

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA
CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ

TIPTA UZMANLIK TEZİ

**Candida albicans Quorum Sensing Mediyatörlerinin
Pseudomonas aeruginosa üremesi üzerine in vitro etkileri**

Mehrdad ATA EI

DANIŞMAN
PROF.DR. Gökhan AYGÜN

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ

İSTANBUL-2019

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tezde çalışmayla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

Mehrdad ATA EI

(İmza)

İTHAF

Aileme ithaf ediyorum

TEŞEKKÜR

Eğitimim ve öğrenimim süresince bilgi, deneyim ve desteğini esirgemeyen değerli hocam Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Gökhan AYGÜN'e

Uzmanlık eğitimime başladığım günden itibaren derin bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, tezimin planlanması, yürütülmesi ve yönlendirilmesinde yardımcı olan, akademik desteği dışında manevi desteği, sabrı ve anlayışı için değerli hocam Sayın Prof. Dr. Gökhan AYGÜN'e

Eğitimim süresince çok emekleri geçen değerli hocalarım Sayın Prof. Dr. Bekir S. KOCAZEYBEK, Prof. Dr. Ömer KÜÇÜKBASMACI, Prof. Dr. Nevriye GÖNÜLLÜ, Prof. Dr. Hırsi BAHAR TOKMAN, Prof. Dr. Fatma KÖKSAL ÇAKIRLAR, Doç. Dr. Erdal POLAT, Prof. Dr. Sevgi ERGİN'e

Tezimin her aşamasında göstermiş olduğu destek ve yardımları için Erol GÜNDÜZ'e

Her zaman yanımda olan çok sevgili arkadaşlarım, Dr. Esmâ AKKOYUN BİLGİ, Dr. Sema TURAN UZUNTAŞ, Dr. Zafer HABİP, Dr. Elvin PAZAR YILDIRIM, Dr. Taner Tahir KİRAZOĞLU, Dr. Seher AKKUŞ, Dr. Yeşim ÖZTÜRK BAKAR, Dr. Münevver SADUNOĞLU GÜLER, Dr. Burçin ÖZALP, Dr. Hanife TUTAN, Dr. Noor HUSSAIN, Dr. Görkem Emre Öz, Dr. Merve CIHAN, Dr. Eşref BAŞARAN, Msc. Okan Aydoğan'a

Destek ve yardımları için sevgili Nida AYDIN, Tuba SOYSAL, Mustafa KIRKAN, Orhan YATMAZ, Nihat DOĞAN, Yılmaz TAŞDEMİR ve mikrobiyoloji de çalışan tüm arkadaşlarıma ve her zaman yanımda olan sevgili aileme sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

İÇİNDEKİLER

BEYAN.....	II
İTHAF.....	III
TEŞEKKUR.....	IV
TABLolar LİSTESİ.....	VII
ŞEKİLLER LİSTESİ	VIII
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ.....	IX
ÖZET	X
ABSTRACT.....	XII
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1.Pseudomonas aeruginosa	3
2.1.1. Pseudomonas aeruginosa 'nın Tarihçesi	3
2.1.2. Morfolojik Özellikleri.....	4
2.1.3. Kültürel ve Biyokimyasal Özellikleri	4
2.1.4. Çeşitli Ajanlara Karşı Dirençlilik	6
2.1.5. Patogenez	7
2.2.Candida albicans	8
2.2.1. Genel Özellikler	8
2.2.2. Morfoloji.....	8
2.2.3. Kültürel ve Biyokimyasal Özellikleri	9
2.2.4. Germ Tüp Deneyi	9
2.2.5. Antijenik Yapıları	10
2.2.6. Virülans ve Patojenite Özellikleri.....	11
2.2.7. Yaptığı Hastalıklar ve Klinik Bulgular	12
2.3.Quorum Sensing.....	12
2.3.1. Quorum Sensing Tarihçesi.....	13
2.3.2. Gram(-) bakterilerde Quorum Sensing	13
2.3.2.1.Pseudomonas aeruginosa'da Quorum Sensing Sistemi	14
2.3.3. Candida albicans Quorum Sensing Sistemi	16

2.3.3.1.Candida albicans'ta Farnesol Etkisi.....	18
2.3.3.2.Candida albicans'ta Tyrosol Etkisi.....	20
2.4.Pseudomonas aeruginosa ve Candida albicans Etkileşimi.....	21
2.4.1. Direkt Etkileşim.....	21
2.4.2. Dolaylı Etkileşim.....	21
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	24
3.1.Gereçler.....	24
3.1.1. Kullanılan Cihazlar ve Aletler.....	24
3.1.2. Kullanılan Kimyasal ve Sarf Malzemeler.....	24
3.1.3. Kullanılan Yazılımlar.....	24
3.2.U tabanlı 96 Kuyucuklu Plak Absorbans Deneyi.....	26
3.2.1. Farnesol Plak Absorbans Deneyi.....	26
3.2.2. Tyrosol Plak Absorbans Deneyi.....	26
3.3.Hücre Canlılık Deneyi.....	29
4. BULGULAR.....	30
4.1.U tabanlı 96 Kuyucuklu Plak Absorbans Deneyi.....	30
4.2.Hücre Canlılık Deneyi.....	42
5. TARTIŞMA.....	55
KAYNAKLAR.....	60
ETİK KURUL KARARI.....	70
ÖZGEÇMİŞ.....	72

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 3-1. Farnesol Plak Absorbans Deneyi	27
Tablo 3-2. Tyrosol Plak Absorbans Deneyi.....	28



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1. Pseudomonas aeruginosa Quorum Sensing Sistemi.....	15
Şekil 2-2. Farnesol	19
Şekil 2-3. Tyrosol.....	19
Şekil 2-4. Candida albicans Quorum Sensing Sistemi.....	20
Şekil 2-5. Pseudomonas aeruginosa ve Candida albicans Etkileşim	23
Şekil 4-1. Farnesol ve Tyrosol Plak Absorbans Deneyi, P. aeruginosa izolat 1	32
Şekil 4-2. Farnesol ve Tyrosol Plak Absorbans Deneyi, P. aeruginosa izolat 2.....	33
Şekil 4-3. Farnesol ve Tyrosol Plak Absorbans Deneyi, P. aeruginosa izolat 3.....	34
Şekil 4-4. Farnesol ve Tyrosol Plak Absorbans Deneyi, P. aeruginosa izolat 4.....	35
Şekil 4-5. Farnesol ve Tyrosol Plak Absorbans Deneyi, P. aeruginosa izolat 5.....	36
Şekil 4-6. Farnesol ve Tyrosol Plak Absorbans Deneyi, P. aeruginosa izolat 6.....	37
Şekil 4-7. Farnesol ve Tyrosol Plak Absorbans Deneyi, P. aeruginosa izolat 7.....	38
Şekil 4-8. Farnesol ve Tyrosol Plak Absorbans Deneyi, P. aeruginosa izolat 8.....	39
Şekil 4-9. Farnesol ve Tyrosol Plak Absorbans Deneyi, P. aeruginosa izolat 9.....	40
Şekil 4-10. Farnesol ve Tyrosol Plak Absorbans Deneyi, P. aeruginosa izolat 10.....	41
Şekil 4-11. Farnesol ve Tyrosol Hücre Canlılık Deneyi, P. aeruginosa izolat 1	45
Şekil 4-12. Farnesol ve Tyrosol Hücre Canlılık Deneyi, P. aeruginosa izolat 2	46
Şekil 4-13. Farnesol ve Tyrosol Hücre Canlılık Deneyi, P. aeruginosa izolat 3	47
Şekil 4-14. Farnesol ve Tyrosol Hücre Canlılık Deneyi, P. aeruginosa izolat 4	48
Şekil 4-15. Farnesol ve Tyrosol Hücre Canlılık Deneyi, P. aeruginosa izolat 5	49
Şekil 4-16. Farnesol ve Tyrosol Hücre Canlılık Deneyi, P. aeruginosa izolat 6	50
Şekil 4-17. Farnesol ve Tyrosol Hücre Canlılık Deneyi, P. aeruginosa izolat 7	51
Şekil 4-18. Farnesol ve Tyrosol Hücre Canlılık Deneyi, P. aeruginosa izolat 8	52
Şekil 4-19. Farnesol ve Tyrosol Hücre Canlılık Deneyi, P. aeruginosa izolat 9	53
Şekil 4-20. Farnesol ve Tyrosol Hücre Canlılık Deneyi, P. aeruginosa izolat 10	54

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

μL	: Mikrolitre
μM	: Mikromolar
mM	: Milimolar
ml	: Mililitre
ATCC	: American Type Culture Collection
QS	: Quorum Sensing
AHL	: Acyl Homoserin Lacton
DMSO	: Dimethylsulfoxide

ÖZET

Ataei, M. (2018). *Candida albicans* Quorum Sensing Mediyatörlerinin *Pseudomonas aeruginosa* üremesi üzerine in vitro etkileri. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji AD. Tıpta Uzmanlık Tezi. İstanbul.

Mikroorganizmalar bazen tek, çoğu zaman ise birden fazla etken ile enfeksiyona neden olurlar ve altta yatan sebeplere bağlı olarak bakteri ve mantar enfeksiyonu birlikte meydana gelebilir. İki önemli fırsatçı patojen olan *Pseudomonas aeruginosa* ve *Candida albicans* arasında, bir tür sinyal yardımcı etkileşim ile her iki mikroorganizmanın virülans özellikleri etkileniyor. Quorum Sensing iletişim sistemi hem bakterilerde ve hem de mantarlarda etkili olan önemi giderek artan bir konudur. Hem *Pseudomonas* hem de *Candida* özgün virülans faktörlere sahiptirler ve patojeniteleri için özel maddeler salgılamaktadırlar; bu maddeler sadece enfeksiyon oluşumunu değil diğer mikroorganizmaları da etkilemektedir. *Candida albicans* Quorum Sensing mediyatörleri olan Farnesol ve Tyrosol üretmektedir ve bu maddeler *Pseudomonas aeruginosa*'nın üremesini yavaşlatmaktadır.

Bu çalışmada Farnesol ve Tyrosol'un farklı klinik örneklerden üretilmiş *P.aeruginosa* izolatlarına etkinliği ve bu etkinliğin doz ile ilişkisinin araştırması amaçlandı.

Bu çalışma 2017-2018 yılları arasında İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarında 9 farklı hasta örneğinden izole edilen (3 idrar, 3 kan, 3 balgam) *Pseudomonas aeruginosa* suşu ve 1 adet satın alınmış ATCC 15692 *Pseudomonas aeruginosa* standart suşu kullanılarak gerçekleştirildi.

Farnesol ve Tyrosol'un *C. albicans* Quorum Sensing mediyatörü olarak *Pseudomonas aeruginosa*'nın üremesi üzerinde olan etkileri plak absorbans ve hücre canlılık deneylerinde araştırıldı.

Plak absorbans deney verilerine göre 10 adet (bir ATCC 15692 dahil) *P. aeruginosa* suşu üzerinde Farnesol'un 200 mikromolar konsantrasyonu en etkili inhibisyon konsantrasyonu

olarak gözükür iken, Tyrosol için 20 mikromolar konsantrasyonu bu etkiye sahiptir.

Hücre canlılık deneyinden elde edilen verilere göre 10 adet (bir ATCC 15692 dahil) *P. aeruginosa* suşu üzerinde en yüksek oranda inhibisyon gösteren konsantrasyonlar sırası ile Farnesol için 200 mikromolar, Tyrosol için 20 mikromolar olmuştur.

Anahtar Kelimeler : *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, Quorum Sensing, Farnesol, Tyrosol

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 27710

ABSTRACT

Ataei, M. (2018). In Vitro Effects of *Candida albicans* Quorum Sensing Mediators on *Pseudomonas aeruginosa* Growth. Istanbul University Cerrahpaşa Medical Faculty, Department of Medical Microbiology. *Thesis*. Istanbul.

Microorganisms are occasionally the single or most often multiple etiologic agents for infections and according to underlying conditions bacterial and fungal infections can be occurred simultaneously. A special signal-associated interaction between *Pseudomonas aeruginosa* and *Candida albicans*; two important opportunistic pathogens affects their virulence factors. Quorum Sensing system is an efficient communication and appears to have rising importance in both bacteria and fungi. *Pseudomonas* and *Candida* possess specific virulence factors and secret special substances to establish their pathogenicity. These substances play role not only in infections; also are capable to interact with other microorganisms. *Candida albicans* synthesizes Farnesol and Tyrosol as its Quorum Sensing mediators that are thought to slow the growth of *Pseudomonas aeruginosa*.

In this study, we aimed to investigate in vitro and dose associated effects of *Candida albicans* Quorum Sensing mediators; Farnesol and Tyrosol on ten isolates of *Pseudomonas aeruginosa* including one standard strain (ATCC 15692) and nine different clinical isolates cultured from urine, sputum and blood samples.

The study was performed in Istanbul University, Cerrahpasa Medical Faculty, Department of Medical Microbiology in 2017-2018. The various concentrations of Farnesol and Tyrosol were prepared from stock solution and utilized in two main 96-well plate absorbance and cell viability assays.

According to the results of plate absorbance assay, 200 µM of Farnesol and 20 µM of Tyrosol had the most inhibitory effect on ten different isolates of *Pseudomonas aeruginosa*.

We found that 200 μM of Farnesol and 20 μM of Tyrosol had the most antibacterial activity on ten different isolates of *Pseudomonas aeruginosa* in cell viability assay.

Our study is the first study performing plate absorbance and cell viability experiments to evaluate the effects of Farnesol and Tyrosol on growth of *Pseudomonas aeruginosa* isolates including the standard strain. The inhibitory effects of Farnesol and Tyrosol are not dose-dependent and discrepancies between the response of isolates are related to the kinetics of Quorum Sensing mediators during their production.

Key Words: *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, Quorum Sensing, Farnesol, Tyrosol



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Mikroorganizmalar bazen tek, çoğu zaman ise birden fazla etken ile enfeksiyona neden olurlar ve altta yatan sebeplere bağlı olarak bakteri ve mantar enfeksiyonu birlikte meydana gelebilir. Bu tip enfeksiyonlarda en sık karşılaşılan etkenler arasında *Candida albicans* ve *Pseudomonas aeruginosa* yer almaktadır (1, 2).

Bir tip mikroorganizmalardan kaynaklanan enfeksiyonların iyi tanımlanmasında; etiyolojik mikroorganizmaların virülansının ve patojenitesinin belirlenmesi, hem tedavide hem de enfeksiyonun tekrarlanmasının önlenmesinde önemli faktörlerdir. Organizmaların virülansında yer alan bazı özellikler, sadece enfeksiyonu değil diğer organizmaları da etkilemektedir. Hem *Pseudomonas aeruginosa* hem de *Candida albicans* Quorum Sensing sistemine sahiptirler, bu sistem sebep oldukları enfeksiyonlarda yer alan en önemli mekanizma olarak tanımlanmaktadır ve bu sistem sayesinde tedaviye dirençli enfeksiyonlar gerçekleşmektedir. Günümüzde birden çok etkeni olan enfeksiyonların tedavisi önemli bir sorun olup bu süreç antibiyotik direncinden ve mikroorganizmaların aralarında olan çeşitli iletişim mekanizmalarından etkilenmektedir (2, 3).

Son yıllarda, iki önemli fırsatçı patojen olan *Pseudomonas aeruginosa* ve *Candida albicans* arasında, bir tür sinyal yardımcı etkileşim ile her iki mikroorganizmanın virülans özelliklerinin etkilendiği gösterilmiştir. *P.aeruginosa*'nın özellikle piyosyanin pigmenti nedeniyle antikandidal aktivitesi olduğu ileri sürülmektedir. Her iki mikroorganizmanın tek başına oluşturdukları biyofilmlerin yapısı, özellikleri ve biyofilmin enfeksiyon hastalıklarının patogenezindeki rolleri geniş çapta çalışılmıştır (5).

Quorum Sensing iletişim sistemi hem bakterilerde ve hem de mantarlarda etkili olan önemli giderek artan bir konudur. Bakterilerde *Pseudomonas aeruginosa* ve mantarlarda *Candida albicans* Quorum Sensing sistemini patojenitelerini gerçekleştirmek için kullanmaktadırlar. Eş zamanlı bakteriyel ve mantar enfeksiyonlarda her mikroorganizmanın Quorum Sensing mediyatörleri diğerini de etkilemektedir. Bakteri ve mantarların birlikte oluşturdukları enfeksiyonlar, tanımlama ve tedavide daha önem kazanmış olup, aynı anda iki farklı mikroorganizma tarafından oluşan enfeksiyonda hangisinin ön planda yer aldığı kararını daha dikkatli olmayı gerektirmektedir (1, 2, 3, 4).

Pseudomonas aeruginosa ve *Candida albicans* enfeksiyonları daha sık olarak birlikte görülebilmektedir ve bu eş zamanlı durum tedaviyi zorlaştırmaktadır. Diğer taraftan bu iki mikroorganizmanın aralarında farklı mekanizmalardan dolayı etkileşim söz konusudur. Hem *Pseudomonas* hem de *Candida* özgün virülans faktörlere sahiptirler ve patojeniteleri için özel maddeler salgılamaktadırlar; bu maddeler sadece enfeksiyon oluşumunu değil diğer mikroorganizmaları da etkilemektedir. *Candida albicans* Quorum Sensing mediyatörleri olan Farnesol ve Tyrosol üretmektedir ve bu maddeler *Pseudomonas aeruginosa*'nın üremesini yavaşlatmaktadır (1, 3, 4).

Biz bu çalışmada Farnesol ve Tyrosol'un farklı klinik örneklerden üretilmiş *P.aeruginosa* izolatlarına etkinliğini ve bu etkinliğin doz ile ilişkisini araştırmayı amaçladık.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas cinsi bakteriler, *Pseudomonadaceae* familyası içerisinde yer alırlar. Bu bakterilerin çoğu doğada toprak ve sularda yoğun olarak bulunur. Bazı türleri insan, hayvan ve bitki patojenidir. Son derece önemli olan bu cinsin türlerinin bazıları oksidaz pozitif, bazıları oksidaz negatiftir. Glikozu oksidasyon yoluyla parçalayan fakat fermantasyon yapmayan bakterilerdir. Türlerin tamamı katalaz pozitif, Gram negatif, aerobik, polar flagellasıyla hareket edebilen çubuk şekilli bakterilerdir. Bazı türleri proteolitik ve lipolitik aktivite göstermektedir. Aerobik olmaları nedeniyle gıdaların yüzeyinde hızla gelişebilmeleri sonucu okside ürünler ve mukoz madde oluştururlar. Kendi gelişmeleri için gerekli gelişme faktörleri ve vitaminleri sentezleme yeteneğindedirler (6, 7, 8).

Pseudomonas 'ların türleri oldukça fazla olduğu için görünümüne, pigment oluşturup oluşturmamalarına ve metabolizmalarına göre sınıflandırmaları yapılmıştır. RNA/DNA hibridizasyon deneylerine göre, bu iki nükleik asidin gösterdiği uyumlara bakarak, bu bakteriler I, II, III, IV, V r-RNA gruplarına ayrılmışlardır. *Pseudomonas aeruginosa* , r-RNA grup I 'e dahil olmuştur (9, 10).

2.1.1. *Pseudomonas aeruginosa* 'nın Tarihçesi

P. aeruginosa, 1850'de Sedillot tarafından cerrahi yara pansumanlarında mavi renk değişikliği yapan bir ajan olarak tanımlanmıştır. İlk olarak *Bacillus pyocyaneus* ve daha sonra *Pseudomonas pyocyanea* olarak adlandırılmıştır. Piyosiyanın izolasyonu Lucke tarafından 1862'de yapılmıştır. Ancak bu organizma, Gessard'ın klasik çalışmaları ile 1882'de saf kültür halinde izole edilmiştir. 1897'de Hirschman ve Kreibich, 1917'de Frenkel ve 1925'de Osler patojen bir bakteri olduğunu tanımlamışlardır. 1926 yılında California Üniversitesi'ndeki Dooren de Jong, *Pseudomonas* türlerini, çeşitli organik bileşiklerin karbon ve enerji kaynağı olarak kullanımına dayanan fenotipik özelliklerine göre sınıflandırmışlardır.

1966'da Buchanon, Holt ve Lessel *Pseudomonas* türlerini fenotipik özelliklerine göre sınıflamışlardır. Daha sonra DNA hibridizasyon çalışmaları başlamıştır. 1973 yılında Palleroni ve arkadaşları nükleik asit hibridizasyon çalışmalarını genişleterek *Pseudomonas* 'ları r-RNA homolojilerine göre 5 gruba ayırmışlardır. Son yıllarda yapılan çalışmalarda bu cinsin sınıflandırılması yeniden düzenlenmiştir (11).

2.1.2. Morfolojik Özellikleri

Uzunlukları çok değişik olmakla beraber *Pseudomonas aeruginosa* ; 1,5-3 µm genişliğinde, bazen ikili bazen de kısa zincirler halinde görülen sporsuz, kapsülsüz, çubuk şeklinde aerob bakteridir. Çoğu kez bir uçlarında bir, nadiren iki-üç adet kirpiği vardır ve çok hareketlidirler. Kolay boyanırlar ve Gram negatiftirler. Uzun süre beklemiş kültürlerinde ve antiseptik maddelerin bulunduğu ortamlarda kısa veya çok uzun deforme şekilleri, hareketsiz ve pigmentsiz olanları, R (rough) tipinde üreyenlerin bulunduğu bildirilmiştir (10, 12, 13).

2.1.3. Kültürel ve Biyokimyasal Özellikleri

Pseudomonas aeruginosa uygun besiyerinde optimum 30-37 °C' lerde ve hafif alkali ortamlarda gelişir. 41 °C' de üreyebilme yeteneği *P. aeruginosa* için önemli bir özellik olup arka arkaya 3 pasajda 42 °C' de üreyebilmesi *P. fluorescens* 'den ayırt edici bir özelliğidir. Aerob olmakla beraber denitrifikasyon özelliğinde olduğundan anaerob üreyen türlerine de rastlanabilir. Sıvı besiyerinde yüzeyde zar yapmak üzere yoğun ve homojen bir üreme gösterirler ve zarın hemen altında mavi yeşil pigmenti ayırt edilir. Uzun süre beklemiş kültür ortamları zamanla alkali duruma geldiğinden bakteriler litik fermentlerle erir ve sıvı besiyeri berraklaşır.

P. aeruginosa katı besiyerlerinde 3 tip koloni oluştururlar. Tip 1 koloni, 2-3 mm çapında yuvarlak, mat yüzeyli, ortası kabarık, yassı, beyaz renkli karşidan bakılınca fluoresans özelliği olan ve besiyerinin her tarafına yayılmış olan yeşil-mavi pigmentleri göze çarpan kolonilerdir. Bu tip koloniler genellikle klinik örneklerden izole edilir. Çoğunlukla doğal kaynaklardan izole edilen tip 2 koloni, daha küçük, kabarık, konveks ve düzensiz koliform kolonilerine benzeyen kolonilerdir.

Tip 3 koloniler ise *Pseudomonas aeruginosa* 'nın bazı suşlarının hücre dışı alginat salgılaması nedeniyle mukoid görünümde bakterinin oluşturduğu R kolonilerdir. Kültürlerde triptofan 2-aminoasetofenon üretimine bağlı olarak karakteristik bir meyve kokusu vardır ve Petri kutusunun kapağı açıldığında üzüm kokusu veya trimetilamin kokusu şeklinde hissedilir (11, 12, 14, 15).

P. aeruginosa 'nın bazı biyokimyasal özellikleri şöyledir;

Kanlı agarda hemoliz yaparlar.

Kanlı agarda üreyen klinik izolatlar sıklıkla beta hemolitiklerdir.

Jelatin ve koagule plazmayı eriterek parçalarlar.

Glikozu oksidatif yolla parçalayıp asit yaparlar (glukonat yapar).

Laktoz ve sakkarozu kullanamazlar.

Oksidaz pozitif olmaları ile Enterobacteriaceae familyası üyelerinden ayrılırlar.

Asetamini deamine ederek amonyak oluştururlar.

Niştaya etki etmezler.

Katalaz ve sitrat reksiyonları pozitifdir.

L-arjinin dihidrolaz oluştururken, lisin dekarboksilaz ve ornitin dekarboksilaz oluşturmazlar.

İndol ve H₂S oluşturmazlar.

Metil kırmızısı ve Voges-Proskauer negatifdir.

Nitrati nitrite redükte ederler.

Tetrazolium tuzlarını ve seleniti redükte ederler.

KCN'ye dirençlidirler.

Pseudomonas aeruginosa *P. fluorescens* 'den ayrı olarak metilen mavisini ve prontosilin rengini giderir (9, 10, 13, 14, 15).

Çoğu *Pseudomonas* suşları kültür ortamında pigment üretirler. Pigment oluşumu kültür koşullarına bağlıdır. Mutasyonla bu özellik kaybolur ya da aynı anda birçok pigment oluşumu görülebilir. Bu pigmentler oksijensiz ortamda oluşmazlar, oda sıcaklığında daha iyi oluşurlar (6, 7). Floresan pigmentler, floresans özellik taşıyan *Pseudomonas* 'ların (*P. aeruginosa*, *P. putida*, *P. fluorescens*, *P. chlororaphis*, *P. syringae*, *P. cichori*, *P. flavescens*) karakteristiğidir.

Bu pigmentler sideroforlardır ve kültür ortamında düşük demir konsantrasyonlarında bol miktarda üretilirler. King B kültür ortamı, fluoressan pigmentlerin üretimini uyarmakta kullanılır. Flouressein, kloroformda çözünmeyen ancak suda çözünen sarımsı renkte bir fluoressan pigmentidir. Bu pigmentin görülebilmesi için bazen UV ışığa ihtiyaç duyulur. King B besiyerinde klinik izolatların %70'i bu pigmenti oluşturur. Fluoressan bir pigment olan piyoverdin, referans bir *Pseudomonas* suşundan (PAO1) izole edilmiştir (11, 15).

Piyosiyenin, mavi bir fenazin türevidir. *P. aeruginosa* için karakteristiktir. Asidifikasyonla rengi önce sarıya sonra da kırmızıya dönebilir, alkali ortamlarda ise renksizleşebilir. Suda ve kloroformda erir. Sıvı besiyerlerinden yapılmış bakteri kültürlerine eşit miktarda kloroform eklenir ve çalkalanırsa bu pigment besiyerinin içinde çökmüş halde bulunan kloroform içerisinde kristalize olarak koyu mavi renkte gözlenir. Piyosiyenin üretimi King A besiyeri kullanılarak artırılabilir. 37 °C'de 5 gün inkübe edilen *P. aeruginosa* suşlarının %80'i piyosiyonin oluşturur. Oda sıcaklığında 3-4 gün bırakılarak agar kültürlerinde pigmentasyonda artış gözlenir (11, 15, 16).

Piyorubin, bazı *P. aeruginosa* suşları tarafından üretilen parlak kırmızı renkte, kloroformda çözünmeyen ancak suda çözünen bir fenazin pigmentidir. Düşük oksijen konsantrasyonunda geri dönüşümsüz olarak rengini yitirir. Piyorubin klinik izolatların %2'sinde üretilir (11, 15).

Piyomelanin, *P. aeruginosa* tarafından üretilen kahverengi, siyah renkte sık gözlenmeyen bir pigmenttir (6). Besiyerinde özellikle piyosiyenin ve flouressein pigmentlerinin oluşumu *Pseudomonas aeruginosa* 'nın tanısı yönünden oldukça önemli bir özelliktir (14).

Pseudomonas aeruginosa 'nın 17 somatik (O) ve 6 flagella (H) antijeni vardır. O antijeni ısıya dayanıklı, flagella ve fimbria antijenleri ısıya dayanıksızdır. Fosfatazlar, proteazlar ve fosfolipazlar da antijen olarak rol oynarlar (14, 16).

2.1.4. Çeşitli Ajanlara Karşı Dirençlilik

Pseudomonas cinsi bakteriler, ısıya dirençsiz bakterilerdir. 55 °C'de 1 saat ve 60 °C'de 15 dakikada ölürlür. Çevre sıcaklığı koşullarında sularda aylarca canlı kalırlar. Özellikle hastane ortamında cerrahi ve yanık servislerinde organik kalıntıların bulunmasına bağlı olarak uzun süre canlı kalabilirler. Steril saf su içinde bile oda sıcaklığında üreyebilirler.

Diğer patojenlere göre kimyasal dezenfektanlara daha dirençlidirler. Uygun nem koşulları temin edildiği zaman çeşitli yerlerde üreyebilirler. Dörtlü amonyum bileşiklerinde, heksoklorofenli sabunlarda, iyotlu solüsyonlar içinde bile üreyebilirler, hatta dörtlü amonyum bileşiklerini besin kaynağı olarak kullanabilirler. Fenoller ve glutaraldehit genellikle *Pseudomonas* 'lara etkili olan dezenfektanlardır (7, 11).

Pseudomonas 'lar, özelliklerde *P. aeruginosa* yaygın olarak kullanılan antimikrobiyel etkenlerin çoğuna dirençlidir. Aynı zamanda bir çok antibiyotik grubuna tedavi sırasında direnç kazanabilir. Genellikle aminoglikozitlere duyarlıdırlar (15).

2.1.5. Patogenez

Pseudomonas aeruginosa 'nın proteolitik enzim, letal ekzotoksin ve enterotoksin özellikli hücre dışı salgılarının olması ve fırsatçı patojen özelliğinin bulunması çeşitli hastalıkların oluşmasına neden olur. *Pseudomonas* 'lar; idrar yolu, göz, dış kulak, orta kulak, yanık ve yara enfeksiyonları, menenjit, bronşit ve bronkopnömoni, septisemi, osteomyelit, psödomembranöz kolit gibi hastalıklardan izole edilebilirler. Özellikle yoğun bakım üniteleri, yanık üniteleri başta olmak üzere çok farklı birimlerde salgınlar oluşturabilir (7, 9, 13).

P. aeruginosa 'nın yeni doğan çocukların ölümüyle sonuçlanan epidemik ishale neden olduğu bildirilmiştir. Hastane çevrelerinde özellikle immun sistemi zayıflamış hastalarda ishale neden olarak yaşamı tehdit edebilir (7, 9).

P. aeruginosa 'nın virülans faktörleri iki temel grupta sınıflanabilir;

1. Bakteri hücre yüzeyi ile ilişkili virülans faktörleri: Pili, Lipopolisakkarit, Aljinat
2. Hücre dışına salgılanan virülans faktörleri: Elastaz, Alkali Proteaz, Piyosyanin, Pyoverdin, Proteaz IV, Fosfolipaz C, Exotoxin A (7, 9, 10, 16).

2.2. *Candida albicans*

2.2.1. Genel Özellikler

Kandida cinsi mantarlar, *Cryptococcaceae* familyasından olup 30' dan fazla türü tarif edilmiştir. *C. albicans* dışında, *C. tropicalis*, *C. stellatoidea*, *C. pseudotropicalis*, *C. viswanathii*, *C. parapsilosis*, *C. guilliermondi* ve *C. krusei* diğer önemli kandidalardan bazılarıdır. Doğal kaynağı insandır. Toprak ve bitkilerden de üretilebilir. Kandida cinsi mantarlar bifaziktir. Maya fazındayken tek hücrelidir, konağa girdiklerinde basit tomurcuklanma ile oluşan blastosporlar ile ürerler. Yaptığı hastalıklara genel olarak kandidiyaz (kandidiyoz) veya monilyaz ismi verilir. İnsanda hastalık yapan kandidaların başında *C. albicans* gelir. *C. albicans*'lar içerisinde GDH18, GDH3339, CA1957, ATCC 28366 ve ATCC 10321 suşları daha virülandır. Diğer kandidalar insanda seyrek olarak hastalık yapar veya avirülandır (17).

2.2.2. Morfoloji

Diğer kandidalar gibi konağa girmeden önce maya fazındadır, buna Y fazı (Yeast phase, saprofit faz) denir. Konak dokuya temas ettikten bir süre sonra psödemiyelyumlar geliştirerek hastalık yapan fazına, yani M fazına (Mycelial phase, hyphal phase) geçerler. Y fazındaki kandidaların sitoplazmalarını bir hücre membranı ve kalın bir hücre duvarı sarar. Bu fazdaki *C. albicans* hücrelerinin görüntüsü limona benzer. Ovoid ve iki kutbundan çıkıntılıdır. Hücre duvarı çok tabakalıdır ve yapısında 7-50 nm çapında mikrofibriler demetler bulunur. Bu mikrofibriller hücre duvarını çepeçevre kuşatır ve fibriler ağ oluşturur. Fibriler ağın yapısında bulunan her bir iplik 5-7 nm çapında olup yapısında β -glukan bulunduğu düşünülmektedir. Bu ağsı destek yapıya "coaxial network" veya "fibrillar network" adı verilir (burada bu yapı için fibriler ağ terimi kullanılacaktır). Fibriler ağ, hücre duvarındaki kitin, mannoproteinler ve diğer proteinler için matriks görevi üstlenir. Hücre duvarının yapısında bulunan kitin, hücrenin ergosterol sentezi sırasında elde edilir. Ergosterol ise *C. albicans* mikrozomal sitokromlarında bulunan lanosterol-14 α -demetilaz'dan sentezlenir. *C. albicans*'ın Y fazından M fazına geçmesi için konak dokularına temas etmesi gerekir.

Bu durumda M fazına geçişi indükleyen iki uyarı tespit edilmiştir: 1) “mitogenactivated protein kinase” aktivasyonu (Cph1p), 2) cAMP-bağımlı aktivasyon yolu (Efg1p). Bu indüksiyon mekanizmaları *C. albicans*'ın SAP5 geni tarafından kontrol edilir. SAP5 geni bulunmayan mutantlar avirulandır ve daima Y fazında kalırlar (17, 18).

2.2.3. Kültür ve Biyokimyasal Özellikleri

Bu mikroorganizmanın izolasyonu sorunsuzdur. İçerisinde antifungal bulunmayan neredeyse her besiyerinde üreyebilirler. Sabouraud's agarda, mısır unlu agarda, patatesli nişastalı dekstroz agarda en kolay ürerler. İlk izolasyonun %10 CO₂ li atmosferde yapılması önerilir. 37 derecede 1-4 gün inkübasyonu takiben tipik koloniler ortaya çıkar. Koloniler düzgün, grimsi beyaz, nemli görünümlü, yumuşaktır ve peynir kokuludur. Birkaç hafta beklemekle dev kandida kolonileri ortaya çıkar. Koloniler eskidikçe buruşuk bir görünüm alır. Kültürlerinden alınan koloni materyali Gram olumlu boyanır ve 3-4 µm çapında oval maya hücreleri şeklinde görülür (19, 20).

Mısır unlu jeloz besiyerinde klamidospore yapar. Bu sporlar pseudomiçelyumların ucunda gelişir ve 7-8 µm çapındadır. Ayrıca kalın duvarlı terminal klamidospore yapabilir. Hasta bölgeden skrapel ile kazınan deri veya tırnak parçaları bir Petri kutusu içerisinde laboratuvarında ve oda ısısında haftalarca bozulmadan bekleyebilir. Eküvyon ile alınan materyalin bozulma riski olmadığından transport besiyeri kullanmaya gerek yoktur. *C. albicans* glukoz, galaktoz ve maltozu fermente eder. Laktoz, mellibiyoz, rafinoz, melisitoz ve inülini fermente etmez. Glukoz, galaktoz, maltoz, sukroz trehaloz, D-ksiloz, ve D- mannit'i asimile eder; laktozu rafinozu ve sellobiyozu asimile etmez. Sikloheksidine duyarlıdır. Sukrozdan gaz yapmaz. *C. albicans*'ı diğer kandidalardan ayıran en önemli özelliği germ tüp deneyinin pozitif olmasıdır (18, 19, 20, 24, 62).

2.2.4. Germ Tüp Deneyi

Saf kültürden bir öze dolusu koloni materyali, serum içerisinde süspansiyon edilir ve etüvde 2 saat bekletilir. Mikroskop ile 40x büyültmede incelenir. *C. albicans* tomurcuklanma gösterir. Buna Reynold-Braude fenomeni de denir. Ayrıca *C. dubliniensis*'de germ tüp deneyinde pozitif sonuç verir ve *C. albicans*'dan ısı deneyi, yoğun klamidospore oluşumu ve genetik incelemeler ile ayrılır (23, 24).

2.2.5. Antijenik Yapıları

C. albicans hücre duvarında üç önemli yapı yer alır: 1) β -glukan (fibriler ağı oluşturan ana maddedir) 2) kitin (hücre duvarına sertlik veren bir proteindir) 3) mannopteinler (şekere bağlı proteinlerdir). Hücre duvarının yapısına katılan bu maddeler tomurcuklanma sırasında, M fazına geçerken ve geçtikten sonra doku içerisine serbest kalırlar. Hepsi kuvvetli antijeniktir. Tomurcuklanma sırasında, tam tomurcuklanmanın olacağı noktada hücre duvarındaki kitin yapısını gevşetmek ve sitoplazmik genişlemeyi kolaylaştırmak amacıyla bazı enzimler salgınır. Bu enzimler sitoplazmik membranın hemen altından salgınır ve periplazmik boşluğa geçer. Hücre duvarının sitoplazmik membrana bakan yüzeyinde Con A adı verilen reseptörlere tutunarak, o noktada hücre duvarının sınırlı ve lokal olarak yıkılmasını sağlar. Con A reseptörler sadece tomurcuklanmanın olacağı bölgede yer alırlar (18, 22, 23).

Candida albicans, eşeyli çoğalan, diploit, maya tipi bir mantar türü ve insanlarda oral ve vajinal fırsatçı enfeksiyonların etmenidir. *Candida* cinsine ait 200 tür olmasına karşın *Candida* enfeksiyonlarının %75'inin sorumlusu *C. albicans*'tır. Bağışıklığı baskılanmış hastalarda (AIDS, kanser kemoterapisi, organ veya kemik iliği transferi durumlarında) sistemik fungal enfeksiyonlar (fungemi), hastalık ve ölümün başlıca nedenleri arasındadırlar. Ayrıca bu yönde riski olmayan hastaların hastanede edindikleri enfeksiyonlar ciddi bir sağlık sorunu haline gelmiştir. *C. albicans* insan ağızı ve sindirim sistemi içinde yaşayan pek çok organizmadan biridir. Sağlıklı yetişkinlerin %40'ının ağızında, sağlıklı kadınların %20-25'inin vajinasında varlığı gösterilebilir (22, 23, 24).

C. albicans sindirim sistemindeki varlığıyla başka patojen bakterilerin çoğalmasını engeller. Vücudun bağışıklık sistemi ve diğer zararsız bakteriler normal şartlarda kandidaları kontrol altında tutarlar. Ancak, diğer bakterilerin sayısı *C. albicans*'a oranla azalırsa (örneğin antibiyotik kullanımından dolayı), bağışıklık sistemi zayıflamışsa veya mayanın çoğalmasına sağlayan başka şartlar mevcutsa (yüksek şeker, yüksek pH) *C. albicans* zararsız olan tek hücreli biçiminden, çok hücreli, istilacı (invasif), küf gibi iplikçi biçimine dönüşür ve vücudu istilaya başlar. *C. albicans*'ın iplikçi biçimi hem psödohif hem de gerçek hiflerden oluşabilir. *C. albicans* iplikçi bir biçime dönüşmesine ilaveten, konak dokulara bağlanmasını sağlayan adhesinler, dokulara hem imha etmeye hem de onlara daha iyi yapışmayı sağlayan proteazlar, ve vücudun bağışıklık sisteminin tepkisini azaltan faktörler üretir (21, 22, 23, 24).

2.2.6. Virülans ve Patojenite Özellikleri

Bağışıklık sistemi sağlıklı olan laboratuvar hayvanlarında deneysel olarak kandidiyaz oluşturmak zordur. Deney hayvanlarının ilgili dokularının travmatize edilmesi, radyasyon verilmesi veya immün sistemlerinin bloke edilmesi durumunda deney hayvanlarında kandidiyaz oluşturulabilmektedir. Deneysel orofaringeal kandidiyazlarda hastalığın prognozunu etkileyen 4 grup anti-kandidiyal hücre tespit edilmiştir: PNL, mononükleer fagositler, CD4+ ve CD8+ T lenfositleri. Bütün T lenfositleri antikandidiyal etkiye sahip değildir. Yüzeylerinde CD11b ve CD18 markerları taşıyan lenfositler antikandidiyaldir. Antikandidiyal lenfositlerin yüzeylerinde Mac-1 (macrophage-1 antigen) reseptörleri bulunur. Lenfositler kandidalara bu reseptörleri aracılığı ile tutunabilmektedir. N-acetylglucosamine ve β -glucan salgılayan kandidalar lenfositlerin Mac-1 aracılıklı tutunmasını bloke edebilirler. Aslında bu iki enzim kandidaların konak dokuya adezyonlarını sağlayan ekstraselüler enzimlerdir. Bu enzimi bulunmayan mutant *C. albicans* hücrelerinin hem virülansı kaybolmakta hem de koloni morfolojileri değişmektedir. Bu enzim bloke edildiğinde *C. albicans*'ın epitele tutunması %38 oranında azalmaktadır. Epitel hücrelerinin yüzeyinde kandidaların adezyonuna engel olan, blastokonidya ve hifa gelişimlerini engelleyen bir mekanizmaları vardır. Epitelin bu özelliği konağın sistemik immün savunmasından kısmen bağımsızdır. Bu antikandidiyal özellik, kaynağını epitel hücre yüzeyinde ne olduğu henüz kesin olarak bilinmeyen bir karbonhidrattan almaktadır, ısı, paraformaldehit ve deterjanlar ile epitelin bu özelliği ortadan kalkmaktadır. *C. albicans* diğer kandidalar içerisinde ağız mukozası ve plastik yüzeylere en iyi tutunan mantardır. Statherin ve PRPler (PRP1 hariç), *C. albicans*'ın diş sert dokularına ve yanak mukozasına tutunmasına aracılık eder. Statherin bloke edildiğinde diş sert dokularına tutunma %93, yanak mukozasına tutunma %43 oranında azalır. Kandidaların konak dokuya tutunması blastospor fazında daha fazladır. Ortamda şeker (galaktoz) bulunduğunda, veya 2 değerlikli iyonlar (Mg^{++} , Ca^{++}) bulunduğunda tutunması artar. Mono ve disakkaritler aderansı pek az artırır, aminoşekerler ise aderansı inhibe eder. *C. albicans*, fibrinojen, fibronektin, trombin, laminin, tip I ve tip IV kollajene ve bakterilere tutunmaya meğillidir. Böyle tutunmalar ile kandidiyal biyofilmler oluşur (20, 21, 22, 25).

2.2.7. Yaptığı Hastalıklar ve Klinik Bulgular

Hiçbir hastalık oluşturmada çok sayıda kandida ağız, barsak, vajina, üst solunum yolu ve deri florasında bulunur, bu floraların doğal bir üyesidir. Oportunistik patojendir. İmmün yetersizliğin bulunduğu durumlarda yüzeysel ve derin mikozlara sebep olur. Ekstraoral kandidiyazlar: Vajinit: bilhassa şeker hastası kadınlarda daha sık rastlanır. Hem kan şekerinin yüksek olmasına bağlı genel bir immün baskılanma vardır hem de glukozüriye bağlı ekolojik bir değişim vardır. Bu durumda kandidiyaz, vulvada ve vajina çevresinde basit ekzematoid dermatit şeklinde başlar, kaşıntılıdır, vezikül ve püstüller görülebilir, nadiren ülserleşebilir. Ayrıca vajinal dokudaki östrojen kümülasyonu sebebiyle gebeler bu hastalığa meğillidir. Böyle kadınların eşleri duyarlı ise glans penis üzerinde veya prepüste benzer lezyonlar görülebilir. Bunlar genellikle sünnet olmamış veya fimozisli erkeklerdir. Bu açıdan bakıldığında vajinal kandidiyaz veneryen hastalık gibi değerlendirilebilir. Onikomikoz: Tırnaklar çevresinde ağrılı kırmızı kabarcıklarla karakterize piyogenik lezyonlardır, fakat cerahat yoktur. Tırnak sertleşir, kalınlaşır ve oluklu bir görüntü alır. Bu tabloyu *Tricophyton* ve *Epidermophyton* cinsi mantarların yaptığı lezyonlardan ayırmak için kültür yapılması gerekir (21, 22, 23, 25).

Ayrıca kandidalar özellikle nötrojenik, cerrahi hastaları ve yoğun bakım ünitesindeki hastalarda kandidemi oluşturmaktadır. Bu olgular giderek artmakta, kültürde üretilerek tanı konulması bir çok olgunun gözden kaçmasına neden olmaktadır. Hepatosplenik, idrar yolu tutulumu dışında daha seyrek olarak pnömoni nedeni de olabilmektedir (18,19, 20).

2.3. Quorum Sensing (Çevreyi Algılama= Quorum Sensing)

2.3.1. Quorum Sensing Tarihçesi

Uzun yıllar boyunca, iletişim yeteneğinin çok hücreli “yüksek yapı” organizmalara özgü bir özellik olduğu, bakteriler gibi tek hücreli canlıların ise sadece büyümek ve bölünmekten ibaret olan son derece basit bir yaşam tarzına sahip varlıklar oldukları düşünülüyordu. Ancak günümüzde, bakterilerin “asosyal”, “yalnız yaşayan”, “yalnız ölen” izole varlıklar değişen ortam koşullarına uyumlarını kolaylaştırmak için karmaşık hücreler arası iletişim sistemleri kullanan topluluklar halinde buldukları kabul edilmektedir (27).

Bakterilerin sosyal bir yaşamları olduğu ilk defa 1970'lerin başında Gram (-) bir deniz bakterisi olan *Vibrio fischeri* üzerinde yapılan çalışmalar sırasında ortaya çıktı. Bu bakteride biyoluminesens (biyoışım)ın kollektif bir çalışma ile oluşturulduğu keşfedildi. *Vibrio fischeri*'lerin yalnız olduklarında ışık üretemeyip ancak çoğalıp belli bir sayıya ulaştıklarında, hepsi birden aynı anda ışık üretmeye başlıyorlardı (26).

İlk defa *Vibrio fischeri*'de tanımlanmış olan bu bakteriyel iletişim sisteminin daha sonra *V. fischeri* ile sınırlı olmadığı birçok Gram (-) ve Gram (+), insan, hayvan ve bitki patojeni tarafından yaygın olarak kullanıldığı keşfedilmiştir. Bakterilerin bu sistemi; antibiyotik biyosentezi, konjugasyon, önemli virülens faktörlerinin üretimi ve biyofilm oluşumu gibi çok çeşitli fizyolojik işlemlerde kullandığı bulunmuştur (26).

Bakteriler birbirleriyle iletişim kurmak için küçük sinyal molekülleri kullanırlar:

1. Acyl-homoserine lactones (AHLs) Gram (-),
2. Autoinducer peptides (AIPs) Gram (+),
3. Autoinducer-2 (AI-2) Gram (-) ve Gram (+)

Bakteriler bu sinyal molekülleri aracılığıyla yeterli çoğunluğa ulaşip ulaşmadıklarını izlemekte ve yeter çoğunluğa ulaştıkları anda da virülans faktörlerinin üretimi gibi kritik gen ekspresyonları tetiklenmektedir (27).

Hücreler arası iletişimi sağlayan bu haberleşme sistemi çevreyi algılama (quorum sensing) olarak adlandırılır. Bu olay bakteriye kendi hücre populasyon yoğunluğunu izleme ve buna bağlı olarak davranışlarını düzenleme olanağı verir. Böylelikle, konakta enfeksiyon oluşturabilecek yeterli çoğunluğa ulaşmaya kadar bağışıklık sistemi tarafından patojen bakterinin fark edilmemesi sağlanarak başarılı bir enfeksiyon süreci oluşturulur (27).

2.3.2. Gram (-) bakterilerde Quorum Sensing

Gram negatif bakteriler patojeniteye katkıda bulunan bir seri virülens faktörü üretirler. Bu virülens faktörlerini üretmek için *N*-açıl homoserine laktone (AHL) türevi sinyal moleküllerini kullanıyorlar.

Bakteriler tarafından sentezlenen bu küçük sinyal molekülleri, bakteri hücrelerinden difüze olur ve bakteri sayısındaki artışa paralel olarak ortamda birikmeye başlar. Hücre yoğunluğu eşik değere ulaştığında, ortamda birikmiş olan moleküller reseptör proteine bağlanarak hedef genlerin ekspresyonları tetiklenir (28).

2.3.2.1. *Pseudomonas aeruginosa* Quorum Sensing Sistemi

Patojenik bakterilerin birçoğunun virülans faktörlerinin üretimini AHL türevi sinyal molekülleri aracılığı ile kontrol ettiğinin keşfedilmesi ile Quorum Sensing (çevreyi algılama) sistemi antimikrobiyal tedavi için yeni ve cazip bir hedef haline almıştır.

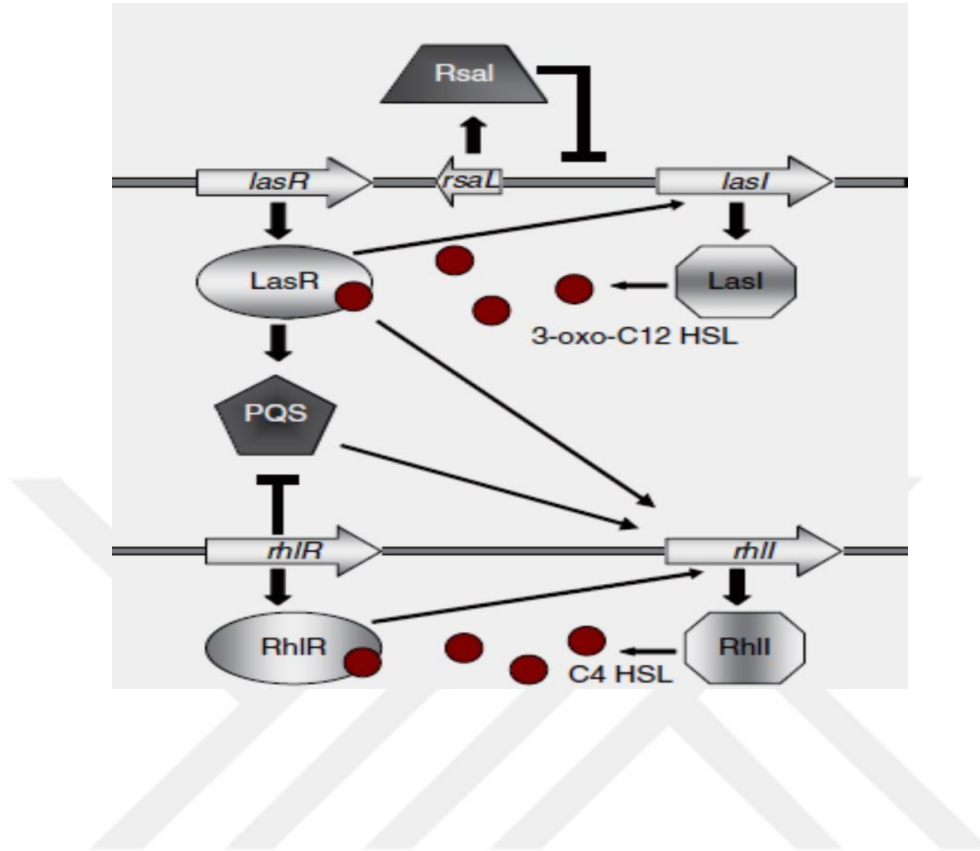
Bakterileri direk öldürmek yerine aralarındaki haberleşme sistemini bloke ederek bakteriyel enfeksiyonları tedavi etmek ve kontrol altında tutmak, patojenlerle savaşta çok umut vaat eden yeni bir strateji olarak düşünülmektedir (28).

P. aeruginosa'da tanımlanmış üç ana QS sistemi vardır; birbirleriyle hiyerarşik ilişkileri olan bu sistemler *las* , *rhl* ve quinolon signal sistemleridir.

***las* QS Sistemi:** *P. aeruginosa*'da tanımlanan ilk QS sistemi ile *LasB* elastaz ifadesini düzenleyen sistem aydınlatıldığı için *las* QS sistemi olarak adlandırılmıştır. Sistemin bileşenleri; oto-uyaran sentaz geni olan *lasI*, sentaz geninin ürünü N-(3-oksododekanoyl)-L-homoserin lakton (3-oxo-C12-HSL) ve transkripsiyonel aktive edici proteini kodlayan *lasR* genidir, *las* sistemi sinyal molekülü olan 3-oxo-C12-HSL'nin immunomodülatör olduğu ve konak yanıtını baskıladığı da gösterilmiştir (27, 28). (Şekil 2-1)

***rhl* QS Sistemi:** Ramnolipid sentezini kontrol ettiği için *rhl* adını alan bu ikinci QS sisteminde oto-uyaran sentaz geni *rhlI*, sinyal molekülü olan N-bütiril-L-homoserin lakton (C4-HSL) ve transkripsiyonel aktive edici proteini kodlayan *rhlR* geni rol alır (27, 28). (Şekil 2-1)

Şekil 2-1. *Pseudomonas aeruginosa* Quorum Sensing Sistemi (49'dan değiştirilerek)



2.3.3. *Candida albicans* Quorum Sensing Sistemi

C. albicans hücreleri de diğer mikroorganizmalar gibi üretmiş oldukları sinyal molekülleri ile birbirleri ile iletişim kurmakta, belirli bir yoğunluğa ulaşıp ulaşmadıklarını izlemekte ve yeterli yoğunluğa ulaştıklarında ise virülans faktörlerine ait genlerin ekspresyonları tetiklenmektedir. Böylelikle, konağın bağışıklık sistemini zamanından önce uyarılmayarak başarılı bir şekilde enfeksiyon başlamaktadır (29).

Çoğu fungal patojende olduğu gibi *C. albicans* dimorfik yani maya ve hifsel form arasında geri dönüşümlü olarak geçiş yapabilme yeteneğindedir. Bu morfolojik değişim çeşitli koşullara bağlı olarak sırası ile maya (blastospor), çimlenme (germ) tüpü, yalancı hif ve gerçek hif oluşumunu kapsamaktadır (30, 34).

Hif oluşumu 37 °C' de nötral pH ve serum varlığında uyarılmaktadır. Bu koşullar konak koşullarını taklit etmektedir. Çimlenme tüpü olarak adlandırılan yeni oluşan hif formlarının adhezyonlarının maya formuna göre daha fazla olduğu gösterilmiştir. Makrofajlar tarafından tutulan maya hücreleri hif oluşturarak makrofaji lizis etmektedirler. Bu fagolizozom içinde oluşan proteinazın mikrobisidal oksijen radikallerinin oluşumunu sağlayan proteinlere saldırmasından ileri gelmektedir (31, 34).

C. albicans hifal gelişimi virülans faktörlerinin ekspresyonu ile aynı zamanda gerçekleşir. Adhezinler; Als (agglutinin-like sequence), Hwp1 (Hyphal Wall Protein), Int1 (Integrin) ve Salgısal Aspartik Proteazlar (Sap 4-6) gibi virülans faktörleri hif formu tarafından üretilmektedir (Hypha-coregulated genler) (32, 33).

C. albicans için hücreler $>10^6$ hücre/ml olduğu zaman tomurcuklanan maya olarak, $<10^6$ hücre/ml olarak inoküle edildiği zaman misel olarak gelişim göstermektedir. İnokulum boyut etkisi olarak bilinen bu durum dimorfik funguslarda en önemli fenomendir. Funguslardaki inokulum boyut etkisi Quorum Sensing olarak bilinmektedir ve hücre dışı hücre yoğunluk bağımlı sinyaller Quorum Sensing molekülleri adlandırılmaktadır (QSMs) (35, 36).

1969'da Lingappa ve ark. *C. albicans*'ın sıvı Sabouraud besiyerindeki yedi günlük kültürlerinden yaptıkları çalışmada iki ürünün *C. albicans*'ın üremesini inhibe ettiğini gösterdiler: Fenil etil alkol ve triptofol. Bu moleküller 160 ve 250 μM konsantrasyonda *C. albicans*'ın üremesini inhibe etseler de Hazen ve ark.'nın çalışmasında bu moleküllerin çimlenme borusunun inhibisyonu için gerekli olmadığı gösterildi. Aynı araştırmacılar "morphogenic autoregulatory substance" (MARS) adı verilen bir molekülün *C. albicans*'ın doku kültürlerinde yoğun olarak bulunduğunu ve çimlenmeyen hücrelerin üremesini etkilemezken çimlenme olan hücrelerde çimlenmeyi baskıladığını, ayrıca kobalt, kalsiyum, nikel gibi iyonların bu bileşiğin etkisini yönlendirmede etkili olduklarını gösterdiler (37, 38).

2001 yılında iki bağımsız araştırmacı grup, hif gelişimini baskılayan *C. albicans* süpernatantlarında bulunan bir molekülü tanımladılar: "Farnesol" (39, 40). (Şekil 2-2)

Farnesol 1-50 μM konsantrasyonda *C. albicans* suşlarına etki gösteren, besiyerinde bulunan sığır serum albumini ya da prolin N-asetil glukozamin gibi hif oluşumunu tetikleyen maddelerin varlığına rağmen miçel oluşumunu baskılayabilen bir sinyal molekülüdür. Ancak hif oluşumunu baskılayabilmek için yüksek konsantrasyonlara (10-250 μM) ihtiyaç duyulmaktadır. Ayrıca hif oluşumunu baskılamayan yanında hücreyi hidrojen peroksida karşı da korumaktadır. Farnesol'ün kazandırdığı bu özellikler mantarın konak savunmasından kaçışı için iyi bir yol gibi gözükmektedir (41). (Şekil 2-2)

Farnesol, sterol biyosentezinde ara basamak olan farnesil pirofosfattan oluşmaktadır. Hornby ve ark., *C. albicans* ekstraktlarının farnesil pirofosfattan farnesol üreten bir enzime sahip olduklarını ve farnesol üretiminin ergosterol biyosentezinde rol oynayan zaragozik asit-B aracılı squalen sentaz enziminin inhibisyonu ile arttığını gösterdiler. Ergosterol sentezindeki problem durumunda farnesol miktarının artışı belki de benzer mekanizma ile azol ilaçların kullanımında ortaya çıkmaktadır. Azollerin ergosterol sentezini bozması sonucunda belki de farnesil pirofosfat öncüllerinin birikmesi nedeni ile farnesol miktarında artış olmaktadır (42).

Farnesol oluşumu ile ilgili bir diğer özellik anaerobik koşullarda farnesol üretiminin olmayışıdır. Anaerobik koşullarda *C. albicans* suşlarının ergosterol hedefli antifungallere duyarsız olduğu bilinmektedir. Bu koşullarda ergosterol sentezi ile ilgili aktivitelerde değişiklik ya da azalma olması, sonuçta farnesol oluşumunda da yetersizliğe yol açmaktadır.

İlginç olarak, anoksik koşullarda hif formasyonu dışardan farnesol eklense de baskılanmamaktadır (42). (Şekil 2-2)

Candida albicans'ın ürettiği ikinci QS molekülü bir tirozin derivesi olan "tyrosol" dür. "Tyrosol" farnesolün aksine hif oluşumunu arttırmaktadır. Böylece *C. albicans* farnesol ve "tyrosol" yardımı ile morfojenезini kontrol altında tutabilmektedir. *Saccharomyces cerevisiae*'de tanımlanmış iki QS molekülü fenil etanol ve triptofol *C. albicans* tarafından da üretilmekte ve "Tyrosol" etki göstermediğinde yalancı hif oluşumunu arttırmaktadır (43, 44, 69). (Şekil 2-3)

2.3.3.1. *Candida albicans*'ta Farnesol Etkisi

Kandidiyasis genellikle dental implantlar, yapay eklemler, merkezi sistem kataterleri gibi implante cerrahi aletlerin kullanımı ile ilgilidir. Bu aletler biyofilm gelişimi için substrat rolü oynamaktadır. Medikal ekipmanlar da biyofilm oluşumu *C. albicans* nedeni ile oluşan enfeksiyonların ilerlemesine neden olmaktadır.

Maya hücrelerince başlangıç kolonizasyonunu takiben 3-6 saat sonra germ tüpü oluşur. Yeterli germinasyon ile yapışan mayalar biyofilmin substrata kuvvetle bağlandığı bazal tabakayı oluşturur. 48 saat sonra olgun bir biyofilm tipik olarak maya, misel ve pseudomisel içermektedir. Olgun bir *C. albicans* biyofilmi polisakkaritleri, karbonhidratları, proteinleri ve bilinmeyen komponentlerin oluşturduğu matriks içerisinde maya, hif ve pseudohifi içeren bir formdur (45, 57, 64, 65).

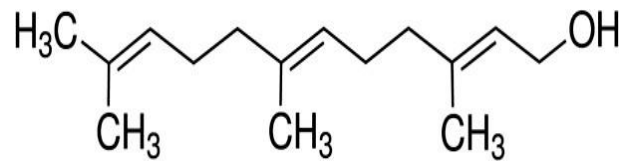
Polimetilmethakrilat materyal üzerinde biyofilm oluşumu evreleri incelendiğinde;

- 1- Erken faz (0-11 saat) : Fungus hücrelerinin substrata adhezyonu
- 2- Orta faz (12-30 saat): Maya formundan hif formuna geçiş (dimorfizm) ile matriks oluşumu
- 3- Olgun faz (31-72 saat): Fungus hücreleri tamamen kalın bir ECM (hücre dışı materyal) ile kaplanmış olmak üzere 3 faz saptanmıştır. Biyofilmde çoklu morfolojiye sahip hücrelerin varlığı Farnesol'ün hücre morfolojiyi düzenlemede ve olgun biyofilmin oluşumunda role sahip olduğunu göstermektedir (66).

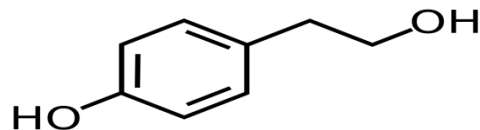
Ramage ve ark. ayrıca, farnesol ile muamele olmuş hücrelerin Nouthern blot analizini yapmak üzere hücreleri 24 ve 48 saat 30 μM farnesol ile muamale etmişlerdir. İzole edilen RNA, *HWPI* probu ile hibridize edilmiştir. Farnesol ile muamele olmuş hücrelerde *HWPI* mRNA ekspresyonunun farnesol ile muamele edilmemiş hücrelere göre daha düşük olduğu saptanmıştır (46). (Şekil 2-4)

- 1- Farnesol ile muamele edilmemiş kontrol biyofilmden temel olarak gerçek hif mevcuttur.
- 2- 3 ve 30 μM Farnesol uygulandığı zaman biyofilm maya hücreleri, pseudohif ve gerçek hiften oluşmaktadır.
- 3- 300 μM Farnesol ilave edildiğinde sınırlı biyofilm oluşumu vardır. Oluşan biyofilm maya hücreleri ve pseudohiften oluşmaktadır (45, 46, 58, 64, 65).

Farnesol konsantrasyonu bir kez artınca yeni üretilen maya hücrelerinde miselial gelişim gözlenmez, hücreler maya formunda olur. Bu mayalar da olgun biyofilmden uzaklaşır ve herhangi bir yerde yeni bir biyofilm oluşumunu başlatır. Olgun biyofilm süpernatantının planktonik *C. albicans*'ın biyofilm oluşumunu inhibe ettiğini gözlenmiştir. Farnesol veya diğer süpernatant faktörlerinin biyofilm içinde yerler veya kanallar açılmasına yardım ettiği, bunun da yüzeyde daha fazla kolonizasyonu engelleyerek besin alınımını ve atık ürün atılımını sağladığı hipotezidir (46, 58, 73). (Şekil 2-2 ve Şekil 2-4)



Şekil 2-2. Farnesol (47'den)

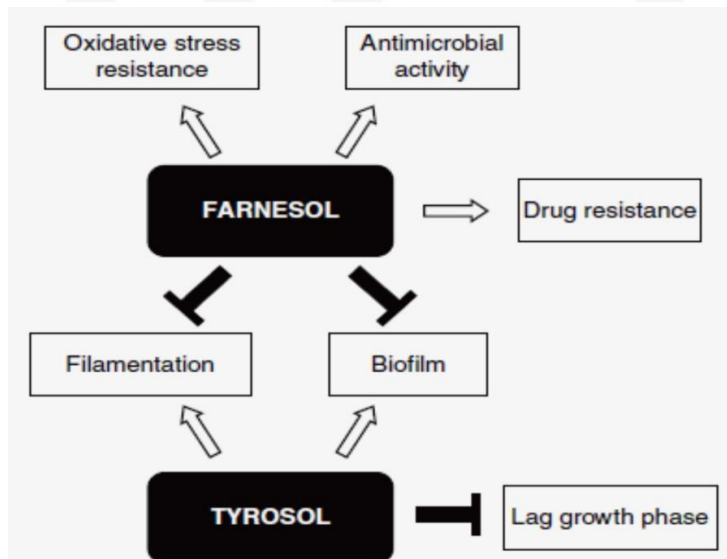


Şekil 2-3. Tyrosol (47'den)

2.3.3.2. *Candida albicans*'ta Tyrosol Etkisi

C. albicans farklı yoğunluk bağımlı feromonler gösterir. En fazla dikkat çeken QS davranışlarından birisi hücreler taze ortam ile dilüe edildikleri zaman hücrelerin gösterdikleri oldukça uzun lag fazdır. Dilüsyon artıkça eksponansiyel fazın başlaması uzun sürer. Bunun nedeni hücre solüsyonuna taze ortam eklendiğinde hücrelerin farklılaşması sırasında ortama salınan otoindükleyici moleküllerin seyrelmesidir. Bu şekilde bu bileşikler kritik konsantrasyonun altına düşmektedir (44).

Tyrosol düşük hücre yoğunluğunda hücre büyümesini ve germ tüpü oluşumunu indükler. Maya formundan filamentöz forma dönüşümü hızlandırır. Hücre yoğunluğunun *C. albicans* gelişimi üzerine etkisini incelemek için yapılan bir çalışmada; 1 gecelik sentetik minimal ortamda kültüre edilmiş *C. albicans* kültürü üzerine dilüe ortam ilave edilmiştir. Tyrosol varlığında ve yokluğunda *C. albicans* hücrelerinde germ tüpü oluşumu incelenmiş ve tyrosol varlığında 1. saatte hücrelerin %55'nin ve 2. saatte %80'nin germ tüpü oluşturduğu gözlenmiştir (44). (Şekil 2-3 ve Şekil 2-4)



Şekil 2-4. *Candida albicans* Quorum Sensing Sistemi (63'ten)

2.4. *Pseudomonas aeruginosa* ve *Candida albicans* Etkileşimi

2.4.1. Direkt Etkileşim

P. aeruginosa hücreleri *C. albicans* hifal hücrelerini öldürür, ama *C. albicans* maya hücrelerini öldüremez. *C. albicans* üzerindeki ölümcül etkinin *C. albicans*'ın hücre duvarını değiştiren piyosiyanine bağlı olduğu düşünülmektedir. *P. aeruginosa*, *C. albicans*'a bağlanmasından sonra hif hücrelerini öldürmesinde lektin karbonhidrat, tip IV pili aracılık etmektedirler (47, 48, 50, 53, 77, 78).

2.4.2. Dolaylı Etkileşim

Pseudomonas aeruginosa ve *Candida albicans* etkileşimi Quorum Sensing mediyatörleri aracılığı ile gerçekleşmektedir. Gram negatif bakterilerin çoğunluğu N-açıl homoserin laktonları (AHL) kullanarak kendi aralarında bağlanıp ve transkripsiyonel faktörleri ya aktive ya da inhibe edebilirler. *Pseudomonas aeruginosa*'da AHL'ye bağlı iki adet Quorum Sensing sistemi (las ve rhl) tanımlanmıştır (51, 52, 55).

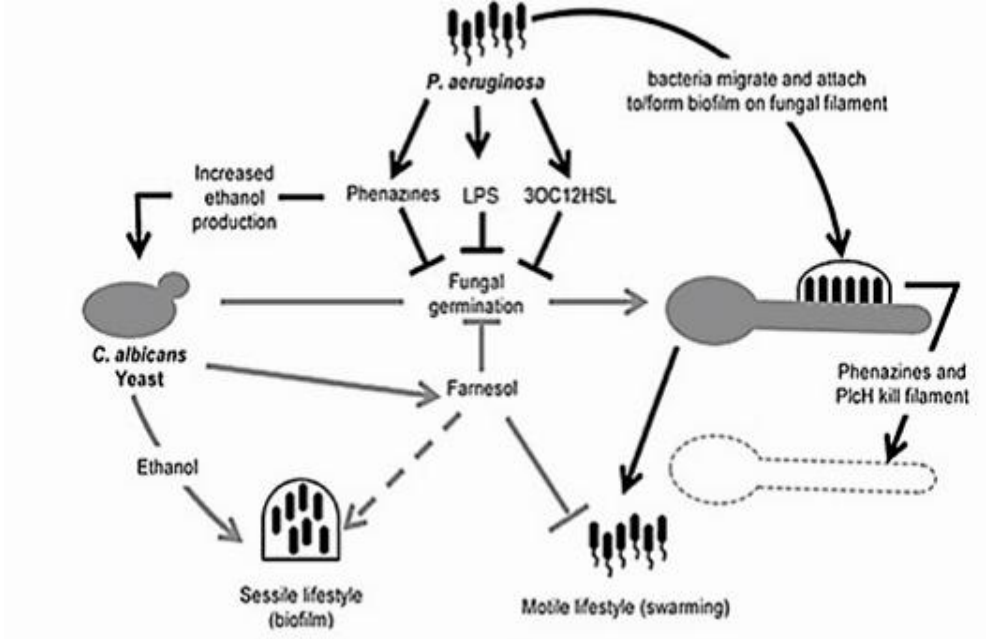
Las sisteminin mediyatörü 3-oksododekanoil homoserin lakton (3-oxo-HSL) bir otoindükleyicidir ve bu mediyatör LasI sentaz vasıtası ile yapılmaktadır. İkinci otoindükleyic mediyatör (butanoil homoserin lakton) RhII sentaz aracılığı ile yapılmaktadır. Bu iki mediyatör kendilerine ait olan transkripsiyon faktörlerine LasR ve RhIR bağlanmakta ve onları aktive etmektedirler (56, 59, 60, 61).

3-okso-homoserin lakton *Pseudomonas aeruginosa* hücrelerinin yüzeyel bağlanma proteinlerinin yapımında gerekli olduğundan dolayı, *P. aeruginosa*'nın *C. albicans* hiflerine bağlanması için de gerekli olduğu öne sürülmüştür (53, 54, 56, 57). (Şekil 2-5)

P. aeruginosa'da üçüncü bir Quorum Sensing sistemi Pseudomonas Quinolone signal (PQS) olarak yakın zamanda tanımlanmıştır ve bu sistemde 2-heptyl-3-hydroxyl-4-quinolone mediyatörü kullanılmaktadır. Kinolon signal sistemi *lasI/R* tarafından indüklenirken *rhII/R* ile inhibe olmaktadır. *Pseudomonas aeruginosa* kinolon sistemi çeşitli virülans faktörlerin oluşumunu indüklemektedir. Bu virülans faktörleri arasında en önemli olan piyosiyanın yer almaktadır (75). Piyosiyanın mavi renkte olup kloroform'da eriyebilmektedir. Piyosiyanın *P. aeruginosa*'da NADH/NAD oranını stabil tutarak bakterinin kısıtlı oksijen varlığında yaşamına devam edebilmesini sağlamaktadır. Piyosiyanın aynı zamanda antimikrobiyal aktivitesine sahip olup Gr(+) ve Gr(-) mikroorganizmaları etkilemektedir. Ayrıca piyosiyanın *C. albicans*'ı, ökaryot olmasına rağmen etkileyebilmektedir. Piyosiyanın *C. albicans*'ta c-AMP'i indirgeyerek maya hücrelerinin hif hücrelerine dönüşümünü inhibe etmektedir (59, 60, 61, 63, 76). (Şekil 2-5)

C. albicans Quorum Sensing mediyatörleri olarak Farnesol ve Tyrosol'u üretmektedir. Farnesol çimlenme borusu oluşumunu inhibe edip, hif hücrelerinin maya hücrelerine dönüşümünü (3-okso-homoserin lakton gibi) inhibe eder. Farnesol bu etkisini *C. albicans*'daki RasI yolağını inhibe ederek göstermektedir (70, 71, 72). (Şekil 2-5)

Ayrıca Farnesol *Pseudomonas aeruginosa*'daki kinolon signal yolağını inhibe ederek piyosiyanın oluşumunu engellemektedir. Farnesol kinolon signal yolağını etkileyerek *P. aeruginosa*'nın yayılma hareketini inhibe etmektedir ve bu yayılma hareketinden sorumlu olan Ramnolipid (glikolipit) moleküllerinin oluşumu kinolon signal sistemi tarafından kontrol edilmektedir (70, 73, 74, 75).



Şekil 2-5. *Pseudomonas aeruginosa* ve *Candida albicans* Etkileşimi (47'den)

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereçler

Kullanılan Cihazlar ve Aletler

Biotek ELX800 Absorbance Microplate Reader, ABD

-80, -20, +4 Buzdolabı, Beko, Türkiye

Pipet Seti (10-100-1000 µl) Eppendorf, Almanya

Vorteks Combispin, Biosan, Litvanya

Inkübator Memmert, Almanya

Kullanılan Kimyasal ve Sarf Malzemeleri

Farnesol 25 g, Sigma Aldrich, ABD

Tyrosol 500 mg, Sigma Aldrich, ABD

Dimetylsulfoksit (DMSO) 100 ml, Sigma Aldrich, ABD

Meuller Hinton Broth 500 g, Sigma Aldrich, ABD

Meuller Hinton agar, ORBAK, Türkiye

96 kuyucuklu Playt (U tabanlı), Türkiye

50 ml ve 15 ml Falkon, Türkiye

Pipet uçları, Gilson, Inc., ABD

Eppendorf tüp, Gilson, Inc., ABD

Kullanılan Yazılımlar

GEN5 2.0.9 software

Pseudomonas aeruginosa Suşları

Bu çalışma 2017-2018 yılları arasında İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarında 9 farklı hasta örneğinden izole edilen (3 idrar, 3 kan, 3 balgam) *Pseudomonas aeruginosa* suşu ve 1 adet satın alınmış ATCC 15692 *Pseudomonas aeruginosa* standart suşu kullanılarak gerçekleştirildi.

Pseudomonas aeruginosa suşları çalışmaya alınana kadar -80 °C de 1.5 ml'lik steril eppendorf tüplerinde gliserin içerisinde saklandı.

Farnesol ve Tyrosol Stok Sölüsyonu

Farnesol ($C_{15}H_{26}O$: 3,7,11-Trimethyl-2,6,10-dodecatrien-1-ol) sesquiterpen alkol'dır ve oda ısısında sıvı haldedir, moleküler ağırlığı 222.37 gram/mol, dansitesi 0.887 gram/ml'dir. Farnesol dimetilsülfoksit ile dilüe edilerek 500 milimolar stok solüsyon hazırlandı. Bu stok solüsyondan 4 (dört) farklı konsantrasyon (10 , 50 , 100 ve 200 mikromolar) 1.5 ml'lik eppendorf tüplerinde hazırlanıp deneyde kullanılabildiği kadar -20 °C buzdolabında saklandı.

Tyrosol ($C_8H_{10}O_2$: 2-(4-Hydroxyphenyl)ethanol) fenol alkol'dır ve oda ısısında katı haldedir, moleküler ağırlığı 138.64 gram/mol, dansitesi 1.16 gram/ml dir. Tyrosol distile su ile dilüe edilerek 500 milimolar stok solüsyonu hazırlandı ve bu stok solüsyondan 8 (sekiz) farklı konsantrasyon (1.2 , 2.5 , 5 , 10, 20 , 40 ve 80 mikromolar) 1.5 ml'lik eppendorf tüplerinde hazırlanıp deneyde kullanılabildiği kadar -20 °C de saklandı.

Müller Hinton broth Hazırlanması

Müller Hinton broth Sigma-Aldrich'ten temin edildi. Üreticinin prospektüsüne göre hazırlanan brotlar 50 ml' lik steril falkonlarda stoklanıp çalışmaya kadar +4 °C de saklandı.

Müller Hinton Agar besiyerleri soğuk zincir kurallarına uyularak hazır olarak 9 mm çapında petrilere dökülmüş halde temin edildi.

Farnesol ve Tyrosol'un birer *C. albicans* Quorum Sensing mediyatörü olarak *Pseudomonas aeruginosa*'nın üremesi üzerinde olan etkileri iki farklı deneyde araştırıldı. Plak absorbands ve hücre canlılık deneyleri, Shaymaa H. Abdel-Rhman ve ark. Mısır'da yapmış olduğu çalışmada kullanılan yöntemle çalışılmıştır (72).

3.2. U tabanlı 96 Kuyucuklu Plak Absorbans Deneyi

3.2.1. Farnesol Plak Absorbans Deneyi

Buzdolabında -80 °C da saklanan 10 adet *P. aeruginosa* suşu oda ısısına getirilerek güvenlik kabini içerisinde steril eküvyon yardımı ile 50 ml' lik falkon tüplerindeki Müller Hinton brotha inököle edildi, 37 °C de ve 24 saat boyunca inkübe edilen falkon tüpleri vortekslendi. Plağın ilk sırasındaki 9 kuyucuğa falkon tüpünden 200 mikrolitre transfer edildi. Bu işlem her bir *Pseudomonas aeruginosa* suşu için tekrarlandı.

Oda ısısına getirilen farklı konsantrasyonlardaki Farnesol tüplerinden plaklardaki kuyucuklara 2 mikrolitre ilave edildi. Sonuçta plağın birinci sırasındaki ilk iki kuyucuğa 10 mikromolar , 3. ve 4. kuyucuğa 50 mikromolar , 5. ve 6. kuyucuğa 100 mikromolar , 7. ve 8. kuyucuğa 200 mikromolar konsantrasyonunda Farnesol ilave edildi. Kontrol olarak kullanılacak olan 9. kuyucuğa sadece 2 mikrolitre dimetilsulfoksit ilave edildi. (Tablo 3-1)

3.2.2. Tyrosol Plak Absorbans Deneyi

24 saat, 37 °C de inkübe edilen biri ATCC suşu olmak üzere 10 farklı *P. aeruginosa* suşundan yine 200 mikrolitre plağın her sırasındaki sekiz kuyucuğa ilave edildi. Oda ısısına getirilen farklı konsantrasyonlardaki Tyrosol tüplerinden plaklardaki kuyucuklara 2 mikrolitre ilave edildi. Sonuçta plağın birinci sırasındaki ilk kuyucuğa 1.2 mikromolar, 2. kuyucuğa 2.5 mikromolar, 3. kuyucuğa 5 mikromolar, 4. kuyucuğa 10 mikromolar, 5. kuyucuğa 20 mikromolar, 6. kuyucuğa 40 mikromolar, 7. kuyucuğa 80 mikromolar konsantrasyonunda olan Tyrosol ilave edildi. Kontrol olarak kullanılacak olan 8. kuyucuğa sadece 2 mikrolitre distile su ilave edildi. (Tablo 3-2)

3.3. Hücre Canlılık Deneyi

Buzdolabında -80 °C da saklanan 10 adet *P. aeruginosa* suşu oda ısısına getirilerek güvenlik kabini içerisinde steril eküvyon yardımı ile 50 ml'lik falkon tüplerindeki Müller Hinton broth'a inoküle edildi, 37 °C de ve 24 saat boyunca inkübe edilen falkon tüpleri vortekslendi. İçinde iki mililitre Müller Hinton broth bulunan 15 ml'lik steril falkon tüplerine steril eküvyon yardımı ile bir gece inkübe edilmiş 50 ml'lik falkonlardan subkültür yapıldı ve bu 15 mililitrelik falkon tüpleri 37 °C de 24 saat boyunca inkübe edildi.

Her *P. aeruginosa* suşu için toplam 12 (oniki) adet 15 ml'lik steril falkon tüplerinde subkültür hazırlandı. Biri kontrol olmak üzere dört falkona Farnesol'un 4 farklı konsantrasyonundan 20 mikrolitre ilave edildi, kalan yedi falkona biri kontrol olmak üzere 6 falkona Tyrosol'un 6 farklı konsantrasyonundan 20 mikrolitre ilave edildi.

Hazırlanan falkonlar çalkalayıcı fonksiyonu olan inkübatörde 37 °C de, 16 saat boyunca ve 150 rpm çalkalama hızında inkübe edildiler. Bu sürenin sonunda falkonlar soğutmalı santrifüjde 20 °C de, 3000 rpm'de 5 dk boyunca santrifüj edildi. Üst sıvı atılarak tüp dibindeki *P. aeruginosa* hücrelerinin yer aldığı pelletin tamamı pipetör yardımı ile steril 1.5 ml'lik eppendorf tüpüne transfer edildi ve üzerine 1 mililitre Müller Hinton broth ilave edildi.

Üç ayrı steril 1.5 ml'lik eppendorf tüpüne 1 mililitre Müller Hinton broth ilave edildi. *P. aeruginosa* pelletini içeren eppendorf tüpü vortekslendikten sonra 1 mikrolitre alınıp, 1 mililitre Müller Hinton broth içeren ikinci eppendorf tüpüne aktarıldı. Bu ikinci eppendorftan 3. ye ve 3. den de 4. ye 1 mikrolitre alınarak seri dilüsyonlar yapıldı. En son dördüncü eppendorftan 100 mikrolitre alarak Müller Hinton agar besiyerine aktararak steril öze ile petrinin bütün yüzeyine ekim yapıldı. Ekimi tamamlanmış petriler 24 saat 37 °C de inkübe edildi. Petrilerdeki göz ile görünen tüm koloniler sayıldı. Bu aşama 3 farklı gün ve zamanda hata payını minimize etmek için tekrar edildi.

4. BULGULAR

Bu çalışma 2017-2018 yılları arasında İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarında 9 farklı hasta örneğinden izole edilen (3 idrar, 3 kan, 3 balgam) *Pseudomonas aeruginosa* suşu ve 1 adet satın alınmış ATCC 15692 *Pseudomonas aeruginosa* standart suşu kullanılarak gerçekleştirildi.

4.1. U tabanlı 96 Kuyucuklu Plak Absorbans Deneyi

Birinci *P. aeruginosa* izolatında Farnesol'un 200 mikromolar konsantrasyonu bakteri üremesini %17.89 oranında inhibe etmiştir. Aynı bakteri suşunda Tyrosol'un 1.2 mikromolar konsantrasyonu bakteri üremesini %8.6 oranında inhibe etmiştir (Şekil 4-1).

İkinci *P. aeruginosa* izolatında Farnesol'un 10 ve 50 mikromolar konsantrasyonları %5.7 oranında bakteri üremesini inhibe etmiştir. Aynı bakteri suşunda Tyrosol'un 10 mikromolar konsantrasyonu bakteri üremesini %13.5 oranında inhibe etmiştir (Şekil 4-2).

Üçüncü *P. aeruginosa* izolatında Farnesol'un 200 mikromolar konsantrasyonu %23.15 oranında bakteri üremesini inhibe etmiştir. Aynı bakteri suşunda Tyrosol'un 20 mikromolar konsantrasyonu bakteri üremesini %13.31 oranında inhibe etmiştir (Şekil 4-3).

Dördüncü *P. aeruginosa* izolatında Farnesol'un 100 mikromolar konsantrasyonu %10.77 oranında bakteri üremesini inhibe etmiştir. Aynı bakteri suşunda Tyrosol'un 40 mikromolar konsantrasyonu bakteri üremesini %9.07 oranında inhibe etmiştir (Şekil 4-4).

Beşinci *P. aeruginosa* izolatında Farnesol'un 50 mikromolar konsantrasyonu %11.44 oranında bakteri üremesini inhibe etmiştir. Aynı bakteri suşunda Tyrosol'un 80 mikromolar konsantrasyonu bakteri üremesini %17.32 oranında inhibe etmiştir (Şekil 4-5).

Altıncı *P. aeruginosa* izolatında Farnesol'un 200 mikromolar konsantrasyonu %24.62 oranında bakteri üremesini inhibe etmiştir. Aynı bakteri suşunda Tyrosol'un 10 mikromolar konsantrasyonu bakteri üremesini %12.03 oranında inhibe etmiştir (Şekil 4-6).

Yedinci *P. aeruginosa* izolatında Farnesol'un 200 mikromolar konsantrasyonu %5.41 oranında bakteri üremesini inhibe etmiştir. Aynı bakteri suşunda Tyrosol'un 1.2 mikromolar konsantrasyonu bakteri üremesini %7.88 oranında inhibe etmiştir (Şekil 4-7).

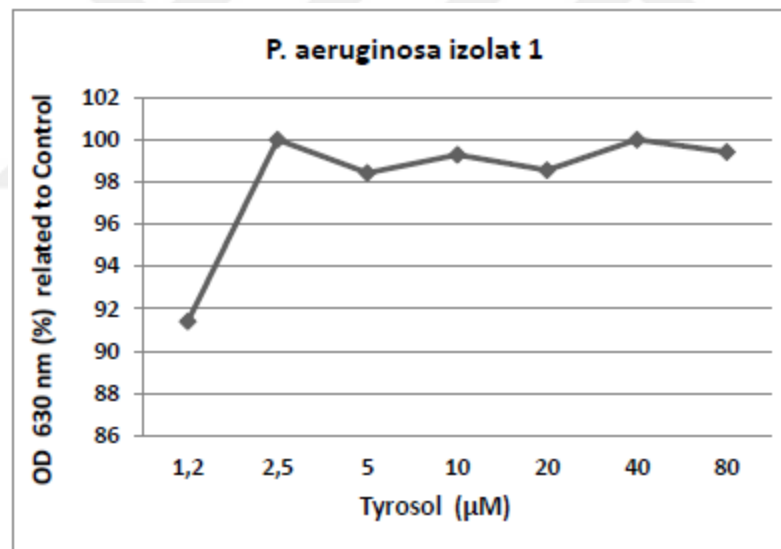
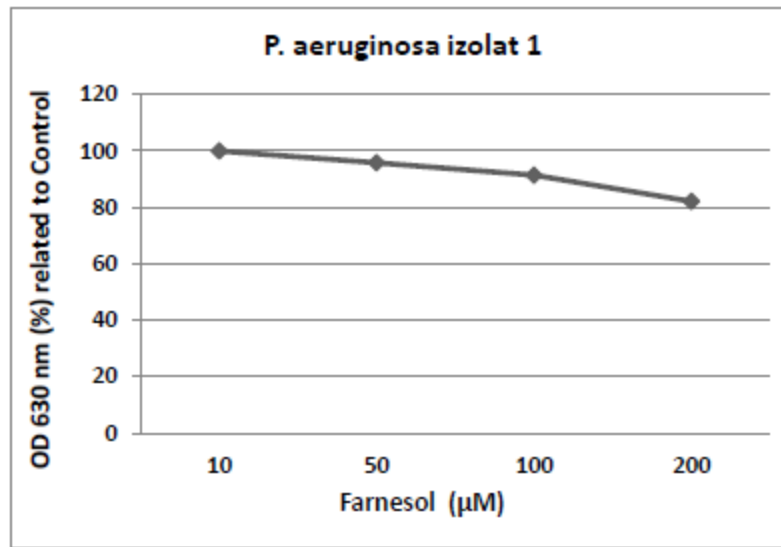
Sekizinci *P. aeruginosa* izolatında Farnesol'un 50 mikromolar konsantrasyonu %10 oranında bakteri üremesini inhibe etmiştir. Aynı bakteri suşunda Tyrosol'un 1.2 mikromolar konsantrasyonu bakteri üremesini %11.65 oranında inhibe etmiştir (Şekil 4-8).

Dokuzuncu *P. aeruginosa* izolatında Farnesol'un 50 mikromolar konsantrasyonu %7.4 oranında bakteri üremesini inhibe etmiştir. Aynı bakteri suşunda Tyrosol'un 20 mikromolar konsantrasyonu bakteri üremesini %15.69 oranında inhibe etmiştir (Şekil 4-9).

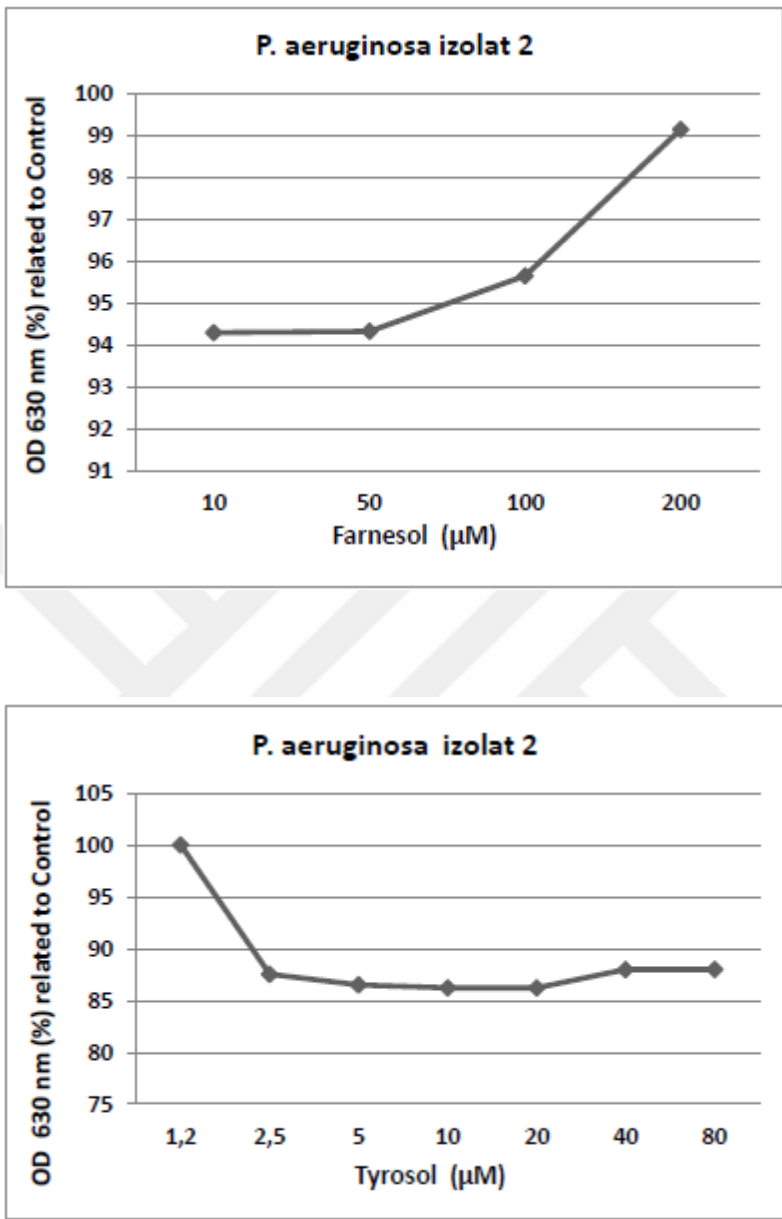
Onuncu *P. aeruginosa* izolatında (ATCC 15692) Farnesol'un 50 mikromolar konsantrasyonu %14.87 oranında bakteri üremesini inhibe etmiştir. Aynı bakteri suşunda Tyrosol'un 5 mikromolar konsantrasyonu bakteri üremesini %7.35 oranında inhibe etmiştir (Şekil 4-10).

Plak absorbans deney verilerine göre 10 adet (bir ATCC 15692 dahil) *P. aeruginosa* suşu üzerinde Farnesol'un 200 mikromolar konsantrasyonu en etkili inhibisyon konsantrasyonu olarak gözükmektedir, Tyrosol için 20 mikromolar konsantrasyonu bu etkiye sahiptir.

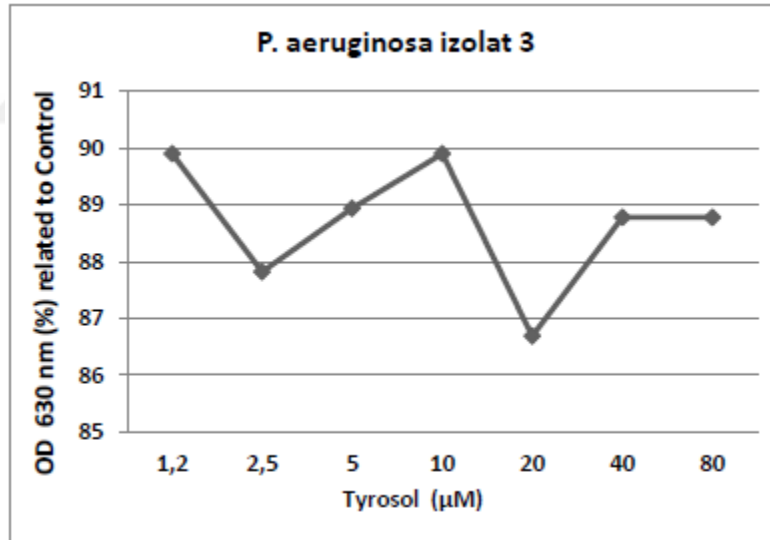
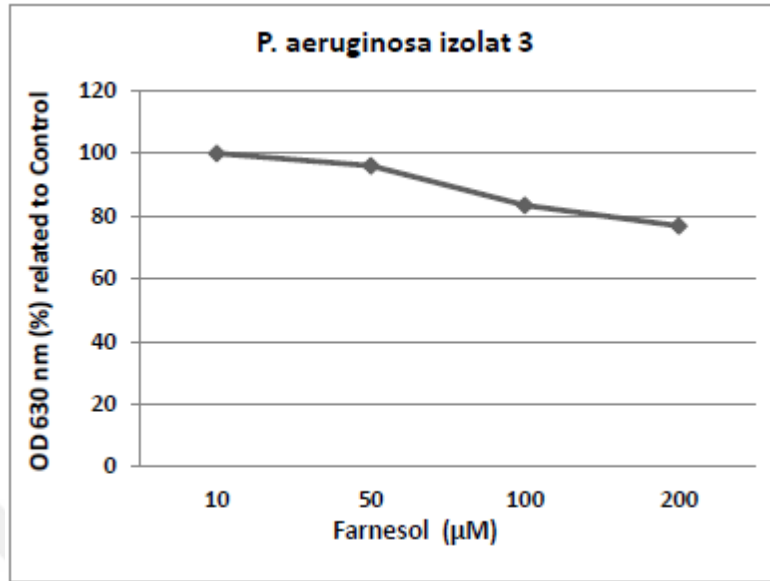
Şekil 4-1. Farnesol ve Tyrosol Plak Absorbans Deneyi, *Pseudomonas aeruginosa* izolat 1



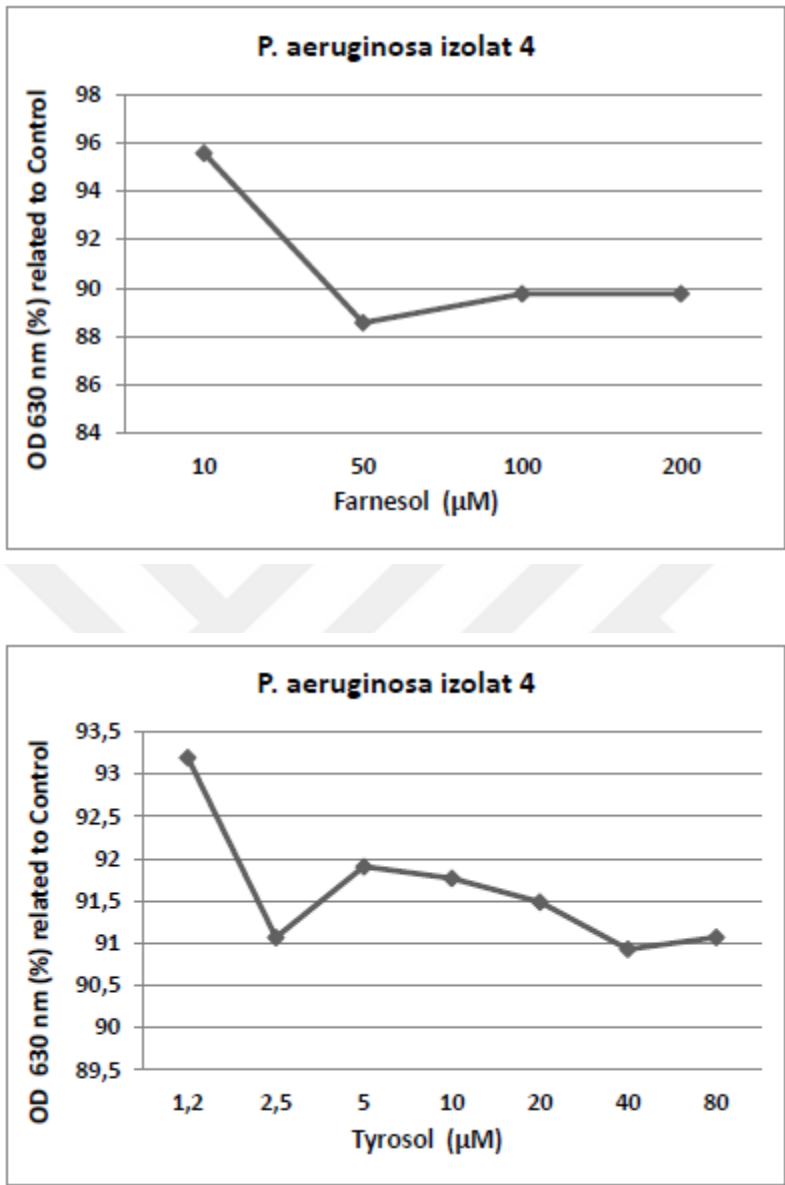
Şekil 4-2. Farnesol ve Tyrosol Plak Absorbans Deneyi, *Pseudomonas aeruginosa* izolat 2



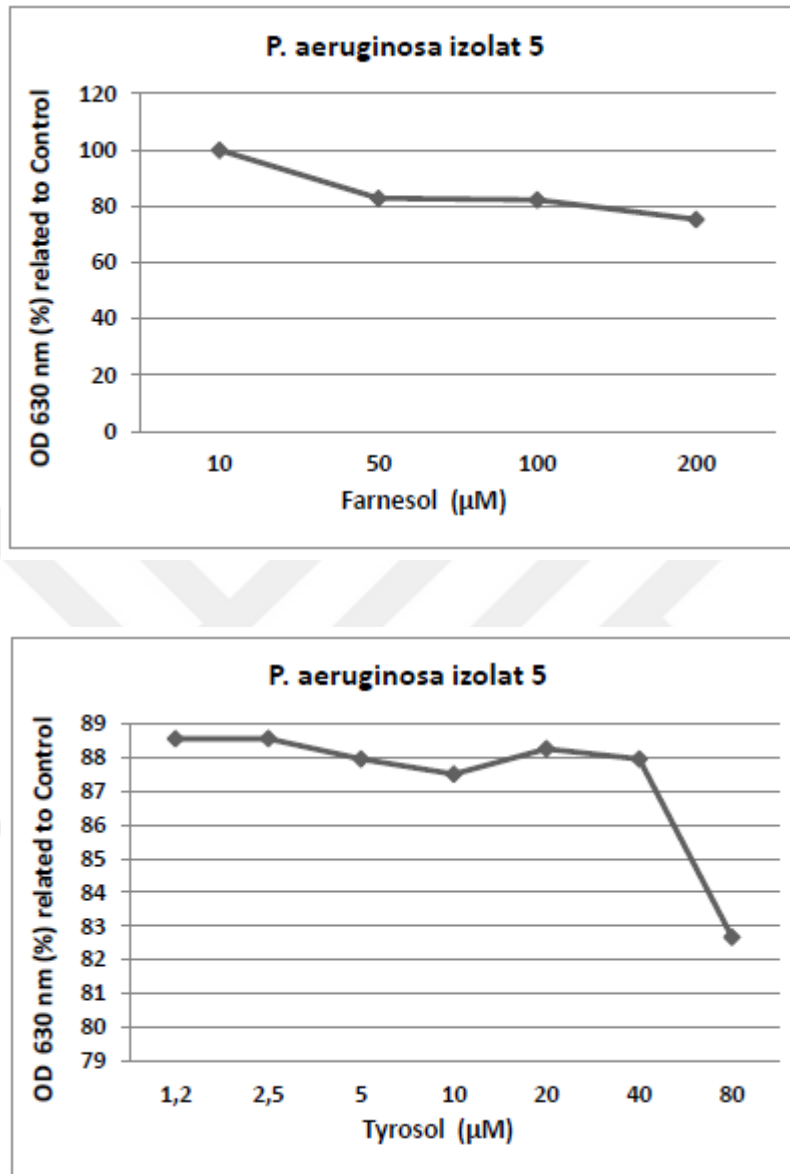
Şekil 4-3. Farnesol ve Tyrosol Plak Absorbans Deneyi, *Pseudomonas aeruginosa* izolat 3



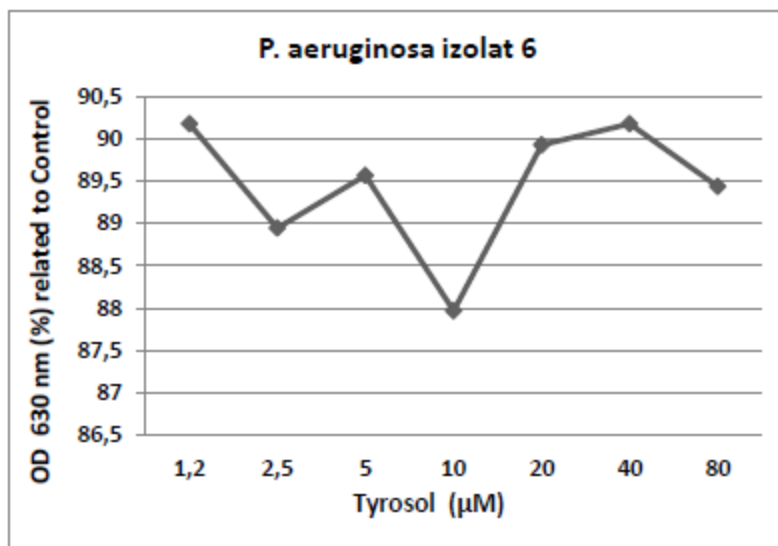
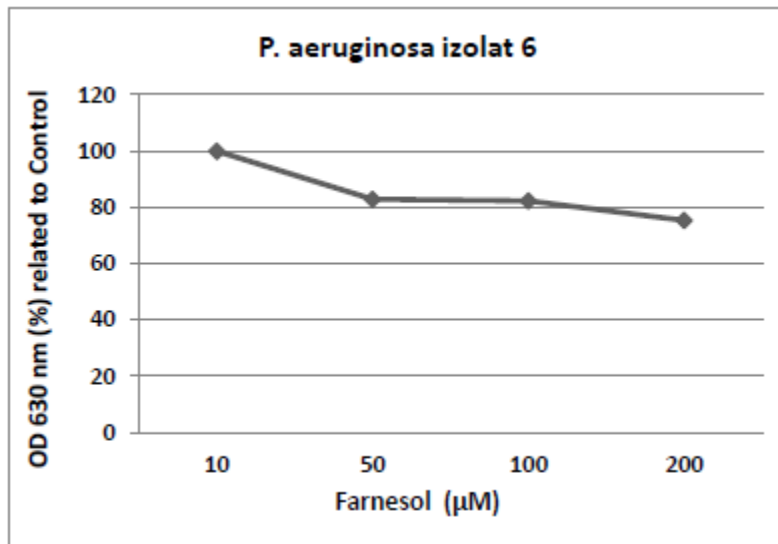
Şekil 4-4. Farnesol ve Tyrosol Plak Absorbans Deneyi, *Pseudomonas aeruginosa* izolat 4



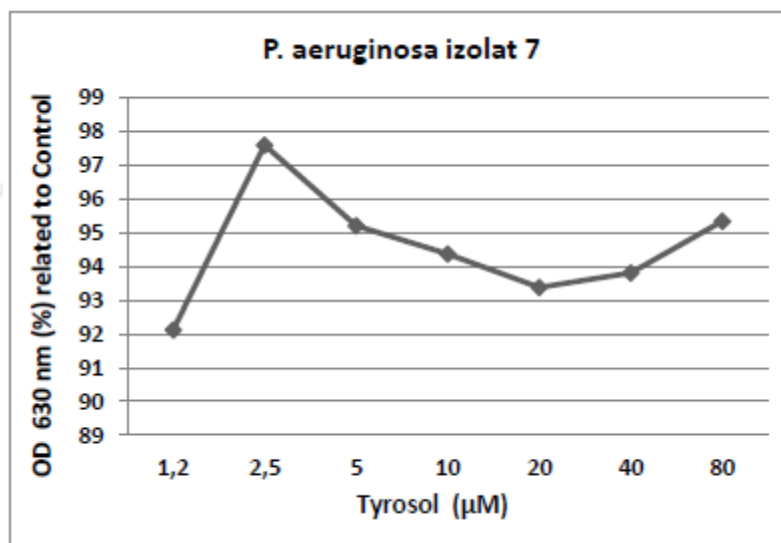
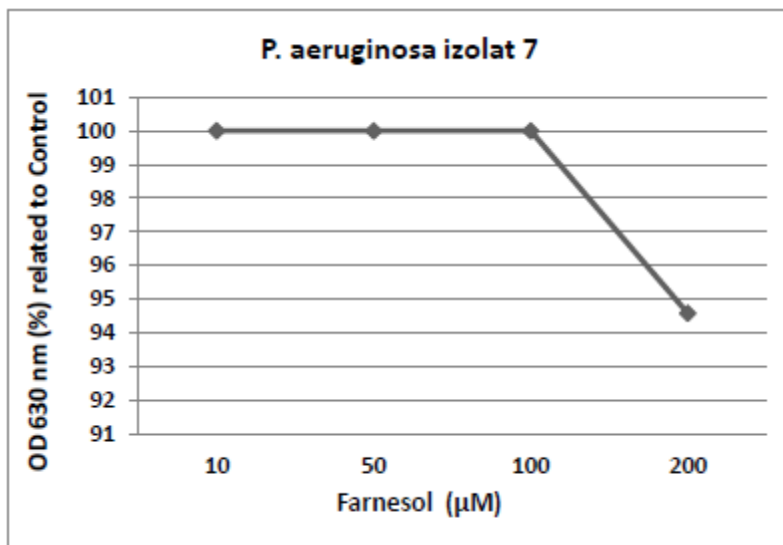
Şekil 4-5. Farnesol ve Tyrosol Plak Absorbans Deneyi, *Pseudomonas aeruginosa* izolat 5



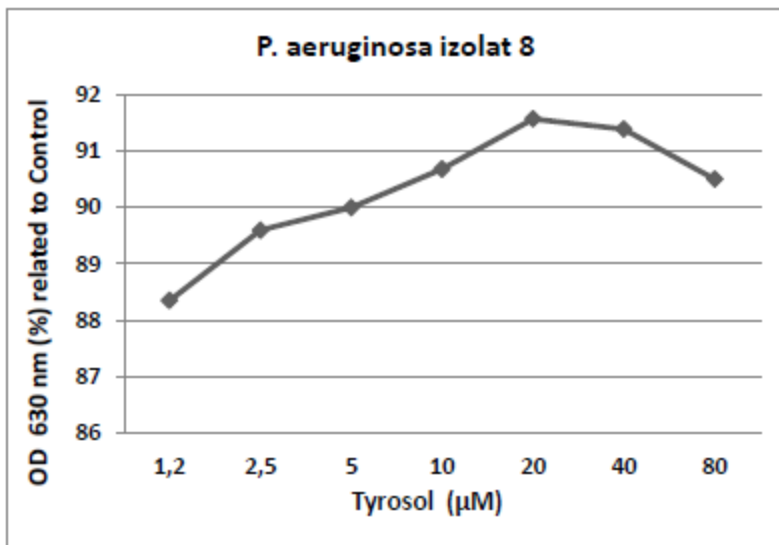
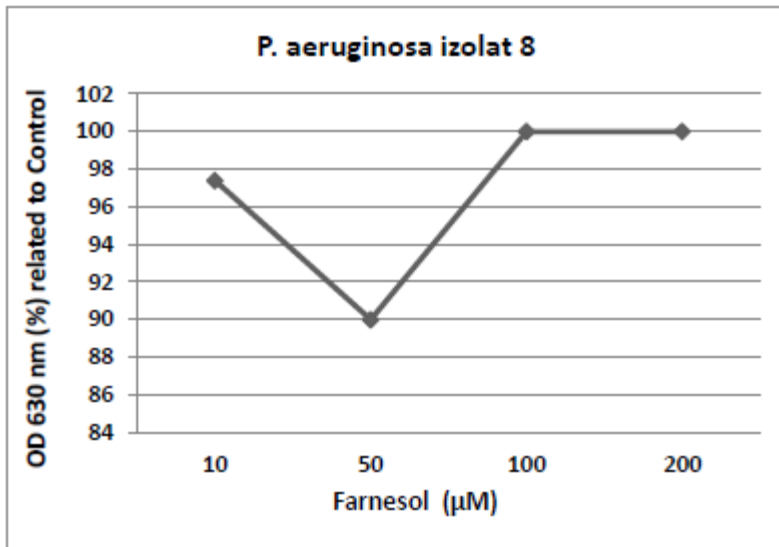
Şekil 4-6. Farnesol ve Tyrosol Plak Absorbans Deneyi, *Pseudomonas aeruginosa* izolat 6



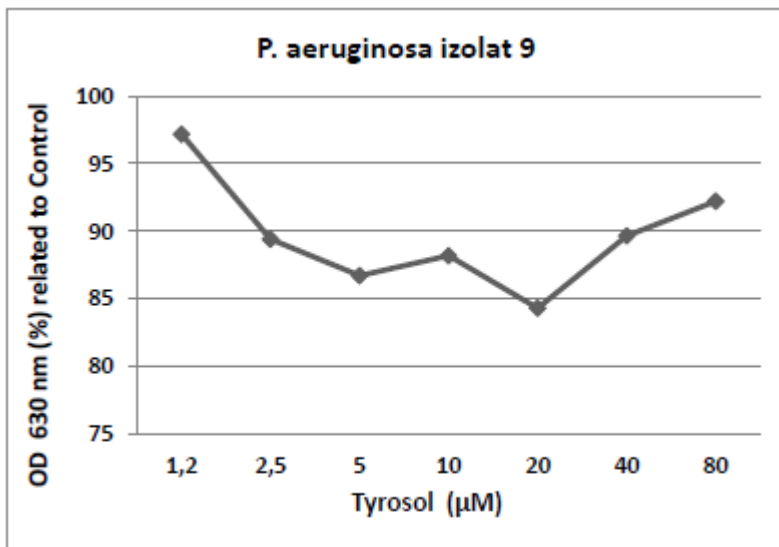
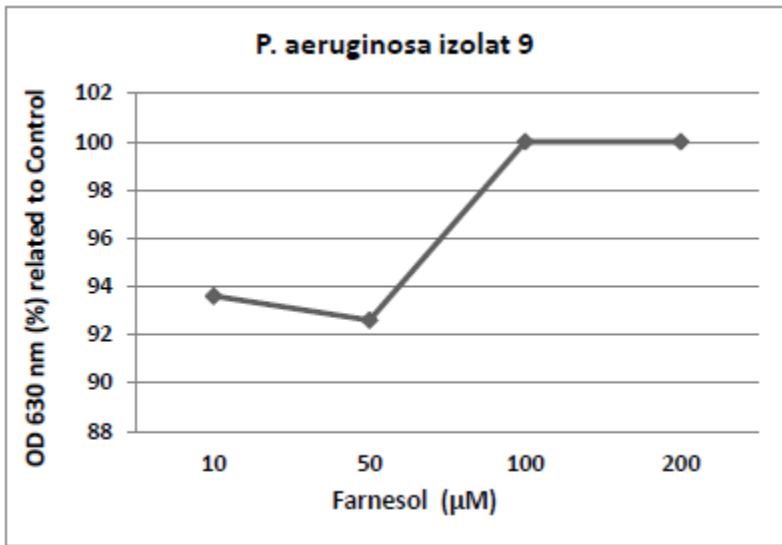
Şekil 4-7. Farnesol ve Tyrosol Plak Absorbans Deneyi, *Pseudomonas aeruginosa* izolat 7



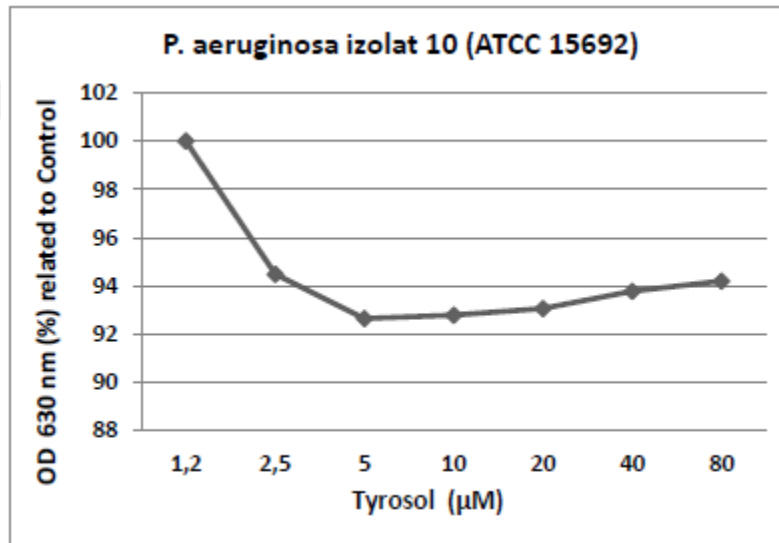
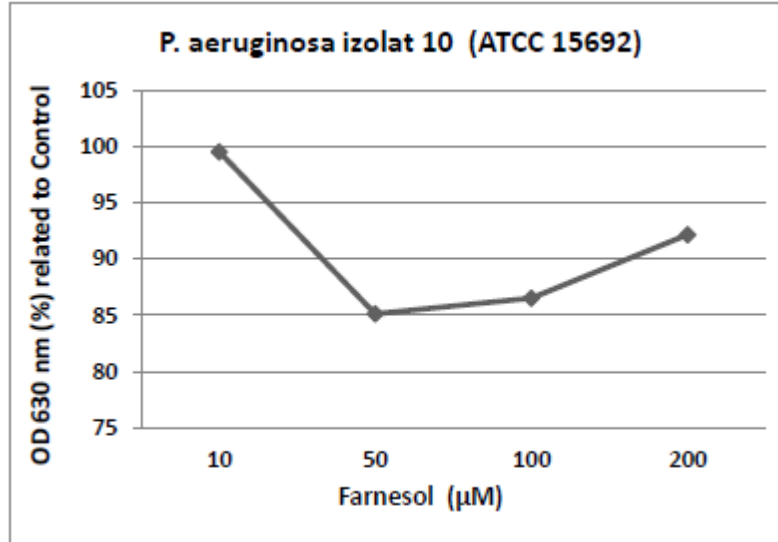
Şekil 4-8. Farnesol ve Tyrosol Plak Absorbans Deneyi, *Pseudomonas aeruginosa* izolat 8



Şekil 4-9. Farnesol ve Tyrosol Plak Absorbans Deneyi, *Pseudomonas aeruginosa* izolat 9



Şekil 4-10. Farnesol ve Tyrosol Plak Absorbans Deneyi, *Pseudomonas aeruginosa* izolat 10



4.2. Hücre Canlılık Deneyi

Birinci *P. aeruginosa* izolatında Farnesol ilave edilmeden yapılan koloni sayımı deneyinde 120×10^9 (cfu/ml) bakteri hücreleri sayıldı. Farnesol'un 100 mikromolar konsantrasyonunda 20×10^9 (cfu/ml) bakteri hücreleri sayıldı. Bu sonuçlara göre Farnesol'un 100 mikromolar konsantrasyonu en güçlü inhibitör etkiyi göstermiştir. Aynı bakteri suşunda Tyrosol olmadan yapılan koloni sayımında 60×10^9 (cfu/ml) bakteri hücreleri sayıldı. Tyrosol'un 20 mikromolar konsantrasyonunda hiç üreme olmadığı gözlemlendi (Şekil 4-11).

İkinci *P. aeruginosa* izolatında Farnesol ilave edilmeden yapılan koloni sayımı deneyinde 60×10^9 (cfu/ml) bakteri hücreleri sayıldı. Farnesol'un 100 mikromolar konsantrasyonunda hiç üreme olmadığı gözlemlendi. Bu sonuçlara göre 100 mikromolar konsantrasyonu en güçlü inhibitör etkiyi göstermiştir. Aynı bakteri suşunda Tyrosol olmadan yapılan koloni sayımında 80×10^9 (cfu/ml) bakteri hücreleri sayıldı. Tyrosol'un 80 mikromolar konsantrasyonunda hiç üreme olmadığı gözlemlendi (Şekil 4-12).

Üçüncü *P. aeruginosa* izolatında Farnesol ilave edilmeden yapılan koloni sayımı deneyinde 100×10^9 (cfu/ml) bakteri hücreleri sayıldı. Farnesol'un 200 mikromolar konsantrasyonunda hiç üreme olmadığı gözlemlendi. Bu sonuçlara göre Farnesol'un 200 mikromolar konsantrasyonu en güçlü inhibitör etkiyi göstermiştir. Aynı bakteri suşunda Tyrosol olmadan yapılan koloni sayımında 40×10^9 (cfu/ml) bakteri hücreleri sayıldı. Tyrosol'un 2.5, 5, 20 ve 80 mikromolar konsantrasyonlarında hiç üreme olmadığı gözlemlendi (Şekil 4-13).

Dördüncü *P. aeruginosa* izolatında Farnesol ilave edilmeden yapılan koloni sayımı deneyinde 40×10^9 (cfu/ml) bakteri hücreleri sayıldı. Farnesol'un 100 ve 200 mikromolar konsantrasyonlarında 40×10^9 (cfu/ml) bakteri hücreleri sayıldı. Aynı bakteri suşunda Tyrosol olmadan yapılan koloni sayımında 35×10^9 (cfu/ml) bakteri hücreleri sayıldı. Tyrosol'un 80 mikromolar konsantrasyonda 10×10^9 (cfu/ml) bakteri hücreleri sayıldı. Bu sonuçlara göre Tyrosol'un 80 mikromolar konsantrasyonu en güçlü inhibitör etkiyi göstermiştir (Şekil 4-14).

Beşinci *P. aeruginosa* izolatında Farnesol ilave edilmeden yapılan koloni sayımı deneyinde 80×10^9 (cfu/ml) bakteri hücresi sayıldı. Farnesol'un 10, 50 ve 200 mikromolar konsantrasyonlarında 60×10^9 (cfu/ml) bakteri hücresi sayıldı. Aynı bakteri suşunda Tyrosol olmadan yapılan koloni sayımında 40×10^9 (cfu/ml) bakteri hücresi sayıldı. Tyrosol'un 2.5 ve 5 mikromolar konsantrasyonlarında 20×10^9 (cfu/ml) bakteri hücresi sayıldı. Bu sonuçlara göre Tyrosol'un 2.5 ve 5 mikromolar konsantrasyonu en güçlü inhibitör etkiyi göstermiştir (Şekil 4-15).

Altıncı *P. aeruginosa* izolatında Farnesol ilave edilmeden yapılan koloni sayımı deneyinde 100×10^9 (cfu/ml) bakteri hücresi sayıldı. Farnesol'un 10 ve 50 mikromolar konsantrasyonlarında 20×10^9 (cfu/ml) bakteri hücresi sayıldı. Aynı bakteri suşunda Tyrosol olmadan yapılan koloni sayımında 140×10^9 (cfu/ml) bakteri hücresi sayıldı. Tyrosol'un 2.5 mikromolar konsantrasyonunda 40×10^9 (cfu/ml) bakteri hücresi sayıldı. Bu sonuçlara göre Tyrosol'un 2.5 mikromolar konsantrasyonu en güçlü inhibitör etkiyi göstermiştir (Şekil 4-16).

Yedinci *P. aeruginosa* izolatında Farnesol ilave edilmeden yapılan koloni sayımı deneyinde 120×10^9 (cfu/ml) bakteri hücresi sayıldı. Farnesol'un 200 mikromolar konsantrasyonunda 20×10^9 (cfu/ml) bakteri hücresi sayıldı. Bu sonuçlara göre Farnesol'un 200 mikromolar konsantrasyonu en güçlü inhibitör etkiyi göstermiştir. Aynı bakteri suşunda Tyrosol olmadan yapılan koloni sayımında 100×10^9 (cfu/ml) bakteri hücresi sayıldı. Tyrosol'un 2.5 mikromolar konsantrasyonunda 15×10^9 (cfu/ml) bakteri hücresi sayıldı. Bu sonuçlara göre Tyrosol'un 2.5 mikromolar konsantrasyonu en güçlü inhibitör etkiyi göstermiştir (Şekil 4-17).

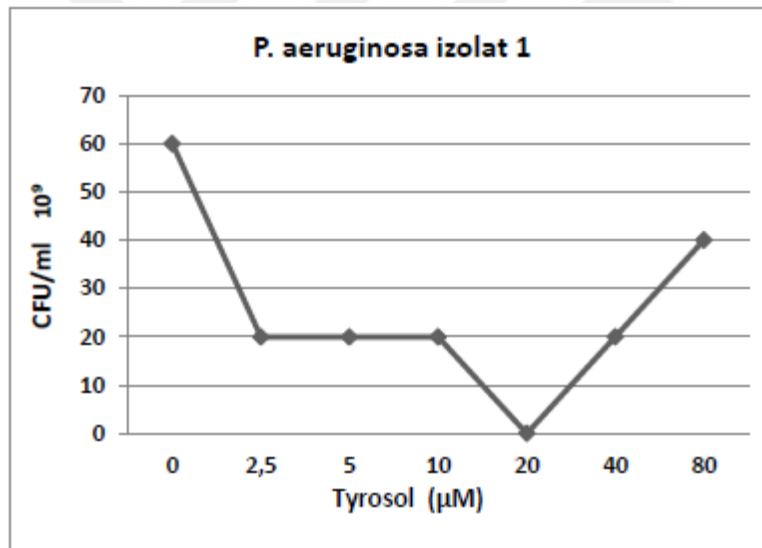
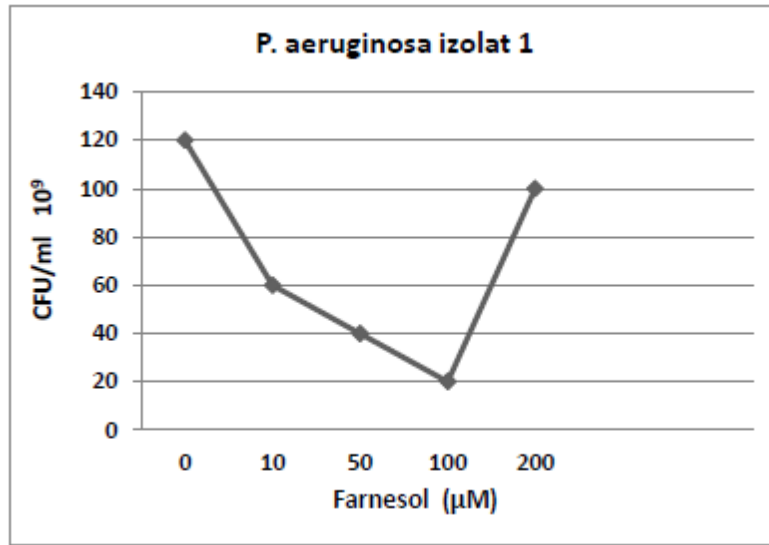
Sekizinci *P. aeruginosa* izolatında Farnesol ilave edilmeden yapılan koloni sayımı deneyinde 140×10^9 (cfu/ml) bakteri hücresi sayıldı. Farnesol'un 50, 100 ve 200 mikromolar konsantrasyonlarında hiç üreme olmadığı gözlemlendi. Aynı bakteri suşunda Tyrosol olmadan yapılan koloni sayımında 60×10^9 (cfu/ml) bakteri hücresi sayıldı. Tyrosol'un 10 ve 40 mikromolar konsantrasyonlarında hiç üreme olmadığı gözlemlendi (Şekil 4-18).

Dokuzuncu *P. aeruginosa* izolatında Farnesol ilave edilmeden yapılan koloni sayımı deneyinde 140×10^9 (cfu/ml) bakteri hücresi sayıldı. Farnesol'un 50 mikromolar konsantrasyonunda hiç üreme olmadığı gözlemlendi. Aynı bakteri suşunda Tyrosol olmadan yapılan koloni sayımında 100×10^9 (cfu/ml) bakteri hücresi sayıldı . Bu sonuçlara göre Farnesol için 50 mikromolar ve Tyrosol için 40 mikromolar konsantrasyonları en güçlü inhibitör etkiyi göstermiştir (Şekil 4-19).

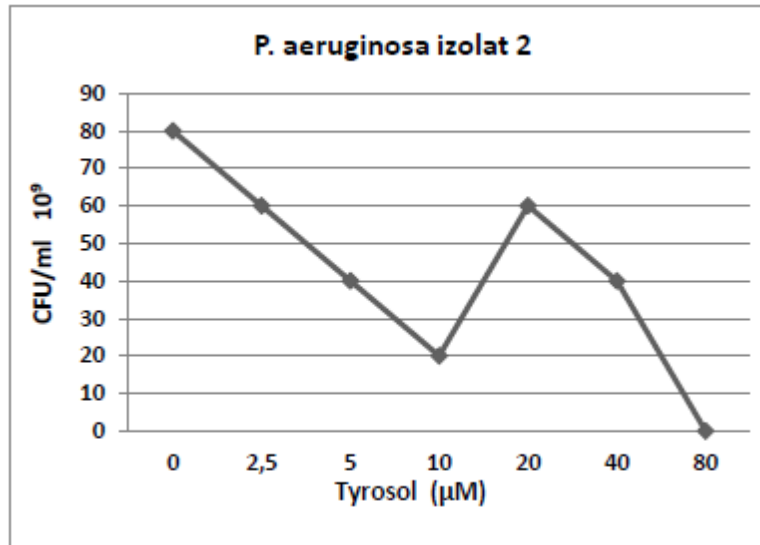
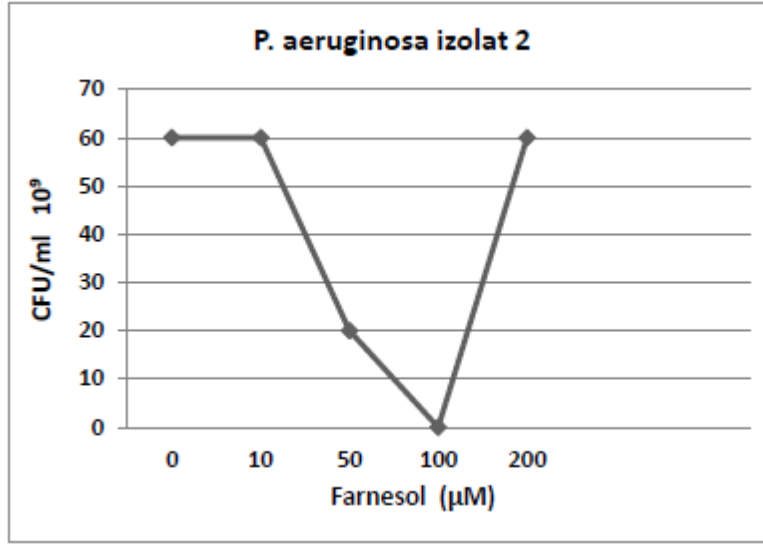
Onuncu *P. aeruginosa* izolatında Farnesol ilave edilmeden yapılan koloni sayımı deneyinde 80×10^9 (cfu/ml) bakteri hücresi sayıldı. Farnesol'un 10 mikromolar konsantrasyonunda hiç üreme olmadığı gözlemlendi. Aynı bakteri suşunda Tyrosol olmadan yapılan koloni sayımında 200×10^9 (cfu/ml) bakteri hücresi sayıldı. Tyrosol'un 2.5 mikromolar konsantrasyonunda 35×10^9 (cfu/ml) bakteri hücresi sayıldı. Bu sonuçlara göre Tyrosol'un 2.5 mikromolar konsantrasyonu en güçlü inhibitör etkiyi göstermiştir (Şekil 4-20).

Hücre canlılık deneyinden elde edilen verilere göre 10 adet (bir ATCC 15692 dahil) *P. aeruginosa* suşu üzerinde en yüksek oranda inhibisyon gösteren konsantrasyonlar sırası ile Farnesol için 200 mikromolar, Tyrosol için 20 mikromolar olmuştur.

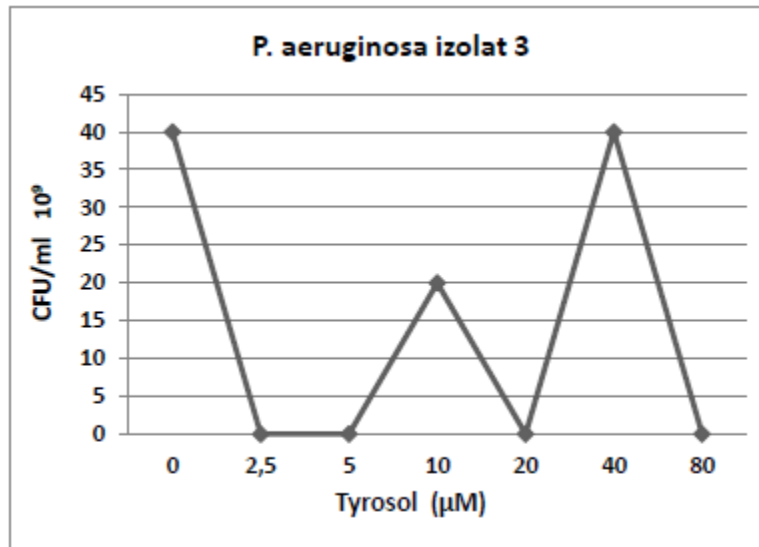
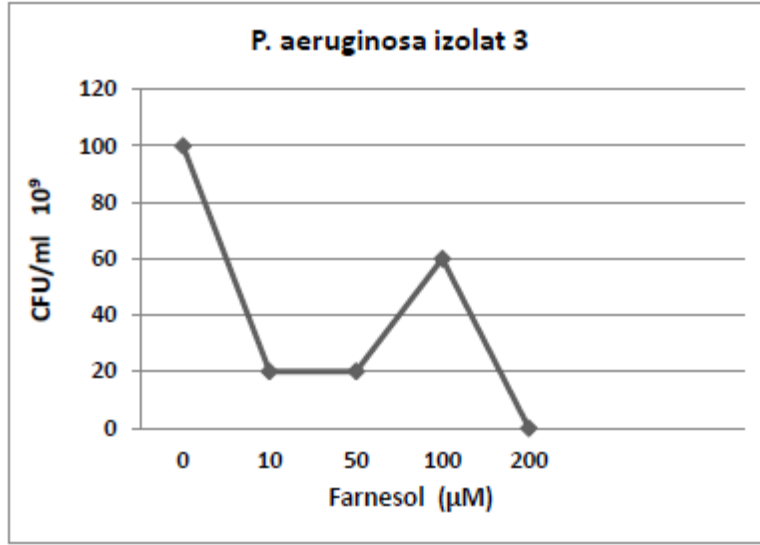
Şekil 4-11. Farnesol ve Tyrosol Hücre Canlılık Deneyi, *Pseudomonas aeruginosa* izolat 1



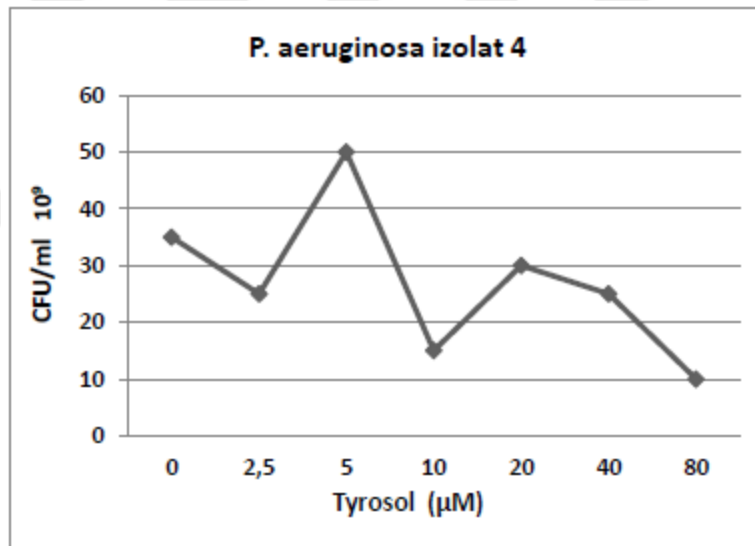
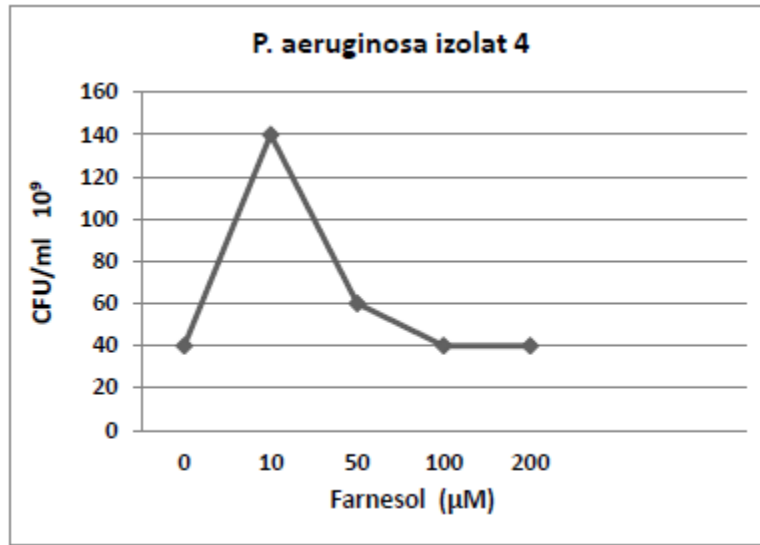
Şekil 4-12. Farnesol ve Tyrosol Hücre Canlılık Deneyi, *Pseudomonas aeruginosa* izolat 2



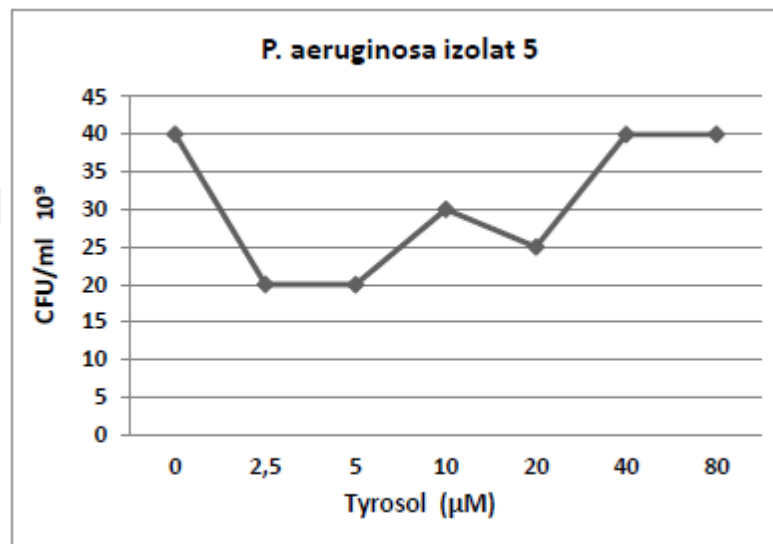
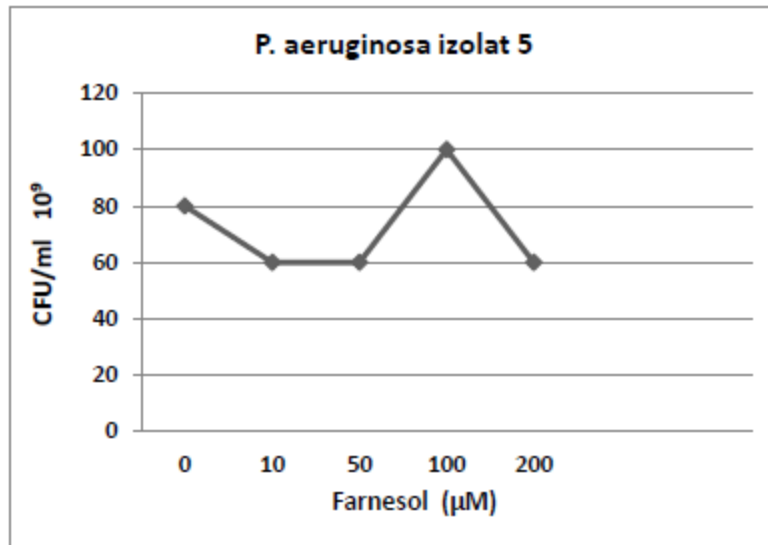
Şekil 4-13. Farnesol ve Tyrosol Hücre Canlılık Deneyi, *Pseudomonas aeruginosa* izolat 3



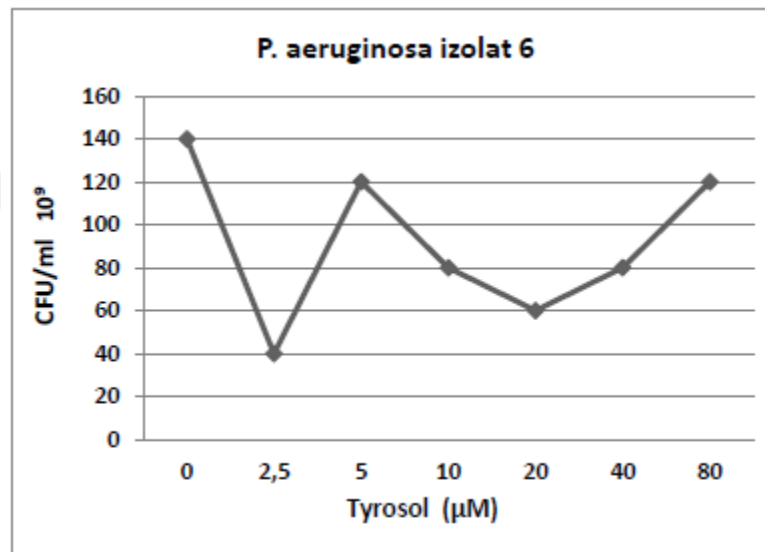
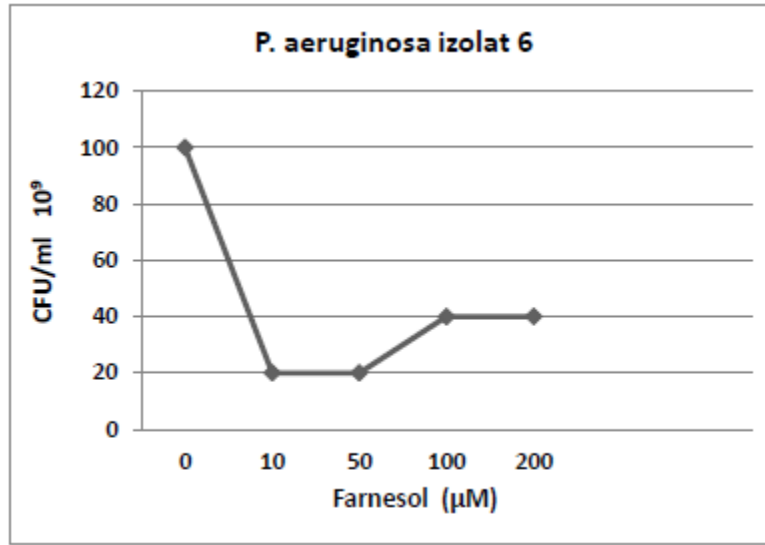
Şekil 4-14. Farnesol ve Tyrosol Hücre Canlılık Deneyi, *Pseudomonas aeruginosa* izolat 4



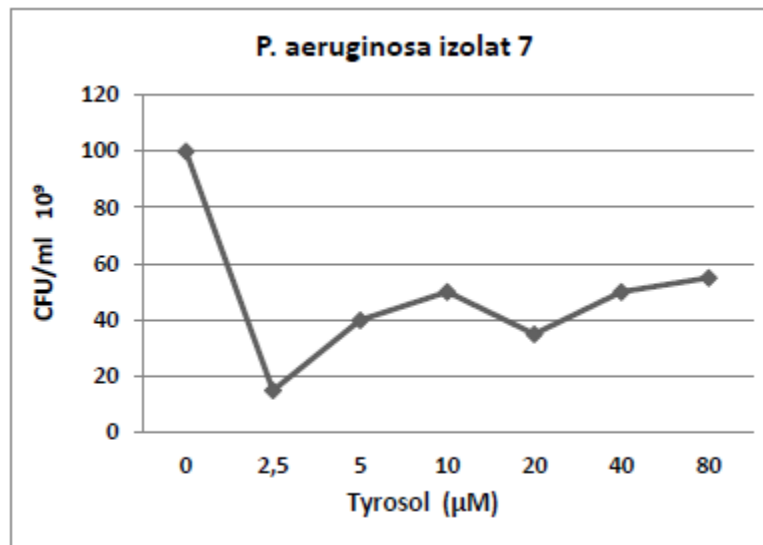
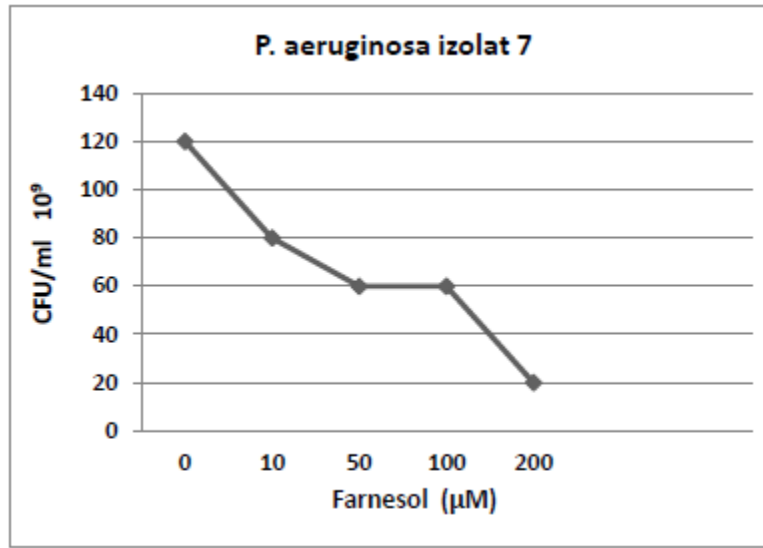
Şekil 4-15. Farnesol ve Tyrosol Hücre Canlılık Deneyi, *Pseudomonas aeruginosa* izolat 5



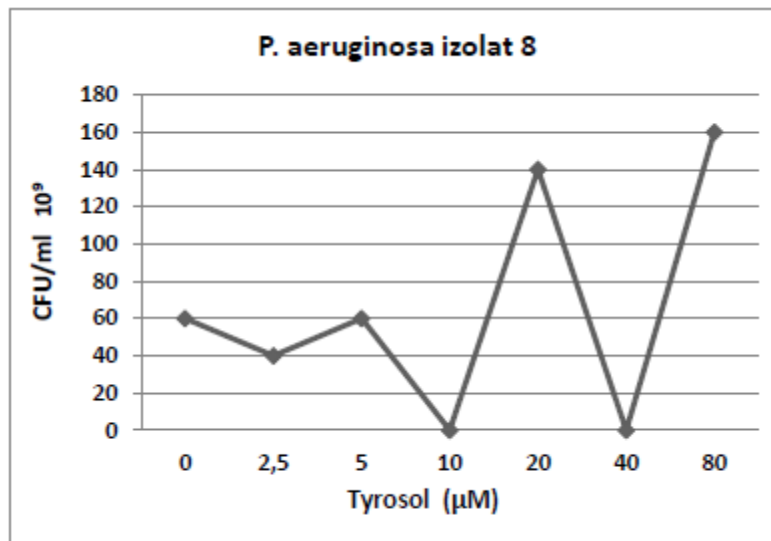
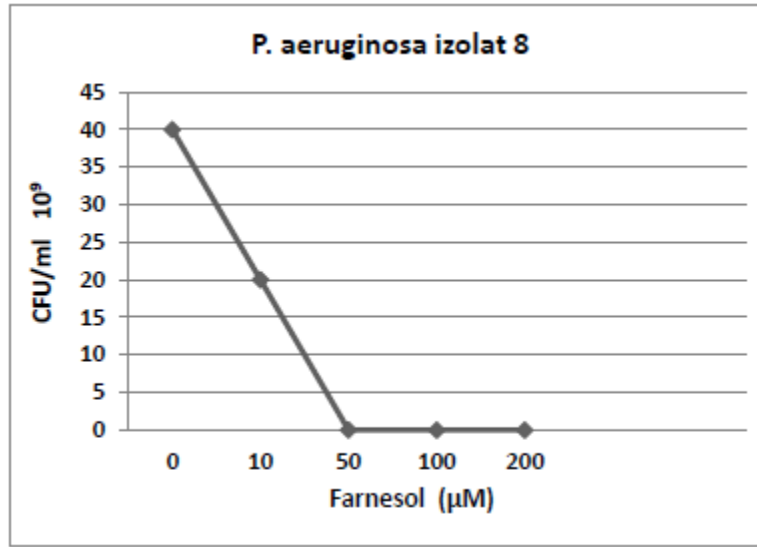
Şekil 4-16. Farnesol ve Tyrosol Hücre Canlılık Deneyi, *Pseudomonas aeruginosa* izolat 6



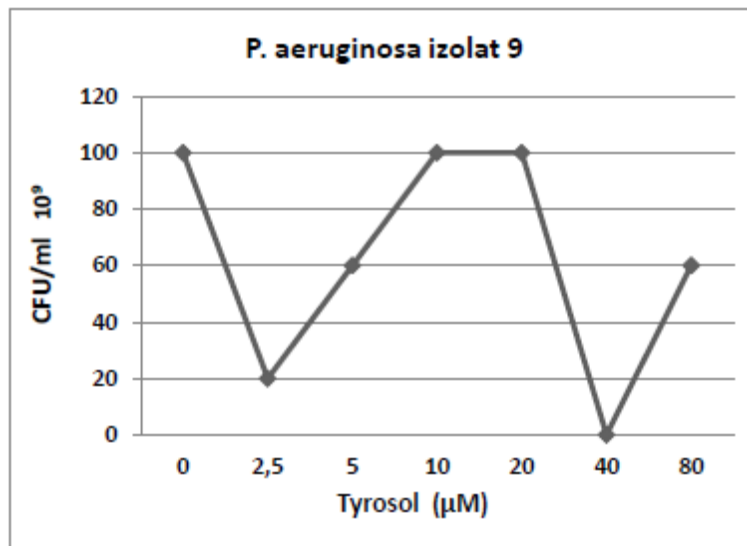
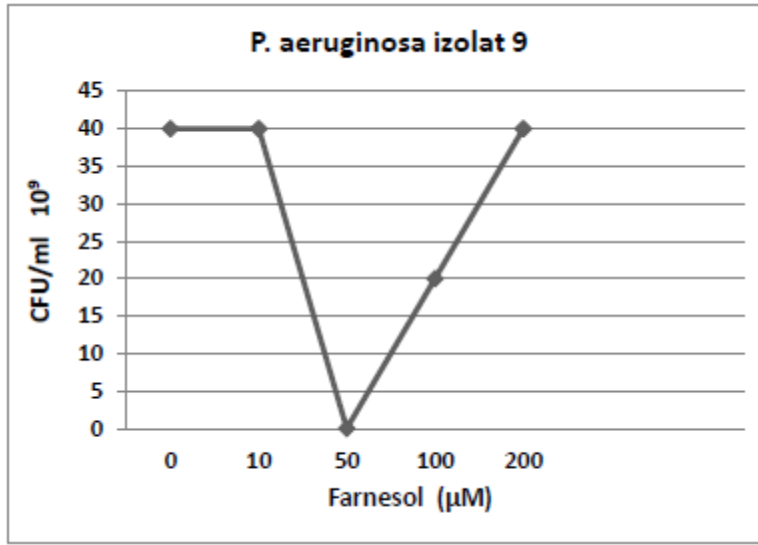
Şekil 4-17. Farnesol ve Tyrosol Hücre Canlılık Deneyi, *Pseudomonas aeruginosa* izolat 7



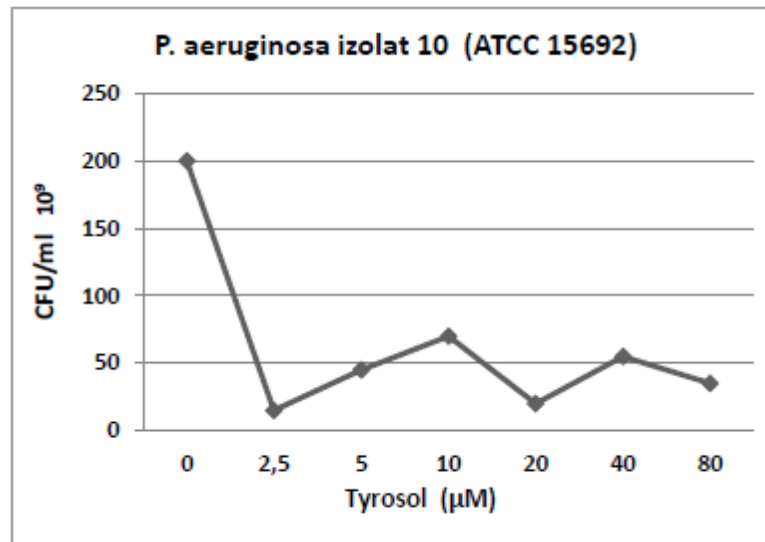
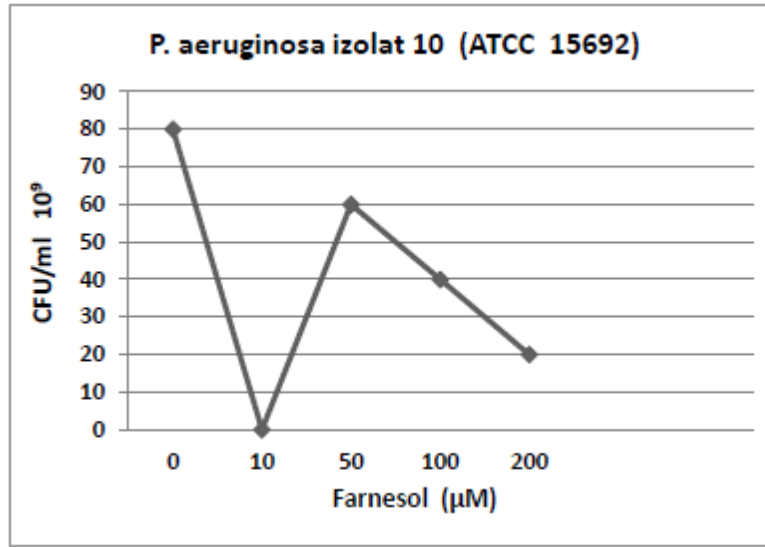
Şekil 4-18. Farnesol ve Tyrosol Hücre Canlılık Deneyi, *Pseudomonas aeruginosa* izolat 8



Şekil 4-19. Farnesol ve Tyrosol Hücre Canlılık Deneyi, *Pseudomonas aeruginosa* izolat 9



Şekil 4-20. Farnesol ve Tyrosol Hücre Canlılık Deneyi, *Pseudomonas aeruginosa* izolat 10



5. TARTIŞMA

Quorum Sensing iletişim sistemi günümüzde araştırmaların çoğunda yer almıştır. Bu sistem hem bakterilerde hem de mantarlarda etkilidir. Bakterilerde *Pseudomonas aeruginosa* ve mantarlarda *Candida albicans* Quorum Sensing sistemini patojenitelerini gerçekleştirmek için kullanmaktadırlar. Eř zamanlı bakteriyel ve mantar enfeksiyonlarında her mikroorganizmanın Quorum Sensing mediyatörleri diğeri de etkilemektedir. oğ u zaman miks bakteriyel ve mantar enfeksiyonları, hem tanımlama hem de tedavide daha önem kazanmış olup, aynı anda iki farklı mikroorganizma tarafından oluşan enfeksiyonda hangisinin ön planda yer aldığı kararını daha dikkatli olmayı gerektirmektedir (1, 2, 3, 4). Son yıllarda, iki önemli fırsatçı patojen olan *Pseudomonas aeruginosa* ve *Candida albicans* arasında, bir tür sinyal aracılıklı etkileşim ile her iki mikroorganizmanın virülans özelliklerinin etkilendiğı gösterilmiştir (1, 2, 3, 47, 57).

Hogan ve ark. 2002'de ABD'de yapmış oldukları çalışmada bakteriyel ve mantar etkileşimini hem çevresel, medikal olarak ve hem de ekonomik olarak önemini vurgulamışlardır. Bu alışmada *P. aeruginosa* dens biyofilm oluşturarak *C. albicans*'ın hif hücrelerini öldürür iken maya formu üzerine etkisiz bulunmuştur (2). Prokaryotlar (*P. aeruginosa*) ve ökaryotlar (*C. albicans*) arasında gerçekleşen etkileşim yaygındır. Bu etkileşimi gerçekleştirmek için *P. aeruginosa*'nın virülans faktörleri *C. albicans*'ın virülansını etkilemiştir (1, 57).

Gordon McAlester ve ark. İrlanda'da 2008 yılında yaptıkları bir çalışmada kistik fibrozisli hastaların akciğ erlerinde *P. aeruginosa* ve *C. albicans*'ın eř zamanlı olarak bulunduğunu göstermişlerdir. Bazı *P. aeruginosa* suşları *C. albicans*'ın morfolojisini etkilerken diğ erlerinin bu etkiyi yapmadığını göstermişlerdir. Bu etkiden sorumlu maddenin bir Quorum Sensing mediyatörü olan 3-oxo-HSL olduğı gösterilmiştir. Aynı alışmada *Candida* ve *Pseudomonas* arasındaki etkileşim iki yönlü olduğı ve *Candida albicans*'ın ürettiğı Farnesol molekülünün *P. aeruginosa*'nın yayılma hareketini azalttığını da göstermişlerdir (74).

Carla Cugini ve arkadaşları 2007 yılında ABD de yaptıkları bir çalışmada Farnesol'un bir sesquiterpene alkol olduğunu ve *C. albicans* tarafından üretildiğini göstermişlerdir. Farnesol'u *P. aeruginosa* kültürlerine ekledikten sonra *Pseudomonas aeruginosa* quinolon signal (PQS) yapımı düşüş göstermiştir ve bu azalmadan dolayı quinolon signal sisteminin kontrolünde olan virülans faktörü; piyosiyenin daha az yapılmıştır. 15 dakika Farnesol ilavesinden sonra pqsA geninin ifade düzeyinde azalmalar gözlenmiştir. Kültürde *C. albicans* ile birlikte üreyen *P. aeruginosa*'nın daha düşük miktarlarda piyosiyenin ürettiği ve bu ise *C. albicans*'ın ürettiği olduğu Farnesol miktarının *P. aeruginosa*'nın PQS sistemini etkileyecek kadar yeterli olduğunu düşündürmüştür (48).

Carla Cugini ve arkadaşları ABD'de 2010 yılında yaptıkları bir çalışmada *C. albicans*'ın *P. aeruginosa*'daki fenazın toksininin üretimini stimüle ettiğini göstermişlerdir. *Pseudomonas*'taki Quorum Sensing sisteminin ana düzenleyicisinden yoksun olan *P. aeruginosa*'lar (lasR mutantlarının) *C. albicans* ile beraber kültürü yapıldığında quinolon Quorum Sensing ile kontrol edilen fenazın moleküllerinin üretebilme yeteneğini yeniden kazandığını bildirmişlerdir (49).

Hao Chen ve ark. 2004 yılında ABD'de yaptıkları bir çalışmada Tyrosol'un *C. albicans*'ın Quorum Sensing mediyatör moleküllerinden biri olduğunu göstermişlerdir. Buna ilave olarak besiyerinde Tyrosol'un çimlenme borusu oluşumunu Farnesol'un aksine uyardığını göstermişlerdir. Sonuçta Tyrosol ve Farnesol'un *C. albicans*'ın üremesi ve morfolojisi üzerine etkili maddeler olduklarını göstermişlerdir (43).

Mohammed A.S. Alem ve ark. 2006 yılında İngiltere'de yaptıkları çalışmalarında *C. albicans*'ta biyofilm oluşumu ile Tyrosol'un miktarı arasında ilişki olduğunu göstermişlerdir. *C. albicans* biyofilm oluşumunun ekzojen Farnesol ilavesinden 48 saat sonra %33 oranında azaldığını göstermişlerdir. Aynı süre sonunda ekzojen Tyrosol ilavesinden sonra herhangi bir etki gözlemlenmemiştir. Bu çalışmada elektron mikroskop ile yapılan incelemede Tyrosol'un hif yapımını uyardığı tespit edilmiştir (44).

M.A. Jabra-Rizk ve arkadaşları 2006 yılında ABD'de Farnesol'un *Staphylococcus aureus*'un biyofilm oluşturabilme üzerindeki etkisini araştırmışlardır. *S. aureus* konak dokusunda ve penetran tıbbi aletlerde biyofilm oluşturan ve kalıcı olup hastalık yapan nozokomiyal kan enfeksiyonlarının önde gelen etkenlerindedir. Bu araştırmada *S. aureus*'un hem metisilin duyarlı hem de dirençli olan suşlarından elde edilen süspansiyonlar kullanılarak Farnesol'un 30, 100, 125, 150, 200, 250 ve 300 mikromolar konsantrasyonları denenmiştir. Farnesol'un 150 mikromolar konsantrasyonu hem metisilin duyarlı hem de metisilin dirençli olan *S. aureus*'ların üremesini inhibe etmiştir. Ayrıca bu çalışmada Farnesol'un 100 mikromolar konsantrasyonu ve gentamisin MİK'nunun 2.5 katı, *S. aureus*' bakteri popülasyonunu iki logaritmik ünite oranında düşürebilmiş olması aralarında sinerjistik bir etki olduğunu göstermiştir (67).

Fernanda I.A. Gomes ve arkadaşları 2009 yılında Portekiz'de yaptıkları bir çalışmada Farnesol'un *Staphylococcus epidermidis*'in planktonik ve biyofilm hücreleri üzerindeki etkisini araştırmışlardır. *S. epidermidis* önemli bir koagülaz negatif stafilokok olarak nozokomiyal kan dolaşımı enfeksiyonlarından sorumludur ve tıbbi aletlerde (kateter) biyofilm oluşturmaktadır. Bu araştırmada Farnesol'un 100 mikromolar konsantrasyonu *S. epidermidis*'in planktonik hücrelerini inhibe etmiştir, ancak biyofilm hücrelerinde herhangi bir etkisi olmamıştır. Bu çalışmada Farnesol *S. epidermidis*'e karşı antibakteriyel aktivitesi görülmüştür (68).

Lorena S. Derengowski ve arkadaşları 2009 yılında Brezilya'da yaptıkları çalışmalarında Farnesol'un etkisini dimorfik mantar olan *Paracoccidioides brasiliensis* üzerinde araştırmışlardır. Farnesol'un yedi farklı konsantrasyonunu (5, 10, 25, 50, 100, 150 ve 300 mikromolar) 96 kuyucuklu plak kullanarak, 630 nm optik dansitede *Paracoccidioides brasiliensis* absorbans değerlerini incelemişler. Bu konsantrasyonlardan 25, 50, 100, 150 ve 300 mikromolar *Paracoccidioides brasiliensis* üremesini güçlü bir şekilde inhibe ettiğini göstermişlerdir. Ayrıca *Paracoccidioides brasiliensis*'in hif oluşumu Farnesol'un 15 mikromolar konsantrasyonunda %60 oranında inhibe olduğunu göstermişlerdir (79).

Shaymaa Hassan Abdel-Rhman ve ark. 2015 yılında Mısır'da yaptıkları çalışmada Farnesol'un ve Tyrosol'un etkisini 8 adet hasta numunelerinden izole edilen *P. aeruginosa* izolatları üzerinde araştırmışlardır. Bu çalışmada Farnesol için (10, 50, 100, 200 mikromolar) ve Tyrosol için (1.2, 2.5, 5, 10, 20, 40, 80 mikromolar) konsantrasyonları kullanılmıştır. Bu çalışmada plak absorbans ve hücre canlılık deneyi iki farklı metot olarak incelenmiştir. Farnesol'un 200 mikromolar konsantrasyonu %30 ve Tyrosol'un 10 mikromolar konsantrasyonu %50 oranında *P. aeruginosa* üremesini 16 saat inkübasyondan sonra inhibe etmiştir. Çalışma sonuçlarına göre Tyrosol'un 1.2 mikromolar ve Farnesol'un 50 mikromolar konsantrasyonu herhangi bir etki göstermemiştir. Farnesol ve Tyrosol'un antibakteriyel etkili olduğu gözlemlenmiştir (72).

Çalışmamızda Türkiye'de ilk kez yapılarak hem plak absorbans hem de hücre canlılık deneyi kullanıldı. Farnesol için dört farklı konsantrasyon (10, 50, 100, 200 mikromolar) ve Tyrosol için yedi farklı konsantrasyon (1.2, 2.5, 5, 10, 20, 40, 80 mikromolar) kullanıldı. Elde edilen verilere göre Farnesol'un 200 mikromolar konsantrasyonu ve Tyrosol'un 20 mikromolar konsantrasyonu 16 saatlik inkübasyondan sonra *P. aeruginosa* üremesini sırası ile %24.62 ve %15.69 oranında inhibe ettiği gözlemlendi. Çalışmamızda Farnesol'un 10 mikromolar konsantrasyonu ve Tyrosol'un 2.5 mikromolar konsantrasyonu herhangi bir etki göstermemiştir.

Çalışmamızda diğer araştırmalardan farklı olarak *P. aeruginosa* ATCC 15692 kullanılmıştır; Farnesol ve Tyrosol'un etkileri hem hasta örneklerinden elde edilmiş olan *P. aeruginosa* suşlarında hem de *P. aeruginosa* ATCC 15692 gözlemlenmiştir ve standart suş kullanımı sayesinde sonuçlar daha itina edici olmuştur. Ayrıca alkol mahiyetinde olan Farnesol ve Tyrosol'un farklı konsantrasyonları çalışmada istenen miktarlarda hazırlanması araştırmamızın en önemli şartlarının arasında yer almaktadır.

Tyrosol ve Farnesol'un *P. aeruginosa* izolatları üzerine etkinlikleri izolatlar arasında farklılıklar göstermektedir. Bu bakterilerin Quorum Sensing moleküllerinin üretim kinetikleri ile ilgili olabilir. Çalışmamızda bu etkinlik konusunda ayrıntılı inceleme yapılmamıştır.

Ayrıca bu moleküllerin izolatlar üzerine etkisi dozlarla doğrusal bir ilişki göstermemiştir. Bu özellik suşların üreme ve besiyerlerinde ürettikleri yapıların bir çok farklı özellik ile etkileşim içinde olduğunu, bu etkileşim sonucu farklı izolatlarda ve farklı dozlarda olan Farnesol ve Tyrosol'un farklı etkinliklerinin gözlenebileceğini düşündürmüştür.

Sonuç olarak Tyrosol ve Farnesol *P. aeruginosa* izolatları'nın üreme özelliklerine etki eden ürünlerdir. Bu ürünlerin klinik kullanımda yer alabilmesi için etki mekanizmaları konusunda daha fazla bilgi edinmeye ihtiyaç duyulmaktadır.



KAYNAKLAR

1. Hogan D.A., Vik A., Kolter R., (2004). A *Pseudomonas aeruginosa* quorum-sensing molecule influences *Candida albicans* morphology. *Mol Microbiol*; 54(5): 1212-23.
2. Hogan D.A., Kolter R., (2002). *Pseudomonas-Candida* interactions: an ecological role for virulence factors. *Science*; 296(5576): 2229-32.
3. Hogan D.A., (2006). Talking to themselves: autoregulation and quorum sensing in fungi. *Eukaryot Cell*; 5(4):613-9.
4. Brand A., Barnes J.D., Mackenzie K.S., Odds F.C., Gow N.A.R., (2008). Cell wall glycans and soluble factors determine the interactions between the hyphae of *Candida albicans* and *Pseudomonas aeruginosa*. *FEMS Microbiol. Lett.* 287,48–55.
5. Sprague G.F., Stephen C., Winans S.C., (2006). Eukaryotes learn how to count: quorum sensing by yeast. *Genes Dev.* 20: 1045-1049.
6. Ayhan K. (2000). Gıdalarda Bulunan Mikroorganizmalar Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü yayını 37-81. Sim Matbaacılık Ltd. Ankara.
7. Tortora J.G., Funke R.B., Case L.C., (1992). *Microbiology* 169, 277, 523 s. The Benjamin/Cummings Publishing Company Inc., California.
8. Pelczar J.M., Reid D.R., (1958). *Microbiology* 125 s. Kogakusha Company Ltd. Tokyo.
9. Merck Gıda Mikrobiyolojisi. (2004). Web sitesi. www.mikrobiyoloji.org. Erişim tarihi: 12.11.2004.

10. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC., (2017). Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. Seventh edition Philadelphia: Lippincott.
11. Aydın F., (2001). Çeşitli klinik örneklerden izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının değişik yöntemlerle çeşitli antimikrobiyallere duyarlılıklarının araştırılması. A.Ü. Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı Uzmanlık Tezi, Ankara.
12. Davis D.B., Dulbecco R., Eisen H., Ginsberg H.S., Wood W.B., (1968). Microbiology. 756-757., 774 s. Hober Medical Division, New York.
13. Frobisher M., (1968). Fundamentals of Microbiology. 457s. W.B. Saunders Company, USA.
14. Ilgaz A., (1999). Özel Mikrobiyoloji Medison Yayınları 91-96. Ankara
15. Wilson S.G., Miles A.A., (1964). Principles of Bacteriology and Immunity. 636-643.Edward Arnold (Publishers) Ltd. London.
16. Patrick R. Murray, Ken S. Rosenthal, Michael A. Pfaller, (2015). Medical Microbiology 8th Edition.
17. Rinaldi G.M. (1993). Biology and pathogenicity of *Candida* species. In: Bodey PG, editor. Candidiasis, pathogenesis, diagnosis and treatment. New York: Raven Pres, 1993: 1.
18. Edwards JE. *Candida* species. In: Mandell GL, Benett JE, Dolin R, editors. (2000). Principles and Practise of Infectious Diseases. 5 th ed. Pennsylvania: Churchill Livingstone, 2656-2674.
19. Pfaller MA., Diekema DJ., (2007). Epidemiology of invasive candidiasis: a persistent public health problem. Clin Microbiol Rev;20: 133-163.

20. Richardson M.D., Warnock D.W., (1997). Fungal infection Diagnosis and Management. 2nd ed. England: Blackwell Science, 78.
21. Larone D.H., (2002). Yeast and yeast like organisms. Medically Important Fungi: A Guide to Identification. 4th ed. Washington DC: American Society for Microbiology press, 109-143.
22. Mers W.G., Roberts G.D., (2003). Algorithms for detection and identification of fungi. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Jorgensen JH, Tenover FC, Tenover FC, editors. Manual of Clinical Microbiology. 8 th ed. Washington DC: American Society for Microbiology press, 1668-1685.
23. Willinger B., Hillwoth C., Selitsch B., Manafi M., (2001). Performance of Candida ID, a new chromogenic medium for presumptive identification of Candida species, in comparison to CHROM agar Candida. J Clin Microbiol;39: 3793-3795.
24. Calderone RA., Fonzi WA., (2001). Virulence factors of Candida albicans. Trends Microbiol;9: 327-335.
25. Kerr J.R., Taylor G.W., Rutman A., Hoiby N., Cole PJ., Wilson R., (1999). *Pseudomonas aeruginosa* pyocyanin and 1-hydroxy-phenazine inhibit fungal growth. J Clin Pathol; 52(5): 385-7.
26. Swift S., Throup J.P., Williams P., Salmond G.P., Stewart G.S., (1994). Quorum sensing: a population-density component in the determination of bacterial phenotype, Trends Biochem Sci, 21, 214-219.
27. Passador L., Iglewski B.H., (1995). Quorum sensing and virulence gene regulation in *Pseudomonas aeruginosa*. In: Virulence Mechanisms of Bacterial Pathogens, 2nd edn (J.A. Roth, C.A. Bolin, K.A. Brodgen, F.C. Minion and M.J. Wannemuehler, eds). pp. 65-78. ASM Pres, Washington, DC.

28. Gambello M.J., Iglewski B.H., (1991). Cloning and characterization of the *Pseudomonas aeruginosa* lasR gene, a transcriptional activator of elastase expression. *J Bacteriol*;173:3000- 3009.
29. Calderone RA., (2002). Taxonomy and biology of *Candida*. In: Calderone RA, editor. *Candida and Candidiasis*. 1 th ed. Washington DC: American Society for Microbiology press,15-27.
30. Molero G., Diez-Orejas R., Navarro-Garcia F., Monteoliva L., Gil C., Sanchez-Perez M., Nombela C., (1998). *Candida albicans*: genetics, dimorphism and pathogenicity, *Internatl. Microbiol*, Vol. 1, 95-106.
31. Matthews R., Burnie J., (1998). The epidemiology and pathogenesis of candidiasis: applications in prevention and treatment, *Bull Ins. Pasteur*, Vol.96, 249-256.
32. Hube B., Naglik J., (2001). *Candida albicans* proteinases: resolving the mystery of a gene family, *Microbiology*, 147,1997-2005.
33. Dhillon N.K., Sharma S., Khuller G.K., (2003). Signaling Through Protein Kinases and Transcriptional Regulators in *Candida albicans*, *Critical Reviews in Microbiology*, 29, 259-275.
34. Kumomato C.A., Vinces M.D., (2005). Contributions of hyphae and hypha-coregulated genes to *Candida albicans* virulence, *Cellular Microbiology*, 7, 1546-1554.
35. Nickerson K.W., Atkin A.L., Hornby J.M., (2006). Quorum Sensing in Dimorphic Fungi: Farnesol and Beyond, *Applied and Environmental Microbiology*,72, 3805-3813.

36. Hornby J.M., Jensen E.C., Lisec A.D., Tasto J.J., Jahnke B., Shoemaker R., Dussault P., Nickerson K.W., (2001). Quorum Sensing in the Dimorphic Fungus *Candida albicans* Is Mediated by Farnesol, *Applied and Environmental Microbiology*, 67, 2982- 2992.
37. Hazen K.C., Cutler J.E., (1979). Autoregulation of germ tube formation by *Candida albicans*. *Infect Immun* ; 24:661-666.
38. Lingappa B.T., Prasad M., Lingappa Y., Hunt D.F., Biemann K., (1969). Phenethyl alcohol and tryptophol: autoantibiotics produced by the fungus *Candida albicans*. *Science*; 163: 192–194.
39. Weber K., Schulz B., Ruhnke M., (2010). The quorum sensing molecule E-E farnesol; its variable secretion and its impact on the growth and metabolism of *Candida* species. *Yeast*. 27:727-739.
40. Oh K.B., Miyazawa H., Naito T., Matsuoka H., (2001). Purification and characterization of an autoregulatory substance capable of regulating the morphological transition in *Candida albicans*. *Proc Natl Acad Sci (USA)*; 98:4664–4668.
41. Mosel D.D., Dumitru R., Hornby J.M., Atkin A.L., Nickerson K.W., (2005). Farnesol concentrations required to block germ tube formation in *Candida albicans* in the presence and absence of serum. *Appl Environ Microbiol*; 71:4938–4940.
42. Hornby J.M., Kebaara B.W., Nickerson K.W., (2003). Farnesol biosynthesis in *Candida albicans*: cellular response to sterol inhibition by zaragozic acid B. *Antimicrob Agents Chemother*; 47: 2366–2369.
43. Chen H., Fujita M., Feng Q., Clardy J., Fink G.R., (2004). Tyrosol is a quorum sensing molecule in *Candida albicans*. *Proc Natl Acad Sci (USA)*; 101: 5048–5052.

44. Mohammed A.S. Alem, Mohammed D.Y. Oteef, Lisa J. Douglas, (2006). Production of Tyrosol by *Candida albicans* Biofilms and Its Role in Quorum Sensing and Biofilm Development. *Eukaryotic cell*, 1535-9778.
45. Chandra J., Kuhn D.M., Mukherjee P.K., Hoyer L.L., McCormick T., Ghannoum M.A., (2001). Biofilm Formation by the Fungal Pathogen *Candida albicans*: Development, Architecture, and Drug Resistance, *Journal of Bacteriology*, 183, 5385-5394.
46. Ramage G., Saville S.P., Wickes B.L., Lopez-Ribot., (2002). Inhibition of *Candida albicans* Biofilm Formation by Farnesol, a Quorum-Sensing Molecule, *Applied and Environmental Microbiology*, 68, 5459-5463.
47. Ruan Fouri, Ruan Ells, Chantel W. Swart, Olihile M. Sebolai, Jacobus Albertyn, Carolina H. Pohl, (2016). *Candida albicans* and *Pseudomonas aeruginosa* Interactions with Focus on the Role of Eicosanoides, *Frontiers in Physiology*, 7:64. doi: 10.3389/fphys.2016.00064.
48. Cugini C., Calfee M.W., Farrow J.M. III, Morales D.K., Pesci E.C., Hogan D.A., (2007). Farnesol, a common sesquiterpene, inhibits PQS production in *Pseudomonas aeruginosa*. *Mol.Microbiol.* 65,896–906.
49. Cugini C., Morales D.K., Hogan D.A., (2010). *Candida albicans*-produced farnesol stimulates *Pseudomonas* quinolone signal production in LasR-defective *Pseudomonas aeruginosa* strains. *Microbiology* 156,3096–3107.
50. deKievit T.R., Iglewski B.H., (2000). Bacterial quorum sensing in pathogenic relationships. *Infect.Immun.* 68,4839–4849.
51. Passador L., Cook J.M., Gambello M.J., Rust L., Iglewski B.H., (1993). Expression of *Pseudomonas aeruginosa* virulence genes requires cell-to-cell communication. *Science* 260,1127–1130.

52. Pearson J.P., Passador L., Iglewski B.H., Greenberg E.P., (1995). A second *N*-acyl homoserine lactone signal produced by *Pseudomonas aeruginosa*. Proc. Natl.Acad.Sci.U.S.A. 92,1490–1494.
53. Ovchinnikova E.S., Krom B.P., vanderMei H.C., Busscher H.J., (2012). Force microscopic and thermodynamic analysis of the adhesion between *Pseudomonas aeruginosa* and *Candida albicans*. SoftMatter 8,6454–6461.
54. Morales D.K., Grahl N., Okegbe C., Dietrich L.E.P., Jacobs N.J., Hogan D.A., (2013). Control of *Candida albicans* metabolism and biofilm formation by *Pseudomonas aeruginosa* phenazines. MBio 4:e00526-12.
55. Morales D.K., Hogan D.A., (2010). *Candida albicans* interactions with bacteria in the context of human health and disease. PLoSPathog. 6:e1000886.
56. Kerr J.R., (1994). Suppression of fungal growth exhibited by *Pseudomonas aeruginosa*. J.Clin.Microbiol. 32,525–527.
57. Bandara H.M., Yau J.Y., Watt R.M., Jin L.J., Samaranyake L.P., (2010). *Pseudomonas aeruginosa* inhibits in-vitro *Candida* biofilm development. BMC Microbiol; 10: 125.
58. Langford M.L., Hargarten J.C., Patefield K.D., Marta E., Blankenship J.R., Fanning S., Nickerson K.W., Atkin A.L., (2013). *Candida albicans* Czf1 and Efg1 coordinate the response to farnesol during quorum sensing, white-opaque thermal dimorphism, and cell death. Eukaryot cell 12(9): 1281-1292.
59. Pesci E.C., Milbank J.B.J., Pearson J.P., McKnight S., Kende A.S., Greenberg E.P. et al. (1999). Quinolone signaling in the cell-to-cell communication system of *Pseudomonas aeruginosa*. Proc.Natl.Acad.Sci. U.S.A. 96,11229–11234.

60. Haussler S., Becker T., (2008). The *Pseudomonas* Quinolone Signal (PQS) balances life and death in *Pseudomonas aeruginosa* populations. *PLoSPathog.* 4:e1000166.
61. Köhler T., Guanella R., Carlet J., vanDelden C., (2010). Quorum sensing dependent virulence during *Pseudomonas aeruginosa* colonisation and pneumonia in mechanically ventilated patients. *Thorax* 65,703–710.
62. Westwater C., Balish E., Schofield D.A., (2005). *Candida albicans*-conditioned medium protects yeast cells from oxidative stress: a possible link between quorum sensing and oxidative stress resistance. *Eukaryot.Cell* 4, 1654–1661.
63. De Sordi L., Mühlischlegel F.A., (2009). Quorum sensing and fungal-bacterial interactions in *Candida albicans*: a communicative network regulating microbial coexistence and virulence. *FEMS Yeast Res.* 9,990–999.
64. Joo J.H., Jetten A.M., (2010). Molecular mechanisms involved in farnesol-induced apoptosis. *Cancer lett* 287(2): 123-135.
65. Shirtliff M.E., Krom B.P., Meijering R.A., Peters B.M., Zhu J., Scheper M.A., Harris M.L., Jabra-Rizk M.A., (2009). Farnesol-induced apoptosis in *Candida albicans*. *Antimicrob Agents Chemother* 53(6): 2392-2401.
66. Martins M., Henriques M., Azeredo J., Rocha S.M., Coimbra M.A., Oliveira R., (2007). Morphogenesis control in *Candida albicans* and *Candida dubliniensis* through signaling molecules produced by planktonic and biofilm cells. *Eukaryot Cell* 6(12): 2429-2436.
67. Jabra-Rizk M.A., Meiller T.F., James C.E., Shirtliff M.E., (2006). Effect of farnesol on *Staphylococcus aureus* biofilm formation and antimicrobial susceptibility. *Antimicrob Agents Chemother* 50(4):1463-1469.

68. Gomes F.I., Teixeira P., Azeredo J., Oliveira R., (2009). Effect of farnesol on planktonic and biofilm cells of *Staphylococcus epidermidis*. *Curr Microbiol* 59(2): 118-122.
69. Egbe N.E., Paget C.M., Wang H., Ashe M.P., (2015). Alcohols inhibit translation to regulate morphogenesis in *C. albicans*. *Fungal Genet Biol* 77: 50-60.
70. Weber K., Sohr R., Schulz B., Fleischhacker M., Ruhnke M., (2008). Secretion of E,E-farnesol and biofilm formation in eight different *Candida* species. *Antimicrobial Agents Chemotherapy* 52(5): 1859-61.
71. Mayer F.L., Wilson D., Hube B., (2013). *Candida albicans* pathogenicity mechanisms. *Virulence* 4(2): 119-128.
72. Shaymaa H. Abdel-Rhman, Areej M. El-Mahdy, M. El-Mowafy, (2015). Effect of Tyrosol and Farnesol on Virulence and Antibiotic Resistance of Clinical Isolates of *Pseudomonas aeruginosa*, *BioMed Research International*, vol 2015. doi:10.1155/2015/456463.
73. M.L. Langford, A.L. Atkin, K.W. Nickerson, (2009). Cellular interactions of farnesol, a quorum-sensing molecule produced by *Candida albicans*, *Future Microbiology*, vol. 4, no. 10, pp. 1353–1362.
74. G. McAlester, F. O’Gara, J.P. Morrissey, (2008). Signal-mediated interactions between *Pseudomonas aeruginosa* and *Candida albicans*. *Journal of Medical Microbiology*, vol. 57, no. 5, pp. 563–569.
75. J. Gibson, A. Sood, D.A. Hogan, (2009). *Pseudomonas aeruginosa*-*Candida albicans* interactions: localization and fungal toxicity of a phenazine derivative. *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 75, no. 2, pp. 504–513.

76. M.A. El-Azizi, S.E. Starks, N. Khardori, (2004). Interactions of *Candida albicans* with other *Candida* spp. and bacteria in the biofilms. *Journal of Applied Microbiology*, vol. 96, no. 5, pp.1067–1073.
77. M.E. Shirtliff, B.M. Peters, M.A. Jabra-Rizk, (2009). Cross kingdom interactions: *Candida albicans* and bacteria. *FEMS Microbiology Letters*, vol. 299, no. 1, pp. 1–8.
78. N. D'ecanis, N. Tazi, A. Correia, M. Vilanova, M. Rouabhia, (2011). Farnesol, a fungal quorum-sensing molecule triggers *Candida Albicans* morphological changes by downregulating the expression of different secreted aspartyl proteinase genes. *Open Microbiology Journal*, vol. 5, pp. 119–126.
79. L.S. Derengowski, C. De-Souza-Silva, S.V. Braz et al., (2009). Antimicrobial effect of farnesol, a *Candida albicans* quorum sensing molecule, on *Paracoccidioides brasiliensis* growth and morphogenesis. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, vol. 8, article 13.

İÜC Tarih ve Sayı: 05/10/2017-372154



T.C.
CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI
Klinik Araştırmalar Etik Kurulu



Sayı :83045809-604.01.02-
Konu :Uzm.Öğr.Dr.Mehrdad
ATAEI'nın etik kurul kararı A-19

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞINA

İlgi :14.09.2017 tarih,64414572-302.14.01-337981 sayılı yazı

Anabilim Dalınız öğretim üyesi **Prof.Dr.Fatma Köksal ÇAKIRLAR**'ın danışmanlığında **Uzm.Öğr.Dr.Mehrdad ATA EI**'nın yürüttüğü "Candida Albicans Quorum Sensing Mediyatörlerinin Pseudomonas aeruginosa Üremesi Üzerine in Vitro Etkileri" başlıklı Uzmanlık Tezi hakkında ilgi yazınız ve ekleri **03 Ekim 2017** tarihinde toplanan Fakültemiz Klinik Araştırmalar Etik Kurulunca müzakere edilmiş olup; Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) desteği alınması koşuluyla etik açıdan uygun olduğuna karar verilmiştir.

Bilgilerinizi rica ederim.

e-İmzalı
Prof. Dr. Özgür KASAPÇOPUR
Başkan

e-İmzalı
Prof. Dr. Emine Gülderen ŞAHİN
Bölüm Başkanı

NOT: Yönetmelik gereği Sonuç Raporunun Klinik Araştırmalar Etik Kuruluna iletilmesi gerekmektedir.

İÜC Tarih ve Sayı: 18/06/2018-10238



T.C.
CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI
Klinik Araştırmalar Etik Kurulu



Sayı :83045809-604.01.02-
Konu :Uzm.Öğr.Dr.Mehrdad
ATAEI'nın etik kurul kararı H-
03

TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞINA

İlgi :16.05.2018 tarihli 177930 sayılı yazı

Anabilim Dalınız öğretim üyesi **Prof.Dr.Fatma Köksal ÇAKIRLAR**'ın danışmanlığında **Uzm.Öğr.Dr.Mehrdad ATA EI**'nın yürüttüğü "Candida Albicans Quorum Sensing Mediyatörlerinin Pseudomonas aeruginosa Üremesi Üzerine in Vitro Etkileri" başlıklı Uzmanlık Tezi (ARAŞTIRMA FONU) 'ne ait **10.05.2018** tarihinde toplanan Akademik Kurul Kararıyla danışman öğretim üyesinin değiştirilerek yerine **Prof.Dr.Gökhan AYGÜN** olarak belirlenmesi hakkında ilgi yazınız ve ekleri **05 Haziran 2018** tarihinde toplanan Fakültemiz Klinik Araştırmalar Etik Kurulunca müzakere edilmiş olup, etik açıdan uygun olduğuna karar verilmiştir.

e-İmzalı
Prof. Dr. Özgür KASAPÇOPUR
Başkan

e-İmzalı
Prof. Dr. Emine Gülderen ŞAHİN
Bölüm Başkanı

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Mehrdad	Soyadı	ATAEI
Doğ.Yeri	TEHRAN IRAN	Doğ.Tar.	07.01.1982
Uyruğu	IRAN	TC Kim No	99886821786
Email	mehrdad_atayie@yahoo.com	Tel	5373074286

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Lisans	TABRIZ Tıp Fakültesi, TABRIZ Üniversitesi	2007
Lise	SAADI LİSESİ, Tabriz IRAN	2000

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.	UZM. ÖĞ. Dr	Universite Catholique de Louvain, Brüksel, BELÇİKA	2008-2014
2.	UZM. ÖĞ. Dr	İ.Ü. CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ	2015-

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
İNGİLİZCE	Çok iyi	Çok iyi	Çok iyi		
FRANSIZCA	Çok iyi	Çok iyi	Çok iyi		
ITALYANCA	Orta	Orta	Orta		

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
LES Puanı			
(Diğer) Puanı			

Yayımları/Tebliğleri Sertifikaları/Ödülleri