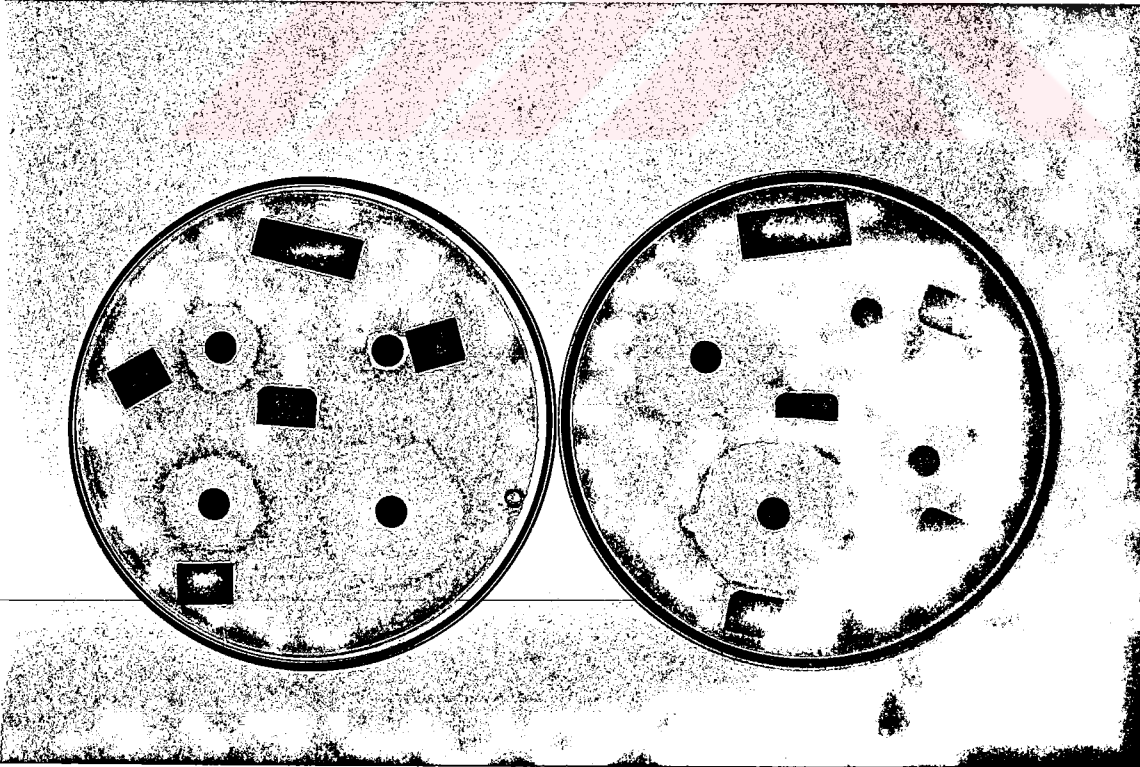
**Resim 3.7.b.** *Pinus brutia*'dan elde edilen reçinenin metanol ekstraktının *B. brevis* ATCC üremesi üzerine engelleyici etkisi.

**Resim 3.7.c.** *Pinus brutia*'dan elde edilen reçinenin n-bütanol ekstraktının *B. brevis* ATCC üremesi üzerine engelleyici etkisi.



**Resim 3.7.d.** *Pinus brutia*'dan elde edilen reçinenin etil asetat ekstraktının *B. brevis* ATCC üremesi üzerine engelleyici etkisi.

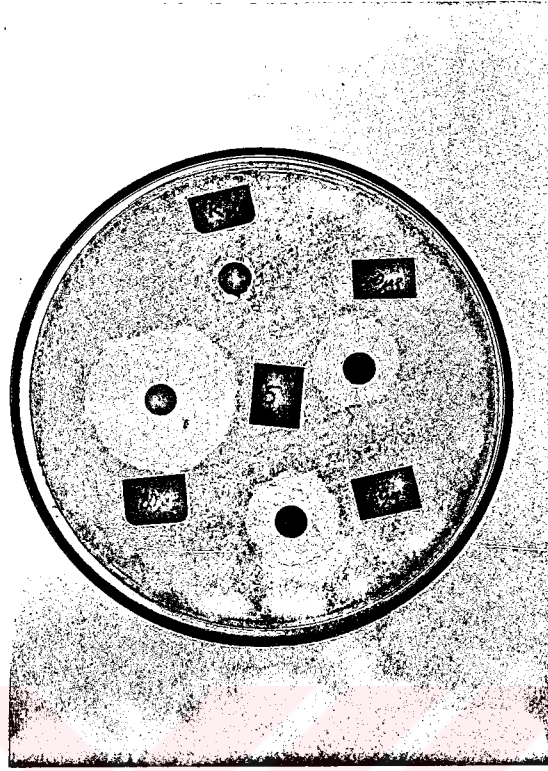
**Resim 3.7.e.** *Pinus brutia*'dan elde edilen reçinenin petrol eteri ekstraktının *B. brevis* ATCC üremesi üzerine engelleyici etkisi.



**Resim 3.7.f.** *Pinus brutia*'dan elde edilen reçinenin kloroform ekstraktının *B. brevis* ATCC üremesi üzerine engelleyici etkisi.

**Resim 3.7.g.** *Pinus brutia*'dan elde edilen reçinenin hekzan ekstraktının *B. brevis* ATCC üremesi üzerine engelleyici etkisi.



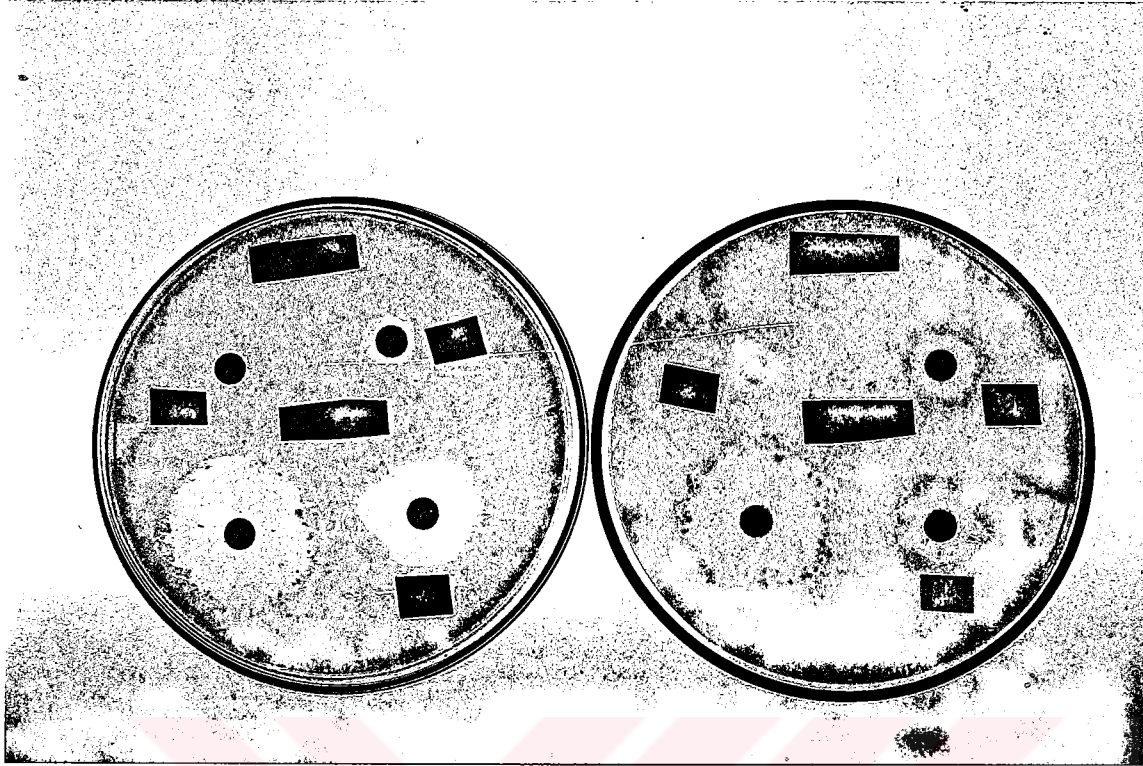


**Resim 3.8.a.** *Pinus brutia*'dan elde edilen reçinenin *B. cereus* üremesi üzerine engelleyici etkisi.



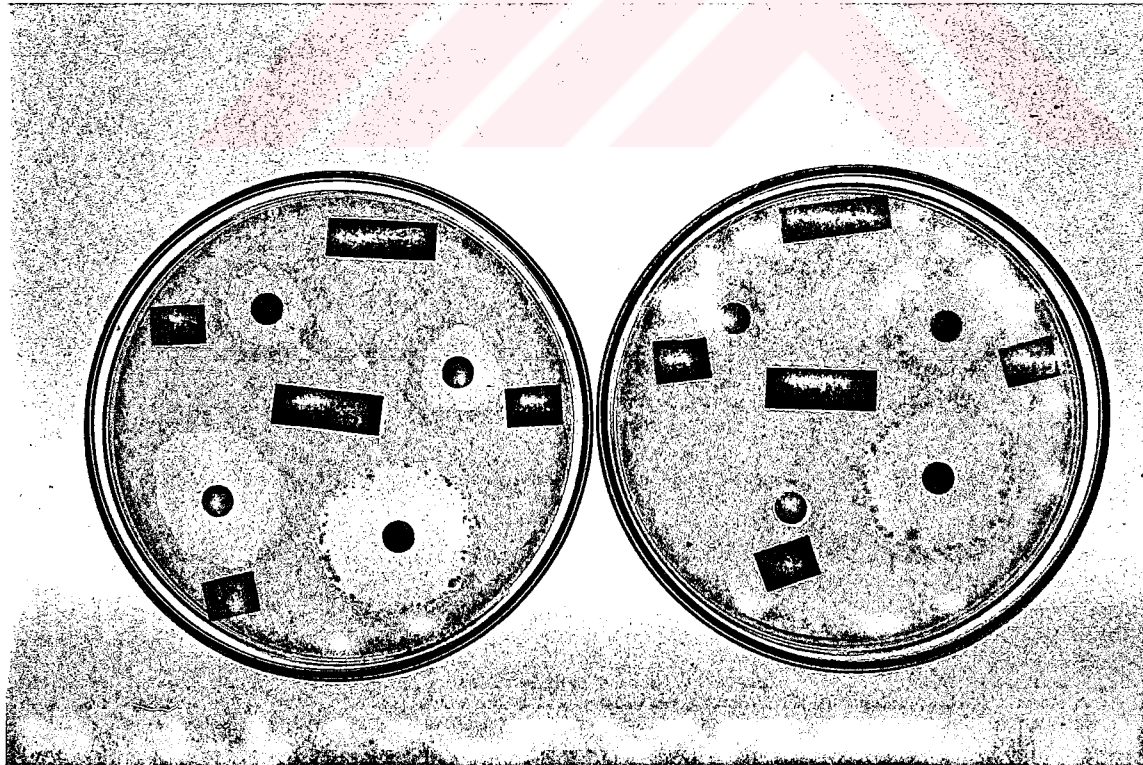
**Resim 3.8.b.** *Pinus brutia*'dan elde edilen reçinenin n-bütanol ekstraktının *B. cereus* üremesi üzerine engelleyici etkisi.

**Resim 3.8.c.** *Pinus brutia*'dan elde edilen reçinenin metanol ekstraktının *B. cereus* üremesi üzerine engelleyici etkisi.



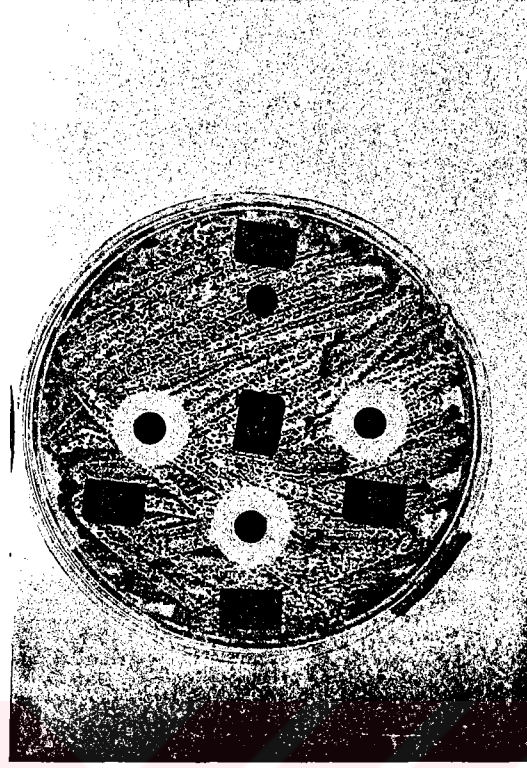
**Resim 3.8.d.** *Pinus brutia*' dan elde edilen reçinenin petrol eteri ekstraktının *B. cereus* üremesi üzerine engelleyici etkisi.

**Resim 3.8.e.** *Pinus brutia*' dan elde edilen reçinenin etil asetat ekstraktının *B. cereus* üremesi üzerine engelleyici etkisi.

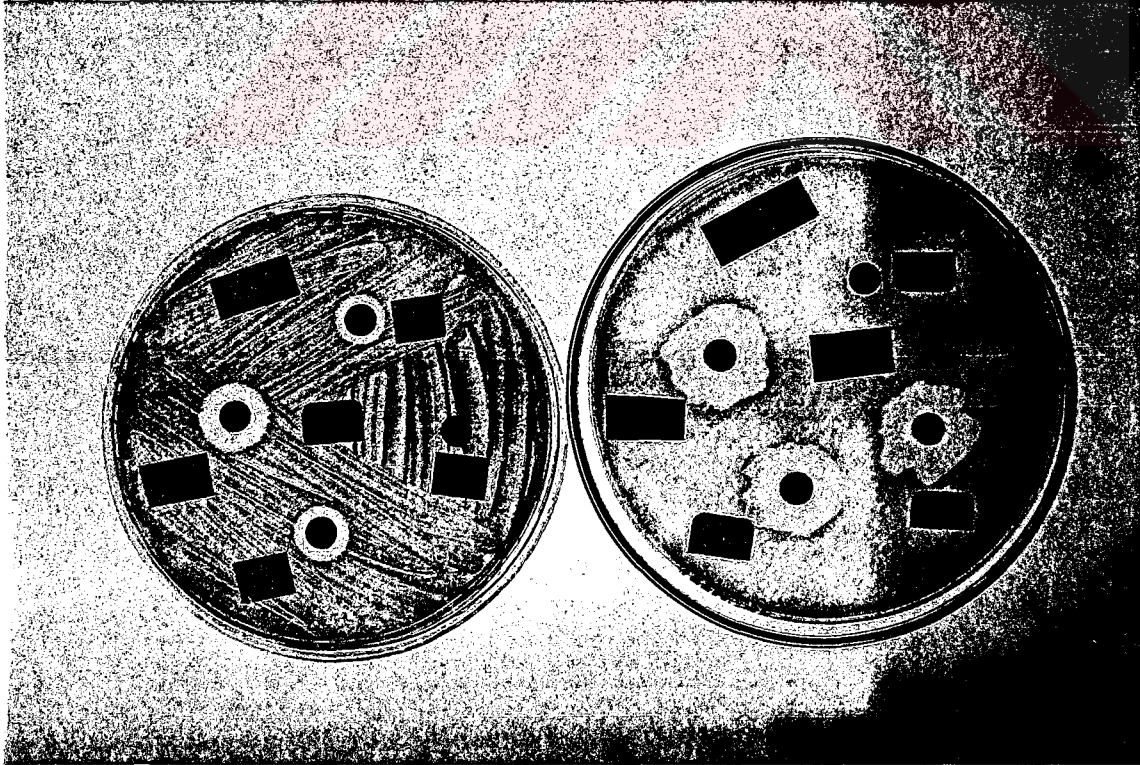


**Resim 3.8.f.** *Pinus brutia*' dan elde edilen reçinenin hekzan ekstraktının *B. cereus* üremesi üzerine engelleyici etkisi.

**Resim 3.8.g.** *Pinus brutia*' dan elde edilen reçinenin kloroform ekstraktının *B. cereus* üremesi üzerine engelleyici etkisi.

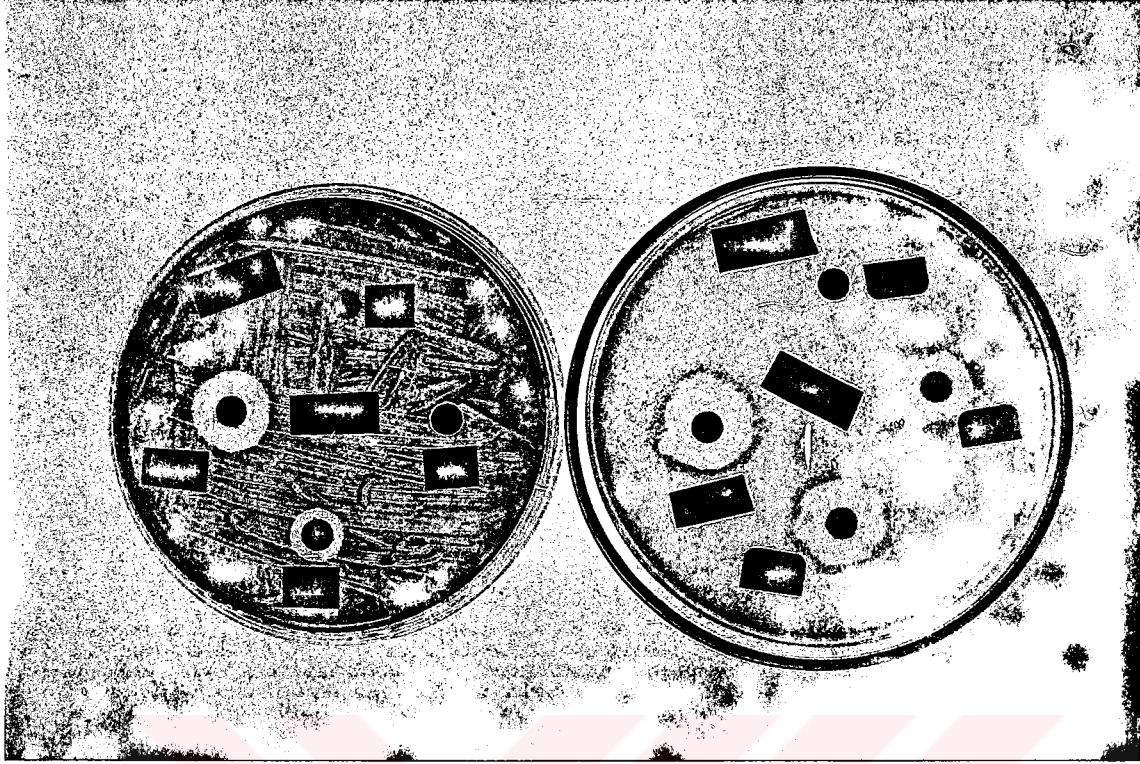


**Resim 3.9.a.** *Pinus brutia*'dan elde edilen reçinenin *C. albicans* üremesi üzerine engelleyici etkisi.



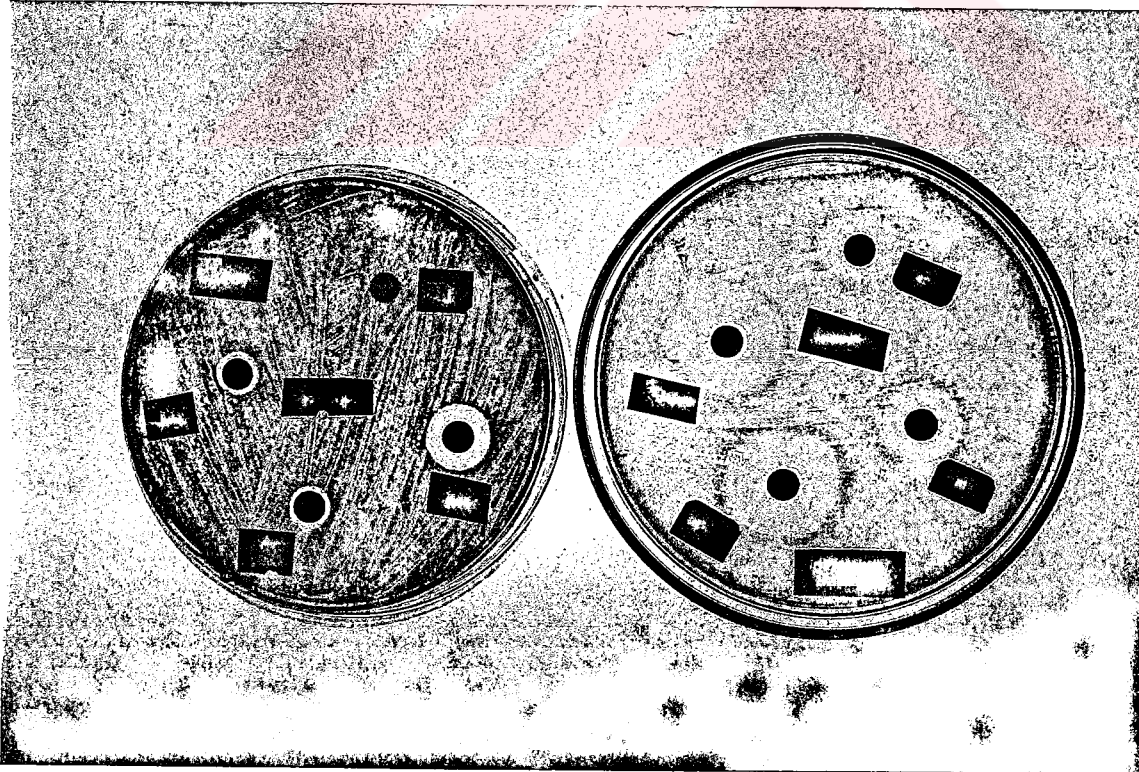
**Resim 3.9.b.** *Pinus brutia*'dan elde edilen reçinenin metanol ekstraktının *C. albicans* üremesi üzerine engelleyici etkisi.

**Resim 3.9.c.** *Pinus brutia*'dan elde edilen reçinenin n-bütanol ekstraktının *C. albicans* üremesi üzerine engelleyici etkisi.



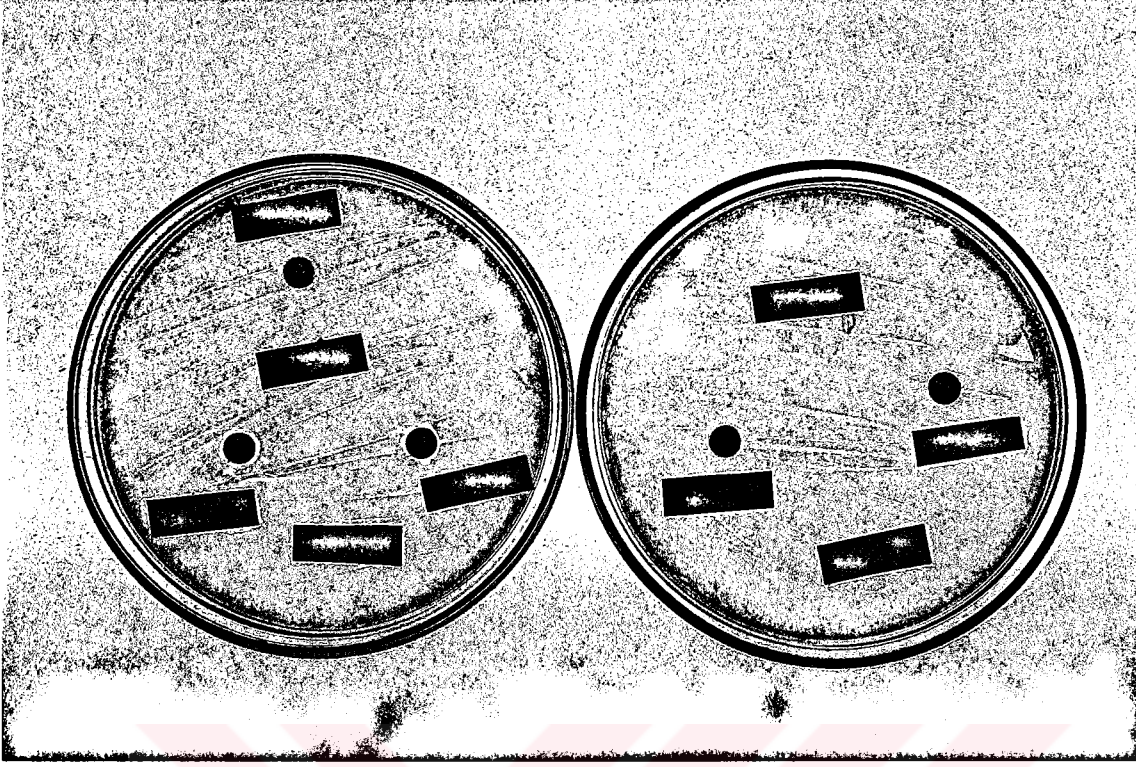
**Resim 3.9.d.** *Pinus brutia*'dan elde edilen reçinenin etil asetat ekstraktının *C. albicans* üremesi üzerine engelleyici etkisi.

**Resim 3.9.e.** *Pinus brutia*'dan elde edilen reçinenin petrol eteri ekstraktının *C. albicans* üremesi üzerine engelleyici etkisi.



**Resim 3.9.f.** *Pinus brutia*'dan elde edilen reçinenin kloroform ekstraktının *C. albicans* üremesi üzerine engelleyici etkisi.

**Resim 3.9.g.** *Pinus brutia*'dan elde edilen reçinenin hekzan ekstraktının *C. albicans* üremesi üzerine engelleyici etkisi.



**Resim 3.10.a.** *E. coli*'ye karşı su fazlarının antimikrobiyal etkileri.



**Resim 3.10.b.** *E. coli DHI*'e karşı su fazlarının antimikrobiyal etkileri.

**Resim 3.10.** *Pinus brutia*'dan elde edilen reçinenin bazı organik ekstraksiyonlar sonucunda elde edilen su fazlarının *E. coli* ve *E. coli DHI* bakterilerine karşı antimikrobiyal etkileri.

## 6. İLAVELER

### İlaveler I. Bakteri Teşhisleri için Hazırlanan Besiyerlerinin Bileşimi.

#### I.1. Chocolate Horse Blood Agar Besiyeri

Bacto Agar	.....	17 g
Pepton	.....	10 g
NaCl	.....	5 g
Et özütü	.....	5 g
At kanı	.....	100 mL
Saf su	.....	1000 mL

#### I.2. Hareket Besiyeri

Pepton	.....	5 g
Et özütü	.....	1.5 g
NaCl	.....	2.5 g
Agar	.....	0.8 g
Saf su	.....	500 mL

#### I.3. Brain Heart Infusion Broth Besiyeri

Brain Heart Infusion	.....	37 g
Saf su	.....	1000 mL

#### I.4. Muller Hinton Agar Besiyeri

Muller Hinton	.....	25 g
Agar	.....	17.5 g
Saf su	.....	1000 mL

#### I.5. Muller Hinton Broth Besiyeri

Muller Hinton	.....	25 g
Saf su	.....	1000 mL

#### I.6. Nutrient Broth Agar Besiyeri

Pepton	.....	5 g
Et özütü	.....	3 g
Agar	.....	15 g
Saf su	.....	1000 mL

#### I.7. Sabouraud Dextrose Agar Besiyeri

Sabouraud Dextrose	.....	65 g
Agar	.....	17.5 g
Saf su	.....	1000 mL

#### I.8. Sabouraud Dextrose Broth Besiyeri

Sabouraud Dextrose	.....	65 g
Saf su	.....	1000 mL

**İlaveler II. Bakteri Teşhisleri için Hazırlanan Boyalar ve Reaktiflerin Bileşimi.****II.1. Metilen Mavisi Boyası**

Metilen mavisi	.....	1.5 g
Alkol (% 95)	.....	100 mL

**II.2. Jansiyen Moru Boyası**

Jansiyen moru	.....	5 g
Alkol (% 95)	.....	100 mL

**II.3. Fuksin Boyası**

Bazik fuksin	.....	3 g
Alkol (% 95)	.....	100 mL

**II.4. İyodür (Lugol) Reaktifi**

İyot	.....	1 g
KI	.....	2 g
Saf su	.....	300 mL

**II.5. Üreaz Reaktifi**

Üre	.....	2 g
Phenol red (% 0.5)	.....	10 mL
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> H <sub>2</sub> O	.....	0.0436 g
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	.....	0.102 g
NaN <sub>3</sub>	.....	0.020 g

(NaN<sub>3</sub>, üre ve diğer tuzlar 90 mL'lik suda çözüldü. Bu çözeltinin üzerine 10 mL phenol red (% 0.5) ilave edilerek hazırlandı.)

## REFERANSLAR

1. Demirezer, L.Ö., 1999. Fitoterapi, Besin-İlaç Etkileşimim, Hacettepe Üniversitesi Beslenme ve Diyetik Bölümü Beslenme Bilimleri Anabilim Dalı Yayını, Ankara, 1:72-84.
2. Baytop, T., 1985. Türk Eczacılık Tarihi. İstanbul Üniversitesi Yayınları, No:3358, İstanbul.
3. Steinigen, M., 1989. *Pharmazeutische Zeitung*, 2.
4. Başer, K.H.C., 1998. Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Endüstriyel Kullanımı, Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Bülteni, Sayı: 13, Eskişehir.
5. İlçim, A., Dığrak, M., Bağcı, E., 1998. Bazı Bitki Ekstraktlarının Antimikrobiyal Etkilerinin Araştırılması, *Turkish Journal of Biology*, 22:119-125.
6. Meriçli, A.H., 1985. Fitoterapi ve Eczacılar için Önemi, Aktüel Eczacı, 19.
7. Aruin, L.I., 1997. *Arkh. Patol.*, May 59(3):74-78.
8. Owen, R.J., 1995. Bacteriology of *Helicobacter pylori* Baillieres, *Clinical Gastroenterology*, 9(3):415-446.
9. Nomura, A., Stemmerman, G.N., Chyou, P.H., 1991. *Helicobacter pylori* Infection and Gastric Carcinoma Among Japanese Americans in Hawaii, *The New England Journal of Medicine*, 325:1132.
10. Huwez, F.U., Al-Habbal, M.J., 1986. Mastic in Treatment of Bening Gastric Ulcers, *Gastroenterol Japon*, 21:273-274.
11. Al-Habbal, M.J., Al-Habbal, Z., Huwez, F.U., 1984. A Double-Blind Controlled Clinical Trial of Mastic and Placebo in the Treatment of Duodenal Ulcer, *Journal Clinical and Experimental Pharmacology & Physiology*, 11:541-544.
12. Huwez, F.U., Thirlwell, D., Cockayne, A., Ala'Aldeen, D.A.A., 1998. Mastic Gum Kills *Helicobacter pylori*, *The New England Journal of Medicine*, 339:1946.
13. Papageorgiou, V.P., Bakola-Christianopoulou, M.N., Apazidou, K.K., Psarros, E.E., 1997. Gas Chromatographic- Mass Spectroscopic Analysis of the Acidic Triterpenic Fraction of Mastic Gum, *Journal of Chromatography A.*, 769:263-273.
14. Baytop, T. 1984. Türkiye'de Bitkiler ile Tedavi. İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, İstanbul, :276-278.
15. Gunther, R.T., 1968. The Greek Herbal of Discorides. London and New York, 57.



16. Yiğitoğlu, A.K., 1941. Türkiye İktisatında Ormancılığın Yeri ve Ehemmiyeti. Ankara, :112.
17. Huş, S. 1945. Ormanlarımızdan Katran ve Zift Çıkarılması İmkanları, *Orman ve Av.*, 17(6):176.
18. Al-Said, M.S., Ageel, A.M., Parmar, N.S., Tariq, M., 1986. Evaluation of Mastic, a Crude Drug Obtained from *Pistacia lentiscus* for Gastric and Duodenal Anti-Ulcer Activity, *Journal of Ethnopharmacology*, 15:271-278.
19. Schiller, G., Grunwald, C., 1987. Cortex Resin Monoterpene Composition in *Pinus brutia* Provenances Grown in Israel, *Biochemical Systematics and Ecology*, 15(4):389-394.
20. Mitrokotsa, D., Mitaku, S., Demetzos, C., Harvala, C., Mentis, A., Perez, S., Kokkinopoulos, D., 1993. Bioactive Compounds from the Buds of *Platanus orientalis* and Isolation of a New Kaempferol Glycoside, *Planta Medicine*, 59:517-520.
21. Yesilada, E., Sekiz, E., Fujita, T., Tanaka, S., Tabata, M., 1993. Screening of some Turkish Medicinal Plants for their Antiulcerogenic Activities, *Phytotherapy Research*, 7:263-265.
22. Tassou, C.C., Nychas, G.J.E., 1995. Antimicrobial Activity of the Essential Oil of Mastic Gum ( *Pistacia lentiscus* var. *chia*) on Gram Positive and Gram Negative Bacteria in Broth and in Model Food System, *International Biodeterioration & Biodegradation*, :411-420.
23. Bıçakcı, A., Dülger, B., Malyer, H., Gücin, F., 1998. *Thecocarpus carvifolius* (Boiss.) Hedge & Lamond'un Antimikrobial Aktivitesi, XIV. Ulusal Biyoloji Kongresi, Samsun, 3:433-445.
24. Sür-Altınar, D., Gürkan, E., Köksal, E.P., Büyükbaba-Boral, Ö., Tuzlacı, E., 1998. *Ferulago thirkeana* (Boiss.) Boiss. ve *Heracleum sphondylium* L. Bitkilerinin Antibakteriyel ve Antifungal Etkileri, New Trends and Methods in Natural Products Research. Edited by: İ. Çalış, T. Ersöz and A.A. Başaran, Proceeding of XIIth. International Symposium and Plant Originated Crude Drugs, Ankara, :228-232.
25. Digrak, M., Ilcim, A., Alma, M.H., 1999. Antimicrobial Activities of Several Parts of *Pinus brutia*, *Juniperus oxycedrus*, *Abies cilicia*, *Cedrus libani* and *Pinus nigra*, *Phytotherapy Research*, 13(7):584-587.

26. Larhsini, M., Oumoulid, L., Lazrek, H.B., Wataleb, S., Bousaid, M., Bekkouche, K., Markouk, M., Jana, M., 1999. Screening of Antibacterial and Antiparasitic Activities of Six Moroccan Medicinal Plants, *Phytotherapie*, 54:763-765.
27. Mansouri, S., 1999. Inhibition of *Staphylococcus aureus* Mediated by Extracts of Iranian Plants, *Pharmaceutical Biology*, 37(5):375-377.
28. Sokmen, A., Jones, B.M., Erturk, M., 1999. The *in vitro* Antibacterial Activity of Turkish Medicinal Plants, *Journal of Ethnopharmacology*, 67:79-86.
29. Yesilada, E., Gurbuz, I., Shibata, H., 1999. Screening of Turkish Anti-Ulcerogenic Folk Remedies for Anti-*Helicobacter pylori* Activity, *Journal of Ethnopharmacology*, 66:289-293.
30. Kelmanson, J.E., Jager, A.K., Staden, J., 2000. Zulu Medicinal Plants with Antibacterial Activity, *Journal of Ethnopharmacology*, 69:241-246.
31. Yaltırık, F., 1967. Pistacia L. In: Davis, P.H. ed., Flora of Turkey and the East Aegean Islands, Edinburgh University Press, Edinburgh, 2:544-545.
32. Kayacık, H., 1975. Orman ve Park Ağaçlarının Özel Sistematiği. Angiospermal (Kapalı Tohumlular), İstanbul Üniversitesi Orman Fakültesi Yayınları, İstanbul, 3:116.
33. Coode, M.J.E., Cullen, J., 1965. Pinus L. In: Davis, P.H. ed., Flora of Turkey and the East Aegean Islands, Edinburgh University Press, Edinburgh, 1:74-75.
34. Yaltırık, F., 1993. Dendroloji. Gymnospermae (Açık Tohumlular), İstanbul Üniversitesi Orman Fakültesi Yayınları, İstanbul, :81-84.
35. Dooley, C.P., 1993. Background and Historical Considerations of *Helicobacter pylori*, *Gastroenterol Clinical North American*, 22:1.
36. Marshall, B., Warren, J.R., 1983. Unidentified Curved Bacillus on Gastric Epithelium in Active Chronic Gastritis, *Lancet*, 1:1273.
37. Boztaş, G., 1998. *Helicobacter pylori* İnfeksiyonu, *ANKEM*, 12(3):392-394.
38. Moayyedi, P., Dixon, M.F., 1997. Significance of *Helicobacter pylori* Infection and Gastric Cancer, *Gastrointestinal Endoscopy Clinical North American*, 7:47.
39. Özden, A., Dumlu, Ş., Dönderici, Ö., Türk Toplumunda *Helicobacter* Prevalansının Serolojik ve Ümmünolojik Olarak Belirlenmesi, *IX. Ulusal Türk Gastroenteroloji Kongresi*, Nevşehir, :58.
40. Hansson, L., Engstrand, L., Nyren, O., 1995. Prevalence of *Helicobacter pylori* Infection in Subtypes of Gastric Cancer, *Gastroenterology*, 109:885.

41. Isaacson, P.G., 1996. Recent Developments in Our Understanding of Gastric Lymphomas, *American Journal of Surg Pathology*, 20(1):1.
42. Dursun, M., Göral, V. Şimşek, H., Yükselen, V., Hasçelik, G., Canoruç, F., 1998. *Helicobacter pylori* Pozitif Annelerin Bebeklerinde *Helicobacter pylori* Enfeksiyonu Riski (Vertikal Geçiş), *Türk Journal of Gastroenterol*, 1:36-39.
43. Axon, A.T.R., Moayyedi, P., 1996. Eradication of *Helicobacter pylori*: Omeprazole in Combination with Antibiotics, *Scand Journal Gastroenterol*, 31(215):82.
44. Bilgehan, H., 1987. Klinik Mikrobiyoloji-Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları. Barış Yayınları, İzmir, Bornova.
45. Payzın, S., Özsan, K., Aksoycan, N., Ekmen, H., Akman, M., 1968. Sağlık Hizmetinde Mikrobiyoloji. II. Özel Mikrobiyoloji, Ankara.
46. Crabtree, K.T., Hınsdill, R.D., 1974. Fundamentel Experiments Microbiology. W. G. Saunders Company, USA.
47. Arda, M., 1978. Genel Bakteriyoloji. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Yayınları, Ankara.
48. Appelbaum, P.C., Catherine, L.C., Jacobs, M.R., 1998. Antipeumococcal Activities of Levofloxacin and Clarithromycin as Determined by Agar Dilution, Micro Dilution E-Test and Disk Diffusion Methodologies, *Journal Clinic Microbial*, :3579-3584.
49. Roussis, V., Petrakis, P.V., Ortiz, A., Mazomenos, B.E., 1995. Volatile Constituents of Needles of 5 *Pinus species* Grown in Greece, *Phytochemistry*, 39:357-361.
50. Kuster, R.M., Mpalantinos, M.A., Soares de Moura, R., Parente, J.P., 1998. Biologically Active Flavonoids and Kava Pyrones from the Aqueous Extract of *Alpinia zerumbet*, *Phytotherapy Research*, 12:442-444.
51. Akinpeli, D.A., Olorunmala, F.O., 2000. Antimicrobiyal Activity of *Bridelia ferruginea* Fruit, *Fitoterapia*, 71:75-76.

## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel bilgiler

---

**Adı Soyadı:** Murat YAVUZ  
**Doğum tarihi:** 16.01.1978  
**Doğum Yeri:** Sivas/Suşehri  
**Medeni Hali:** Bekar  
**Adres:** Dicle Üniversitesi  
Fen Edebiyat Fakültesi  
Kimya Bölümü  
21280 Diyarbakır  
**Tel.:** İş: (0412) 2488550-51 (Dahili 174)  
Ev: (0412) 2214931  
**E-mail:** [myavuz@dicle.edu.tr](mailto:myavuz@dicle.edu.tr)

### Eğitim ve Akademik Kariyer

---

#### Eylül 1983-Eylül 1994

---

İlkokul öğrenimimi Sivas'ın Suşehri İlçesinin Bostancık Köyü İlkokulunda, Ortaokulu İstanbul Gürpınar Azime Yılmaz İlköğretim Okulunda ve Lise Eğitimimi Suşehri Lisesinde tamamladım.

#### Eylül 1994- Temmuz 1998

---

Dicle Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümünü bitirdim.

#### Eylül 1998-Aralık 2000

---

Dicle Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyokimya Anabilim Dalında Profesör Çetin AYTEKİN danışmanlığında “**Sakız Ağacı (*Pistacia lentiscus* L.) ve Kızıl Çam (*Pinus brutia* Ten.) Reçinelerinin Antimikrobiyal Aktivitelerinin Araştırılması**” adlı master tezini bitirdim.

#### Haziran 1999-Mevcut Tarih

---

Dicle Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Biyokimya Anabilim Dalında Araştırma Görevlisi olarak çalışmaktayım.