

**T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**TARÇIN YAĞININ VE KARANFİL YAĞININ
ANTİMİKROBİYAL ETKİNLİĞİNİN
MİKROBİYOLOJİK MİKTAR TAYİNİ YÖNTEMİ
İLE ARAŞTIRILMASI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
Elif KOPTAGET**

Enstitü Anabilim Dalı: Tıbbi Mikrobiyoloji

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Ahmet ÖZBEK

TEMMUZ 2019

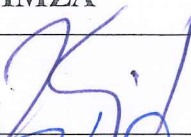
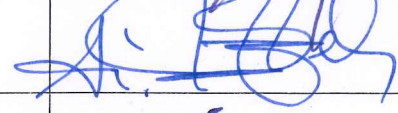

T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TARÇIN YAĞININ VE KARANFİL YAĞININ
ANTİMİKROBİYAL ETKİNLİĞİNİN MİKROBİYOLOJİK
MİKTAR TAYİNİ YÖNTEMİ İLE ARAŞTIRILMASI

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Elif KOPTAGET

Enstitü Anabilim Dalı: Tıbbi Mikrobiyoloji

“Bu tez 01/07/2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Oybirliği / Oyçokluğu ile kabul edilmiştir.”

JÜRİ ÜYESİ	KANAATI	İMZA
Prof. Dr. Mehmet KOROĞLU	BAŞARILI	
Prof. Dr. Ahmet ÖZBİLİR	BAŞARILI	
Dr. Öğr. Gör. Tuğçe Merve GEDİK	BAŞARILI	

BEYAN

Bu çalışma T.C. Sakarya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü'nden 25/01/2019 tarihinde onay alınarak hazırlanmıştır. Bu tezin kendi çalışmam olduğunu, planlanmasından yazımına kadar hiçbir aşamasında etik dışı davranışımın olmadığını, tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, tez çalışmasıyla elde edilmeyen tüm bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları kaynaklar listesine aldığımı, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

.../.../2019

Elif KOPTAGET

TEŞEKKÜR

Tez konumu belirlemede ve devamını sağlamamda bilgi ve fikirleriyle her daim yanımda olan ve desteğini esirgemeyen danışman hocam Prof. Dr. Ahmet ÖZBEK'e, tez çalışmam sırasında Albafarma İlaç Mikrobiyoloji Laboratuvarında çalışmama izin veren, olanaklar sağlayan ve yardımlarını esirgemeyen Genel Müdür'üm Sn. Fikret DİNÇ'e, fikir, paylaşımları ve destekleri için Atatürk Üniversitesi Su Ürünleri Fakültesi Dekanı Prof. Dr. Murat ARSLAN ve Dr. Öğr. Üyesi Gökhan ARLAN ve yüksek lisans dönem arkadaşlarıma, destekleri ve yardımlarını esirgemeyen Sağlık Bilimleri Enstitüsü sekreterlerine ve sevgili Yusuf KILIÇ'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Her koşulda yanımda olan, desteklerini bende hiçbir zaman esirgemeyen annem Firdes KOPTAGET, babam Halit KOPTAGET'e, varlığıyla beni mutlu eden ve güveniyle beni destekleyen biricik yeğenim Eren KOPTAGET'e gönülden minnetlerimi sunmayı bir borç bilirim.

Elif KOPTAGET

İÇİNDEKİLER

BEYAN.....	i
TEŞEKKÜR.....	ii
KISALTMA VE SİMGELER.....	vi
TABLolar	viii
RESİMLER.....	x
ŞEKİLLER.....	xi
ÖZET.....	xii
SUMMARY	xiii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. ESANSİYEL YAĞLARIN GENEL ÖZELLİKLERİ	3
2.2. ESANSİYEL YAĞLARIN ELDE EDİLME YÖNTEMLERİ	5
2.3. ESANSİYEL YAĞLARIN KİMYASAL ÖZELLİKLERİ	6
2.4. ESANSİYEL YAĞLARIN ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTELERİ	6
2.5. ESANSİYEL YAĞLARIN ETKİ MEKANİZMASI	7
2.6. TARÇIN ESANSİYEL YAĞI	9
2.7. KARANFİL ESANSİYEL YAĞI	10
2.8. MİKROORGANİZMALAR	12
2.9. <u>ESCHERICHIA COLI</u>	13
2.9.1. <i>E. coli</i> Genel Özellikleri	13
2.9.2. <i>E. coli</i> Morfolojisi	13
2.9.3. <i>E. coli</i> Patogenezi	14
2.10. <u>SALMONELLA TYPHIMURIUM</u>	15
2.10.1. <i>S. typhimurium</i> Genel Özellikleri	15
2.10.2. <i>S. typhimurium</i> Morfolojisi	16
2.10.3. <i>S. typhimurium</i> Patogenezi	17
2.11. <u>PSEUDOMONAS AERUGINOSA</u>	17
2.11.1. <i>P. aeruginosa</i> Genel Özellikleri	17
2.11.2. <i>P. aeruginosa</i> Morfolojisi	18
2.11.3. <i>P. aeruginosa</i> Patogenezi	19
2.11.3.1. Konak Faktör	20

2.11.3.2. Bakteri Faktörü	20
2.12. <u>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</u>	21
2.12.1. <i>S. aureus</i> Genel Özellikleri	21
2.12.2. <i>S. aureus</i> Morfolojisi	21
2.12.3. <i>S. aureus</i> Patogenezi	23
2.13. <u>BACILLUS SUBTILIS</u>	24
2.13.1. <i>B. subtilis</i> Genel Özellikleri	24
2.13.2. <i>B. subtilis</i> Morfolojisi	24
2.13.3. <i>B. subtilis</i> Patogenezi	25
2.14. <u>CANDIDA ALBICANS</u>	26
2.14.1. <i>C. albicans</i> Genel Özellikleri	26
2.14.2. <i>C. albicans</i> Morfolojisi	26
2.14.3. <i>C. albicans</i> Patogenezi	27
2.15. <u>ASPERGILLUS BRASILIENSIS</u>	27
2.15.1. <i>A. brasiliensis</i> Genel Özellikleri	27
2.15.2. <i>A. brasiliensis</i> Morfolojisi	28
2.15.3. <i>A. brasiliensis</i> Patogenezi	29
3. GEREÇ VE YÖNTEM	30
3.1. GEREÇLER	30
3.2. KİMYASALLAR/ REAKTİFLER	31
3.3. MİKROORGANİZMALAR	31
3.4. YÖNTEMLER	32
3.4.1. Hazırlık Aşaması	32
3.4.1.1. Mueller Hinton Broth Hazırlanması	32
3.4.1.2. Mueller Hinton Agar Hazırlanması	32
3.4.1.3. Sabouraud Dextrose Agar Hazırlanması	33
3.4.1.4. Sabouraud Dextrose Broth Hazırlanması	33
3.4.1.5. %0,9 Serum Fizyolojik Hazırlanması	33
3.4.1.6. 0.5 McFarland Standartında Mikroorganizma Hazırlanması	34
3.4.1.7. Tween 20 Hazırlanması	34
3.4.1.8. Fosfat Tampon Hazırlanması	34
3.4.1.9. Kâğıt Disk (Whatman Kağıdı) Hazırlanması	34

3.4.1.10. Disk Difüzyon Testi Esansiyel Yağların Dilüsyonlarının Hazırlanması	34
3.4.1.11. Antibiyotik Disklerinin Hazırlanması	35
3.4.2. Uygulama Aşaması	36
3.4.2.1. Disk Difüzyon Testi Uygulaması	36
3.4.2.2. Yayma Plak (Yayma Ekim) Testi Uygulaması	36
3.4.2.3. Sıvı Besiyeri Makrodilüsyon Testi Uygulaması	36
3.4.2.4. Kontrol Grubu Antibiyotik Disklerin Disk Difüzyon Testi Uygulaması	37
3.4.2.5. Disk Difüzyon Testi Değerlendirmesi	37
3.4.2.6. Yayma Plak (Yayma Ekim) Testi Değerlendirmesi	37
3.4.2.7. Sıvı Besiyeri Makrodilüsyon Testi Bulgularının Değerlendirilmesi	37
4. BULGULAR	39
4.1. ESANSİYEL YAĞLARIN DİSK DİFÜZYON TESTİ BULGULARI	39
4.2. ESANSİYEL YAĞLARIN SIVI BESİYERİ MİK BULGULARI	41
4.3. ESANSİYEL YAĞLARIN YAYMA PLAK TESTİ BULGULARI	44
4.4. KONTROL GRUBU ANTİBİYOTİKLERİN DİSK DİFÜZYON TESTİ BULGULARI	47
4.5. TWEEN 20 DİSK DİFÜZYON TESTİ BULGULARI	48
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	49
KAYNAKLAR	57
EKLER	70
ÖZGEÇMİŞ	82

KISALTMA VE SİMGELER

Additif Etki	: Organizma içerisinde aynı yönde etki gösteren iki farklı kimyasalın, ayrı ayrı gösterdikleri etki değerlerinin toplamına eşit olması durumudur. (2+2=4)
Antagonistik Etki	: Bir etkenin diğer bir etkenin etkisini düşürdüğü durumdur.
ATCC	: American Type Culture Collection
dk	: Dakika
EMB	: Eosin Methylen-blue Lactose Agar
g	: Gram
KIA	: Kligler Iron Agar
LAF Kabini	: Laminar Air Flow Kabin
Makrodilüsyon Yöntemi	: En az 2 ml hacimli sıvı içerisinde dilüsyon yapılan yöntemdir.
lt	: Litre
MBK	: Minimum Bakterisidal Konsantrasyon
MCA	: MacConkey Agar
MCB	: MacConkey Broth
MİK	: Minimum inhibisyon Konsantrasyonu
µm	: Mikrometre
µl	: Mikrolitre

mm	: Milimetre
ml	: Mililitre
MHB	: Mueller Hinton Broth
MHA	: Mueller Hinton Agar
NaCl	: Sodyum Klorür
Ort	: Aritmetik ortalama
pH	: Hidrojen Gücü
RSD	: Standart Sapma Değeri
SDA	: Sabouraud Dextrose Agar
SDB	: Sabouraud Dextrose Broth
°C	: Santigrat Derece Sıcaklık
Sinerjistik Etki	: Bir kimyasalın ayrı olduğunda gösterdiği etkinin başka bir kimyasalla birlikte iken gösterdiği etkiden daha yüksek olması durumudur. (3+3=2)
TSA	: Tryptic Soy Agar
TSB	: Tryptic Soy Broth
Ü/G	: Üreme görüldü
Ü/Y	: Üreme yok

TABLULAR

Tablo 1. Bazı aromatik bitkilerin içerdikleri aktif maddeler ve etkileri	4
Tablo 2. Esansiyel yağları elde etme yöntemleri	5
Tablo 3. Esansiyel yağların etki mekanizması.....	8
Tablo 4. <i>E. coli</i> 'nin biyokimyasal testleri ve sonuçları.....	14
Tablo 5. <i>S. typhimurium</i> 'un biyokimyasal testleri ve sonuçları.....	16
Tablo 6. <i>P. aeruginosa</i> 'nın biyokimyasal testleri ve sonuçları.....	19
Tablo 7. <i>S. aureus</i> 'un virulans faktörleri ve etkileri	22
Tablo 8. <i>B. subtilis</i> 'in biyokimyasal testleri ve sonuçları.....	25
Tablo 9. Kontrol grubu antibiyotik disklerin hazırlanması	35
Tablo 10. Tarçın esansiyel yağının farklı dilüsyonlarının çeşitli bakteriler üzerinde antimikrobiyal etki sonuçları.....	39
Tablo 11. Karanfil Esansiyel Yağının Farklı Dilüsyonlarının Çeşitli Bakteriler Üzerinde Antimikrobiyal Etki Sonuçları.....	40
Tablo 12. Karanfil ve tarçın esansiyel yağlarının farklı dilüsyonlarının çeşitli bakteriler üzerinde antimikrobiyal etki sonuçları.....	41
Tablo 13. Tarçın esansiyel yağının çeşitli bakteriler üzerinde MİK değerleri.....	42
Tablo 14. Karanfil esansiyel yağının çeşitli bakteriler üzerinde MİK değerleri.....	43
Tablo 15. Tarçın ve karanfil esansiyel yağının çeşitli bakteriler üzerinde MİK değerleri	43

Tablo 16. Tarçın esansiyel yağlarının farklı konsantrasyonlarının <i>C. albicans</i> ve <i>A. brasiliensis</i> üzerinde antimikrobiyal etki sonuçları.....	45
Tablo 17. Karanfil esansiyel yağlarının farklı konsantrasyonlarının <i>C. albicans</i> ve <i>A. brasiliensis</i> üzerinde antimikrobiyal etki sonuçları.....	46
Tablo 18. Tarçın ve karanfil esansiyel yağlarının farklı konsantrasyonlarının <i>C. albicans</i> ve <i>A. brasiliensis</i> üzerinde antimikrobiyal etki sonuçları.....	47
Tablo 19. Kontrol grubu antibiyotiklerin zon çapları.....	48
Tablo 20. Tween 20' nin disk difüzyon testi zon çapları.....	48



RESİMLER

Resim 1. Tarçın (<i>Cinnamomum zeylanicum</i>) bitkisi.....	9
Resim 2. Tarçın (<i>Cinnamomum zeylanicum</i>) kabuğu.....	10
Resim 3. Karanfil (<i>Syzygium aromaticum</i>) bitkisi.....	11
Resim 4. <i>E. coli</i> 'nin katı besiyerindeki koloni görünümüleri.....	15
Resim 5. <i>S. typhimurium</i> 'un katı besiyerindeki koloni görünümüleri.....	17
Resim 6. <i>P. aeruginosa</i> 'nın katı besiyerindeki koloni görünümüleri.....	19
Resim 7. <i>S. aureus</i> 'un katı besiyerindeki koloni görünümüleri.....	22
Resim 8. <i>B. subtilis</i> 'in TSA besiyerindeki koloni görünümü.....	25
Resim 9. <i>C. albicans</i> 'ın katı besiyerindeki koloni görünümüleri.....	27
Resim 10. <i>A. brasiliensis</i> 'in katı besiyerinde ve mikroskopik görüntüsü.	29

ŞEKİLLER

Şekil 1. Esansiyel yağların hücre içeriğine ve membranına etkisi.....	7
Şekil 2. Benzaldehit ve Sinnemaldehit moleküler yapısı.....	10
Şekil 3. Öjenol ve öjenol asit moleküler yapısı	12



ÖZET

GİRİŞ VE AMAÇ: Bu çalışmada tarçın ve karanfil esansiyel yağlarının ayrı ayrı ve kombinasyonlarının bazı mikroorganizmalar üzerinde antimikrobiyal etkinliğini, etkinlik görülen en uygun doz miktarını araştırmak ve çalışılabilecek alanların belirlenmesinde yol gösterici olabilmek amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEMLER: Çalışmamızda antimikrobiyal etken olarak tarçın ve karanfil esansiyel yağları kullanıldı. Bazı mikroorganizmalardan bakteri grubunda *Escherichia coli* ATCC 8739, *Salmonella typhimurium* ATCC 14048, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, mantar grubunda ise *Candida albicans* ATCC 10231, *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404 araştırıldı. Esansiyel yağlardan 10 farklı dilüsyon hazırlanarak bakterilerde disk difüzyon yöntemi ile mantarlarda yayma plak yöntemi ile antimikrobiyal etki incelendi.

BULGULAR: Tarçın ve karanfil yağlarının ayrı ayrı ve birlikte 10 farklı dilüsyon uygulanmasında, tüm mikroorganizmalar üzerinde en etkili sonuçlar, %50 ve üzerindeki dilüsyon oranlarında gözlemlendi. Sıvı besiyeri makrodilüsyon testinde karanfil yağının MİK bulguları çalışılan tüm bakterilerde %0,78, tarçın yağının ise *E. coli* ve *P. aeruginosa*'da %3,125, *S. aureus* ve *B. subtilis*'te %0,78, *S. typhimurium*'da %6,250 olarak belirlendi. Tarçın ve karanfil yağı kombinasyonunun *E. coli*, *S. typhimurium*, *P. aeruginosa*'da ve *S. aureus* üzerindeki MİK değeri %0,78, *B. subtilis*'te ise %6,25'tir. *C. albicans* ve *A. brasiliensis* ile yapılan yayma ekim çalışmasında, esansiyel yağların ayrı ayrı ve birlikte kombinasyonlarının 10 gün boyunca yapılan gözlem sonucunda üremeyi engellediği belirlendi.

SONUÇ: Çalışmada kullandığımız esansiyel yağların, çalışmada kullanılan mikroorganizmalar üzerinde önemli derecede inhibe edici etkiye sahip olduğu saptandı. Elde edilen nominal değerler, kullanılan yağların ve çalışmaya alınan mikroorganizmaların kullanımının amaçlandığı farklı çalışmalarda yol gösterici olacaktır.

Anahtar Sözcükler: Antibakteriyel, Antifungal, Antimikrobiyal aktivite, Esansiyel yağlar, Karanfil yağı, Tarçın yağı

SUMMARY

Investigation Of Antimicrobial Activity Of Cinnamon Oil And Clove Oil By Microbiological Assay

INTRODUCTION AND PURPOSE: In this study, it was aimed to investigate the antimicrobial efficiency of individual and combinations of cinnamon and clove essential oils on some microorganisms, to determine the optimum dose and to determine the areas to be studied.

MATERIALS AND METHODS: In our study, cinnamon and clove essential oils were used as antimicrobial agents. Some microorganisms in the group of bacterium, *Escherichia coli* ATCC 8739, *Salmonella typhimurium* ATCC 14027, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, and in the fungus group *Candida albicans* ATCC 10231, *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404 were examined. 10 different dilutions of essential oils were prepared and antimicrobial effect was investigated by spreading plate method in fungi and disc diffusion method in bacteria.

RESULTS: As a result of antimicrobial efficiency studies of cinnamon and clove oils separately and in combination, different 10 dilutions and the most effective results were observed on the dilutions of 50%. In the liquid medium macrodilution test, the MIC findings of clove oil were 0.78% in all studied bacteria, and 3.125% in *E. coli* and *P. aeruginosa*, 0.78% in *S. aureus* and *B. subtilis*, and 0.78% in *S. typhimurium*. 6,250%. The cinnamon and clove oil combination had an MIC of 0.78% in *E. coli*, *S. typhimurium*, *P. aeruginosa* and *S. aureus*, and 6.25% in *B. subtilis*. *C. albicans* and *A. brasiliensis* smear plate study, it was determined that the combination of essential oils separately and prevented reproduction as a result of observation for 10 days.

CONCLUSION: The essential oils we used in the study were found to have a significant inhibitory effect on the microorganisms used in the study. The nominal values obtained will be guiding in different studies aimed at the use of oils and microorganisms used in the study.

Keywords: Antibacterial, Antifungal, Antimicrobial activity, Cinnamon oil, Clove oil, Essential oils.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Aromatik bitkiler tarafından sentezlenen ve depolanan, bitkinin çiçek, yaprak, kök, tohum, kabuk, reçine, odun, ot veya rizom (yumru) gibi organlarından çeşitli yollar ile elde edilen, içerisinde asitler, alkoller, fenoller, ketonlar, esterler gibi birçok kimyasal madde bulunduran, kompleks yapıda kokulu sıvılara bitki esansiyel yağları veya uçucu yağlar denir. Yeryüzünde yaklaşık 750.000 ile 1.000.000 arasında bitki türünün olduğu düşünülmekte ve bu türlerin yaklaşık %1-10 kadarının insanlar ve diğer canlılar tarafından yiyecek olarak kullanıldığı bilinmektedir. Fakat bitkilerin besin ve yiyecek olarak kullanılmalarından daha fazla ilaç olarak kullanılmış olmaları dikkat çekmiştir. Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) yaptığı araştırmalara göre birçok insanın ve günümüzde kullanılan farmakope'nin bitkisel kökenli ilaçları desteklemekte ve içeriklerinde yer vermektedirler (Sekar and Kandavel, 2010, Berber, Avşar, Çine, Bozkurt, Elmas, 2013). Bununların dışında kalan ilaçların da bitkisel etkenlere benzer yapılarda olan sentetik yapılardaki kimyasallar oldukları görülmektedir (Sekar and Kandavel, 2010).

Günümüzde literatürde 1300'den fazla bitki türünün antimikrobiyal etkisinin olduğu rapor edilmektedir. Antimikrobiyal etkisi belirlenmiş olan esansiyel yağların bazıları yenibahar, badem, defne, karabiber, karaman kimyonu, tarçın, karanfil, kişniş, kimyon, sarımsak, greyfurt, limon, mandarin, soğan, portakal, kekik, kuşburnu, adaçayı ve mercanköşktür (Nychas and Skandamis 2003).

Bitki esansiyel yağlarının bakteri, küf ve mayaların gelişmesini engellediği, doğal yapılarından dolayı toksik etkisinin olmadığı gibi bilinen birçok etkisi vardır. Son zamanlarda gelişmiş ülkelerin birçoğunda çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılan maddelerin %80'inin bitkisel kökenli olduğu görülmüştür. Esansiyel yağların insanların tarafından çeşitli hastalıkların tedavilerinde, yaraların iyileştirilmesinde kullanılmaları çok eski zamanlardan beri devam etmektedir. Günümüzde ise esansiyel yağlar endüstriyel alanlarda, kozmetik ürünlerde, ilaç

sanayinde, gıda sektöründe, dezenfektanlarda, tıp alanlarında, alternatif tıpta oldukça sık kullanılmaya başlamıştır.

Son yıllarda sıkça kullanılmakta olan antibiyotiklere, antiviral ve antifungallere karşı mikroorganizmaların direnç göstermeleri hastalık tedavilerinde zorluklara ve başarısızlıklara, ölüm oranlarının artmasına, salgın hastalıkların yaygınlaşmasına neden olmaktadır. Bununla birlikte esansiyel yağların bileşiminde bulunan kimyasallar, mikroorganizmaları engelleyici etki gösterdiği, bundan dolayı esansiyel yağlarda bulunan kimyasal maddelere karşı direnç oluşumunun güçleştiği düşünülmektedir. Bu nedenler araştırmalar bitki esansiyel yağları üzerinde yoğunlaşmış ve olabilecek farklı etkileri veya kullanım alanları belirlenmeye çalışılmaktadır.

Tarçın esansiyel yağı (Cinnamon essential oil), *Cinnamomum zeylanicum* olarak bilinen tarçın bitkisinin kabuk kısmından elde edilmektedir. Tarçın yağının içerisinde bulunan öjenol ve trans-sinnamaldehit bileşikleri antimikrobiyal özellikle antibakteriyel olarak güçlü maddelerdir. Karanfil esansiyel yağı (clove essential oil) da bir diğer antimikrobiyal ajan ve direnç arttırıcı olarak önemli yere sahip bitkisel kaynaktır. En önemli etken maddesi olan öjenol, karanfile antioksidan ve antimikrobiyal etki kazandırmıştır. Bununla birlikte diş sağlığı ve hoş kokusu nedeniyle ağız kokusuna karşı kullanımı yaygındır.

Bu çalışmada tarçın ve karanfil esansiyel yağlarının hem ayrı ayrı hem de bu iki yağın kombinasyonlarının bazı mikroorganizmalar üzerinde antimikrobiyal etkinliğini gözlemlemek, etkinlik görülen en uygun doz miktarını araştırmak ve çalışılabilir alanların belirlenmesinde yol gösterici olabilmek amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. ESANSİYEL YAĞLARIN GENEL ÖZELLİKLERİ

Bitki uçucu yağları, genellikle oda sıcaklığında sıvı ancak bazen donabilen, çok kolay kristalleşebilen, çoğunlukla renksiz veya açık sarı renkli, uçucu, kokulu, suda çözünmeyen fakat bazı organik çözücülerle çözünebilen kompleks karışımlar olarak tanımlanabilir. Eter gibi uçucu olduklarından eterik yağ ve güzel kokulu olmaları dolayı da esansiyel yağ gibi farklı isimler almıştır. Bitki Esansiyel yağlarının en belirgin özelliği kokulu ve uçucu olmalarıdır. Bu özellikleri sayesinde buldukları bitkilere kokulu, yakıcı gibi çeşitli karakteristik özellikler sağlamaktadırlar (Beyaz 2014, Şengezer ve Güngör 2008).

Esansiyel yağlar bitkilerin en yoğun olarak salgı tüylerinde, bitkilerin iç dokularında bulunan uçucu yağ hücrelerinde ve salgı ceplerinde ayrıca bu yapıların dışında bitkinin yaprak, çiçek, meyve, kök, rizom ve odunsu yapılarında daha fazla bulunmasının yanında, sap ve kabuklarında daha az miktarlarda yer almaktadır. Salgılanan bu yağların bitkileri düşmanlara karşı koruma, su kaybını engelleme, tozlaşmaya yardımcı olma, doku iyileşmesi gibi bitkiler üzerinde birçok amacı ve faydası vardır (Duru 1993).

Bitki Esansiyel yağlarının her biri farklı yapılarda bileşikler içeren kompleks karışımlardır. Bu nedenle her bir yağın etki mekanizması, etki derecesi ve etki ettikleri mikroorganizmalar farklılık göstermektedir (Toroğlu ve Çenet 2006). Bitki esansiyel yağları içerdikleri uçucu yapıdaki terpenler, fenilpropanlar, azot ve kükürt gibi bileşiklerin etkileriyle bakteri, küf ve mayalar gibi mikroorganizmaların gelişimini, yayılmasını ve toksin oluşturmasını engelleyici etkilerinin oldukları düşünülmektedir (Ceylan 1987). Bununla birlikte esansiyel yağların içerdikleri fenolik bileşikler gıda endüstrisinde antioksidan, antimikrobiyal, antikanser, antiobezite, antidiyabetik ve antimutajenik etken olarak kullanılabilir (Kunyanga, Imungi, Okoth, Biesalski, Vadivel 2012, Uçar, Odabaş Köse, Özyiğit, Turgut 2015, Hepokur 2018).

Tablo 1. Bazı aromatik bitkilerin içerdikleri aktif maddeler ve etkileri (Şengezer ve Güngör, 2008)

Bitki Adı	Bitki Bölümü	Aktif Madde	Etki Şekli
Adaçayı	Yaprak	Cineole	Sindirim uyarıcı, antiseptik
Anason	Tohum	Anathole	Sindirim uyarıcı
Bayır Turpu	Kök	Allylisothiocyanate	İştah artırıcı
Biber	Tohum	Sabinene	Sindirim uyarıcı, ishal önleyici
Biberiye	Yaprak	Cineole	Sindirim uyarıcı, antiseptik
Defne	Yaprak	Cineole	İştah artırıcı, sindirim uyarıcı, antiseptik
Hardal	Tohum	Allylisothiocyanate	Sindirim uyarıcı
Hindistan Cevizi	Tohum	Sabinen	Sindirim uyarıcı, ishal önleyici
Karabiber	Meyve	Piperine	Sindirim uyarıcı
Karanfil	Çiçek	Eugenol	İştah artırıcı, sindirim uyarıcı, antiseptik
Kekik	Tüm Bitki	Thymol, Carvacrol	Sindirim uyarıcı, antiseptik, antioksidan
Kereviz	Yaprak, Kök	Phtallides	İştah artırıcı, sindirim uyarıcı
Kimyon	Tohum	Cuminaldehyde	Sindirim uyarıcı
Kısnış	Yaprak, tohum	Linanol	İştah artırıcı, sindirim uyarıcı
Maydanoz	Yaprak	Apiol	İştah artırıcı, sindirim uyarıcı, antiseptik
Nane	Yaprak	Menthol	İştah artırıcı, sindirim uyarıcı, antiseptik
Sarımsak	Soğan	Alicin	Sindirim uyarıcı, antiseptik
Tarçın	Kabuk	Cinnamaldehyde	İştah artırıcı, sindirim uyarıcı, antiseptik
Zencefil	Rhizoma	Zingorole	Sindirim uyarıcı

2.2. ESANSİYEL YAĞLARIN ELDE EDİLME YÖNTEMLERİ

Bitki esansiyel yağlarının elde edilme yöntemleri, yağın kullanım amacına göre değişiklik göstermektedir. Bitki esansiyel yağlarının elde edilmesinde genellikle damıtma ve presleme yöntemleri kullanılmaktadır. Klasik damıtma ve ekstraksiyon yöntemleri kullanılarak elde edilen yağ miktarı genelde fazla olmasına rağmen niteliksel olarak daha zayıf yağ elde edildiği görülmüştür (Evren ve Tekgüler, 2011). Kozmetik endüstrisinde parfüm üretimi için kullanılacak esansiyel yağlar genellikle çözücü ekstraksiyonu veya süperkritik karbondioksit yöntemi kullanılarak elde edilirken turuncgillerden antibakteriyal, antifungal, gıda katkı maddeleri ve farmakolojik amaçlı sentetik kimyasallara muadil olarak üretilecek yağlar için daha çok mekanik ekstraksiyon ve buhar destilasyonu tercih edilmektedir (Bakkali, Averbach, Averbach and Idaomar 2008).

Tablo 2. Esansiyel yağları elde etme yöntemleri (Kılıç 2008, Beyaz 2014)

1. Damıtma (Destilasyon) Yöntemi: Bileşenleri kaynama noktaları arasındaki farklardan yararlanarak ayırma işlemidir.	a) Su ile damıtma (Hydro distillation) b) Su buharında damıtma (Steam distillation) c) Vakum altında damıtma (Vacuum distillation)
2. Ekstraksiyon Yöntemi: Uçucu yağın bir çözücü içerisinde çözündürülerek alınması işlemidir.	a) Çözücü ekstraksiyonu (Solvent extraction) b) Süperkritik sıvı ekstraksiyonu (Supercritical fluid extraction) c) Mikrodalga yardımıyla ekstraksiyon (Microwave-assisted extraction) d) Sıkıştırılmış çözücü ekstraksiyonu (Pressurised solvent extraction) e) Katı faz mikro ekstraksiyon (Solid phase microextraction) f) Çok yönlü ekstraksiyon (Simultaneous distillation extraction)
Presleme (Mekanik Ekstraksiyon) Yöntemi: ürünün bez torba içerisinde hidrolik pres altında sıkılmasıyla uçucu yağların alınması işlemidir.	

2.3. ESANSİYEL YAĞLARIN KİMYASAL ÖZELLİKLERİ

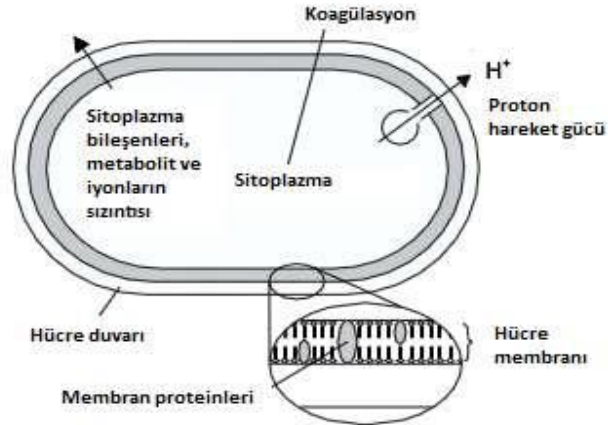
Bitkiler bünyelerinde sınırsız miktarlarda aromatik bileşikler üretebilmektedirler (Erdoğan ve Everest 2013) Bitkilerin ürettikleri bu aromatik bileşikler çeşitli yöntemlerle elde edilirler. Elde edilen bu yağların yapısındaki bileşikler gaz kromatografisi (GC) ve kütle spektrometresi (MS) kullanılarak ayrıntılı şekilde incelenebilmektedir (Delaquis, Stanich, Girard, Mazza 2002, Turhan 2015). Uçucu yağlar, yapılarında 20-100 farklı kimyasal yapıda bileşik içerebilmektedirler (Kürekçi ve Sakin 2017). Esansiyel yağların kimyasal bileşenleri temel olarak terpenler (monoterpenler, sesquiterpenler) ve bunların oksijenle bağlı olan türevlerinden (fenilpropanoidler) oluşturmaktadır (Baytop 1986, Kürekçi ve Sakin 2017). Bu temel bileşenlerle birlikte bazı aromatik ve alifatik bileşenler de içermektedirler (Erdoğan ve Everest 2013, Turhan 2015, Bakkali 2008). Bitki esansiyel yağlarının yapısı, biyolojik aktiviteleri ve özelliklerinde belirleyici olan iki veya üç ana bileşikten oluşurlar. Bu ana bileşenler genellikle terpenler ve türevlerinden oluşmakta olup bileşenlerinin %20-70 veya bazı bilgilere göre yaklaşık olarak %85'ini oluştururlar (Baytop 1986, Turhan 2015, Kürekçi ve Sakin 2017). Bitkilerdeki biyolojik aktiviteleri belirleyici olan ana bileşikler bazı durumlarda birbirlerinin üzerinde etkili oldukları için hangi bileşiğin daha etkili olduğunu analiz etmek zordur. Kimyasal bileşiklerin etkileri additif, antagonistik ve sinerjistik yönde olabilmektedir (Burt 2004, Kürekçi ve Sakin 2017).

2.4. ESANSİYEL YAĞLARIN ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTELERİ

Bitkilerin salgıladıkları kimyasal bileşenlerden oluşan bitki esansiyel yağları, hastalıkları tedavi etmekte, hastalıklardan korunmalarda, gıdalarda bakteri oluşumlarını engellemede kullanımları yaygınlaşmaktadır (Njume, Afolayan, Ndip 2009, Berber, Avşa, Çine, Bozkut, Elmas 2013). Bitki esansiyel yağlarının bu antimikrobiyal aktiviteleri araştırılırken birçok etken ile karşılaşılmıştır. Antimikrobiyal aktivite esansiyel yağların yapısına, türüne, konsantrasyonlarına, etkilenen mikroorganizmaya göre farklılıklar gösterebilmektedir. Hem bu etkenler nedeniyle hem de esansiyel yağların karmaşık yapıları nedeniyle analizlerde zorluklar yaşanabilmektedir (Giese 1994, Hulin, Mathot, Mofort, Dufosse 1998, Üner, Aksu, Ergün 2000, Turhan 2015).

2.5. ESANSİYEL YAĞLARIN ETKİ MEKANİZMASI

Bitkilerin yaşamları boyunca salgıladıkları ve antimikrobiyal etkilere sahip olan esansiyel yağların etki mekanizmaları uzun yıllardan beri çalışmalara konu olmuştur. Yapılan çalışmalar sonucunda birçok antimikrobiyal etki mekanizması tespit edilmiştir. Bunların en etkili bakterilerin membran yapısının bütünlüğünü bozma üzerine olan etkisi olduğu bildirilmiştir (Burt 2004, Kürekçi ve Sakin 2017). Bitki esansiyel yağlarındaki fenolik bileşenler hücre zarına kolaylıkla etki ederek geçirgenlik özelliğinin artmasına ve hücre zarının bütünlük özelliğinin zayıflamasına neden olurlar. Bu etkileşimin sonucunda, hücrelerin yapılarında bulunan iyonların ve bileşenlerinin zamanla kaybolmasına neden olarak hücre ölümlerine yol açarlar (Saad, Muller, Labstain 2013, Kürekçi ve Sakin 2017). Esansiyel yağların diğer önemli etki mekanizması da bünyesinde bulunan terpenlerin esansiyel yağlara hidrofobik özellik kazandırıyor olmasıdır. Bu özellikleriyle hücre duvarlarından ve hücre zarlarından kolaylıkla geçebilmektedirler. Bu özellikler esansiyel yağların hücrelerin yapılarına zarar vermelerine, hücrelerin içeriğinde bulunan temel yapıların zamanla azalmasına, hücre sitoplazmasında önemli derecede kayıplara, hücresel enzim faaliyetlerinin aktivitelerini etkilemelerine, hücresel enerji üretim sistemlerinin aktivitelerine azaltıcı yönde etki etmelerine neden olarak hücresel ölümlere sebebiyet verirler (Bajpai 2012, Erdoğan ve Everest 2013, Kürekçi ve Sakin 2017).



Şekil 1. Esansiyel yağların hücre içeriğine ve membranına etkisi (Burt 2004)

Bitki esansiyel yağlarının bu etki ve özellikleriyle birlikte görülebilen başka etki mekanizmaları da belirtilebilir. Bu özellikler Hücre DNA ve RNA yapılarının bozulmasına neden olmaları, toksik etkiye neden olmaları, hücre savunma sisteminin inhibasyonu gibi etkiler sayılabilir. Etki mekanizmaları ve temeldeki bileşiklerin neden olduğu etkiler Tablo 3’ te gösterilmiştir (Erdoğan ve Everest 2013, Cowan 1999).

Tablo 3. Esansiyel yağların etki mekanizması (Erdoğan ve Everest 2013)

Sınıf	Altsınıf	Örnekler	Mekanizma
Fenolikler	Basit Fenoller	Katesol Epikatesin	Substrat kaybı. Membran tahribasyonu
	Fenolik Asit	Sinamik asit	?
	Kinonlar	Hiperisin	Adhesinlere bağlanma, Hücre duvarı kompleksi, Enzim inaktivasyonu.
	Flavonoidler	Krisin	Adhesinlere bağlanma
	Flavonlar	Abisinon	Hücre duvarı kompleksi. Enzim inaktivasyonu, HIV revers transkriptaz inhibasyonu.
	Flavonoller	Totarol	?
	Taninler	Ellagitanin	Proteinlere bağlanma, Adhesinlere bağlanma, Enzim inhibasyonu, Substrat kaybı, Hücre duvarı kompleksi, Membran tahribati, Metal-iyon kompleksi.
	Kumarinler	Varfarin	Ökaryotik DNA ile interaksiyon (Antiviral aktivite).
Terpenoidler ve Uçucu Yağlar	-	Kapsaisin	Membran tahribati.
Alkaloidler	-	Berberin Piperin	Hücre duvarı ya da DNA ile interkalasyon.
Lektinler ve Polipeptidler	-	Mannoz-spesifik aglutinin	Viral füzyonunun bloke edilmesi ya da adsorpsiyon.
	-	Falksatin	Disulfid köprü formasyonu.
Poliasetilenler	-	8s-heptadeca-2(Z),9(Z)-diene-4,9-diyne-1,8-diol	?

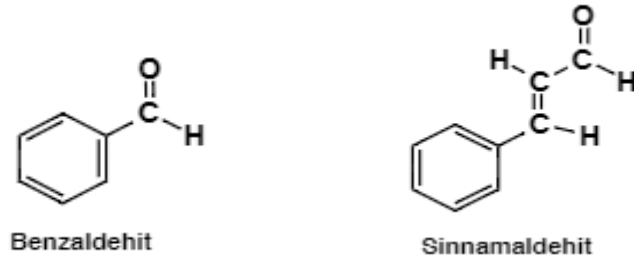
2.6. TARÇIN ESANSİYEL YAĞI

Tarçın (*Cinnamomum*), defnegiller ailesi içerisinde yer almaktadır. Endonezya, Singapur ve Vietnam'dan ithal edilerek Türkiye'ye gelen tarçın, ilkim koşulları nedeniyle ülkemizde yetiştirilememektedir. Yaprak dökmeyen ve kokulu ağaç şeklinde olan tarçın bitkisinin anavatanı Güney Asya'dır. İnsanoğlu tarihin en eski dönemlerinden bu yana tarçının aroması ve kokusu nedeniyle ve çeşitli yaraların tedavilerinde sıklıkla kullanılmıştır (Akarca 2015, Elgendy 2017, Aydın 2011,(<https://www.tarcin.gen.tr> Erişim tarihi: 23.02.2019).



Resim 1. Tarçın (*Cinnamomum zeylanicum*) bitkisi (Aydın 2011)

İki önemli tarçın türü bulunmaktadır. Bunlar Çin tarçını olarak bilinen *Cortex Cinnamomum cassiae* ve Seylan Tarçını olarak bilinen *Cinnamomum zeylanicum* (*C. zeylanicum*)'dur. Orta boylu ağaç olan tarçının genellikle dal ve gövde kısımlarından elde edilen kabuk kısımları kullanılmaktadır. Tarçın esansiyel yağı, *C. zeylanicum* bitkisinden elde edilmektedir. Esansiyel yağın bileşimindeki en önemli etken maddeler %60-70 oranında bulunan sinamaldehit ve öjenol, %5-10 oranında bulunan benzaldehit ve cinneminaldehit, %1-2 oranında bulunan tanen ve uçucu yağlardır. Tarçının yemeklerde aroma verici olarak kullanılmasının dışında tıbbi tedavilerde bilinen birçok faydası vardır. Bunlar; ağrı kesici, sindirim düzenleyici, antibakteriyel, antifungal, ağız sağlığı, gıda koruyucu olarak sıralanabilir (Akarca 2015, Aydın 2011, Güldemir ve Işık 2012).



Şekil 2. Benzaldehit ve Sinnamaldehit moleküler yapısı (<https://docplayer.biz.tr> Erişim tarihi: 24.02.2019).



Resim 2. Tarçın (*Cinnamomum zeylanicum*) kabuğu (<https://www.arifoglu.com> Erişim tarihi: 26.04.2019).

2.7. KARANFİL ESANSİYEL YAĞI

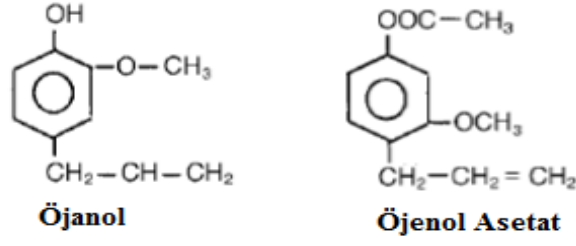
Antioksidan ve antimikrobiyal özellikleri ile sıkça kullanılan *Syzygium aromaticum* (*S. aromaticum*), bitkisinin diğer bir ismi *Eugenia caryophyllata*'dır. *S. aromaticum*, *Mirtaceae* familyasına ait değerli bir bitkidir. Endonezya'da Maluku adalarına özgü bir bitki olan *S. aromaticum*, 8-12 m boylarında, yaprak dökmeyen, demetler halinde pembe çiçekleri olan ve yaz-kış yeşil olan ağaç türüdür. Ağacın pembe ve demetler halinde olan çiçeklerinin kurutulmasıyla elde edilen tomurcuklarına karanfil adı verilmektedir. Deniz seviyesinden en fazla 200 m yükseklikte ve kıyı bölgelerinde yaşayan karanfil ağaçları, çok eski zamanlardan günümüze kadar tıbbi olarak kullanılan değerli bir bitkidir. Gıda, kozmetik, tıp ve ilaç gibi geniş kullanım alanlarının yanında, kokusu ve aroması için de kullanılan karanfil, dünya ticaretinde önemli yer almaktadır (Kamatou, Vermaak, Viljoen 2012, Cortés-Rojas, Souza, Oliveira 2014).



Resim 3. Karanfil (*Syzgium aromaticum*) bitkisi (<http://www.mb-med.it> Erişim tarihi: 24.02.2019).

Karanfilin ticareti günümüzde gün geçtikçe artmaktadır. Özellikle Endonezya, Hindistan, Malezya ve Sri Lanka, karanfilin en çok yetiştirildiği Asya ülkeleridir. Karanfilin yıllık yaklaşık 8 000 hektar yetiştirildiği belirtilmektedir. Karanfil ekimi yapıldıktan sonra 4 yıl plantasyon dönümünden sonra tomurcuk vermeye başlar. Oluşan bu tomurcuklar el ile toplanır. Aroması, kokusu ve tıbbi özellikleri nedeniyle büyük ilgi gören karanfilin 2006 yılındaki pazar değeri 30-70 milyon ABD doları olduğu düşünülmektedir (Cortés-Rojas et al 2014, Kamatou, et al 2012).

Karanfil, daha çok bitkinin tomurcuklarından elde edilmesiyle birlikte yaprak ve çiçeklerinden de elde edilebilmektedir. Karanfilde yoğun miktarda fenolik asitler (%85) bulunmaktadır. Fenolik asit olarak en fazla miktarda gallik asit ve tanenler, daha sonra kafeik, ferulik, elagik ve salisilik asit olarak sıralanabilir. Fenolik asitlere göre daha düşük yoğunluklarda flavonoidler içermektedir. Kaempferol, kersetin ve bunun türevleri içerdiği flavonoidlere örnek olarak verilebilir. Çiçek ve tomurcuklardan elde edilen karanfil esansiyel yağının etken maddesi öjanoldür (eugenol). Yağın %75-85'ini oluşturan öjanolün yanında etken özellik gösteren maddeler %5-%15'ini oluşturan öjenol asetat ve β -kariyofileno'dur. Karanfil esansiyel yağında yaklaşık %2 oranında bulunan α -humulen önemli etkiler gösterebilmektedir. Bunlarla birlikte β -pinen, limonen, farnesol, benzaldehit, 2-heptanon ve etil heksanoat karanfil esansiyel yağının yapısında eser miktarlarda bulunan uçucu bileşiklerdir (Cortés-Rojas et al 2014, Hepokur 2018, Çoban ve Patır 2010).



Şekil 3. Öjenol ve öjenol asetat moleküler yapısı (Çoban ve Patır 2010)

2.8. MİKROORGANİZMALAR

Mikroorganizmalar gözle görülemeyecek kadar küçük yapıda olan, mikroskop ve çeşitli boyama yöntemleri ile görülebilen, çeşitli fonksiyonel etkilere sahip canlılardır. Yeryüzünde milyonlarca türü olduğu (500 000-6 000 000) tahmin edilmekle birlikte bunların yaklaşık %5'i tanımlanabildiği düşünülmektedir (<http://www.mikrobiyoloji.org> Erişim tarihi: 24.02.2019). Dolayısı ile yeryüzünde bu kadar fazla miktarda bulunan mikroorganizmalar ile diğer tüm canlılar hayatlarının devamı için ortak bir yaşam döngüsü içerisindeyler (Çetin ve ark., 2015). İnsan vücudunda yaklaşık kendi hücrelerimizin sayısı kadar bakteri ile birlikte canlılıklarını devam ettirdikleri belirtilmektedir (www.bbc.com Erişim tarihi: 24.02.2019). Bu ortak yaşam hayatımızda yararlı ve zararlı sonuçlar ortaya çıkarabilmektedir. İnsan vücuduna yarar sağlayacak şekilde etki gösteren mikroorganizmalara yararlı mikroorganizmalar, çeşitli hastalıklara sebebiyet vermek gibi zarar verecek şekilde etki gösteren mikroorganizmalara zararlı mikroorganizmalar olarak tanımlanmaktadır. Canlı vücuduna zarar verecek şekilde etki gösteren mikroorganizmalar patojen olarak tanımlanırken, faydalı şekilde etkiler gösteren mikroorganizmalara flora veya mikrobiyota denilmektedir. Vücudumuzda birlikte yaşadığımız bu ortak olarak yaşadığımız bakterilerin besinlerin kazınılması, bazı vitaminlerin üretimi, bağırsak etkinliğinin gelişmesi gibi yararlı etkilerinin yanında bağırsak hastalıkları, obezite gibi hastalıklara da neden olabilmektedirler (Curtis and Sperandio 2011, Çetin ve ark. 2015, Ferreira, Caetano, Antunes, Finlay 2010).

Flora mikroorganizmaları vücudumuzda topluluklar halinde bir arada bulunmaktadır. Zararlı ve yararlı mikroorganizmalar olarak ayrılan mikroorganizmalar insan vücudunda bazı durumlarda kesin çizgiyle ayrılamamaktadır. Bir organda flora üyesi olan mikroorganizma başka bir organda bulunduğu takdirde patojen mikroorganizma olarak etki gösterebilmektedir. Bu etkiler çevre koşulları, bağışıklık sistemindeki zayıflıklar, disbiyozis gibi nedenlerle de ortaya çıkabilmektedir. Canlı vücudunda yararlı veya zararlı olarak yaşamlarını devam ettirebilen canlılar virüs, bakteri, arkeler ve bir hücreli ökaryotik canlılardır (Eberl 2010).

2.9. ESCHERICHIA COLI

2.9.1.Genel Özellikleri

E. coli, *enterobacteriaceae* familyasının *Escherichia* cinsi içerisinde yer alan, insan ve hayvan sağlığında oldukça önemli yere sahip bakteri türüdür. Bu bakteri türü ilk olarak Theodor von Escherich tarafından izole edilmiş ve tanımlanmıştır. *E. coli*' nin canlıların florasında yaşarlar. Bu bakterinin hem faydalı hem de zararlı etkileri bulunmaktadır. *E. coli* bakterisinin vücutta selülozun parçalanmasına ve K vitamininin absorpsiyonuna katkıda bulunması gibi yararlı etkilerinin yanında, üriner sistem enfeksiyonları, menenjit, gastrointestinal sistem hastalıkları gibi etkileri de vardır (Altındış 2013, <https://www.bakteriler.gen.tr> Erişim tarihi: 20.02.2019) , <http://www.mikrobiyoloji.org> Erişim tarihi: 20.02.2019).

2.9.2.Morfolojisi

E. coli, 1-1,5 µm eninde, 2-6 µm boyunda, gram negatif, çomak şeklinde, uçları yuvarlak, sporsuz, fakültatif anaerob bakterilerdir. *E. coli* çoğunlukla peritriş özelliğindeki kirpikleri sayesinde hareketlidir fakat bazı suşları hareketsiz olabilmektedir. *E. coli* genel üretim besiyerilerinde üreyebilmektedirler. Tryptic Soy Agar (TSA), Nutrient Agar, Kanlı Agar, Eosin methylen blue lactose agar (EMB), Mac Conkey Agar (MCA) ve diğer selektif besiyerilerinde 37°C'de 24 saatte gözlemlenebilirler. Optimum üreme sıcaklığı 37°C olmasına rağmen 22°C-44°C aralıklarında üremeleri mümkündür. Nutrient Broth, Tryptic Soy Broth (TSB) gibi sıvı besiyerilerinde homojen bulanıklık oluştururlar. MCB besiyerinde renk değişimine neden olmaktadır. Katı besiyerilerinde 2-3 mm çaplarında S tipi koloniler

oluştururlar (Altındış 2013, <http://www.mikrobiyoloji.org> Erişim tarihi: 20.02.2019), Özkuyumcu, Us, Sancak, Alp, Sarıbaş, Çakar 2009). *E. coli* bakterilerinin çeşitli biyokimyasal testleri ve sonuçları Tablo 4'te gösterilmiştir.

Tablo 4. *E. coli*'nin biyokimyasal testleri ve sonuçları (Altındış 2013, Özkuyumcu ve ark. 2009)

Biyokimyasal Testler	Reaksiyon
KIA	Dip sarı, yüzey sarı (Asit/Asit), glukozdan gaz oluşturur.
H ₂ S	Negatif
Hareket	Genellikle Pozitif
Üreaz Aktivitesi	Negatif
Lizin Dekarboksilasyonu	Pozitif
KCN	Negatif
Metil Kırmızısı Tesi	Pozitif
Sitrat Kullanımı	Negatif
İndol	Pozitif

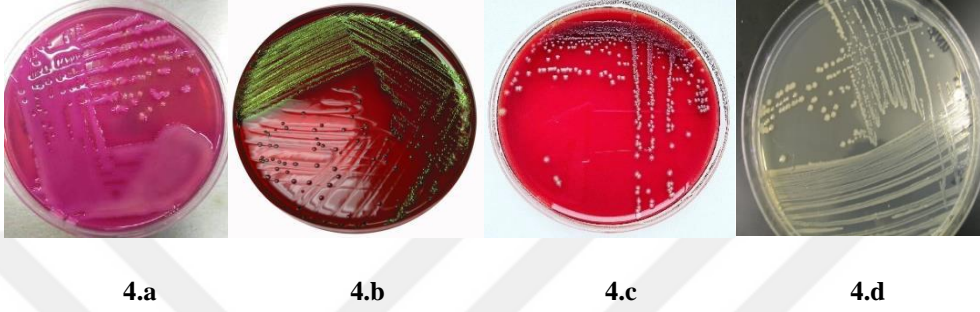
2.9.3. Patogenezi

E. coli hücrelere tutunma özelliğini sağlayan fimbrialar, hareketli suşlarında bulunan H antijenleri, hücre duvarlarında bulunan O somatik antijeni, kapsüllü suşlarında bulunan K antijeni önemli virülans faktörlerini oluşturmaktadır. *E. coli* bakterileri toplum kaynaklı enfeksiyonların en önemli sebeplerindendir. Üriner sistem enfeksiyonları, yeni doğan menenjit, gastrointestinal sistem hastalıkları en sık görülen etkileridir. Gastrointestinal sistem hastalıklarına neden olan altı grup *E. coli* bulunmaktadır.

- Enteropatojenik *E. coli* (EPEC)
- Enterotoksijenik *E. coli* (ETEC)
- Enterohemorajik *E. coli* (EHEC)
- Enteroinvaziv *E. coli* (EIEC)
- Enteroagregatif *E. coli* (EAEC)

- Difüz-Aderan *E. coli* (DAEC)

En tehlikeli formu olan O157:H7, sulu ve kanlı ishallerine neden olmaktadır. Özellikle gelişmemiş ülkelerde, hijyenik olmayan ortamlarda, kontamine olmuş etler ve sularla bulaş olmaktadır (Özkuyumcu ve ark. 2009).



Resim 4. *E. coli* katı besiyerindeki kolonilerinin görünümleri

4.a: MCA üremesi (<https://microbeonline.com> Erişim tarihi: 26.04.2019), **4.b:** EMB üremesi (<http://www.labprobio.com> Erişim tarihi: 26.04.2019), **4.c:** Kanlı Agar Üremesi (<https://tr.pinterest.com> Erişim tarihi: 26.04.2019), **4.d:** TSA Üremesi (<https://weddingsatwhisperingoaks.com> Erişim tarihi: 26.04.2019)

2.10. *SALMONELLA TYPHIMURIUM*

2.10.1. Genel özellikleri

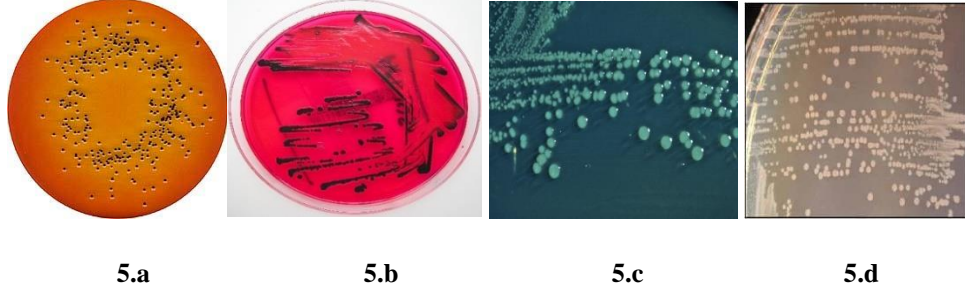
Enterobacteriaceae ailesinin *Salmonella* cinsine ait *Salmonella typhimurium* bakterileri enterik patojenlerdir. Ülkemizde de sıkça infeksiyonlara neden olmaktadır. Genellikle (%85) insanlar ve hayvanlar kirli sular ve gıdalarla bu bakterilerle infekte olurken, kişiden kişiye bulaşta söz konusu olabilmektedir (Uluğ, Çelen, Ayaz 2009). *Salmonella* kendi içerisinde çok büyük bir gruptur. Kauffmann-White şeması ile O antijeni, H antijeni ve Vi antijenine göre serotiplerine ayrılmaktadır. En sık rastlanılan serotipleri A, B, C1, C2, C3, D1 ve E1'dir. *S. typhimurium* B grubunda yer almaktadır (<http://www.mikrobiyoloji.org> Erişim tarihi: 26.04.2019), Özkuyumcu ve ark. 2009, <https://microbewiki.kenyon.edu> Erişim tarihi: 26.04.2019).

2.10.2. Morfolojisi

Salmonella cinsi bakteriler 0.4-0.6 µm eninde, 2-3 µm boyunda, çubuk şeklinde, Gram negatif bakterilerdir. Bazı türleri dışında genellikle hareketlidir. Sporsuz, kapsülsüz, fakültatif anaerop bakterilerdir. Genellikle S tipi koloni oluşturmalarına rağmen M tipi koloni oluşturanları da vardır. Optimum üreme sıcaklığı 37°C'dir. Fakat 7-48°C aralığında üreme yetenekleri vardır. Kristal viyole, malaşit yeşili, selenit gibi bazı kimyasal boyalara karşı dirençli oldukları için seçici besiyerileri kullanılarak çalışmalar yapılmaktadır. TSA, Salmonella-Shigella Agar (SS Agar), Heklosen Enterik Agar (HE Agar), Selenit F Agar, Xylose Lysine Deoxycholate Agar (XLD Agar) *Salmonella* cinsi bakterilerin ayırt edici besiyerileridir. *Salmonella* cinsi bakterilerin çeşitli biyokimyasal testleri ve sonuçları Tablo 5' te gösterilmiştir (Özkuyumcu ve ark. 2009, Altındış 2013).

Tablo 5. *S. typhimurium*'un biyokimyasal testleri ve sonuçları (Altındış 2013)

Biyokimyasal Testler	Reaksiyon	Reaksiyonu Veren <i>Salmonella</i> 'ların Yüzdesi
TSI/KIA glukoz (Asit Oluşumu)	Pozitif	100
TSI/KIA glukoz (Gaz Oluşumu)	Pozitif	91.9
TSI/KIA laktoz	Negatif	99.2
TSI/KIA Hidrojen Sülfid	Pozitif	91.6
TSI Sükroz	Negatif	99.5
Üre Hidrolizi	Negatif	99
Lizin Dekarboksilasyonu	Pozitif	94.6
Beta Galaktozidaz Reaksiyonu	Negatif	98.4
Voges-Proskauer Reaksiyonu	Negatif	100
İndol Reaksiyonu	Negatif	98.99



Resim 5. *S. typhimurium*'un katı besiyerindeki kolonilerinin görünümleri **5.a:** SS Agar üremesi (<http://www.merckmillipore.com> Erişim tarihi: 26.04.2019), **5.b:** XLD Agar üremesi (<https://www.flickr.com> Erişim tarihi: 26.04.2019), **5.c:** HE Agar Üremesi (<https://es.wikipedia.org> Erişim tarihi: 26.04.2019), **5.d:** TSA Üremesi (<https://paramedicsworld.com> Erişim tarihi: 26.04.2019)

2.10.3. Patogenezi

Salmonella cinsi bakteriler ısıya, kuruluğa, gün ışığına, çeşitli antiseptiklere karşı duyarlıdır. Fakat sulu ortamlarda, toprakta uzun yıllar yaşayabilirler. *Salmonella*'lar fırsatçı patojenlerdir ve hastalık yapabilmeleri için 10^5 - 10^8 kadar bakteri ile infekte olmak gerekmektedir. Soğuk yiyecekler, kirli sular ve toprak infeksiyonun ve salgınların en sık nedenleridir.

Salmonella bakterilerinin en sık görülen etkileri enterik ateş, gastroenterit, bakteriyemi, lokal infeksiyonlar ve asemptomatik taşıyıcılıktır. *S. typhimurium*'un neden olduğu, özellikle antibiyotikere karşı oluşan dirençler nedeniyle ortaya çıkan klinik tablo ise salmonellozdur (Uluğ ve ark. 2009, Özkuyumcu ve ark. 2009).

2.11. PSEUDOMONAS AERUGINOSA

2.11.1. Genel Özellikleri

Pseudomonaceae ailesinde yer alan türlerin sayısı oldukça fazladır (www.mikrobiyoloji.org.com Erişim tarihi: 20.02.2019). Türler pigment oluşturmalarına, metabolizmalarına ve rRNA homoloji sonuçlarına göre gruplara ayrılmaktadırlar (Murray 2007). Bu türler arasında en sık izole edilen ve I. Grup içerisinde yer alan tür olan *P. aeruginosa*, diğer *Pseudomonas* türleri gibi genellikle

toprak ve sulu ortamlarda yaşarlar. *P. aeruginosa*, ilk olarak Sedillot tarafından ameliyat yaralarında mavi-yeşil renkli etken olarak tanımlanmış, 1882 yılında Gessard tarafından saf kültür olarak elde edilerek tanımlaması yapılmıştır (Aydın 2011, Toutain, Zegans, O'toole 2005). Fırsatçı patojen özelliğinde olup sağlıklı kişilerde kolonize halde bulunabilirler (Özkuyumcu ve ark. 2009). *Pseudomonas aeruginosa*, insan, bitki ve hayvan patojeni olabilirler. Ayrıca gıdaların yüzeylerinde kolayca üreyebilmeleri, tutabilmeleri ve yüzeylerde mukoz salgılar ve okside ürünler oluşturmaları nedeniyle önem taşımaktadır (Şen ve Halkman 2006).

2.11.2. Morfolojisi

P. aeruginosa 1,5-3 µm boyunda, 0,5-0,8 µm eninde, sporsuz, kapsülsüz, hareketli, aerobik, glikozu parçalayabilen, düz veya hafif kıvrık Gram negatif basillerdir. Hareket özelliğini sağlayan kirpikleri veya flagellaları vardır. Çoğu suşunda mukoid koloni ve biyofilm oluşmasına neden olan alginat sentezi gerçekleşmektedir. Kolonileri mavi-yeşil renkte pigment oluştururlar ve aromatik meyve kokusuna benzer koku ile karakteristiktir (Özkuyumcu ve ark. 2009, www.mikrobiyoloji.org Erişim tarihi: 20.02.2019), Karaderi ve Kahraman 2017, Şen ve Halkman 2006). Her türlü ortamda üreyebilme yeteneği birçok karbon kaynağı kullanabilmesinden kaynaklanmaktadır. Optimum üreme sıcaklığı 30-37 °C olup alkali ortamlarda üreyebilmektedirler. Sıvı besiyerinde zar oluşu gösterir ve yoğun şekilde üreme gerçekleştirir (Özkuyumcu ve ark. 2009, Şen ve Halkman 2006). Katı besiyerinde mavi-yeşil renkli, mat ve yuvarlak olarak görülen tip 1 şeklinde, küçük, kabarık, konveks şekilde görülen tip 2, R tipi mukoid yapıda olan tip 3 koloni olmak üzere üç farklı koloni şekli görülebilmektedir (Şen ve Halkman 2006). Seçici besiyeri olarak Cetrimide agar kullanılmaktadır (Özkuyumcu ve ark. 2009).

Tablo 6. *P. aeruginosa*'nın biyokimyasal testleri ve sonuçları

Biyokimyasal Testler	Reaksiyon
Nieasta Sindirimi	Negatif
Pigment Oluşumu	Pozitif
Hareket	Pozitif
Asit Oluşumu	Pozitif (Glikoz oksidasyonu)
KCN	Negatif
H2S Oluşumu	Negatif
İndol	Negatif
Sitokrom Oksidaz	Pozitif
Amonyak Oluşumu	Pozitif
Hemoliz	Beta Hemolitik
Metil Kırmızı	Negatif

2.11.3. Patogenezi

P. aeruginosa idrar yolu, göz, kulak, deri enfeksiyonu, alt solunum yolu hastalıkları, sepsisemi, akut ve kronik akciğer enfeksiyonları, endokardit gibi birçok hastalığa neden olurlar. Hastalıkların oluşmasında konak ve bakteri faktörleri rol oynamaktadır.



6.a



6.b

Resim 6. *P. aeruginosa*'nın katı besiyerindeki koloni görünümleri

6.a: TSA üremesi (<http://www.oxid.com> Erişim tarihi: 26.04.2019), **6.b:** Ceftrimide agar üremesi (<http://www.novachem.com.ec> Erişim tarihi: 26.04.2019)

2.11.3.1. Konak Faktörler

P. aeruginosa, bütünlüğü bozulmuş deride (yanık, yara, dekübitüs ülseri, dermatit gibi) üreyerek enfeksiyonlara neden olurlar. Aynı etki bütünlüğü bozulmuş kornea yapısı, kemoterapi ve antibiyotik kullanımları sonucu bütünlüğü bozulmuş flora sistemleri üzerinde de görülmektedir. Kompleman ve lektinler tarafından tahrip edilmiş olan kişiler enfeksiyona karşı duyarlı haldedir. Bakteri miktarının fazla olması doku hasarlarına yol açmaktadır (Özkuyumcu ve ark. 2009).

2.11.3.2. Bakteri Faktörleri

Quorum sensing sistemi, *P. aeruginosa*'nın virulans faktörlerinin çalışmasında rol oynayan sistemdir. Bu sistemle bakteri etrafında bulunan popülasyonun yoğunluğunu algılayarak biyofilm oluşumu, toksin sentezi gibi mekanizmalarını aktifleştirirler. Diğer önemli virulas faktörlerinden olan adezinler bakteriye tutunma özelliği kazandırırken, bakterilerin uç kısımlarında bulunan pililer yüzeylerde biyofilm oluşumundan sorumludur (Özkuyumcu ve ark. 2009). Toplum ve hastane kaynaklı enfeksiyonlarından elde edilen izolatların genelinde bulunan flagellalar bulunmaktadır. Noraminidaz enzimi bakterilere epitel hücrelere enfekte olma yeteneği kazandırmaktadır (Özkuyumcu ve ark. 2009). Bakterileri fagositozdan ve antibiyotiklerden korumaya yarayan polisakkarit kapsüle alginat kılıf, glikokaliks gibi isimler de verilmektedir. Bu yapılar kronik solunum yolu ve kistik fibrozis hastalarından izole edilmişlerdir. Hücre duvar antijeni olan endotoksin aktivitesi, sepsis sendromlarından sorumludur. Piyosiyanın adı verilen pigmentler akciğerde epitel ve endotel hücrelerin tahribatına neden olmaktadır. Yanıklarda dermatonekroz, oküler enfeksiyonlarda kornea hasarı, kronik solunum yolu hastalıklarında doku hasarlarına yol açan virulans faktör ekzotoksin A'dır. Hücre dışı toksinler olan Ekzoenzim S ve T, hücrelerde protein sentezini inhibe ederek hasarlara yol açmaktadır. Elastazlar akciğerlerde lezyonlara ve parankimal hasarlara yol açmaktadır (Özkuyumcu ve ark. 2009, Alcorn and Wright 2004). Bunlarla birlikte konak hücrelerden demir alımını gerçekleştiren siderofor sistemi ile *P. aeruginosa* toplum ve hastanelerde ciddi enfeksiyonlara neden olmaktadır (Özkuyumcu ve ark. 2009, Mavrodi, Bonsall, Delaney, Soule, Phillips, Thomashow 2001, Meyer, Neely, Stintzi, Georges, Holder 1996).

2.12. STAPHYLOCOCCUS AUREUS

2.12.1 Genel Özellikleri

Staphylococcus cinsine ait türler *Micrococcaceae* ailesine ait türlerdir (Küçükçetin ve Milci 2007). *S. aureus* türünün inhibe edilmesine yönelik kullanılan ısıtım işlem uygulamasına karşı duyarlı türler olmasına rağmen salgıladıkları dayanıklı enterotoksinler ile zehirlenmelere neden olabilmektedirler (www.mikrobiyoloji.org Erişim tarihi: 20.02.2019), (Tükel ve Doğan 2000). *S. aureus* özellikle nişasta ve protein yönünden zengin olan gıdalarda gelişim gösterirler. Daha çok süt ve süt ürünleri (krema ve peynir başta olmak üzere) balık, patates, makarna, sığır etleri gibi çeşitli gıdalarda kolaylıkla üreyebildikleri ve zehirlenme vakalarının giderek arttığı görülmektedir (www.mikrobiyoloji.org Erişim tarihi: 20.02.2019), (Yaygın 1998). Gıda kaynaklı zehirlenmelerde önemli rolü olan *S. aureus* hem hastalık tedavilerinde kullanılan giderler hem de kontamine olan ürünler açısından ciddi kayıplara neden olabilmektedir (Küçükçetin ve Milci 2007, Erol ve İşler 2004).

2.12.2 Morfolojisi

Staphylococcus türleri gram pozitif ve sferik yapıya sahip, hareketsiz, sporsuz, katalaz pozitif, koagülaz pozitif, fakültatif anaerop veya aerop koklardır (Nakazawa and Hosono 1992, Özkuyumcu ve ark. 2009, Altındış 2013). Optimum üreme sıcaklığı 37 °C'dir. Gram boyama sonucunda preparatlarda üzüm salkımı şeklinde tek tek ya da gruplar halinde koklar görülür. *S. aureus* kolonileri 1-3 mm çapında kirli beyaz-sarı renkli ve düzgün şekillidir. Genellikle 18-24 saatte koloni oluşumu gözlemlenir. *S. aureus* kapsüllü bakterilerdendir. Bu özellik bakteriye fagositoz ve kompleman sistemden korunma yeteneği sağlamakla birlikte sentetik yüzeylere tutunma yeteneği de sağlamaktadır. *S. aureus* 'un virulans faktörleri ve etkileri tablo 7' de gösterilmiştir (Özkuyumcu ve ark. 2009, Altındış 2013).

Tablo 7. *S. aureus* 'un virulans faktörleri ve etkileri (Özkuyumcu ve ark. 2009)

Virulans Faktör	Etkileri
Kapsül	Antifagositik etki, adezyon
Protein A	IgG molekülünün Fc kısmına bağlanma
Sitotoksinler	Farklı hücreler üzerine sitolitik etki
Eksfoliatif Toksin	Hücreler arası bağların kırılması
Enterotoksinler	Besin zehirlenmesi
TSST-1	Süper antijen
Koagülaz	Fibrinojenin fibrine çevrilmesi
Katalaz	Hidrojen peroksidin parçalanması
Hyalüronidaz	Hyalünorik asidin parçalanması
Fibrinolizin	Oluşan pıhtının parçalanması
Lipaz	Lipitlerin parçalanması
Nükleaz	Nükleik asitlerin parçalanması
Beta-Laktamaz	Beta Laktam antibiyotiklerin hidrolizi



7.a

7.b

7.c

7.d

Resim 7. *S. aureus* Katı Besiyerilerindeki Koloni Görünümleri

7.a: TSA üremesi (<http://www.oxid.com> Erişim tarihi: 20.02.2019), **7.b:** MSA üremesi (<https://microbeonline.com> Erişim tarihi: 26.04.2019) **7.c:** Kanlı Agar üremesi (<https://www.tcd.ie> Erişim tarihi: 26.04.2019), **7.d:** Braid-Parker Agar üremesi (<http://www.biolifeit.com> Erişim tarihi: 26.04.2019)

2.12.3 Patogenezi

S. aureus gıda kaynaklı zehirlenmelerin önemli etkenlerinden biri olmakla birlikte birçok klinik tabloya yol açmaktadır. Bu bakteri türü insanlarda toksin üreterek veya dokularda invazyon şeklinde klinik tablolar oluşturmaktadır (Özkuyumcu ve ark. 2009, Küçükçetin ve Milci 2008). Toksinlerin inhibe edilmesi için kullanılan yöntemlerden olan ısıtma işlemine karşı dayanıklılık ortamın pH değerine ve tuzluluk oranına göre farklılıklar göstermektedir (Balaban ve Rasooly 2000). Gıda zehirlenmelerinde görülen karakteristik tabloların (kusma, ishal, bulantı vb.) şiddeti, toksinin tipine, miktarına ve kişilerin duyarlılığına bağlı olarak farklılık göstermektedir (Kınık, Gönç, Akalın 1998, Anonymous 2007). Kişilerin duyarlı olması durumunda toksin miktarının 0,1- 1,0µg olması yeterli olduğu düşünülmektedir (Su and Wong 1997). *S. aureus* toksinleri nedeniyle gıda zehirlenmesi, haşlanmış deri sendromu ve toksik şok sendromuna sebebiyet verirken, doku invazyonu ile impetigo, folikülit, selülit, yara enfeksiyonu gibi hastalıklara neden olmaktadır (Özkuyumcu ve ark. 2009). Bunlarla birlikte pnömoni, bakteriyemi, osteomyelit, endokardit, sepsis, toplum ve hastane kaynaklı enfeksiyonların önemli etkenlerinden biridir (Altındiş 2013, David and Daum 2010).

Stafilokok enfeksiyonlarında 1941 yılında penisilinlerin tedavi amaçlı kullanımlarıyla olgu sayılarında azalış meydana gelmiş fakat beta-laktamaz üreten izolatların ortaya çıkmasıyla birlikte penisilinlere dirençli bakteriler oluşturmuştur. Bu durumun etkisiyle tedavilerde metisilinler kullanılmaya başlamış fakat bir süre sonra metisilin dirençli *S. aureus* (MRSA) izolatları ortaya çıkmıştır (Culos, Cannon, Grim 2011, Özkuyumcu ve ark. 2009). Bakterilerdeki bu direnç oluşumu tedavileri güçlendirmiştir. Bu durum tedavide vancomisin kullanımına yönlendirmiş fakat bir süre sonra vankomisine duyarlı (VISA) ve vankomisine dirençli (VRSA) izolatlar gündeme gelmiştir. Ortaya çıkan bu izolatlar sefalosporin, eritromisin, oksasilin, tetrasiklin, kloramfenikol, gentamisin gibi birçok antibiyotiğe de direnç göstermekte oluşan bu durum tedavi korunmada yeni yöntem arayışlarına yönlendirmiştir (Özkuyumcu ve ark. 2009, Keyvan ve Özdemir 2016).

2.13 BACILLUS SUBTILIS

2.13.1. Genel Özellikleri

Yaygın olarak toprakta, bitki örtüsünde, suda ve havada bulunan *Bacillus* cinsi bakteriler, nadiren hastalıklara neden olurlar (Özkuyumcu ve ark. 2009, Altındış 2013). Oval spora sahiptir. Vegetatif ve spor formları bulunmaktadır. Vegetatif formu ısıt işlemlere, dezenfektanlara daha dayanıksızdır. Endospor oluşumu besin maddesi azaldığı, çevre koşullarının değiştiği durumlarda, asidik ortamlarda, osmotik basınç artışı gibi stres koşullarında korunma amacıyla ortaya çıkmaktadır (www.mikrobiyoloji.org.com Erişim tarihi: 20.02.2019), (Kaynar ve Beyatlı 2006, Bandow 2002). Optimum üreme sıcaklığı 25-35 °C olup oda sıcaklığında kolaylıkla üreyebilmektedirler. Bu durum oda sıcaklığındaki besiyerlerinde kontaminasyonlara neden olabilmektedir (Özkuyumcu ve ark. 2013, Altındış 2013, Entrez Genome Project). Organik asit ve amonyumu karbon kaynağı olarak kullanarak kolay üreme sağlayabilirler (Kaynar ve Beyatlı 2006). Proteinleri amonyak oluşumu sağlayarak parçalarlar. Böylece ekmek, süt gibi besinlerin bozulmasına neden olurlar (Çon ve Gökalp 1997, Altındış 2013). Genellikle sterilizatör kontrollerinde kullanılırlar (Altındış 2013). *B. subtilis*, salgıladıkları amilaz, proteaz, inosin üretimi, ribozitler, pullulanaz, chitinaz, ksilanaz, lipaz ve amino asitler endüstriyel sektörde kullanılmaktadır. Bu enzimler endüstriyel enzimlerin yaklaşık %60'ını oluşturmaktadır (Aslım, Sağlam, Beyatlı 2002, Morikawa 2006).

2.13.2. Morfolojisi

Bacillus cinsi bakteriler çomak şeklinde, gram pozitif, aerobik, kapsüllü bakteridir (Altındış 2013). Kirpikleri sayesinde hareket edebilirler (www.mikrobiyoloji.org.com Erişim tarihi: 20.02.2019). Hücrenin şeklini koruyan, turgor basıncını dengede tutan, hücreyi dış etkenlerden koruyan peptidoglikan yapıda hücre duvarı bulunmaktadır (Schaechter 2006). Genellikle R tipi koloniler oluşturarak ürerler. *Bacillus* cinsi bakteriler 3-8 µm boyunda ve 1-1,5 µm eninde olabilmektedirler (www.mikrobiyoloji.org.com Erişim tarihi: 20.02.2019). *B. subtilis* saprofit bir bakteri türüdür. Böylece doğada madde döngüsünün devamına katkı sağlamaktadır (Piggot and Hilbert 2004).

Tablo 8. *B. subtilis*'in biyokimyasal testleri ve sonuçları

Biyokimyasal Testler	Reaksiyon
Katalaz	Pozitif
Hareket	Pozitif
Asit Oluşumu	Pozitif
Gaz oluşumu	Negatif
H ₂ S Oluşumu	Negatif
Amonyak Oluşumu	Pozitif
Pigment Oluşumu	Negatif

2.13.3. Patogenezi

Nadiren hastalık oluşturan *B. subtilis* türü bitkilerde mantar ilacı olarak kullanılabilir (EMBL EBI). Gıdalarda bozulmalara ve bundan dolayı gıda kaynaklı zehirlenmelere neden olabilirler (Altındış 2013, www.mikrobiyoloji.org.com Erişim tarihi: 20.02.2019). Özellikle bağışıklık sistemi baskılanmış olan kişilerde menenjit, endokardit, endoftalmit, gastroenterit gibi çeşitli hastalıklara sebebiyet vermektedir (Altındış 2013). Ayrıca göz ve dokularda enfeksiyon etkeni olarak görülebilmektedir (www.mikrobiyoloji.org.com Erişim tarihi: 20.02.2019).



Resim 8. *B. subtilis*'in TSA besiyerindeki koloni görünümü

(<https://www.imgrumweb.com> Erişim tarihi: 26.04.2019)

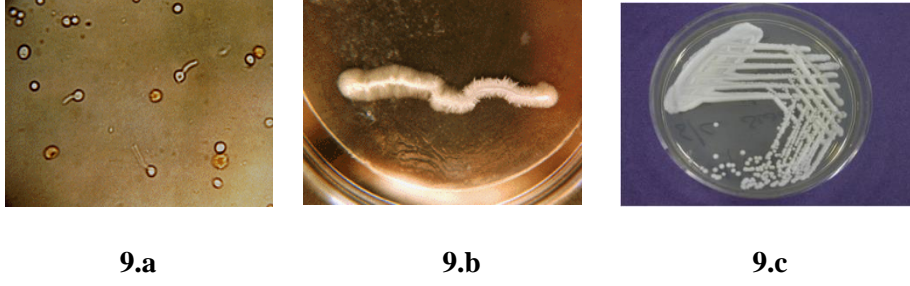
2.14. CANDIDA ALBICANS

2.14.1. Genel Özellikleri

Candida cinsi *Cryptococcaceae* ailesinde yer alır (Yücel ve Kantarcıoğlu 1999). Doğada yaygın olarak bulunan *Candida*, insanlarda ve hayvanlarda kommensal ve fırsatçı patojen şeklinde bulunabilen polimorfik yapıda olan mayadır. Bitkisel içerikli ve nemli ortamlarda ve toprakta yaşamlarını sürdürebilirler (Altındış 2013, Aydın ve Ataoğlu 2015, Seyedmousavi, İlkit, Durdu, Ergin, Hilmioğlu Polat, Melchers, Verweij 2015). Üremeleri, hücrelerinin yalancı miseller oluşturarak tomurcuklanması şeklinde gerçekleşir. *C. albicans* bütün memelilerin ve kuşların sindirim sistemlerinde normal flora üyesi olarak bulunabilmektedirler (Yücel ve Kantarcıoğlu 1999, Altındış 2013).

2.14.2. Morfolojisi

Candida türleri genellikle 2-8 x 3-15 mm boyutlarında, küremsi, ökaryotik hücre yapısına sahip, 80 S ribozomu bulunan, fakültatif anaerop olarak yaşayan maya grubudur (Yücel ve Kantarcıoğlu 1999, Altındış 2013). *C. albicans* maya, pseudohif ve hif olmak üzere üç farklı morfolojide üreme gerçekleştirebilir (Sudbery, Gow, Berman 2004). *Candida* türlerinin araştırılmasında labroatuvarlarda genellikle Kanlı agar, EMB, MCA ve SDA besiyerileri kullanılmaktadır. Besiyerinde 1-2 gün içerisinde opak ve beyaz renkli koloniler şeklinde üremeler görülebilmektedir. SDA üzerinde 2-3 günlük koloniler hamur kıvamında ve krem rengi olarak görülmektedirler. Mısırunlu jeloz ve tween 80 gibi diğer besiyerilerine göre besin değerleri düşük olan ortamlarda üreyen kolonilerde zamanla stres ortamından korunmayı ve canlılık süresini artırabilmeyi amaçlayan klamidosporelerin oluştuğu görülmüştür. Ayrıca *C. albicans* diğer *Candida* türlerinden germ tüp testi ile ayrılabilir. Bu test, serum içerisindeki maya hücrelerinin 37 °C'de 2 saatlik inkübasyonu şeklinde yapılmaktadır. İnkübasyon sonunda, serumda asılı olarak oluşmuş olan filizlenmeler şeklinde çimlenme borularının oluşumu gözlemlenir ve bu durum *C. albicans*'ı diğer türlerden ayıran önemli bir özelliktir (Yücel ve Kantarcıoğlu 1999, Altındış 2013, Aydın 2004).



Resim 9. *C. albicans*'ın katı besiyerindeki koloni görünüşleri (Yücel ve Kantarcıoğlu 1999, Sharma et al. 2016)

9.a: İnsan serumunda çimlenme borusu; **9.b:** Mısır unlu agarda üreme; **9.c:** SDA üremesi

2.14.3. Patogenezi

Doğada yaygın olarak bulunan *Candida* türlerinin 200'den fazla türü olduğu bilinmektedir. Fırsatçı patojen özellikte olan *C. albicans* enfeksiyonlarda diğer türlere göre daha önemli etken olarak görülmektedir (Koçoğlu, Bayram ve Balcı 2005, Seyedmousavi et al 2015, Altındiş 2013). Genellikle kemoterapi, radyoterapi, geniş sıklıkla kullanılan antibiyotikler, steroid ilaçlar ve kateterizasyon gibi uygulamalara maruz kalan ve bağışıklık sistemi baskılanmış kişilerde enfeksiyon etkisi fazla görülmektedir. İnsanlarda ağız boşluğu, gastrointestinal sistem, yemek borusu, vajina ve vasküler sistemde maya enfeksiyonlarında en büyük etken *C. albicans*'tır. Proteazlar, adezinler, fosfolipazlar ve morfogenez gibi virulans faktörleri nedeniyle patogeneze yol açarlar (Calderone and Fonzi 2001, Koçoğlu ve ark. 2005, Pappas, Rex, Sobel, Filler, Dismuke, Walsh, Edwards 2004).

2.15. ASPERGILLUS BRASILIENSIS

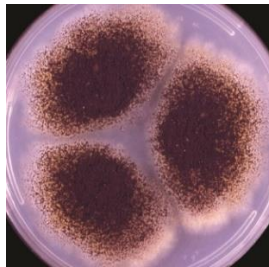
2.15.1. Genel Özellikleri

900'den fazla türü olduğu bilinen *Aspergillus* cinsinin bazı türleri, özellikle bağışıklık sistemi baskılanmış olan kişiler üzerinde patojen etki göstermektedir. Hastalık yapması için uygun şartların olması yeterlidir (Blum 2004, Ayberkin ve Çiftçi 2006). Toprakta, çürümüş bitkiler üzerinde, gübrelere ve ayrılmış halde bulunan organik maddelerde yaşamlarını sürdürürler. Hızlı üreme yeteneğine sahiptirler. Sporları havada asılı kalabilir ve kolaylıkla yayılabilirler. Günümüzde

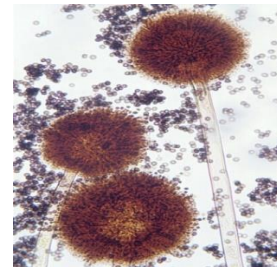
180'den fazla türünün olduğu ve bu türlerin 70'inin değişime uğrayarak yeni türler oluşturabildikleri düşünülmektedir (Ayberkin ve Çiftçi 2009, Kantarcıoğlu ve Yücel 2003). Doğadaki asıl görevleri karbon ve nitrojen döngüsüdür. Saprophyt olan bu mikroorganizmalar organik maddelerin ayrıştırılmasında kullanılırlar (Ayberkin ve Çiftçi 2009). Amilaz, lipaz gibi ürettikleri çeşitli enzimler nedeniyle endüstride kullanılmaktadırlar. Gıdaların bozulmaları üzerinde etkili canlılardır. Son yıllarda özellikle gelişmiş ülkelerde önemini artırmış durumdadır (Varga, et al 2000, Varga, et al 2007). Tür tanımlamaları konidili başların biçimlerine ve renklerine, sterigmata sayısına, vezikül biçimine, konidyoforların yapısına ve rengine, dinlenme hücrelerinin (hülle cells) biçimleri, üreme yapıları ve spor yapıları gibi etkenlere göre yapılmaktadır (Kantarcıoğlu ve Yücel 2003).

2.15.2. Morfolojisi

Aspergillus türlerinin dallanmış şekilde hifleri bulunur ve bu hiflerden ayrılmış şekilde olan tübüler yapılara konidioforlardan oluşurlar. Konidioforların uç kısımlarında spor halinde olan yapılara konidia adı verilmektedir. İnsanlar doğal ortamlarda günde birkaç yüz konidia soludukları düşünülmektedir (Ayberkin ve Çiftçi 2009, Kantarcıoğlu ve Yücel 2003). *Aspergilluslar* 2-3 µm çapında gıdalar ve bitkiler üzerinde siyah küfler şeklinde görülebilen mikroorganizmalardır (www.news-medical.net Erişim tarihi: 26.04.2019). N-glukozamin, mannoz, glukoz ve galaktozdan oluşan hücre duvarı vardır. Hızlı gelişim gösterirler. Genellikle pigment oluştururlar ve renkler türler arasında sarı, kırmızı, kahverengi, yeşil gibi farklılıklar gösterir. Bölmeli ve çekirdekli hifleri bulunur (Kantarcıoğlu ve Yücel 2003).



10.a



10.b

Resim 10. *A. brasiliensis*'in katı besiyerinde ve mikroskopik görüntüsü

(<https://mycology.adelaide.edu.au> Erişim tarihi: 20.02.2019)

10.a: SDA üremesi, 10.b: Mikroskopik görüntüsü

2.15.3. Patogenezi

Aspergillus enfeksiyonlarının şekli ve şiddeti, alınan spor miktarına ve kişinin bağışıklık durumuna göre farklılıklar göstermektedir. Solunum yolu ile alınan konodiyaların karşılaştıkları ilk engel makrofajlardır. Makrofajlar konodiyaları içe alarak yok ederler. *Aspergillusların* hifleri ise nötrofiller tarafından inhibe edilmektedir. Hastalık etkeni olan hif ve konodiyaların inhibe edilmeleri immün sistem tarafından değil fagositik hücreler tarafından yönetildiklerinden dolayı, immün sistemi zayıf bireyler tehlike altında değillerdir (Ayberkin ve Çiftçi 2009). Nötropeni görülen ve kemik iliği nakilleri olan kişiler *Aspergillus* enfeksiyonlarına karşı riskli gruplardır (Allam, Del Castillo, Diaz-Molina, Navajas 2002, Muller et al 2002). Virulans faktörleri hastalığın şiddetini belirleyici faktörlerdendir. En önemli virulans faktörleri sıcaklık toleransı, dimorfizm, kapsül/hücre duvarı ve ürettikleri enzimlerdir. Bu faktörler etkenin konak hücreye tutunumunu, kolonizasyonunu ve konak hücrenin savunma mekanizmasını inhibe ederek canlılığını sürdürebilmesini sağlar (Ghannoum 1995, Kantaroğlu ve Yücel 2003). *Aspergillusların* neden oldukları hastalıklar akciğer enfeksiyonu, sinüzit, serebral enfeksiyon, endokardit, perikardit, miyokardit, deri enfeksiyonları, kemik enfeksiyonları, göz enfeksiyonları ve kulak enfeksiyonları, alerjik sinüzit, aspergillom, otomikoz, şeklindedir (Ayberkin ve Çiftçi 2009).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 GEREÇLER

- Otoklav (Nüve, Turkey)
- İnkübatör (Nüve, Turkey)
- pH Metre
- Su Banyosu (memmert)
- LAF Kabini (biyogüvenlik) (holten)
- Dijital Kumpas
- Mikropipet (1000 µl)
- Mikropipet (100 µl)
- Mikropipet Ucu (Kirgen)
- Kuru Hava Sterilizatörü (Fırın) (Elektromag)
- Mezür (isolab)
- Kaba Terazı (dikomsan)
- Isıtıcılı Manyetik Karıştırıcı (Benchmark)
- Manyetik Balık
- Vortex (heidolph reax top)
- Çelik pens (S&H Labware)
- 1 lt kapaklı cam şişe (S&H Labware)
- 13 X 100 mm cam tüp (isolab)
- 7.5 X 75 mm cam tüp (isolab)
- 160 X 120 mm cam tüp (isolab)
- Pamuk
- Steril Eküvyon Çubuğu (LP Italiana)
- Tüp Standı
- Petri Kutusu (Fıratmed, 90 mm)
- Whatman Kağıdı No: 1.6 (Filterlab)
- Alüminyum Folyo

3.2 KİMYASALLAR/ REAKTİFLER

- Mueller Hinton Broth (BD)
- Mueller Hinton Agar (BD)
- Sabouraud Dextrose Agar (BD)
- Sabouraud Dextrose Broth (BD)
- Distile Su
- %0,9 Serum Fizyolojik (Distile Su + Sodyum klorid) (MERCK)
- McFarland Standardı (GBL)
- Tween 20 (MERCK)
- Potasyum Dihidrojen Fosfat (MERCK)
- Dipotasyum Hidrojen Fosfat (MERCK)
- Tarçın Yağı (Biofarma)
- Karanfil Yağı (Toroslar)
- Gentamisin
- Kanamisin
- Neomisin
- Streptomisin
- Ampicilline
- Amoxicillin klavulonik asit
- Oxytetracycline
- Doxycycline hiklat

3.3 MİKROORGANİZMALAR

- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 (KwikStik)
- *Escherichia coli* ATCC 8739 (KwikStik)
- *Staphylococcus aureus* ATCC 2312 (KwikStik)
- *Bacillus subtilis* ATCC 6633 (KwikStik)
- *Salmonella typhimurium* ATCC 14048 (KwikStik)
- *Candida albicans* ATCC 26790 (KwikStik)
- *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404 (KwikStik)

3.4 YÖNTEMLER

3.4.1 Hazırlık Aşaması

3.4.1.1. Mueller Hinton Broth Hazırlanması

Muller Hinton Broth (MHB) sıvı besiyeri hazırlanabilmesi için 22 g toz besiyeri kaba terazide tartıldı. Mezür ile 1 lt distile su ölçüldü. Tartılan besiyeri 1 lt şişe içerisine aktarıldı. Üzerine ölçülmüş olan distile su eklendi. Şişe içerisine manyetik balık atıldı ve kapağı kapatılarak çalkalandı. Şişe 50°C'ye ayarlanmış olan ısıtıcılı manyetik karıştırıcı üzerine koyuldu ve homojen karışım sağlanana kadar bekletildi. Homojen karışım oluştuktan sonra otoklava koyuldu ve 121°C'de 15 dakika sıvı programda steril edildi. Steril olan besiyeri otoklavdan alınarak 25°C'ye ayarlanmış olan su banyosunda soğuması için bekletildi. Uygun sıcaklığa gelmiş olan besiyeri Laminar Air Flow (LAF) kabini altına alındı. pH ölçümü için ayrı bir kaba numune alınarak pH metre ile ölçüm yapıldı. (7,3 ± 0,1). pH değeri uygun aralıklarda bulunan besiyerinden 10 ml numune alınarak sterilite kontrolü için 35±2°C'de inkübasyona bırakıldı.

3.4.1.2. Mueller Hinton Agar Hazırlanması

Mueller Hinton Agar (MHA) hazırlanabilmesi için 38 g toz besiyeri kaba terazide tartıldı. Mezür ile 1 lt distile su ölçüldü. Tartılan besiyeri 1 lt şişe içerisine aktarıldı ve üzerine ölçülmüş olan distile su eklendi. Şişe içerisine manyetik balık atıldı ve şişenin kapağı kapatılarak çalkalandı. Hazırlanan karışım 50°C'ye ayarlanmış olan ısıtıcılı manyetik karıştırıcı üzerine koyuldu ve homojen karışım sağlanana kadar bekletildi. Homojen karışım oluştuktan sonra şişe otoklava koyuldu ve 121°C'de 15 dakika sıvı programda steril edildi. İşlem sonrası besiyeri otoklavdan alınarak 50°C'ye ayarlanmış olan su banyosunda soğuması için bekletildi. Uygun sıcaklığa gelmiş olan besiyeri laf kabini altına alındı. pH ölçümü için ayrı bir kaba numune alınarak pH metre ile ölçüm yapıldı (7,3 ± 0,2). pH değeri uygun aralıklarda bulunan besiyeri steril petrilere 25 ml olacak şekilde döküldü ve agarın donması için beklendi. Bir petri sterilite kontrolü için 35±2°C'de inkübasyona bırakıldı.

3.4.1.3. Sabouraud Dextrose Agar Hazırlanması

65 g toz besiyeri kaba terazide tartıldı. Mezür ile 1 lt distile su ölçüldü. Tartılan besiyeri 1 lt şişe içerisine aktarıldı ve üzerine ölçülmüş olan distile su eklendi. Şişe içerisine manyetik balık atıldı. Şişenin kapağı kapatılarak çalkalandı. Şişe 50°C'ye ayarlanmış olan ısıtıcılı manyetik karıştırıcı üzerine koyuldu ve homojen karışım sağlanana kadar bekletildi. Homojen karışım oluştuktan sonra şişe otoklava koyuldu ve 121°C'de 15 dakika sıvı programda steril edildi. Steril olan besiyeri otoklavdan alınarak 50°C'ye ayarlanmış olan su banyosunda soğuması için bekletildi. Soğuyan besiyeri laf kabini altına alındı. pH ölçümü için ayrı bir kaba numune alınarak pH metre ile ölçüm yapıldı. (5,6 ± 0,2) pH değeri uygun aralıklarda bulunan besiyeri steril petrilere 25 ml olacak şekilde döküldü ve agarın donması için bekledi. Bir petri sterilite kontrolü için 23±2°C'de inkübasyona bırakıldı.

3.4.1.4. Sabouraud Dextrose Broth Hazırlanması

30 g toz besiyeri kaba terazi kullanılarak tartıldı. Mezür ile 1 lt distile su ölçüldü. Tartılan besiyeri 1 lt şişe içerisine aktarıldı ve üzerine ölçülmüş olan distile su eklendi. Şişe içerisine manyetik balık atıldıktan sonra kapağı kapatılarak çalkalandı. Şişe 50°C'ye ayarlanmış olan ısıtıcılı manyetik karıştırıcı üzerine koyuldu ve homojen karışım sağlanana kadar bekletildi. Homojen karışım oluştuktan sonra şişe otoklava koyuldu ve 121°C'de 15 dakika sıvı programda steril edildi. Steril olan besiyeri otoklavdan alınarak 50°C'ye ayarlanmış olan su banyosunda soğuması için bekletildi. Soğuyan besiyeri laf kabini altına alındı. pH ölçümü için ayrı kaba numune alındı ve pH metre ile ölçüm yapıldı. (5,6 ± 0,2) pH değeri uygun aralıklarda bulunan besiyerinden 10 ml numune alınarak sterilite kontrolü için 23±2°C'de inkübasyona bırakıldı.

3.4.1.5. %0,9 Serum Fizyolojik Hazırlanması

9 g Sodyum Klorid tartıldı. Mezür ile 1 lt distile su ölçüldü. 1 lt kapaklı cam şişe içerisinde tartılan sodyum klorid ve ölçülen distile su karıştırıldı. Homojen karışım olana kadar çalkalandı. Homojen karışım oluştuktan sonra şişe otoklava koyuldu ve 121°C'de 15 dakika sıvı programda steril edildi.

3.4.1.6. 0.5 McFarland Standartında Mikroorganizma Hazırlanması

Kwik-stik ATCC bakteri suşları 100 ml MHB içerisinde ve MHA'da, mantar suşları ise 100 ml SDB içerisinde ve SDA'da inkübe edildi. Bakteriler 35°C'de, Küf-Mantarlar 23°C'de 24 saat inkübasyona bırakıldı. 160 X 120 mm cam tüpler alüminyum folyo ile sarılarak 180°C'ye ayarlanmış olan kuru hava sterilizatöründe 2 saat steril edildi. Steril olan tüpler laf kabini altında tüp stantlarına koyularak soğuması beklendi. 24 saat sonunda inkübasyondan alınan mikroorganizmalar laf kabini altına getirildi. Tüplerin üzerine mikroorganizmaların isimleri yazıldı ve isimlendirilmiş tüplere her bir sıvı besiyerinden 2 ml aktarıldı. McFarland No: 0.5 Standart solüsyon tüpü ile besiyeri içeren tüpler yan yana alındı. Bulanıklıkları eşit olana kadar besiyeri üzerine serum fizyolojik eklendi ve vortex ile karıştırıldı. Solüsyonlar 15-20 dakika 23±2°C'de inkübe edildi.

3.4.1.7. Tween 20 Hazırlanması

Ticari olarak satın alınmıştır. Esansiyel yağları seyreltme amacı ile çözücü olarak kullanılmıştır.

3.4.1.8. Fosfat Tampon Hazırlanması

0,523 g dihidrojen potasyum fosfat ve 16,73 g dipotasyum hidrojen fosfat tartıldı. 1 lt şişe içerisine koyuldu ve üzerine mezür ile 1 lt deiyonize su ölçülerek eklendi. Homojen karışım sağlanana kadar çalkalandı. Karışım sağlandıktan sonra steril edilmek üzere 121 °C' de 15 dk program ayarlanarak otoklava koyuldu.

3.4.1.9. Kâğıt Disk (Whatman Kağıdı) Hazırlanması

Filterlab whatman kağıdı delgeç ile delinerek kâğıt diskler elde edilmiştir. Bu diskler cam petri kabı içerisine alınarak, alüminyum folyo ile sarıldı. Petriler 1 atmosfer basınçta 160°C'ye ayarlanmış olan kuru hava sterilizatöründe 2 saat steril edildi.

3.4.1.10. Disk Difüzyon Testi Esansiyel Yağların Dilüsyonlarının Hazırlanması

Bitki esansiyel yağları ticari olarak satın alınmıştır. Tarçın yağı, karanfil yağı ve tarçın-karanfil yağı kombinasyonu için ayrı ayrı %10-%100 oranlarında konsantrasyonlar hazırlanmıştır. %10 oranındaki konsantrasyon hazırlanırken 0,9 ml Tween 20, 0,1 ml esansiyel yağ kullanılmıştır. %20 oranında konsantrasyon

hazırlanırken 0,8 ml Tween 20, 0,2 ml esansiyel yağ kullanılmıştır. %30 oranında konsantrasyon hazırlanırken 0,7 ml Tween 20, 0,3 ml esansiyel yağ kullanılmıştır. %40 oranında konsantrasyon hazırlanırken 0,6 ml Tween 20, 0,4 ml esansiyel yağ kullanılmıştır. %50 oranında konsantrasyon hazırlanırken 0,5 ml Tween 20, 0,5 ml esansiyel yağ kullanılmıştır. %60 oranında konsantrasyon hazırlanırken 0,4 ml Tween 20, 0,6 ml esansiyel yağ kullanılmıştır. %70 oranında konsantrasyon hazırlanırken 0,3 ml Tween 20, 0,7 ml esansiyel yağ kullanılmıştır. %80 oranında konsantrasyon hazırlanırken 0,2 ml Tween 20, 0,8 ml esansiyel yağ kullanılmıştır. %90 oranında konsantrasyon hazırlanırken 0,1 ml Tween 20, 0,9 ml esansiyel yağ kullanılmıştır. %100 oranında konsantrasyon hazırlanırken 1 ml esansiyel yağ kullanılmıştır.

3.4.1.11. Antibiyotik Disklerinin Hazırlanması

Diskler için NCLSI klavuzundan yararlanılarak antibiyotik hammaddeleri seçildi. Ticari olarak satılan standart antibiyotik disklerdeki miktarlara göre konsantrasyon hazırlandı. Steril edilen filtre kağıdına hazırlanmış olan antibiyotik solüsyonundan 5 µl emdilirdi. Tablo 10' da kullanılan antibiyotikler, kullanılan çözücü ve tartılan hammadde miktarı gösterilmiştir.

Tablo 9. Kontrol grubu antibiyotiklerin hazırlanması

Antibiyotik	Çözücü	Tartılan Miktar
Neomisin	Su	0,0348 mg
Gentamisin	Su	0,0312 mg
Streptomisin	Su	0,0250 mg
Kanamisin	Su	0,0360 mg
Amoxisillin	Su	0,0100 mg
Amoxisillin Klavunalik Asit	Fosfat Tampon	0,0200 mg
Tetracycline	Su	0,0300 mg
Doxycycline	Su	0,0300 mg

3.4.2. Uygulama Aşaması

3.4.2.1. Disk Difüzyon Testi Uygulaması

Her bir bakteri türü için MHA içeren beş petri ayarlandı. Donmuş olan MHA petrilerinin arka kısmı cam kalemi ile çizilerek ikiye ayrıldı. Ayrılmış olan bölümlere sıra ile %10- %100 e kadar oranlar yazıldı. Petrilerin üst kapağına esansiyel yağın ismi ve bakterinin ismi yazıldı. 0.5 McFarland standardına ayarlanmış olan bakteri süspansiyonundan steril pamuklu eküvyon çubuğuyla alınarak agarın tüm yüzeyine sürüldü. Petriler oda sıcaklığında kuruması için yaklaşık 15 dakika beklendi. Steril boş petri kapağı içerisine steril edilmiş olan çelik pens ile filtre kağıtları koyuldu. Tek kat olacak şekilde koyulmuş olan kâğıt diskler üzerine konsantrasyonları hazırlanmış yağ solüsyonlarından 0,01 ml emdirildi ve yağ emdirilmiş kâğıt diskler pens yardımı ile alınarak isimlendirilen petri bölümlerine dikkatlice bırakıldı. Her bir işlem öncesinde pens ucu bek alevi ile steril edildi. Disk yerleştirilmiş olan petriler $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ 'de ye ayarlanmış olan inkübatörde 16-18 saat inkübe edildi. Bu işlemler tarçın yağı, karanfil yağı ve bu iki yağ kombinasyonu için ayrı ayrı uygulandı.

3.4.2.2. Yayma Plak (Yayma Ekim) Testi Uygulaması

Her bir mikroorganizma için SDA içeren 10 petri ayarlandı. Petrilerin üzerine yağın ismi, mikroorganizma ismi ve dilisyon oranı yazıldı. 0.5 McFarland standardına ayarlanmış olan mikroorganizma süspansiyonundan steril pamuklu eküvyon çubuğu batırıldı. Pamuklu uç tüpün kenarına sürülerek çıkarıldı ve agarın tüm yüzeyine sürüldü. Petriler oda sıcaklığında kuruması için (yaklaşık 15 dakika) beklendi. Kuruyan agarların üzerine, eküvyon çubuğu ile esansiyel yağların dilisyonlarından sürüldü. Petriler $23\pm 2^{\circ}\text{C}$ 'de inkübe edildi. Bu işlemler tarçın yağı, karanfil yağı ve bu iki yağ kombinasyonu için ayrı ayrı uygulandı.

3.4.2.3. Sıvı Besiyeri Makrodilüsyon Testi Uygulaması

13 x 100 mm cam tüpler alüminyum folyo ile sarılarak 1 atmosfer basıncında 180°C 'ye ayarlanmış olan kuru hava sterilizatöründe 2 saat steril edildi. Steril olan tüpler LAF kabini altına getirildi ve tüp standına yerleştirilerek soğuması beklendi. Her bakteri için 7 tüp hazırlandı. Her tüpe sırası ile 1-7 arası numara verildi. Tüplerin üzerine bakteri ismi, yağ ismi ve tüp numarası yazıldı. Her tüpe 1 ml MHB koyuldu.

Birinci tüpe 1 ml esansiyel yağ koyularak pipetaj yapıldı. Birinci tüpten 1ml solüsyon alındı ve 2. tüpe aktarıldı ve pipetaj yapıldı. Bu şekilde altıncı tüpe kadar önceki tüpten birer ml alınarak syreltme işlemi yapıldı. En son altıncı tüpten 1 ml alınarak hacim sabit tutuldu. Dilüsyonu hazırlanmış olan her tüpün içerisine 0.5 ml (500 µl) 0.5 McFarland standardına göre hazırlanmış olan bakteri süspansiyonundan eklenerek pipetaj yapıldı. MHB içeren yedinci tüpe pozitif kontrol olabilmesi için esansiyel yağ koyulmadı. Her işlem basamağında pipet ucu değiştirildi. Her bir yağ için 1 ml MHB ve 1 ml esansiyel yağ içeren bir tüp negatif kontrol hazırlandı. Tüpler pamuk ile kapatılarak tüpler $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ 'de 16-20 saat inkübe edildi. İnkübasyon sırasında aralıklarla yağ çökmesine karşı tüpler hafifçe çalkalandı. Bu işlemler tarçın yağı, karanfil yağı ve bu iki yağ kombinasyonu için ayrı ayrı uygulandı.

3.4.2.4. Kontrol Grubu Antibiyotik Disklerin Disk Difüzyon Testi Uygulaması

Test edilecek bakteriler 0.5 McFarland bulanıklık standardına göre ayarlandı. Ayarlanan bakteri solüsyonu eküvyon çubuğu kullanılarak MHA petri yüzeyine ekildi. Oda koşullarında yaklaşık 15 dk kuruması için bekletildi. Kuruyan petrilere daha önce hazırlanmış olan antibiyotikli diskler yerleştirildi. Her bakteri için seçilen tüm antibiyotikler ayrı ayrı uygulandı. Yapılan test iki tekrarlı gerçekleştirildi.

3.4.2.5. Disk Difüzyon Testi Değerlendirmesi

İnkübasyon sonrasında kâğıt disklerin etrafında oluşan şeffaf zon kısmı dijital kumpas yardımı ile ölçüldü. Ölçülen değerlerin oranları, RSD değeri hesapları yapıldı. Sapma aralık değerinde olan sonuçlar belirlendi. Ölçüm sonuçları karşılaştırılıp yorumlandı.

3.4.2.6. Yayma Plak (Yayma Ekim) Testi Değerlendirmesi

Çalışmanın yapıldığı günden itibaren 24 saatte bir petrilere üremenin olup olmadığı takip edildi. Üremenin başladığı gün not edildi.

3.4.2.7. Sıvı Besiyeri Makrodilüsyon Testi Bulgularının Değerlendirilmesi

İnkübasyon sonunda tüplerin her birinden 50 µl alındı ve ikiye bölünmüş olan bakteriler için MHA, küf-mantarlar için SDA petrilere bölme ekildi. Petrilere bakteriler için $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ 'de, küf-mantarlar için $23\pm 2^{\circ}\text{C}$ 'de 16-20 saat inkübe edildi.

İnkübasyon sonrasında petrilere görülen üreme miktarları gözlemlendi ve kontrol için çalışma 2 kez tekrarlandı.



4 BULGULAR

4.1 ESANSİYEL YAĞLARIN DİSK DİFÜZYON TESTİ BULGULARI

Yapmış olduğumuz çalışmada iki farklı esansiyel yağın ayrı ayrı ve ikisinin birlikte olan kombinasyonunun (tarçın, karanfil, tarçın-karanfil), farklı konsantrasyonlarının *E. coli*, *S. aureus*, *B. subtilis* ve *P. aeruginosa* üzerine etkileri disk difüzyon yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Tarçın esansiyel yağı, karanfil esansiyel yağı ve bu iki yapın kombinasyonu olan yağ bileşiminin, kullanılan bakterilere karşı oluşan inhibisyon zonlarına ait bulgular aşağıdaki tablolarda gösterilmiştir (Tablo10, 11 ve 12).

Tablo 10. Tarçın esansiyel yağının farklı dilüsyonlarının çeşitli bakteriler üzerinde antimikrobiyal etki sonuçları

Yağ Dilüsyon Oranları (%)	<i>E. coli</i> (mm)	<i>S. typhimurium</i> (mm)	<i>P. aeruginosa</i> (mm)	<i>S. aureus</i> (mm)	<i>B. subtilis</i> (mm)
100	12,80	14,05	13,90	*	22,45
90	10,18	13,85	11,75	*	17,25
80	9,75	13,50	11,90	*	14,90
70	9,60	11,50	11,20	*	14,68
60	9,17	11,30	9,45	39,11	13,87
50	8,93	11,05	9,60	38,70	13,80
40	8,31	8,35	9,00	35,39	13,80
30	8,02	8,05	8,55	34,55	13,29
20	6,96	7,40	7,20	24,80	12,08
10	6,07	5,55	6,20	23,80	11,36

*: 39,11 mm zon çapından büyük değer

%100- %10 konsantrasyon aralığında değişen esansiyel yağ miktarlarında tarçın esansiyel yağı, ortalama olarak en az etkiyi *E. coli* gelişimi üzerine gösterirken en fazla etkiyi *S. aureus* gelişimi üzerine etki göstermiştir. *S. aureus* gelişimi üzerine %100- %70 konsantrasyonlarındaki etkisi ölçülemeyecek kadar büyük inhibisyon zonları meydana gelmiştir.

Tablo 11. Karanfil esansiyel yağının farklı dilüsyonlarının çeşitli bakteriler üzerinde antimikrobiyal etki sonuçları

Yağ Dilisyon Oranları (%)	<i>E. coli</i> (mm)	<i>S. typhimurium</i> (mm)	<i>P. aeruginosa</i> (mm)	<i>S. aureus</i> (mm)	<i>B. subtilis</i> (mm)
100	14,25	11,40	13,50	17,35	*
90	13,80	11,10	12,40	17,20	*
80	11,03	11,08	11,17	16,40	*
70	10,72	10,63	10,98	14,20	*
60	10,23	10,55	10,00	13,80	12,46
50	10,04	10,23	9,50	9,23	11,90
40	9,08	10,21	8,40	8,54	10,23
30	7,17	9,94	8,25	8,40	8,54
20	7,12	8,13	7,63	7,20	8,52
10	7,09	6,15	6,40	6,94	8,19

*: 39,11 mm zon çapından büyük değer

%100- %10 konsantasyon aralığında değişen esansiyel yağ miktarlarında karanfil esansiyel yağı, ortalama olarak en az etkiyi *P. aeruginosa* gelişimi üzerine gösterirken, *S. typhimurium* gelişimi üzerine olan etkisi *P. aeruginosa* gelişimi üzerine olan etkisine yakın değerde etki gösterdiği gözlemlenmiştir. Bununla birlikte en fazla etkiyi *B. subtilis* gelişimi üzerine etki göstermiş, %100- %70 konsantrasyon aralığındaki zon çapları ölçülemeyecek kadar büyük olduğu gözlemlenmiştir.

Tablo 12. Karanfil ve tarçın esansiyel yağlarının farklı dilüsyonlarının çeşitli bakteriler üzerinde antimikrobiyal etki sonuçları

Yağ Dilisyon Oranları (%)	<i>E. coli</i> (mm)	<i>S. typhimurium</i> (mm)	<i>P. aeruginosa</i> (mm)	<i>S. aureus</i> (mm)	<i>B. subtilis</i> (mm)
100	9,25	9,60	11,50	9,30	11,05
90	9,30	8,60	11,80	9,30	10,42
80	8,36	8,48	8,75	9,26	8,04
70	8,65	8,42	9,50	8,55	8,35
60	7,50	8,14	8,30	8,50	8,60
50	7,35	7,20	7,12	7,85	8,02
40	7,12	8,04	6,65	7,41	7,30
30	6,00	7,40	6,55	6,88	6,85
20	6,10	6,30	6,51	6,90	6,30
10	5,45	5,62	5,90	5,70	5,75

%100- %10 konsantasyon aralığında değişen esansiyel yağ miktarlarında tarçın ve karanfil esansiyel yağlarının birlikte kullanımları sonucu hazırlanan karışımlarda, ortalama olarak en az etkiyi *E. coli* gelişimi üzerine gösterirken en fazla etkiyi *S. aureus* ve *P. aeruginosa* gelişimi üzerine göstermiştir.

4.2 ESANSİYEL YAĞLARIN SIVI BESİYERİ MAKRODİLÜSYON TESTİ BULGULARI

Esansiyel yağların hangi konsantrasyonda etki göstermeye başladığını daha iyi gözlemleyebilmek için kullandığımız bakterileri sıvı besiyerindeki (MHB) MİK değeri araştırılmıştır. Aşağıdaki tablolarda esansiyel yağların her bir bakteri üzerinde etkili olduğu MİK değerleri gösterilmiştir. Yapılan çalışmada negatif kontrol tüplerinde herhangi bir üreme gözlemlenmemiştir. Pozitif kontrol olarak her bakteri için ayrı ayrı çalışılan test tüplerinin tümünde üreme gözlenmiştir. Tarçın esansiyel yağı MİK değeri için hazırlanan yoğunluklar ve bakteriler üzerindeki etki sonuçları Tablo 13' te gösterilmiştir. Tarçın esansiyel yağı *E. coli* ve *P. aeruginosa* üremesini %0,78 yoğunluğuna kadar olan aralıklarda inhibe etmiş, %0,78 yoğunluğunda üremeyi inhibe edemediğinden dolayı bakteri üremesine bağlı bulanıklık

Tarçın ve karanfil esansiyel yağlarının birlikteliği şeklinde hazırlanmış olan karışımın MİK değeri için hazırlanan yoğunluklar ve bakteriler üzerindeki etki sonuçları Tablo 15' te gösterilmiştir. *B. subtilis* için hazırlanan tüplerde üremeler gözlemlendiğinden dolayı esansiyel yağ oranı daha yüksek olacak şekilde dilüsyonlar hazırlandı. Tarçın ve karanfil esansiyel yağları *B. subtilis* üremesini %6,25 yoğunluğuna kadar olan aralıklarda inhibe etmiş, %6,25 yoğunluğunda üremeyi inhibe edemediğinden dolayı bakteri kolonileri görülmüştür. Dolayısıyla karanfil esansiyel yağının sıvı besiyerinde *B. subtilis* için MİK değeri %75 *P. aeruginosa* için %1,562 olarak tespit edilmiştir. Tüplerin yoğunlukları azaldıkça bakteri kolonilerindeki miktarın arttığı gözlemlenmiştir. *S. aureus*, *E. coli* ve *S. typhimurium* için yapılan analizde herhangi bir koloni oluşumu gözlemlenmediği için MİK değeri %0,78 olarak kabul edilmiştir.

Üremenin görülmediği dilüsyonlardan alınan örnekler daha sonra katı besiyerine aktarılarak (MHA), bakteriler üzerinde üremeyi baskılayıcı etkinin devam edip etmediği araştırıldı. Katı besiyerlerinin bir gecelik inkübasyonlarını takiben herhangi bir üremenin olmadığı gözlemlendi. Çalışmada ara sulandırılmalar yapılmadı ve inhibisyonun görüldüğü değerler MİK-MBK olarak ortak değerler olarak kabul edildi.

4.3 ESANSİYEL YAĞLARIN YAYMA PLAK (YAYMA EKİM) TESTİ BULGULARI

Kullandığımız esansiyel yağların mantar grubu olarak kullandığımız *C. albicans* ve *A. brasiliensis* türleri üzerine olan etkisini yayma plak yöntemi ile araştırdık. Test edilen petripler her 24 saatte bir kontrol edilmiş, agar üzerinde mikroorganizma kolonisi gözlemlenme durumuna göre kayıt yapılmıştır. Aşağıdaki tablolarda yapılmış olan testler neticesinde elde edilen antimikrobiyal etki sonuçları gösterilmiştir. İki mantar türü için de pozitif kontrol petrisi kullanılmış ve üçüncü günden itibaren üreme gerçekleştiği görülmüştür. Tablo 16'daki, tarçın esansiyel yağının %10- %100 arasında hazırlanmış olan konsantrasyonlarının *C. albicans* ve *A. brasiliensis* üzerine olan etkisinin önemli derecede yüksek olduğu, takip edilen 10 gün boyunca hiçbir petride *C. albicans* üremesi gerçekleşmediği görülmektedir.

ölçülemezken, *S. aureus* üzerindeki etkisi ölçülemeyecek kadar büyük olduğu görülmüştür. Yapılan bu testler iki tekrar olarak çalışılmıştır.

Tablo 19. Kontrol grubu antibiyotiklerin zon çapları

Antibiyotikler	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. typhimurium</i>	<i>B. subtilis</i>
Gentamisin	26,55	23,54	22,16	27,17	19,05
Neomisin	23,95	17,09	26,65	23,28	13,20
Kanamisin	25,80	12,84	24,48	23,16	9,48
Streptomisin	22,50	21,78	21,21	17,40	8,98
Ampicillin	*	—	24,54	26,35	17,66
Amoxicillin klavulanik asit	*	—	20,55	27,82	13,90
Tetracycline	34,20	14,38	25,05	21,90	9,79
Doxycycline	33,77	10,35	24,75	23,50	6,25

*: >34,20 mm zon çapı

—: Zon Çapı Görülmedi

4.5. TWEEN 20 DİSK DİFÜZYON TESTİ BULGULARI

Esansiyel yağlarla yapılan çalışmalarda kullanılan iki farklı çözücünün, çalışmada kullanılan bakteriler üzerindeki antimikrobiyal etkinlik testi sonuçları Tablo 20 ve tablo 21’ de gösterilmiştir. Disk difüzyon testi sonucunda %96 konsantrasyonundaki etanolün antibakteriyel etkisinin yüksek olduğu, tween 20’ nin ise antibakteriyel etkiye sahip olmadığı görülmüştür.

Tablo 20. Tween 20’ nin disk difüzyon testi zon çapları

TWEEN 20					
%	<i>S. aureus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. typhimurium</i>
100	0	0	0	0	0
100	0	0	0	0	0

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Tarçın ve karanfil esansiyel yağlarının ve bu iki yağın birlikteliği ile oluşan kombinasyonun antimikrobiyal etkilerinin incelendiği bu çalışmada disk difüzyon, yayma plak ve sıvı besiyeri kullanılarak makrodilüsyon ile MİK-MBC değeri tespiti yöntemleri kullanılmıştır. Yapılan tüm testler sonucunda kullanılan esansiyel yağlar çeşitli mikroorganizmalara karşı önemli ölçüde inhibe edici etkiler göstermiştir.

Esansiyel yağların birlikteliği ile elde ettiğimiz kombinasyon şeklinde yapılan analizde, her iki esansiyel yağın da iyi birer antimikrobiyal ajan olduğunu görüldüğünden dolayı, ayrı ayrı yapılan analizlerden daha yüksek inhibisyon zonu olmasını beklerken daha düşük zonlar elde edilmiştir.

Kullandığımız esansiyel yağların bakteriler üzerine olan kuvvetli etkisinin mantarlar üzerinde de gösterdiği görülmüştür. Esansiyel yağların *C. albicans* ve *A. brasiliensis* ile yapılan etkinlik çalışmasında yayma plak yöntemi kullanılmıştır. Yapılan 10 günlük inceleme sonucunda tarçın esansiyel yağının kullanıldığı petrielerde herhangi bir üreme gözlemlenmemiştir. Dolayısıyla tarçın esansiyel yağının mantarlar üzerinde %100 oranında inhibe edici etkisi olduğu görülmüştür. %10 konsantrasyon oranında karanfil esansiyel yağının kullanıldığı petride üçüncü gün, %20 konsantrasyon oranında karanfil esansiyel yağının kullanıldığı petride beşinci gün sonunda üreme başladığı görülmüş, hazırlanan diğer konsantrasyonları (%30- %100) içeren petrielerde 10. gün sonuna kadar herhangi bir üreme görülmemiştir. Tarçın ve karanfil yağının birlikteliği ile hazırlanmış olan kombinasyonun mantarlar üzerine olan inhibisyon etkisi, izlenen 10 gün boyunca petrielerde herhangi bir üreme görülmediğinden dolayı %100 olarak tespit edilmiştir. Elde edilen bu verilere göre yağların birlikte kullanımı ile daha kuvvetli etki oluşmuş olması ve mantarların üremelerinin engellenmiştir şeklinde sonuca varılmıştır. Uçucu yağ yapısında olan esansiyel yağların 10 gün boyunca etkisini göstermiş olması, düşük konsantrasyon ve aktiflikte olmasına rağmen yüksek inhibisyon etki gösterebildiği tespit edilmiştir.

Aydın Duman (2008) çalışmasında karanfil yağının *E. coli* ve *S. aureus* üzerindeki etkilerini araştırmıştır. Sonucunda karanfilin *E. coli* gelişimini engellediğini fakat *S. aureus* üzerinde önemli derecede etki görüldüğü belirtilmiştir. Bizim yaptığımız bu çalışmada elde ettiğimiz veriler *B. subtilis* ve *S. aureus*'un karanfil esansiyel yağına karşı duyarlı etki gösterdiği yönündedir. Bu nedenle Aydın Duman (2008) tarafından yapılan çalışmadaki sonuçlarla farklılıklar elde edilmiştir.

Bitki esansiyel yağlarının antibakteriyel etkinliğinin tespitinden sonra bu etkinliğin sebebi araştırma konusu olmuştur. Araştırmaya esansiyel yağların içerisinde bulunan kompleks yapıdaki kimyasal bileşenlerin (terpenler, fenilpropanlar, azot ve kükürt gibi) ayrıştırılmaları ve tanımlamalarıyla devam edilmiştir. Ceylan (1987) yaptığı araştırmada bu kimyasal bileşenlerin mikroorganizmalar üzerinde kuvvetli öldürücü etkisi olduğu yönünde yapılmış birçok çalışma olduğunu belirtmiştir. Bir diğer çalışmada Cortés-Rojas ve ark. karanfil esansiyel yağının antibakteriyel etkinliğini araştırmış ve bu araştırma sonucunda *E. coli*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis*, *S. aureus* ve *C. albicans* üzerinde güçlü öldürücü etkisinin olduğunu belirtilmiştir. Bu etkinin en önemli faktörünün karanfil yağında yoğun miktarda bulunan öjenol olduğu belirtilmiştir. Bizim yaptığımız çalışmada daha önce yapılmış olan çalışmalarla aynı doğrultuda sonuçlar elde edilmiştir.

Toroğlu ve Çenet (2006) bitki esansiyel yağlarının etki mekanizmalarıyla ilgili yaptıkları araştırmada, her bir bitki esansiyel yağının farklı derecelerde etkiler göstermesinin, farklı mikroorganizmalara etki etmelerinin ve etki mekanizmalarının farklı şekillerde olmasının nedeninin, yapılarındaki kompleks yapıdaki bileşikler olduğunu söylemektedir. Beyaz (2014), bitki esansiyel yağlarının, yapılarında bulunan kimyasal bileşenlerin çeşidine ve miktarına göre hücrelere olan etkilerinin değişkenlik gösterdiğini, timol ve karkavol gibi bazı kimyasalların hücre membranını eriterek hücre içindeki materyallerin hücre dışına çıkmasına neden olurken terpenoidler ve fenilpropanoidlerin bakterilerde bulunan hücre çeperini parçalayarak etki gösterdiğini belirtmektedir. Aynı çalışmasında esansiyel yağların additif, sinerjik ve antagonistik etki şekillerinden bahsetmektedir. Bu etkiyi esansiyel yağların

birlikte buldukları durumlarda gösterdikleri etkinin ayrı ayrı bulduklarında gösterdikleri etkiden daha düşük olduğunu gösteren diğer araştırma sonuçlarıyla açıklamıştır. Çalışmamızda kullandığımız tarçın ve karanfil yağının aynı mikroorganizmalar üzerindeki farklı derecelerdeki etkileri ve kombinasyon şeklinde oldukları durumda ayrı ayrı oldukları duruma göre daha düşük değerler göstermiş olması yapılan diğer çalışmalarla uyumlu sonuçlar elde edildiğini göstermektedir.

Bazı yayınlarda bitkisel kaynakların yapısını oluşturan (öjenol, timol, humulon, lupulon, allil izotiyosiyanat) bileşiklerin antimikrobiyal özellikleri nedeniyle Gram pozitif bakteriler ve küfler üzerinde etkinlik gösterdiğini, kombinasyon şeklinde bulunmaları durumunda etkisinin daha kuvvetli olacağını belirtmektedir (Coşkun 2006).

Antimikrobiyal etkinlik araştırmaları yapılırken CLSI tarafından kabul edilen yöntemler kullanılmaktadır. Akgül (2014) yaptığı çalışmada *P. aeruginosa* ve *K. pneumoniae* üzerinde kekik, karabaşotu, boyacısumağı, acımık ve nane ruhu bitkilerinin etkilerini incelemiş, yağ çözücüsü olarak etanol kullanılmıştır. Antimikrobiyal etkinliği araştırırken agar kuyucuk difüzyon yöntemini kullanmış ve buradan elde ettiği sonuçları mikrodilüsyon broth yöntemi ile elde ettiği MİK değerlerini karşılaştırmıştır. Çalışma sonucunda *Pseudomonas*' ta yağın yoğunluğuna bağlı olarak zon çaplarında orantılı şekilde değişimler gözlemlenmiştir.

26 çeşit bitki ekstraktının antimikrobiyal etkinliğini inceleyen Duman Aydın (2008), karanfil yağının *E. coli* O157:H7, *S. aureus* ve *L. monocytogenes* suşlarını inaktive ettiğini belirtmiş. Tarçın, karanfil ve kekik yağlarının *B. subtilis*, *B. cereus* ve *S. aureus*, *E. coli* ve *S. typhimurium* üzerine olan etkilerini inceleyen Lu ve ark. (2011) çalışmasında, tarçın ve kekik yağının kombinasyonunun, seçilen tüm bakterilere karşı ayrı ayrı olan etkilerinden daha fazla etki gösterdiğini fakat tarçın ve karanfil yağı kombinasyonunun, *B. subtilis*, *B. cereus*, *S. aureus*'a üzerine etki gösterirken *E. coli* ve *S. typhimurium*'a üzerine etkisinin olmadığını tespit etmiştir. Göncü ve Akın (2017), yayınladıkları çalışmada zencefil, sarımsak, karanfil, kimyon, hardal,

Hindistan üzümü, aloe vera ve safran bitkilerinin metanol ile hazırlanmış olan ekstraktlarının *E. coli*, *B. subtilis*, *P. fluorescens*, *Serratia marscens*, *Citrobacter freundii*, *Klebsiella pneumonia*, *S. aureus* ve *Proteus vulgaris* bakterilerine karşı antimikrobiyal aktivitelerini test etmişlerdir. Yapılan deneyler sonucunda kimyon ve karanfilin kullanılan test mikroorganizmalarına karşı diğer kullanılan bitki türlerine oranla daha yüksek seviyede antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu belirlemişlerdir. Yapılan başka bir çalışmada adaçayı, biberiye, çörekotu, kimyon, karanfil, kekik ve bunların temel bileşenlerinin inhibitör etkileri analiz edilmiştir. Frag ve ark. (1989), yaptıkları çalışmada çeşitli uçucu yağların 0,25-12 mg/ml oranlarında dahi mikrobiyal gelişimi önlediği, uçucu yağların ve temel bileşenlerinin Gram negatif bakteriler üzerine, Gram pozitif bakterilere oranla daha etkili olduğu tespit edilmiştir. Araştırmada en etkili yağların kekik ve kimyon yağları olduğu belirlenmiştir.

Adıgüzel ve ark (2005), etanol, metanol ve hegzan kullanarak *Ocimum bacillum* ekstraktı hazırlamış ve antimikrobiyal etkinliğini araştırmışlardır. Sonucunda etanol ile hazırlanan örneklerin *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Escherichia* ve *Staphylococcus* üzerinde etkinlik gösterdikleri gözlemlenmiş, hegzan ve metanol kullanılarak hazırlanan örneklerin *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Brucella*, *Escherichia*, *Micrococcus*, *Staphylococcus* ve *Candida* üzerinde etkinlik gösterdiğini gözlemlemişlerdir.

Akarca (2015), pastörize sütlerle ile yaptığı araştırmada tarçının gıda koruyucu olarak kullanılabilirliğini incelemiştir. Bu araştırmada %0,2 oranında tarçın içeren sütün depolama süresinin uzadığı tespit edilmiştir. Evren ve Tekgüler (2011), araştırmalarında yer verdikleri çalışma örneklerinde Valero and Salmeron'un *B. cereus*'un 11 farklı esansiyel yağın inhibitör etkisini gözlemledikleri çalışmasında, karabiber ve defne esansiyel yağlarının kullanılan hiçbir dozda antibakteriyel etkisinin olmadığını, diğer esansiyel yağların ise farklı seviyelerde ölüm süresini uzattıklarını belirtmiştir. Bu esansiyel yağlardan en kuvvetli inhibitör etkiyi gösteren tarçın olduğunu, diğer esansiyel yağların etkinlik sıralaması tarçın> oregano> kekik> karanfil> adaçayı> biberiye> sasafra şeklinde olduğunu tespit etmişlerdir. Bu

araştırma sonucunda tarçın esansiyel yağının koruyucu olarak kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.

Faydaoğlu ve Sürücüoğlunun (2013), esansiyel yağların kullanım alanlarıyla ilgili yaptıkları bir araştırmada, tarçın, karanfil, yenibahar, biberiye, karabiber, mercanköşk, sarımsak, kimyon yağlarının üç farklı konsantrasyonunun etkinliklerini incelemiştir. En yüksek antimikrobiyal etkiyi gösteren yağların karanfil, tarçın, yenibahar ve biberiye olduğunu tespit etmişlerdir. Elde ettikleri sonuçların kullandıkları yağların yapısındaki öjenol ve cinnamaldehit bileşiklerinin özelliklerinden kaynaklandığını savunmuştur.

Tarçın, karanfil, yenibahar, kekik, kekik ve biberiye yağları kullanılarak bazı mikroorganizmalar üzerinde etkisinin incelendiği bir diğer çalışmada *S. typhi*, *S. aureus* ve *P. aeruginosa* üzerinde kuvvetli etkiler gözlemlenmiştir. Aynı çalışmada karanfil yağının bütün kullanılan yağlar içerisinde en güçlü etkiye sahip olan yağ olduğunu belirtmektedirler (Swamy et al, 2016).

Kekik ve karanfil yağının gıdada kitosan filmlerinin *S. aureus* üzerindeki etkisinin incelendiği çalışmada %0,5 ve %1 oranlarında yağ kullanılarak analiz yapılmıştır. Araştırma sonucunda kullanılan esansiyel yağların *S. aureus* üzerinde önemli derecede inhibisyon etkisinin olduğu ve gıda koruyucu olabileceği yönünde yorumlar yapılmıştır (Torlak ve Nizamoğlu, 2011).

Tarçın esansiyel yağının antifungal ve antibakteriyel etkisinin araştırıldığı bir çalışmada çeşitli konsantrasyonlar hazırlanarak *C. albicans* üzerindeki sonuçlar incelenmiştir. Sonucunda 5 µl' lik konsantrasyonda herhangi bir etki görülmemiş, fakat 10 µl' lik konsantrasyon yoğunluğda 6 mm' lik zon olduğu, hazırlanan diğer konsantrasyon yoğunluklarının artışıyla orantılı şekilde inhibisyon zonlarında artış gözlemlenmiştir (Yeşil ve ark. 2014).

Sakkas ve ark.'nın tarçın yağı ile yaptıkları çalışmada *S. aureus* üzerinde 31,7 mm, *E. coli* üzerinde 27,0 mm, *P. aeruginosa* üzerinde 16,0 mm, Acinetobacter üzerinde 27,8 mm çaplarında inhibisyon zonları ölçülmüş. Ağaoğlu ve ark.'larının (2007) kimyon, tarçın ve karanfil esansiyel yağlarının antimikrobiyal etkisinin araştırıldığı bir çalışmada ise *S. aureus* ve *E. coli* bakterilerine karşı disk difüzyon yönteminde 10-30 mm arasında inhibisyon zonu elde edilmiştir. Akdemir Evrendilek G. (2015) yaptığı çalışmada 14 farklı esansiyel yağ kullanmış ve Gram negatif- Gram pozitif bakteriler üzerindeki etkinliklerini incelemiştir. Çalışmanın sonucunda 14 yağdan arasından en etkili üç yağdan birinin tarçın esansiyel yağı olduğunu belirtmiştir. Elde ettiği verilere göre tarçın yağının *B. subtilis* üzerinde $27,9 \pm 4,8$ mm, *S. aureus* üzerinde $52,2 \pm 6,0$ mm, *E. coli* üzerinde $27,5 \pm 2,1$ mm ve *S. typhimurium* üzerinde $20,5 \pm 1,5$ mm çapında inhibisyon zonu oluştuğunu gözlemlemiştir. Aynı çalışmada kullandığı karanfil esansiyel yağının *B. subtilis* üzerinde $12,0 \pm 1,0$ mm, *S. aureus* üzerinde $11,0 \pm 1,0$ mm, *E. coli* üzerinde $10,7 \pm 0,6$ mm ve *S. typhimurium* üzerinde $8,8 \pm 0,3$ mm çapında inhibisyon zonu oluştuğunu gözlemlemiştir. Bizim çalışmamızda da yapılmış olan araştırmalarla benzerlik gösteren sonuçlar elde edilmiştir.

Esansiyel yağlarla yapılan çalışmalarda çözücü olarak kullanılan kimyasallar farklılıklar gösterebilmektedir. Bitki esansiyel yağlarının farklı kimyasal yapıda olmalarından dolayı her yağ aynı çözücüde aynı derece çözünmemektedir. Bu konuyla ilgili birçok çalışma yapılmıştır. Yapılan bir çalışmada asitli ve sulu çözücüler kullanılmış ve inhibisyon zonlarına bakıldığında farklı sonuçlar elde edilmiştir. Aynı çalışmada karanfil yağının asitli çözücüler ile aktifleştiği ve sonuç verdiği görülmüştür (Aydın duman, 2008). Tüney ve ark. (2006) tarafından yapılan başka bir çalışmada farklı çözücülerle bitki ekstraktları hazırlanmış ve elde edilen etkinlik sonuçlarını karşılaştırmışlardır. Çalışma sonucunda etanolle hazırlanan ekstraktlarının antibakteriyel ve antifungal etkileri daha yüksek bulunmuştur. Özellikle Gram negatif bakteriler ve candida türlerinin etkinlikleri etanolle hazırlanan ekstraktlarla daha iyi gözlemlendiği belirtilmiştir. Abu-shanab ve ark. (2006) yaptıkları çalışmada suyla ve etanolle bitki ekstraktları hazırlayarak etkinlik testi yapmışlardır. Çalışma sonucunda etanolle hazırlanan bitki ekstraktlarının disk

difüzyon testinde *S. aureus* üzerinde daha büyük inhibisyon zonları oluşturduğu gözlemlenmiştir. Yapılan bu çalışmada çözücü olarak tween 20 kullanılmıştır. Literatürlerde geçen bir diğer çözücü olan etanol ve bu çalışmada kullanılan tween 20, ayrı ayrı antimikrobiyal etkinliği disk difüzyon yöntemi ile incelenmiştir. Elde edilen verilere göre etanolün bakteriler üzerinde antimikrobiyal etkisinin yüksek olduğu, tween 20' nin ise herhangi bir antimikrobiyal etkiye sahip olmadığı sonucu görülmüştür. Bu nedenle, antimikrobiyal etkinin daha kesin sonuçlar verebileceği düşüncesiyle çözücü olarak tween 20 seçilmiştir.

Bitkilerden elde edilen esansiyel yağların antimikrobiyal aktivitelerinin araştırılması son zamanlarda tüm dünyada hız kazanmıştır. Bunun en önemli sebebi antibiyotiklerin sıklıkla kullanılmasından dolayı mikroorganizmaların dirençli formlarının oluşmalarıdır. Ayrıca kullanılan bu yoğun kimyasal içerikli ilaçların canlıların vücudunda yan etkiler oluşturmaları, toksit etkilerinin olmaları ve vücuttan kolaylıkla atılmadıkları için doğal koruyucular araştırmacıların önemli konularından olmuştur. Yapılan birçok çalışma da bitkisel kaynaklı koruyucuların mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal etkilerinin olduğunu kanıtlamaktadır. Fakat bu antimikrobiyal aktiviteleri belirlemek araştırmacılar için zor bir süreçtir. Araştırmalarda birçok standartize edilmiş yöntemler kullanılmaktadır.

Bitki esansiyel yağlarının aktiviteleri birçok nedene bağlı olarak farklılıklar göstermektedir. Bu nedenler, kaynak bitkinin yetiştirildiği coğrafik bölge, hasat zamanı, çalışmada kullanılan çözücü kimyasallar, yağın elde edilme yöntemleri, yağın saklama koşulları, etkinlik belirlemede kullanılan yöntem, kullanılan besiyeri ve pH değerleri, kullanılan esansiyel yağın kimyasal yapısı gibi sıralanabilir. Dolayısıyla yapılan bu çalışmada elde edilen sonuçlar kesin sonuçlar olmayıp, yapılmış olan diğer literatür çalışmaları ile farklılıklar gösterebilmektedir.

Sonuç olarak, yapılan bu çalışmada tarçın esansiyel yağı, karanfil esansiyel yağı ve bu iki yağın kombinasyonunun farklı konsantrasyonlarının *E. coli*, *S. aureus*, *B. subtilis*, *P. aeruginosa*, *S. typhimurium*, *C. albicans* ve *A. brasiliensis*'in gelişimi üzerine antimikrobiyal etkisi incelenmiştir. Tarçın ve karanfil esansiyel yağının kombinasyonunun hem bakteriler üzerinde hem de mantarlar üzerinde 10 farklı

konsantrasyonunun etkileri ilk kez değerlendirilmiştir. Böylece %10- %100 arasında hazırlanmış olan tüm konsantrasyonlarda elde edilen değerlerle yağların yoğunluklarına bağlı olarak inhibasyon derecelerinin orantılı olarak değiştiği görülmektedir. Elde edilen bulgular tarçın ve karanfil yağının toksisitesinin olmamasından dolayı, tıpta birçok alanda yapılacak çalışmalara gcl bir işik tutmaktadır. Elde edilen rakamsal veriler ileride daha detaylı yapılacak çalışmalar için de oldukça değerlidir. Sağlığın yanı sıra gıda, ilaç ve kozmetik gibi birçok alanda da farklı amaçlarla bu yağların kullanımına ait objektif ve nom inal değerler yine bu çalışmayla ortaya konmuştur..

Yapılan bu çalışmada *B. subtilis*, sterilizasyon testlerinde sıklıkla kullanılması, evre ve gıda kaynaklı kontaminasyonlara neden olması, fırsatçı patojen olarak etki gösterebilmesi nedeniyle araştırmaya dahil edilmiştir. *A. brasiliensis*, doğada kolaylıkla yayılabilmesi ve fırsatçı patojenik etkileri göstermesi ayrıca yapılmış olan diğer çalışmalarda ayrıntılı araştırma yapılmamış olması nedeniyle araştırmaya dahil edilmiştir.

Tüm bu veriler işığında çalışmanın, gerek kullanılan yöntemler gerekse de sonuçları bakımından daha sonra yapılacak araştırmalara gcl katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Abu-Shanab B, Adwan G, Jarrar N, Abu-Hijleh A, Adwan K. (2006). Antibacterial Activity of Four Plant Extracts Used in Palestine in Folkloric Medicine against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Turk J Biol*, 30 (2006) 195-198.
- Ağaoğlu S, Dostbil N, Alemdar S. (2007). Antimicrobial activity of some spices used in the meat industry. *Bull Vet Inst Pulawy* 51, 53-57, 2007.
- Akarca G, Kahraman A, Tomar O. (2015). Değişik oranlarda tarçın ilave edilmiş pastörize sütlerde raf ömrünün değişimi. *AKÜ FEMÜBİD* 15 (2015) 025401 (1-9).
- Akdemir Evrendilek G. (2015). Emprirical prediction and validation of antibacterial effects of various plant essential oils on common pathogenic bacteria. *International Journal of Food Microbiology*. 202 (2015) 35–41.
- Akgül Y. (2014). İdrar yolu enfeksiyonlarına neden olan *Pseudomonas aeruginosa* ve *Klebsiella pneumoniae* izolatlarına karşı bazı bitki ekstraktlarının antibakteriyel aktiviteleri. T.C. Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Nevşehir. (Danışman: Doç. Dr. Şahlan ÖZTÜRK).
- Alcorn JF., Wright, JR. (2004). Degradation of pulmonary surfactant protein D by *Pseudomonas aeruginosa* elastase abrogates innate immune function. *Journal of Biological Chemistry*, 279 (29), 30871-30879.
- Allam MF, Del Castillo AS, Diaz-Molina C, Navajas RF. (2002). Invasive pulmonary aspergillosis: Identification of risk factors. *Scand J Infect Dis* 2002; 34: 819-22.

- Altındış M, (Ed). (2013). Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvar Kitabı. Nobel Tıp Kitapevi, İstanbul.
- Aslım B, Sağlam N, Beyatlı Y. (2002) . Determination of some properties of Bacillus isolated from soil. *Turk J Biol*, 26: 41-48
- Ayberkin E, Çiftçi E. (2006). Çocuklarda Aspergillus enfeksiyonları. *Çocuk Enfeksiyon Hastalıkları Dergisi*. 1: 27-34.
- Aydın C, Ataoğlu H. (2015). Candida albicans maya hücre duvarında eksprese edilip hif duvarında edilmeyen β -1,2 mannan yapılarının monoklonal antikorlar ile gösterilmesi. *Mikrobiyol Bul* 2015; 49(1): 66-76.
- Aydın M. Kandida cinsi mantarlar (C. Albicans). Tıp ve Diş Hekimliğinde Mikrobiyoloji. Sa:1109, Güneş Yayınevi, 2004 Ankara.
- Aydın Ö. (2011). Tarçın, kimyon ve sumak adlı baharat türlerinden elde edilen su, etanol-su, metanol ve kloroform ekstraktlarının in-vitro antioksidant özelliklerinin belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Erzurum.
- Bäckhed F, Fraser MC, Ringel Y, Sanders ME, Sartor B, Sherman PM,, Versalonic J, Young V, Finlay B. (2012). *Cell Host & Microbe*. Volume 12, Issue 5,15 November 2012, Pages 611-622
- Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M. (2008). Biological Effects of Essential Oils-A Review. *Food and Chemical Toxicology*, 46: 446-475.
- Bayaz M. (2014). Esansiyal yağlar: antimikrobiyal, antioksidan ve antimutajenik aktiviteleri. *Academic food Journal*, 12(3) : 45-53.
- Bajpai VK, Baek KH, Kang SC. Control of Salmonella in foods by using essential oils: a review. *Food Res Int* 2012;45: 722-34.

- Balaban N, Rasooly A. (2000). Staphylococcal enterotoxins. *International Journal of Food Microbiology*, 61: 1-10.
- Bandow JE, Br H tz, Hecker M. (2002). Bacillus subtilis tolerance of moderate concentrations of rifampin involves the b-dependent general and multiple stress response. *Journal of Bacteriology*. 2002 Ocak; 184 (2): 459,467.
- Baytop T. (1986). Farmakognozi Ders Kitabı, Cilt I, İst. Üniv. Yay. İstanbul 1970; 4.baskı: İst. Üniv. Yay. No.3399, Ecz. Fak. Yay. No.51, Taş Matbaası, İstanbul.
- Berber İ, Avşar C, Çine N, Bozkut N, Elmas E. (2013). Sinop'da yetişen bazı bitkilerin metanolik ekstraktlarının antibakteriyal ve antifungal aktivitelerinin belirlenmesi. *Karaelmas Fen ve Mühendislik Dergisi / Karaelmas Science and Engineering Journal* 3 (1), 10-16, 2013.
- Blum MD, Wiedermann BL. Aspergillus infections. In: Feigin RD, Cherry JD, Demmler GJ, Kaplan SL, eds. *Textbook of Pediatric Infectious Diseases*, 5th ed. Philadelphia, Saunders 2004: 2550-60.
- Burt S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods-a review. *Int J Food Microbiol* 2004; 94:223-53.
- Calderone R. A., Fonzi W. A. (2001). Virulence factors of *Candida albicans*. *Trends in microbiology*. Volume 9, Issue 7, 1 July 2001, Pages 327-335.
- Ceylan A. (1987). Tıbbi Bitkiler II, *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları* No:481, s 1-22.
- Cortés-Rojas DF, Souza CRF, Oliveira WP. (2014). Clove (*Syzygium aromaticum*): a precious spice. *Asian Pac J Trop Biomed*. 2014 Feb; 4(2): 90–96.

Cowan T., "Plants products as antimicrobial agents", *Clin. Microbiol. Rev.* 12, 564-582, 1999.

Culos KA, Cannon JP, Grim SA. Alternative agents to vancomycin for the treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections. *Am J Ther* 2011 [Epub ahead of print] PubMed PMID: 21642833.

Curtis MM, Sperandio V. A complex relationship: the interaction among symbiotic microbes, invading pathogens, and their mammalian host. *Mucosal immunol.* 2011;4(2):133-8.

Çetin R, Güven GB, Tunçbilek V, Develi S, Aykutluğ Ö, Korkmaz A. (2015). Mikroorganizmalar ve insan vücudu ile olan etkileşimleri. *TAF Preventive Medicine Bulletin*. DOI: 10.5455/pmb.1-1422383762.

Çoban E. Ö., Patır B. (2010). Antioksidan etkili bazı bitki ve baharatların gıdalarda kullanımı. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*. Cilt: 5, No: 2, 2010 (7-19).

Çon AH ve Gökalp. (1997). Gıda mikrobiyolojisi. *Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Ders Notları Yayın no: 007, 23 s.* Mühendislik Fakültesi Basım Ünitesi. Denizli.

David MZ, Daum RS. (2010). Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: epidemiology and clinical consequences of an emerging epidemic. *Clin Microbiol Rev*, 23: 616–687.

Delaquis PJ, Stanich K, Girard B, Mazza G. (2002). Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oils. *International Journal of Food Microbiology*, 74, 101-109.

Duru ME. (1993). Liquidambar orientalis var. orientalis ve Liquidambar orientalis var. integriloba yapraklarından elde edilen uçucu yağın analizi. T.C. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Erzurum, (Danışman: Prof. Dr. Mansur Harmandar).

Eberl G. (2010). A new vision of immunity: homeostasis of the superorganism. *Mucosal immunol.* 2010;3(5):450-60.

Elgendy EM, Ibrahim HS, Elmecherry HF, Sedki AG, Mekhemer FU. (2017). Chemical and biological comparative in vitro studies of cinnamon bark and lemon peel essential oils. *Food and Nutrition Sciences.* 2017, 8, 110-125.

Entrez Genom Projesi, NCBI

Erdoğan EA., Everest A. (2012). Antimikrobiyal ajan olarak bitki bileşenleri. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi* 6 (2): 27-32, 2013.

Erol İ, İşler Ö. (2004). Stafilokokal enterotoksinler. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 51: 239-245.

European Pharmacopeia 9.2.- *Microbiological examination of herbal products and extracts.* (2.6.31).

European Pharmacopeia 9.2.- *Microbiological Quality Of Non-Sterile Pharmaceutical Preparations and Substances For Pharmaceutical Use.* Volume 01/2014:50104

European Pharmacopeia 9.2- *Microbiological Examination Of Non-Sterile Products: Test For Specified Micro-Organisms.* Volume 04/2010:20613

European Pharmacopeia 9.2- *Microbiological Examination Of Non-Sterile Products: Microbial Enumeration Tests*. Volume 07/2010:20612

Evren M, Tekgüler B. (2011). Uçucu yağların antimikrobiyel özellikleri. *Mikrobiyoloji Dergisi*, 9(3): 28-40.

Farag RS, Daw ZY, Hewedi FM, El-Baroty GSA. (1989). Antimicrobial activity of some Egyptian spice essential oils. *Journal of Food Protection*, 52 (9), 665– 667.

Ferreira RBR, Caetano L, Antunes M, Finlay BB. (2010). Should the Human Microbiome Be Considered When Developing Vaccines? *PLoS Pathog* 6(11): e1001190. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1001190>.

Ferreira RBR, Gill N, Willing BP, Caetano L, Antunes M, Russell SL, Croxen MA, Finlay BB. (2011). The Intestinal Microbiota Plays a Role in Salmonella-Induced Colitis Independent of Pathogen Colonization. *PLoS One*. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0020338>

Ghannoum MA, Edwards KE, Edwards JE Jr. (1995). Pathogenesis of fungal infections. *Baillière's Clinical Infectious Diseases*'de. Ed.F. Meunier. 1995; 2; 1-16.

Giese J, (1994). Spices and seasoning blends: A taste for all seasons. *Food Technol*. 48(4):87-98.

Güldemir O, Işık N. (2012). Tatlara Tat Katan Kabuk: Tarçın ve Osmanlı Mutfağındaki Yeri. 1. Türk Mutfak Kültürü Sempozyumu (Osmanlı Mutfak Kültürü). *Bilecik Şeyh Edebalı Üniversitesi Yayınları*, s. 311-334.

Hepokur C. (2018). Investigation of cytotoxic effects of *Eugenia caryophyllus* (clove). *Cumhuriyet Dental Journal*: 2018; 21(3).

Hulin V, Mathot AG, Mafart P, Dufosse L, (1998). Les Propriétés Antimicrobiennes des Huiles Essentielles et Composés D'arômes Sci. Aliments, 18, 563-582.

Kamatou GP, Vermaak I, Viljoen AM. (2012). Eugenol—From the Remote Maluku Islands to the International Market Place: A Review of a Remarkable and Versatile Molecule. *Molecules*. 17(6): 6953–6981.

Kantarcıoğlu AS, Yücel A. (1999). *Candida Albicans*'ın taksonomisindeki önemli bazı değişiklikler. *Elektronik Cerrahpaşa Tıp Dergisi*. 1999; 30 (3): 236-246.

Karaderi CC, Kahraman H. (2017). *Pseudomonas aeruginosa*'da bakteriyel hareketler (kayma, yüzme, titreme). *Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi TR* Yıl: 2017 Cilt: 15; Sayı: 2; Sayfa: 1-5.

Kavas G. (2017). Çörek Otu ve Tarçın Uçucu Yağ İlaveli Yumurta Beyazı Protein Tozu Esaslı Filmlerin Çökelek Peyniri Muhafazasında Kullanımı. *Ege Üniversitesi ziraat fakültesi dergisi*, 54 (4), 439-446. DOI: 10.20289/zfdergi.386549.

Kaynar P, Beyatlı Y. (2006). Balıklardan İzole edilen *Bacillus* cinsi bakterilerin bazı metabolik özelliklerinin belirlenmesi, plazmid DNA ve protein profillerinin incelenmesi. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*, 4(3) :1-30.

Keyvan E, Özdemir H. (2016). Sığır karkaslarında *Staphylococcus aureus*'un varlığı, enterotoksijenik özellikleri ve antimikrobiyal dirençliliği. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 63: 17-23.

Kılıç A. (2008). Uçucu yağ elde etme yöntemleri. *Bartın Orman Fakültesi Dergisi*, 10 (13): 37-45.

- Kınık Ö, Gönç S, Akalın S. (1998). Çiğ Sütte Patojen Mikroorganizmalar. *Uluslararası Sütçülük Federasyonu (IDF) Yayını. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları* No: 527, 284 s, İzmir.
- Koçoğlu E, Bayram A, Balcı İ. (2005). Klinik örneklerden izole edilen kandida türleri ve antifungal duyarlılıkları. *Van Tıp Dergisi*: 12 (3):195-200, 2005.
- Kunyanga CN, Imungi JK, Okoth MW, Biesalski HK, Vadivel V. (2012). Total phenolic content, antioxidant and antidiabetic properties of methanolic extract of raw and traditionally processed kenyan Indigenous Food Ingredients. *LW-Food Science and Technology*. 45: 269-276.
- Küçükçetin A, Milci S. (2008) . *Staphylococcus aureus* ile kontamine olan peynirlerden kaynaklanan gıda zehirlenmeleri. *Gıda* ,33 (3): 129-135.
- Kürekçi C, Sakin F. (2017). Uçucu Yağlar: Antimikrobiyal Açından Uçucu Yağlar: In-Vitro ve In-Vivo Çalışmalar. *Türkiye Klinikleri J Anim Nutr&Nutr Dis-Special Topics* 2017;3(1): 15-20.
- Lu F., Ding Y., Ye X., Ding Y. (2011). Antibacterial Effect of Cinnamon Oil Combined with Thyme or Clove Oil. *Agricultural sciences in China*, 10, 1482-1487. Doi: 10.1016/S1671-2927(11)60142-9.
- Mavrodi DV., Bonsall RF., Delaney SM., Soule MJ., Phillips G., Thomashow LS. (2001). Functional analysis of genes for biosynthesis of pyocyanin and phenazine-1-carboxamide from *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. *J Bacteriol*, 183 (21), 6454-6465.
- Meyer JM., Neely A, Stintzi A, Georges C, Holder IA. (1996). Pyoverdinin is essential for virulence of *Pseudomonas aeruginosa*. *Infect Immun*, 64 (2), 518-523.

Morikaw M. (2002). Endüstriyel bakteriler bacillus subtilis ve ilgili türlerin yararlı biyofilm oluşumu. *Biyobilim ve Biyomühendislik Dergisi*. 2006; Cilt 10, Sayı 1, 1-8.

Muller FM, Trusen A, Weig M. Clinical manifestations and diagnosis of invasive aspergillosis in immuno compromised children. *Eur J Pediatr* 2002; 161: 563-74.

Murray, P.R. (2007). Tıbbi Mikrobiyoloji (B. şener, Çev.). Ankara: Atlas Kitapçılık 734-748.

Nakazawa Y, Hosono A. (1992). Functions of fermented milk. *Elsevier Science Published Ltd*. 245 s, New York.

NCCLS: Methods for dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically-Fourth Edition; Approved Standard. NCCLS document M7-A4. NCCLS, 940 West Walley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087, 1997.

Njume C, Afolayan AJ, Ndip RN. (2009). An overview of antimicrobial resistance and the future of medicinal plants in the treatment of helicobacter pylori infections. *afr. j. pharm. pharmacol*. 3:685-699.

Özkuyumcu C, Us D, Sancak B, Alp A, Sarıbaş Z, Çakar A. (2009). Hacettepe Mikrobiyoloji Serisi-1 Klinik Bakteriyoloji El Kitabı. Güneş Tıp Kitapevleri, Ankara, s. 43-55, s. 103-131, s.155-163, s. 319-339.

Pappas PG, Rex JH, Sobel JD, Filler SG, Dismuke WE, Walsh TJ, Edwards JE. (2004). Infectious Diseases Society of America Guidelines for treatment of candidiasis. *Clin Infect Dis*, 38:161-89.

- Piggot PJ, Hilbert DW. (2004). Sporulation of *Bacillus subtilis*. *Curr. Opin. Microbiol.* 7: 579-586
- Saad NY, Muller CD, Lobstein A. (2013). Major bioactivities and mechanism of action of essential oils and their components. *Flav Frag J* 2013;28: 269-79
- Schaechter M, Ingraham JL, Neidhardt FC. (2006). Mikrop. (ASM Press, Washington, DC, (2006).
- Sekar S, Kandavel D. (2010). Interaction of plant growth promoting Rhizobacteria (PGPR) and endophytes with medicinal plants - *New Avenues for Phytochemicals. J. Phytology*, 2:91-100.
- Sekirov I, Tam MN, Jogova M, Robertson ML, Li Y, Lupp C, Finlay BB. (2008). Antibiotic-Induced Perturbations of the Intestinal Microbiota Alter Host Susceptibility to Enteric Infection. *American Society for Microbiology*. DOI:10.1128/IAI.00319-08.
- Sekirov I, Russell SL, Antunes LC, Finlay BB. Gut microbiota in health and disease. *Physiol Rev.* 2010;90(3):859-904.
- Seyedmousavı S, İlkit M, Durdu M, Ergin Ç, Hilmioğlu Polat S, Melchers W, Verweij P. (2015). Candida ve Kandidoz: epidemiyoloji, tanı, tedavi, antifungal ilaç direnci ve konağın genetik yatkınlığında güncel durum. *Türk Mikrobiyol Cem Derg*,45(1):1-11.
- Sharma H, Sudharshan S, Therese L, Agarwal M, Biswas J. (2016). Candida albicans Scleral Abscess in a HIV-positive patient and its successful resolution with antifungal therapy- a first case report. *Journal of Ophthalmic Inflammation and Infection* 6 (1) ·December 2016 with 235 Reads DOI: 10.1186/s12348-016-0092-1.

- Su YC, Wong ACL. (1997). Current perspectives on detection of staphylococcal enterotoxins. *Journal of Food Protection*, 60 (2) 195-202.
- Sudbery P, Gow N., Berman J. (2004). The distinct morphogenic states of *Candida albicans*. *Trends in microbiology* Volume 12, Issue 7, July 2004, Pages 317-324.
- Swamy MK, Akhtar MS, Sinniah UR. (2016). Antimicrobial Properties of Plant Essential Oils against Human Pathogens and Their Mode of Action: An Updated Review. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. Volume 2016, Article ID 3012462, 21 pages.
- Şen A, Halkman AK. (2006). Çiğ Sütte *Pseudomonas aeruginosa* sayılması için yöntem modifikasyonları üzerine çalışmalar. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*, 04 (02) : 2-13
- Şen A, Halkman AK. (2008). Çiğ sütte *Pseudomonas aeruginosa* sayılması için yöntem modifikasyonları üzerine çalışmalar. *Orlab On-Line Mikrobiyol. Derg.*, 4 (2): 2-13.
- Şengezer E, Güngör T. (2008). Esansiyel yağların hayvanlar üzerindeki etkileri. *Lalahan Hayvan Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 48(2): 101-110.
- Topuz E, Madanlar N. (2011). Bazı bitkisel kökenli uçucu yağların *Tetranychus cinnabarinus* (Boisduval, 1867) (Acari: Tetranychidae) üzerine kontakt ve repellent etkileri. *Türk. entomol. bült.*, 2011, 1 (2):99-107
ISSN
- Toutain CM., Zegans, ME., O'Toole, G.A. (2005). Evidence for two flagellar stators and their role in the motility of *Pseudomonas aeruginosa*. *J Bacteriol*, 187 (2), 771-777.

- Turhan D. (2015). Bazı Esansiyel Yağların Staphylococcus aureus ve Escherichia coli Üzerine Antimikrobiyal Etkisinin Araştırılması, İ.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul, (Danışman: Yrd. Doç. Dr. Funda Karbancıoğlu Güler).
- Tükel Ç, Doğan HB. (2000). Staphylococcus aureus. *Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları*, SS. 357-366, Sim Matbaacılık, Ankara.
- Tüney İ, Çadırcı BH, Ünal D, Sukatar A. (2006). Antimicrobial activities of the extracts of marine algae from the coast of Urla (İzmir, Turkey). *Turk J Biol*, 30 (2006) 171-175.
- Uçar E, Odabaş Köse E, Özyiğit Y, Turgut K. (2015). Bazı tıbbi ve aromatik bitkilerde esansiyel yağların antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi* 10 (2):118-124.
- Uluğ M, Çelen MK, Ayaz C. (2009). Çoklu İlaç Direnci Gösteren Salmonella typhimurium'un Neden Olduğu Salmonelloz Olgusu. *XXXI. Türk Mikrobiyoloji Kongresi* (19-23 Eylül 2004, Kuşadası, Aydın)
- USP 36. (2012). Members and delegates of the United States Pharmacopeial Convention as of May 30.
- Üner Y, Aksu H, Ergün Ö. (2000). Baharatın çeşitli mikroorganizmalar üzerine etkileri. *Journal of Fac. Vet, Mcd. Univ. İstanbul*.
- Varga J, Kevei F, Hamari Z, Tóth B, Téren J, Croft JH, Kozakiewicz Z. (2000). Genotypic and phenotypic variability among black Aspergilli. In *Integration of Modern Taxonomic Methods for Penicillium and Aspergillus Classification*, pp. 397–411. Edited by R. A. Samson and J. I. Pitt. Amsterdam: *Harwood Academic Publishers*.

Varga J, Kocsubé S, Tóth B, Frisvad JC, Perrone G, Susca A, Meijer M, Samson RA. (2007). *Aspergillus brasiliensis* sp. nov., a biseriata black *Aspergillus* species with world-wide distribution. *Int J Syst Evol Microbiol*, 57:1925-1932.

Yaygın H. (1998). Gıda ve Personel Hijyeni. *Yayınlanmamış Ders Notları*.

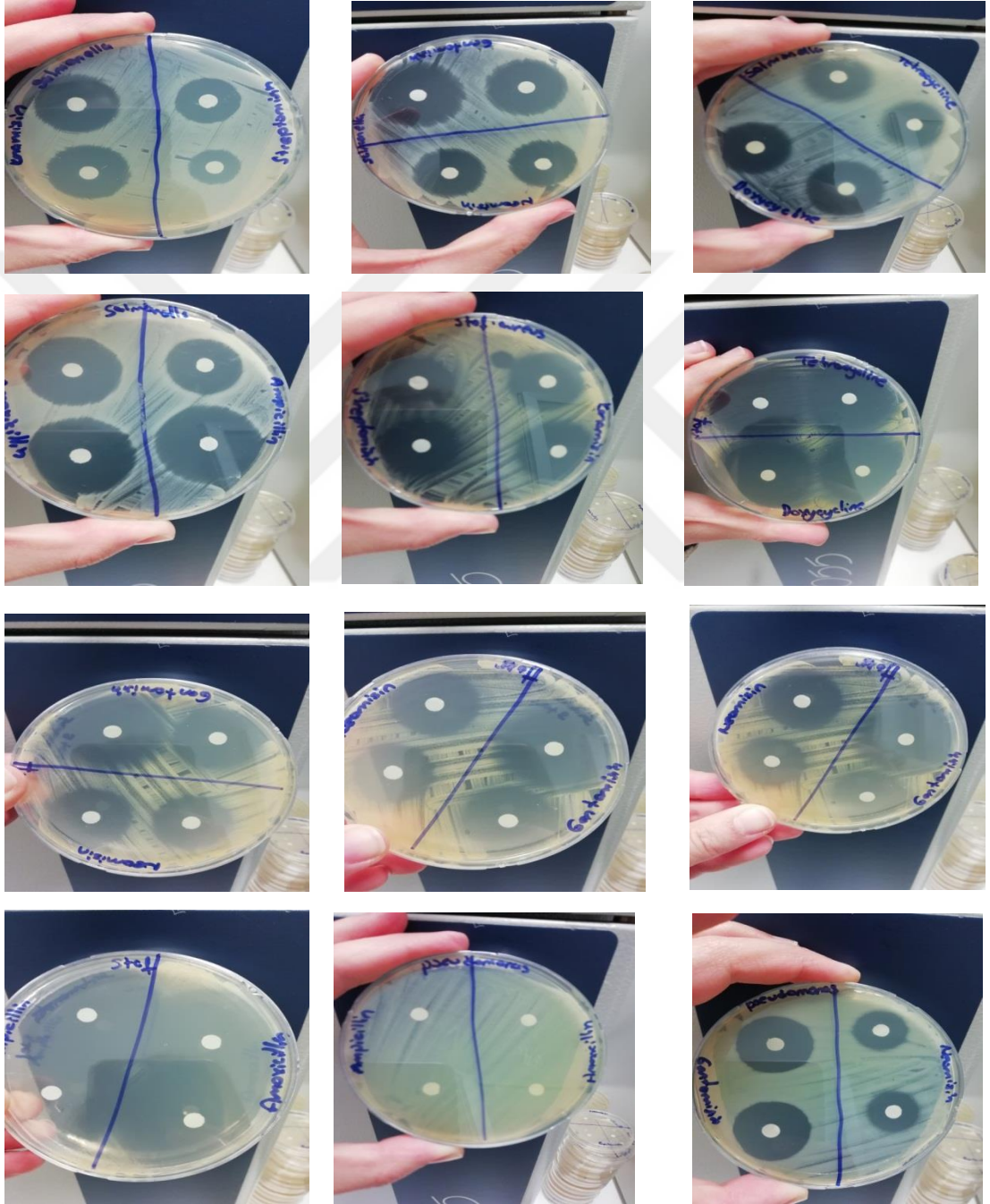
Yeşil M, Yeşil Duymuş Z, Özcan MM. (2018). *Cinnamomum zeylanicum* ve *Acmella oleracea* uçucu yağlarının antifungal ve antibakteriyel aktivitelerinin belirlenmesi. *Atatürk Üniv. Diş Hek. Fak. Derg.* Cilt:28, Sayı:3, Yıl: 2018, Sayfa, 348-352

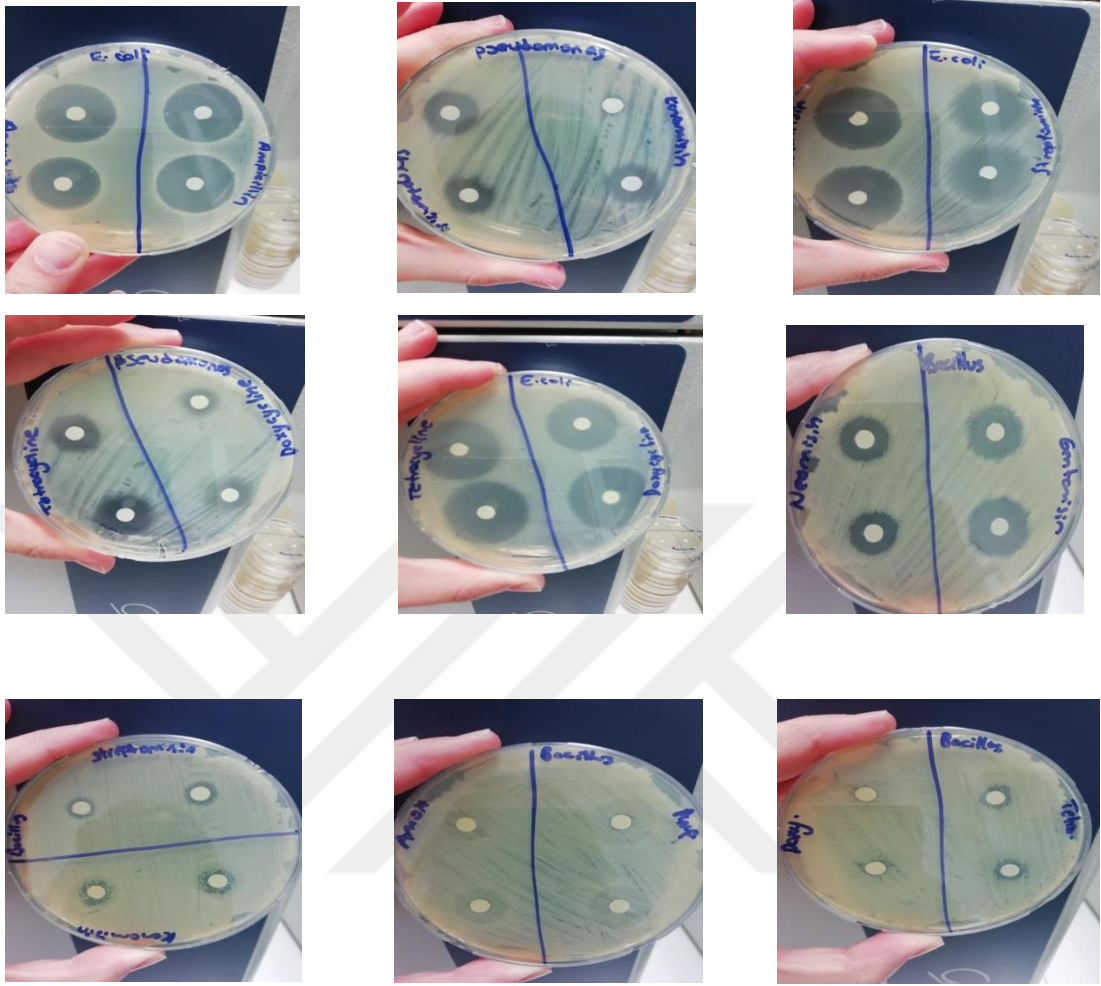
Zemheri F. (2015). Tarçının (*Cinnamomum zeylanicum*) ames testi ile mutajenik etkisinin araştırılması. *Kocatepe Vet J* (2015) 8 (2): 23 – 27.



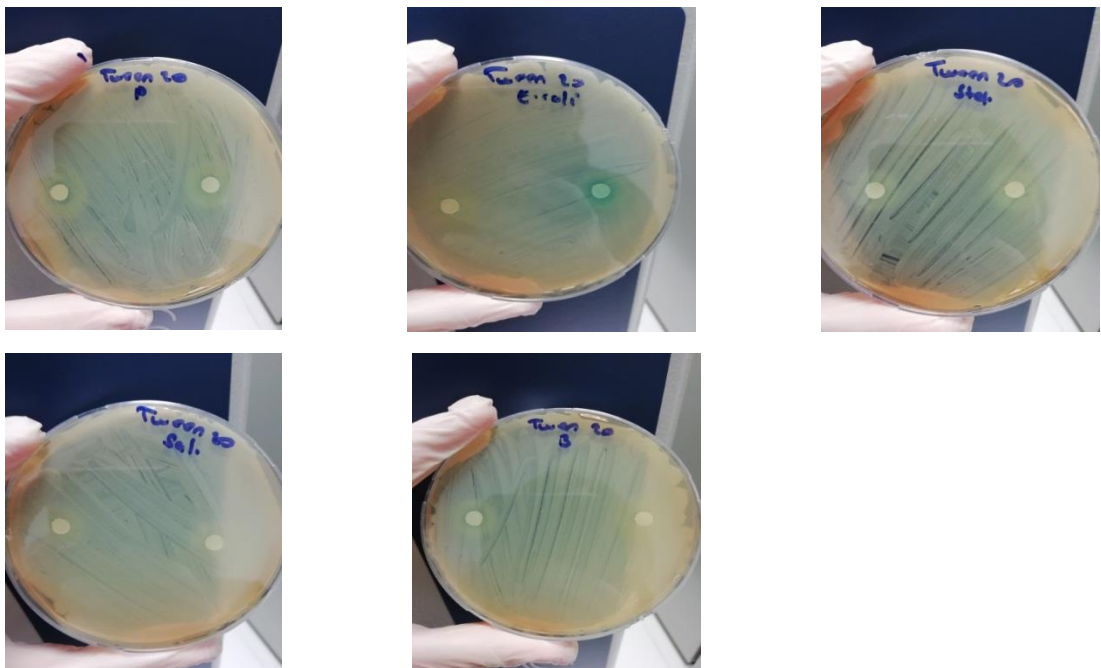
EKLER

Ek.1. Kontrol grubu antibiyotiklerin bakteriler üzerindeki etkisinin disk difüzyon testi ile belirlenmesi

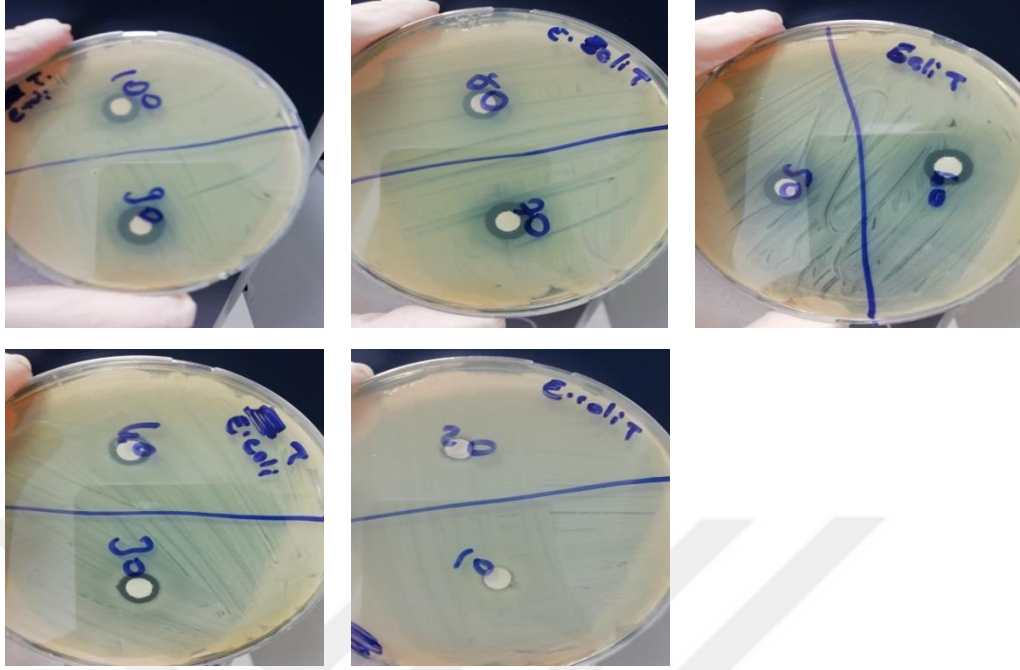




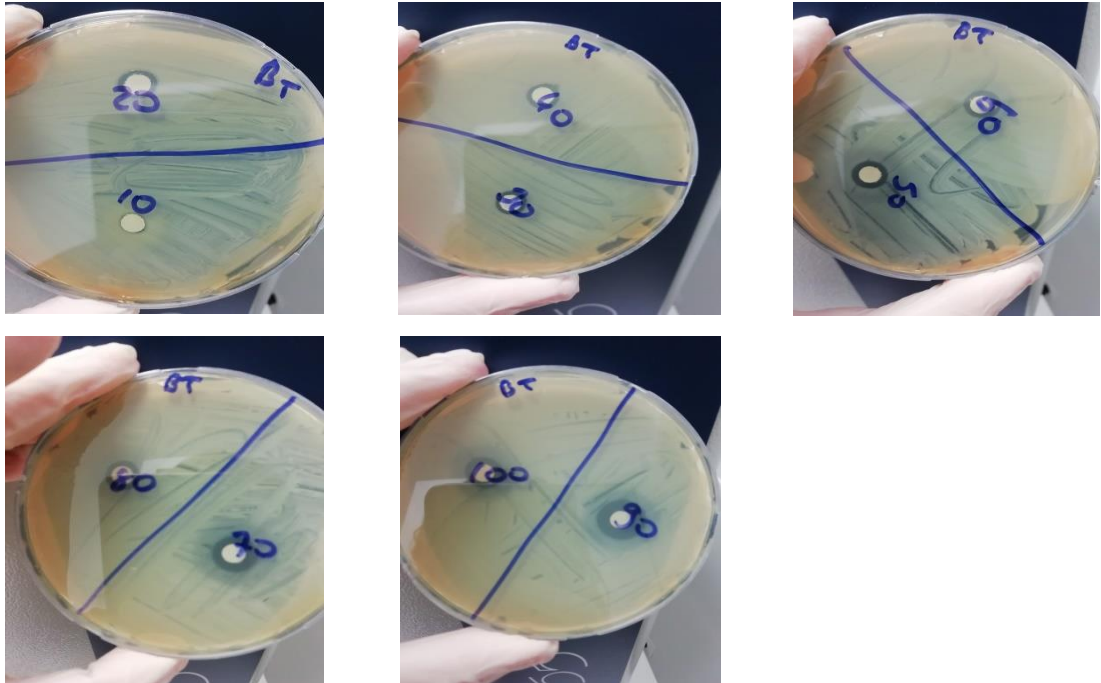
Ek.2. Tween 20' nin bakteriler üzerindeki etkisinin disk difüzyon testi görüntüleri



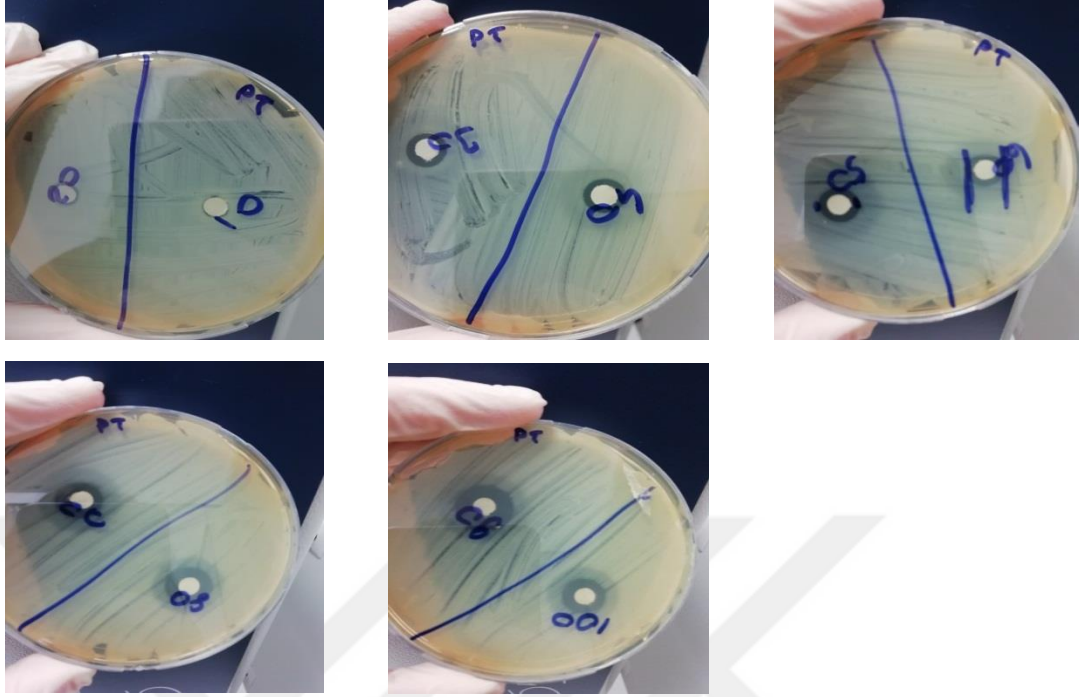
Ek.3. Tarçın Esansiyel yağının *E. coli* üzerine olan etkisinin görüntüleri



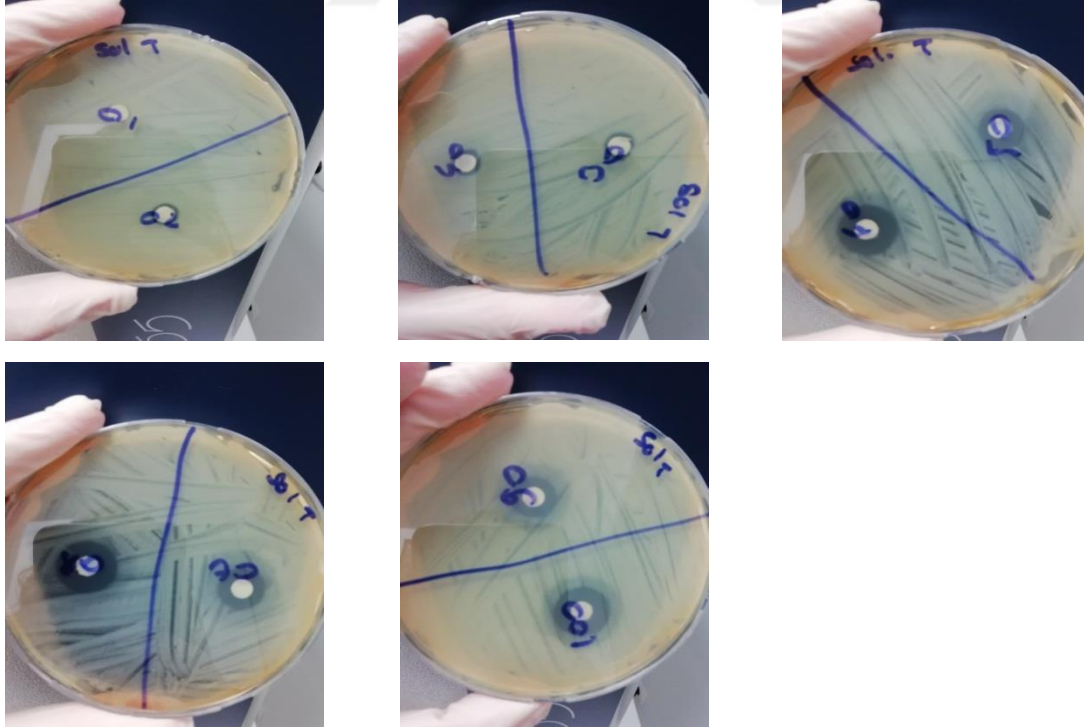
Ek.4. Tarçın Esansiyel yağının *B. subtilis* üzerine olan etkisinin görüntüleri



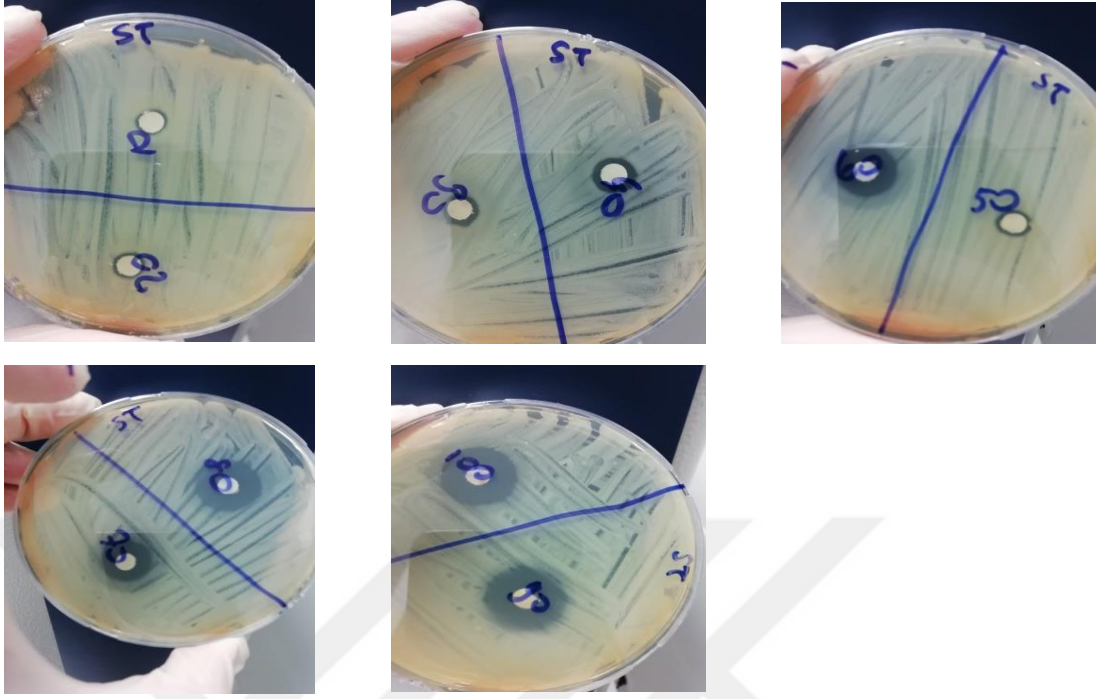
Ek.5. Tarçın Esansiyel yağının *P. aeruginosa* üzerine olan etkisinin görüntüleri



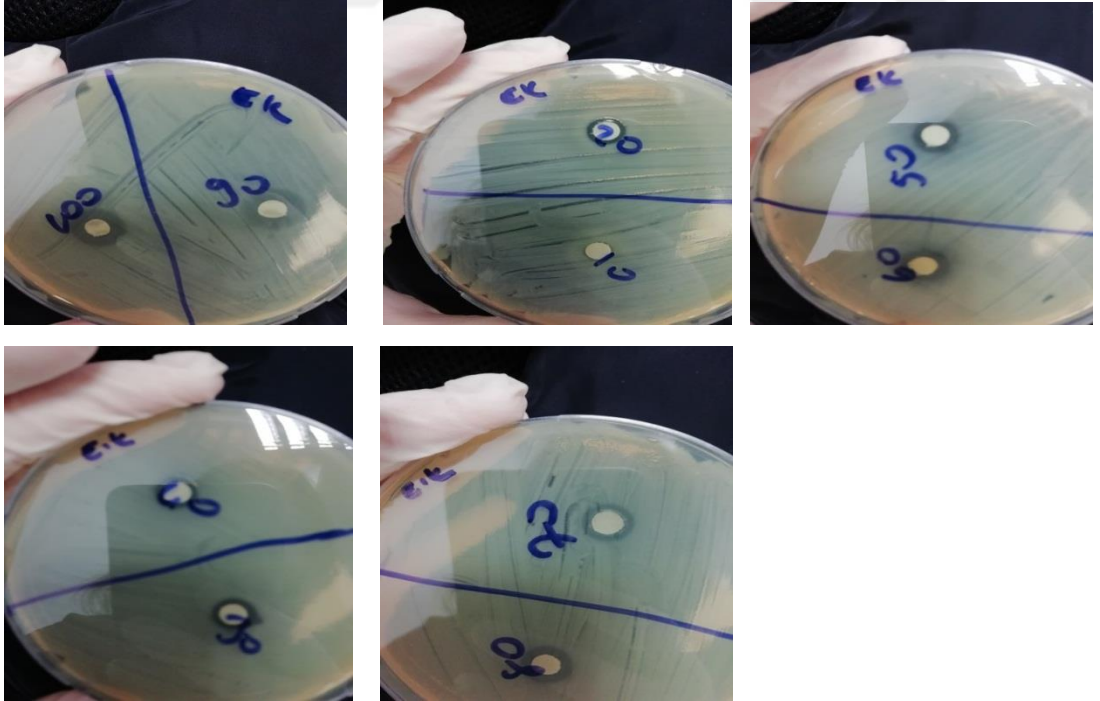
Ek.6. Tarçın Esansiyel yağının *S. typhimurium* üzerine olan etkisinin görüntüleri



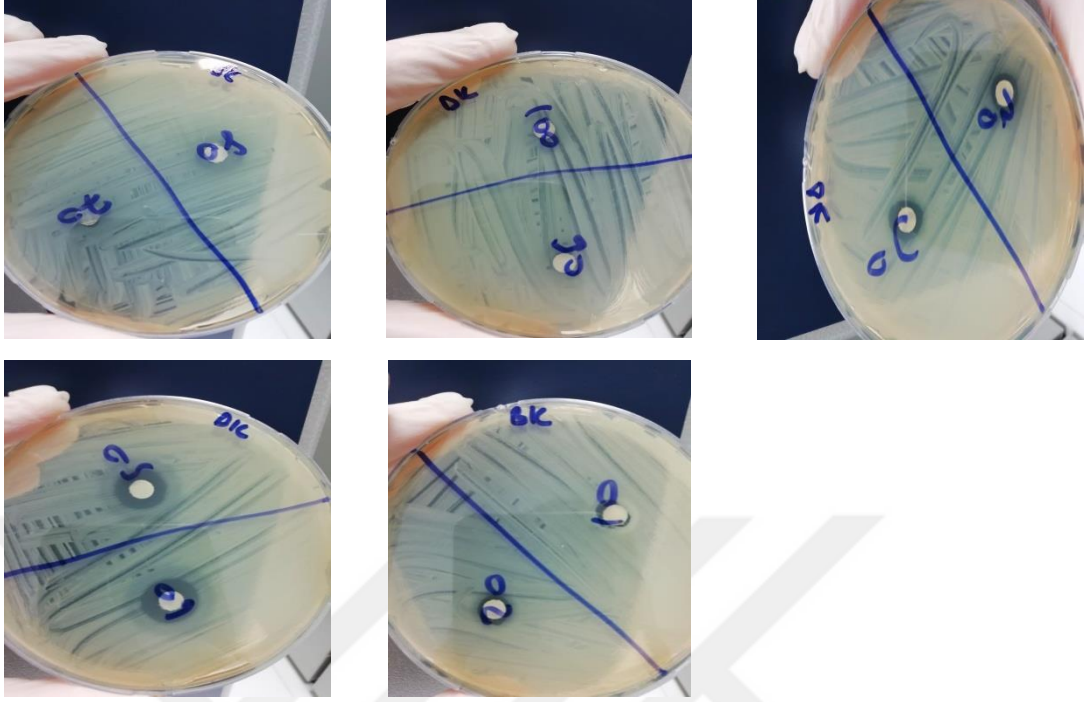
Ek.7. Tarçın Esansiyel yağının *S. aureus* üzerine olan etkisinin görüntüleri



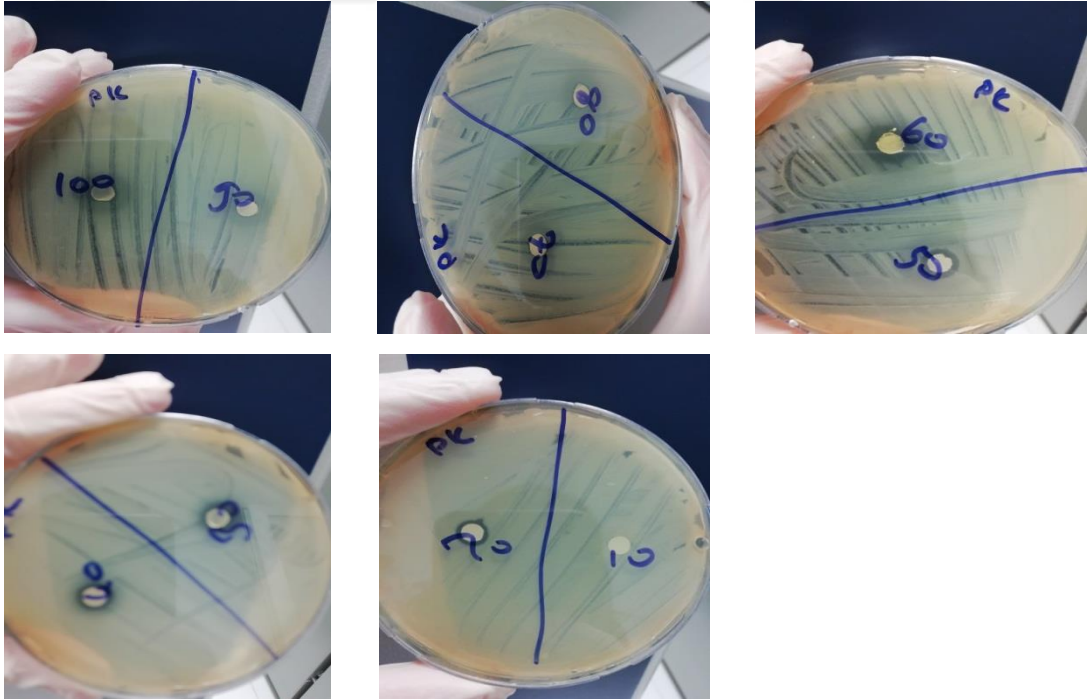
Ek.8. Karanfil Esansiyel yağının *E. coli* üzerine olan etkisinin görüntüleri



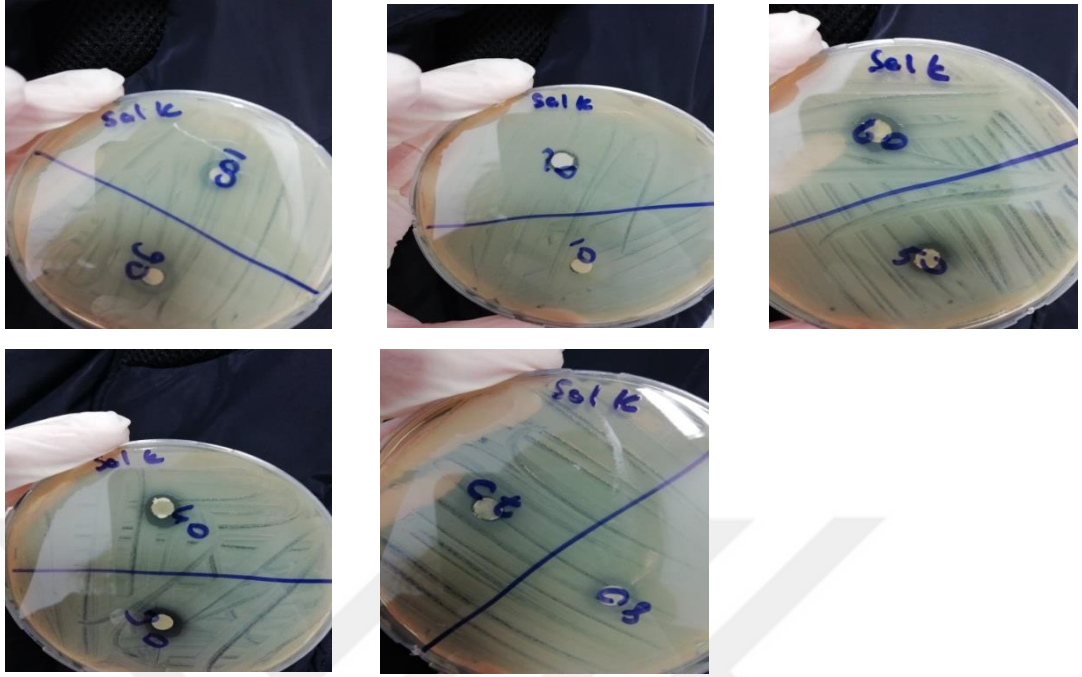
Ek.9. Karanfil Esansiyel yağının *B. subtilis* üzerine olan etkisinin görüntüleri



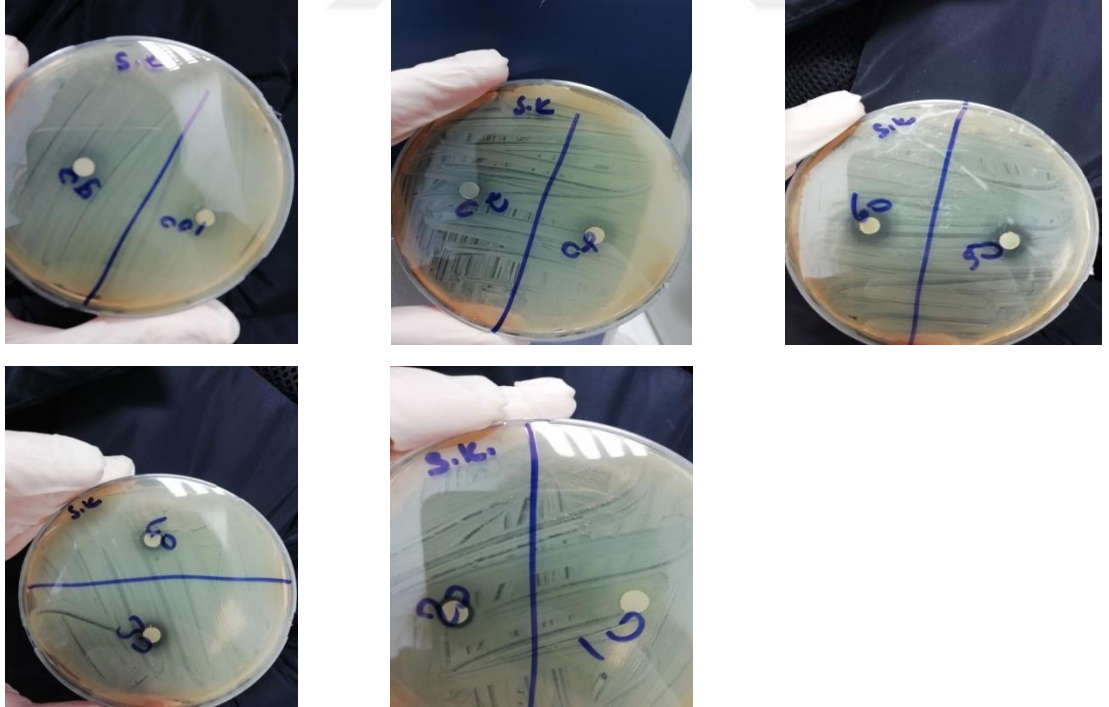
Ek.10. Karanfil Esansiyel yağının *P. aeruginosa* üzerine olan etkisinin görüntüleri



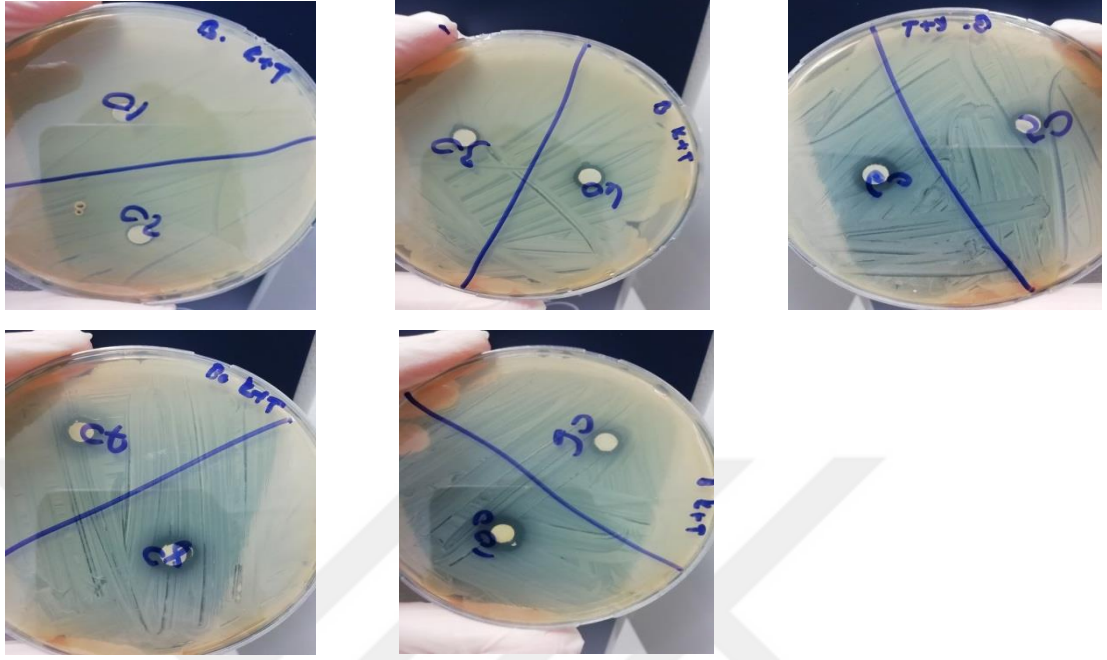
Ek.11. Karanfil Esansiyel yağının *S. typhimurium* üzerine olan etkisinin görüntüleri



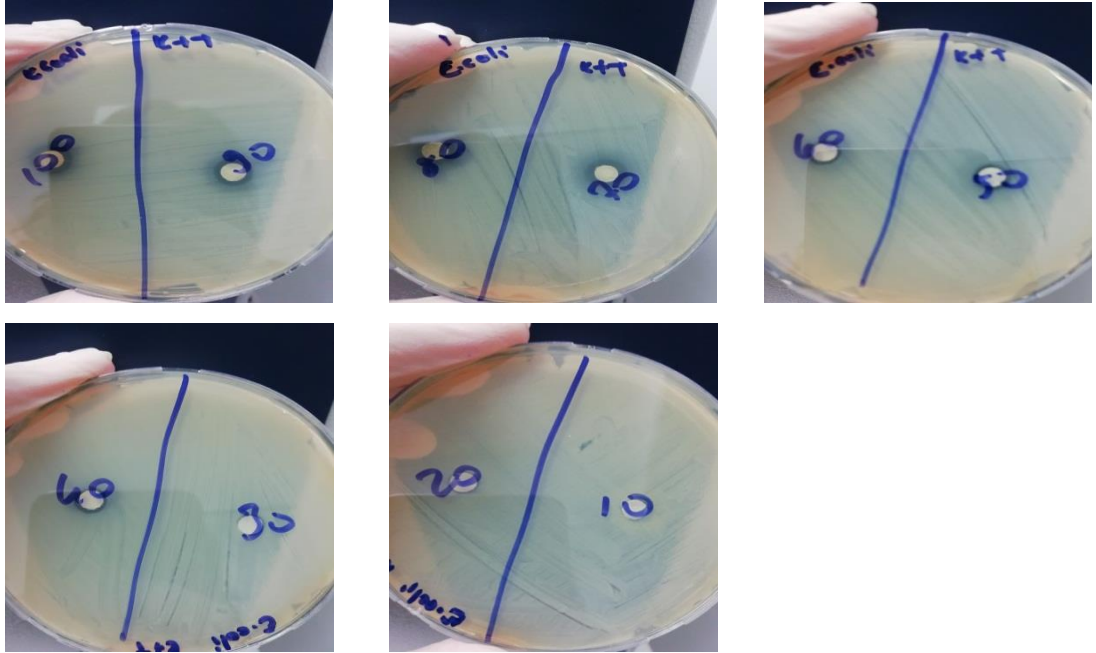
Ek.12. Karanfil Esansiyel yağının *S. aureus* üzerine olan etkisinin görüntüleri



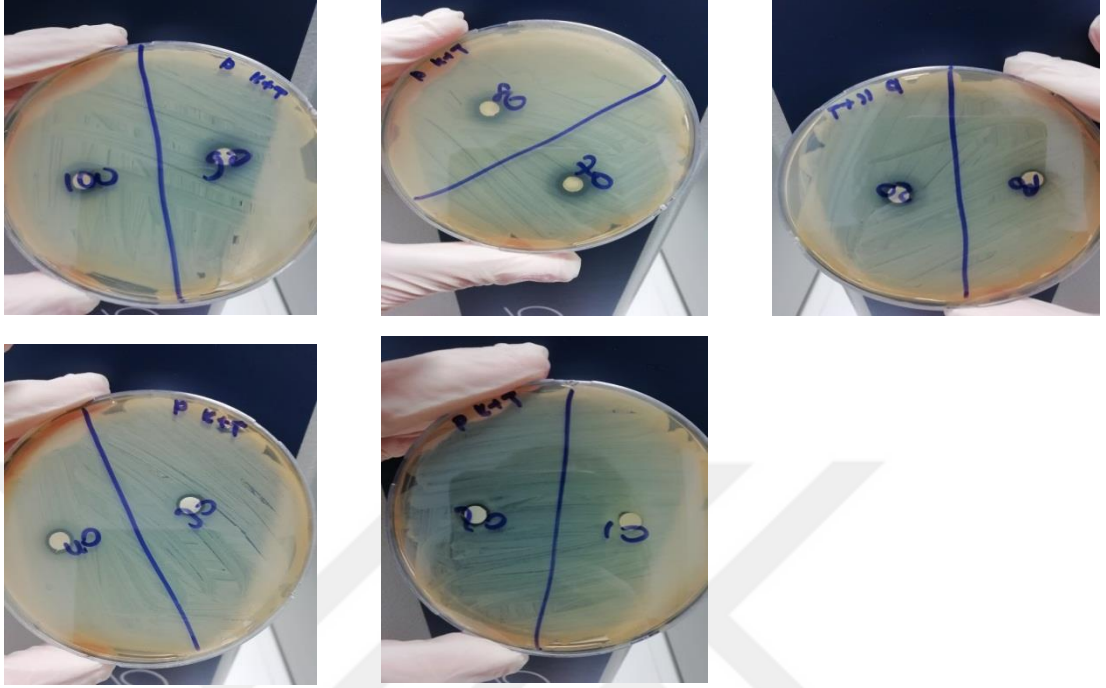
Ek.13. Karanfil ve Tarçın Esansiyel yağlarının *B. subtilis* üzerine olan etkisinin görüntüsü



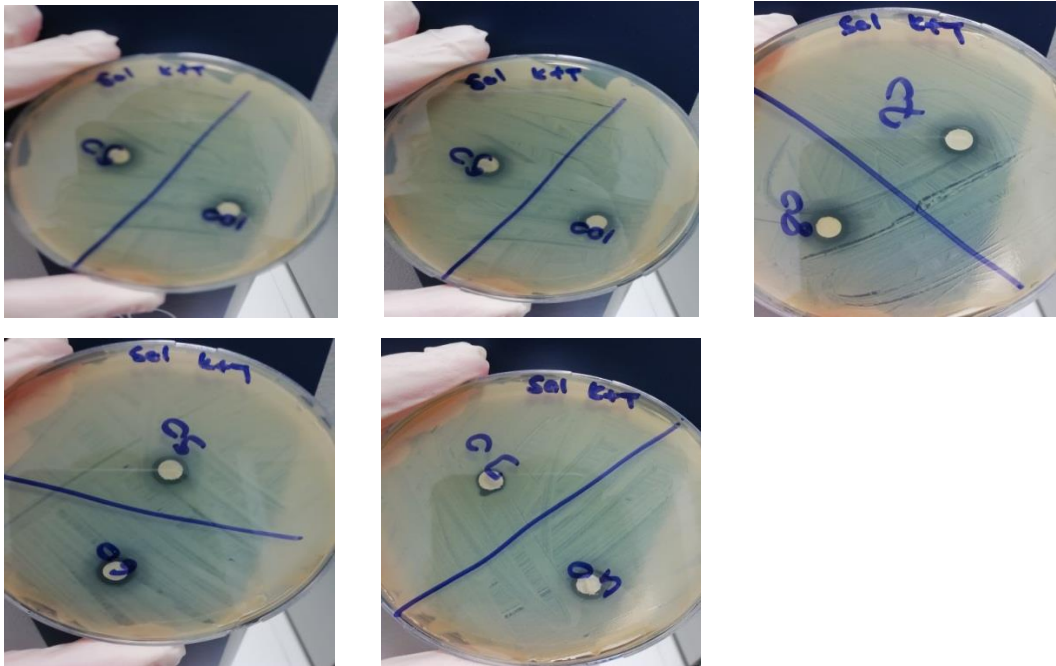
Ek.14. Karanfil ve Tarçın Esansiyel yağlarının *E. coli* üzerine olan etkisinin görüntüsü



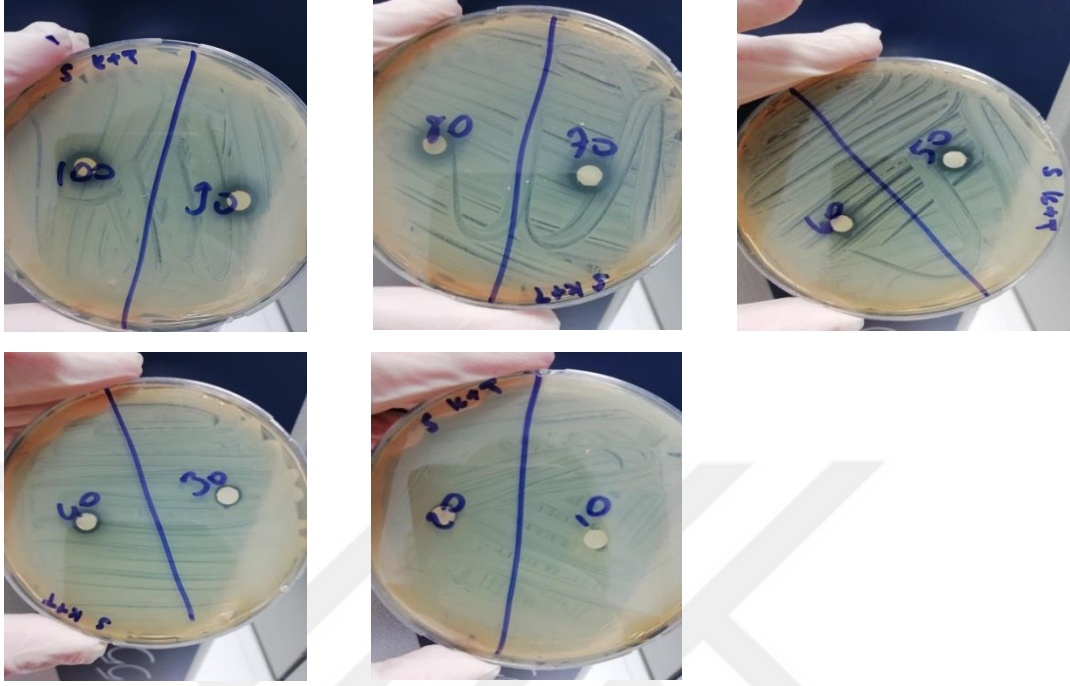
Ek.15. Karanfil ve Tarçın Esansiyel yağlarının *P. aeruginosa* üzerine olan etkisinin görüntüsü



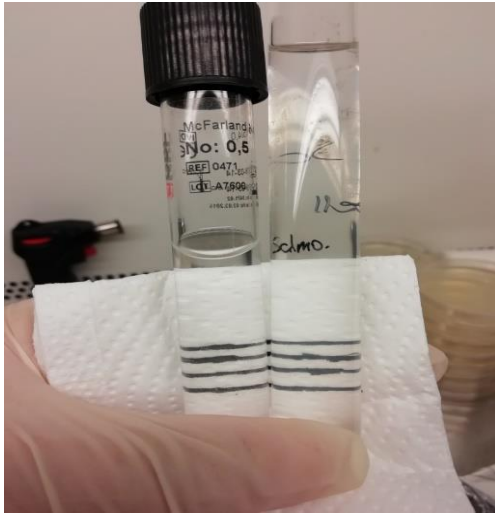
Ek.16. Karanfil ve Tarçın Esansiyel yağlarının *S. typhimurium* üzerine olan etkisinin görüntüsü



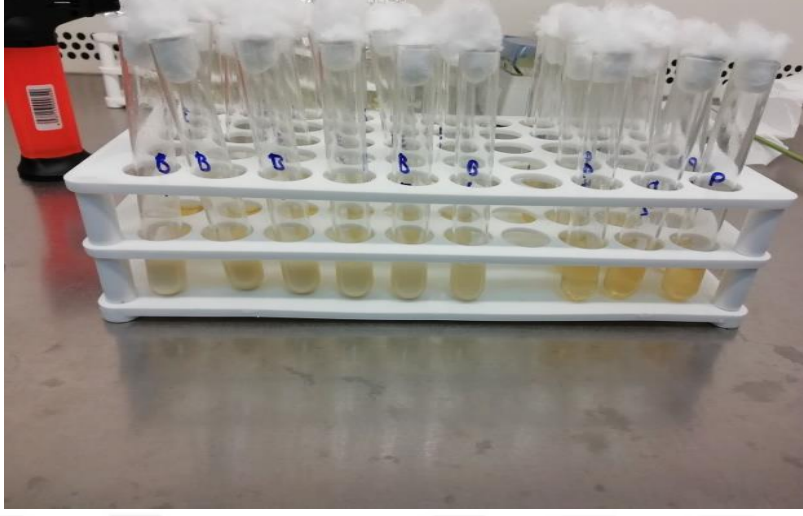
Ek.17. Karanfil ve Tarçın Esansiyel yağlarının *S. aureus* üzerine olan etkisinin görüntüsü



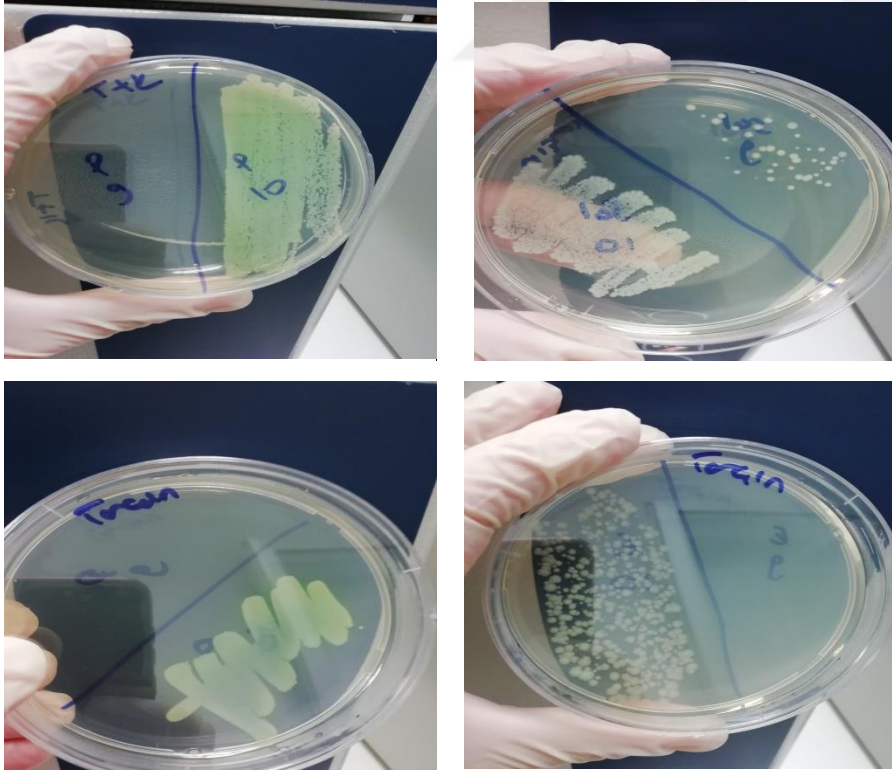
Ek.18. McFarland bulanıklık ayarlanması



Ek.19. MİK analizi makrodilüsyon tüpleri



Ek.20. Makrodilüsyon testi tüplerinde gözlemlenen üreme görüntüleri



ÖZGEÇMİŞ

I- Bireysel Bilgiler

Adı-Soyadı: Elif KOPTAGET

Doğum yeri ve tarihi: KADIKÖY/ 10.07.1989

Uyruğu: T.C.

Medeni durumu: Bekar

İletişim adresi ve telefonu: Sakarya Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji ABD, Korucuk, Adapazarı, Sakarya 0264 295 31 40

Yabancı dili: İngilizce

II- Eğitimi

Anadolu Üniversitesi Açık Öğretim Fakültesi Sağlık Yönetimi Bölümü- (2018_ __)

Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü- 2012

Yahya Kaptan Anadolu Lisesi – 2007

III- Ünvanları

Biyolog

C Sınıfı İş Güvenliği Uzmanı

IV- Mesleki Deneyim

1. Kalite Kontrol Mikrobiyoloji Analisti, Albafarma İlaç San. Ve Tic. Ltd. Şti. (2017- __)
2. C Sınıfı İş Güvenliği Uzmanı, Bireysel (2014- __)
3. Biyolog, Flow Sitometri, Rejeneratif Tıp ve Kök Hücre Üretim Merkezi, Liv Hospital (2016-2017)
4. Biyoloji Öğretmeni, Çözüm Dersanesi, (02.2013-08.2013)
5. Biyolog (Stajyer), Özel Yüzyıl Hastanesi, (11.2012-01.2013)

V- Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar

1. Viral Hepatitle Savaşım Derneği (2014- __)
2. Kök Hücre ve Hücresel Tedaviler Derneği (2016- __)

VI- Bilimsel İlgi Alanları

Yayımları

Özbek A., Demiray T, Koptaget E, Küçük Ö, Demir L. (2019). Antimicrobial Properties of a Traditionally and Specially Prepared Oil Complex: NigellaSativa Seed Oil, Rosemary Oil, and Olive Oil. *Turkish Journal of Agriculture- Food Science and Technology*. 7(5): 824-827, 2019, DOI: <https://doi.org/10.24925/turjaf.v7i5.824-827.2625>

VII- Bilimsel Etkinlikler

1. 2. Ulusal Tıp Kongresi ‘Geleceğin Tıbbı II’nde "Trakeal Aspirat Örneklerinden İzole Edilen Non-Fermentatif Gram Negatif Bakterilerin Antibiyotik Direncinin İrdelenmesi" (Poster)
2. Moleküler Biyoteknoloji Kongresi’nde Buğday Bitkisinde Tuzluluk Stresinin Moleküler Yapısına Etkisinin incelenmesi (Poster)

VIII- Diğer Bilgiler

1. Kök Hücre ve Hücresel Tedaviler Sempozyumu, İstanbul, 19.03.2016 (Katılım Belgesi)
2. 2. Ulusal Tıp Kongresi ‘Geleceğin Tıbbı II’, Sakarya, 25-27 Nisan 2014 (Katılım Belgesi ve Poster Sunumu)
3. Sağlık Bilimleri Araştırma Planlanması ve Bilimsel Makale Yazımı Veriden Yayına Modul II Kurs, Sakarya, 11 Mart 2015 (Teşekkür ve Katılım Belgesi)
4. EBSCO research database training session, Sakarya, 25.12.2014 (Katılım Belgesi)
5. Sağlık Bilimleri Araştırma Planlanması ve Bilimsel Makale Yazımı Modül1 Kurs, Ankara, 24 Aralık 2014 (Teşekkür ve Katılım Belgesi)
6. Tıpta Güncel Flow Sitometri Uygulamaları, Sakarya, 10.12.2014 (Katılım Belgesi)
7. Moleküler Biyoteknoloji Kongresi, Trabzon, 18-22.04.2012 (Katılım Belgesi ve Poster Sunumu)