

**T.C.
ARTVİN ÇORUH ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**BAZI BİTKİ ÖZÜTLERİNİN ANTİBİYOTİK DİRENÇLİ KLİNİK
İZOLATLARA KARŞI ANTİBAKTERİYEL AKTİVİTELERİNİN
BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Eda AYDEMİR

**Danışman
Dr. Öğr. Üyesi Ayşegül SARAL SARIYER**

Artvin 2021

TEZ BEYANNAMESİ

Artvin oruh Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi olarak sunduğum ‘‘Bazı Bitki ztlerinin Antibiyotik Dirençli Klinik İzolatlara Karşı Antibakteriyel Aktivitelerinin Belirlenmesi’’ başlıklı bu çalışmayı baştan sona kadar danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Ayşegül SARAL SARIYER’in sorumluluğunda tamamladığımı, verileri/örnekleri kendim topladığımı, deneyleri/analizleri ilgili laboratuvarlarda yaptığımı/yaptırdığımı, başka kaynaklardan aldığım bilgileri metinde ve kaynakçada eksiksiz olarak gösterdiğimi, çalışma sürecinde bilimsel araştırma ve etik kurallara uygun olarak davrandığımı ve aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim./02/2021

Eda AYDEMİR

İmza

JÜRİ TEZ KABUL TUTANAĞI
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE

Dr. Öğr. Üyesi Ayşegül SARAL SARIYER danışmanlığında, Eda AYDEMİR tarafından hazırlanan çalışma 05/02/2021 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Biyoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Ayşegül BAYRAMOĞLU İmza:.....

Jüri Üyesi : Dr. Öğr. Üyesi Sinem KOÇER İmza:.....

Jüri Üyesi : Dr. Öğr. Üyesi Ayşegül SARAL SARIYER İmza:.....

Yukarıdaki imzalar adı geçen öğretim üyelerine aittir.

.... / /

Doç. Dr. Hamit ŞAFAKÇI
Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

“Bazı Bitki Özütlelerinin Antibiyotik Dirençli Klinik İzolatlara Karşı Antibakteriyel Aktivitelerinin Belirlenmesi” konusunda yapılan bu çalışma; Artvin Çoruh Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında yüksek lisans tezi olarak hazırlanmıştır. Bu tez çalışması Artvin Çoruh Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından kabul edilen Araştırma projesi ile (Proje No: 2018.F83.02.03) desteklenmiştir. Desteklerinden dolayı Artvin Çoruh Üniversitesi'nin Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne teşekkürlerimi sunarım.

Bu araştırma için beni yönlendiren, karşılaştığım zorlukları bilgi ve tecrübesi ile aşmamda yardımcı olan değerli Danışman Hocam Dr. Öğr. Üyesi Ayşegül SARAL SARIYER'e teşekkürlerimi sunarım. Klinik izolatlarının tanımlanması ve antibiyotik duyarlılık profillerinin belirlenmesine katkılarından dolayı Uzm. Dr. Tuba KÖSE'ye, izolatların teminini sağlayan Dr. Öğr. Üyesi Esma AKYILDIZ'a teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca *in siliko* çalışmaların yapılmasındaki yardımları ve katkılarından dolayı Dr. Öğr. Üyesi Emrah SARIYER'e teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım süresince maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen sevgili eşime ve aileme sonsuz teşekkür eder, şükranlarımı sunarım.

Eda AYDEMİR
Artvin - 2021

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
TEZ BEYANNAMESİ	I
JÜRİ TEZ KABUL TUTANAĞI	II
ÖNSÖZ	III
İÇİNDEKİLER	IV
ÖZET	VII
SUMMARY	IX
TABLolar DİZİNİ	XI
ŞEKİLLER DİZİNİ	XII
KISALTMALAR DİZİNİ	XIV
1 GİRİŞ	1
1.1 Çay	2
1.1.1 Beyaz Çayın Kimyasal Bileşenleri.....	3
1.1.2 Beyaz Çayın Farmakolojik Aktiviteleri	3
1.1.3 Çayın Antibakteriyel Aktivitesi	5
1.1.4 Çayın Antibiyotik Dirençli Suşlara Karşı Antibakteriyel Aktivitesi	6
1.2 Tarçın.....	7
1.2.1 Tarçının Kimyasal Bileşenleri.....	7
1.2.2 Tarçının Antioksidan Aktivitesi	8
1.2.3 Tarçının Antibakteriyel Aktivitesi.....	11
1.2.4 Tarçının Antibiyotik Dirençli Suşlara Karşı Antibakteriyel Aktivitesi.....	13
1.3 Kekik	14
1.3.1 Kekiğin Kimyasal Bileşenleri	15
1.3.2 Kekiğin Farmakolojik Aktiviteleri	15
1.3.3 Kekiğin Antibakteriyel Aktivitesi	16
1.3.4 Kekiğin Antibiyotik Dirençli Suşlara Karşı Antibakteriyel Aktivitesi	18
1.4 Kuşburnu	19
1.4.1 Kuşburnunun Kimyasal Bileşimi	20
1.4.2 Kuşburnunun Farmakolojik Aktiviteleri	21
1.4.3 Kuşburnunun Antibakteriyel Aktivitesi	24

1.4.4	Kuşburnunun Antibiyotik Dirençli Suşlara Karşı Antibakteriyel Aktivitesi ²⁵	
1.5	Isırgan Otu.....	25
1.5.1	Isırgan Otunun Kimyasal Bileşimi.....	26
1.5.2	Isırgan Otunun Farmakolojik Aktiviteleri.....	27
1.5.3	Isırgan otunun Antibakteriyel Aktivitesi.....	29
1.5.4	Isırgan otunun Antibiyotik Dirençli Suşlara Karşı Antibakteriyel Aktivitesi	30
1.6	<i>Acinetobacter baumannii</i>	31
1.6.1	Antimikrobiyal Direnç	33
1.6.2	Epidemiyoloji	35
1.6.3	Tedavi.....	38
1.7	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	43
1.7.1	Virülans Faktörleri Ve <i>K. pneumoniae</i> 'nin Patogenezindeki Rolü	44
1.7.2	<i>K. pneumoniae</i> Enfeksiyonları.....	45
1.7.3	<i>K. pneumoniae</i> İzolatlarında Antibiyotik Direnç Mekanizmaları	46
1.7.4	Çoklu İlaç Dirençli <i>Klebsiella pneumoniae</i> 'nin Epidemiyolojisi	47
1.7.5	Çoklu İlaç Dirençli <i>K. pneumoniae</i> Enfeksiyonlarının Tedavisi.....	48
1.8	OXA-23 B-Laktamazlar	49
1.9	Fitokimyasallar.....	55
1.9.1	Karvakrol.....	55
1.9.2	Sinnamaldehit.....	56
1.9.3	Epigallokateşin-3-gallat	59
1.9.4	Kuersetin	62
1.9.5	Timol	63
1.10	Moleküler Yerleştirme	65
2	MATERYAL VE YÖNTEM	72
2.1	Materyal	72
2.2	Yöntem	72
2.2.1	<i>Acinetobacter baumannii</i> ve <i>Klebsiella pneumoniae</i> İzolatlarının Temini ve Antibiyotik Duyarlılık Oranlarının Belirlenmesi	72
2.2.2	<i>Acinetobacter baumannii</i> ve <i>Klebsiella pneumoniae</i> İzolatlarının Gliserol Stoğunun Yapılması ve Total DNA İzolasyonu.....	72
2.2.3	Bitki Metanol Özütlelerinin Hazırlanması	73

2.2.4	Bitki Metanol Özütlerinin Minimum İnhibisyon Konsantrasyonlarının Belirlenmesi	73
2.2.5	Bitki Metanol Özütü/Antibiyotik Kombinasyonlarının <i>in vitro</i> Etkinliğinin Belirlenmesi	74
2.2.6	Simülasyon	74
2.2.7	Moleküler yavaştırma.....	75
3	BULGULAR	77
3.1	İzolatların Antibiyotik Duyarlılıkları	77
3.2	Bitki Metanol Özütlerinin Konsantrasyonlarının Belirlenmesi	77
3.3	Bitki Metanol Özütlerinin Minimum İnhibisyon Konsantrasyonları	78
3.4	Bitki Metanol Özütü/Antibiyotik Kombinasyonlarının <i>in vitro</i> Etkinlikleri..	78
3.5	FİK İndeksinin Hesaplanması	86
4	TARTIŞMA	100
5	SONUÇ ve ÖNERİLER	107
	KAYNAKLAR	109
	ÖZGEÇMİŞ	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.

ÖZET

BAZI BİTKİ ÖZÜTLERİNİN ANTİBİYOTİK DİRENÇLİ KLİNİK İZOLATLARA KARŞI ANTİBAKTERİYEL AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİ

Acinetobacter baumannii aerobik, pleomorfik ve hareketsiz bir Gram negatif basildir. Fırsatçı bir patojen olan *A. baumannii* özellikle uzun süre (> 90 gün) hastanede yatanlar olmak üzere bağışıklığı baskılanmış kişiler arasında yüksek bir insidansa sahiptir. Organizma, bakteriyemi, zatürree, menenjit, idrar yolu enfeksiyonu ve yara enfeksiyonu dahil olmak üzere enfeksiyonların salgınlarına neden olur. Antimikrobiyal direnç, özellikle izolatlar antimikrobiyal ajanların karbapenem sınıfına dirençliyse, bu organizma ile enfekte olan hastalar için terapötik seçenekleri büyük ölçüde sınırlar. *K. pneumoniae*, çoğunlukla zayıflamış bağışıklık sistemine sahip kişileri etkileyen ve nozokomiyal enfeksiyonlara neden olma eğiliminde olan fırsatçı bir patojendir. *K. pneumoniae* izolatları antibiyotiklere giderek daha dirençli hale gelmiştir. Çok ilaca dirençli *Acinetobacter* ve *Klebsiella* enfeksiyonları için terapötik seçenekler sınırlı olduğundan, yeni ajanların keşfi önemlidir. Bitkilerin bakteri tarafından ifade edilen direncin üstesinden gelen sinerjik sekonder metabolitleri ürettiği bilinmektedir. Bu nedenle, yeni ajanların keşfi için bitki metabolitlerinin antimikrobiyal etkisi ve antibiyotiklerle kombinasyonlarının sinerjik etkileri çalışılmaktadır.

Bu tez çalışmasında, tarçın, kekik, ısırgan otu, beyaz çay ve kuşburnu bitkileri aktardan temin edilerek metanol özütleri hazırlandı. Bitki metanol özütlerinin antibakteriyal aktivitesi Trabzon Fatih Devlet Hastanesi'nden izole edilen antibiyotik dirençli *A. baumannii* ve *K. pneumoniae*'ya karşı sıvı mikrodilüsyon metodu ile araştırıldı. Isırgan otunun metanol özütünün denenen konsantrasyon aralığında *A. baumannii*'ye karşı antibakteriyal aktivitesi gözlenmedi. Kuşburnu, tarçın, kekik, beyaz çay metanol özütlerinin *A. baumannii*'ye MİK değerleri sırasıyla 0.07825 gr/mol, 0.015125 gr/mol, 0.030625 gr/mol, 0.00796875 gr/mol olarak belirlendi. Kekik, ısırgan otu, beyaz çay ve kuşburnu metanol özütlerinin denenen konsantrasyon aralıklarında *K. pneumoniae*'ye karşı antibakteriyal aktivitesi gözlenmedi. Tarçın metanol özütünün *K. pneumoniae*'ye karşı MİK değeri 0.0605 gr/mol olarak bulundu. Antibakteriyal aktivite gösteren bitki metanol özütleri ve antibiyotik kombinasyonlarının *in vitro*

etkisi damatahtası metodu ile araştırıldı. Sonuç olarak, *A.baumannii* için imipenemin tarçın, beyaz çay ve kuşburnu metanol özütleri ile kombinasyonları aditif/indiferan etki gösterirken imipenemin kekik metanol özütü ile kombinasyonunun antagonistik etki gösterdiği belirlendi. *K. pneumoniae* için imipenemin tarçın metanol özütü ile kombinasyonunun antagonistik etki gösterdiği gözlemlendi. Tarçın metanol özütünün imipenem ile kombinasyonu *K. pneumoniae* için antagonistik etki gösterirken *A.baumannii* için aditif/indiferan etki gösterdi. Sonuç olarak, bitki özütlerinin antibakteriyel aktivitesi olduğunu, kullanılan bitki metanol özütlerinin imipenem ile sinerjik etki göstermediği bulundu.

Antibakteriyel etkisi belirlenen bitkilerde bulunan epigallokateşin 3-gallat, kuersetin, sinnamaldehit, karvakrol ve timol fitobileşiklerinin *A. baumannii*'de bulunan OXA-23 beta laktamazı için inhibitör aday olma potansiyelleri *in siliko* olarak değerlendirildi. OXA-23'ün aktif bölgesine epigallokateşin 3-gallat, kuersetin, sinnamaldehit, karvakrol, timol, imipenem (substrat), avibaktam (inhibitör) moleküler yerleştirme metodu ile yanaştırılmıştır. İnhibitöre (avibaktam) en yakın bağlanma enerjisinin epigallokateşin 3-gallatın sahip olduğu ve bu fitokimyasalın Lys82, Lys216, Arg259, Asp222 rezidüleri ile dört tane hidrojen bağı yaptığı tespit edildi. Aynı zamanda bu fitokimyasalın imipenemin bağlanma enerjisinden (-5.40 kcal/mol) daha yüksek bağlanma enerjisine (-5.82 kcal/mol) sahip olduğu görüldü. Bağlanma enerjileri açısından fitokimyasallar karşılaştırıldığında en yüksekten düşüğe bağlanma enerjileri, epigallokateşin-3-gallat, kuersetin, sinnamaldehit, karvakrol, ve timol için sırasıyla -5.82 kcal/mol, -5.77 kcal/mol, -4.98 kcal/mol, -4.18 kcal/mol, -4.00 kcal/mol idi.

In siliko çalışmalardan elde edilen sonuçlar epigallokateşin 3-gallat, kuersetin, sinnamaldehit, karvakrol, timol bitki bileşiklerinin OXA-23 β -laktamazı için non-kovalent inhibitör aday olabileceklerini düşündürdü. Bu sonuçlar gelecekte deneysel çalışmalarla desteklenerek OXA-23 β -laktamazına karşı yeni inhibitörlerin keşfedilmesine olanak sağlayabilir.

Anahtar Kelimeler: *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae*, Antibakteriyel aktivite, Antibiyotik direnci, Bitki metanol özütleri

SUMMARY

DETERMINATION OF THE ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF SOME PLANT EXTRACTS AGAINST ANTIBIOTIC RESISTANT CLINICAL ISOLATS

Acinetobacter baumannii is an aerobic, pleomorphic and immobile Gram negative bacillus. *A. baumannii*, an opportunistic pathogen, has a high incidence among immunocompromised individuals, especially those who are hospitalized for a long time (> 90 days). The organism causes outbreaks of infections, including bacteremia, pneumonia, meningitis, urinary tract infection, and wound infection. Antimicrobial resistance greatly limits therapeutic options for patients infected with this organism, particularly if the isolates are resistant to the carbapenem class of antimicrobial agents. *K. pneumoniae* is an opportunistic pathogen that mostly affects people with weakened immune systems and tends to cause nosocomial infections. *K. pneumoniae* strains have become increasingly resistant to antibiotics. The discovery of new agents is important as therapeutic options for multidrug-resistant *Acinetobacter* and *Klebsiella* infections are limited. Plants are known to produce synergistic secondary metabolites that overcome the resistance expressed by bacteria. Therefore, the antimicrobial effect of plant metabolites and their combinations with antibiotics are studied for the discovery of new agents.

In this thesis study, cinnamon, thyme, nettle, white tea and rosehip herbs were obtained from the herbalist and methanol extracts were prepared. Antibacterial activity of plant methanol extracts was investigated against antibiotic resistant *A. baumannii* and *K. pneumoniae* isolated from Trabzon Fatih State Hospital by liquid microdilution method. The antibacterial activity of methanol extract of nettle against *A. baumannii* was not observed in the tested concentration range. The MIC values of rosehip, cinnamon, thyme, white tea methanol extracts for *A. baumannii* were determined as 0.07825 g/mol, 0.015125 g/mol, 0.030625 g/mol, 0.00796875 g/mol, respectively. Antibacterial activity was not observed against *K. pneumoniae* in the concentration ranges of thyme, nettle, white tea and rosehip methanol extracts. The MIC value of cinnamon methanol extract against *K. pneumoniae* was found to be 0.0605 g/mol. The *in vitro* effects of plant methanol extracts showing antibacterial activity and antibiotic combinations were investigated by the checkerboard method. As a result,

combinations of imipenem with cinnamon, white tea and rosehip methanol extracts showed additive/indifferent effects for *A.baumannii*, while the combination of imipenem with methanol extract of thyme showed antagonistic effect. It was observed that the combination of imipenem with cinnamon methanol extract had an antagonistic effect for *K. pneumoniae*. The combination of cinnamon methanol extract with imipenem showed antagonistic effect for *K. pneumoniae* and an additive/indifferent effect for *A.baumannii*. As a result, it was found that plant extracts have antibacterial activity, plant methanol extracts used did not show synergistic effect with imipenem.

The potential of epigallocatechin 3-gallate, quercetin, cinnamaldehyde, carvacrol and thymol phytochemicals found in plants with antibacterial effects to be inhibitor candidates for OXA-23 β -lactamase in *A. baumannii* was evaluated as *in silico*. Epigallocatechin 3-gallate, quercetin, cinnamaldehyde, carvacrol, thymol, imipenem (substrate), avibactam (inhibitor) were attached to the active site of OXA-23 by molecular docking method. It was determined that epigallocatechin 3-gallate had the closest binding energy to the inhibitor (avibactam) and this phytochemical made four hydrogen bonds with the residues Lys82, Lys216, Arg259, Asp222. It was also observed that this phytochemical had higher binding energy (-5.82 kcal/mol) than imipenem binding energy (-5.40 kcal/mol). When phytochemicals are compared in terms of binding energies, the highest binding energies are -5.82 kcal/mol, -5.77 kcal/mol, -4.98 kcal/mol, -4.18 kcal/mol -4.00 kcal/mol for epigallocatechin-3-gallate, quercetin, cinnamaldehyde, carvacrol, and thymol, respectively.

Results from *in silico* studies suggested that epigallocatechin 3-gallate, quercetin, cinnamaldehyde, carvacrol, thymol plant compounds could be non-covalent inhibitor candidates for OXA-23 β -lactamase. These results may be supported by experimental studies in the future and may allow the discovery of new inhibitors against OXA-23 β -lactamase.

Keywords: *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae*, Antibacterial activity, Antibiotic resistance, Plant methanol extracts

TABLolar DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 2 Tarçının farklı bölümlerinin kimyasal bileşenleri	8
Tablo 3 Bitkilerin antibakteriyel aktiviteleri	30
Tablo 4. Çoklu ilaca dirençli Acinetobacter enfeksiyonuna karşı antimikrobiyal kombinasyon çalışmaları	42
Tablo 5 Karbapenem hidrolizleyen OXA tipi β -laktamazlar	50
Tablo 6. Mevcut protein ligand yerleştirme araçları için temel özellikleri	70
Tablo 7 Yerleştirme araçlarının artıları ve eksileri	71
Tablo 8. Bitkilerin tartılan miktarları	73
Tablo 9 İzolatlara ait antibiyotik duyarlılık sonuçları	77
Tablo 10 Elde edilen özütlerin konsantrasyonları	77
Tablo 11 Bitki özütü ve antibiyotiklerin Acinetobacter baumannii ve Klebsiella pneumoniae izolatlarına karşı mik değerleri	78
Tablo 12 İmipenem ve tarçın metanol özütünün dama tahtası yönteminde kullanılan konsantrasyonları	79
Tablo 13 İmipenem ve tarçın metanol özütünün dama tahtası yönteminde kullanılan konsantrasyonları	79
Tablo 14 İmipenem ve beyaz çay metanol özütünün dama tahtası yönteminde kullanılan konsantrasyonları	79
Tablo 15 İmipenem ve kekik metanol özütünün dama tahtası yönteminde kullanılan konsantrasyonları	80
Tablo 16 İmipenem ve kuşburnu metanol özütünün dama tahtası yönteminde kullanılan konsantrasyonları	80
Tablo 17 FİK indeksinin yorumlanması için aralıklar	87
Tablo 18 Sonuçlara göre FİK indekslerinin yorumlanması	93
Tablo 19 Bağlanma enerjileri ve fitokimyasallar, substrat ve inhibitörün enzimdeki hangi residülerle hidrojen bağı yaptığı	95

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1. Yeşil Çay Genel Görünüm	2
Şekil 2 Kateşin'in kimyasal yapısı	3
Şekil 3. Tarçın Genel Görünüm	7
Şekil 4. Kekik Genel Görünüm	14
Şekil 5. Kuşburnu Genel Görünüm	20
Şekil 6. Kuşburnu Genel Görünüm	20
Şekil 7. Isırgan Otu Genel Görünüm	26
Şekil 8. (A) 37 ° C'de Luria-Bertani agar üzerinde gece boyunca büyümenin ardından <i>Acinetobacter baumannii</i> (B) Luria-Bertani besiyerinde büyütülen log fazı <i>A. baumannii</i> hücrelerinin gram boyası.....	32
Şekil 9. Çok ilaca dirençli (MDR) <i>Acinetobacter</i> türlerinin ortaya çıkmasına ve bulaşmasına neden olan faktörler	37
Şekil 10. <i>Klebsiella pneumoniae</i> mukoid kolonileri	44
Şekil 11. <i>Klebsiella pneumoniae</i> gram boyaması	44
Şekil 12 OXA-23'ün aktif bölgesi	53
Şekil 13 Meropenem bağlı OXA-23 (A) OXA-23 aktif sahasında meropenemin (camgöbeği top ve çubuk) son koordinatları ile modellenen artık Fo-Fc elektron yoğunluğu (pembe).....	54
Şekil 14 Karvakrolün iki boyutlu kimyasal yapısı	55
Şekil 15 Sinemaldehitin iki boyutlu kimyasal yapısı	56
Şekil 16 Epigallokateşin gallatın iki boyutlu yapısı	59
Şekil 17 Kuersetin iki boyutlu yapısı	62
Şekil 18 Timolün iki boyutlu yapısı	63
Şekil 19 Bilgisayar destekli ilaç tasarımı ve keşfi (CADD).....	68
Şekil 20 K8 suşuna karşı imipenem ve tarçın metanol özütünün in vitro etkinliğinin saptanması.	81
Şekil 21 A73 suşuna karşı imipenem ve tarçın metanol özütünün in vitro etkinliğinin saptanması.	82
Şekil 22 A73 suşuna karşı imipenem ve beyaz çay metanol özütünün in vitro etkinliğinin saptanması.	83

Şekil 23 A73 suşuna karşı imipenem ve kekik metanol özütünün in vitro etkinliğinin saptanması.	84
Şekil 24 A73 suşuna karşı imipenem ve kuşburnu metanol özütünün in vitro etkinliğinin saptanması.	85
Şekil 25 FİK indeks tablosu	86
Şekil 26 K8 suşuna karşı imipenem ve tarçın metanol özütünün FİK indeksinin hesaplanması	88
Şekil 27 A73 suşuna karşı imipenem ve tarçın metanol özütünün FİK indeksinin hesaplanması	89
Şekil 28 A73 suşuna karşı imipenem ve beyaz çay metanol özütünün FİK indeksinin hesaplanması	90
Şekil 29 A73 suşuna karşı imipenem ve kekik metanol özütünün FİK indeksinin hesaplanması	91
Şekil 30 A73 suşuna karşı imipenem ve kuşburnu metanol özütünün FİK indeksinin hesaplanması	92
Şekil 31 OXA-23 30 ns simülasyon süresince RMSD grafiği.....	94
Şekil 32 OXA-23 30 ns simülasyon süresince atomik salınım grafiği	94
Şekil 33 OXA-23-avibaktam iki boyutlu gösterimi.....	96
Şekil 34 OXA-23-karvakrol iki boyutlu gösterimi	96
Şekil 35 OXA-23-sinnamaldehit iki boyutlu gösterimi	97
Şekil 36 OXA-23-epigallokateşin-3-gallat iki boyutlu gösterimi.....	97
Şekil 37 OXA-23-imipenem iki boyutlu gösterimi.....	98
Şekil 38 OXA-23-kuarsetin iki boyutlu gösterimi.....	98
Şekil 39 OXA-23-timol iki boyutlu gösterimi	99

KISALTMALAR DİZİNİ

ASS	Amoksisiline dirençli <i>Staphylococcus epidermidis</i>
CM	Sitoplazmik membran
ÇİD	Çok ilaca dirençli
EGKG	Epigallokateşin gallat
EKG	Epikateşin gallatın
EO	Esansiyel yağlar
FİK	Fraksiyonel inhibisyon konsantrasyonu
GSBL	Genişletilmiş spektrumlu beta laktamaz
HDL	Yüksek yoğunluklu kolesterol
HSV	Herpes simpleks virüsüne
IRKP	İmipenem dirençli <i>Klebsiella pneumoniae</i>
KPC	<i>K. pneumoniae</i> karbapenemazları
LDL	Düşük yoğunluklu kolestrol
LPS	Lipopolisakkarit
MBC	Minimum bakterisidal konsantrasyonu
MBL	Metalo- β -laktamazları
MHB	Mueller Hinton Broth
MİK	Minimum inhibitör konsantrasyon
MRSA	Metisilin dirençli <i>Staphylococcus aureus</i>
NDM	Yeni Delhi metalo-beta-laktamaz
NF- κ B	Nükleer faktör kapp B
PMN	Periferik kan polimorfonükleer lökositleri
RCM	<i>Rosa canina</i> meyveleri
RMSD	Atomik deviasyonun ortalama kare kökü
SHV	Sülfidril değişkeni
TEM	Temoneria
YBÜ	Yoğun bakım ünitesine (YBÜ)

1 GİRİŞ

Acinetobacter baumannii aerobik, pleomorfik ve hareketsiz bir Gram negatif basildir. Fırsatçı bir patojen olan *A. baumannii* özellikle uzun süre (> 90 gün) hastanede yatanlar olmak üzere bağışıklığı baskılanmış kişiler arasında yüksek bir insidansa sahiptir (Howard ve ark., 2012). Çok ilaca dirençli *Acinetobacter baumannii*, kontrol edilmesi ve tedavisi en zor antimikrobiyal dirençli Gram negatif basiller arasında kabul edilmektedir. Çok ilaca direnç tanımları literatürde değişiklik gösterse de, *Acinetobacter* izolatları arasında artan antimikrobiyal direnç belgelenmiştir. *A. baumannii* çok çeşitli çevresel koşullar altında uzun süre hayatta kalır. Organizma, bakteriyemi, zatürree, menenjit, idrar yolu enfeksiyonu ve yara enfeksiyonu dahil olmak üzere enfeksiyonların salgınlarına neden olur. Antimikrobiyal direnç, özellikle izolatlar antimikrobiyal ajanların karbapenem sınıfına dirençliyse, bu organizma ile enfekte olan hastalar için terapötik seçenekleri büyük ölçüde sınırlar. Çok ilaca dirençli *Acinetobacter* enfeksiyonu için terapötik seçenekler sınırlı olduğundan, yeni tedavilerin geliştirilmesi veya keşfi önemlidir (Eliopoulos ve ark., 2008).

Klebsiella pneumoniae, 100 yıl önce toplum kökenli pnömoninin bir nedeni olarak tanıyan Enterobacteriaceae ailesinin bir Gram negatif üyesidir. *Klebsiella pneumoniae*'ye atfedilen toplum kökenli pnömoni insidansı yıllar içinde azalmıştır, ancak idrar yolu, kan dolaşımı, pnömoni ve karın içi enfeksiyonlarda enfeksiyonlara neden olan yaygın bir sağlık bakımı ile ilişkili patojen rolü son derece yaygın hale gelmiştir (Keynan ve Rubinstein, 2007). *K. pneumoniae*, çoğunlukla zayıflamış bağışıklık sistemine sahip kişileri etkileyen ve nozokomiyal enfeksiyonlara neden olma eğiliminde olan fırsatçı bir patojendir. Yüksek kapsül polisakkarit üretimine sahip hipervirülan *K. pneumoniae* serotiplerinin bir alt kümesi, önceden sağlıklı kişileri etkileyebilir ve piyojenik karaciğer apsesi, menenjit, nekrotizan fasiit, endoftalmi ve şiddetli pnömoni gibi yaşamı tehdit eden toplum kaynaklı enfeksiyonlara neden olabilir (Li ve ark., 2014). *K. pneumoniae*, birincil olarak bağışıklığı zayıflamış kişilerde ciddi enfeksiyonlara neden olmuştur, ancak son zamanlarda hipervirülan türlerin ortaya çıkması ve yayılması, enfeksiyonlara duyarlı

kişilerin sayısını sağlıklı ve bağışıklığı yetersiz olanları içerecek şekilde genişletmiştir. Ayrıca, *K. Pneumoniae* suşlar antibiyotiklere giderek daha dirençli hale geldi ve bu suşların neden olduğu enfeksiyonu tedavi etmek çok zor hale getirdi (Paczosa ve Mecsas, 2016).

Antimikrobiyallerin bilinçsiz kullanımı ile ilaç direncinin ortaya çıkması sonucu yeni ve güvenli tedavi modelleri araştırılmaktadır. Bunlardan bazıları; bakteriyofajlar, virofajlar, monoklonal antikolar, nanoilaçlar, probiyotikler, bitkisel çözümlerdir. Tüm bu alternatif terapiler arasında ayurvedik/bitkisel terapiler daha çok ivme kazanmıştır. Bitkilerin antibakteriyel aktiviteleri çok yönlüdür ve fitobileşenler, fitobileşenlerin/ fitokimyasalların konsantrasyonları, biyoaktif özellikleri ve aynı zamanda sinerjistik ve antogonistik etkilerine bağlıdır. Bu fitokimyasallar, flavonoidler, steroidler, β -karoten, glikozitler, kumarinler, alkaloidler, saponinler, taninler, fenolik basit alkaloidleri, gallik asit ve diğerleridir.

1.1 Çay

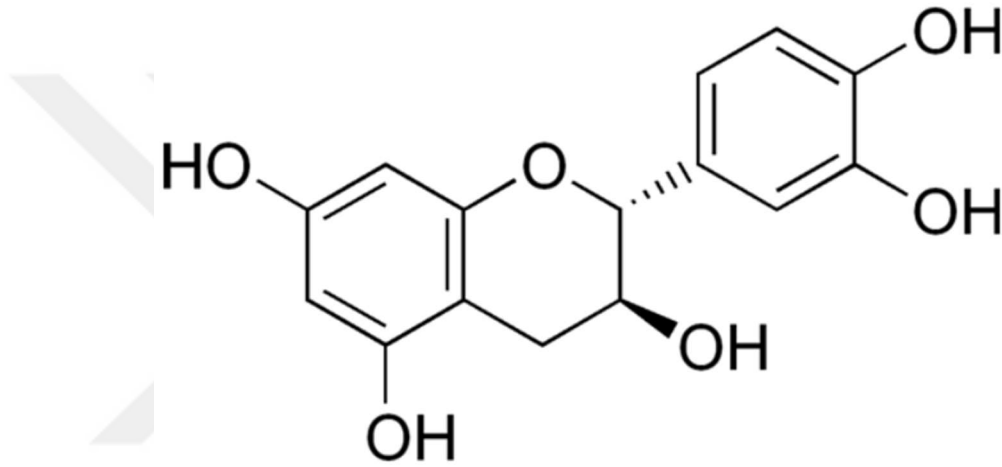
Çay, *Camellia sinensis L. Kuntze* bitkisinin genç sürgün ve yapraklarından üretilen bir içecektir. Genellikle siyah ve yeşil çay olarak tanınan bu içeceğin, Uzak Doğu ülkelerinde sarıçay, oolong çay, pu-erh çay, beyaz çay gibi çeşitleri de bulunmaktadır. Beyaz çay da siyah ve yeşil çay gibi aynı çay bitkisinden üretilir. Beyaz çay, sürgün ucunda tam açılmamış beyaz gümüşü renkli, tüylü tepe tomurcuklarının tercih edilmesi ve minimal işlem uygulamasıyla diğer çay çeşitlerinden ayrılmaktadır (Salman ve Özdemir, 2018).



Şekil 1. Yeşil Çay Genel Görünüm (Oliveira ve ark., 2016)

1.1.1 Beyaz Çayın Kimyasal Bileşenleri

Çayın ana bileşenleri arasında proteinler, polisakkaritler, polifenoller, mineraller ve eser elementler, amino ve organik asitler, ligninler ve metilksantinler (kafein, teofilin ve teobromin) bulunmuştur. Beyaz çay yaklaşık % 3.35-5.74 kafein, % 16.23-25.95 Polifenol, %0.06-1.44 flavonol glikozid ve % 7.94-16.56 kateşin içerir. Çay yapraklarında bulunan başlıca fenolik bileşikler, kuru ağırlıklarının % 30'unu oluşturan kateşinler (flavan-3-ols olarak da bilinir) ve bunların türevleridir. Kateşinin'in kimyasal yapısı Şekil 2'de gösterilmektedir (Pawar, 2018).



Şekil 2 Kateşin'in kimyasal yapısı (Pawar, 2018)

1.1.2 Beyaz Çayın Farmakolojik Aktiviteleri

Çay kateşinleri, bağırsaktan kolesterol emilimini etkili bir şekilde azaltır, kolesterolün çözünürlüğünü düşürür ve kolesterol ve toplam lipitlerin dışkıdan atılımını artırır. Kötü kolesterolü düşürür. Yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) seviyelerini artırır. Böylece hipertansiyonu azaltır, damar sertliğini önler, kalp ve damar sağlığını iyileştirir (Pawar, 2018).

Çok sayıda çalışma, çay kateşinlerinin ve polifenollerinin süperoksit, peroksil radikalleri, tekli oksijen, peroksinitrit ve hipokloröz asit dahil olmak üzere fizyolojik olarak ilgili reaktif oksijen nitrojen türlerinin (RONS) in vitro etkili temizleyicileri olduğunu göstermiştir. Kardiyovasküler ve dolaşım sistemlerine iyi gelir. Antioksidan özelliğinden dolayı temelde serbest radikalleri yok etmesi nedeniyle kalp felçlerini önler (Pawar, 2018).

Kanser genellikle hücrelerin kümeleşip tümör oluşturmasıyla sonuçlanan kontrolsüz hücre bölünmesi olarak kabul edilir. Modern dünyadaki başlıca ölüm nedenlerinden biridir ve büyük ölçüde önlenemez bir hastalık olduğu gösterilmiştir, diyet faktörleri tarafından modülasyona oldukça duyarlıdır. Beyaz çayda bulunan diğer bir antioksidan grubu olan flavonoidlerin kanserojen hücrelerin oluşumunu engellediği ve bu nedenle prostat, kolon, bağırsak ve midede kanserli büyümeyi engellediği bilinmektedir. Çayda bulunan polifenoller, hücrede DNA hasarını azaltarak ve maligniteye yol açan kanserin aktivasyonunu azaltarak kanserin önlenmesinde önemli bir rol oynayabilir. Kateşinler ayrıca hücre zarlarını oksidasyona karşı korur, RONS'u sınırlı bölgelerde tutar ve muhtemelen kanser hücresi büyümesi için gerekli olan hücre zarı reseptörlerini bloke eder. Karsinogenin başlaması, bazı katalitik aktivitelerin ve kanserin başlamasında rol oynayan diğer spesifik enzimlerin baskılanmasıyla aşılabilir (Pawar, 2018).

Diabetes mellitus (DM), giderek yaygınlaşan, potansiyel olarak yıkıcı, pahalı, tedavi edilebilir ancak ömür boyu tedavi edilemeyen bir hastalıktır. Beyaz çayın kandaki stresi ve glikoz seviyelerini düşürmesi daha olasıdır ve metabolizmayı artırmaya yardımcı olur. Yayınlanan raporlar, bitkilerden elde edilen çok sayıda özütün, glisemiyi azaltmada etkili olduğunu, daha az yan etkiye neden olduğunu ve normal antidiyabetik ajanlara göre daha düşük maliyetli olduğunu göstermektedir. Son zamanlarda, Beyaz çayın *in vitro* olarak güçlü lipolitik ve antiadipojenik aktiviteye sahip olduğu bildirildi. Bu nedenle, beyaz çay, oksijen türlerini (OS) ve hiperlipidemi ve ardından insülin direncini azaltarak antidiyabetik etki gösterebilir. Diabetes mellitus, çeşitli komplikasyonlarla ilişkili olarak dünya çapında arttığı için, etkili bir tedavi bulma konusunda büyük bir ilgi var ve beyaz çay iyi bir alternatif gibi görünüyor. Ayrıca, beyaz çayın bu hastalığa karşı etki mekanizmalarını tam olarak anlamak için derinlemesine araştırmaya ihtiyaç vardır (Pawar, 2018).

Çay ayrıca, esas olarak polifenollerine atfedilen bazı antimikrobiyal özellikler de sergiler. Bu aktivitenin derecesi bakteri türüne ve polifenol yapısına bağlıdır. Fermente edilmemiş çayın antimikrobiyal aktivitesi, yarı fermente edilmiş veya fermente edilmiş çayınkinden daha yüksektir. Ayrıca, en yüksek antimikrobiyal aktivite, en yüksek toplam polifenol konsantrasyonu ve antioksidan aktiviteye sahip numunelerde

meydana gelir. Küçük miktarlarda florür varlığı, bakterileri yok ederek diş etlerinin ve dişlerin sağlığını iyileştirir (Pawar, 2018).

Beyaz çayların bazı yeşil çaylardan daha yüksek antielastaz, anti-kollajenaz ve antioksidatif aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir, bu da güçlü ve elastik cildi destekleme ve iltihaplanma ve romatoid artrit hafifletme kabiliyetine işaret etmektedir. Kemiklerin yoğunluğunu artırır ve eklem ağrılarını, kemiklerin yumuşamasını ve artrit önler (Pawar, 2018).

Kişileri kilo almaya yatkın kılan birçok önerilen genetik ve çevresel faktör olmasına rağmen, obezitenin temel nedeni diyetle alım ve enerji harcaması arasındaki dengesizliktir. Çayın obezitede etki mekanizmaları şunlardır: hepatik lipid metabolizmasının uyarılması; lipazların inhibisyonu; termojenezin uyarılması; iştahın modülasyonudur (Pawar, 2018).

Beyaz çay, antioksidanlar virüslere ve bakterilere karşı etkili olduğu için bağışıklık sistemini güçlendirir. Serbest radikalleri dışarı attığı gibi cilt sağlığını da iyileştirir ve yaşlanma sürecini yavaşlatır (Pawar, 2018).

1.1.3 Çayın Antibakteriyel Aktivitesi

Çay bitkisinden *Camellia sinensis*, yaprak özleri geniş bir mikroorganizma spektrumuna karşı aktiviteye sahip polifenolik bileşenler içerir. Son 20 yılda yapılan çalışmalar, yeşil çay polifenolik kateşinlerinin, özellikle (-)-epigallokateşin gallat (EGKG) ve (-) - epikateşin gallatın (EKG), Gram-pozitif ve Gram-negatif bakteri türlerinin büyümesini engelleyebileceğini göstermiştir (Taylor ve ark., 2005).

Camellia sinensis'in metanol ve sulu özütlerinin *Listeria monocytogene* süzerindeki antibakteriyel aktivitesi araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlar, metanol ve su özütünün *L. monocytogenes*'e karşı antibakteriyel aktiviteler sergilediğini göstermiştir. Yaprak özütü, test bakterilerine karşı 10.0 –20.1 mm arasında değişen inhibisyon zonu üretmiştir. Metanol özütlerinin, bakterilere karşı su özütünden daha büyük inhibisyon zonu ürettiği gözlenmiştir. Metanol ve su yaprağı özütü için minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) sırasıyla 0.26 ve 0.68 mg/ml olarak bulunmuştur (Mbata ve ark., 2008).

Karyojenik hastaların tükürük ve dişlerinden farklı bakteriler izole edilmiş ve çeşitli morfolojik ve biyokimyasal testlerle tanımlanmıştır. Yeşil çay özütleri, *Escherichia coli*, *Streptococcus salivarius* ve *Streptococcus mutans*'ı güçlü bir şekilde inhibe etmiştir (Sharma ve ark., 2012).

Japon yeşil çay yapraklarının özütlerinin ishal hastalıklarına neden olan çeşitli bakterilerin büyümesini engellediğini bulunduğu bir çalışmada test edilen tüm çay örnekleri *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *Vibrio cholerae O1*, *V. cholerae non O1*, *V. parahaemolyticus*, *V. miMIKus*, *Campylobacter jejuni* ve *Plesiomonas shigelloides*'e karşı antibakteriyel aktivite göstermiştir (Toda ve ark., 1989).

Yeşil ve siyah çayın metanol özütü *Streptococcus mutans* (ATCC 3566) üzerinde incelenmiştir. İran yeşil ve siyah çayının 100 ila 400 mg/ml konsantrasyonları üzerinde antibakteriyel etkisinin olduğu, yeşil ve siyah çayın minimum inhibitör konsantrasyonu sırasıyla 150 ve 50 mg / ml olduğu tespit edilmiştir (Naderi ve ark., 2011).

1.1.4 Çayın Antibiyotik Dirençli Suşlara Karşı Antibakteriyel Aktivitesi

Metisilin dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) ve çok ilaca dirençli *Pseudomonas aeruginosa* (ÇİD-P. aeruginosa) klinik izolatlarına karşı yeşil çay özütünün antibakteriyel aktivitesini değerlendirildiği bir çalışmada, *S. aureus* ATCC 25923 ve MRSA s için zon çapları sırasıyla 18.970±0.287 mm ve 19.130±0.250 mm olarak bulunmuştur. *P. aeruginosa* ATCC 27853 ve ÇİD- *P. aeruginosa* için ise inhibisyon bölgesi çapı sırasıyla 17.550±0.393 mm ve 17.670±0.398 mm olarak tespit edilmiştir. *S. aureus* ATCC 25923 ve MRSA'ya karşı yeşil çay özütlerinin MİK değeri sırasıyla 400 µg/ml ve 400 µg/ml iken, *P. aeruginosa* ATCC 27853 ve ÇİD- *P. aeruginosa* için MİK değerleri sırasıyla 800 µg/mL ve 800 µg / ml olarak bulunmuştur (Radji ve ark., 2013).

Tahran ve İran'daki iki hastanedeki klinik örneklerden toplam 43 *Pseudomonas aeruginosa* suşu toplanarak, izolatların farklı antibiyotiklere duyarlılıkları agar disk difüzyon yöntemi ile test edilmiştir. Yeşil çay su özütünün izolatlara karşı minimum inhibitör konsantrasyonları ve minimum bakterisidal konsantrasyonları tespit edilmiştir. İzole edilen suşların %35,6'sı 5 antibiyotik veya daha fazla direnç gösterdiği

ve tüm suşların %55.8'i çok ilaca dirençli (ÇİD) suş olduğu belirlenmiştir. Tüm *Pseudomonas auroginosa* suşlarına karşı özütlerin ortalama MİK ve MBC'leri sırasıyla 2.06 ± 1.76 ve 2.54 ± 2.22 mg/ml-1 olarak tespit edilmiştir (Jazani ve ark., 2007).

1.2 Tarçın

Tarçın, tarçın ağaçlarının 4 ana türünün iç kabuğundan yapılıdır. "Ceylon cinnamom" olarak bilinen çok kaliteli tarçın, *Cinnamomum verum*'dan (syn. *Cinnamomum zeylanicum*) üretilir. Düşük kaliteli tarçın diğer adıyla *cassia cinnomum spp.*'den üretilir. Tarçın lezzetinden sorumlu ana bileşik sinnamaldehittir. Baharat, gıda ve parfümeride çeşitli şekillerde kullanılır: ham, uçucu yağlar veya oleoresinler gibi. Tarçın dünyanın üçüncü baharatıdır. Öncelikle Endonezya ve Sri Lanka'da üretimi yapılmaktadır. Endonezya açık ara en büyük cassia üreticisidir(% 70) (Dornier ve ark., 2000).



(a)



(b)

Şekil 3. Tarçın Genel Görünüm (Husain ve ark., 2018)

1.2.1 Tarçının Kimyasal Bileşenleri

Tarçın, sinnamaldehit, sinnamat, sinnamik asit ve çok sayıda esansiyel yağ da dahil olmak üzere çeşitli reçineli bileşiklerden oluşmuştur. Baharatlı tat ve kokunun sinnamaldehit varlığından kaynaklandığını ve oksijenin emilmesinden kaynaklandığını bildirilmiştir. Tarçın yaşlandıkça, renk kararır, reçineli bileşikleri artar. Sangal, tarçının çeşitli fizyokimyasal özelliklerini bildirmiştir (Tablo 1). Trans-

sinnamaldehit, sinnamil asetat, öjenol, L-borneol, karyofillen oksit, b-karyofilen, L-bornil asetat, E-nerolidol, a-kübeben, a-terpineol, terpinolen gibi çok çeşitli uçucu yağların varlığı ve α -thujene bildirilmiştir (Rao ve Gan, 2014).

Tablo 1 Tarçının farklı bölümlerinin kimyasal bileşenleri

Bitki Kısmı	Bileşik
Yapraklar	Sinnamaldehit:% 1.00 ila 5.00 Öjenol:% 70,00 -% 95,00
Kabuk	Sinnamaldehit:% 65.00 ila 80.00 Öjenol:% 5.00 ila% 10.00
Kök kabuğu	Kafur:% 60.00
Meyve	<i>trans</i> - Sinnamil asetat (% 42.00 ila% 54.00) ve karyofilen (% 9.00 ila% 14.00) Terpen hidrokarbonlar:% 78.00
<i>C. zeylanicum</i> tomurcukları	<i>alfa</i> - Bergamoten:% 27.38 <i>alfa</i> -Kopaen:% 23.05 Oksijenli terpenoidler:% 9.00
<i>C. zeylanicum</i> çiçekler	(E) -Cinnamil asetat:% 41.98 <i>trans-alfa</i> - Bergamoten:% 7.97 Karyofilen oksit:% 7.20

1.2.2 Tarçının Antioksidan Aktivitesi

Tarçının sulu ve alkollü özütü (1:1), yağ asidi oksidasyonunu ve lipit peroksidasyonunu in vitro potansiyel olarak önemli ölçüde inhibe etmiştir. Tarçından izole edilen farklı flavonoidler, serbest radikal temizleme etkinliklerine ve antioksidan özelliklere sahiptir. Sinnamaldehit ve diğer tarçın bileşiklerinin nitrik oksit üretimi üzerindeki önleyici etkilerinin araştırılması, sinnamaldehitin nitrik oksit üretimine ve aynı zamanda indüklenebilir nitrik oksit ekspresyonuna karşı potansiyel aktiviteye sahip olduğunu ortaya koymuştur. Lin ve diğerleri *C. cassia* kuru kabuğunun etanolik ve sıcak su özütlerinin iki farklı özütünün in vivo antioksidan aktivitesini bildirmiştir. *C. cassia*'nın etanolik özütü, doğal antioksidan a-tokoferol (% 93.74) ile karşılaştırıldığında önemli bir inhibisyon (% 96.3) sergilemiştir. Genel olarak, tarçın diğer tatlı baharatlardan daha yüksek antioksidan aktiviteler sergilemiştir (Rao ve Gan, 2014).

26 baharat arasındaki karşılaştırmalı bir çalışmada, tarçın en yüksek antioksidan aktiviteyi göstermiş ve bu da gıdalarda kullanılan bir antioksidan olarak uygulanabileceğini göstermiştir. Başka bir çalışmada, yüksek fruktoz ile beslenen

insüline dirençli sıçanlarda bir baharat karışımının oksidatif stres markörleri üzerindeki etkinliği ve antioksidan aktivitesi araştırılmıştır. 1 g / 100 g tarçın kabuğundan oluşan karışım, sadece fruktoz grubuna kıyasla önemli bir antioksidan aktivite göstermiştir (Rao ve Gan, 2014).

1.2.2.1 Tarçının Antiinflamatuar Aktivitesi

Tıbbi bitkiler ve bileşenleri hakkında yapılan çeşitli çalışmalar, tarçının antiinflamatuar aktivitelerini göstermiştir. Çeşitli çalışmalar, tarçın ve uçucu yağlarının antiinflamatuar aktivitesini bildirmiştir. Son zamanlarda yapılan bir çalışmada, *C. cassia* kabuğundan izole edilen 2p-hidroksisinnamaldehitin, nitrik oksit üretimi üzerinde engelleyici bir etki sergilediği bildirilmiştir. Bu maddenin potansiyel olarak bir anti-enflamatuar ajan olarak kullanılabilceğini göstermiştir. *C. ramulus*'ta bulunan çeşitli bileşikler, merkezi sinir sisteminde (CNS) indüklenebilir nitrik oksit sentezi (iNOS), siklooksijenaz-2 (COX-2) ve nitrik oksit (NO) üretiminin ekspresyonunu baskılayarak antiinflamatuar etkiler göstermiştir. Bu mekanizma ile *C. ramulus*, enflamasyon aracılı nörodejeneratif hastalıkların terapötik tedavisi veya önlenmesi için potansiyel bir kaynak olabilir. Ayrıca, tarçının sulu özütü serumdaki lipopolisakkarite bağlı tümör nekroz faktörü- α seviyelerini azaltmıştır (Rao ve Gan, 2014).

1.2.2.2 Tarçının Antidiyabetik Aktivitesi

Tarçından bir madde izole edilmiş ve “insülin güçlendirici faktör” (IPF) olarak elde edilmiştir. Tarçın kabuğunun antidiyabetik etkileri streptozotosin kaynaklı diyabetik sıçanlarda gösterilmiştir. Birçok çalışma, tarçın özlerinin sadece kan şekerini değil, aynı zamanda kolesterol seviyelerini de düşürdüğünü ortaya koymuştur (Rao ve Gan, 2014).

Tarçından birkaç polifenol izole edilmiştir. Bu polifenoller arasında rutin (% 90.0672), kateşin (% 1.9), kuersetin (% 0.172), kaempferol (% 0.016) ve izorhamnetin (% 0.103) bulunur. Cao ve diğerleri (2007), yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) ile saflaştırılan tarçın içeren polifenollerin sulu özütünün, insülin benzeri aktivite gösterdiğini göstermiştir. Sulu tarçın özü, sıçan bağırsağında alanin emilimini önemli ölçüde azaltmıştır. Alanin glukoneogenezde hayati bir rol oynar, karaciğerde piruvat

olarak değiştirilir ve glukoneogenez için bir substrat olarak kullanılır. Bununla birlikte, tarçın ile takviye edilmiş diyabetik postmenopozal kadınlar üzerinde yapılan bir başka çalışma, tarçının genellikle diyabet için yararlı olduğuna inanılmasına rağmen, zayıf glisemik kontrol göstermiştir. Bununla birlikte, kullanılan tarçın dozu ile bazal glikoz ve lipit seviyelerindeki farklılıkların bu varyasyonlara yol açtığı bulunmuştur (Rao ve Gan, 2014).

1.2.2.3 Tarçının Antikanser Aktivitesi

HPLC'den elde edilen sulu özüt ve tarçın (prosiyanidinler) fraksiyonu vasküler endotelial büyüme faktörü alt tip 2 (VEGFR2) kinaz aktivitesini inhibe eder, böylece kanserde anjiyogenezi inhibe eder. Çalışmanın sonuçları tarçının potansiyel olarak kanserin önlenmesinde kullanılabileceğini göstermiştir. Sinnaaldehitler sentezlenmiş ve anjiyogeneze karşı inhibitör olarak test edilmiştir. Jeong ve diğerleri sinnaaldehitten türetilen 2p-hidroksisinnaaldehitten sentezlenen bir kimyasal olan CB403'ün tümör büyümesini inhibe edebileceğini bildirmiştir. Genel olarak, CB403'ün hayvan temelli çalışmalarda ve hücre kültürü temelli çalışmalarda antitümör ve büyüme önleyici özellikleri, tarçının bir antikanser ajan olarak kullanılma potansiyelini göstermiştir. Fang ve diğerleri, *C. osmophloeum*'dan trans-sinnaaldehitin antikanser etkisini bildirerek trans-sinnaaldehitin tümör hücresi büyümesini kısıtlamada ve tümör hücresi apoptozunu artırmada potansiyel etkiler gösterdiğini bildirmişlerdir (Rao ve Gan, 2014).

1.2.2.4 Tarçının Kardiyovasküler Hastalıklar Üzerine Etkisi

Son zamanlarda yapılan bir çalışmada, *C. cassia*'dan miyokard iskemisine karşı izole edilen sinnamik aldehit ve sinnamik asit olmak üzere iki bileşimin, tarçının kardiyovasküler hastalıkları tedavi etmek için de kullanılabileceğini gösteren potansiyel etkileri bildirilmiştir (Rao ve Gan, 2014).

Birçok çalışma sinnaaldehitin kardiyovasküler sistem üzerindeki koruyucu etkilerini bildirmiştir. Sinnaofilin, *C. philippinensis*'ten izole edilen önemli liganlardan biridir ve sıçanlarda ve kobaylarda tromboksan A2 (TXA2) reseptör bloke edici aktiviteye sahip olduğu doğrulanmıştır. Sinnaofilin potansiyel bir tromboksan sentaz inhibitörü ve TXA2 reseptör antagonisti olarak işlev görür ve trombosit agregasyonu ve kanserler

gibi TXA2 bozukluklarını içeren hastalıkların tedavisine dahil edildiğinde yardımcı olabilir (Rao ve Gan, 2014).

1.2.2.5 Tarçının Kolesterol ve Lipit Düşürücü Etkileri

Tarçının farelere uygulanması, lipit profilini olumlu etkilemiştir, böylece yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL) kolesterol seviyeleri azalmış ve plazma trigliseritleri azaltılmıştır. Başka bir çalışmada, *Cinnamomum cassia* tozu (% 15) 35 gün boyunca uygulanan sıçanlarda toplam kolesterol, trigliseritler ve düşük yoğunluklu lipoproteinlerde bir azalma bulunmuştur. Ayrıca tarçın yağları, broyler tavuklarda kolesterol seviyelerini düşürmüştür. Khan ve arkadaşları günde 1, 3 ve 6 g dozda tarçın verilmesinin insanlarda serum glikoz, trigliserit, toplam kolesterol ve LDL kolesterol düzeylerinde bir azalmaya neden olduğunu bildirmiştir (Rao ve Gan, 2014).

1.2.2.6 Tarçının Gelişmiş Glikasyon Son Ürünleri (AGE'ler)

Tarçından farklı fenolik ve flavonoid bileşikleri izole edilmiştir. Tarçından izole edilen fenolik bileşikler olan epikateşin, kateşin ve prosiyanidin B2, AGE'lerin oluşumu üzerinde dikkate değer ve potansiyel olarak inhibe edici aktiviteler göstermiştir. Fenolik bileşiklerin bu antiglikasyon aktiviteleri sadece antioksidan aktivitelerine atfedilmez, aynı zamanda AGE oluşumunun bir ara reaktif karbonili olan metilglikoksal (MGO) gibi reaktif karbonil türlerinin yakalama yetenekleri ile de ilişkilendirilmiştir. Reaktif karbonil türlerini hapsederek AGE oluşumunun inhibisyonu, diyabet ve komplikasyonlarını tedavi etmek için mantıklı bir terapötik yaklaşım olabilir (Rao ve Gan, 2014).

1.2.3 Tarçının Antibakteriyel Aktivitesi

Yapılan bir çalışmada *C. cassia*'nın hem yağının hem de saf sinnamaldehitin, Gram-pozitif (1 izolat, *Staphylococcus aureus*) ve Gram-negatif (7 izolat, *E. coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus* ve *Samonella typhymurium*) bakterilerin, mayaları içeren mantarların (dört *Candida* türü, *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. glabrata* ve *C. krusei*), filamentli küflerin (4 izolat, üç *Aspergillus spp.* ve bir *Fusarium sp.*) ve dermatofitlerin (üç izolat, *Microsporum gypseum*, *Trichophyton rubrum* ve *T. mentagraphytes*)

büyümesini inhibe etmede eşit derecede etkili olduğu tespit edilmiştir. Hem yağın hem de sinnalaldehidin MİK'leri bakteriler için 75 µg/ml ila 600 µg/ml arasında, mayalar için 100 µg/ml ila 450 µg/ml arasında, filamentöz mantarlar için 75 µg/ml ila 150 µg/ml arasında ve 18.8 µg/ml ila 37.5 µg ml arasında dermatofitler için tespit edilmiştir. *C. cassia* yağının ve ana bileşeninin antimikrobiyal etkinliği karşılaştırılabilir ve neredeyse eşdeğerdir, bu da *C. cassia* yağının geniş spektrumlu antibiyotik aktivitelerinin sinnalaldehiden kaynaklandığını göstermiştir (Ooi ve ark., 2006).

Sarımsak, tarçın ve zerdeçalın antibakteriyel aktivitesini araştırmak için yapılan çalışmada farklı özüt konsantrasyonları, çözücü olarak su ve etanol kullanılmıştır. Antibakteriyel aktivite, *Bacillus subtilis* (DSM 3256) ve *E.coli*'ye (ATCC 25922) karşı farklı konsantrasyonlardaki baharat ekstraktlarında disk difüzyon yöntemi kullanılarak test edilmiştir. Tarçın ve zerdeçal söz konusu olduğunda, etanolik özütler, *B.subtilis* DSM 3256'ya karşı 16mm ve *E.coli*'ye karşı 17mm'lik bölgeleri sergilediği tespit edilmiştir. Tarçın etanolik özütlerinin hem Gram negatif hem de Gram pozitif bakterilere karşı eşit derecede etkili olduğunu gösterilmiştir (Mukhtar ve Ghori, 2012).

Staphylococcus aureus'a karşı sulu tarçın ve karanfil özütlerinin antibakteriyel aktivitesi araştırılmıştır. Araştırmada agar difüzyon tekniği uygulanmıştır. Hem tarçın hem de karanfilin *Staphylococcus aureus*'a karşı inhibitör etkisi olduğu bulunmuştur ve inhibisyon bölgelerinin çapının tarçın için (7-17) mm ve karanfil için (7.5-19) mm olduğu gösterilmiştir (Al-dhaher, 2008).

Endonezya'dan *Cinnamomum burmannii* Blume (tarçın çubuğu) ile yapılan çalışmada, tarçın çubuğu özütünün antibakteriyel aktivitesi, minimum inhibitör konsantrasyonu (MIC) ve minimum bakterisidal konsantrasyonu (MBC), beş yaygın gıda kaynaklı patojenik bakteriye (*Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* ve *Salmonella anatum*) karşı değerlendirilmiştir. Tarçın çubuğu özütü önemli antibakteriyel özellikler sergilemiştir (Shan ve ark., 2007).

5 bitki türünün alkol, etil asetat, aseton ve kloroform özütlerinin antibakteriyel aktiviteleri incelenmiştir. *Pimpinella anisum* (L.) (anason, anason) (tohum), *Coriandrum sativum* (L.) (kişniş, kişniş) (tohum), *Glycyrrhiza glabra* (L.) (meyan kökü) (kök), *Cinnamomum cassia* Blume (Çin tarçını) (kabuğu) ve *Juniperus*

oxycedrus (L.) (ardıç) (tohum), agar difüzyon yöntemi ile 13 bakteri türüne ve suşuna karşı in vitro test edilmiştir. *Cinnamomum cassia* kabuğu özütleri, test edilen mikroorganizmalara antibakteriyel aktivite (7-29 mm / 20 ul inhibisyon bölgesi) göstermiştir (Ateş ve Turgay, 2003).

Yapılan başka bir çalışmada ise seçilen uçucu yağlar dört Gram negatif bakteriye (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris*) ve iki Gram pozitif bakteri *Bacillus subtilis* ve *Staphylococcus aureus*'a karşı dört farklı konsantrasyonda disk difüzyon yöntemi kullanılarak taranmıştır. Tarçın, karanfil, sardunya, limon, misket limonu, portakal ve biberiye yağları önemli ölçüde inhibe edici etki göstermiştir. Tarçın yağı düşük konsantrasyonda bile umut verici inhibitör aktivite göstermiştir (Prabuseenivasan ve ark., 2006).

Son olarak, Tarçın esansiyel yağının (EO), gıda kaynaklı bozulmaya neden olan ve patojenik bakteriler *Escherichia coli* ve *Staphylococcus* karşı etkili antibakteriyel aktivite sergilediği tespit edildiği başka bir çalışmada, tarçının esansiyel yağının minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) her iki bakteri için de (1.0 mg / ml) olduğu belirlenmiştir (Zhang ve ark., 2016).

1.2.4 Tarçının Antibiyotik Dirençli Suşlara Karşı Antibakteriyel Aktivitesi

Tarçın yağının *Acinetobacter baumannii* ve *Pseudomonas aeruginosa*'nın karbapenem dirençli nozokomiyal izolatlarına karşı antibakteriyel aktivitesini belirlemek için yapılan bir çalışmada tarçın yağının uçucu yağ bileşimi GC, GC / MS ile analiz edilmiş ve tarçın yağının antimikrobiyal etkisi disk difüzyon yöntemi ile belirlenmiştir. Gözlenen zon çapları karbapenem sınır değerleri (CLSI standardı) ile karşılaştırılmıştır ve *P. aeruginosa* izolatlarından sadece birinin direnç sınırları içinde olduğu bulunmuştur (Kaskatepe ve ark., 2016).

Diğer bir çalışmada ise *Cinnamomum osmophloeum* klonunun (A ve B) yapraklarından elde edilen uçucu yağların antibakteriyel aktiviteleri ve bunların kimyasal bileşenleri araştırılmıştır. Metisilin dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) dahil olmak üzere dokuz bakteri suşu kullanılmıştır. Antibakteriyel testlerden elde edilen sonuçlar, yerli tarçın B yaprağı esansiyel yağlarının mükemmel bir inhibe edici etkiye sahip olduğunu göstermiştir. *E. coli*, *P. aeruginosa*, *E. faecalis*, *S. aureus*, *S.*

epidermidis, MRSA, *K. pneumoniae*, *Salmonella sp.* ve *Vibrio parahemolyticus*'a karşı sinnalaldehitin MİK'lerinin 500, 1000, 250, 250, 250, 250, 1000, 500 ve 250 µg / ml olduğu tespit edilmiştir (Chang ve ark., 2001).

Pseudomonas aeruginosa, doğal ilaç direnci gösteren bir nozokomiyal patojen olarak iyi bilinmektedir. Bu çalışmada, Tayvan'da kullanılan 58 Çin bitkisel ilacının etanol özütlerinin antibakteriyel aktivitesi, *P. aeruginosa*'nın 89 nozokomiyal antibiyotiğe dirençli suşuna karşı test edilmiştir. Disk difüzyon yöntemiyle elde edilen sonuçlar, 58 bitkisel özütten 26'sının antibakteriyel aktivite sergilediğini göstermiştir. 26 bitkisel özüt arasında, 10 özüt geniş spektrumlu antibakteriyel aktiviteler göstermiş ve daha fazla antibakteriyel özellik analizi için seçilmiştir. Aktif bitkisel fraksiyonların antibiyotiklerle kombinasyonu, *Ramulus cinnamomi*'nin heksan fraksiyonu olan bitkisel ilaçlardan birinin tetrasiklin, gentamisin ve streptomisin ile sinerjistik bir etkiye sahip olduğunu göstermiştir (Liu ve ark., 2007).

1.3 Kekik

Kekik, hepsi Avrupa ve Asya'ya özgü olan Timus türlerinin birçok bitki çeşidinin genel adıdır. Kekik, Güneydoğu İtalya'ya uzanan Batı Akdeniz bölgesine özgüdür. Kekik, nadiren (40 cm) yatay ve dik alışkanlıklarla büyüyen yarı yaprak dökmeyen zemin örtüsü ile küçük bir yıllık çalıdır. *Thymus vulgaris L.*'nin genel görünümü Şekil 4. te gösterilmiştir. Sapları yaşla birlikte odunsu hale gelmiştir. *T. vulgaris* yaprakları oval-dikdörtgen biçimindedir ve yaprakları uçucu yağ üretimi için, buhar damıtma ile kullanılmaktadır (Dauqan ve Abdullah, 2017).



Şekil 4. Kekik Genel Görünüm (Ferrer-Gallego ve ark., 2013)

Kekik daha çok ılıman, kuru, güneşli bir iklimde yetişmektedir. Bitkiyi kurutmak için güneşten modern kurutuculara kadar birçok yöntem kullanılmaktadır. Güneşte kurutma uçucu yağ kalitesinin düşmesine neden olur. Yapay kurutma teknikleri, ürün kalitesinin daha yüksek olmasını sağlamaktadır (Dauqan ve Abdullah, 2017).

1.3.1 Kekiğin Kimyasal Bileşenleri

Kekik yağları, oldukça farklı konsantrasyonlarda yaklaşık 30-60 bileşen içeren çok karmaşık doğal karışımlardır. Genel olarak, bu ana bileşenler uçucu yağların biyolojik özelliklerini belirler (Imelouane ve ark., 2009; Dauqan ve Abdullah, 2017)

1.3.2 Kekiğin Farmakolojik Aktiviteleri

1.3.2.1 Antidiyabetik Aktivite

Maqsood ve diğerleri antidiyabetik etkiye sahip bitkiler arasında kekiği önermişlerdir. Kekik sulu özütü, alloksan kaynaklı hiperglisemik tavşanlarda vücut ağırlıkları üzerinde etkisi olmayan antihiperglisemik etki ortaya koymuştur. Bitkinin glikozun dolaşımından atılmasını artırma, glukagonun serbest kalmasını veya insülin artışını azaltma, glikozun GIT'den emilimini azaltma yeteneği nedeniyle veya glikoliz işlemi için periferik dokuları doğrudan uyararak etki gösterdiği belirlenmiştir. Diğer araştırmalar, *T. serpyllum* ve özütlerinin in vitro α -glukozidaz üzerinde inhibe edici etkiye sahip olduğunu göstermiştir. Kekik sulu özütünün antioksidan potansiyeli, bu bitkinin antidiyabetik etkisinden sorumludur, diyabet veya alloksanın kendisi tarafından üretilen serbest radikallerin sitotoksik aktivitesine karşı bir savunma sağlamıştır (Khafaji, 2018).

1.3.2.2 Antiviral aktivite

Silke Nolkemper ve diğerleri Lamiaceae familyasının türlerinden sulu özütler ile bir deney yapmışlardır, bu özütler Herpes simpleks virüsüne (HSV) karşı antiviral aktiviteleri açısından incelenmiştir. Kekikten elde edilen (*Thymus vulgaris*) özüt Herpes simpleks virüsü tip 1 (HSV-1), tip 2 (HSV-2) karşı inhibe edici etki göstermiştir (Nolkemper ve ark., 2006).

1.3.2.3 Antioksidan aktivite

El-Nekeety, *Thymus vulgaris* L. yağının elementlerini incelemek ve bu yağın sıçanlarda aflatoksinindükleyici oksidatif strese karşı koruyucu etkilerini değerlendirmek için bir deney gerçekleştirmiştir. Sadece aflatoksinlerle yapılan tedavi kan serumundaki lipit profilini bozar, toplam antioksidan kabiliyetini azaltır, kan serumundaki kreatinin, ürik asit ve nitrik oksidi ve karaciğer ve boşaltım organındaki lipit peroksidasyonunu karaciğer dokularında ciddi bir histolojik değişikliklere neden olur. Test edilen 2 dozda tek başına yağ, biyokimyasal parametreler veya histolojik görüntü içinde önemli bir değişiklik yaratmamıştır. Kombine tedavi, karaciğer dokularında tamamen test edilmiş parametreler ve histolojik görüntülerde önemli gelişmeler göstermiştir (Reddy ve ark., 2014).

1.3.3 Kekik'in Antibakteriyel Aktivitesi

Bir çalışmada, dört Lamiaceae türünün, yabani kekik (*Origanum minutiflorum*) (Türkiye'de endemik), kekik (*Origanum onites*), kara kekik (*Thymbra spicata*) ve yabani tuzlu (*Satureja cuneifolia*) hava kısımlarından elde edilen uçucu yağların kimyasal bileşimi ve antibakteriyel özellikleri değerlendirilmiştir. Tüm uçucu yağlar, tüm bakterileri <1/100 (w/w) konsantrasyonlarda inhibe etmiştir (Baydar ve ark., 2004).

Onaltı baharatın (anason, fesleğen, kimyon, dalağia adaçayı, dereotu, rezene, defne, nane, kekik, dekapaj, biberiye, adaçayı, yaz kokulu, deniz kenarı, sumak ve siyah kekik) hidrosollerinin in vitro antibakteriyel aktivitesi on beş bakteri (*Bacillus amyloliquefaciens* ATCC23842, *B. brevis* FMC3, *B. cereus* FMC19, *B. subtilis* var. *niger* ATCC10, *Enterobacter aerogenes* CCM2531, *Escherichia coli* ATCC25922, *E. coli* O157:H7 ATCC33150, *Klebsiella pneumoniae* FMC5, *Proteus vulgaris* FMC1, *Salmonella enteritidis*, *S. gallinarum*, *S. typhimurium*, *Staphylococcus aureus* ATCC2392, *S. aureus* ATCC28213, *Yersinia enterocolitica* ATCC 1501) üzerinde test edilmiştir. Beş baharatın (anason, kimyon, kekik, yaz kokulu ve siyah kekik) hidrosollerinin bazı test bakterilerine karşı antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir (Sağdıç ve Özcan, 2003).

Listeria monocytogenes kaynaklı gıda zehirlenmesi hastalar arasında% 30'luk bir ölüm oranına yol açar. Tarçın, kekik ve biberiye esansiyel yağlarının (EO) ve arpacık soğanı ve zerdeçal özütlerinin antibakteriyel aktivitesi, agar kuyucuk ve disk difüzyon teknikleri kullanılarak *L. monositogenes*'e karşı test edilmiştir. Sonuçlar, kekik EO'nun en yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu, ardından tarçın ve biberiye EO'larının geldiğini göstermiştir (Abdollahzadeh ve ark., 2014).

Başka bir çalışmada kekik ve kekik esansiyel yağlarının, timol ve karvakrolün kimyasal bileşimi, antioksidan ve antibakteriyel aktiviteleri araştırılmıştır. Timol ve karvakrolün incelenen uçucu yağların baskın bileşenleri olduğu bulunmuştur. İncelenen tüm örnekler güçlü antioksidan ve antibakteriyel potansiyel ifade etmiştir (Gavaric ve ark., 2015).

Üç Filistinli folklorik tıbbi bitki adaçayı, kekik ve maydanozdan ticari yağlarına ek olarak sulu, etanolik, metanolik ve fenolik özütlerinin on patojenik mikroorganizmaya karşı antimikrobiyal aktivitesini değerlendirilmiştir. Sulu adaçayı ve kekik özütleri, test edilen mikroorganizmaların çoğuna karşı etkili olmuştur. Adaçayı ve kekik fenolik özütü, *S. aureus*'a karşı antibakteriyel aktivite göstermiştir. Adaçayı, kekik ve maydanozun ticari yağlarının sonuçları, *E. coli*, *Proteus mirabilis* ve *Salmonella typhi*'ye karşı antimikrobiyal aktivite göstermemiştir. Elde edilen veriler, test edilen 10 mikroorganizma arasında *S. aureus*, genel olarak, incelenen üç bitkinin özütüne en duyarlı bakteri olduğunu göstermiştir (El Astal ve ark., 2005).

Kekik, biberiye ve adaçayı özütlerinin antibakteriyel aktivitesi *Geobacillus stearotermophilus*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis* var. *Nijer*, *Enterococcus faecium*, *Salmonella enteritidis* ve *Escherichia coli* suşları üzerine antibakteriyel aktivitesi incelenmiştir. Test edilen bakterilere karşı en güçlü antibakteriyel aktiviteyi 40-640 µg/ml MİK değerlerine sahip kekik özütü göstermiştir (Ivanovic ve ark., 2012).

İki geleneksel bitki esansiyel yağı olan *Thymus vulgaris* ve *Eucalyptus globulus*'un Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) ve diğer standart bakteri suşlarının disk difüzyonu ve agar seyreltme yöntemleri ile antibakteriyel etkisini incelendiği bir çalışma yapılmıştır. Sonuçlar, her iki yağın da Gram (+) ve Gram (-) bakterilere karşı antibakteriyel aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir. *T. vulgaris* EO, *E. globulus* esansiyel yağından daha iyi inhibe edici etkiler göstermiştir (Tohidpour ve ark., 2010)

Tarçın, karanfil, kekik, biberiye ve kekik yağlarının *Campylobactersp.*, *Listeria sp.*, *Yersinia sp.*, ve *Pseudomonas sp.*'ye karşı antibakteriyel aktiviteleri araştırılmıştır. Uçucu yağların çoğu, gıda kaynaklı tüm bakterilere karşı nispeten yüksek bir antibakteriyel aktivite göstermiştir. Uçucu yağların MİK aralıkları, karanfil, tarçın ve kekik için sırasıyla 50-60, 60-80 ve 80-100 ul/ml-1 olduğu tespit edilmiştir (Sheeladevi ve Ramanathan, 2012).

1.3.4 Kekik Antibiyoetik Dirençli Suşlara Karşı Antibakteriyel Aktivitesi

Kekik esansiyel yağının *Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Escherichia* ve *Pseudomonas* cinsinin klinik çok ilaca dirençli suşlarına karşı antimikrobiyal aktivitesini araştırılmıştır. Yağın antibakteriyel aktivitesi, ağız boşluğu, karın boşluğu, solunum ve genitoüriner kanallar, deri ve hastane ortamından enfekte olan hastalardan izole edilen standart bakteri suşlarına ve 120 klinik suşa karşı test edilmiştir. Kekik esansiyel yağı, test edilen klinik bakteri türlerinin büyümesini güçlü bir şekilde inhibe etmiştir. Birkaç yaygın ve hastaneden edinilmiş bakteriyel ve maya izolatu (MRSA dahil 6 *Staphylococcus* suşu, 4 *Streptococcus* suşu ve *Candida krusei* dahil 3 *Candida* suşu) Kekik yağına duyarlılıkları açısından test edilmiştir. Kekik yağı için etkili inhibisyon bölgeleri gözlenmiştir (Warnke ve ark., 2009).

Aloe vera, kekik, biberiye çeşitli bitkilerin özütlerinin, hem Gram-pozitif hem de Gram-negatif bakterilerin dahil olduğu 10 çoklu ilaca dirençli klinik izolata karşı in vitro antibakteriyel aktivitesinin değerlendirildiği çalışmada, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus* test edilen bitki ekstraktlarına karşı dirençliydi ve su özütleri, test edilen bakterilerin büyümesini kısıtlamamıştır. Etanol ve metanol özütlerinin, araştırılan bakterilerin çoğuna karşı önemli inhibitör aktiviteler uygulayabilmeleri daha güçlü bulunmuştur (Dahiya ve Purkayastha, 2012).

Origanum vulgare, *Thymus vulgaris*, *Lavandula angustifolia*, *Mentha piperita* ve *Melaleuca alternifolia*'nın 32 eritromisine dirençli ve hücre invaziv Grup A streptokoklar (GAS) üzerine inhibisyon etkisinin incelendiği çalışmada kekik ve origanum esansiyel yağları, 256 ila 512 µg /mL arasında değişen MİK'lerle en yüksek antimikrobiyal aktiviteyi göstermiştir (Magi ve ark., 2015).

Yapılan bir çalışmada endemik Fas kekik türleri, *Thymus maroccanus* ve *T. broussonetii*'nin geleneksel antibiyotikler ve esansiyel yağlar (EO) arasındaki ilişkinin, nazokomiyal enfeksiyonlarda yer alan antibiyotiğe dirençli bakteriler üzerindeki antibakteriyel etkisini değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar, yağların *Pseudomonas aeruginosa* hariç test edilen bakterilere karşı yüksek bir inhibitör aktiviteye sahip olduğunu göstermektedir (Fadli ve ark., 2012).

Bu çalışmanın amacı, kekik ve kekik esansiyel yağlarının (EO) bazı gıda kaynaklı bakteriler üzerindeki antibakteriyel etkilerini araştırmaktır. EO'ların GC-MS analizi, bileşimlerini belirlemek için yapılmıştır ve fenoller baskın bileşenlerdir. EO'ların antibakteriyel etkilerinin *Salmonella enteritidis*, *Salmonella thyphimurium*, *Staphylococcus aureus*, metisiline dirençli *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* ve *Bacillus cereus* suşlarına karşı araştırılmıştır. EO'lar test edilen tüm mikroorganizmalara karşı antibakteriyel aktivite sergilemiştir (Boskovic ve ark., 2015).

1.4 Kuşburnu

Rosa cinsi (Rosaceae familyasından), dünyanın bazı bölgelerinde, özellikle kuzey yarımkürenin ılıman ve subtropikal bölgelerinde dağıtılan yaklaşık 200 tür ve 20.000 yaygın çeşit içerir. Geleneksel olarak, dört alt türe ayrılır (Hulthemia Focke, Platyrhodon Rehder, Hesperhodos Cockerell ve Rosa). Rosa'nın alt cinsi tüm türlerin% 95'inden fazlasını içerir ve on bölüme ayrılmıştır. Köpek gülü olarak da adlandırılan *R. canina*, en tanınan Rosa türleridir. Bahçelerde ve peyzaj tasarım projelerinde dekoratif amaçlar için yetiştirilen dik dikenli çalı (1-3 m yüksekliğinde) ve kokulu pembe veya beyaz çiçekleri olan süs bitkisidir (Şekil 5). Dalları genellikle kavisli veya kemerlidir ve meyveleri geç olgunlaşır (Şekil 6) (Khazaei ve ark., 2020).



Şekil 5. Kuşburnu Genel Görünüm (Bussmann ve ark., 2014).



Şekil 6. Kuşburnu Genel Görünüm (Pardo de Santayana ve Macía, 2015).

1.4.1 Kuşburnunun Kimyasal Bileşimi

R. canina'nın fitokimyasal profili ve biyolojik potansiyeli kapsamlı bir şekilde araştırılmaktadır. *Rosa canina* meyveleri (RCM'ler) değerli besinler, şekerler, organik asitler, pektinler, flavonoidler, tanenler, karotenoidler (β -karoten, likopen ve rubiksantin izomerleri), vitaminler (özellikle askorbik asit ve ayrıca B1 vitaminleri, B2, K, PP, D ve E), yağ asitleri (linoleik, oleik, linolenik, palmitik, stearik ve araşidonik asit), makro ve mikro elementleri içermektedir. RCM'lerin meyve ve sebzeler arasında en yüksek askorbik asit içeriğine (30-1300 mg/100 g) sahip olduğu bilinmektedir. Bu bitkinin en çok incelenen kısmı, karotenoidler, askorbik asit, mineral

elementler, fenolikler ve yağ asitleri gibi değerli bir biyoaktif bileşik kaynağı olan meyveleridir (Khazaei ve ark., 2020).

1.4.2 Kuşburnunun Farmakolojik Aktiviteleri

1.4.2.1 Antiinflamatuar Aktivite

RCM'lerin bir dizi enflamatuar parametre üzerindeki etkisi (periferik kan polimorfonükleer lökositleri (PMN'ler), serum kreatinin ve C-reaktif protein seviyeleri kemotaksi ve kemilüminesans) değerlendirilmiştir. RCM özütü, periferik kan PMN'lerinin in vitro kemotaksisini ve kemilüminesansını inhibe etmiştir. Sağlıklı bireyler tarafından günlük kurutulmuş meyve tüketimi, periferik kan PMN'lerinin kemotaksisinin azalmasıyla sonuçlanmış ve serum kreatinin ve akut faz proteini C-reaktif protein seviyesini azaltmıştır. Bu sonuçlar, bu meyvelerin anti-enflamatuar özelliklerini doğrulamıştır (Khazaei ve ark., 2020).

1.4.2.2 Osteoartrite etkisi

Osteoartrit (OA) en yaygın eklem bozukluğudur. Eklem kıkırdağı, sinovyal membran, subkondral kemik ve periartiküler yumuşak dokuları içerir. *R. Canina* özütünün kolajen tip II, kıkırdağa özgü proteoglikan (CSPG), β 1-integrin, SOX-9, siklooksijenaz (COX) -2 ve metaloproteinaz (MMP)-9 ve MMP13 üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Bitki özütü, I κ B α fosforilasyonu, I κ B α bozulması, p65 fosforilasyonu ve p65 nükleer translokasyonunun inhibisyonu ile interlökin-1 β ile indüklenen NF- κ B aktivasyonunu bastırmıştır. Bu olaylar COX-2 ve MMP'ler de dahil olmak üzere NF- κ B hedeflerinin aşağı regülasyonu ile bağlantılıdır. Özüt ayrıca kolajen tip II, CSPG, β 1-integrin ve kıkırdağa özgü transkripsiyon faktörü SOX-9 protein ekspresyonunun interlökin-1-ile indüklenen aşağı regülasyonunu tersine çevirmiştir. Yüksek yoğunluklu kültürlerde, bitki özütü IL-1 varlığında bile yeni kıkırdak oluşumunu uyarmıştır (Khazaei ve ark., 2020).

1.4.2.3 Antioksidan Aktivite

Bir çalışmada Tunus'tan *R. canina* yapraklarının metanol ve etil asetat özütlerinin fenolik bileşimi ve antioksidan özellikleri karakterize edilmiştir. Özütlerin fenolik

bileşimi iki kaempferol türevi (Kaempferol 3-O-glukozit ve kaempferol7-O-glukozit) içerir. Veriler, bu özütlerin zengin bir antioksidan fenolik kaynağı olduğunu ileri sürmüştür. *R. canina* özütünün sadece bir antioksidan olarak değil, aynı zamanda konsantrasyonlarına bağlı olarak etkileri olan bir pro-oksidan olarak da hareket edebileceği önerilmiştir. Türkiye'nin kuzeybatı bölgesindeki Bolu ilinden yirmi beş *R. canina* tipi meyvenin antioksidan potansiyeli ve toplam fenolik içeriği çeşitli yöntemlerle analiz edilmiştir. RCM özütünün anti-oksidan aktivitesinin yüksek değerleri muhtemelen polisakkaritler ve organik asitler (gallik, sinnamik, ellagik) ile fenolik antioksidanlar (rutin, kaempferol, quercetin) arasındaki sinerjizm etkileşiminden kaynaklanmaktadır (Khazaei ve ark., 2020).

1.4.2.4 Ağrı Azaltma Etkisi

R. canina geleneksel olarak İran'da ağrıyı azaltmak için bitkisel bir ilaç olarak kullanılmıştır. Bir in vivo çalışma, hayvan modellerini kullanarak sulu özütün analjezik aktivitesini değerlendirilmiştir. Özüt farelerde gecikme süresini doza bağlı bir şekilde arttırmıştır. Ön tedavi, *R. canina*'nın anti-nosiseptif etkilerini artırmış ve bu, sodyum salisilattan daha belirgin bir şekilde olmuştur. Kronik ağrının akut alevlenmelerinde *R. canina*'dan gelen tozun etkinliği üzerine bir yıllık bir araştırma ile ağrı azaltma etkisini doğrulamıştır. Ayrıca, randomize kontrollü çalışmaların bir meta-analizi, meyve tozunun OA hastalarında ağrıyı azaltıp azaltmadığı araştırılmıştır. Sonuçlar, RCM tozunun ağrı üzerinde küçük ila orta derecede etkiye sahip olduğunu göstermiş ve analjezik bir bitkisel ilaç olarak önerilmiştir (Khazaei ve ark., 2020).

1.4.2.5 Antikanser Aktivite

Anti-kanser aktivitesine sahip çoğu diyet ürününün güçlü anti-oksidanlar olarak hareket ettiği ve hücre döngüsü kontrolünde yer alan bir veya daha fazla protein kinazın aktivitesini değiştirdiği bildirilmiştir. Kurutulmuş RCM'lerden (*R. canina* çayı) doğal antioksidanlar katı faz ekstraksiyonu (SPE) ile askorbik asit, flavonoidler ve fenolik asitlere ayrılmıştır. Bu üç fraksiyon daha sonra üç insan tümör hücre dizisi olan HeLa (serviks epitheloid karsinom), MCF7 (meme adenokarsinomu, östrojen reseptörü pozitif) ve HT-29 (kolon adenokarsinomu) büyümesi üzerinde anti-proliferatif aktiviteleri açısından taranmıştır. Veriler *R. canina* flavonoidler için en

düşük IC50 değerlerini göstermiştir. Bununla birlikte, askorbik asit fraksiyonu, tümör hücrelerinin büyümesini engellememiştir. Bu nedenle, sadece polifenoller *R. canina* anti-proliferatif aktiviteye katkıda bulunmuştur (Khazaei ve ark., 2020).

1.4.2.6 Antidiyabetik Aktivite

Diyabetik sıçanlarda *R. canina*'nın anti-diyabetik etkisi hakkında bir çalışma yapılmış ve meyve özütü ile kan şekerinin azaldığını göstermişlerdir. Ayrıca, bu özüt nekrotik ve rejenerer pankreatik adacık hücrelerini geliştirmiştir. Bu nedenle, diyabetik sıçanlarda hipoglisemik aktiviteyi temsil etmiştir. *R. canina* özütü, bu doğal özütün gözlenen anti-diyabetik etkisi için yeni bir mekanizma sağlayan pankreatik beta hücreleri için bir büyüme faktörü olarak işlev görebilir. Beta-hücreleri üzerinde rejeneratif etkiler ve STZ'nin neden olduğu diyabetin tersini tamamlama yeteneği ile *R. Canina* özütünden bir oligosakkarit saflaştırılmış, karakterize edilmiş ve tanımlanmıştır. Bu oligosakkaritin etkinliği, in vivo ve in vitro çalışmalar kullanılarak doğrulanmıştır. Doğrulanmış anti-diyabetik etkiler ve rejeneratif potansiyel nedeniyle, bu oligosakkarit, diyabet yönetiminde umut verici bir ilaç olarak düşünülebilir (Khazaei ve ark., 2020).

1.4.2.7 Antihiperlipidemik ve antiobez etkisi

R. canina meyvelerinden ve tohumlarından elde edilen % 80 sulu aseton özütünün, farelerde gıda alımını etkilemeden vücut ağırlığı ve viseral yağın ağırlığı üzerinde önemli bir engelleyici etkiye sahip olduğu gösterilmiştir. Bu özütteki trans-tilirosid, vücut ağırlığı, özellikle viseral yağ ağırlığı kazancını güçlü bir şekilde inhibe etmiştir. Öte yandan, kaempferol ve p-kumarik asit böyle bir etkiye sahip olmadığı ve kaempferol 3-O-b-D-glukopiranosid, vücut ağırlığı ve viseral yağ ağırlığı kazancını azaltma eğilimindeydi. Bu sonuçlar anti-obez etkiler için hem kaempferol 3-O-b-D-glukopiranosid hem de p-koumaroil kısımlarının önemini göstermiştir. STZ ile indüklenen diyabetik sıçanlarda *R. canina* meyvesi özütünün hipolipidemik aktivitesinin değerlendirilmesi, tedavi gruplarında kolesterol ve trigliserit konsantrasyonlarının diyabetik kontrol grubuna kıyasla azaldığını göstermiştir (Khazaei ve ark., 2020).

1.4.3 Kuşburnun Antibakteriyel Aktivitesi

Yapılan bir çalışmada dört gül taksonuna ait (*Rosa pisiformis*, *Rosa canina*, *Rosa villosa* ve *Rosa dumalis subsp. Antalyensis*) antibakteriyel ve antioksidan aktiviteler belirlenmiştir. Test edilen bakteriler arasında, kuşburnu meyve özütlerine karşı en duyarlı olan bakterinin *Bacillus cereus* olduğu tespit edilmiştir. Tüm *Rosa taxa* meyve özütleri, 9-14 mm inhibisyon bölgeleri ile *B. cereus*'un büyümesini inhibe etmiştir. *Rosa canina* özütü test edilen bakterilerin çoğunun büyümesini inhibe edebilen bir antibakteriyel ajan olarak bulunmuştur (Yılmaz ve Ercisli, 2011).

İran'da *Rosa canina* meyvesinin çeşitli özütlerinin fitokimyasal (fenoller ve flavonoidler) içeriği, antioksidan ve antibakteriyel özelliklerini çeşitli in vitro yöntemlerle değerlendirmek için yapılan çalışmada, metanol fraksiyonu çalışılan mikroorganizmaya karşı en etkileyici özüt olduğu tespit edilmiştir (Montazeri ve ark., 2011).

Rosa canina çiçekleri, bitkinin antimikrobiyal özelliklerini incelemek için çeşitli bitki patojenik mikrobiyal suşlara karşı taranmıştır. Çiçeklerin etanolik ve metanolik özütlerinin sırasıyla *Escherichia coli* CCM 3988 ve *Pseudomonas aeruginosa* CCM 1960 ve üç mikroskopik filamentöz mantar suşu *Aspergillus niger*, *Fusarium culmorum* ve *Alternaria alternata* üzerine antimikrobiyal etkisi agar kuyu difüzyon yöntemi uygulanarak taranmıştır. *Rosa canina* çiçeklerinin etanolik özütlerinin en iyi antimikrobiyal etkisi *P. aeruginosa*'ya karşı bulunmuş ve *R. canina* çiçeklerinin metanolik özütünün en iyi antimikrobiyal etkisi *Escherichia coli*'ye karşı bulunmuştur (Rovná ve ark., 2015).

Bir diğer çalışmada, *R. canina* metanolik yaprak özütlerinin kimyasal bileşenlerinin yanı sıra antimikrobiyal ve antibiyofilm potansiyeli araştırılmıştır. Test edilen bakteriler arasından *Pseudomonas aeruginosa* ve *Salmonella typhimurium*'un her ikisi de 0.009 mg/ml-1 olan MİK ve MBK değerlerine sahip *R. canina* yaprağı özütünün aktivitesine en duyarlı olanlardır. İncelenen bakteri suşlarının çoğu için, özüt kullanılan standart bileşikler streptomisin ve ampisiline kıyasla önemli ölçüde daha yüksek aktivite göstermiştir. Ayrıca test edilen ekstrakt *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *L. monocytogenes* ve *E. coli*'de alt MİK seviyelerinde güçlü bir şekilde in vitro biyo film büyümesini inhibe etmiştir (Živković ve ark., 2015).

1.4.4 Kuşburnunun Antibiyotik Dirençli Suşlara Karşı Antibakteriyel Aktivitesi

RCM'lerin ham metanol özütü, sırasıyla NorA, PBP2a ve TetK direnç mekanizmalarını içeren metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* SA1199B, EMRSA16 ve XU212'yi içeren çok ilaca dirençli (ÇİD) bakteri suşlarına ve standart bir anti-mikrobiyal duyarlı laboratuvar suşu *Staphylococcus aureus* (ATCC25923) içeren karşı test edilmiştir. PKM101 ve TP114 plazmidinin özüt tarafından konjuge transferinin inhibisyonu da değerlendirilmiştir. Özüt, bakteri paneline karşı hafif ila zayıf anti-bakteriyel aktivite göstermiş, ancak XU212'ye, tetrasiklin aktivitesini (64 kat) güçlü bir şekilde artırmıştır. Ayrıca, özüt, TP114 ve PKM101'in konjuge transferini inhibe etme konusunda ılımlı bir kapasite göstermiştir. HepG2 hücre hattına karşı sitotoksitesite analizi, bunun insan hücrelerine karşı toksik olmadığını göstermiştir. Bakteriyel plazmid konjugasyonunun inhibisyonu, kombinasyon terapilerinin antibiyotik direncinin üstesinden gelme olasılığını açar. Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA), hastane kaynaklı enfeksiyonların önemli bir nedenidir. MRSA ile enfekte olan hastaların tedavisi çok zordur çünkü MRSA sadece β -laktamlara değil, aynı zamanda birçok anti-mikrobiyal ajana da dirençlidir. β -laktamlara karşı MRSA direnci mekanizmaları net olmasa da, bu direnç için birkaç gen önerilmektedir. Yapılan bir çalışmada *R. canina*'nın yapraklarından elde edilen özüt, metisiline dirençli *Staphylococcus aureus*'ta β -laktamların minimum inhibitör konsantrasyonunu azaltmıştır. Özütten minimum inhibitör β -laktam konsantrasyonlarını azaltan iki bileşik, tellimagrandin I ve rugosin B izole edilmiştir. Tellimagrandin I, minimum inhibitör konsantrasyonunun azaltılmasında çok etkili olmuş ve rugosin B bir miktar etki göstermiştir (Khazaei ve ark., 2020).

1.5 Isırgan Otu

Urtica dioica (ısırgan otu), Urticaceae ailesinin *Urtica* cinsine ait çok yıllık bir bitkidir. Kök dik ve yeşil, dörtgen, her köşesinde laküner kolenşimaya sahiptir. Fibrovasküler demetler olabilir. Yapraklar yukarıda koyu yeşil ve altında soluk, dikdörtgen veya oval, zıt, tabanda kordat, ince dişlidir. Batma trikomları hem sapları hem de yaprakları örter ve histamin, asetilkolin ve serotonin açısından zenginleştirilmiş bir sıvı içerir. Küçük dioik çiçekler ayrı çiçek salkımlarında erkek veya dişi, kahverengiden yeşilimsi

renkte, üst yaprakların akslarında rasem olarak ortaya çıkar ve her yıl Mayıs'tan Eylül'e kadar çiçek açar (De Vico ve ark., 2018).



Şekil 7. Isırgan Otu Genel Görünüm (C ve ark., 2014).

1.5.1 Isırgan Otunun Kimyasal Bileşimi

Urtica dioica'nın ana kimyasal bileşenleri flavonoidler, tanenler, uçucu bileşikler ve yağ asitleri, polisakkaritler, izolektinler, steroller, terpenler, protein, vitaminler ve minerallerdir. Yaprak trikomlarının yanma hissi özelliklerinden sorumlu bileşikler, asetilkolin, histamin, serotonin, lökotrienler ve formik asittir. *U. dioica* esansiyel yağının ana bileşenleri karvakrol (% 38.2), karvon (% 9.0), naftalin (% 8.9), (E) anetol (% 4.7), heksahidrofarnesil aseton (% 3.0), (E) sardunil aseton (% 2.9), (E) β iyonon (% 2.8) ve fitoldur (% 2.7). Flavonoidler esas olarak kaempferol, isorhamnetin, kuersetin, izokuersetin, astragalın, rutin ve 3-rutinosid ve 3- glikozittir. Fenilpropanlar, kafeik asit gibi şikimik asit türevleri ve bu asidin klorojenik asit ve kafeoil malik asit gibi çeşitli esterleri tanımlanmıştır. β -karoten, hidroksi β -karoten, lutoksantin, lutein epoksit ve violaxanthin gibi karotenoid bildirilmiştir. Yapraklar B, C, K vitaminleri ve kalsiyum, demir, magnezyum, fosfor, potasyum gibi mineraller bakımından zengindir. Mevcut diğer başlıca bileşenler esansiyel amino asitler, glukokininler ve çok yüksek bir klorofil içeriğidir (Joshi ve ark., 2014).

1.5.2 Isırgan Otunun Farmakolojik Aktiviteleri

1.5.2.1 Antioksidan Aktivite

Antioksidanlar, serbest radikalleri veya reaktif oksijen türlerini temizleyen ve zararlı etkilerini önleyen profilaktik ve terapötik ajanlar olarak ortaya çıkmaktadır. Serbest radikaller, kanser, diyabet, kardiyovasküler hastalıklar, otoimmün hastalıklar, nörodejeneratif hastalıklar gibi hastalıkların patogenezi ile ilişkilendirilmiştir ve yaşlanma ile ilişkilidir. *Urtica dioica* bitkisinin hidro-alkolik özütü, yarı inhibitör konsantrasyon (IC50) değeri 88.33 ± 2.88 ug/ml ile antioksidan aktivite için önemli sonuçlar göstermiştir. Sulu özüt önemli ölçüde azaltıcı güce, serbest radikal süpürmeye, süperoksit anyon radikal süpürmeye, hidrojen peroksit süpürmeye ve metal kenetleme faaliyetlerine sahiptir. 50, 100 ve 250 ug/ml sulu özüt dozu, linoleik asit emülsiyonunun peroksidasyonu üzerinde sırasıyla% 39, 66 ve 98 inhibisyon göstermiştir (Joshi ve ark., 2014).

1.5.2.2 Antidiyabetik Aktivite

Bitki 250 mg/kg sulu özütü, sıçanlarda alloksana bağlı diyabete karşı önemli bir glikoz düşürücü etki göstermiştir. Erkek sıçanlarda fruktoza bağlı insülin direncinin, hidro alkolik yaprak özütlerinin uygulanması üzerine serum glikoz seviyesini düşürdüğü gösterilmiştir. Yaprak özütü, hem normal hem de streptozotosin kaynaklı diyabetik sıçanlarda perfüze langerhans adacıklarında uygulanmış, bu da insülin salgılanmasında önemli bir artış göstermiştir, böylece kan şekeri seviyesini düşürmüştür. Yaprakların soğuk metanolik özütü (250 mg /kg) alloksan kaynaklı diyabette önemli antihiperglisemik etki göstermiştir (Joshi ve ark., 2014).

1.5.2.3 Hepatoprotektif Aktivite

Bitkinin yaprak özütü, serum alanin transaminaz (ALT) seviyesinin azalması, aspartat aminotransferaz (AST), alkalın fosfataz (ALP), toplam bilirubin seviyeleri ve malonildehitte önemli ölçüde azalma ile 400 mg/kg dozda maksimum hepatoprotektif aktivite göstermiştir. MDA seviyesinin yanı sıra süperoksit dismutaz (SOD) seviyesinde önemli bir artış olmuştur. *Urtica dioica* tohum özütü iskemi reperfüzyonu ile oluşturulan karaciğer hasarı üzerinde koruyucu etki göstermiştir ve paraoksonaz,

arilesteraz ve karaciğer dokusu katalaz aktivitesini arttırarak karaciğer koruma etkisi göstermiştir (Joshi ve ark., 2014).

1.5.2.4 Antihiperlipidemik aktivite

Bitki, kandaki lipit ve lipoprotein seviyelerini düşürdüğü için çok güçlü bir antihiperlipidemik aktiviteye sahiptir. Normal veya yüksek yağlı diyetle beslenen sıçanlara 30 gün boyunca verilen 150 mg/kg sulu özüt, kan lipit profilini geliştirmiştir. Düşük konsantrasyonlarda LDL ve plazma toplam apo protein B yoluyla toplam kolesterol, düşük yoğunluklu/yüksek yoğunluklu kolesterol (LDL / HDL) oranlarında önemli bir azalma gözlenmiştir. Bitkinin 100 ve 300 mg/kg dozunda etanolik özütü, hiperkolesterolemik sıçanlarda toplam kolesterol ve LDL seviyesinde önemli bir azalmaya neden olmuştur (Joshi ve ark., 2014).

1.5.2.5 Antiviral Aktivite

Urtica dioica'dan N asetil glukosamine özgü lektin, HUT 78 hücreleri ile HIV-1 ve HIV -2'den kalıcı olarak enfekte olmuş CD4 + Molt / 4 hücreleri arasında güçlü bir sinsityum oluşumunun inhibitörüdür. HIV virüsünün mannoz bağlama bölgesi, HIV'deki mutasyondan sonra oldukça hassastır. Bununla birlikte, N asetil glukosamin bölgesi korunmuş bölgedir. Bu nedenle *U. dioica* özütü, N asetil glukozamin bölgesi için afiniteye sahiptir. Bitkinin sulu özütü, düşük dozlarda (0.5-1 ug / ml) sinsityum gelişmesinde önemli bir inhibisyon göstermiştir (Joshi ve ark., 2014).

1.5.2.6 Anti-enflamatuar, Analjezik ve Anti-artritik Aktivite

200 ve 400 mg/kg'lık dozlarda bitki metanolik özütünün doza bağımlı asetik asite bağlı karın seğirmelerini ve karagenan kaynaklı pençe ödemini inhibe ettiği gösterilmiştir. N Metil-D-aspartat (NMDA) enjeksiyonuna bağlı beyin lezyonu ve bunu takiben wistar sıçanlarında iltihaplanma, önemli bir anti-enflamatuar etkiyi gösteren *Urtica dioica* yaprak takviyesinin uygulanması üzerine DNA'ya nükleer faktör kapp B (NF kB) bağlanma aktivitesini önemli ölçüde azaltmıştır. Farelerde asetik asite bağlı kıvranma testinde, 50, 100 ve 200 mg/kg dozunda sulu özüt, kıvranmada doza bağımlı bir inhibisyon üretmiştir. Yaprak özütü, sitokin üretiminin baskılanması nedeniyle romatoid artritte anti-enflamatuar ilaçlar olarak kullanılmıştır. Bitkinin

antiinflamatuar etkisinin, NF kBaktivasyonu üzerindeki önleyici etkisinden kaynaklanabileceği sonucuna varılmıştır (Joshi ve ark., 2014).

1.5.3 Isırgan otunun Antibakteriyel Aktivitesi

Yapılan bir çalışmada *Urtica dioica* L. (Ud; ısırgan otu) ve *Urtica pilulifera*'nın metanol (MetOH) ve sulu (dw) yaprak (L), kök (R) ve tohum (S) özütlerinin antibakteriyel aktivitelerini karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir. Up-SMetOH ile elde edilen sonuçlar *Bacillus pumilus*, *Shigella spp.* ve *Enterococcus gallinarum* için 128-1024 µg/ml aralığında minimum inhibitör konsantrasyon göstermiştir. Up-SMetOH ayrıca oldukça düşük bir MİK (32 ug/ml) ile *Clavibacter michiganensis*'e karşı güçlü bir inhibisyon uyguladığı tespit edilmiştir. Ud-SMetOH ve Up-LMetOH da *C. michiganensis*'e karşı etkili olduğu bulunmuştur (sırasıyla MİK=256 ve 1024 ug/ml). Ud-SMetOH ve Ud-RMetOH ayrıca *Xanthomonas vesicatoria*'ya karşı antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur (sırasıyla MİK=512 ve 1024 µg/ml) (Körpe ve ark., 2013).

Diğer bir çalışmada, *U. dioica*'nın alkollü özütlerinin in vitro antibakteriyel potansiyeli incelenmiştir. 16, 10, 18 ve 14 mm (metanolik) ve 11, 9, 17 ve 16 mm (etanolik) inhibisyon zon çapları ile *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* ve *Escherichia coli*'ye karşı özütlerin aktif olduğu bulunmuştur. *S. epidermidis* ve *E. coli*'ye karşı etanolik ekstraktın MİK değeri sırasıyla 10 ve 40 mg/mL olduğu, *S. aureus* ve *S. epidermidis*'e karşı metanolik ekstraktın MİK değeri sırasıyla 40 ve 10 mg/mL olduğu bulunmuştur (Motamedi ve ark., 2014).

Isırgan otu (*Urtica dioica*) ve karahindiba (*Taraxacum officinale*) etil asetat özütünün antibakteriyel ve antioksidan aktivitelerinin incelendiği bir çalışmada, ısırganın etil asetat özütünün, tüm bakteri izolatlarında (*Aeromonas hydrophila*, *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*) 24 mm inhibisyon zon çapı ile etkili olduğunu göstermiştir (Ghaima ve ark., 2013).

Bir diğer çalışmada, *U. dioica* yaprakları heksan, etil asetat, kloroform, metanol ve su ile çözücü ekstraksiyonuna tabi tutulmuştur. Tüm özütler, disk difüzyon yöntemi ile Gram pozitif ve Gram negatif bakterilerin beş klinik izolatına karşı antibakteriyel aktivite açısından test edilmiştir. Heksan özütü, beş bakteri suşunun hepsine karşı iyi

bir antibakteriyel aktivite göstermiştir, bu nedenle silika kolon kromatografisi kullanılarak daha da saflaştırılmış ve heksan özütünün yarı saflaştırılmış fraksiyonu-B'nin (FB) MİK değeri seri tüp seyreltme yöntemi ile belirlenmiştir. FB, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Shigella flexneri*'ye karşı sırasıyla 31.25, 250, 7.81, 31.25 ve 125 µg/ml-1 MİK değeri göstermiştir (Singh ve ark., 2012).

1.5.4 Isırgan otunun Antibiyotik Dirençli Suşlara Karşı Antibakteriyel Aktivitesi

Yapılan bir çalışmada, *Sambucus ebulus* ve *Urtica dioica*'nın metanolik özütlerinin 16 deri ve yara enfeksiyonu üzerindeki metisiline dirençli *S. aureus* izolatlarına karşı antimikrobiyal etkisi çalışılmıştır. *Sambucus ebulus* ve *Urtica dioica* özütlerinin standart *S. aureus* ATCC 6538 suşuna karşı MİK değerleri, sırasıyla 15 mg ve 20 mg olarak tespit edilmiştir. *Sambucus ebulus* ve *Urtica dioica* özütlerinin MRSA izolatlarına karşı antibakteriyel potansiyele sahip olduğu belirtilmiştir (Salehzadeh ve ark., 2014).

Lavanta ve ısırgan otu yapraklarının metisiline duyarlı ve metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* suşlarına (MSSA ve MRSA) etkisinin değerlendirildiği bir çalışmada lavanta ve ısırgan otunun hidroksisinnamik asitler ve kuersetin açısından zengin olmasının, bu bitkilerin yüksek antibakteriyel potansiyelini açıkladığı belirtilmiştir (Zenão ve ark., 2017).

Tablo 2 Bitkilerin antibakteriyel aktiviteleri

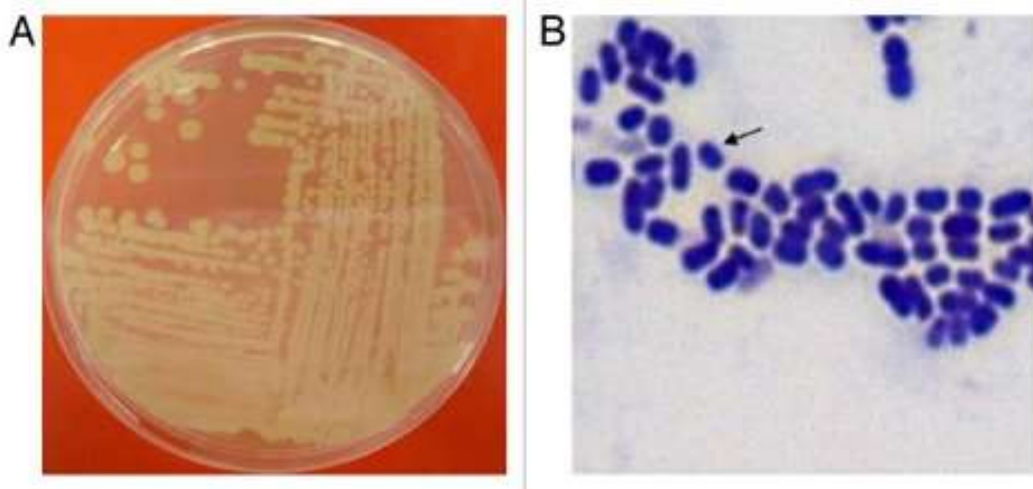
Çalışılan Bitki	Etki Gösterdiği İzolat	İnhibisyon Zon Çapı	MİK	MBK	Kaynak
<i>Urtica dioica</i>	<i>S. aureus</i>	-	9.76 µg/mL	-	(Zeković ve ark., 2017)
<i>Urtica dioica</i>	<i>C. michiganensis</i>	-	256-1024 µg/ml	-	(Körpe ve ark., 2013)
<i>Urtica dioica</i>	<i>Xanthomonas vesicatoria</i>	-	512-1024 µg/ml	-	(Körpe ve ark., 2013)
<i>Urtica dioica</i>	<i>S. epidermidis</i> , <i>E. coli</i>	16, 10, 18, 14 mm	10-40 mg/mL	-	(Motamedi ve ark., 2014)
<i>Urtica dioica</i>	<i>S. aureus</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>S. typhi</i> <i>K. pneumoniae</i> <i>S. flexneri</i>	-	31.25 250 7.81 31.25 125 µg mL	-	(Singh ve ark., 2012)

Çalışılan Bitki	Etki Gösterdiği İzolat	İnhibisyon Zon Çapı	MİK	MBK	Kaynak
<i>C..sinensis</i>	<i>L.monocytogenes</i>	10.0-20.1	0.26 ve 0.68	-	(Mbata ve ark., 2008)
<i>C..sinensis</i>	<i>S. epidermidis</i> <i>M. luteus</i> <i>B. linens</i> <i>P.fluorescens</i> <i>B. subtilis</i>	≥7	0.156-0.313	-	(Sharma ve ark., 2012)
<i>C..sinensis</i>	<i>S. mutans</i>	-	150 ve 50	-	(Naderi ve ark., 2011)
<i>C..sinensis</i>	<i>P. aeuroginosa</i>	-	2.06±1.76	2.54±2.22	(Jazani ve ark., 2007)
<i>C..sinensis</i>	<i>P. aeuroginosa</i>	17.670±0.39 8mm	800 µg/ml	-	(Radji ve ark., 2013)
<i>C..sinensis</i>	<i>S.aureus</i>	19.130±0.25 0 mm	400-800 µg/ml	-	(Radji ve ark., 2013)
<i>C. cassia</i>	<i>M. gypseum</i> <i>T.rubrum</i> ve <i>T.mentagraphytes</i>	-	75 µg/ml 600 µg/ml	-	(Ooi ve ark., 2006)
<i>Cinnamomum</i>	<i>S.aureus</i>	7-17 mm	-	-	(Al-dhaher, 2008)
<i>Cinnamomum cassia</i>	<i>P. aeruginosa</i> Y. <i>enterocolitica</i>	7-29 mm/20 µl	-	-	(Ateş ve Turgay, 2003)
<i>Cinnamon</i>	<i>B. subtilis</i> <i>S. aureus</i>	-	0.2-25.6 mg/ml.	-	(Prabuseenivasan ve ark., 2006)
<i>Cinnamomum osmophloeum</i>	<i>K. pneumoniae</i> <i>Salmonella sp</i>	-	250 µg/ml	-	(Chang ve ark., 2001)
<i>Cinnamomum</i>	<i>P. aeruginosa</i>	-	0.25-11.0 mg/l	-	(Liu ve ark., 2007)
<i>Cinnamon essential</i>	<i>Escherichia coli</i> <i>Staphylococcus.</i>	-	1.0 mg/ml	4.0 m g/ml	(Zhang ve ark., 2016).
<i>T. vulgaris</i>	<i>G. stearotermophilus</i> <i>B. cereus</i>	-	40- 640 µg/ml	2.0 m g/ml	(Ivanovic ve ark., 2012)
<i>Kekik yağı</i>	<i>Campylobacter sp.</i>	-	80-100µl ml	-	(Sheeladevi ve Ramanathan, 2012).
<i>Rosa canina</i>	<i>P. aeruginosa</i> <i>S.typhimurium</i>	-	0.009 mg/ml-1	0.009 mg/m l-1	(Živković ve ark., 2015).

1.6 *Acinetobacter baumannii*

Acinetobacter cinsi, %39 ila % 47 G+C içeriğine sahip Gram negatif, kesinlikle aerobik, non-fermentatif, hareketsiz, katalaz pozitif, oksidaz negatif bakterilerden oluşmuştur. Bouvet ve Grimnot tarafından 1986 yılında gerçekleştirilen DNA-DNA hibridizasyon çalışmalarının ardından, *Acinetobacter* cinsi şu anda 26 adlandırılmış tür ve dokuz genomik türden oluşmaktadır. Dört *Acinetobacter* türü (*A. calcoaceticus*

A. baumannii *Acinetobacter* genomik türleri 3 ve *Acinetobacter* genomik türleri 13TU), ayırt edilmeleri zor olan fenotipik benzerliklere sahiptir ve bu nedenle genellikle *A. calcoaceticus* kompleksi olarak anılır. Bu isimlendirme yanıltıcı olabilir, çünkü çevresel tür *A. calcoaceticus* klinik hastalıkta rol oynamamıştır buna karşılık *A. calcoaceticus* kompleksindeki diğer üç tür belki de klinik olarak en önemli türlerdir ve hem toplumdan edinilen hem de hastane enfeksiyonlarında rol oynamaktadır (Howard ve ark., 2012).



Şekil 8. *Acinetobacter baumannii* morfolijisi (Howard ve ark., 2012).

(A) 37 ° C'de Luria-Bertani agar üzerinde gece boyunca büyümenin ardından *Acinetobacter baumannii* (B) Luria-Bertani besiyerinde büyütülen log fazı *A. baumannii* hücrelerinin gram boyası. Ok, tek bir *A. baumannii* hücrelerini göstermektedir

Acinetobacter cinsine ait organizmaların, hemen hemen tüm toprak ve yüzey suyu örneklerinden geri kazanılabildikleri göz önüne alındığında, genellikle doğada her yerde bulunduğu düşünülmektedir. Bu anlayış, *A. baumannii*'nin de her yerde olduğu şeklindeki yaygın yanlışya katkıda bulunmuştur. *A. baumannii*'nin virülans potansiyeline birkaç faktörün katkıda bulunabileceğine inanılırken, özellikle dış zar proteinlerinin (OMP'ler) bir üyesi olan OmpA'nın, patojenin hastalığa neden olma potansiyeline önemli ölçüde katkıda bulunduğu belirlenmiştir. *A. baumannii* OmpA, mitokondriye bağlandıktan sonra konakçı epitel ve mitokondriye bağlanır, OmpA mitokondriyal disfonksiyona neden olur ve mitokondrinin şişmesine neden olur. Bunu, apoptozom oluşumuna yol açan bir hem proteini olan sitokrom c'nin salınması izler. Bu reaksiyonların tümü hücrenin apoptozuna katkıda bulunur. Patojen üzerinde en bol bulunan yüzey proteini olan OmpA, direnç ve biyofilm oluşumunda da rol oynar. Biyofilm oluşumu ve direnç hem içeride hem dışarıda bakteriyel hayatta kalmayı

teşvik etmeye yardımcı olan potansiyel olarak önemli virülansla ilişkili faktörlerdir. *A. baumannii*'nin biyofilm oluşturma yeteneği, olumsuz koşullarda ve ortamlarda ısrarla büyümesini sağlar. Gerçekte, *A. baumannii*'nin yoğun bakım ünitelerinde kullanılan cam ve ekipmanı içerebilen abiyotik yüzeylerde veya epitel hücreleri gibi biyotik yüzeylerde biyofilmler oluşturduğu gösterilmiştir (Howard ve ark., 2012).

Acinetobacter baumannii virülansına katkıda bulunduğu gösterilen diğer anahtar proteinler arasında fosfolipaz D ve C bulunur. Fosfolipaz D, insan serumuna direnç, epitelyal hücre kaçıışı ve patogenez için önemli iken, fosfolipaz C, epitel hücrelerinde toksisiteyi artırır. OmpA ile birlikte bakteri hücresinin yüzeyinde de eksprese edilen fimbria, patojenin konakçı epiteline yapışmasına katkıda bulunur (Howard ve ark., 2012).

1.6.1 Antimikrobiyal Direnç

Acinetobacter türleri arasındaki antimikrobiyal direnç son yıllarda önemli ölçüde artmıştır. *Acinetobacter* türlerinin geniş antimikrobiyal direnç için kapasitesi kısmen organizmanın dış zarından ve direnç genleri rezervuarı çevresel baskısına maruz kalmasından kaynaklanabilir. Çok ilaca dirençli *Acinetobacter* türlerinin tanımları, geniş bir dizi genotip ve fenotiplere atıfta bulunarak değişiklik göstermiştir. Çoklu ilaç direncinin en yaygın tanımlarından ikisi karbapenem direnci veya üç veya daha fazla antimikrobiyal sınıfına dirençtir. Bazı suşlar sadece toksisite hakkında daha önceki raporlar nedeniyle rutin olarak kullanılmayan peptid antibiyotikler olan polimiksinlere karşı hassastır. Polimiksinler de dahil olmak üzere tüm antimikrobiyal ajanlara direnç gösteren suşlar da literatürde bildirilmiştir, bu da enfeksiyonların tedavisini son derece zorlaştırmakta ve hatta bazı durumlarda imkansız hale getirmektedir (Eliopoulos ve ark., 2008).

Direnç mekanizmaları

Acinetobacter türleri için direnç mekanizmaları genellikle 3 kategoriye ayrılır:

1. Antimikrobiyal inaktive edici enzimler
2. Bakteriyel hedeflere daha az erişim

3. Hedefleri veya hücresel fonksiyonları değiştiren mutasyonlar (Eliopoulos ve ark., 2008).

İlk kategori için *Acinetobacter* türleri penisilinler, sefalosporinler ve karbapenemleri hidrolize eden ve bu sayede direnç sağlayan β -laktamazlara sahiptir. AmpC sefalosporinazlar kromozomal olarak kodlanır ve geniş spektrumlu sefalosporinlere direnç kazandırır. Son zamanlarda, karbapenemlere karşı aktivitesi olan çok sayıda D sınıfı OXA tipi enzim, İskoçya, İspanya, Fransa, Japonya, Singapur, Çin, Brezilya, Küba ve Kuveyt gibi ülkelerde karakterize edilmiştir. Bazı *Acinetobacter* suşları, karbapenemler de dahil olmak üzere geniş bir dizi antimikrobiyal ajanı hidrolize eden VIM ve IMP gibi sınıf B metalo- β -laktamazları (MBL) ifade eder. MBL'ler, bakteriler arasında kolayca transfer edilen mobil genetik elementler üzerinde buldukları için önemli bir tehdit oluşturmaktadır. Hem IMP hem de VIM'ın birçok varyantı vardır ve *Acinetobacter* türleri de dahil olmak üzere geniş bir bakteri türünde dünya çapında bulunmuştur. Porin kanalları ve diğer dış zar proteinleri, bakteri hedeflerine erişmek için antimikrobiyal ajanların hücreye taşınması için önemlidir. *Acinetobacter* türlerindeki karbapenem direnci, dış zardan porin kanalları olduğu düşünölen proteinlerin kaybıyla bağlantılıdır. β -laktamazlar ve dış membran değişikliklerinin β -laktam ajanlarına direnç sağlamak için birlikte çalışması muhtemeldir. *Acinetobacter* türleri, bakteri hücresinden çok çeşitli antimikrobiyal ajanları aktif olarak çıkarabilen akış pompalarına sahiptir (Eliopoulos ve ark., 2008).

Üçüncü direnç mekanizmaları kategorisi, bakteri hedeflerini veya fonksiyonlarını değiştiren, antimikrobiyal ajanların afinitesini azaltan veya akış pompalarının veya diğer proteinlerin üretimi gibi yukarı regöle edici hücresel fonksiyonların azaldığı nokta mutasyonlarını içerir. Kolistin direncine, ajanın bakteriyel hedefleri bağlama yeteneğine müdahale eden bakteriyel hücre zarındaki değişikliklerin aracılık ettiği düşünölmektedir. Bu tip mekanizma, *gyrA* ve *parC* topoizomeraz enzimindeki bakteri hedeflerindeki mutasyonlardan kinolon ajanlara karşı *Acinetobacter* direncinde de görölmüştür. *Acinetobacter* türleri diğer organizmalardan direnç genleri alabilir; *Acinetobacter* suşlarında zamanla dirence yol ačan mutasyonlar gelişebilir veya önceden var olan direnci olan alt popölyasyonlar, antimikrobiyal seçici basınç altında ortaya çıkabilir ve baskın hale gelebilir. Bu 3 süreç birbirini dışlamaz ve muhtemelen *Acinetobacter* türleri arasında ortaya çıkan direnci açıklamak için birlikte

işlev görür. Fransa'da epidemik, çok ilaca dirençli *Acinetobacter* suşunun yakın tarihli karşılaştırmalı bir genomik çalışması, *Pseudomonas*, *Salmonella* veya *Escherichia* cinsinden edinilmiş gibi görünen 45 direnç geni içeren büyük bir genomik “direnç adası” bulunmuştur. Antimikrobiyal dirençli *Acinetobacter* türlerinin ortaya çıkması, hem geniş spektrumlu antimikrobiyallerin kullanımı ile uygulanan seçici basınca hem de suşların hastalar arasında iletilmesine bağlıdır, ancak bu mekanizmaların göreceli katkıları henüz bilinmemektedir (Eliopoulos ve ark., 2008).

1.6.2 Epidemiyoloji

Çok ilaca dirençli *Acinetobacter* türleriyle kolonizasyon veya enfeksiyon için risk faktörleri arasında uzun süreli hastanede kalış süresi, yoğun bakım ünitesine (YBÜ) maruz kalma, mekanik ventilasyonun alınması, kolonizasyon basıncı, antimikrobiyal ajanlara maruz kalma, son cerrahi, invaziv prosedürler ve altta yatan hastalık şiddeti bulunmaktadır. yaygın çevresel kontaminasyon sıklıkla görülmektedir (Eliopoulos ve ark., 2008).

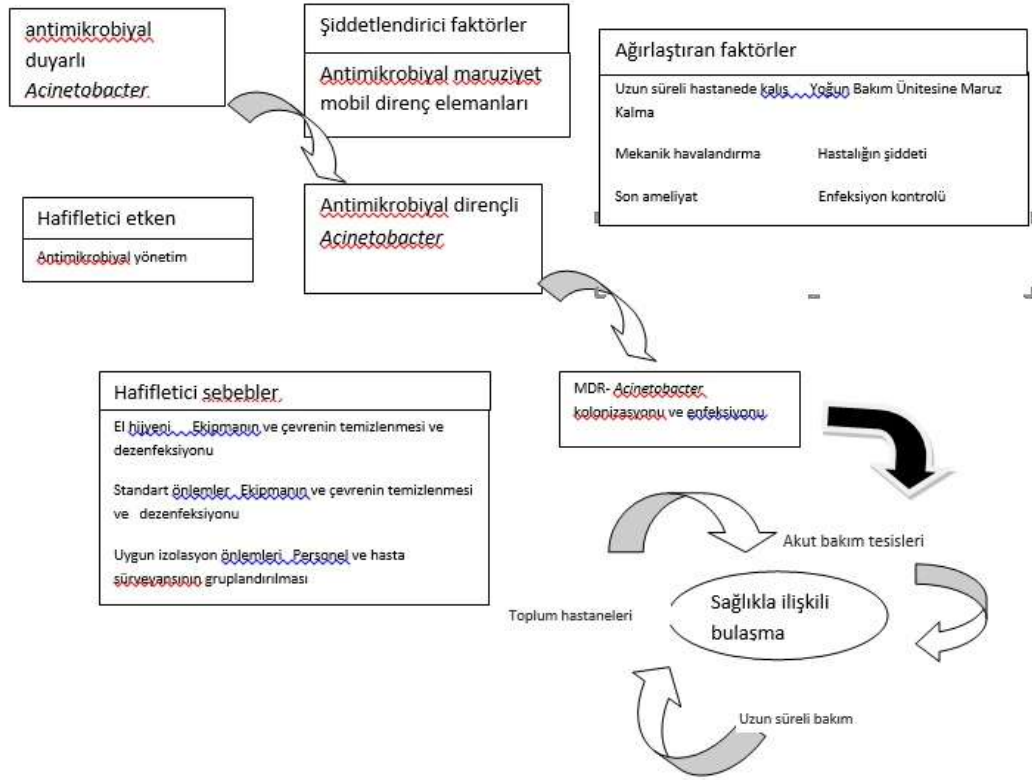
Wilks ve diğerleri enfeksiyon, perdelerde, laringoskop bıçaklarında, hasta kaldırma ekipmanlarında, kapı kollarında, paspaslarda ve klavyelerde bulunan çevresel kirlenme ile çok ilaca dirençli *Acinetobacter* salgını bildirmiştir. Paylaşılan ürünlerin dezenfekte edilmesine özel dikkat gösterilmesi ve solunum bakımı ve yara bakımı prosedürlerine daha fazla dikkat edilmesi gerektiğini vurgulanmıştır.. Bir veya daha fazla salgın *Acinetobacter* klonları genellikle endemik suşlarla birlikte bulunur ve bu da yayılımı saptamayı ve kontrol etmeyi zorlaştırır (Eliopoulos ve ark., 2008).

Uzmanlar genellikle el hijyeni, standart önlemler, bariyer önlemleri ve kapsamlı çevre temizliği ve dezenfeksiyonu gibi mevcut enfeksiyon kontrolü ve önleme standartlarının güçlendirilmesinden sonra bulaşmanın kesintiye uğradığını bildirmektedir. Diğer türlü yayılımın durdurulması daha zordur, hastaların kohortlanması, özel personel atamaları, aktif gözetim kültürleri ve tüm YBÜ'lerin kapatılması gerekir. Başarılı kontrol raporlarının çoğu çoklu müdahaleleri içerir, bu da her müdahalenin etkinliğini ayrı ayrı değerlendirmeyi zorlaştırır. Çok ilaca dirençli *Acinetobacter* enfeksiyonunun bulaşmasını önlemek için çeşitli enfeksiyon

kontrol stratejilerinin etkinliğinin ve maliyet etkinliğinin daha fazla araştırılması gerekmektedir (Eliopoulos ve ark., 2008).

Bulaşmaya ek olarak, direncin ortaya çıkması, karbapenemleri veya üncü kuşak sefalosporinleri içeren terapi gibi geniş spektrumlu antimikrobiyal tedaviden seçici basıncı bağlamında meydana gelir. Çok ilaca dirençli *Acinetobacter* türlerinin ortaya çıkmasında hastalar arasında antimikrobiyal seçici basıncı ve bulaşmanın nispi katkıları bilinmemektedir (Eliopoulos ve ark., 2008).

Birçok sağlık kurumunda, endemik, çok ilaca dirençli *Acinetobacter* enfeksiyonu karmaşık epidemiyolojik profiller ve çoklu suş tiplerinin bir arada varlığı gösterilmiştir. Yapılan bir araştırmada, İsrail’de çok ilaca dirençli *Acinetobacter* enfeksiyonu olan 118 hastayı incelemiş ve moleküler testlere ve kapsamlı araştırmalara rağmen, 10 farklı PFGE tipi klon ve ortak kaynağı olmayan birçok küçük hasta kümesi bulmuşlardır. Rehabilitasyon ve uzun süreli bakım tesislerinde ve akut bakım hastanelerinde bulunan hastalar arasında çok ilaca dirençli *Acinetobacter* enfeksiyonu bildirilmiştir. Sağlık ortamında çoklu ilaca dirençli *Acinetobacter* türlerinin varlığı, duyarlı hastaların varlığı, zaten organizma ile kolonize veya enfekte olmuş hastaların varlığı, antimikrobiyal kullanımdan seçici basıncı ve enfeksiyon kontrollerine eksik uyum dahil olmak üzere çeşitli faktörler sayesinde sürmektedir. Çok ilaca dirençli (MDR) *Acinetobacter* türlerinin ortaya çıkmasına ve bulaşmasına neden olan faktörler Şekil 9’da verilmiştir (Eliopoulos ve ark., 2008).



Şekil 9. Çok ilaca dirençli (MDR) Acinetobacter türlerinin ortaya çıkmasına ve bulaşmasına neden olan faktörler (Eliopoulos ve ark., 2008)

1.6.2.1 Mortalite ve Morbidite Üzerine Etki

Çoklu ilaca dirençli Acinetobacter enfeksiyonu genellikle yoğun bakım ünitesinde ağır hastalarda meydana geldiğinden, yoğun bakım ilişkili kaba mortalite oranı % 26 ila % 68 arasında değişmektedir. Bununla birlikte, bu enfeksiyonlarla ilişkili ölüm oranını, hastaların altta yatan ciddi hastalıklarından bağımsız olarak belirlemenin zor olduğu kanıtlanmıştır. Son çalışmalar ve sistematik bir inceleme, Acinetobacter enfeksiyonu veya kolonizasyonunun artmış mortalite ile ilişkili olduğu sonucuna varmıştır. Bu çalışmaların çoğu, küçük örneklem büyüklükleri, metodolojik farklılıklar ve hastaların hastalık ciddiyetini yeterince kontrol edememe nedeniyle sınırlıdır. Hastalığın ciddiyetini titizlikle kontrol eden diğer çalışmalar, Acinetobacter enfeksiyonunun bağımsız olarak artmış mortalite ile ilişkili olduğunu bulmamıştır. Alternatif bir açıklama, Acinetobacter enfeksiyonunun, ciddi altta yatan hastalığı olan hastalarda artmış mortalitenin bir belirteci olması, ancak bağımsız bir mortalite prediktörü olmamasıdır (Eliopoulos ve ark., 2008).

Mortalite, antimikrobiyal direncin boyutu, ampirik tedavinin etkinliği ve kesin tedavi seçeneklerinin mevcudiyeti ile ilişkili olabilir. Kore'den yakın zamanda eşleştirilmiş bir kohort alışması, *Acinetobacter* bakteremisi için etkisiz ampirik antimikrobiyal tedavinin uygulanmasının 30 günlük mortalitenin bağımsız bir prediktörü olduğunu bulmuştur. Ancak, diğer çalışmalar hasta mortalitesi ile *Acinetobacter* enfeksiyonunun dirençli olduğu ampirik antimikrobiyal ajan seçimi arasında zayıf bir korelasyon bulmuştur (Eliopoulos ve ark., 2008).

Acinetobacter enfeksiyonu, artan morbidite ve uzun süreli hastanede kalış süresi ile ilişkilidir. Retrospektif, uyumlu bir kohort alışması, *Acinetobacter* bakteremisi olan hastaların, *Acinetobacter* enfeksiyonu olmayan kritik hastalara kıyasla 5 günlük fazla mekanik ventilatör bağımlılığı ve YBÜ'de kalış süresine sahip olduğunu bulmuştur. Çoklu ilaca dirençli *Acinetobacter* enfeksiyonunun YBÜ'de kalış süresini (6 gün) ve medyan hastanede kalış süresini (18 gün) nemli ölçüde uzattığı bulunmuştur. Bir alışma, *Acinetobacter* ventilatör ilişkili pnömonisi olan hastalar için YB'de uzun süreli bir kalış süresi olduğuna dair bir kanıt bulamamıştır. Kalış süresi üzerindeki etki, enfeksiyonun türüne ve antimikrobiyal direncin derecesine bağlı olabilir (Eliopoulos ve ark., 2008).

1.6.3 Tedavi

1.6.3.1 Karbapenemler

Antimikrobiyal direncin artması birkaç terapötik seçenek bırakır ve çok ilaca dirençli *Acinetobacter* enfeksiyonu için tedavi rejimlerini karşılaştırmak için iyi tasarlanmış bir klinik çalışma yoktur. Mevcut veriler *in vitro*, hayvan ve gözlemsel çalışmalardan elde edilmiştir. İzolatlar karbapenemlere duyarlılığını koruyorsa bu antimikrobiyal sınıfı tercih edilen tedavi olmaya devam etmektedir. Meropenem Yıllık Duyarlılık Testi Bilgi Toplama (MYSTIC) srveyans programı, çok ilaca dirençli *Acinetobacter* enfeksiyonunun tedavisi için meropeneme kıyasla daha güçlü ajan olarak imipenemi destekleyen uyumsuzluğu belgelemiştir. Tersine sonuç Yunanistan'da bildirilmiştir. Akış pompaları meropenemi daha fazla etkileyebilir, oysa spesifik β -laktamazlar imipenemi daha etkili bir şekilde hidrolize etmiştir. İmipenem duyarlılık testi meropenem duyarlılığını öngöremez. Ne yazık ki, karbapenem

dirençli *Acinetobacter* izolatları dünya çapında giderek daha fazla rapor edilmektedir (Eliopoulos ve ark., 2008).

1.6.3.2 β -laktamaz inhibitörleri

β laktamaz inhibitörleri, özellikle sulbaktam, birçok *Acinetobacter* suşuna karşı intrinsik aktiviteye sahiptir. β -laktamaz inhibitörü ile kombinasyon halinde bir β -laktam ajanı (örn., *Ampisilin*) mevcudiyetinin, aktiviteye veya sinerjiye katkıda bulunduğu görülmemektedir (Eliopoulos ve ark., 2008).

Şiddetli *Acinetobacter* enfeksiyonu için sulbaktam ile monoterapi önerilmez. Bununla birlikte, Wood ve arkadaşları, çok ilaca dirençli *Acinetobacter* ventilatör ilişkili pnömonisi olan 14 hastayı tedavi etmek için sulbaktamın başarılı bir şekilde kullanıldığını bildirmiş ve sulbaktam ile tedavi edilen hastalar ile imipenem alan 63 hasta arasında klinik sonuçlarda fark bulamamışlardır. Levin ve diğerleri karbapenem dirençli *Acinetobacter* enfeksiyonunu tedavi etmek için ampisilin-sulbaktam kullanan % 67'lik bir iyileşme oranı rapor etmişlerdir, ancak iyi hasta sonuçları daha düşük hastalık şiddeti ile ilişkilendirilmiştir. Sabit konsantrasyonlarda β --laktam / β -laktamaz kombinasyonlarının antimikrobiyal duyarlılık testlerinin sonuçları (örn. Agar seyreltme veya Etest ile) dikkatli bir şekilde yorumlanmalıdır, çünkü bir izolat gerçekten dirençli olduğunda duyarlılığı gözükmezler (Eliopoulos ve ark., 2008).

1.6.3.3 Tigesiklin

Nispeten yeni bir glisilsiklin ajanı olan tigesiklin, çoklu ilaca dirençli *Acinetobacter* türlerine karşı bakteriyostatik aktiviteye sahiptir. Bazı çok ilaca dirençli *Acinetobacter* izolatları arasında tigesikline yüksek düzeyde direnç tespit edilmiştir ve organizmanın, kromozom aracılı akış pompalarını yukarı regüle ederek bu antimikrobiyal ajanı hızla atlatmasından endişe duyulmuştur. Peleg ve diğerleri çok ilaca dirençli 2 *Acinetobacter* vakası bildirmiştir. Hastalar başka bir endikasyon için tigesiklin alırken ortaya bakteriyemi çıkmıştır. Yakın zamanda yapılan iki çalışmada, tigesikline karşı duyarlılığı azalmış *Acinetobacter* izolatlarında çok ilaçlı bir akış pompasının aşırı ekspresyonu belgelenmiştir. Bu bulgular ve yeterli pik serum konsantrasyonlarına ulaşıp ulaşılamayacağına dair endişeler göz önüne alındığında,

tigesiklin en iyi kurtarma tedavisi için ayrılmıştır ve uygulama bulaşıcı hastalıklar uzmanına danışılarak belirlenmiştir (Eliopoulos ve ark., 2008).

1.6.3.4 Aminoglikozitler

Tobramisin ve amikasin gibi aminoglikozit ajanlara duyarlılığını koruyan çok ilaca dirençli *Acinetobacter* izolatların neden olduğu enfeksiyonlar için bu antibiyotikler terapötik seçeneklerdir. Bu ajanlar genellikle başka bir aktif antimikrobiyal ajan ile birlikte kullanılır. Çok ilaca dirençli birçok *Acinetobacter* izolatı, amikasin veya tobramisine orta duyarlılığını korur; bu madde sınıfına karşı direnç, aminoglikozit değiştirici enzimler veya akış pompası mekanizmaları ile giderek daha fazla ilişkilendirilmektedir (Eliopoulos ve ark., 2008).

1.6.3.5 Polimiksin tedavisi

Sınırlı terapötik seçenekler göz önüne alındığında, klinisyenler ilaca dirençli *Acinetobacter* enfeksiyonları için polimiksin B veya polimiksin E (kolistin) kullanımına geri dönmüştür. Kolistin bakteriyel hücre zarını bozarak etki eder, böylece geçirgenliği artırır ve hücre ölümüne yol açar. Kolistin *Acinetobacter* türlerine karşı bakterisittir ve etkisi konsantrasyona bağlıdır. Muhtemelen dış hücre zarı değişiklikleri veya bir akış pompası mekanizması sonucu polimiksinlere direnç rapor edilmiştir. Gözlemsel çalışmalar, pnömoni, bakteriyemi, sepsis, karın içi enfeksiyon ve CNS enfeksiyonu da dahil olmak üzere çok ilaca dirençli *Acinetobacter* enfeksiyonları olan ağır hastalarda kolistin iyileşme oranlarını % 57-77 olarak bildirmiştir. Her ne kadar yüksek kaliteli farmakokinetik veriler eksik olsa da, kolistin nispeten zayıf akciğer ve BOS dağılımına sahiptir ve klinik sonuçlar farklı enfeksiyon tipleri için değişiklik göstermiştir. Genel olarak % 67'lik “iyi sonuç” oranına rağmen Levin ve arkadaşları parenteral kolistinle tedavi edilen çoklu ilaca dirençli, gram negatif basiller nedeniyle pnömonili hastalar için % 25 daha düşük bir yanıt oranı bulmuşlardır. Diğer çalışmalar, çoklu ilaca dirençli *Acinetobacter* ventilatöre bağlı pnömoninin parenteral kolistin tedavisi için daha uygun klinik yanıt oranları (% 56-61) bildirmiştir (Eliopoulos ve ark., 2008).

Çok ilaca dirençli *Acinetobacter* menenjitin parenteral kolistin ile başarılı tedavisinin vaka raporları vardır, ancak bu durumun etkinliği belirsizliğini korumaktadır. Bazı

olgu sunumları ve olgu serileri, gram negatif bakteriyel menenjit tedavisi için parenteral tedavi ile veya tedavi olmaksızın intraventriküler veya intratekal polimiksin tedavisinin kullanımını bildirmektedir. 64 gram negatif bakteriyel menenjit vakasını içeren 31 raporun yakın tarihli bir incelemesi, *Acinetobacter* menenjitli 11 hastanın 10'unun (% 91) tedavisi de dahil olmak üzere % 80'lik bir iyileşme oranı bulmuştur. Hastaların çoğu lokal polimiksin uygulamasına ek olarak sistemik antimikrobiyal tedavi almıştır. Nörolojik toksisite öncelikle 1970'ten önce yayınlanan raporlarda ortaya çıkmıştır ve en sık görülen tezahür, görünüşe göre doza bağımlı ve geri dönüşümlü olan meningeal tahriştir. Genel olarak, kurtarma tedavisi için önemli bir seçenek olmasına rağmen, CNS enfeksiyonunun tedavisi için kolistin etkinliği, güvenliği veya farmakokinetik özellikleri ile ilgili sonuçlar çıkarmak için yeterli kanıt yoktur (Eliopoulos ve ark., 2008).

Kolistin farmakokinetiği, farmakodinamiği ve toksikodinamiği hakkında veri bulunmamaktadır. İlacın serum konsantrasyonlarını ölçmenin daha önceki yöntemleri, aktif olmayan ön ilaç olan kolistimetat konsantrasyonlarını kolistin konsantrasyonlarından yeterince ayırt edememiştir. Üreticiler arasında önerilen kolistin dozu ve kullanılan ölçüm birimleri konusunda tutarsızlıklar vardır. Veriler, mevcut önerilen doz rejimlerinin *Acinetobacter* enfeksiyonu için MİK'den daha düşük olan kolistin serum seviyelerine yol açabileceğini düşündürmektedir. Bu sorunlar, dikkatli farmakolojik çalışmalara duyulan ihtiyacı ve klinik bakım ve araştırma çalışmalarında formülasyon ve dozlamaya dikkatin önemini vurgulamaktadır (Eliopoulos ve ark., 2008).

1.6.3.6 Sinerji ve kombinasyon terapisi

Kontrollü klinik çalışmaların olmaması, çoklu ilaca dirençli *Acinetobacter* enfeksiyonu için sinerji veya kombinasyon terapisinin rolünü değerlendirmeyi zorlaştırmaktadır. Mevcut verilerin çoğu kontrolsüz vaka serilerinden, hayvan modellerinden veya in vitro çalışmalardan alınmıştır. Tablo 3'te özetlenen çalışmalar çok ilaca dirençli *Acinetobacter* enfeksiyonuna karşı çeşitli rifampin, sulbaktam, aminoglikozit ajanlar, kolistin, karbapenemler ve diğer ajanların kombinasyonlarını araştırmıştır (Eliopoulos ve ark., 2008).

Tablo 3. Çoklu ilaca dirençli *Acinetobacter* enfeksiyonuna karşı antimikrobiyal kombinasyon çalışmaları (Eliopoulos ve ark., 2008)

Çalışma	Yıl	Çalışma Metodu	Kombinasyon	Sonuçlar/Yorumlar
Giamarellos-Bourboulis ve ark.	2001	Laboratuvar Ortamında	Kolistin ve rifampin	<i>In vitro</i> sinerji
Petrosillo ve ark.	2005	Vaka Serileri	Kolistin ve rifampin	VİP'li 14 hastanın% 64'ünde mikrobiyolojik kür
Pantopoulou ve ark.	2007	Hayvan Çalışması	Kolistin ve rifampin	Nötropenik sıçanlarda deneysel uyluk enfeksiyonuna karşı geliştirilmiş aktivite
Gleeson ve ark.	2005	Olgu Raporu	Meropenem ve rifampin	Meropenem monoterapisi başarısız olduktan sonra başarılı menenjit tedavisi
Montero ve ark.	2004	Hayvan Çalışması	Kolistin ve rifampin, imipenem ve rifampin, tobramycin ve rifampin, imipenem ve tobramisin	Fare pnömoni modelinde en iyi rejimler
Saballs ve ark.	2006	Klinik Pilot Çalışma	Imipenem ve rifampin	Hastaların% 70'inde yüksek başarısızlık oranı ve rifampin direncinin ortaya çıkması nedeniyle bu rejimin kullanımına karşı uyarılar
Rodriguez-Hernandez ve ark.	2000	Hayvan Çalışması	Imipenem ve amikasin	Kombinasyon, fare pnömoni modelinde imipenem monoterapisine göre hiçbir avantaj sağlamadı
Bernabeu-Wittel ve ark.	2005	Hayvan Çalışması	Imipenem ve amikasin	Bir kobay pnömoni modelinde kombinasyon, <i>in vitro</i> sinerji kanıtına rağmen tek başına imipenemden daha kötüydü
Haddad ve ark.	2005	Laboratuvar Ortamında	Imipenem ve amikasin; imipenem ve kolistin	<i>In vitro</i> sinerji
Ko ve ark.	2004	Hayvan Çalışması	Meropenem ve sulbaktam	Bir fare enfeksiyon modelinde <i>in vitro</i> sinerji ve artan hayatta kalma
Kiffer ve ark.	2005	Laboratuvar Ortamında	Meropenem ve sulbaktam	<i>In vitro</i> sinerji
Sader ve ark.	2005	Laboratuvar Ortamında	Sefipime ve sulbaktam	<i>In vitro</i> sinerji
Kasiakou ve ark.	2005	Vaka Serileri	Kolistin ve başka bir ajan	Şiddetli <i>Acinetobacter</i> veya <i>Pseudomonas</i> enfeksiyonu olan 50 hastanın% 67'si "iyileşti"
Sobieszczyk ve ark.	2004	Vaka Serileri	Kolistin ve başka bir ajan	<i>Acinetobacter</i> veya <i>Pseudomonas</i> pnömonisi olan 25 hastanın% 79'u tedavinin sonuna kadar hayatta kaldı

Çalışmalar aynı antimikrobiyal kombinasyonlar için çelişkili sonuçlar bulmuştur. Montero ve diğerleri çok ilaca dirençli *Acinetobacter* pnömonisinin fare modelini incelemiş ve rifampin ile imipenem, tobramisın veya kolistin kombinasyonlarının en etkili rejimler olduğunu bulmuştur. Bununla birlikte, bir takip klinik pilot çalışması, karbapenem dirençli *Acinetobacter* enfeksiyonunun tedavisi için rifampin artı imipenem kullanımına karşı uyarıda bulunmuştur, çünkü araştırmacılar yüksek bir başarısızlık oranı gözlemlemiş ve tedavi edilen hastaların % 70'inde rifampin direncinin ortaya çıktığını belgelemişlerdir. Kobay modelinde, ajanlar arasında *in vitro* sinerji gösterilmesine rağmen, imipenem ve amikasin kombinasyonunun, imipenem dirençli pnömoninin tedavisi için tek başına imipenemden daha kötü olduğu bulunmuştur. *in vitro* sinerjinin klinik kullanımı belirsizliğini korumaktadır. Kombinasyon tedavisi için çoğu sonuç sadece parenteral kolistin için bildirilen kür oranları ile karşılaştırılabilir ve kullanılan diğer birçok ajan kombinasyon terapisi ile ilgili sonuç çıkarma yeteneğini sınırlamıştır. Herhangi bir antimikrobiyal kombinasyonun faydalı terapötik stratejilere dönüşüp dönüşmediğini belirlemek için kontrollü klinik çalışmalara ihtiyaç vardır. Li ve diğerleri *in vitro* incelenen 16 kolistin duyarlı *Acinetobacter* izolatının 15'inde hetero direnç (yani kolistin'e karşı çeşitli direnç seviyelerine sahip alt popülasyonlar) bulmuştur. İzolatların kolistin varlığında seri geçişi kolistin dirençli alt popülasyonların oranını arttırmıştır. Owen ve diğerleri ayrıca *in vitro* heterorezistans kanıtı da bulunarak monoterapi sırasında kolistin direncinin ortaya çıkmasını önlemek için kombinasyon tedavisinin önerilebileceğini düşündürmektedir (Eliopoulos ve ark., 2008).

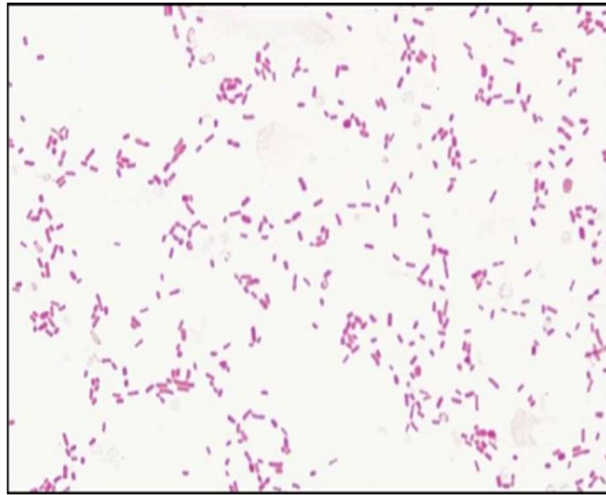
1.7 *Klebsiella pneumoniae*

Klebsiella, *Phylum Proteobacteria*, Sınıf *Gammaproteobacteria* ve *Order Enterobacteriales*'e aittir. Klebsiella cinsi ayrıca *Enterobacteriaceae* familyasına aittir ve *Klebsiella granulomatis*, *K. mobilis*, *K. ornithinolytica*, *K. oxytoca*, *K. planticola*, *K. pneumoniae*, *K. singaporensis*, *K. terrigena*, *K. trevisanii* olmak üzere bir dizi türe bölünmüştür. Klebsiella türleri her yerde bulunur ve insanlar da dahil olmak üzere memelilerin çevresi ve mukozal yüzeyleri olmak üzere iki geniş tanımlanmış habitatta ortaya çıkmıştır. Çevrede yüzey suyunda, kanalizasyonda, toprakta ve hatta bitkilerde bulunurken, insan konağında nazofarenks ve bağırsak yolunda bulunabilir. İnsan derisi

Klebsiella türlerinin büyümesi için elverişli değildir ve bu nedenle sadece geçici olarak kolonize olduğu kabul edilmiştir. *Klebsiella pneumoniae* tipik olarak 0,3 ve 1,8 µm boyutlarında Gram-negatif düz çubuklardır. Hareketsiz bakteriler, 37 ° C'de çoğalan ve bir kapsülün varlığına atfedilen karbonhidrat bakımından zengin ortamda karakteristik olarak mukoid koloniler üreten laktoz fermente edici, fakültatif anaeroblardır (Jesus ve ark., 2015).



Şekil 10. *Klebsiella pneumoniae* mukoid kolonileri (Baban, 2017)



Şekil 11. *Klebsiella pneumoniae* gram boyaması (Baban, 2017)

1.7.1 Virülans Faktörleri Ve *K. pneumoniae*'nin Patogenezindeki Rolü

K. pneumoniae'nin temel patogenezine yardımcı olan faktörler fimbrial ve fimbrial olmayan adezinler, kapsül, sideroforlar (özellikle enterobaktin), üreaz, lipopolisakkarit (LPS), serum direnci ve biyofilm oluşumudur. Öte yandan, patogenezine yardımcı olan

artırıcı faktörler arasında diğer sideroforlar (aerobaktin ve yersiniabaktin), katekol reseptörü, mukoid faktör ve hiper mukoviskozite bulunmuştur. Bir enfeksiyonun ön koşulu, genellikle patojenin mukozal yapışma yeteneğidir. *Klebsiella pneumoniae*, çeşitli reseptörleri tanıyabilen çok sayıda fimbrial ve fimbrial olmayan adhezini ifade eder ve bu da birkaç hedef hücreye yapışmayı kolaylaştırmıştır (Jesus ve ark., 2015).

Bir insan konağında *K. pneumoniae* virülansı ile ilişkilendirilmiş yüzey sakkaritleri arasında LPS ve kapsül bulunmuştur. Kapsüller, tamamlayıcı aracılı liziz veya fagositoza direnerek ve muhtemelen aşırı kapsüler materyalin salınması yoluyla antikorlara karşı nötralize edici bir etkiye sahip olarak virülans rol oynamıştır. *K. pneumoniae*'da en az 78 antijenik olarak çeşitli kapsüler tip tanımlanmıştır. Fagositoza direnç, K1 ve K2 kapsüler serotiplerinde daha yüksek bulunmuştur. İdrar yolu enfeksiyonları, pnömoni ve bakteriyemide rol oynayan klinik izolatlardan sıklıkla izole edilen K2 kapsülü virülans rol oynayabilir. Öte yandan LPS, bakterilerin dış zarında yer alan bir bileşendir ve bir kısmı, sadece 12 farklı antijen içeren O-antijenini oluşturmuştur. Son olarak, *K. pneumoniae*'nin in vivo büyümesi, yüksek afiniteli hücre dışı ferrik şelatörler (demir bağlayıcı moleküller) üretmekle rekabet ettiği temel elemental demiri gerektirmiştir. *K. pneumoniae*'nin virülansı, β -laktamaz kodlayan genlerin kolay edinimi ile daha da şiddetlenir (Jesus ve ark., 2015).

1.7.2 *K. pneumoniae* Enfeksiyonları

K. pneumoniae'nin neden olduğu hastalığın klinik görünümü ifade edilen virülans faktörlerinin miktarı ve türünden etkilenirken, ortaya çıkan enfeksiyonlar toplu ilişkili ve sağlık bakımı ile ilişkili enfeksiyonlar olarak ikiye ayrılmıştır. *Klebsiella pneumoniae* çoğunlukla YBÜ'deki hastaları etkiler ve hastane içi mortaliteye önemli bir katkıda bulunmuştur. Klinik ortamda *K. pneumoniae*, kateterle ilişkili idrar yolu enfeksiyonlarına neden olmada *E. coli*'den sonra ikinci sıradadır. Öte yandan, *K. pneumoniae* ayrıca toplu ilişkili pnömoni, piyojenik karaciğer apsisi, rinosklerom, atrofik rinit ve daha az sıklıkla menenjit, nekrotizan fasiit ve prostat apsisi gibi hastalıklardan da sorumludur. Sırasıyla rinoskleroma ve atrofik rinit özellikle *K. pneumoniae subsp. rhinoscleromatis* ve *K. pneumoniae subsp. ozaenae* sorumludur. *Klebsiella pneumoniae*, büyük ölçüde fırsatçı bir patojen olarak düşünülmektedir,

ancak son on yılda hipervirülen suşların ortaya çıkışı, sağlıklı bireyleri enfekte etme kapasitesini göstermiştir (Jesus ve ark., 2015).

1.7.3 *K. pneumoniae* İzolatlarında Antibiyotik Direnç Mekanizmaları

K.pneumoniae gibi bakterilerde bulunan üç antibiyotik direnci modu arasında ilaç modifikasyonu veya enzimatik inaktivasyon, antibiyotik hedef modifikasyonu veya hücrelerdeki düşük antimikrobiyal ilaç konsantrasyonları (azaltılmış geçirgenlik ile mümkündür) ve artan dışa akım aktivitesi bulunmuştur. Bu etki biçimleri ya intrinsik olarak kodlanır ya da mutasyon ve direnç gen edinimi yoluyla edinilmektedir. Uyarlanabilir tepkiler yalnızca antibiyotikler tarafından tetiklenmekle kalmaz, aynı zamanda çevresel streslere bir tepki olarak ortaya çıkabilir ve şunları içerir: (i) büyümenin durması, (ii) direnç belirleyicilerinin stres kaynaklı edinimi, (iii) hedef bölgelerdeki değişiklikler, (iv) değiştirilmiş membran bariyer fonksiyonları, (v) direnç sağlayan mutasyonların indüksiyonu ve (vi) biyofilm oluşumunun teşvik edilmesi. İronik olarak, antimikrobiyal ilaçların neden olduğu stresin bir sonucu olarak aktive olan bazı koruyucu tepkiler, aynı antimikrobiyal ilaçlara karşı dirence yol açmıştır. Membran geçirgenliğindeki ve ilaç akışındaki değişiklikler, dışa akış pompalarının değişken ekspresyonu ve düzenlenmesinden etkilenmiştir. Enterobacteriaceae Gram-negatif bakteriler içinde, önemli bakteriyel dışa akış pompası ailesi direnç nodülasyon bölümüdür (RND). RND ailesinin kromozomal doğal AcrAB-TolC dışa akış pompasının aktif ifadesi, *E. coli*, *Enterobacter spp.* ve *Klebsiella spp.* florokinolon direncine katkıda bulunmuştur. Alternatif olarak, hem *K. pneumoniae* hem de *E. coli*'nin dış zar proteinlerindeki değişiklikler, porinlerin mutasyonları nedeniyle, antimikrobiyal ajanların akışını sınırlayabilir veya alternatif olarak dışarı akışı arttırabilir. Başlıca OmpK35 ve OmpK36 porinlerinin yanı sıra, alternatif OmpK37, PhoE ve LamB porinleri *K.pneumoniae* ile ifade edilmiştir. Porin kaybından başka, dirence yardımcı olan dış membranda ilave bir modifikasyon, *K. pneumoniae*'de kapsül polisakkarit (CPS) üretiminin yukarı regülasyonudur. Bakteriyel hücreler tek hücreler halinde, planktonik formda veya kendi ürettikleri bir biyopolimer matris tarafından bir araya getirilen ve bir yüzeye bağlanan topluluklar içinde var olmuştur. Biyofilm, konakçı bağışıklık savunmalarına karşı geliştirilmiş direnç, biyositlere direnç, antimikrobiyal bileşiklere karşı artan direnç ve bu ortam içinde antibiyotik direnç genlerini içerebilen daha yüksek plazmid transfer oranları şeklinde hayatta

kalma avantajları sağlamıştır. Potansiyel direnç genleri sağlayan genetik elementler, Enterobacteriaceae ailesinin bakterileri arasındaki yakın genetik benzerlik nedeniyle yatay olarak hem tür içi hem de türler arası kolayca aktarılmıştır. Bir biyofilm içindeki bakteri popülasyonlarına karşı azalmış antimikrobiyal ilaç etkisi büyük ölçüde belirsizdir, ancak birlikte hareket eden birkaç mekanizmanın bir sonucu olabilir, örneğin: (i) zayıf bileşik difüzyonu, (ii) bakteriler tarafından antibiyotiklerin daha yavaş alımı (iii) antimikrobiyal inaktive edici enzimlerin üretimi, (iv) genel stres tepkileri, (v) dışarı akış pompalarının ekspresyonu ve (vi) persister hücrelerin varlığı şeklindedir. Son olarak, β -laktam antibiyotiklere karşı dirence esas olarak üçüncü nesil sefalosporinleri ve monobaktamları hidrolize edebilen β -laktamaz enzim üretimi aracılık etmiştir(Jesus ve ark., 2015) .

1.7.4 Çoklu İlaça Dirençli *Klebsiella pneumoniae*'nin Epidemiyolojisi

Klebsiella pneumoniae, genellikle yoğun bakım ünitesinden (YBÜ) izole edilen ve GSBL üretimi ve küresel olarak ortaya çıkan karbapenem direnci gibi β -laktamaz üretimi yoluyla yüksek ilaca dirençli profiller sergileyen hastane salgınlarında rol oynayan bir nozokomiyal patojendir. β -laktamaz enzimatif aktivitesinin varlığı ilk olarak 1940 yılında, tedavi için penisilinin uygulanmasından önce gözlenmiştir. β -laktamazların varlığı bu nedenle çevresel izolatlar içinde doğal olarak mevcut olmuştur. Geniş spektrumlu β -laktamazlar ilk olarak 1960'larda ve 1970'lerde *E. coli*'de ortaya çıkmıştır, ancak Enterobacteriaceae ailesi dahil diğer bakteri türlerine hızla yayıldı ve bu da ikinci ve üçüncü nesil sefalosporinler kullanılarak tedaviye yol açmıştır. 1965'te tanımlanan ilk β -laktamaz enzimi, Temoneria (TEM) -1 enzimidir ve kısa bir süre sonra sülfidril değişkeni (SHV) -1 β -laktamazdı, bu tipik olarak penisiline direnç sağlayabilir ancak sefalosporinlere karşı direnç sağlamamıştır. Temoneria- ve SHV-tipi β -laktamaz türevleri tarif edilmiştir. Kısa süre sonra oksiminino β -laktam antibiyotiklere karşı aktiviteye sahip GSBL'ler bulunmuştur. GSBL üreten bakterilerin, özellikle *K. pneumoniae* ve *E. coli*'nin hastane salgınları, 1980'lerde Fransız hastanelerinde ilk kaydedilen salgından bu yana var olan bir tehdittir. Tarihsel olarak, kodlanan baskın β -laktamazlar, örneğin Amerika Birleşik Devletleri'nde TEM veya SHV tipindeydi, ancak Cefotaximase-Munich (CTX-M) - tipinin en yaygın olarak tespit edilmesiyle bir değişim meydana gelmiştir. GSBL üreten Enterobacteriaceae'nin, özellikle CTX-M'yi kodlayan *K. pneumoniae* ve

E.coli'nin dünya çapında dağılımı, yıllar geçtikçe yaygınlıkta artış ile kaydedilmiştir. Dirence aracılık eden klinik izolatlardaki baskın GSBL enzimi jeo-grafiksel olarak değişken olabilir. GSBL'ye dirençli olmayan fenotipler de klinik izolatlarda hala mevcuttur ve TEM-1, TEM-2 ve SHV-1 gibi geniş spektrumlu β -laktamazların üretimine atfedilmiştir. İdrar yolu enfeksiyonlarından komplike sepsise kadar değişen GSBL üreten *K. pneumoniae* enfeksiyonları tercihen karbapenem antibiyotik ile tedavi edilmiştir. Enterobacteriaceae'deki karbapenem direnci, Afrika, Asya, Avrupa, Kuzey Amerika ve Güney Amerika dahil olmak üzere dünya çapında endişe verici frekanslarda tespit edilmiştir. Çeşitli *K. pneumoniae* suşlarının yaygınlığı ve coğrafi dağılımı farklıdır, ancak ulusal ve uluslararası salgınlarda yer alan özellikle önemli bir suş, *K. pneumoniae* karbapenemazları (KPC) barındıran (ST) 258 tipidir. En önemli karbapenemazlar, Ambler Sınıf A [*K. pneumoniae* karbapenemaz (KPC)], Sınıf B [metalo- β -laktamazlar (MBL), örneğin Yeni Delhi metalo- β -laktamazlar (NDM-1)] ve Sınıf D [Oksasilinazlar, özellikle OXA-48-tipi karbapenemazlar] karbapenemazlardır (Jesus ve ark., 2015).

1.7.5 Çoklu İlaç Dirençli *K. pneumoniae* Enfeksiyonlarının Tedavisi

Çoklu ilaç dirençli Gram-negatif basillerin küresel olarak ortaya çıkışı, son 50 yılda alternatif hedeflerle yeni ilaç sınıfları geliştirmek yerine mevcut ilaç sınıflarını iyileştirmeye odaklanılmasıyla daha da kötüleşen eşi görülmemiş bir sorun olmuştur. Çoklu ilaç dirençli bakteri oranındaki artış ve gittikçe artan sınırlı tedavi seçenekleri, karbapenemlerin temel tedavi olduğu, ancak sporadik ortaya çıkan karbapenem dirençli Enterobacteriaceae (CRE) tarafından giderek etkisiz hale geldiği, GSBL üreten *K. pneumoniae* ile örneklendirilmiştir. Enterobacteriaceae ailesinin GSBL üreten üyelerinin tipik özellikleri arasında amino ve karboksi penisilinlere, ikinci kuşak sefalosporinlere ve birkaç üçüncü ve dördüncü kuşak sefalosporinlere ve ayrıca monobaktamlara (aztreonam gibi) direnç bulunur, ancak bazıları sefamisinlere duyarlı kalabilmiştir. Genişletilmiş spektrumlu β laktamaz üreticileri ayrıca önceden bahsedilen antibiyotikler ile bir β -laktamaz inhibitörü olan klavulanat arasında sinerji sergiler ve florokinolonlar, aminoglikozitler, trimetoprim ve sülfametoksazoller gibi diğer antibiyotiklere karşı ek direnç sergilemiştir. Tedavi başarısızlığı, bir ilacın enfeksiyon bölgesinde terapötik konsantrasyonlara ulaşamamasına bağlanabilir (Jesus ve ark., 2015).

Micek ve arkadaşları (2010) tarafından yürütülen retrospektif bir çalışmada, Gram negatif bakteri aracılı sepsisin monoterapiye kıyasla ampirik olarak tedavi edilmesi sırasında doğru başlangıç kombinasyon antimikrobiyal tedavi ile daha iyi bir sonucun ilişkili olduğuna inanılmıştır. Yukarıda bahsedilen çalışmada, şiddetli Gram-negatif bakteriyel enfeksiyonlar için başlangıç tedavisi olarak siprofloksasin gibi bir antipsödomonal florokinolon veya karbapenem (imipenem ve meropenem), piperasilin-tazobaktam veya sefepim ile bir aminoglikozidin kombinasyonu daha geniş bir aktivite yelpazesi sunmuştur. İlave retrospektif çalışmalar, CRE enfeksiyonlarında, tedavi seçeneklerinin esas olarak kolistin, tigesiklin, bazı aminoglikozidler ve fosfomisine indirgenmiş olduğu kombinasyon tedavisini desteklemiştir. Fosfomisin in vitro olarak aktif görünmesine rağmen, ilaçla ilgili çok az klinik deneyim ve ayrıca antimikrobiyal direnci teşvik etmeden tedavi için yeterli kombinasyon bilgisi vardır. Tigesiklin ise MDR Enterobacteriaceae'ye karşı etkililik göstermiştir ve düşük kan seviyeleri nedeniyle doz ayarlamaları gerektirmesine rağmen iyi klinik deneyime sahip olmuştur. Tigesiklinin bir dezavantajı, efluks pompası mutasyonları olan Gram-negatif bakterilerin seçimini içerebilir. Kolistin yalnızca bilinen kolistine duyarlı MDR suşlarında veya MDR suşlarından şüphelenilen nozokomiyal ve YBÜ geç sepsis şoklarında kullanılması önerilmiştir. Kolistin uzun bir süre (> 13 gün) kullanımının, bazı durumlarda kolistine dirençli bakteri suşlarının ortaya çıkmasından sorumlu olduğu ileri sürülmüştür. *K. pneumoniae*'nin MBL ve KPC suşlarının ortaya çıkışı, kolistin'e karşı dirençli hale getirmiştir (Jesus ve ark., 2015).

1.8 OXA-23 B-Laktamazlar

B-laktamazlar için en basit sınıflandırma moleküler yapıya dayanmıştır; bu şemada dört ana sınıf vardır. A'dan C'ye kadar olan sınıflar, hem kromozomal olarak kodlanmış hem de plazmid aracılı enzimlerden oluşmuştur. Sınıf D β -laktamazlar çoğunlukla Gram negatif bakterilerde plazmidle kodlanmış β -laktamazlar olarak tanımlanabilmişlerdir. Bu enzimler, esasen penisilinazlardı ve bunlar, A sınıfı-laktamazlardan farklı olarak, oksasilinin yanı sıra penisiline de hidrolize ve direnç kazandırabilir, dolayısıyla oksasilinazlar ve OXA ön eki olarak adlandırılmıştır. Erken OXA enzimlerinin substrat profili Bush ve diğerleri tarafından bildirilen şema

tarafından dikkate alındığında, bu enzimler 2d olarak adlandırılmıştır (Evans ve Amyes, 2014).

D sınıfı OXA enzimlerinin rolü, özellikle penisiline direnç kazandırmada çok daha yaygın olan A sınıfı enzimlere ikincil olarak kabul edilmiştir. Bazıları orijinal olarak *Pseudomonas aeruginosa*'da tanımlanmıştır. 1980'lerde bu organizma üçüncü kuşak sefalosporin seftazidime iyi yanıt vermiştir. Bununla birlikte, Ekim 1991'de Türkiye'deki bir hastadan izole edilen bir *Pseudomonas aeruginosa* suşu tespit edilmiştir. Bakteri, özellikle seftazidime çok direnç göstermiştir. Bu direnç aktarılabildi ve dizlendiğinde enzim OXA-10 enziminden 2 amino asit değişikliğine sahipti, amino asit 143'teki bir arginin serin ve 157 konumundaki bir glisini aspartata değişmişti. OXA-10- β -laktamaz, sefotaksim, seftriakson ve aztreonamın zayıf hidrolizini sağlasa da mutasyon seftazidimin aktif bölgeye bağlanmasını önemli ölçüde arttırmıştır. OXA-11 olarak adlandırılan yeni enzim, mutasyon yoluyla genişletilmiş spektrumlu bir β -laktamaz (GSBL) haline gelen bir OXA enziminin ilk örneği olmuştur (Evans ve Amyes, 2014).

OXA-11'in yanı sıra, OXA-10'dan türetilen birkaç GSBL, yani OXA-13, OXA-14, OXA-16, OXA-17, OXA-19 ve OXA-28 bulunmaktadır (Evans ve Amyes, 2014).

Tablo 4 Karbapenem hidrolizleyen OXA tipi β -laktamazlar (Evans ve Amyes, 2014).

Enzim grubu	Enzim (ler)	Gruptaki enzim sayısı	Enzimleri barındıran türler
OXA-23 benzeri	OXA-23, OXA-27, OXA-49, OXA-73, OXA-102, OXA-103, OXA-105, OXA-133, OXA-134, OXA-146, OXA-165 – OXA-171, OXA- 225, OXA-239	19	<i>A. baumannii</i> , <i>A. junii</i> , <i>A. radioresistens</i> , <i>A. pittii</i> , <i>Proteus mirabilis</i> , <i>Acinetobacter phenon 5</i> , <i>Acinetobacter phenon 6 / ct 13TU</i> , <i>A. nosocomialis</i> , <i>Acinetobacter genomik türleri 10/11</i> , <i>A lwoffii</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>A. Baylyi</i>
OXA-40 benzeri	OXA-40, OXA-25, OXA-26, OXA-72, OXA-139, OXA-160, OXA-207	7	<i>A. baumannii</i> , <i>A. haemolyticus</i> , <i>A. pittii</i> , <i>A. baylyi</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>A.</i>

Enzim grubu	Enzim (ler)	Gruptaki enzim sayısı	Enzimleri barındıran türler
			<i>calcoaceticus</i> , <i>K. pneumoniae</i>
OXA-51 benzeri	OXA-51, OXA-64 – OXA-71, OXA-75 – OXA-80, OXA-82 – OXA-84, OXA-86 – OXA-95, OXA-98 – OXA-100, OXA-104, OXA- 106 – OXA-113, OXA-115 – OXA-117, OXA-120 – OXA-128, OXA-130 – OXA-132, OXA-138, OXA-144, OXA-148 – OXA-150, OXA-172– OXA-180, OXA-194 – OXA-197, OXA-200 – OXA-203, OXA-206, OXA-208, OXA-216, OXA-217, OXA-219, OXA-223, OXA-241, OXA- 242, OXA-248 – OXA-250, OXA-254	95	<i>A. baumannii</i> , <i>A. nosocomialis</i> , <i>Enterobacter cloacae</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>K. pneumoniae</i>
OXA-58 benzeri	OXA-58, OXA-96, OXA-97, OXA-164	4	<i>A. baumannii</i> , <i>A. pittii</i> , <i>A. nosocomialis</i> , <i>Acinetobacter phenon 6 / ct</i> 13TU, <i>A. junii</i> , <i>Acinetobacter gen oMİK types 9</i> , <i>A. bereziniae</i> , <i>A. calcoaceticus</i> , <i>A. radior esistens</i> , <i>E. cloacae</i> , <i>Comamonas testosteroni</i> , <i>E. coli</i> , <i>K. pneumoniae</i> , <i>Delftia acidovorans</i>
OXA-134a benzeri	OXA-134a, OXA-186 – OXA-191	7	<i>A. lwoffii</i>
OXA-143 benzeri	OXA-143, OXA-182, OXA-231, OXA-253, OXA-255	5	<i>A. baumannii</i> , <i>A. pittii</i>
OXA-213	OXA-213	17	<i>A. calcoaceticus</i>
OXA-214 benzeri	OXA-214, OXA-215	5	<i>A. haemolyticus</i>
OXA-211 benzeri	OXA-211, OXA-212, OXA-309	6	<i>A. johnsonii</i>

Enzim grubu	Enzim (ler)	Gruptaki enzim sayısı	Enzimleri barındıran türler
OXA-229 benzeri	OXA-228 – OXA-230, OXA-257	8	<i>A. bereziniae</i>
OXA-235 benzeri	OXA-235 – OXA-237, OXA-278	7	<i>A. schindleri</i>
OXA-48 benzeri	OXA-48, OXA-48b, OXA-162, OXA-163, OXA-181, OXA-199, OXA-204, OXA-232, OXA-244, OXA-245, OXA-247	11	<i>E. cloacae</i> , <i>K. pneumoniae</i> , <i>E. coli</i> , <i>Shewanella xiamenensis</i> , <i>Citrobacter freundii</i> , <i>Serratia marcescens</i> , <i>Providencia</i> , <i>rettgeri</i> , <i>Klebsiella oxytoca</i> , <i>Enterobacter sakazakii</i> , <i>A. baumannii</i>

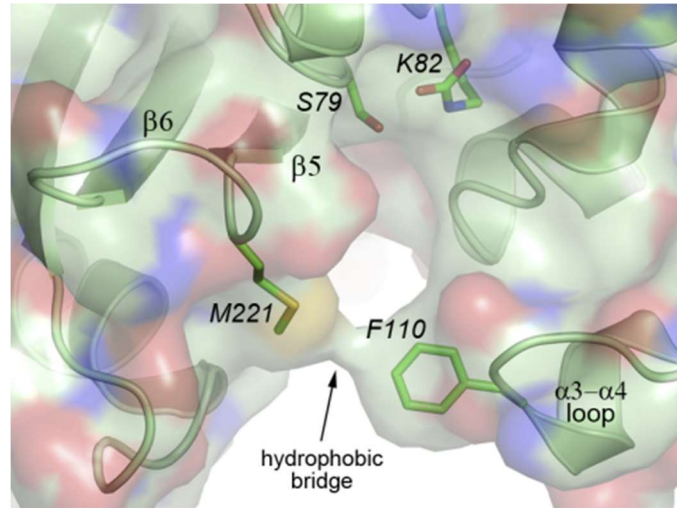
A. baumannii'de tanımlanacak ilk karbapenem dirençli OXA tipi β -laktamaz grubu OXA-23 grubu olmuştur. OXA-23 β -laktamaz ilk olarak 1985 yılında Edinburgh, Birleşik Krallık'ta toplanan bir *A. baumannii* izolatında tanımlanmıştır, ilginç bir şekilde imipenemin ilk kullanım için onaylandığı yıl olmuştur. İzolatın, 16 mg litre-1 imipenem MIC'lerine sahip olduğu ve direnç fenotipinin transfer edilebilir olduğu bulunmuştur, bu da bir plazmit lokasyonunu göstermiştir. Dizi 2000 yılında yayınlandı ve daha sonra OXA-23 alelleri tanımlanmıştır. Bu enzim grubu için genler sıklıkla plazmid kaynaklıdır ve birçok *Acinetobacter* türünün yanı sıra *Enterobacteriaceae*'ye ait türlerde bulunmuştur (Evans ve Amyes, 2014).

Apo-OXA-24'ün yapısına göre, enzimin karbapenemleri hidrolize etme kabiliyetinin, Tyr112 ve Met223 kalıntılarının (OXA-24 kalıntısı) yan zincirlerinin oluşturduğu aktif bölgeye tünel benzeri bir girişle kolaylaştırılması önerilmiştir. Bu tünel yapısının, aktif bölgeye yalnızca belirli substratlara erişim sağlayan hidrofobik bir bariyer oluşturduğu öne sürülmüştür. Karbapenem antibiyotik doripenem ile kompleks halindeki OXA-24'ün deaçilasyon eksikliği olan iki mutantının yapıları, daha sonra bu tünel benzeri yapının, antibiyotiğin bağlanması sırasında büyük ölçüde değişmeden kaldığını göstermiştir. Bu yapıların doripenem ile kompleks haline getirilmiş karbapenemaz olmayan OXA-1 ile karşılaştırılması, OXA-1 ve OXA-24'teki karbapenem antibiyotiklerinin pirolin halkasının iki alternatif tautomerik formda mevcut olduğunu

göstermiştir. İki tautomer, bir enamin formunda (Şekil 12) pirrolin halkalı $\Delta 2$ -tautomer ve pirolin halkasının bir imin formunda olduğu bir $\Delta 1$ -tautomerdir . Bu bilgi, yazarları, OXA-24'ün tünel benzeri yapısının, katalitik olarak yetkin izomer olabilecek doripenem pirrolin halkasının $\Delta 2$ -tautomerinin oluşumunu kolaylaştırdığı sonucuna varmalarını sağlamıştır. Bunun iki olası nedeni olabilir. Biri, bir su molekülünün aktif bölgeye girişine izin veren hidroksietil kısmın daha uygun bir uzaysal yerleşimi veya alternatif olarak, deaçilasyon için bir su molekülünün desteklenmesinde bir proton mekiği olarak hizmet edebilen enamin parçasının varlığıdır (Smith ve ark., 2013).

Genel OXA-23 yapısı, karbapenemazlar OXA-24 ve OXA-48 ve karbapenemaz olmayan OXA- dahil olmak üzere D sınıfı diğer laktamaz üyelerine benzemektedir (Smith ve ark., 2013).

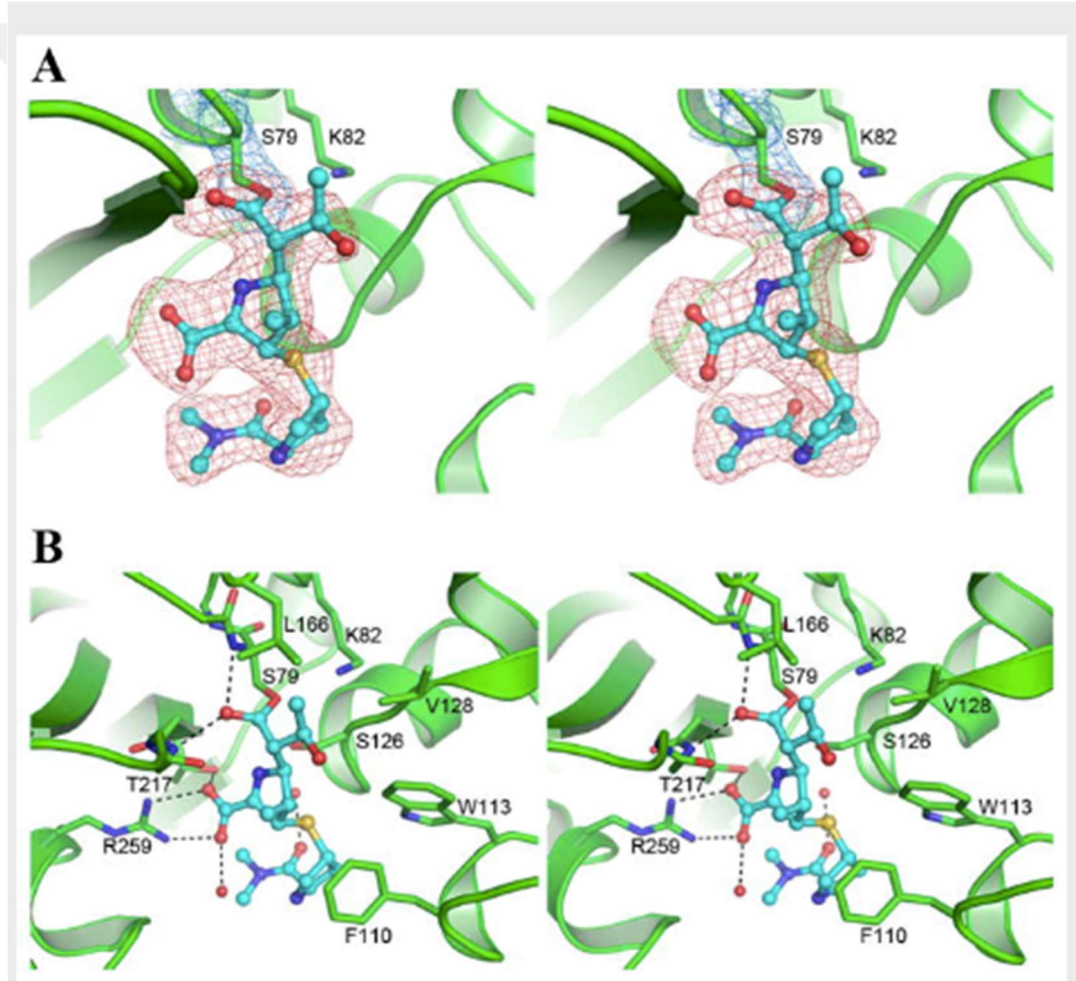
OXA-23'ün kristal yapısında aktif bölgenin elektron yoğunluğu haritaları ile, K82'nin tamamen karboksilatlandığını ve ortaya çıkan karbamat kısmının W165 ve S79 ile hidrojen bağları ile stabilize edildiğini gösterilmiştir. Sekiz anahtar aktif bölge kalıntısının (S79, S126, V128, W165, L166, K216, G218 ve R259) tüm atomları için RMSD, yapının yüksek düzeyde korunumunu gösteren 0.325 Angstrondur (Kaitany ve ark., 2013).



Şekil 12 OXA-23'ün aktif bölgesi (Smith ve ark., 2019)

Meropenem ile OXA-23 kompleksinin kristal yapısı çalışılmıştır. Meropenem, Ser79 yan zinciri için 2Fo-Fc yoğunluğu ile sürekli olan güçlü rezidüel Fo-Fc fark elektron

yoğunluğunda OXA-23 aktif bölgesinde yer aldı. Meropenem, Ser79'un O γ atomuna kovalent olarak bağlanır ve bir dizi hidrofobik paketleme kontağı ile birlikte yedi hidrojen bağlama etkileşimi ile sabitlenir. Eskiden-laktam karbonil olan C7 karbonil oksijen, oksianyon deliğinde bulunur ve Ser79 ve Trp219'un amid nitrojen atomlarına hidrojen bağlıdır ve karboksilat, Thr217 ve Arg259'un yan zincirleri ile üç hidrojen bağı oluşturur. İyi düzenlenmiş su moleküllerine iki ek hidrojen bağı vardır. Uzun α 3 / α 4 döngüsünün (Phe110 ve Trp113) sonundaki iki korunmuş kalıntı, meropenemin pirrolidin halkası ile aromatik paketleme kontakları sağlar. Bu kalıntılardan biri olan Phe110, tünel benzeri yapının oluşumuna katılır ve OXA-24 β -laktamazın karbapenemaz aktivitesi için önemli olduğu ileri sürülür (Smith ve ark., 2013).

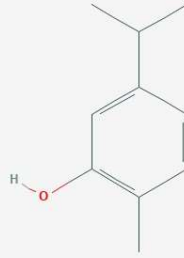


Şekil 13 Meropenem bağlı OXA-23 (A) OXA-23 aktif sahasında meropenemin (camgöbeği top ve çubuk) son koordinatları ile modellenen artık Fo-Fc elektron yoğunluğu (pembe). Ser79 için nihai 2Fo-Fc elektron yoğunluğu belirtilmiştir. (B) Meropenem, hidrojen bağlama etkileşimlerini (kesikli siyah çizgiler) gösteren son modelde aktif bölgede bağlanmıştır (Smith ve ark., 2013).

1.9 Fitokimyasallar

1.9.1 Karvakrol

Karvakrol, simenin doğal bir monoterpen türevidir. Bakteri üremesinin bir inhibitörü, gıda katkı maddesi olarak kullanılır. İnsan iyon kanalları geçici reseptör potansiyeli V3 (TRPV3) ve A1'in (TRPA1) güçlü aktivatörüdür (URL-1).



Şekil 14 Karvakrolün iki boyutlu kimyasal yapısı (URL-1)

Karvakrol, kekik gibi bazı bitkilerde önemli bir bileşendir ve çeşitli mikroorganizmaların büyümesi üzerindeki inhibe edici etkisi belirlenmiştir. Bir çalışmada, karvakrolün bazı Gram-pozitif ve Gram-negatif gıda ile ilişkili bakteri suşlarına karşı antimikrobiyal aktivitesi doğrulanmış ve karvakrolün hücre zarı üzerindeki etkisi atomik kuvvet mikroskopu analizi ile daha da araştırılmıştır. Sonuçlar, test edilen tüm mikroorganizmaların hem katı hem de sıvı ortamda karvakrol'e duyarlı olduğunu göstermiştir. Ayrıca, karvakrol ile muamele edilen tüm suşların hücrelerinin görüntüleri, hücre yüzey yapısında bir değişikliği gösteren kayda değer değişiklikler sergilemiştir. Son olarak, mikroorganizmaların hem uzunluğu hem de çapı, karvakrol ile temastan sonra azalmıştır (La Stora ve ark., 2011).

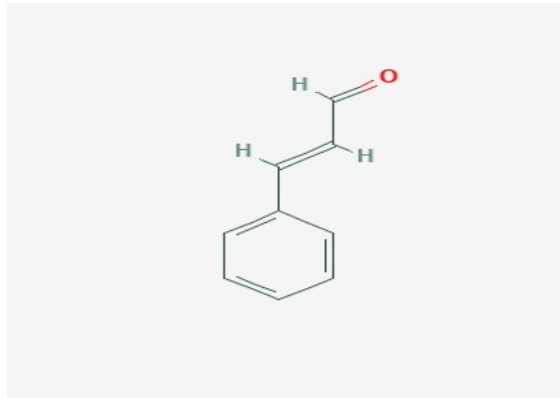
Bir diğer çalışmada, idrar yolu enfeksiyonu olan bir hastanın asit sıvısından izole edilen GSBL *Escherichia coli*'ye karşı karvakrolün antimikrobiyal potansiyelini ve temel etki mekanizmasını belirlenmiştir. Karvakrol, zamana bağlı bir şekilde *E. coli* hücre sayımlarını önemli ölçüde azalttığı 450 µg / ml'lik minimum bir inhibitör konsantrasyonu (MIC) sergilemiştir. Floresan görüntüleme, karvakrol varlığında *E.*

coli hücre ölümüne yol açan yüksek reaktif oksijen türü seviyesini ve bakteriyel membran depolarizasyonunu göstermiştir. Ayrıca, karvakrol, bakteriyel membran bozulması ve hücrel materyal salınımı üzerinde ciddi bir zararlı etki göstermiştir. Ek olarak, bir ex vivo modelde *E. coli* hücrelerinin motilitesi ve insan kolon HCT-116 hücrelerinin istilası üzerinde alt inhibitör konsantrasyonda karvakrolün önemli bir etkisi gözlenmiştir. Sonuçlara dayanarak, karvakrolün GSBL *E. coli*'ye karşı potansiyel bir antimikrobiyal rolü olduğu sonucuna varılmıştır (Khan ve ark., 2017).

Genişletilmiş spektrumlu β -laktamaz (GSBL) üreten *Escherichia coli*'nin antibiyotik direnci son yıllarda önemli ölçüde artmıştır. Çalışmada, idrar yolu enfeksiyonu olan hastaların kanından izole edilen GSBL *E. coli*'ye karşı karvakrolün temel etki mekanizmaları belirlenmiştir. Minimum inhibitör konsantrasyonu 150 $\mu\text{g} / \text{ml}$ ve minimum bakterisidal konsantrasyonu 300 $\mu\text{g} / \text{ml}$ olan karvakrol, zamana bağlı bir şekilde *E. coli* hücre sayısını azaltmıştır. Karvakrol ile muameleden sonra, *E. coli* öldürme süresinin 120 dakika olduğu bulunmuştur. Floresan boyama, bakteri hücre ölümünde bir artış, daha fazla membran depolarizasyonu ve karvakrol ile muamele edilmiş yüksek bir oksidatif patlama olduğunu doğrulanmıştır. Karvakrol ayrıca bakteriyel hücrelerden hücrel DNA, proteinler ve potasyum iyonlarının salınmasını indüklemiştir. Ek olarak, karvakrolün β -laktamaz enzim aktivitesini (*in vitro*) inhibe ettiği bulunmuş ve bu *in siliko* sonuçlarla desteklenmiştir. Genel olarak, bulgular, karvakrolün GSBL *E. coli*'ye karşı önemli antimikrobiyal potansiyele sahip olduğunu göstermiştir (Khan ve ark., 2020).

1.9.2 Sinamaldehit

Tarçın kokusu ve tatlı tadı olan sarı yağlı bir sıvıdır (URL-2).



Şekil 15 Sinamaldehitin iki boyutlu kimyasal yapısı (URL-2)

Bir çalışmada, ilaç direncini ve etkinlik değerlendirmelerini tersine çevirmek için tek başına veya sefotaksim / siprofloksasin ile kombinasyon halinde sinamaldehytin antimikrobiyal aktivitesini belirlemeyi amaçlamaktadır ve kombinasyonun olası moleküler etki mekanizması da in vitro analizler kullanılarak değerlendirilmiştir. GSBL-QR (kinolon direnci) Enterobacteriaceae'ye karşı sinamaldehyt ve antibiyotiklerin minimum inhibitör konsantrasyonlarını (MİK) belirlemek için sıvı mikrodilüsyon testi kullanılmıştır. Sinerjistik etki ve antibiyotiklerle dinamik etkileşim, sırasıyla dama tahtası deneyi, izobologram analizi ve zaman öldürme deneyi ile daha da incelenmiştir. Bakterinin hücresel morfolojisi, taramalı elektron mikroskopu (SEM) ile görüntülenmiştir. Sinamaldehyt ve kombinasyonunun porinler (ompC , ompF , ompK35 ve ompK36), efluks pompası genleri (acrB – *E. Coli* , acrB – *K. Pneumoniae*) ve antibiyotiğe dirençli genlerinin (blaTEM , blaSHV , blaCTXM ve QnrB) ekspresyonu üzerindeki etkileri gerçek zamanlı kantitatif PCR (RT-qPCR) kullanılarak değerlendirilmiştir. *E. coli*'nin çoğunluğu(% 32.1) ve *K. pneumoniae* (% 24.2) izolatları, sırasıyla 7,34 µg / mL ve 0,91 g / mL'de sinamaldehyt için MİK göstermiştir. Sinamaldehyt ve sefotaksim arasındaki sinerji,% 75 *E. coli* ve % 60.6 *K. pneumoniae* arasında kaydedilmiştir. Benzer şekilde bakterilerin sırasıyla% 39,6 ve% 42,4'ünde siprofloksasin ile sinerji görülmüştür. Sinamaldehyt ve kombinasyonu, gen ekspresyonunu ~ 1.6 ila ~ 400 kat değiştirmiştir. Bozulmuş bakteri hücre yapıları, sinamaldehyt ve / veya sefotaksim / siprofloksasin ile uygulamadan sonra görülmüştür. Sonuçlar, sinamaldehydin tek başına ve antibiyotiklerle kombinasyon halinde patojenik GSBL-QR bakterilerine karşı potansiyel etkililiğini ve etki tarzını göstermiştir (Dhara ve Tripathi, 2020).

Diğer bir çalışmada, sinamaldehyt ve öjenolün hem genişletilmiş spektrumlu β-laktamaz (GSBL) üreten hem de kinolona dirençli (QR) (GSBL - QR) patojenik Enterobacteriaceae'ye karşı antibakteriyel aktivitesinin değerlendirilmesi ile birlikte in vivo toksisite seviyesinin belirlenmesi ile ilgilidir. Sinamaldehyt (CIN), öjenol (EG) ve geleneksel antibiyotiklerin GSBL - QR Enterobacteriaceae'ye karşı minimum inhibitör konsantrasyonlarını (MIC'ler) belirlemek için sıvı mikrodilüsyon testi kullanılmıştır. Sub-akut oral toksisite çalışması (14 gün) gerçekleştirilmiştir. Sinamaldehyt ve öjenol, *Escherichia coli* izolatlarına karşı 7.28 ve 7.34 µg/mL ve

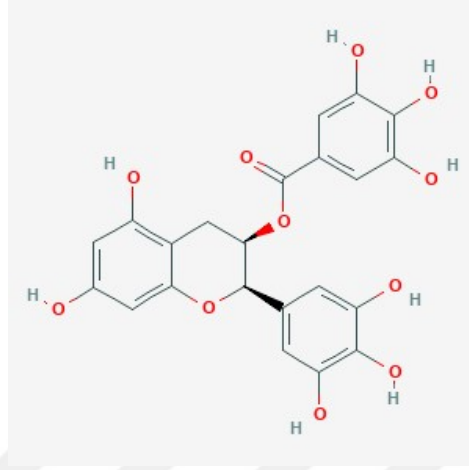
Klebsiella pneumoniae izolatlarına karşı 0.91 ve 3.67 µg/mL MİK göstermiştir. Hematolojik ve toksikolojik analizler için, sinnamealdehitin (0.91-10 mg / kg) ve öjenolün (7.34-70 mg / kg) 14 gün oral uygulamasından sonra, fare modelinden kan toplanırken, karaciğer ve böbrek üzerinde histolojik incelemeler yapılmıştır. Tedavi edilen hayvanlar arasında yiyecek ve su alımında hiçbir değişiklik olmamıştır. Toksikolojik ve davranışsal çalışmalar sinnamealdehit ve öjenol için iyi güvenlik profilleri göstermiştir. Sonuçlar, herhangi bir önemli toksikolojik ve davranışsal etki olmaksızın, sinnamealdehit ve öjenolün patojenik GSBL-QR Enterobacteriaceae'ye karşı potansiyel antibakteriyel etkinliğini göstermiştir (Dhara ve Tripathi, 2020).

Başka bir çalışmada, *A. baumannii*'nin biyofilm oluşturma yeteneğini değerlendirmenin yanı sıra sinnamealdehitin *A. baumannii*'nin karbapenem dirençli suşlarına karşı antibakteriyel aktivitesini araştırmayı amaçlamıştır. Sinnamealdehit antibakteriyel yeteneği planktonik hücreler üzerinde araştırılmış ve biyofilm inhibisyonu test edilmiştir. Sinnamealdehidin antibiyofilm etkisini doğrulamak için taramalı elektron mikroskopu (SEM) uygulanmıştır. Sinnamealdehit, düşük konsantrasyonlarda *A. baumannii*'nin planktonik hücrelerine karşı güçlü bir antimikrobiyal aktivite göstermiştir. En iyi antibiyofilm aktivitesi, sırasıyla % 49.5 ila % 71.2 ve % 18.5 ila % 29.6 arasında değişen inhibisyon yüzdelere neden olan ½ minimum inhibitör konsantrasyonunda (MİK) ve ¼ MİK'de elde edilmiştir (Mohamed ve ark., 2018).

Tarçın kabuğu uçucu yağının (CB), beta-laktamaz TEM-1 plazmidine sahip *Escherichia coli* J53 R1'e karşı antimikrobiyal ve sinerjik aktivitesi nedeniyle tek başına ve piperasilin ile kombinasyon halinde kullanıldığında etki mekanizmasını araştırmayı amaçlayan çalışmada, CB *E. coli* J53 R1 piperasiline direncini iki yoldan tersine çevirme potansiyeline sahip olduğu bulunmuştur. Bunlar dış zarin geçirgenliğinde modifikasyon veya bakteriyel quorum sensing inhibisyonudur (Yap ve ark., 2015).

1.9.3 Epigallokateşin-3-gallat

Epigallokateşin gallat, yeşil ve siyah çay gibi bazı bitkilerde bulunan fenolik bir antioksidandır. Hücresel oksidasyonu engeller ve hücelere serbest radikal hasarını önler. Potansiyel bir kanser kemopreventif ajanı olarak incelenmektedir (URL-3).



Şekil 16 Epigallokateşin gallatın iki boyutlu yapısı (URL-3)

Yapılan bir çalışmada, -epigallokateşin-3-gallat (EGCG) ve β -laktam antibiyotikler sefotaksim kombinasyonunun sinerjik aktivitesinin mekanizması, *Escherichia coli* üreten Genişletilmiş spektrumlu β -laktamaz üzerinde çalışılmıştır.(GSBL-EC), atomik kuvvet mikroskobu (AFM) kullanılarak kombinasyonun neden olduğu hücre duvarındaki morfolojik değişikliği görselleştirerek yapılmıştır. Sefotaksim'in alt MIC'lerinde (minimum alt inhibitör konsantrasyonlar) hücreler başlangıçta filamentleştirilmiştir, ancak daha sonra normal şekle geri dönmüştür, EGCG'nin alt MIC'lerindeki hücreler hücre duvarında sızıntı ve hücre döküntü ve oluk salımı gibi zamansal bozukluklar yaşanmıştır. Bunun tersine, sefotaksim ve EGCG'nin ilgili alt MIC'lerinde kombinasyonu, hücrelerde sürekli uzamanın yanı sıra kalıcı hücre hasarlarına neden olmuş ve sonunda onları öldürmüştür. Bu sonuçlar, EGCG ve sefotaksim arasındaki EGCG'nin GSBL-EC'ye karşı sinerjistik etkisinin, sırasıyla EGCG ve sefotaksim tarafından üretilen eksojen ve endojen reaktif oksijen türlerinin (ROS) ortak aktivitesi ile ilişkili olduğunu göstermiştir (Cui ve ark., 2012).

Multirezistant *A. baumannii*'nin 21 klinik izolatu için EGCG'nin (epigallokateşin-3-gallat) MİK'ini belirlemek için standart mikroparka testleri yapılmıştır. MİK'ler 0.078 ila 0.625 mg/ mL arasında değişirken, MIC₅₀ ve MIC₉₀ ile sırasıyla 0.312 mg / mL ve 0.625 mg / mL bulunmuştur. *A. baumannii*'nin test edilen tüm izolatları EGCG

tarafından öldürülmüştür. Zaman öldürme analizlerinde EGCG , polifenol ile 5 saat inkübasyondan sonra CFU / mL' de 3-log azalma ile sonuçlanmıştır . Yaygın olarak kullanılan topikal ajan % 5 mafenid asetat (Sulfamylon) ve EGCG arasındaki sinerji, bir klinik izolat için not edilmiş ve diğer üç izolat için kısmi sinerji kaydedilmiştir. Bu bulgular, EGCG'nin laboratuvar ortamlarında antibiyotiğe dirençli *A. baumannii* klinik suşlarına karşı etkili bir bakterisidal ajan olduğunu göstermiştir (Osterburg ve ark., 2009).

Epigallocatechin gallate (çay kateşinlerinin ana bileşeni olan EGCg) ile penisilin kombinasyonu, penisilinaz üreten *Staphylococcus aureus*'un 21 klinik izolatına karşı sinerjizm göstermiştir. Doğrudan peptidoglikana bağlanmanın yanı sıra, sinerjizmden EGCg tarafından penisilinaz aktivitesinin inhibisyonu sorumlu olmuştur. EGCg, penisilinaz aktivitesini doza bağımlı bir şekilde, 10 µg / ml'lik% 50'lik bir inhibitör konsantrasyonla inhibe etmiştir (Zhao ve ark., 2002).

Karbapenemler ve epigallokateşin gallat (EGCg; çay kateşinlerinin ana bileşeni) kombinasyonları, 24 klinik metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) izolatına karşı güçlü bir sinerji göstermiştir. 3.125, 6.25, 12.5 ve 25 µg / ml EGCg varlığında imipenem MİK'leri, sırasıyla MRSA izolatlarının % 8, 38, 46 ve 75'i için duyarlı sınır değerine (4 µg / ml) geri getirilmiştir. Panipenem veya meropenem ve EGCg kombinasyonları için de benzer sonuçlar gözlenmiştir. Bu nedenle kombinasyonlar, MRSA enfeksiyonuna karşı *in vivo* daha fazla değerlendirmeye değer olmuştur (Hu ve ark., 2002).

(-) - *epigallocatechin gallate* (EGCg) ve beta-laktamların kombine etkileri, 21 *Staphylococcus aureus*, 6 *Escherichia coli*, 3 *Klebsiella pneumoniae* ve 8 *Serratia marcescens* suşu dahil olmak üzere çeşitli beta-laktamaz üreten klinik izolatlarla karşı araştırılmıştır. 12.5 mikrog mL (-1) EGCg ile kombinasyon halinde penisilin,% 100 penisilinaz üreten *S. aureus*'a karşı en güçlü sinerjiyi göstermiştir. Bununla birlikte, sefotaksim veya imipenem daha yüksek konsantrasyonda EGCg ile kombinasyon halinde sadece 17 Gram negatif çubuğun 2'sine karşı hafif bir sinerji göstermiştir. Bununla birlikte, *S. aureus*'un penisilinaz üzerindeki etkisine benzer şekilde, EGCg ayrıca Gram-negatif çubuklardan ekstrakte edilmiş beta-laktamazları doğrudan inhibe etmiştir, böylece beta-laktamları inaktivasyondan

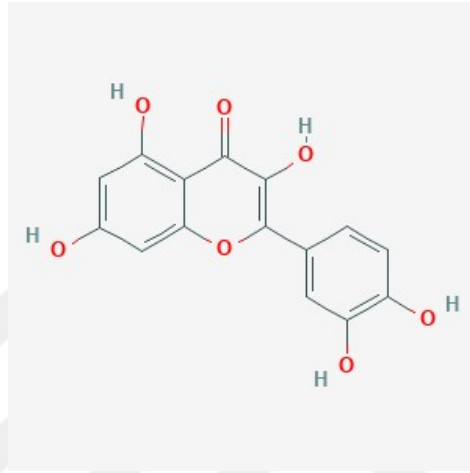
korumuştur. Kombinasyonların farklı beta-laktamaz üreten türler üzerindeki farklı etkilerinin, beta-laktamazların hücrel konumları ile ilişkili olduğu doğrulanmıştır. Sonuç olarak, penisilin ile EGCG kombinasyonu, in-vitro olarak penisilinaz üreten *S. aureus*'a karşı güçlü bir sinerji göstermiştir (Zhao ve ark., 2003).

Yapılan bir çalışmada, karbapenem ile ilişkili çoklu ilaca dirençli *A. baumannii*'de EGCG'nin antibakteriyel aktivitesini ve antibiyotiklerle olası sinerjizmini değerlendirmişlerdir. Potansiyel bir sinerjizm mekanizması da araştırılmıştır. Coğrafi olarak farklı alanlardan toplanan yetmiş *A. baumannii* klinik izolatu, minimum inhibitör konsantrasyonu (MIC) ve minimum EGCG bakterisidal konsantrasyonu (MBC) ile analiz edilmiştir. EGCG ile antibiyotikler arasındaki sinerjiyi incelemek için dama tahtası ve zaman öldürme testleri yapılmıştır. EGCG'nin bir çoklu ilaç efluks pompası inhibitörü (1- [1-naftilmetil] piperazin; NMP) ve β -laktamaz üretimi üzerindeki etkileri de *A. baumannii*'de incelenmiştir. *A. baumannii*'nin 70 klinik izolatından 63'ü, karbapenem ile ilişkili çoklu ilaç direnci olan karbapenemaz kodlayan genler taşıdığı belirlenmiştir. EGCG'nin MIC ve MBC seviyeleri, klinik izolatlar arasında sırasıyla 64 ila 512 $\mu\text{g} / \text{ml}$ ve 128 ila $\geq 1024 \mu\text{g} / \text{ml}$ arasında değişmiştir. MIC₉₀ ve MBC₈₆ seviyeler sırasıyla 256 $\mu\text{g} / \text{ml}$ ve 512 $\mu\text{g} / \text{ml}$ EGCG idi. EGCG'nin karbapenem de dahil olmak üzere test edilen tüm antibiyotiklerle kombinasyon halinde subinhibitör konsantrasyonu, tüm karbapenemle ilişkili çoklu ilaca dirençli izolatlar duyarlı hale getirmiştir (MİK'ler $\leq 1,0 \mu\text{g} / \text{ml}$). EGCG, NMP'nin etkisini önemli ölçüde arttırmıştır, ancak *A. baumannii*'de β -laktamaz üretimi ile ilgisi olmamıştır, bu da EGCG'nin dışa akış pompalarının inhibisyonu ile ilişkili olabileceğini düşündürmüştür (Lee ve ark., 2017).

Bir diğer çalışmada, EGCG ve kafeik asidin, β -laktamaz üreten *K. pneumoniae*'nin büyük bir popülasyonunda test edilen antibiyotiklerin aktivitesini sinerjize edebileceğini göstermiştir. Spektroflorimetrik deneyde, muamele edilmemiş kontrole kıyasla EGCG ile önceden muamele edilmiş *K. pneumoniae* hücrelerinde ~ 17 kat daha fazla siprofloksasin birikimi gözlenmiştir; bu, aktif ilaç akışını sınırlamak için siprofloksasini sinerjize etme yeteneğini göstermiştir. Ayrıca, GSBL üreten *K. pneumoniae*'nin elektron mikrofrafı, EGCG'nin biyofilm bozunmasına yönelik ileriye dönük etkinliğini açıkça göstermiştir (Dey ve ark., 2016).

1.9.4 Kuersetin

Kuersetin, 3-, 3'-, 4'-, 5- ve 7-pozisyonlarına yerleştirilmiş beş hidroksi grubuna sahip bir pentahidroksiflavondur. Sebzelede, meyvelede ve şarapta en bol bulunan flavonoidlelerden biridir. Antibakteriyel ajan, antioksidan, protein kinaz inhibitörü, antineoplastik ajan, EC 1.10.99.2 [ribosildihidronikotinamid dehidrojenaz (kinon)] inhibitörü, bitki metaboliti, fitoöstrojen, radikal temizleyici, şelatör ve Aurora kinaz inhibitörü olarak bilinmektedir (URL-4).



Şekil 17 Kuersetin iki boyutlu yapısı (URL-4)

Bu çalışmada, *S. pyogenes*'e karşı tek başına ve ayrıca seftazidim kullanılarak luteolin ve kuersetinin antibakteriyel aktivitesini, sinerjisini ve etki tarzlarını araştırılmıştır. Tüm *S. pyogenes*'e karşı seftazidim, luteolin ve kuersetinin MİK'leri sırasıyla 0.50, 128 ve 128 µg mL⁻¹ idi. Bu kombinasyonlar sitoplazmik membran (CM) geçirgenliğini artırmış, düzensiz hücre şekline, peptidoglikan ve CM hasarına neden olmuş ve nükleik asidi azaltmış, ancak bakteri hücrelerinde proteinleri artırmıştır. Enzim analizi, bu flavonoidlerin β-laktamaza karşı inhibe edici aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir. Özetle, bu çalışma, luteolin ve kuersetinin inhibe edici etki modunun üç mekanizmaile aracılık edilebileceğine dair kanıt sağlamıştır: (1) peptidoglikan sentezinin inhibe edilmesi, (2) CM geçirgenliğinin artırılması ve (3) nükleik asidin azaltılması, ancak proteinin artırılması (Siriwong ve ark., 2015).

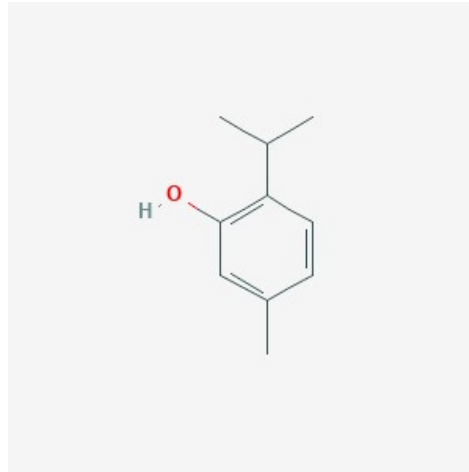
Bir diğer çalışmada, amoksisiline dirençli *Staphylococcus epidermidis*'e (ASS) karşı kuersetin ve amoksisilin antibakteriyel, sinerji ve etki şekilleri araştırılmıştır. Tüm ASS suşlarına karşı amoksisilin, penisilin, kuersetin ve kaempferol MİK'leri sırasıyla 16, 200, 256-384 ve > 1024 µg / mL idi. Sırasıyla FIC indeksi 0.50 ve <0.38 olan

amoksisilin artı kuersetin ve penisilin artı kaempferol suşlar üzerinde sinerjistik etkiler sergilemiştir. Kuersetin artı amoksisilin sinerjistik aktivitesi, canlı sayım ile doğrulanmıştır. Bu kombinasyon CM geçirgenliğini arttırmıştır, peptidoglikan ve sitoplazmik membran hasarına neden olmuştur, protein amid I ve II'yi arttırmıştır, ancak bakteri hücrelerinde yağ asidini düşürmüştür. Kuercetin, β -laktamaza karşı inhibe edici bir aktiviteye sahip olmuştur (Siriwong ve ark., 2016).

Flavonoidler luteolin (L) ve quercetin + luteolin'in (Q + L) metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) klinik izolatlarına ve *S. aureus*'a (ATCC 43300) karşı yaygın olarak kullanılan antibakteriyel ajanlarla birlikte etkilerini değerlendirmek için tasarlanan çalışmada, L ve Q + L'nin minimum inhibitör konsantrasyonları (MIC'ler) ve ayrıca antibiyotiklerle kombinasyon halinde flavonoidlerin MİK'leri belirlenmiş ve sonuçlar, antibiyotiklerle flavonoidlerin aktivitesinin arttırdığını göstermiştir (Usman Amin ve ark., 2016).

1.9.5 Timol

Timol, simenin doğal bir monoterpen türevidir olan bir fenoldür. Uçucu yağ bileşeni olarak rol oynar. Fenollerin bir üyesidir ve bir monoterpenoiddir (URL-5).



Şekil 18 Timolün iki boyutlu yapısı (URL-5)

Yapılan bir çalışmada karvakrol ve timolün, farklı karbapenemaz üreten Gram negatif basillere karşı biyofilm oluşumu ve antimikrobiyal aktivite üzerindeki etkilerini araştırılmıştır. Timol ve karvakrolün antimikrobiyal ve antibiyofilm etkisi karbapenemaz direnci ile ilgili farklı genleri barındıran suşlara karşı araştırılmıştır. Antimikrobiyal direnç, bir agar seyreltme yöntemi ile incelenmiş ve antibiyofilm etkisi

mikrotitre plaka testi ve kristal viyole ile boyama ile değerlendirilmiştir. Timol ve karvakrol, sırasıyla 200-1600 µg / mL ve 62-250 µg / mL arasında değişen antibakteriyel etkilere ve sırasıyla 125-500 ve 400-1600 µg / mL arasında antibiyofilm etkiye sahip olmuştur. Seul imipenemaz (SIM) üreten izolatlar en yüksek duyarlılığa sahipken, NDM (Yeni Delhi metalo-beta-laktamaz) üreten izolatlar bu bileşenlere karşı en düşük duyarlılığı göstermiştir. Bu çalışmanın bulguları, karbapenemaz üreten gram negatif bakteriyel enfeksiyonların kontrolünde karvakrol ve timolün potansiyel bir rolüne işaret etmiştir (Raei ve ark., 2017).

Carum copticum'un biyoaktif özütlerinin, MDR enterik bakterileri üreten genişletilmiş spektrumlu β-laktamaz (ESβL) karşı anti-biyofilm etkinlikleri araştırılmıştır. Gaz kromatografisi-kütle spektrometresi, *C. copticum* metanolik özütünde bu fitokimyasalın yüksek bir içeriğini (% 65.8) ortaya çıkardığından, timol ayrıca anti-biyofilm özellikleri açısından da test edilmiştir. Biyofilm inhibisyonu, mikrotitre plakalarda değerlendirildi ve ayrıca ışık, elektron ve konfokal lazer mikroskobu ile doğrulanmıştır. *C. copticum* ve timolün biyoaktif özütlerinin alt inhibitör konsantrasyonları, biyofilm gelişimini % 78.6 ila % 83.9 oranında azaltarak önemli ölçüde önlemiştir. Mikroskopik analiz, GSBL üreten MDR enterik bakteriler tarafından yapılan biyofilmlerin, biyoaktif özütlere ve timole maruz kaldıktan sonra zayıflatılmış bir yapıya, dağınık mikro kolonilere ve azalmış hücre yoğunluğuna ve kalınlığına sahip olduğunu ortaya koymuştur (Maheshwari ve ark., 2019).

Bir diğer çalışmada, antibakteriyel olmayan doğal test edilmiş fitokimyasal konsantrasyonlarının (geçirgenleştiriciler ve doğal beta laktamaz inhibitörleri) varlığında antibiyotik duyarlılığı disk difüzyon ve duyarlılık testleri ile gerçekleştirilmiştir. Timol ve gallik asit, en güçlü geçirgenleştiricilerdi ve antibiyotiklerin dış membrandan geçişini kolaylaştırmıştır; LPS salımına neden olma, bakterileri SDS ve Triton X-100'e duyarlı hale getirme yetenekleriyle kanıtlanmıştır. Geçirgenleştiriciler ve doğal beta laktamaz inhibitörlerinin (kuersetin ve epigallokateşin gallat) antibiyotiklerle kombinasyonu, tek başına beta laktamaz inhibitörleri ile antibiyotik tedavisine kıyasla dirençli izolatların daha fazla duyarlılığını indüklemiştir. Test edilen izolatların geçirgenlik bariyeri, beta laktamaz aktivitesi ve dış membran protein profilleri üzerinde 24.4 Gy in vitro gama ışınlanması ile belirgin etkiler tespit edilmiştir (Farrag ve ark., 2019).

1.10 Moleküler Yerleştirme

Bilgisayar destekli ilaç tasarımı ve keşfi (CADD) alanı, son birkaç yılda birçok başarıya imza atan hızla büyüyen bir alan olmuştur. Akademiklerin yanı sıra birçok dev ilaç şirketi CADD için lead keşfini benimsemiştir (Chaudhary ve Mishra, 2016).

İnsan genom projesinin tamamlanması, ilaç keşfi için artan sayıda yeni terapötik hedeflerle sonuçlanmıştır. Aynı zamanda, yüksek verimli protein saflaştırma, kristalografi ve nükleer manyetik rezonans spektroskopisi teknikleri geliştirilmiş ve proteinlerin ve protein-ligand komplekslerinin birçok yapısal detayına katkıda bulunmuştur. Bu ilerlemeler, hesaplama stratejilerinin, günümüzde ilaç keşfinin tüm yönlerine nüfuz etmesine olanak tanımıştır. Geleneksel deneysel yüksek verimli tarama (HTS) ile karşılaştırıldığında sanal tarama VS, daha doğrudan ve rasyonel bir ilaç keşfi yaklaşımıdır ve düşük maliyetli ve etkili tarama avantajına sahip olduğu belirtilmiştir. VS, ligand bazlı ve yapı bazlı yöntemler olarak sınıflandırılmıştır. Bir dizi aktif ligand molekülü bilindiğinde ve hedefler için yapısal bilgi çok az olduğunda veya hiç olmadığında, farmakofor modelleme ve kantitatif yapı aktivite ilişkisi (QSAR) yöntemleri gibi ligand bazlı yöntemler kullanılmıştır. Yapı bazlı ilaç tasarımına gelince, moleküler yerleştirme 1980'lerin başından beri yaygın olarak kullanılan en yaygın yöntemlerden olmuştur. Farmasötik araştırmalarda yerleştirmeyi giderek daha önemli bir araç haline getiren moleküler yerleştirme çalışmalarını gerçekleştirmek için farklı algoritmalara dayalı programlar geliştirilmiştir. Geçmişte yerleştirme üzerine çeşitli incelemeler yayınlanmıştır ve programların göreceli performansını değerlendirmek için birçok karşılaştırma çalışması yapılmıştır. Moleküler yerleştirme yaklaşımı, küçük bir molekül ile bir protein arasındaki atomik seviyedeki etkileşimi modellemek için kullanılabilir; bu, hedef proteinlerin bağlanma bölgesindeki küçük moleküllerin davranışını karakterize etmemize ve temel biyokimyasal süreçleri aydınlatılmasına izin vermiştir. Kenetlenme işlemi iki temel adımı içermiştir: ligand konformasyonunun tahmini ve ayrıca bu bölgelerdeki konumu ve oryantasyonu ve bağlanma afinitesinin değerlendirilmesi. Kenetlenme işlemlerinden önce bağlama yerinin konumunun bilinmesi yavaş yavaş verimliliğini önemli ölçüde artırmıştır. Çoğu durumda, bağlanma sahası, ligandların içine yerleştirilmesinden önce bilinmiştir. Ayrıca, hedef proteinin benzer bir işlevi paylaşan bir protein ailesi ile veya diğer ligandlarla birlikte kristalize edilmiş proteinlerle

karşılaştırılmasıyla bağlanma bölgeleri hakkında bilgi elde edilmiştir. Bağlanma bölgeleri ör. GRID, POCKET, SurfNet, PASS ve MMC, proteinler içindeki varsayılan aktif bölgeleri tanımlamak için kullanılmıştır. Bağlama bölgesi hakkında herhangi bir varsayım olmaksızın yerleştirmeye kör yerleştirme denir. Ligand-reseptör bağlanma mekanizması için erken açıklama, ligandın reseptöre kilit ve anahtar gibi oturduğu, Fischer tarafından önerilen kilit ve anahtar teorisidir. En eski bildirilen yerleştirme yöntemleri bu teoriye dayanıyordu ve hem ligand hem de reseptör buna göre sert cisimler olarak muamele edilmiştir. Daha sonra Koshland tarafından yaratılan "uyarılmış uyum" teorisi kilit ve anahtar teorisini bir adım daha ileri götürerek, proteinin aktif bölgesinin ligandlar proteinle etkileşime girdikçe ligandlarla etkileşimlerle sürekli olarak yeniden şekillendirildiğini belirtmiştir. Bu teori, ligand ve reseptörün kenetlenme sırasında esnek olarak ele alınması gerektiğini ileri sürmüştür. Sonuç olarak, bağlanma olaylarını sert muameleden daha doğru bir şekilde tanımlayabilmişlerdir. Bilgisayar kaynaklarının sınırlandırılması düşünüldüğünde, uzun süredir esnek bir ligand ve sert bir reseptör ile yerleştirme gerçekleştirilmiştir ve kullanımda en popüler yöntem olmaya devam etmiştir. Son zamanlarda, reseptörün esnekliği ile başa çıkmak için birçok çaba gösterilmiştir, ancak esnek reseptör yerleştirme, özellikle reseptörlerde omurga esnekliği, mevcut yerleştirme yöntemleri için hala büyük bir zorluk teşkil etmiştir. Esnek reseptör yerleştirme sorunlarına potansiyel bir çözümlerden biri olarak Yerel Taşıma Monte Carlo (LMMC) yaklaşımı önerilmiştir. Moleküler Kenetlenme, stabil bir kompleks oluşturmak için ligandın reseptöre (Protein) karşı tercih edilen yönünü öngören bir yöntemdir. Tercih edilen oryantasyon muhtemelen skorlama fonksiyonlarını kullanarak ligand ve protein arasındaki bağlantı veya bağlanma afinitesini tahmin etmek için kullanılmıştır. Kenetleme, ilacın afinitesini ve aktivitesini tahmin etmek için ilaç adaylarının protein hedeflerine karşı bağlanma yönünü tahmin etmek için sıklıkla uygulanmıştır (Meng ve ark., 2011).

Bilgisayar destekli ilaç tasarımı ve keşfinin sağladığı avantajlar aşağıda sıralanmıştır:

- a) İlaç keşfi ve geliştirme sürecini kolaylaştırmak için hesaplama yeteneğinin kullanılması
- b) Yeni ilaçları keşfetmek ve optimize etmek için ligandlar ve/veya hedefler hakkında kimyasal ve biyolojik bilginin avantajı

- c) İstenmeyen özelliklere sahip kimyasal bileşiklerden kurtulmak için siliko filtrelerin tasarlanması (zayıf aktivite ve / veya zayıf Emilim, Dağıtım, Metabolizma, Boşaltım ve Toksikite (ADMET)) ve en umut verici adayları seçmek
- d) Yeni ilaç hedeflerinin tanımlanması ve protein veri bankası (PDB) www.pdb.org gibi hedef protein yapılarının veri tabanı aracılığıyla alınması.
- e) Veritabanlarını keşfederek çeşitli kimyasal yapı iskelelerinden yeni ilaç adaylarını bulmak için sanal tarama uygulanması

Moleküler yerleştirme iki bölüme ayrılmıştır.

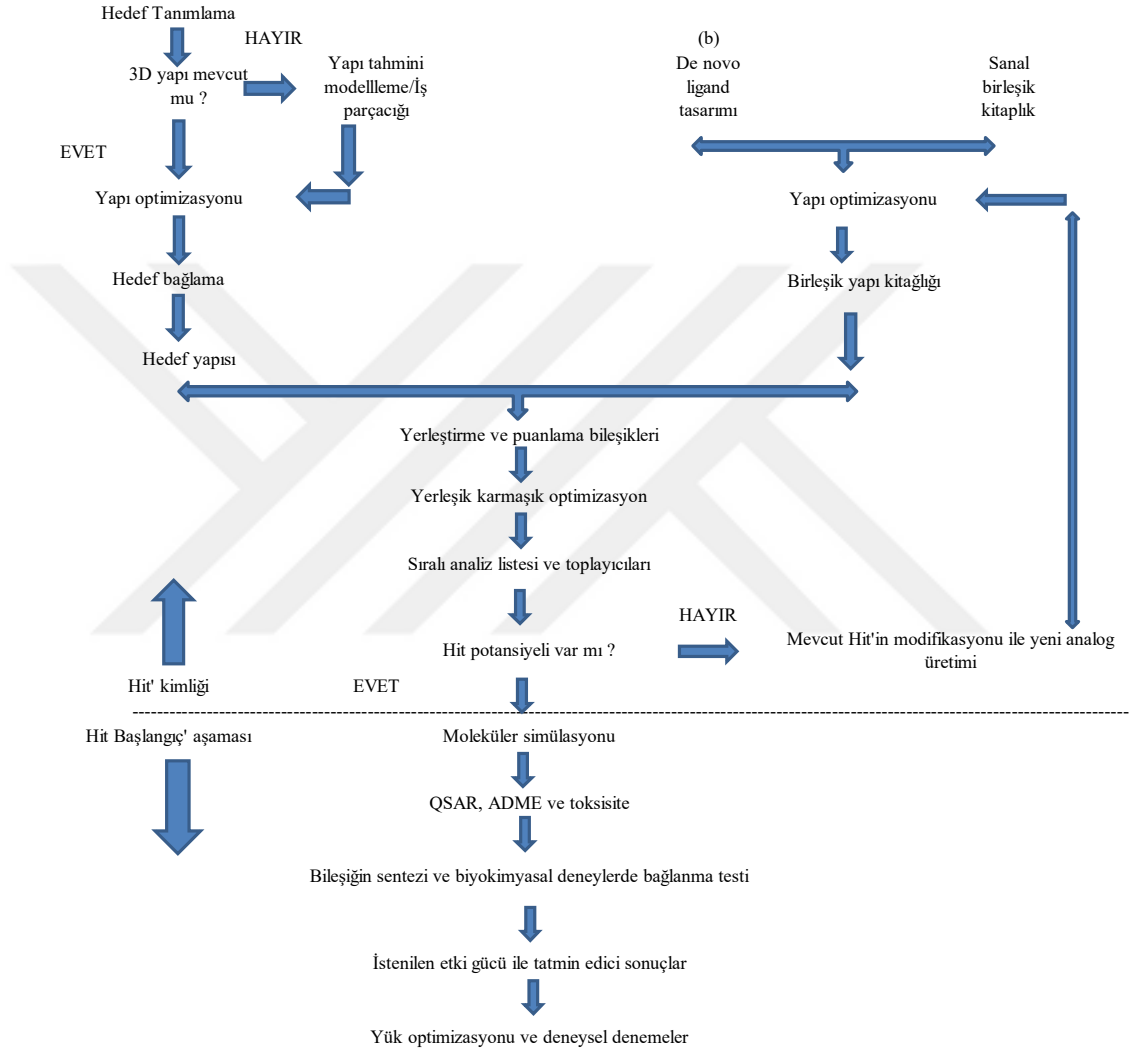
1. Algoritma, bağlanma modlarını belirleyen deney yöntemiyle kabul edilen optimum sayıda konfigürasyon oluşturmalıdır. Aşağıdakiler, Nokta tamamlayıcı, Monte Carlo, Parça tabanlı, Genetik algoritmalar, Sistemik aramalar, Mesafe geometrisi gibi yerleştirme analizi için uygulanan çeşitli algoritmalarıdır.
- 2. Puanlama işlevi, ligandların bir başkasıyla orantılı konumlandırılmasını sıralamak için bir mod sağlamıştır. İdeal olarak, skor doğrudan protein için ligandın bağlanma afinitesine karşılık gelmelidir, böylece en iyi skorlama ligandları en iyi bağlayıcılar olmuştur. Puanlama işlevleri deneysel, bilgi tabanlı veya moleküler mekanik tabanlı olmuştur. Puanlama aslında yerleştirme ve ilaç tasarımına uygulanabilen üç farklı ifadeden derlenmiştir:
 - Yerleştirme aramasına göre oluşturulan yapılandırmalar sıralaması
 - Proteine karşı farklı ligandların derecelendirilmesi (sanal ekran)
 - Bağlanma afiniteleri (seçicilik ve özgüllük) ile farklı proteinlere karşı sıralama yapan bir veya daha fazla ligand

Aşağıdakiler öncelikle yerleştirme için uygulanan yöntemlerdir:

1. Kilit ve Anahtar \ Sert Yerleştirme-Hem alıcı hem de ligand sabit tutulur ve kenetlenme gerçekleştirilmiştir.
2. Uyarılmış uyum \ Esnek Kenetlenme-İçeride uyarılmış uyum hem ligand hem de reseptörün konformasyonel olarak esnektir. Her dönüşte yüzey hücresi doluluğu ve enerjisi hesaplanır; daha sonra en uygun poz seçilmiştir.

Moleküler yerleştirme mekaniğinde yer alan başlıca adımlar;

Moleküler Yerleştirme, iki molekül arasındaki etkileşimin in silico'da çalışıldığı süreçtir. Bu süreçte Makromolekül, protein reseptörü olmuştur. Mikromolekül, bir inhibitör olarak hareket edebilen ligand molekülüdür. Bu nedenle, Yerleştirme işlemi aşağıdaki adımları içermiştir (Chaudhary ve Mishra, 2016).



Şekil 19 Bilgisayar destekli ilaç tasarımı ve keşfi (CADD) (Chaudhary ve Mishra, 2016)

Adım I - proteinin hazırlanması: Proteinin üç boyutlu yapısı Protein veri bankasından (PDB) alınmalı; daha sonra alınan yapı önceden işlenmelidir. Bu, su moleküllerinin boşluktan uzaklaştırılmasını, yükleri stabilize etmesini, eksik kalıntıları doldurmasını, yan zincirleri oluşturmasını vb. içermektedir.

Adım II - aktif bölge tahmini: Protein hazırlanmasından sonra, proteinin aktif bölgesi tahmin edilmelidir. Reseptör çok sayıda aktif bölgeye sahip olabilir, yalnızca bunlardan biri seçilmelidir. Su molekülleri ve hetero atomlar varsa uzaklaştırılmalıdır.

Adım III - ligandın hazırlanması: Ligandlar, ZINC, PubChem gibi çeşitli veritabanlarından alınabilir veya Chem taslak aracı uygulanarak çizilebilir. Ligandı seçerken, LIPINSKY'nin 5 Kuralı kullanılmalıdır. Lipinski 5 kuralı, ilaç olmayan ve ilaç benzeri adayları ayırt etmeye yardımcı olur. İlgili kurallardan 2 veya daha fazlasına uyan moleküller için ilaç benzerliğinden dolayı yüksek başarı veya başarısızlık şansı vaat edilmiştir. ligand seçimi için Lipinski 5 kuralı:

1. Beşten az hidrojen bağı vericisi
2. Ondan az hidrojen bağı alıcısı
3. 500 Da'dan küçük moleküler kütle
4. Yüksek lipofiliklik (5'in üzerinde olmayan LogP olarak ifade edilir)
5. Molar kırılma 40-130 arasında olmalıdır.

Adım IV - yerleştirme: Ligand, proteine karşı kenetlenir ve etkileşimler analiz edilir. Puanlama fonksiyonu, en iyi yerleştirilmiş ligand kompleksi için puan verir.

Moleküler Yerleştirme yazılımı

Son yirmi yıl boyunca çeşitli yerleştirme programları formüle edilmiştir. Tablo (5), halihazırda mevcut olan yerleştirme araçlarının onaylanmış platformları, lisans koşulları, algoritmaları ve puanlama işlevleri gibi temel özellikleri özetlemiştir. Tablo (6), kodlarına göre mevcut protein ligand yerleştirme araçlarının artılarını ve eksilerini özetlemiştir.

Tablo 5. Mevcut protein ligand yerleştirme araçları için temel özellikleri (Chaudhary ve Mishra, 2016)

Giriş	Program Referans	Tasarımcı /şirket	Lisans koşulları	Desteklenen platformlar	Yerleştirme Yaklaşımı	Puanlama işlevi
1	Auto Dock [5]	D. S. Goodsell and A. J. Olson The Scripps Research Institute	Akademik için ücretsiz kullanım	Unix, Mac OSX, Linux, SGI	Genetik Algoritma Lamarckian genetik algoritma Benzetimli tavlama	Bu Doküman (kuvvet alanı yöntemleri)
2	DOCK [6]	I. Kuntz University of California, San Francisco	Akademik için ücretsiz kullanım	Unix, Linux, Sun, IBM AIX, Mac OSX, Windows	Şekil uydurma (küre setleri)	Daha hızlı, GB / SA çözme Puanlama, diğerleri
3	Flex X [7]	T. Lengauer and M. Rarey Bio SolveIT	Ticari Ücretsiz değerlendirme (6 hafta)	Unix, Linux, SGI, Sun Windows	Artımlı İnşaat	FlexXScore, PLP, Ekran Puanı, İlaç puanı Ekran Puanı, PLP, Gauss şekil puanı, Kullanıcı tanımlı Kayma Puanı, Glide Comp Altın Skor, Chem Score kullanıcı tanımlı Lig Score, PLP, PMF
4	FRED [8]	Open Eye Scientific Software	Akademik için ücretsiz kullanım	Unix, Linux, SGI, Mac OSX, IBM AIX, Windows	Şekil uydurma (Gauss)	
5	Glide [9]	Schrödinger Inc	Ticari	Unix, Linux, SGI, IBM AIX	Monte Carlo Örnekleme	
6	GOLD [10]	Cambridge Crystallographic Data Centre	Ticari Ücretsiz değerlendirme (2 ay)	Linux, SGI, Sun, IBM, Windows	Genetik Algoritma	
7	LigandFit [11]	Accelrys Inc	Ticari	Linux, SGI, IBM AIX	Monte Carlo Örnekleme	

Tablo 6 Yerleştirme araçlarının artıları ve eksileri (Chaudhary ve Mishra, 2016)

Program	Artıları	Eksileri
DOCK	Küçük bağlama bölgeleri Açılmış boşluklar	Esnek ligandlar Son derece polar ligandlar
FLEXX	Küçük hidrofobik ligandlar Küçük bağlama siteleri	Çok esnek ligandlar
FRED	Küçük hidrofobik ligandlar Büyük bağlama siteleri Esnek ligandlar	Küçük polar gömülü ligandlar
GLIDE	Küçük hidrofobik ligandlar Yüksek hız	Çok kutuplu ligand sıralaması Yavaş hız
GOLD	Küçük bağlama siteleri Küçük hidrofobik ligandlar	Çok polar ligandların sıralanması Büyük boşluklarda ligandların derecelendirilmesi
SLIDE	Yan zincir esnekliği	Giriş koordinatlarına duyarlılık
SURFLEX	Büyük ve açık boşluklar Küçük bağlama siteleri	Büyük ligandlar için düşük hız
QXP	Çok esnek ligandlar Bilinen ciltleme modlarını optimize etme	Giriş koordinatlarına duyarlılık

Moleküler Yerleştirme Uygulamaları aşağıda sıralanmıştır:

1. Hit Tanımlama (Sanal Tarama)
2. Biyoremediasyon
3. K_A 'nın tahmini (Biyolojik aktivite?)
4. Bağlama bölgesi tahmini (Gizli yerleştirme)
5. Proteinin yalnız bırakılması
6. Protein - Protein / Nükleik asit etkileşimleri
7. Protein hedefleri için öncü yapıların aranması
8. Yapı Çalışmaları – işlev
9. Enzimatik reaksiyonların mekanizmaları
10. Protein mühendisliği (Chaudhary ve Mishra, 2016).

2 MATERYAL VE YÖNTEM

2.1 Materyal

Gliserol (Sigma), metanol (Sigma), etanol (Sigma), tripton (LABM), maya ekstraktı (Canda), NaCl (Sigma) kimyasalları kullanıldı. Ayrıca mikroorganizmaların üretmek için LB besiyeri ve Mueller Hinton Broth (Merck) besiyeri kullanıldı. Sıvı mikrodilüsyon ve damatahtası yöntemlerinde 96 kuyucuklu U tabanlı mikropalakalar kullanıldı.

Çalışmada kullanılan Luria-Bertani (LB) Besiyeri hazırlanışı;

1000 ml için:

- 10 gr Tripton
- 5 gr Maya Ekstraktı
- 5 gr NaCl 1000 ml dH₂O çözümlenerek hazırlandı.

2.2 Yöntem

2.2.1 *Acinetobacter baumannii* ve *Klebsiella pneumoniae* İzolatlarının Temini ve Antibiyotik Duyarlılık Oranlarının Belirlenmesi

İzolatlar Trabzon Fatih Devlet Hastanesi'nde tedavi gören hastalardan izole edilmiştir. İzolatın tanımlanması ve antibiyotik duyarlılığının belirlenmesi için VITEK 2 (bioMer-ieux, Craponne, France) sistemi kullanılmıştır. Antibiyotik duyarlılıklarının değerlendirilmesi için Eucast (Eucast Version 11.0) kullanılmıştır. İzolatların tanımlanması ve antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesi Trabzon Fatih Devlet Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarında yapılmıştır.

2.2.2 *Acinetobacter baumannii* ve *Klebsiella pneumoniae* İzolatlarının Gliserol Stoğunun Yapılması ve Total DNA İzolasyonu

İzolatlardan seçilen birer koloni 4 ml antibiyotik kullanılmadan hazırlanan Luria-Bertani (LB) besiyerine ekilerek gece boyu 37°C'de çalkalamalı inkübatörde üretildi

ve gece kültürü elde edildi. Gece kültürünün 800 µl'si alınıp üzerine 200 µl gliserol eklenerek %20'lik gliserol stok hazırlandı. *Acinetobacter baumannii* izolatında OXA-23 benzeri genin varlığı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ile yapılan başka bir çalışmada belirlenmiştir.

2.2.3 Bitki Metanol Özütlerinin Hazırlanması

Kekik, ısırgan, beyaz çay, çubuk tarçın ve kuşburnu bitki örnekleri aktardan temin edildi ve belirli miktarlarda tartıldı (Tablo 7).

Tablo 7. Bitkilerin tartılan miktarları

Bitki	Tartılan Miktar
Kekik	5.143 gr
Isırgan	5 gr
Beyaz çay	5.1 gr
Çubuk tarçın	5.0875 gr
Kuşburnu	5.0085 gr

Tartılan bitki örnekleri erlenlere konuldu ve üzerlerine yaklaşık 50'şer ml etanol eklendi. Erlenlerin kapakları kapatıldı. Çalkalayıcıda 24 saat özütlemeye tabi tutuldu. 24 saat sonunda filtre kağıdı kullanılarak mezürler içerisinde özütler süzüldü.

2.2.4 Bitki Metanol Özütlerinin Minimum İnhibisyon Konsantrasyonlarının Belirlenmesi

Bitki metanol özütlerinin *Acinetobacter baumannii* ve *Klebsiella pneumoniae* izolatlarına karşı minimum inhibisyon konsantrasyonlarını belirlemek için sıvı mikrodilüsyon yöntemi kullanıldı. Deneyle 96 kuyucuklu plakalar kullanılarak üçlü tekrar halinde yapıldı. 12. kuyucuk hariç her kuyucuğa 50 ul MHB konuldu. 12. kuyucuğa 100 ul MHB eklenmiş ve sterilite kontrolü olarak değerlendirildi. Ayrıca, 11. kuyucuk büyüme (50 ul MHB+50 ul bakteri) kontrolü olarak hazırlandı. İlk kuyucuğa özütlerin ilk konsantrasyonundan 50 µl alınarak 10. kuyucuğa kadar seri dilüsyon (1/2) yapıldı. Tüm suşlar 37°C'de MHB (Mueller Hinton Broth) besiyerinde üretildi. Kültürler 0.5 McFarland standartına göre ayarlandıktan sonra 12. kuyucuk hariç tüm kuyucuklara 50 µl inokülüm (5×10^5 CFU ml⁻¹) yapıldı. Pozitif kontrol olarak ampisilin, imipenem ve seftazidim kullanıldı. Plakalar 37°C'de inkübe edildi ve

üremenin gözlenmediği minimum konsantrasyon MİK değeri olarak belirlendi (Chuah ve ark., 2014).

2.2.5 Bitki Metanol Özütü/Antibiyotik Kombinasyonlarının *in vitro* Etkinliğinin Belirlenmesi

Antibiyotik kombinasyonlarının *in vitro* etkisini ölçmede Checkerboard (dama tahtası) yöntemi sık kullanılmaktadır. Yöntemde 96 kuyucuklu ve U-tabanlı steril mikropleytler kullanıldı ve bakteri suşu ve buna karşı denenecek kombinasyon için bir adet mikropleyt paneli kullanıldı. Antibiyotik ve bitki özütü stok solüsyonları hazırlandı ve bu stok solüsyonlardan tüplere çift kat seri dilüsyonlar yapıldı. Tüplere kombinasyonda denenecek konsantrasyonların iki katı olacak şekilde dilüsyon yapıldı. Antibiyotik ve bitki özütü solüsyonlarından kuyucuklara 50'şer µL aktarıldı. Her mikropleyt panelinde A2- A12 ve B1-H1 kuyucukları tek başına antibiyotiklerin ve bitki özütlerinin MİK'lerinin belirlenmesi için kullanıldı. Diğer kuyucuklar antibiyotik/bitki özütü kombinasyonlarını içerecektir. Antibiyotik ve bitki özütünün MİK'lerinin 4 katı konsantrasyondan başlanarak dilüsyon yapıldı. Suşların gece kültürleri Mueller Hinton Broth'da hazırlandı. İnokulum için 0.5 McFarland bulanıklığında (1.5×10^8 CFU/mL) bakteri süspansiyonu hazırlandı ve 1:30 oranında dilüe edilip buradan sterilite kontrol kuyucuğu dışındaki her kuyucuğa 10 µL inokülasyon yapıldı. A1 kuyucuğuna antibiyotik ve bitki özütü eklenmedi ve üreme kontrolü olarak değerlendirildi. H12 kuyucuğuna yalnız besiyeri eklendi ve besiyeri sterilite kontrolü olarak kullanıldı. Mikropleytler 37⁰C'de 16-24 saat inkübasyona bırakıldı. İnübasyondan sonda rezasürin solüsyonundan (%0.015) her kuyucuğa 20'şer µL eklendi ve 4 saat 37⁰C'de inkübasyona bırakıldı. İnübasyondan sonda renk değişimlerine bakılarak kuyucuklarda üreme olup olmadığına karar verildi. Rezasürin solüsyonu mavidir ve mavi renk pembeye dönüşürse bu üreme olduğu anlamına gelmektedir (Bal, 1999).

2.2.6 Simülasyon

OXA-23'ün üç boyutlu kristal yapısı PDB Protein veri tabanından indirildi. X-ray metodu ile tanımlanmış 2.14 Å çözünürlüğe sahip yapıya PDB erişim kodu 4JF4 ile ulaşıldı (Smith ve ark., 2013). 3D yapı PyMOL (Schrodinger, 2010) görüntüleyici

kullanılarak OXA-23'bağlı meropenem silindi. Ayrıca enzim homodimer yapıda olduğu için B alt yapı zinciri silindi. Moleküler yanıştırma deneyleri öncesinde yapıdaki kötü etkileşimleri ve çarpışmaları minimize etmek için moleküler dinamik yöntemler ile simule edildi. Amber14 Biomoleküler Simülasyon (Case ve ark., 2014) paket programı kullanılarak moleküler dinamik yöntemler ile simule edildi. Amber yardımcı aracı olan tLeap (Case ve ark., 2014) ile komplekslerin topoloji ve koordinat dosyaları ff14SB (Maier ve ark., 2015) kuvvet alanı ve GAFF (Wang ve ark., 2004) kullanılarak tanımlandı.

OXA-23 moleküler dinamik yöntemler ile simülasyonunda 3 adım takip edilecektir:

1) Enerji minimizasyonu; Sistemdeki kötü etkileşimlerin ortadan kaldırılması ve sterik çarpışmaların minimize edilmesi için ilk 10.000 döngüsü stepest descent algoritması (Averill ve Painter, 1992) ile kalan 90.000 döngüsü conjugate gradient algoritması (Liu ve Nocedal, 1989) ile enerji minimizasyonu yapıldı.

2) Sistemin ısıtılması ve ilk hızlarının verilmesi; Sistemdeki atomlara ilk hızının verilmesi için sabit hacimde Langevin Termostatı (Martyna ve ark., 1992) kullanılarak (çarpışma frekansı $\gamma = 10.0 \text{ ps}^{-1}$) 200 ps'de 0'dan 300 K'e kadar ısıtılacaktır. SHAKE modu kullanılarak tüm hidrojen içeren bağlara kısıtlama uygulanmıştır ve ısıtma boyunca bu kuvvetler hesaplanmadı.

3) Sistemin 100 ns boyunca simülasyonu; Son aşama olarak sabit sıcaklık ve basınçta 30 ns boyunca sistem simule edilecektir ve simülasyon boyunca sıcaklık Berendsen Termostat ile kontrol edildi.

2.2.7 Moleküler yanıştırma

MD simülasyon metodu ile 30 ns boyunca simule edilen OXA23 termodinamik olarak dengeye ulaştıktan sonra ligandlar enzimin aktif bölgesine Autodock 4.2 (Morris ve ark., 2009) ile yanıştırıldı. AutoDock, bir otomatik yanıştırma aracıdır ve substratlar veya ilaç adayları gibi küçük moleküllerin bilinen 3D yapıdaki bir reseptöre nasıl bağlandığını tahmin etmek için tasarlanmıştır. AutoDock 4 iki ana programdan oluşur: autogrid atomları haritalar ve autodock ise ligandın hedef proteinde hedef bölgeye yanıştırılmasını sağlar.

İzlenecek yöntem:

1- Ligandların ve reseptöre molekülül hazırlanması ve Moleküllere hidrojenlerin eklenmesi: Ligandlar Avibaktam, Epigallokateşin, Sinnamealdehit, Timol, Karvakrol, Kuersetin ve İmipenem 3D yapıları PubChem veritabanından sdf formatında indirilmiştir. Ligandların dosya formatları Autodock 4.2 tanımladığı dosya formatı olan PDBQT formatına dönüştürülmüştür. Tam bir PDBQT dosyası kısmi yükler ve AutoDock 4 atom tür bilgisine sahip olmalıdır. Gasteiger PEOE (Yörünge Elektronegatifliklerinin Kısmi Eşitlemesi) kısmi yüklerini ve birleşik atom gösterimini (yalnızca polar hidrojenler) içermektedir. İlk önce molekülün tamamen hidrojen modeli için kısmi yükler hesaplanarak birleşik bir atom gösterimi elde edilebilir. Daha sonra, kendisine bağlı herhangi bir hidrojene sahip olan her polar olmayan ağır atom için, hidrojenin kısmi yükü bağlı ağır atoma eklenmelidir, sonra bu hidrojen atomu silinebilir. Ligandlara ve proteine hidrojenlerin eklenmesi gerekir. Fakat non-polar hidrojenler silinmektedir.

2- Bağlanma bölgesinin haritalanması (Autogrid)

3- Moleküler yavaşıtma (Autodock): Her bir kompleks için, AutoDock4 ile varsayılan parametrelerle Lamarckian genetik algoritması (Morris ve ark., 1998) kullanılarak on farklı pozisyonda moleküler yavaşıtma deneyi yapılmıştır. Her deney için maksimum 25 milyon enerji değerlendirmesi uygulandı ve sonuçlar 2.0 Å toleransı kullanılarak kümelendirilmiştir.

4- Sonuçların analizi: ligandlar bağlanma pozisyonları bağlanma enerjilerine göre sıralanarak komplekslerin 3D boyutlu yapıları PDB formatında kaydedilmiştir.

3 BULGULAR

3.1 İzolatların Antibiyotik Duyarlılıkları

İzolatlara ait antisiyotik duyarlılık sonuçları Tablo 8’de verildi.

Tablo 8 İzolatlara ait antibiyotik duyarlılık sonuçları

R: Direnç; IE: yetersiz kanıt; S: duyarlı; (-) belirlenmemiş

<i>Klebsiella pneumoniae</i>			<i>Acinetobacter baumannii</i>		
Ampisilin	=>32	R	Piperasilin	=>128	IE
Amoksisilin/Klavulanik asit	=>32	R	Piperasilin/tazobaktam	=>128	IE
Piperasilin/tazobaktam	=>128	R	Seftazidim	(-)	
Sefuroksim	=>64	R	Sefepim	(-)	
Sefuroksim/aksetil	=>64	R	Aztreonam	(-)	
Sefiksim	=>4	R	İmipenem	=>16	R
Seftazidim	=>64	R	Meropenem	=>16	R
Seftriakson	=>64	R	Amikasin	=>64	R
Ertapenem	=>8	R	Gentamisin	=>16	R
İmipenem	=>16	R	Netilmisin	=>32	IE
Meropenem	=>16	R	Tobramisin	=>16	R
Amikasin	=>64	R	Siprofloksasin	=>4	R
Gentamisin	4	R	Levofloksasin	=>8	R
Siprofloksasin	=>4	R	Tetrasiklin	(-)	
Fosfomisin	=>256	R	Tigesiklin	=>0,5	IE
Trimetoprim/sulfametaksazol	=>320	R	Kolistin	=>0,5	S
			Trimetoprim/sulfametaksazol	=>20	R

3.2 Bitki Metanol Özütlerinin Konsantrasyonlarının Belirlenmesi

Çalkalayıcıda 24 saat özütlemeye tabi tutulup, filtre kağıdı kullanılarak mezürler içerisinde özütler süzildükten sonar özütlerin konsantrasyonları Tablo 9’daki gibi belirlendi.

Tablo 9 Elde edilen özütlerin konsantrasyonları

Kekik	0.245 gr/ml
Isırgan	0.156 gr/ml
Beyaz çay	0.255 gr/ml
Çubuk tarçın	0.242 gr/ml
Kuşburnu	0.313 gr/ml

3.3 Bitki Metanol Özütlelerinin Minimum İnhibisyon Konsantrasyonları

Bitki metanol özütlelerinin *Acinetobacter baumannii* ve *Klebsiella pneumoniae* izolatlarına karşı minimum inhibisyon konsantrasyonlarını belirlemek için sıvı mikrodilüsyon yöntemi kullanılarak elde edilen sonuçlar Tablo 10’da verildi.

Tablo 10 Bitki özütü ve antibiyotiklerin *Acinetobacter baumannii* ve *Klebsiella pneumoniae* izolatlarına karşı mik değerleri

	<i>Acinetobacter baumannii</i> (A73)	<i>Klebsiella pneumoniae</i> (K8)
Isırgan	-	-
Kuşburnu	0.07825 gr/ml	-
Çubuk tarçın	0.015125 gr/ml	0.0605 gr/ml
Kekik	0.030625 gr/ml	-
Beyaz çay	0.00796875 gr/ml	-
İmipenem	50 µg/ml	25 µg/ml
Seftazidim	-	-
Ampisilin	-	11.40625 µg/ml

3.4 Bitki Metanol Özütü/Antibiyotik Kombinasyonlarının *in vitro* Etkinlikleri

Bitki methanol özütlelerinin imipenem ile kombinasyonlarının *in vitro* etkisini ölçmede Checkerboard (dama tahtası) yöntemi kullanıldı. İmipenem, tarçın, beyaz çay, kekik ve kuşburnu metalol özütlelerinin dama tahtası yönteminde kullanılan konsantrasyonları Tablo 11 , Tablo 12, Tablo 13, Tablo 14 ve Tablo 15’te verildi. Dama tahtası yöntemi sonucunda mikroplaklarda ürümenin görüldüğü ve görülmediği kuyucuklar Şekil 20, Şekil 21, Şekil 22, Şekil 23 ve Şekil 24’te verildi. Antibiyotik bitki methanol özütü kombinasyonlarının FİK indeksleri Şekil 26, Şekil 27, Şekil 28, Şekil 29 ve Şekil 30’a göre hesaplandı.

Tablo 11 İmipenem ve tarçın metanol özütünün dama tahtası yönteminde kullanılan konsantrasyonları (K8)

İmipenem (µg/ml)		Tarçın metanol özütü (mg/ml)	
A1	25	B1	0,121
A2	12,5	B2	0,0605
A3	6,25	B3	0,03025
A4	3,125	B4	0,015125
A5	1,5625	B5	0,00756
A6	0,78125	B6	0,0038
A7	0,390625	B7	0,0019
		B8	0,00095
		B9	0,00047
		B10	0,00024
		B11	0,00012

Tablo 12 İmipenem ve tarçın metanol özütünün dama tahtası yönteminde kullanılan konsantrasyonları (A73)

İmipenem (µg/ml)		Tarçın metanol özütü (mg/ml)	
A1	200	B1	0,121
A2	100	B2	0,0605
A3	50	B3	0,03025
A4	25	B4	0,015125
A5	12,5	B5	0,00756
A6	6,25	B6	0,0038
A7	3,125	B7	0,0019
		B8	0,00095
		B9	0,00047
		B10	0,00024
		B11	0,00012

Tablo 13 İmipenem ve beyaz çay metanol özütünün dama tahtası yönteminde kullanılan konsantrasyonları

İmipenem (µg/ml)		Beyaz çay metanol özütü (mg/ml)	
A1	100	B1	0,0319
A2	50	B2	0,016
A3	25	B3	0,008
A4	12,5	B4	0,0039
A5	6,25	B5	0,0019
A6	3,125	B6	0,00099
A7	1,5625	B7	0,00049
		B8	0,00024
		B9	0,00012
		B10	0,00006
		B11	0,00003

Tablo 14 İmipenem ve kekik metanol özütünün dama tahtası yönteminde kullanılan konsantrasyonları

İmipenem (µg/ml)		Kekik metanol özütü (mg/ml)	
A1	100	B1	0,1225
A2	50	B2	0,06125
A3	25	B3	0,030625
A4	12,5	B4	0,015
A5	6,25	B5	0,0076
A6	3,125	B6	0,0038
A7	1,5625	B7	0,0019
		B8	0,00095
		B9	0,00047
		B10	0,00024
		B11	0,00012

Tablo 15 İmipenem ve kuşburnu metanol özütünün dama tahtası yönteminde kullanılan konsantrasyonları

İmipenem (µg/ml)		Kuşburnu metanol özütü (mg/ml)	
A1	200	B1	0,313
A2	100	B2	0,1565
A3	50	B3	0,078
A4	25	B4	0,039
A5	12,5	B5	0,019
A6		B6	0,0098
A7		B7	0,0049
		B8	0,0024
		B9	0,0012
		B10	0,00061
		B11	0,0003

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	BK	B1	B2	B3	B4	B5	B6	B7	B8	B9	B10	B11
B	A1	A1+B1	A1+B2	A1+B3	A1+B4	A1+B5	A1+B6	A1+B7	A1+B8	A1+B9	A1+B1 0	A1+B1 1
C	A2	A2+B1	A2+B2	A2+B3	A2+B4	A2+B5	A2+B6	A2+B7	A2+B8	A2+B9	A2+B1 0	A2+B1 1
D	A3	A3+B1	A3+B2	A3+B3	A3+B4	A3+B5	A3+B6	A3+B7	A3+B8	A3+B9	A3+B1 0	A3+B1 1
E	A4	A4+B1	A4+B2	A4+B3	A4+B4	A4+B5	A4+B6	A4+B7	A4+B8	A4+B9	A4+B1 0	A4+B1 1
F	A5	A5+B1	A5+B2	A5+B3	A5+B4	A5+B5	A5+B6	A5+B7	A5+B8	A5+B9	A5+B1 0	A5+B1 1
G	A6	A6+B1	A6+B2	A6+B3	A6+B4	A6+B5	A6+B6	A6+B7	A6+B8	A6+B9	A6+B1 0	A6+B1 1
H	A7	A7+B1	A7+B2	A7+B3	A7+B4	A7+B5	A7+B6	A7+B7	A7+B8	A7+B9	A7+B1 0	SK

Şekil 20 K8 suşuna karşı imipenem ve tarçın metanol özütünün in vitro etkinliğinin saptanması.

BK: Büyüme Kontrolü **SK:** Sterilite Kontrolü İç Gri Kutular: Büyüme Var, İç Beyaz Kutular: Büyüme Yok

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	BK	B1	B2	B3	B4	B5	B6	B7	B8	B9	B10	B11
B	A1	A1+B1	A1+B2	A1+B3	A1+B4	A1+B5	A1+B6	A1+B7	A1+B8	A1+B9	A1+B1 0	A1+B1 1
C	A2	A2+B1	A2+B2	A2+B3	A2+B4	A2+B5	A2+B6	A2+B7	A2+B8	A2+B9	A2+B1 0	A2+B1 1
D	A3	A3+B1	A3+B2	A3+B3	A3+B4	A3+B5	A3+B6	A3+B7	A3+B8	A3+B9	A3+B1 0	A3+B1 1
E	A4	A4+B1	A4+B2	A4+B3	A4+B4	A4+B5	A4+B6	A4+B7	A4+B8	A4+B9	A4+B1 0	A4+B1 1
F	A5	A5+B1	A5+B2	A5+B3	A5+B4	A5+B5	A5+B6	A5+B7	A5+B8	A5+B9	A5+B1 0	A5+B1 1
G	A6	A6+B1	A6+B2	A6+B3	A6+B4	A6+B5	A6+B6	A6+B7	A6+B8	A6+B9	A6+B1 0	A6+B1 1
H	A7	A7+B1	A7+B2	A7+B3	A7+B4	A7+B5	A7+B6	A7+B7	A7+B8	A7+B9	A7+B1 0	SK

Şekil 21 A73 suşuna karşı imipenem ve tarçın metanol özütünün in vitro etkinliğinin saptanması.

BK: Büyüme Kontrolü **SK:** Sterilite Kontrolü İçi Gri Kutular: Büyüme Var, İçi Beyaz Kutular: Büyüme Yok

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	BK	B1	B2	B3	B4	B5	B6	B7	B8	B9	B10	B11
B	A1	A1+B1	A1+B2	A1+B3	A1+B4	A1+B5	A1+B6	A1+B7	A1+B8	A1+B9	A1+B10	A1+B11
C	A2	A2+B1	A2+B2	A2+B3	A2+B4	A2+B5	A2+B6	A2+B7	A2+B8	A2+B9	A2+B10	A2+B11
D	A3	A3+B1	A3+B2	A3+B3	A3+B4	A3+B5	A3+B6	A3+B7	A3+B8	A3+B9	A3+B10	A3+B11
E	A4	A4+B1	A4+B2	A4+B3	A4+B4	A4+B5	A4+B6	A4+B7	A4+B8	A4+B9	A4+B10	A4+B11
F	A5	A5+B1	A5+B2	A5+B3	A5+B4	A5+B5	A5+B6	A5+B7	A5+B8	A5+B9	A5+B10	A5+B11
G	A6	A6+B1	A6+B2	A6+B3	A6+B4	A6+B5	A6+B6	A6+B7	A6+B8	A6+B9	A6+B10	A6+B11
H	A7	A7+B1	A7+B2	A7+B3	A7+B4	A7+B5	A7+B6	A7+B7	A7+B8	A7+B9	A7+B10	SK

Şekil 22 A73 suşuna karşı imipenem ve beyaz çay metanol özütünün in vitro etkinliğinin saptanması.

BK: Büyüme Kontrolü **SK:** Sterilite Kontrolü İçi Gri Kutular: Büyüme Var, İçi Beyaz Kutular: Büyüme Yok

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	BK	B1	B2	B3	B4	B5	B6	B7	B8	B9	B10	B11
B	A1	A1+B1	A1+B2	A1+B3	A1+B4	A1+B5	A1+B6	A1+B7	A1+B8	A1+B9	A1+B10	A1+B11
C	A2	A2+B1	A2+B2	A2+B3	A2+B4	A2+B5	A2+B6	A2+B7	A2+B8	A2+B9	A2+B10	A2+B11
D	A3	A3+B1	A3+B2	A3+B3	A3+B4	A3+B5	A3+B6	A3+B7	A3+B8	A3+B9	A3+B10	A3+B11
E	A4	A4+B1	A4+B2	A4+B3	A4+B4	A4+B5	A4+B6	A4+B7	A4+B8	A4+B9	A4+B10	A4+B11
F	A5	A5+B1	A5+B2	A5+B3	A5+B4	A5+B5	A5+B6	A5+B7	A5+B8	A5+B9	A5+B10	A5+B11
G	A6	A6+B1	A6+B2	A6+B3	A6+B4	A6+B5	A6+B6	A6+B7	A6+B8	A6+B9	A6+B10	A6+B11
H	A7	A7+B1	A7+B2	A7+B3	A7+B4	A7+B5	A7+B6	A7+B7	A7+B8	A7+B9	A7+B10	SK

Şekil 23 A73 suşuna karşı imipenem ve kekik metanol özütünün in vitro etkinliğinin saptanması.

BK: Büyüme Kontrolü **SK:** Sterilite Kontrolü İçi Gri Kutular: Büyüme Var, İçi Beyaz Kutular: Büyüme Yok

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	BK	B1	B2	B3	B4	B5	B6	B7	B8	B9	B10	B11
B	A1	A1+B1	A1+B2	A1+B3	A1+B4	A1+B5	A1+B6	A1+B7	A1+B8	A1+B9	A1+B1 0	A1+B1 1
C	A2	A2+B1	A2+B2	A2+B3	A2+B4	A2+B5	A2+B6	A2+B7	A2+B8	A2+B9	A2+B1 0	A2+B1 1
D	A3	A3+B1	A3+B2	A3+B3	A3+B4	A3+B5	A3+B6	A3+B7	A3+B8	A3+B9	A3+B1 0	A3+B1 1
E	A4	A4+B1	A4+B2	A4+B3	A4+B4	A4+B5	A4+B6	A4+B7	A4+B8	A4+B9	A4+B1 0	A4+B1 1
F	A5	A5+B1	A5+B2	A5+B3	A5+B4	A5+B5	A5+B6	A5+B7	A5+B8	A5+B9	A5+B1 0	A5+B1 1
G	A6	A6+B1	A6+B2	A6+B3	A6+B4	A6+B5	A6+B6	A6+B7	A6+B8	A6+B9	A6+B1 0	A6+B1 1
H	A7	A7+B1	A7+B2	A7+B3	A7+B4	A7+B5	A7+B6	A7+B7	A7+B8	A7+B9	A7+B1 0	SK

Şekil 24 A73 suşuna karşı imipenem ve kuşburnu metanol özütünün in vitro etkinliğinin saptanması.

BK: Büyüme Kontrolü **SK:** Sterilite Kontrolü İçi Gri Kutular: Büyüme Var, İçi Beyaz Kutular: Büyüme Yok

3.5 FİK İndeksinin Hesaplanması

FİK indeksi, tüm sıra ve sütunda hiçbir bulanıklığın olmadığı en düşük konsantrasyonlara sahip sütun ve sıra kullanılarak her ilaç için hesaplanır (Bonapace ve ark., 2000).

A X MİK	1	2	3	4	5	6	7	8
A 4						X		
B 2						X		
C 1	X	X	X	X	X	X	X	X
D 0,5						X		
E 0,25						X		
F 0,12						X		
G 0,06						X		
H 0,03						X		
B X MİK	0,03	0,06	0,12	0,25	0,5	1	2	4

Şekil 25 FİK indeks tablosu

Örnek 1, X: tüm sıra ve sütunda hiçbir bulanıklığın olmadığı en düşük konsantrasyonlara sahip sütun ve sıra

A ve B ilacının kombinasyonunun in vitro etkinliğinin belirlenmesi için FİK indeksinin hesaplanması;

$FİKA = A$ ilacının kombinasyondaki MİK değeri / A ilacının tek başına MİK değeri

$FİKB = B$ ilacının kombinasyondaki MİK değeri / B ilacının tek başına MİK değeri

$FİK \text{ indeksi} = FİKA + FİKB$

Örnek 1'e göre tüm sıra ve sütunda hiçbir bulanıklığın olmadığı en düşük konsantrasyonlara sahip sütun 5. Sütun ve C sırasıdır.

FİKA=A ilacının kombinasyondaki MİK değeri/A ilacının tek başına MİK değeri...1/1=1

FİKB= B ilacının kombinasyondaki MİK değeri/B ilacının tek başına MİK değeri...1/1=1

FİK indeksi=1+1=2

Tablo 16 FİK indeksinin yorumlanması için aralıklar (Bonapace ve ark., 2002)

FİK indeksi	Yorum
$FİKİ \leq 0.5$	Sinerji
$0.5 < FİKİ \leq 4$	Aditif/indiferan
$FİKİ > 4$	Antagonizm

Örnek 1 için FİK indeksi 2 olarak hesaplanmış ve FİK indeksi yorumuna göre (Tablo 16) A ve B arasındaki etkileşimin aditif/indiferan olduğu belirlenmiştir.

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	A				X								
32X	B				X								
16X	C	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
8X	D				X								
4X	E				X								
2X	F				X								
1X	G				X								
0,5X	H				X								SK
			4X	2X	1X	0,5X	0,25X	0,12X	0,06X	0,03X	0,015 X	0,007 5X	0,003 75X

Şekil 26 K8 suşuna karşı imipenem ve tarçın metanol özütünün FİK indeksinin hesaplanması

Büyümenin görülmediği ilk satır:C

FİK imipenem= $16X/1X=16$

Büyümenin görülmediği ilk sütun:4

FİK tarçın metanol özütü= $1X/1X=1$

K8 suşuna karşı imipenem ve tarçın metanol özütünün FİK indeksi 17 olarak hesaplandı. Hesaplanan FİK indeksine göre imipenem ve tarçın metanol özütü arasında antagonistik bir etkileşim olduğu gözlemlendi.

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
32X	A												
16X	B					X							
8X	C					X							
4X	D					X							
2X	E	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
1X	F					X							
0,5X	G					X							
0,25X	H					X							
		8X	4X	2X	1X	0,5X	0,25X	0,12X	0,06X	0,03X	0,015 X	0,007 5X	0,003 75X

Şekil 27 A73 suşuna karşı imipenem ve tarçın metanol özütünün FİK indeksinin hesaplanması

Büyümenin görülmeyeceği ilk satır: E

FİK imipenem= $2X/1X=2$

Büyümenin görülmeyeceği ilk sütun: 5

FİK tarçın metanol özütü= $0,5X/1X=0,5$

A73 suşuna karşı imipenem ve tarçın metanol özütünün FİK indeksi 2,5 olarak hesaplandı. Hesaplanan FİK indeksine göre imipenem ve tarçın metanol özütü arasında Aditif/indiferan bir etkileşim olduğu gözlemlendi.

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
16X	A					X							
8X	B					X							
4X	C					X							
2X	D					X							
1X	E	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
0,5X	F					X							
0,25X	G					X							
0,12X	H					X							
		16X	8X	4X	2X	1X	0,5X	0,25X	0,12X	0,06X	0,03X	0,015 X	0,007 5X

Şekil 28 A73 suşuna karşı imipenem ve beyaz çay metanol özütünün FİK indeksinin hesaplanması

Büyümenin görülmediği ilk satır: E

FİK imipenem=1X/1X=1

Büyümenin görülmediği ilk sütun:5

FİK beyaz çay metanol özütü=1X/1X=1

A73 suşuna karşı imipenem ve beyaz çay metanol özütünün FİK indeksi 2 olarak hesaplandı. Hesaplanan FİK indeksine göre imipenem ve beyaz çay metanol özütü arasında Aditif/indiferan bir etkileşim olduğu gözlemlendi.

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
32X	A					X							
16X	B					X							
8X	C					X							
4X	D	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
2X	E					X							
1X	F					X							
0,5X	G					X							
0,25X	H					X							
		16X	8X	4X	2X	1X	0,5X	0,25X	0,12X	0,06X	0,03X	0,015 X	0,007 5X

Şekil 29 A73 suşuna karşı imipenem ve kekik metanol özütünün FİK indeksinin hesaplanması

Büyümenin görülmediği ilk satır:D

FİK imipenem= $4X/1X=4$

Büyümenin görülmediği ilk sütun:5

FİK kekik metanol özütü= $1X/1X=1$

A73 suşuna karşı imipenem ve kekik metanol özütünün FİK indeksi 5 olarak hesaplandı. Hesaplanan FİK indeksine göre imipenem ve kekik metanol özütü arasında antagonistik bir etkileşim olduğu gözlemlendi.

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
32X	A				X								
16X	B				X								
8X	C				X								
4X	D				X								
2X	E	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
1X	F				X								
0,5X	G				X								
0,25X	H				X								
		16X	8X	4X	2X	1X	0,5X	0,25X	0,12X	0,06X	0,03X	0,015 X	0,007 5X

Şekil 30 A73 suşuna karşı imipenem ve kuşburnu metanol özütünün FİK indeksinin hesaplanması

Büyümenin görülmeyen ilk satır: E

FİK imipenem= $2X/1X=2$

Büyümenin görülmeyen ilk sütun:4

FİK kuşburnu metanol özütü= $2X/1X=2$

A73 suşuna karşı imipenem ve kuşburnu metanol özütünün FİK indeksi 4 olarak hesaplandı. Hesaplanan FİK indeksine göre imipenem ve kuşburnu metanol özütü arasında Aditif/indiferan bir etkileşim olduğu gözlemlendi.

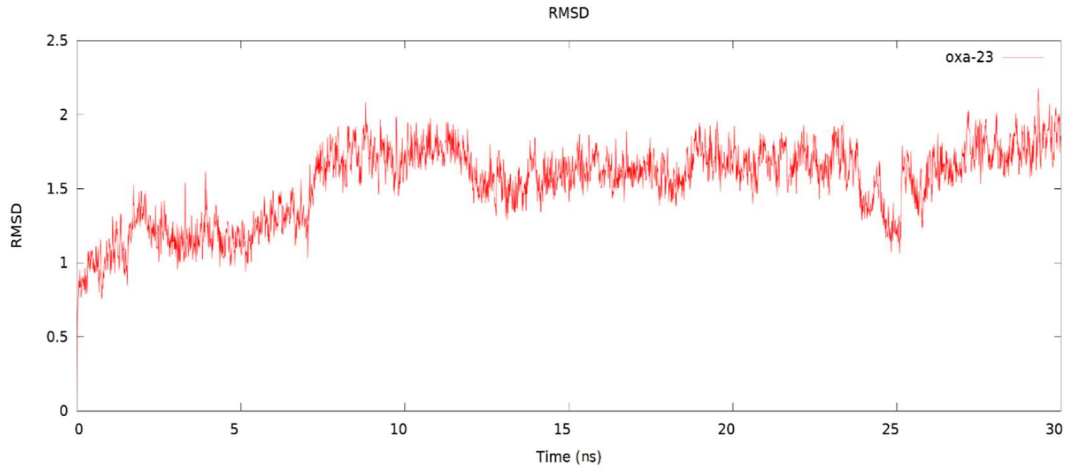
Tablo 17’de bitki metanol özütü ve antibiyotik kombinasyonlarının FİK indeksleri verildi. FİK indekslerinin yorumlanmasıyla kombinasyonlarda antagonistik ve aditif/indiferan etki gözlemlendi.

Tablo 17 Sonuçlara göre FİK indekslerinin yorumlanması

	FİK İndeksi	Yorum
İmipenem/tarçın metanol özütü (<i>K.pneumoniae</i>)	17	Antagonistik
İmipenem/tarçın metanol özütü (<i>A. baumannii</i>)	2.5	Aditif/indiferan
İmipenem/beyaz çay metanol özütü (<i>A. baumannii</i>)	2	Aditif/indiferan
İmipenem/kekik metanol özütü (<i>A. baumannii</i>)	5	Antagonistik
İmipenem/kuşburnu metanol özütü (<i>A. baumannii</i>)	4	Aditif/indiferan

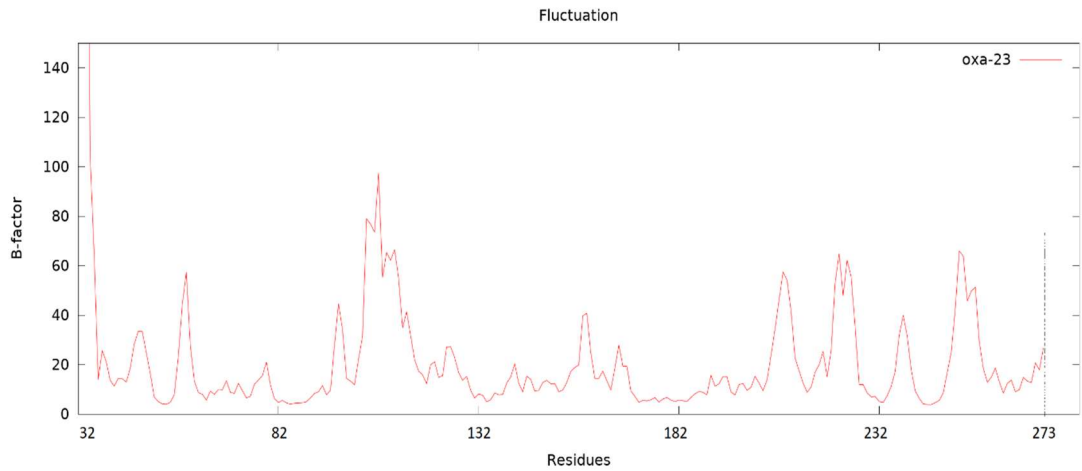
3.6. Simülasyon

PDB veri tabanından indirilen OXA-23 enziminin üç boyutlu yapısındaki kötü etkileşimleri minimize etmek ve molekülü termodinamik olarak denge haline ulaştırmak için 30 ns boyunda moleküler dinamik yöntemler kullanılarak simüle edilmiştir. Simülasyon boyunca yapıdaki residülerin α karbonları baz alınarak RMSD (atomik deviasyonun ortalama kare kökü) grafiği çizilmiştir (Şekil 31). Bu grafiğe göre yaklaşık 10 ns’ye kadar molekül dengelenmeye doğru RMSD değeri artmıştır. Fakat bu süreden sonra bu değer sabit bir şekilde seyretmiştir. Bu grafik OXA-23’ün MD simülasyon ile dengeye ulaştığı sonucunu vermektedir. Simülasyon sonrası üç boyutlu yapı oluşturularak ligandlar enzime yanaştırılabilir.



Şekil 31 OXA-23 30 ns simülasyon süresince RMSD grafiği

Ayrıca herbir residünün simülasyon boyunca ortalama salınım analizi için BFAKTÖR grafiği çizilmiştir (Şekil 32). Bu grafiğe bakılarak hangi bölgenin daha fazla oynak yada sabit olduğu yorumları yapılabilir. 79-90 residülerini içeren bölgenin stabil olduğu görülmektedir. Bu bölgedeki residüler enzimin katalitik residülerinin olduğu cep bölgesi olduğu bilinmektedir. Dolayısıyla bu bölgenin stabil olması beklenmektedir. Salınım en fazla olduğu bölge 92-119 residülerinin olduğu bölge olarak görülmektedir. Enzimin üç boyutlu yapısı analiz edildiğinde bu bölgenin herhangi bir sekonder yapıya sahip olmadığı bu sebeple simülasyon boyunca salınım yaptığı sonucu ortaya çıkmaktadır. Ayrıca 202-211 ve 220-227 arası bölgelerinde kısmen daha fazla salınım gösterdiği ve bu bölgelerin üç boyutlu yapısına bakıldığında herhangi bir sekonder yapıya sahip olmadığı için simülasyon boyunca daha fazla atomik salınım gösterdiği sonucu ortaya çıkmaktadır.



Şekil 32 OXA-23 30 ns simülasyon süresince atomik salınım grafiği

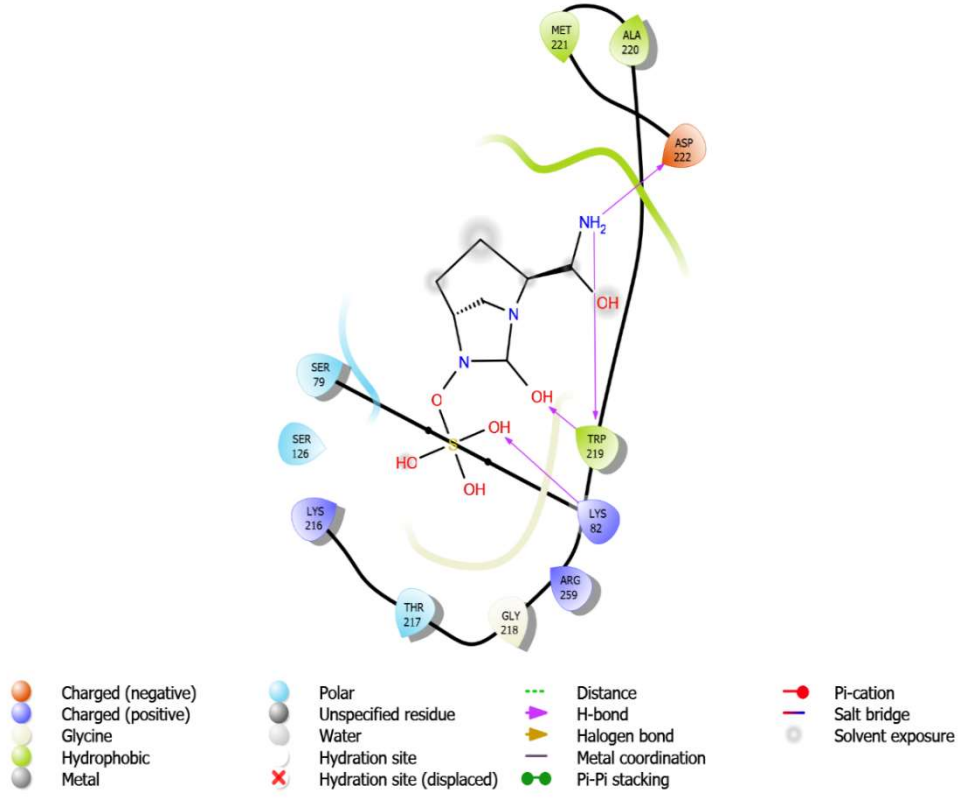
3.7. Moleküler yerleştirme

MD simülasyon ile dengeye ulaşmış OXA-23'ün aktif bölgesine epigallokateşin 3-gallat, kuarsetin, sinnamaldehit, karvakrol, timol, imipenem (substrat), avibaktam (inhibitör) moleküler yerleştirme metodu ile yanıştırılmıştır. Sonuç olarak elde edilen bağlanma enerjileri ve titokimyasallar, substrat ve inhibitörün enzimdeki hangi residülerle hidrojen bağı yaptığı Tablo 18'de verildi. İnhibitöre (avibaktam) en yakın bağlanma enerjisinin epigallokateşin 3-gallatın sahip olduğu ve bu fitokimyasalın Lys82, Lys216, Arg259, Asp222 rezidüleri ile dört tane hidrojen bağı yaptığı tespit edildi. Aynı zamanda bu fitokimyasallan imipenemin bağlanma enerjisinden (-5.40 kcal/mol) daha yüksek bağlanma enerjisine (-5.82 kcal/mol) sahip olduğu görüldü. Bağlanma enerjileri açısından fitokimyasallar karşılaştırıldığında en yüksekten düşüğe bağlanma enerjileri, epigallokateşin-3-gallat, kuarsetin, sinnamaldehit, karvakrol, ve timol için sırasıyla -5.82 kcal/mol, 5.77 kcal/mol, -4.98 kcal/mol, -4.18 kcal/mol, -4.00 kcal/mol idi. OXA-23 ile en fazla hidrojen bağı kuarsetinin yaptığı görüldü. İmipenem ve sinnamaldehit hariç denen fitokimyasallar ve avibaktamın Lys82 ile hidrojen bağı yaptığı tespit edildi.

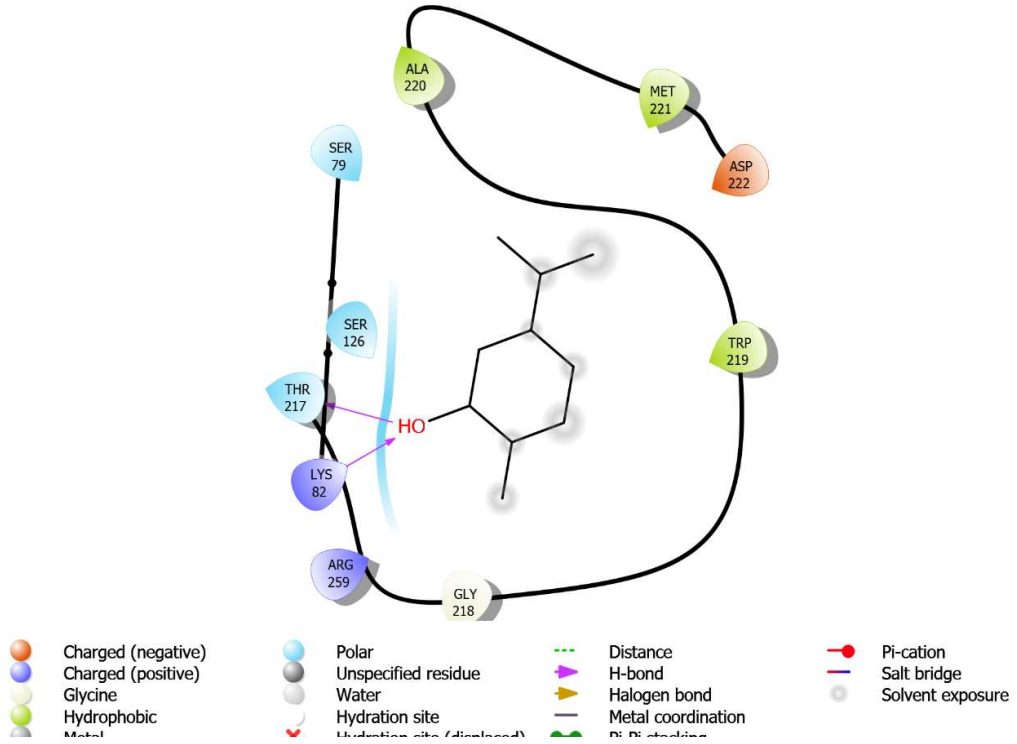
Tablo 18 Bağlanma enerjileri ve fitokimyasallar, substrat ve inhibitörün enzimdeki hangi residülerle hidrojen bağı yaptığı

Bileşik	Bağlanma enerjisi	Etkileşim (Hidrojen bağı)
Avibaktam	-6.20 kcal/mol	Lys82, Thr219, Asp222
Epigallokateşin 3-gallat	-5.82 kcal/mol	Lys82, Lys216, Arg259, Asp222
Kuarsetin	-5.77 kcal/mol	Ala78, Lys82, Lys216, Thr217, Arg259
İmipenem	-5.40 kcal/mol	Lys124, Leu125, Ser126, Thr217
Sinnamaldehyt	-4.98 kcal/mol	Asn85
Karvakrol	-4.18 kcal/mol	Lys82, Thr217
Timol	-4.00 kcal/mol	Lys82, Thr217

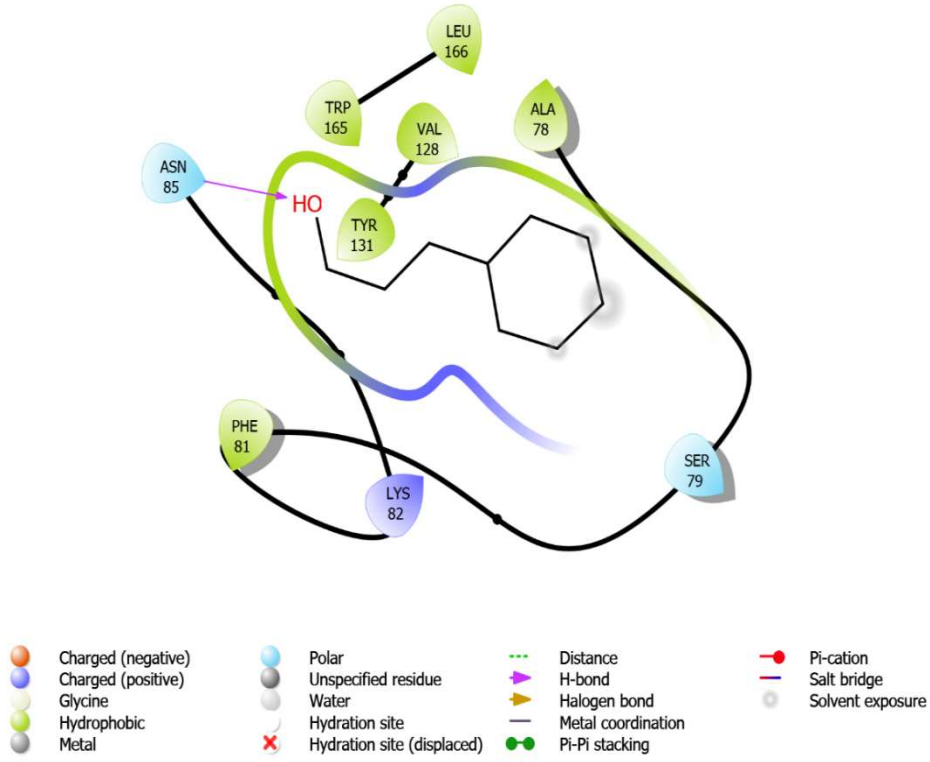
OXA-23-avibaktam, OXA-23-karvakrol, OXA-23-sinnamaldehyt, OXA-23-epigallokateşin-3-gallat, OXA-23-imipenem, OXA-23-kuarsetin ve OXA-23-timol komplekslerinin iki boyutlu gösterimleri sırasıyla Şekil 33, Şekil 34, Şekil 35, Şekil 36, Şekil 37, Şekil 38, Şekil 39'de gösterildi.



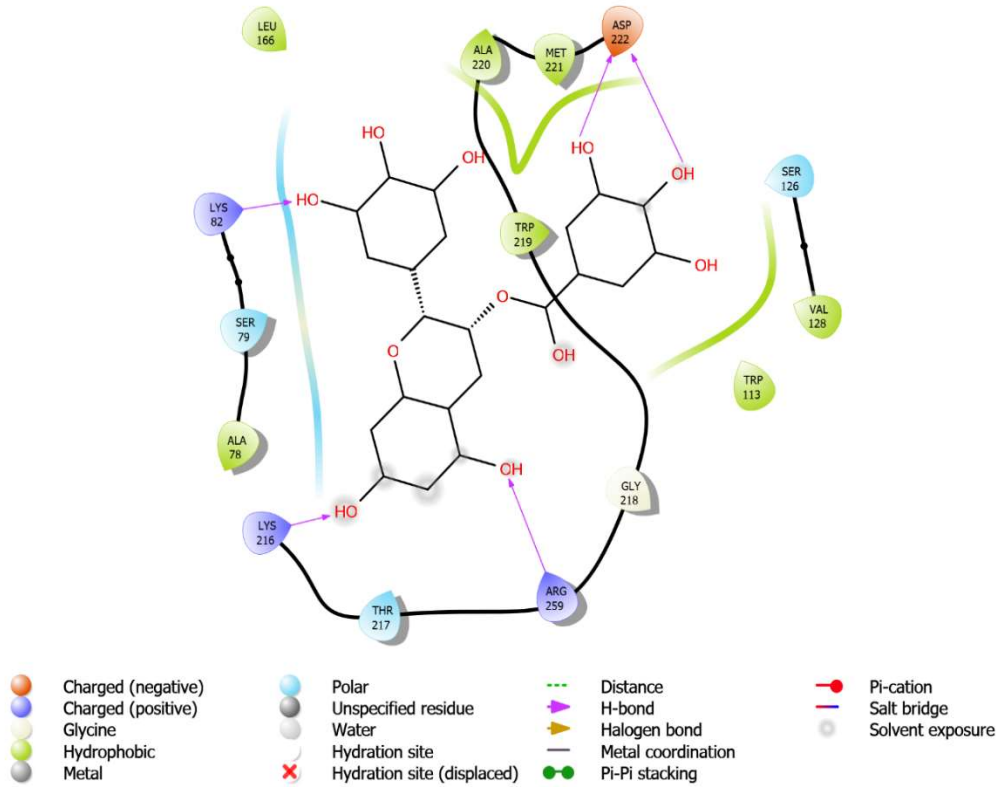
Şekil 33 OXA-23-avibaktam iki boyutlu gösterimi



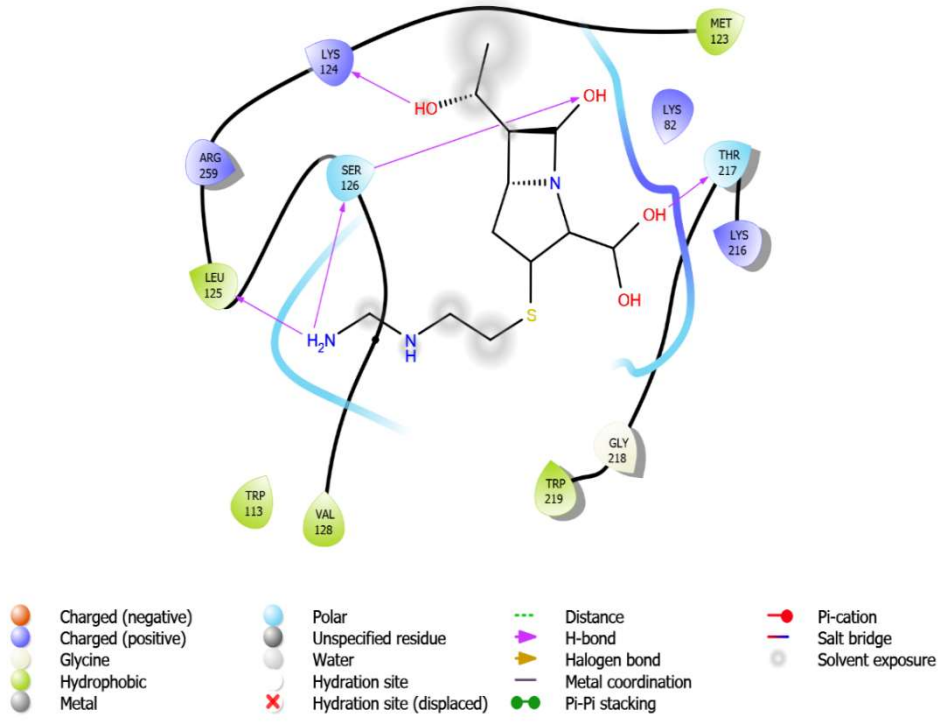
Şekil 34 OXA-23-karvaktrol iki boyutlu gösterimi



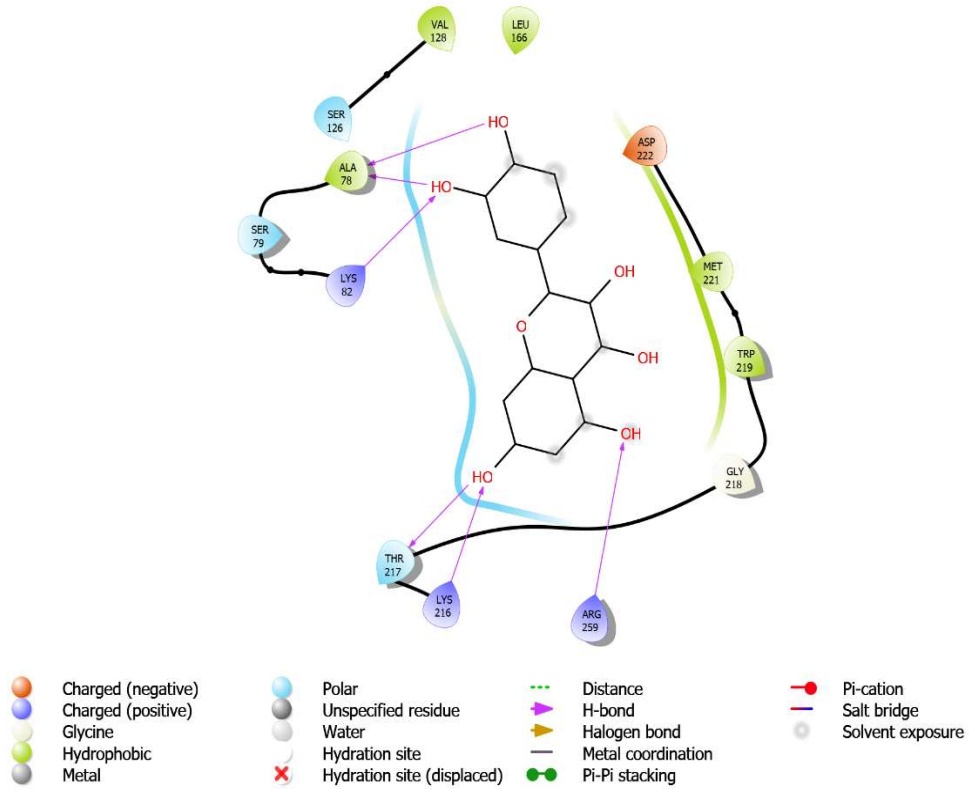
Şekil 35 OXA-23-sinamaldehyit iki boyutlu gösterimi



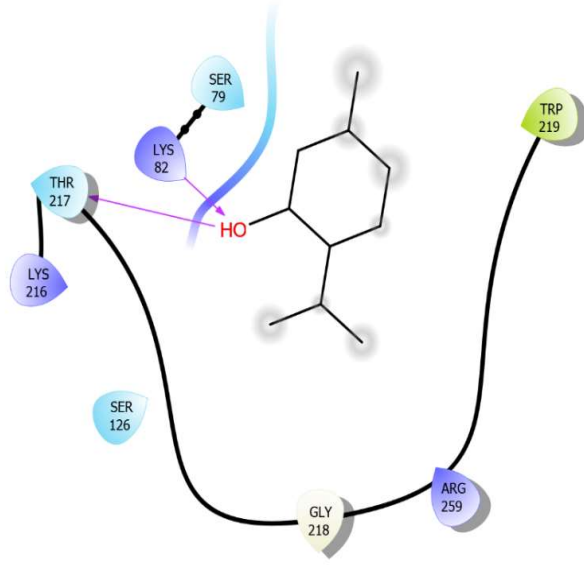
Şekil 36 OXA-23-epigallokateşin-3-gallat iki boyutlu gösterimi



Şekil 37 OXA-23-imipenem iki boyutlu gösterimi



Şekil 38 OXA-23-kuarsetin iki boyutlu gösterimi



- | | | | |
|--|---|--|--|
| ● Charged (negative) | ● Polar | --- Distance | ● Pi-cation |
| ● Charged (positive) | ● Unspecified residue | ▶ H-bond | — Salt bridge |
| ● Glycine | ● Water | ▶ Halogen bond | ○ Solvent exposure |
| ● Hydrophobic | ○ Hydration site | — Metal coordination | |
| ● Metal | ✗ Hydration site (displaced) | ●● Pi-Pi stacking | |

Şekil 39 OXA-23-timol iki boyutlu gösterimi

4 TARTIŞMA

Acinetobacter baumannii fırsatçı bir patojendir ve bakteremi, septisemi ve ventilatörle ilişkili pnömoni gibi hastane kaynaklı enfeksiyonlara neden olur. 1970'lerden önce *A. baumannii*, geniş spektrumlu β -laktamlar, sefalosporinler ve tetrasiklinler gibi çoğu geleneksel antibiyotiğe duyarlıydı. Son yıllarda, *Acinetobacter* ile ilişkili enfeksiyonlar, bakterilerin direnç geliştirebilme kabiliyetleri nedeniyle genel olarak tek antimikrobiyal ajan kullanılarak zorlukla ortadan kaldırılmıştır. Özellikle çoklu ilaca dirençli (MDR) *A. baumannii*, kritik hastalarda önemli morbidite ve mortaliteye neden olan nozokomiyal patojen olarak sürekli rapor edilmiştir. Karbapenemler, MDR *A. baumannii*'nin neden olduğu ciddi enfeksiyonların tedavisinde tercih edilen ilaçlar olarak kabul edilir. Ancak karbapeneme dirençli *A. baumannii* dünya çapında rapor edilmiştir (Büyük ve ark., 2017).

Klebsiella türleri doğada her yerde bulunur ve insanlar ve hayvanlar için önemli bir patojendir. *K. pneumoniae*, esas olarak hastanede yatan bağışıklığı baskılanmış hastaları etkileyen fırsatçı patojendir ve idrar yolu, solunum yolu, kan ve yara enfeksiyonundan sorumludur. Ventilatörle ilişkili pnömoninin (VAP) başlıca kaynağıdır ve hastane kaynaklı pnömoninin (HAP)% 83'ünden sorumludur. Hastane ve toplumdan edinilen enfeksiyonlara neden olan çeşitli direnç faktörlerine sahip çoklu ilaca dirençli *K. pneumoniae* önemli bir endişe kaynağıdır. Nozokomiyal *K. pneumoniae*'nin karbapenemazların ve genişletilmiş spektrumlu β -laktamazların varlığından kaynaklanan çoklu ilaca dirençli fenotipi, tedavi seçeneklerini sınırlandırmaktadır (Priyanka ve ark., 2020).

İnsan patojenlerine karşı antimikrobiyal direnç dünya çapında rapor edilmektedir ve bu kritik bir halk sağlığı sorunu haline gelmiştir. İlaça dirençli bakterilerin neden olduğu enfeksiyonlarda duyarlı patojenlere kıyasla morbidite ve mortalite oranı yüksektir. Bu nedenle antibiyotik dirençli bakterilerin neden olduğu enfeksiyonların tedavisi için antibiyotik geliştirmek için yeni stratejiler gerekmektedir. Glikopeptidler, kinolonlar, aminoglikozitler ve tetrasiklin gibi bilinen antibiyotiklerin yeni analoglarının ve yeni antibakteriyel törapatik stratejilerinin geliştirilmesini amaçlayan

çalışmalar artmıştır. Potansiyel antibakteriyel tedaviler; antimikrobiyal peptidlerin, antivirülans stratejilerin ve t ropatik antikorların kullanımı aynı zamanda bitkilerden elde edilen bileşikler, metal nanopartiküller ve bakteriyofaj litik enzimlerin kullanımını kapsamaktadır (Wolska ve ark., 2012). Günümüzde kullanılan antibiyotiklerin çoğu bakteriyel ya da fungal orijinlidir ve bunlara karşı direnç gelişimi ve toksisiteleri nedeniyle yeni antibakteriyel ajan bulma alanı mikrobiyal kaynaklardan bitki kaynaklarına kaymıştır. Birçok çalışma bitkilerin bakteri tarafından ifade edilen direncin üstesinden gelen sinerjik sekonder metabolitleri üreterek etki gösteren etkili bir savunma mekanizmalarının olduğunu göstermiştir. Bitkiler zayıf antibakteriyel ajanlar üretmelerine rağmen enfeksiyonların üstesinden gelebilir. Bu nedenle, yeni ajanların keşfi için bitki metabolitlerinin antimikrobiyal etkisi ve antibiyotiklerle kombinasyonlarının sinerjik etkileri çalışılmaktadır (Santiago, 2015).. Bazı ilaçların kombinasyonlarının tek başına kullanılan ilaçlara göre yüksek inhibitör etkisi olduğu belirlendiğinden beri klinikte ilaç kombinasyonlarının kullanımı klinik etkinliği korumak ve direnç problemlerinin üstesinden gelmek için yaygın olarak kullanılmaktadır (Santiago, 2015).

Tez kapsamında tarçın, kekik, ısırgan otu, beyaz çay ve kuşburnu bitkileri aktardan temin edilerek metanol özütleri hazırlandı. Bitki metanol özütlerinin antibakteriyal aktivitesi Trabzon Fatih Devlet Hastanesi'nden izole edilen iki antibiyotik dirençli suşa karşı araştırılmıştır. Suşlardan biri imipenem, meropenem, amikasin, gentamisin, netilmisin, tobramisin, siprofloksasin ve levofloksasin antibiyotiklerine dirençli *A.baumannii* suşu, diğeri ise ampisilin, amoksisilin/klavulanik asit, piperasilin/tazobaktam, sefuroksim, sefuroksim/aksetil, sefiksim, seftazidim, seftriakson, ertapenem, imipenem, meropenem, amikasin, gentamisin, siprofloksasin, fosfomisin ve trimetoprim/s lfametaksozol antibiyotiklerine dirençli *K. pneumoniae* suşudur. Daha önce yapılan çalışmalarda *A. baumannii* suşunun OXA-23 beta laktamazı kodlayan geni barındırdığı tespit edilmiştir. Antibakteriyal aktivitenin belirlenmesi için sıvı mikrodilüsyon yöntemi kullanılmıştır.

Isırgan otunun metanol özütünün denenen konsantrasyon aralığında *A. baumannii*'ye karşı antibakteriyal aktivitesini gözlenmedi. Kuşburnu, tarçın, kekik, beyaz çay metanol özütlerinin *A. baumannii*'ye MİK değerleri sırasıyla 0.07825 gr/mol, 0.015125 gr/mol, 0.030625 gr/mol, 0.00796875 gr/mol olarak belirlendi. Denen bitki

metanol özütleri arasında en düşük MİK değerine sahip metanol özütü beyaz çaydan elde edilmiştir. Kontrol olarak kullanılan imipenem antibiyotığının MİK değeri 50 µg/ml olarak bulundu. Bitki metanol özütlerinin MİK değerinin imipenemden oldukça yüksek olduğu gözlemlendi. İmipenem kadar düşük konsantrasyonda MİK değerleri olmasada bitki özütlerinin antibakteriyal aktivitesinin olması önem arz etmektedir.

Kekik, ısırgan otu, beyaz çay ve kuşburnu metanol özütlerinin denenen konsantrasyon aralıklarında *K. pneumoniae*'ye karşı antibakteriyal aktivitesi gözlemlenmedi. Tarçın metanol özütünün *K. pneumoniae*'ye karşı MİK değeri 0.0605 gr/mol olarak bulunurken, imipenem ve ampisilinin MİK değerleri sırasıyla 25 µg/ml ve 11.40625 µg/ml olarak bulundu. Ampisilin ve imipenem MİK değerlerinin tarçın metanol özütünün MİK değerinden düşük olduğu gözlemlendi. Tarçın metanol özütünün tez kapsamında çalışılan iki klinik suşa karşı antibakteriyal aktivite gösterdiğinden en etkili bitki metanol özütü olarak değerlendirildi.

Doğal ürünleri antibiyotik standartları ile karşılaştırırken kabul edilebilir inhibisyon seviyesi konusunda fikir birliği yoktur. Bazı yazarlar, doğal ürünleri yalnızca antibiyotiklere benzer inhibisyon seviyelerine sahip olduklarında etkili bulmaktadır. Ancak diğerleri, bileşikleri ticari antimikrobiyallerle gözlenen normal seviyelerden daha düşük inhibisyon seviyeleri ile etkili olarak kabul etmektedir (Silva ve ark., 2019).

Antibakteriyal aktivite gösteren bitki metanol özütleri ve antibiyotik kombinasyonlarının *in vitro* etkisi damatahtası metodu ile araştırıldı. Sonuç olarak, *A.baumannii* için imipenemin tarçın, beyaz çay ve kuşburnu metanol özütleri ile kombinasyonları aditif/indiferan etki gösterirken imipenemin kekik metanol özütü ile kombinasyonunun antagonistik etki gösterdiği belirlendi. *K. pneumoniae* için imipenemin tarçın metanol özütü ile kombinasyonunun antagonistik etki gösterdiği gözlemlendi. Tarçın metanol özütünün imipenem ile kombinasyonu *K. pneumoniae* için antagonistik etki gösterirken *A.baumannii* için aditif/indiferan etki gösterdi. tarçın metanol özütünün *K. pneumoniae* için antagonistik etki gösterirken *A.baumannii* için aditif/indiferan etki göstermesi gibi bitki özütlerinin farklı bakterilerde *in vitro* etkinliklerinde değişiklik gözlemlenebilmektedir. Yapılan bir çalışmada da *T. willdenowii* Boiss'in uçucu yağının imipenem ile kombinasyonunun *K. pneumoniae*,

E. aerogenes, *P. mirabilis*'e karşı antagonistik etkisi ve *E. coli*, *E. coli* (ATCC 25921), *P. putida* ve *P. aeruginosa*, *S. enteritidis* ve *P. aeruginosa* ATCC 27853 karşı sinerjik etkisi olduğu belirlenmiştir (Moussaoui ve Alaoui, 2016).

Bir diğer çalışmada, tarçın kabuğu, lavanta, mercanköşk, çay ağacı, nane uçucu yağlarının ve ampisilin, piperasilin, sefazolin, sefuroksim, karbenisilin, seftazidim, meropenem kombine etkisi, β -laktamaz üreten *E. coli*'ye karşı dama tahtası yöntemi ile analiz edilmiştir. Antibiyotiklerin MİK değerlerinde iki ila dört kat azalma kaydedilmiştir. *E. coli*, *Yersinia enterocolitica*, *P. aeruginosa*, *Salmonella choleraesuis*, *S. aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus* ve *Enterococcus faecalis* üzerinde de tarçın ve diğer bitkisel ilaçların kombinasyonunun etkisi gözlenmiştir. Tarçın ve karanfil EO karışımı *E. coli*'ye karşı antagonistik etki sergilerken, *Y. enterocolitica*, *L. monocytogenes* ve *B. cereus*'a karşı sinerjik bir etki ortaya koymuştur. Son zamanlarda, imipenem ve transsinnamaldehit arasındaki sinerji, 168 *E. coli* izolatu üzerinde yapılan çalışmada bildirilmiştir, suşların 42'sine (% 25) karşı sinerji ortaya çıkarmıştır (Bhardwaj ve ark., 2016).

İmipenem-yeşil çay ekstresi kombinasyonunun metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) izolatlarına karşı antibakteriyel aktivitesini değerlendirmeyi amaçlandığı çalışmada, imipenem-yeşil çay ekstresi kombinasyonlarının fraksiyonel inhibitör konsantrasyon (FİK) endeksleri 0.156 ile 0.5 arasında bulunmuştur. Sonuç olarak imipenem ve yeşil çay özütünün kombinasyonunun sinerjik etki gösterdiği tespit edilmiştir (Aboulmagd ve ark., 2011).

İmipenem dirençli *Klebsiella pneumoniae* (IRKP), tek başına veya epigallokateşin gallat (EGCg) ile kombinasyon halinde imipenemin sinerjik anti-bakteriyel ve proteomik etkilerini araştırmak için kullanıldığı çalışmada, EGCg imipenem kombinasyonunun sinerji gösterebildiği ve IRKP'de çeşitli proteinlerin ekspresyonunu farklı şekilde uyarabildiğini belirtilmiştir (Cho ve ark., 2011). Çalışmamızda ise imipenem beyaz çay özütü kombinasyonunun *A. baumannii*'ye karşı aditif/indiferan etki gösterdiği belirlendi.

Yapılan bir çalışmada, kekik yağının piperasilin, sefepim ve meropenemin antibakteriyel aktivitesini *Pseudomonas aeruginosa*'ya (ATCC 9027) karşı iki kattan fazla arttırdığı tespit edilmiştir. Fenolik terpenoidler, timol kekik yağında

bulunmaktadır ve antimikrobiyal etkilerinin bakterilerin hücre zarı ile ilişkili olduğu açıklanmıştır. Bu bağlamda, mevcut çalışmanın sonuçları, yüksek fenolik monotERPEN timol içeriğine sahip kekik uçucu yağının, tek başına veya test edilen geleneksel antibiyotiklerle birlikte kullanıldığında en yüksek antipsödomonal aktiviteyi sergilediğini göstermiştir (El-Hosseiny ve ark., 2014). Kekik yağının karbapenem grubu antibiyotik meropenem ile kombinasyonunun sinerjik etkisinin gösterildiği bu çalışmaya karşın çalışmamızda imipenem kekik özütü kombinasyonunun *A. baumannii*'ye karşı antagonistik etki gösterdiği belirlendi.

Pseudomonas aeruginosa, *Acinetobacter baumannii*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus faecalis*, metisiline duyarlı/dirençli *Staphylococcus aureus* ve *Candida albicans* 'ın bazı standart ve klinik izolatlarına karşı hem tek başına hem de antibiyotikler veya antifungallerle kombinasyon halinde 31 bitki çayının antimikrobiyal aktivitelerini incelendiği çalışmada, test edilen tüm suşlara karşı özellikle kuşburnu, nar veya kuşburnu poşet çayları ve siprofloksasin arasında antagonistik etki gösterdiği, aynı zamanda sefuroksim ile bu bitki çaylarının kombinasyonlarının *E. coli*, *K. pneumoniae* ve *P. aeruginosa* karşıda antagonistik etki gösterdiği tespit edilmiştir (Hacıoğlu ve ark., 2017). Tez kapsamında ise *A. baumannii*'ye karşı imipenem/kuşburnu kombinasyonunun aditif/indiferan etki gösterdiği belirlendi.

Yapılan çalışmalar ve tezdeki sonuçlar değerlendirilen bitki özütlerinin antibakteriyal aktivitesi olduğunu, antibiyotik ile bitki özütü kombinasyonlarının etkilerinin farklı çalışmalarda farklı ya da aynı bakteriler üzerinde değişkenlik gösterdiğine işaret etmektedir. Kombinasyonların yorumlanmasında farklı yöntemler mevcuttur aynı zamanda FİK indeksinin belirlenmesinde kullanılan yöntemlerin uygulanmasında farklılıklar bu değişkenliği açıklayabilir.

Şu anda 250'den fazla sınıf D β -laktamaz rapor edilmiştir. Yüksek derecede yapısal çeşitlilik ve geniş bir antibiyotik direnç spektrumu ile karakterize edilirler. D sınıfı enzimlerin aktif bölgesi, β -laktam antibiyotik tarafından açılasyon yaşayan bir aktif bölge serin ve bu süreci destekleyen yapısal olarak korunmuş bir lizin kalıntısı ile A sınıfı enzimlerinkine güçlü bir şekilde benzese de, β -laktam hidrolizleri, iki enzim sınıfı tarafından önemli ölçüde farklılık gösterir. Hem açılasyon hem de açılasyon

adımları, translasyon sonrası bir adımda N-karboksilatlanan korunmuş lizin kalıntısı tarafından kolaylaştırılır. Karbapenem antibiyotiklerini hidrolize edebilen D sınıfı enzimler, karbapenem hidrolize edici sınıf D β -laktamazlar veya CHDL'ler olarak adlandırılır. *A. baumannii*'de OXA-23, OXA-40 (daha önce OXA-24 olarak biliniyordu), OXA-51 ve OXA-58 enzimleri dahil olmak üzere birçok CHDL tanımlanmıştır. Bunlar arasında OXA-23 β -laktamaz, OXA-23 üreten *Acinetobacter* izolatlarının dünya çapında yayılması nedeniyle bu ölümcül patojende karbapenem direncinin başlıca kaynağı olarak kabul edilmektedir (Smith ve ark., 2019). Bu nedenle bu enzimi inhibe edebilecek yeni inhibitörlere ihtiyaç vardır. Bitki kökenli ürünler, yeni bileşiklerin, ilaçların açığa çıkmasına neden olmuştur. Bazı bitkilerin β -laktamaz enzimini inhibe etme ve antibiyotiklerin etkisini artırma yetenekleri üzerine çalışmalar yapılmıştır. Pek çok araştırmacı, bitki özütleri ile fito-bileşiklerin antibiyotik etkisinin kuvvetlendirdiğini bildirmiştir.

Bu çalışmada antibakteriyel etkisi belirlenen bitkilerde bulunan epigallokateşin 3-gallat, kursetin, sinnamaldehit, karvakrol ve timol fitobileşiklerinin *A. baumannii*'de bulunan OXA-23 beta laktamazı için inhibitör adayları olma potansiyelleri *in siliko* olarak değerlendirildi. OXA-23'ün aktif bölgesine epigallokateşin 3-gallat, kuarsetin, sinnamaldehit, karvakrol, timol, imipenem (substrat), avibaktam (inhibitör) moleküler yerleştirme metodu ile yanıştırılmıştır.

Yapılan bir çalışmada, karvakrolün β -laktamaz enzim aktivitesini (*in vitro*) inhibe ettiği bulunmuş ve bu *in siliko* sonuçlarla desteklenmiştir. Sonuç olarak, karvakrolün GSBL *E. coli*'ye karşı önemli antimikrobiyal potansiyele sahip olduğunu gösterilmiştir (Khan ve ark., 2020). Çalışmamızda karvakrolün OXA-23'e -4.18 kcal/mol'lük bağlanma enerjisi ile bağlandığı görüldü. Aynı zamanda reseptörün (OXA-23) 82. pozisyonunda bulunan pozitif yüklü lizin amino asidi ve 217. pozisyonunda bulunan polar treonin amino asidi ile hidrojen bağı yaptığı tespit edildi.

Sinnamaldenitin bağlanma enerjisinin -4.98 kcal/mol olduğu ve reseptörün 85. pozisyonunda polar asparjin amino asiti ile hidrojen bağı yaptığı görüldü.

Epigallokateşin gallatın ile penisilin kombinasyonu, penisilinaz üreten *Staphylococcus aureus*'un 21 klinik izolatına karşı sinerjizm göstermiştir. Doğrudan peptidoglikana bağlanmanın yanı sıra, sinerjizmden EGCg tarafından penisilinaz aktivitesinin

inhibisyonu sorumlu olmuştur. (Zhao ve ark., 2002). Çalışmamızda, epigallokateşin gallatın bağlanma enerjisi -5.82 kcal/mol olarak hesaplandı. Reseptörle beş hidrojen bağı yaptığı belirlendi. Bu hidrojen bağlarını reseptörün 82., 216., 259., ve 222. pozisyonunda bulunan sırasıyla pozitif yüklü lizin, pozitif yüklü lizin, pozitif yüklü arjinin ve negatif yüklü aspartik asit amino asitleri ile yaptı.

Bir diğer çalışmada, amoksisiline dirençli *Staphylococcus epidermidis*'e (ASS) karşı kuersetin ve amoksisilinin antibakteriyel, sinerji ve etki şekilleri araştırılmıştır ve kuersetinin, β -laktamaza karşı inhibe edici bir aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir (Siriwong ve ark., 2016). Çalışmamızda, kuersetinin OXA-23'e -5.77 kcal/mol'lük bağlanma enerjisi ile bağlandığı tespit edildi. Ala78, Lys82, Lys216, Thr217, Arg259 amino asitleri ile hidrojen bağı yaptığı görüldü. En düşük bağlanma enerjisine sahip timolün ise reseptörün 82. pozisyonunda bulunan pozitif yüklü lizin ve 217. pozisyonda bulunan polar treonin amino asitleri ile hidrojen bağı yaptığı tespit edildi.

İnhibitöre (avibaktam) en yakın bağlanma enerjisinin epigallokateşin 3-gallatın sahip tespit edildi. Aynı zamanda bu fitokimyasalın imipenemin bağlanma enerjisinden (-5.40 kcal/mol) daha yüksek bağlanma enerjisine (-5.82 kcal/mol) sahip olduğu görüldü. Bağlanma enerjileri açısından fitokimyasallar karşılaştırıldığında en yüksekten düşüğe bağlanma enerjileri, epigallokateşin-3-gallat, kuersetin, sinnamaldehit, karvakrol, ve timol için sırasıyla -5.82 kcal/mol, -5.77 kcal/mol, -4.98 kcal/mol, -4.18 kcal/mol, -4.00 kcal/mol idi.

in silico çalışmalardan elde edilen sonuçlar epigallokateşin 3-gallat, kuersetin, sinnamaldehit, karvakrol, timol bitki bileşiklerinin OXA-23 β -laktamazı için non-kovalent inhibitör adayları olabileceklerini düşündürdü. Bu sonuçlar gelecekte deneysel çalışmalarla desteklenerek OXA-23 β -laktamazına karşı yeni inhibitörlerin keşfedilmesine olanak sağlayabilir.

5 SONUÇ ve ÖNERİLER

Tezden elde edilen sonuçlar şu şekildedir:

1. Isırgan otunun metanol özütünün denenen konsantrasyon aralığında *A. baumannii*'ye karşı antibakteriyal aktivitesini gözlenmedi. Kuşburnu, tarçın, kekik, beyaz çay metanol özütlerinin *A. baumannii*'ye MİK değerleri sırasıyla 0.07825 gr/mol, 0.015125 gr/mol, 0.030625 gr/mol, 0.00796875 gr/mol olarak belirlendi.
2. Kekik, ısırgan otu, beyaz çay ve kuşburnu metanol özütlerinin denenen konsantrasyon aralıklarında *K. pneumoniae*'ye karşı antibakteriyal aktivitesi gözlenmedi. Tarçın metanol özütünün *K. pneumoniae*'ye karşı MİK değeri 0.0605 gr/mol olarak bulunurken, imipenem ve ampisilinin MİK değerleri sırasıyla 25 µg/ml ve 11.40625 µg/ml olarak bulundu. Ampisilin ve imipenem MİK değerlerinin tarçın metanol özütünün MİK değerinden düşük olduğu gözlemlendi.
3. Tarçın metanol özütünün tez kapsamında çalışılan iki klinik suşa karşı antibakteriyal aktivite gösterdiğinden en etkili bitki metanol özütü olarak değerlendirildi.
4. Dama tahtası yöntemi ile *A.baumannii* için imipenemin tarçın, beyaz çay ve kuşburnu metanol özütleri ile kombinasyonları aditif/indiferan etki gösterirken imipenemin kekik metanol özütü ile kombinasyonunun antagonistik etki gösterdiği belirlendi. *K. pneumoniae* için imipenemin tarçın metanol özütü ile kombinasyonunun antagonistik etki gösterdiği gözlemlendi. İmipenem tarçın metanol özütü kombinasyonunun *A. baumannii*'ye karşı aditif/indiferan etki gösterirken *Klebsiella pneumoniae*'ye karşı antagonistik etki gösterdiği belirlendi. Tez çalışmasının sonucunda, kullanılan bitki metanol özütlerinin imipenem ile sinerjik etki göstermediği bulundu.
5. Bu çalışmada antibakteriyel etkisi belirlenen bitkilerde bulunan epigallokateşin 3-gallat, kuersetin, sinnalaldehit, karvakrol ve timol fitobiyoleşiklerinin *A. baumannii*'de bulunan OXA-23 β-laktamazı için inhibitör adayları olma potansiyelleri *in silico* olarak değerlendirildi. İnhibitöre (avibaktam) en yakın bağlanma enerjisinin epigallokateşin

3-gallatın sahip olduğu ve bu fitokimyasalın Lys82, Lys216, Arg259, Asp222 rezidüleri ile dört tane hidrojen bağı yaptığı tespit edildi. Bađlanma enerjileri ağısından fitokimyasallar karşılaştırıldığında en yüksekten dūřüđe bağlanma enerjileri, epigallokateşin-3-gallat, kuersetin, sinnamaldehit, karvakrol, ve timol iđin sırasıyla - 5.82 kcal/mol, -5.77 kcal/mol, -4.98 kcal/mol, -4.18 kcal/mol, -4.00 kcal/mol idi.OXA-23 ile en fazla hidrojen bağı kuersetinin yaptığı görüldü.

Kullanılan bitkilerin farklı çözücülerde özütleri elde edilip klinik suşlara karşı antibakteriyal aktivitesi belirlenebilir. Özütlerin *A. baumannii* ve *K. pneumoniae* haricinde başka klinikte zorluklara yol açan patojenlere karşı antibakteriyal aktivitesine bakılabilir. Özütlerin klinik suşların dirençli olduğu diğer antibiyotiklerle kombinasyonlarının *in vitro* etkinliği araştırılabilir.

OXA-23 klonlanarak *E. coli*'de ifadesi sağlanıp sağlaştırılabilir. *in siliko* olarak değerlendirilen epigallokateşin 3-gallat, kuersetin, sinnamaldehit, karvakrol, timol bitki bileşiklerinin sağlaştırılan OXA-23 enzimini inhibe etme potansiyelleri *in vitro* olarak araştırılabilir. Aynı zamanda farklı bitki bileşiklerinin de OXA-23'e karşı *in siliko* ve *in vitro* etkinlikleri çalışılabilir.

KAYNAKLAR

- Abdollahzadeh, E., M. Rezaei, ve H. Hosseini. 2014. Antibacterial activity of plant essential oils and extracts: The role of thyme essential oil, nisin, and their combination to control *Listeria monocytogenes* inoculated in minced fish meat. *Food Control* 35(1):177-183.
- Aboulmagd, E., H. Al-Mohammed, ve S. Al-Badry. 2011. Synergism and postantibiotic effect of green tea extract and imipenem against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Microbiol. J* 1(3):89-96.
- Al-dhaher, Z. A. 2008. The antibacterial activity of aqueous extract of cinnamon and clove against *Staphylococcus aureus*. *Al-Nahrain Journal of Science* 11(2):131-135.
- Ateş, D. A., ve O. Turgay. 2003. Antimicrobial activities of various medicinal and commercial plant extract. *Turk J Biol* 27:157-162.
- Averill, F., ve G. Painter. 1992. Steepest-descent determination of occupation numbers and energy minimization in the local-density approximation. *Physical Review B* 46(4):2498.
- Baban, S. 2017. Prevalence and Antimicrobial Susceptibility of Extended Spectrum Beta-Lactamase-Producing *Klebsiella pneumoniae* isolated from Urinary Tract Infection.
- Bal, Ç. 1999. Antibiyotik Kombinasyonlarının İn vitro Etkinliğinin Saptanması. *Flora İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji Dergisi*, 4(4):219-229.
- Baydar, H., O. Sağdıç, G. Özkan, ve T. Karadoğan. 2004. Antibacterial activity and composition of essential oils from *Origanum*, *Thymbra* and *Satureja* species with commercial importance in Turkey. *Food Control* 15(3):169-172.
- Bhardwaj, M., B. Singh, D. Sinha, P. Vadhana, O. Vinodhkumar, S. Singh, N. Kr, P. Shree, ve A. Saraf. 2016. Potential of Herbal Drug and Antibiotic Combination Therapy: A New Approach to Treat Multidrug Resistant Bacteria. *Pharmaceutica Analytica Acta* 7:1-4.
- Bonapace, C. R., J. A. Bosso, L. V. Friedrich, ve R. L. White. 2002. Comparison of methods of interpretation of checkerboard synergy testing. *Diagnostic microbiology and infectious disease* 44(4):363-366.
- Bonapace, C. R., R. L. White, L. V. Friedrich, ve J. A. Bosso. 2000. Evaluation of antibiotic synergy against *Acinetobacter baumannii*: a comparison with Etest,

time-kill, and checkerboard methods. *Diagnostic microbiology and infectious disease* 38(1):43-50.

Boskovic, M., N. Zdravkovic, J. Ivanovic, J. Janjic, J. Djordjevic, M. Starcevic, ve M. Z. Baltic. 2015. Antimicrobial Activity of Thyme (*Tymus vulgaris*) and Oregano (*Origanum vulgare*) Essential Oils against Some Food-borne Microorganisms. *Procedia Food Science* 5:18-21.

Bussmann, R., N. Zambrana, S. Sikharulidze, Z. Kikvidze, D. Kikodze, T. Jinjikhadze, T. Shanshiashvili, D. Chelidze, K. Batsatsashvili, ve N. Bakanidze. 2014. Wine, Beer, Snuff, Medicine, and Loss of Diversity – Ethnobotanical travels in the Georgian Caucasus. *Ethnobotany Research and Applications* 12

Büyük, A., F. F. Yilmaz, S. G. Yurtsever, ve M. H. Limoncu. 2017. Antibiotic resistance profiles and genotypes of *Acinetobacter baumannii* isolates and in vitro interactions of various antibiotics in combination with tigecycline and colistin. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences* 14(1):13.

C, P., P. A, V. I, I. Bogdan, I. Gageanu, L. Popa, ve V. Vladut. 2014. Study regarding biochemical characterization and some preparations from nettle and wormwood in order to capitalize them as bioinsecticide / biofertilizers in organic agriculture. *ANNALS OF THE UNIVERSITY OF CRAIOVA - AGRICULTURE, MONTANOLOGY, CADASTRE* 44:175-185.

Cabrera, C., R. Artacho, ve R. Giménez. 2006. Beneficial effects of green tea—a review. *Journal of the American College of Nutrition* 25(2):79-99.

Case, D. A., V. Babin, J. Berryman, R. Betz, Q. Cai, D. Cerutti, T. Cheatham Iii, T. Darden, R. Duke, ve H. Gohlke. 2014. *Amber* 14.

Chacko, S. M., P. T. Thambi, R. Kuttan, ve I. Nishigaki. 2010. Beneficial effects of green tea: a literature review. *Chinese medicine* 5(1):13.

Chang, S.-T., P.-F. Chen, ve S.-C. Chang. 2001. Antibacterial activity of leaf essential oils and their constituents from *Cinnamomum osmophloeum*. *Journal of Ethnopharmacology* 77(1):123-127.

Chaudhary, K. K., ve N. Mishra. 2016. A review on molecular docking: novel tool for drug discovery. *databases* 3(4)

Cho, Y.-S., J. Oh, ve K.-H. Oh. 2011. Synergistic anti-bacterial and proteomic effects of epigallocatechin gallate on clinical isolates of imipenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*. *Phytomedicine : international journal of phytotherapy and phytopharmacology* 18:941-946.

Chuah, E., Z. Zakaria, Z. Suhaili, S. A. Bakar, ve M. Desa. 2014. Antimicrobial activities of plant extracts against methicillin-susceptible and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of Microbiology Research* 4(1):6-13.

- Cui, Y., S. H. Kim, H. Kim, J. Yeom, K. Ko, W. Park, ve S. Park. 2012. AFM Probing the Mechanism of Synergistic Effects of the Green Tea Polyphenol (-)-Epigallocatechin-3-Gallate (EGCG) with Cefotaxime against Extended-Spectrum Beta-Lactamase (GSBL)-Producing *Escherichia coli*. *PloS one* 7(11):e48880.
- Dahiya, P., ve S. Purkayastha. 2012. Phytochemical Screening and Antimicrobial Activity of Some Medicinal Plants Against Multi-drug Resistant Bacteria from Clinical Isolates. *Indian journal of pharmaceutical sciences* 74:443-450.
- Dauqan, E. M., ve A. Abdullah. 2017. Medicinal and functional values of thyme (*Thymus vulgaris* L.) herb. *Journal of Applied Biology & Biotechnology* 5(2):17-22.
- De Vico, G., V. Guida, ve F. Carella. 2018. *Urtica dioica* (Stinging Nettle): A Neglected Plant With Emerging Growth Promoter/Immunostimulant Properties for Farmed Fish. *Front Physiol* 9:285.
- Dey, D., S. Ghosh, R. Ray, ve B. Hazra. 2016. Polyphenolic Secondary Metabolites Synergize the Activity of Commercial Antibiotics against Clinical Isolates of β -Lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae*. *Phyther Res* 30(2):272-282.
- Dhara, L., ve A. Tripathi. 2020. Cinnamaldehyde: a compound with antimicrobial and synergistic activity against GSBL-producing quinolone-resistant pathogenic *Enterobacteriaceae*. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases* 39(1):65-73.
- Dornier, M., H. Lallemand, N. Pirot, ve M. Reynes. 2000. Cinnamon: history, production and principal characteristics. *Fruits* 55(6):421-432.
- El-Hosseiny, L., M. El-Shenawy, M. Haroun, ve F. Abdullah. 2014. Comparative Evaluation of the Inhibitory Effect of Some Essential Oils with Antibiotics against *Pseudomonas aeruginosa*. *International Journal of Antibiotics* 2014
- El Astal, Z., A. Ashour, ve A. Kerrit. 2005. Antimicrobial activity of some medicinal plant extracts in Palestine. *Pak. J. Med. Sci* 21(2):187-193.
- Eliopoulos, G. M., L. L. Maragakis, ve T. M. Perl. 2008. *Acinetobacter baumannii*: epidemiology, antimicrobial resistance, and treatment options. *Clinical infectious diseases* 46(8):1254-1263.
- Ennacerie, F.-Z., F. Rhazi Filali, N. Moukrad, ve A. Ed-Dra. 2017. Antibacterial synergistic effect of extracts of the organs of *capparis spinosa* in combination with antibiotics. *International Journal of Advanced Research* 5:1238-1247.
- Eucast Version 11.0. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 11.0, 2021. <http://www.eucast.org>.

- Evans, B. A., ve S. G. B. Amyes. 2014. OXA β -lactamases. *Clin Microbiol Rev* 27(2):241-263.
- Fadli, M., A. Saad, S. Sayadi, J. Chevalier, N.-E. Mezrioui, J.-M. Pagès, ve L. Hassani. 2012. Antibacterial activity of *Thymus maroccanus* and *Thymus broussonetii* essential oils against nosocomial infection – bacteria and their synergistic potential with antibiotics. *Phytomedicine* 19(5):464-471.
- Farrag, H. A., N. Abdallah, M. M. K. Shehata, ve E. M. Awad. 2019. Natural outer membrane permeabilizers boost antibiotic action against irradiated resistant bacteria. *J Biomed Sci* 26(1):69.
- Ferrer-Gallego, P. P., A. Peris, E. Laguna, ve G. Mateo Sanz. 2013. *Thymus vulgaris* subsp. *mansanetianus* subsp. nov. (Lamiaceae). *Flora Montiberica* 54:144-149.
- Gavaric, N., S. S. Mozina, N. Kladar, ve B. Bozin. 2015. Chemical profile, antioxidant and antibacterial activity of thyme and oregano essential oils, thymol and carvacrol and their possible synergism. *Journal of essential Oil Bearing plants* 18(4):1013-1021.
- Ghaima, K. K., N. M. Hashim, ve S. A. Ali. 2013. Antibacterial and antioxidant activities of ethyl acetate extract of nettle (*Urtica dioica*) and dandelion (*Taraxacum officinale*). *Journal of Applied Pharmaceutical Science* 3(5):96.
- Hacioglu, M., S. Dosler, A. S. B. Tan, ve G. Otuk. 2017. Antimicrobial activities of widely consumed herbal teas, alone or in combination with antibiotics: an in vitro study. *PeerJ* 5:e3467.
- Howard, A., M. O'Donoghue, A. Feeney, ve R. D. Sleator. 2012. *Acinetobacter baumannii*: an emerging opportunistic pathogen. *Virulence* 3(3):243-250.
- Hu, Z.-Q., W.-H. Zhao, Y. Yoda, N. Asano, Y. Hara, ve T. Shimamura. 2002. Additive, indifferent and antagonistic effects in combinations of epigallocatechin gallate with 12 non- β -lactam antibiotics against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 50(6):1051-1054.
- Husain, I., R. Ahmad, A. Chandra, S. Raza, Y. Shukla, ve F. Mahdi. 2018. Phytochemical Characterization, Biological Activity Evaluation of Ethanolic Extract of *Cinnamomum zeylanicum* and Molecular Docking Analysis of Active Component Cinnamaldehyde against Selected Protein Targets. *Journal of ethnopharmacology* 219
- Imelouane, B., H. Amhamdi, J.-P. Wathelet, M. Ankit, K. Khedid, ve A. El Bachiri. 2009. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of thyme (*Thymus vulgaris*) from Eastern Morocco. *Int. J. Agric. Biol* 11(2):205-208.

- Ivanovic, J., D. Misic, I. Zizovic, ve M. Ristic. 2012. In vitro control of multiplication of some food-associated bacteria by thyme, rosemary and sage isolates. *Food Control* 25(1):110-116.
- Jazani, N. H., S. Shahabi, ve A. A. Ali. 2007. Antibacterial effects of water soluble green tea extracts on multi-antibiotic resistant isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 10(9):1544-1546.
- Jesus, M. B. D., M. Ehlers, R. F. Santos, ve M. Kock. 2015. Review - Understanding β -lactamase Producing *Klebsiella pneumoniae*
- Joshi, B., M. Mukhija, ve A. Kalia. 2014. Pharmacognostical review of *Urtica dioica* L. *International Journal of Green Pharmacy* 8:201-209.
- Kaitany, K.-C. J., N. V. Klinger, C. M. June, M. E. Ramey, R. A. Bonomo, R. A. Powers, ve D. A. Leonard. 2013. Structures of the class D carbapenemases OXA-23 and OXA-146: mechanistic basis of activity against carbapenems, extended-spectrum cephalosporins, and aztreonam. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 57(10):4848-4855.
- Kaskatepe, B., M. E. Kiyimaci, S. Suzuk, S. A. Erdem, S. Cesur, ve S. Yildiz. 2016. Antibacterial effects of cinnamon oil against carbapenem resistant nosocomial *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa* isolates. *Industrial Crops and Products* 81:191-194.
- Keynan, Y., ve E. Rubinstein. 2007. The changing face of *Klebsiella pneumoniae* infections in the community. *International Journal of Antimicrobial Agents* 30(5):385-389.
- Khafaji, S. 2018. Subject Review: Pharmacological Application of Thyme. *Advances in Animal and Veterinary Sciences* 6
- Khan, I., A. Bahuguna, P. Kumar, V. K. Bajpai, ve S. C. Kang. 2017. Antimicrobial potential of carvacrol against uropathogenic *Escherichia coli* via membrane disruption, depolarization, and reactive oxygen species generation. *Frontiers in Microbiology* 8:2421.
- Khan, I., A. Bahuguna, S. Shukla, F. Aziz, A. K. Chauhan, M. B. Ansari, V. K. Bajpai, Y. S. Huh, ve S. C. Kang. 2020. Antimicrobial potential of the food-grade additive carvacrol against uropathogenic *E. coli* based on membrane depolarization, reactive oxygen species generation, and molecular docking analysis. *Microbial Pathogenesis* 142:104046.
- Khazaei, M., M. Khazaei, ve M. Pazhouhi. 2020. An overview of therapeutic potentials of *Rosa canina*: a traditionally valuable herb.
- Körpe, D. A., Ö. D. İşeri, F. I. Sahin, E. Cabi, ve M. Haberal. 2013. High-antibacterial activity of *Urtica* spp. seed extracts on food and plant pathogenic bacteria. *International Journal of Food Sciences & Nutrition* 64(3):355-362.

- La Storia, A., D. Ercolini, F. Marinello, R. Di Pasqua, F. Villani, ve G. Mauriello. 2011. Atomic force microscopy analysis shows surface structure changes in carvacrol-treated bacterial cells. *Research in Microbiology* 162(2):164-172.
- Lee, S., G. S. Razqan, ve D. H. Kwon. 2017. Antibacterial activity of epigallocatechin-3-gallate (EGCG) and its synergism with β -lactam antibiotics sensitizing carbapenem-associated multidrug resistant clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. *Phytomedicine* 24:49-55.
- Li, B., Y. Zhao, C. Liu, Z. Chen, ve D. Zhou. 2014. Molecular pathogenesis of *Klebsiella pneumoniae*. *Future microbiology* 9(9):1071-1081.
- Liu, C.-S., T.-M. Cham, C.-H. Yang, H.-W. Chang, C.-H. Chen, ve L.-Y. Chuang. 2007. Antibacterial properties of Chinese herbal medicines against nosocomial antibiotic resistant strains of *Pseudomonas aeruginosa* in Taiwan. *The American journal of Chinese medicine* 35(06):1047-1060.
- Liu, D. C., ve J. Nocedal. 1989. On the limited memory BFGS method for large scale optimization. *Mathematical programming* 45(1-3):503-528.
- Magi, G., E. Marini, ve B. Facinelli. 2015. Antimicrobial activity of essential oils and carvacrol, and synergy of carvacrol and erythromycin, against clinical, erythromycin-resistant Group A *Streptococci*. *Frontiers in microbiology* 6:165.
- Maheshwari, M., F. Abul Qais, A. S. Althubiani, H. H. Abulreesh, ve I. Ahmad. 2019. Bioactive extracts of *Carum copticum* and thymol inhibit biofilm development by multidrug-resistant extended spectrum β -lactamase producing enteric bacteria. *Biofouling* 35(9):1026-1039.
- Maier, J. A., C. Martinez, K. Kasavajhala, L. Wickstrom, K. E. Hauser, ve C. Simmerling. 2015. ff14SB: improving the accuracy of protein side chain and backbone parameters from ff99SB. *Journal of chemical theory and computation* 11(8):3696-3713.
- Martyna, G. J., M. L. Klein, ve M. Tuckerman. 1992. Nosé–Hoover chains: The canonical ensemble via continuous dynamics. *The Journal of chemical physics* 97(4):2635-2643.
- Mbata, T., L. Debiao, ve A. Saikia. 2008. Antibacterial activity of the crude extract of Chinese green tea (*Camellia sinensis*) on *Listeria monocytogenes*. *African journal of Biotechnology* 7(10)
- Meng, X.-Y., H.-X. Zhang, M. Mezei, ve M. Cui. 2011. Molecular docking: a powerful approach for structure-based drug discovery. *Current computer-aided drug design* 7(2):146-157.
- Mohamed, S. H., D. Salem, M. Azmy, ve N. S. Fam. 2018. Antibacterial and antibiofilm activity of cinnamaldehyde against carbapenem-resistant

- Acinetobacter baumannii* in Egypt: In vitro study. *J Appl Pharm Sci* 8(11):151-156.
- Montazeri, N., E. Baher, F. Mirzajani, Z. Barami, ve S. Yousefian. 2011. Phytochemical contents and biological activities of *Rosa canina* fruit from Iran. *J. Med. Plant. Res* 5(18):4584-4589.
- Morris, G. M., D. S. Goodsell, R. S. Halliday, R. Huey, W. E. Hart, R. K. Belew, ve A. J. Olson. 1998. Automated docking using a Lamarckian genetic algorithm and an empirical binding free energy function. *Journal of computational chemistry* 19(14):1639-1662.
- Morris, G. M., R. Huey, W. Lindstrom, M. F. Sanner, R. K. Belew, D. S. Goodsell, ve A. J. Olson. 2009. AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility. *Journal of computational chemistry* 30(16):2785-2791.
- Motamedi, H., S. M. Seyyednejad, A. Bakhtiari, ve M. Vafaei. 2014. Introducing *Urtica dioica*, a native plant of Khuzestan, as an antibacterial medicinal plant. *Jundishapur journal of natural pharmaceutical products* 9(4)
- Moussaoui, F., ve T. Alaoui. 2016. Evaluation of antibacterial activity and synergistic effect between antibiotic and the essential oils of some medicinal plants. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 6(1):32-37.
- Mukhtar, S., ve I. Ghorri. 2012. Antibacterial activity of aqueous and ethanolic extracts of garlic, cinnamon and turmeric against *Escherichia coli* ATCC 25922 and *Bacillus subtilis* DSM 3256. *International Journal of applied biology and pharmaceutical Technology* 3(2):131-136.
- Naderi, N. J., M. Niakan, M. K. Fard, ve S. Zardi. 2011. Antibacterial activity of Iranian green and black tea on streptococcus mutans: an in vitro study. *Journal of Dentistry (Tehran, Iran)* 8(2):55.
- Nolkemper, S., J. Reichling, F. C. Stintzing, R. Carle, ve P. Schnitzler. 2006. Antiviral effect of aqueous extracts from species of the Lamiaceae family against Herpes simplex virus type 1 and type 2 in vitro. *Planta medica* 72(15):1378-1382.
- Oliveira, A., A. Guimarães, R. Oliveira Junior, J. Quintans, F. Medeiros, J. Barbosa Filho, L. Quintans-Júnior, ve J. R. Almeida. 2016. *Camellia sinensis* (L.) Kuntze: A Review of Chemical and Nutraceutical Properties. p. 44.
- Ooi, L. S., Y. Li, S.-L. Kam, H. Wang, E. Y. Wong, ve V. E. Ooi. 2006. Antimicrobial activities of cinnamon oil and cinnamaldehyde from the Chinese medicinal herb *Cinnamomum cassia* Blume. *The American journal of Chinese medicine* 34(03):511-522.
- Osterburg, A., J. Gardner, S. Hyon, A. Neely, ve G. Babcock. 2009. Highly antibiotic-resistant *Acinetobacter baumannii* clinical isolates are killed by the green tea

polyphenol (-)-epigallocatechin-3-gallate (EGCG). *Clinical Microbiology and Infection* 15(4):341-346.

- Paczosa, M. K., ve J. Meccas. 2016. *Going on the Offense with a Strong Defense*. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 80(3):629. doi: 10.1128/MMBR.00078-15
- Pardo de Santayana, M., ve M. Macía. 2015. BIODIVERSITY The benefits of traditional knowledge. *Nature* 518:487-488.
- Pawar, H. A. 2018. White Tea a Day Keeps Disease Away: A Review. *Curr Trends Biomedical Eng & Biosci.*:15(15): 555925.
- Prabuseenivasan, S., M. Jayakumar, ve S. Ignacimuthu. 2006. In vitro antibacterial activity of some plant essential oils. *BMC complementary and alternative medicine* 6(1):39.
- Priyanka, A., K. Akshatha, V. K. Deekshit, J. Prarthana, ve D. S. Akhila. 2020. *Klebsiella pneumoniae Infections and Antimicrobial Drug Resistance, Model Organisms for Microbial Pathogenesis, Biofilm Formation and Antimicrobial Drug Discovery*. Springer. p. 195-225.
- Radji, M., R. A. Agustama, B. Elya, ve C. R. Tjampakasari. 2013. Antimicrobial activity of green tea extract against isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and multi-drug resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Asian Pacific journal of tropical biomedicine* 3(8):663-667.
- Raei, P., T. Pourlak, M. Y. Memar, N. Alizadeh, M. Aghamali, E. Zeinalzadeh, M. Asgharzadeh, ve H. Kafil. 2017. Thymol and carvacrol strongly inhibit biofilm formation and growth of carbapenemase-producing Gram negative bacilli. *Cell. Mol. Biol.(Noisy-Le-Grand)* 63:108-112.
- Rao, P. V., ve S. H. Gan. 2014. Cinnamon: a multifaceted medicinal plant. *Evid Based Complement Alternat Med* 2014:642942-642942.
- Reddy, P., K. RaviVital, P. V. Varsha, ve S. Satyam. 2014. Review on *Thymus vulgaris* Traditional Uses and Pharmacological Properties. *Medicinal and Aromatic plants* 3:1-3.
- Rovná, K., J. Petrová, M. Terentjeva, J. Cerná, ve M. Kacániová. 2015. Antimicrobial activity of *Rosa canina* flowers against selected microorganisms. *The Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences* 4:62.
- Sağdıç, O., ve M. Özcan. 2003. Antibacterial activity of Turkish spice hydrosols. *Food Control* 14(3):141-143.

- Salehzadeh, A., L. Asadpour, A. S. Naeemi, ve E. Houshmand. 2014. Antimicrobial activity of methanolic extracts of *Sambucus ebulus* and *Urtica dioica* against clinical isolates of methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines* 11(5):38-40.
- Salman, S., ve F. Özdemir. 2018. Beyaz çay: üretimi, bileşimi ve sağlık üzerine etkileri. *Akademik Gıda* 16(2):218-223.
- Santiago, C. 2015. Application of plant metabolites to overcome antibiotic resistance of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), University of Nottingham.
- Schrodinger, L. 2010. The PyMOL molecular graphics system. Version 1(5):0.
- Shan, B., Y.-Z. Cai, J. D. Brooks, ve H. Corke. 2007. Antibacterial properties and major bioactive components of cinnamon stick (*Cinnamomum burmannii*): activity against foodborne pathogenic bacteria. *Journal of agricultural and food chemistry* 55(14):5484-5490.
- Sharma, A., S. Gupta, I. P. Sarethy, S. Dang, ve R. Gabrani. 2012. Green tea extract: Possible mechanism and antibacterial activity on skin pathogens. *Food Chemistry* 135(2):672-675.
- Sheeladevi, A., ve N. Ramanathan. 2012. Antibacterial activity of plant essential oils against food borne bacteria. *International Journal of Pharmaceutical & Biological Archives* 3:1106-1109.
- Silva, D. M., P. A. COSTA, A. O. Ribon, G. A. Purgato, D.-M. GASPAR, ve M. A. Diaz. 2019. Plant Extracts Display Synergism with Different Classes of Antibiotics. *Anais da Academia Brasileira de Ciências* 91(2)
- Singh, R., S. Dar, ve P. Sharma. 2012. Antibacterial activity and toxicological evaluation of semi purified hexane extract of *Urtica dioica* leaves. *Res J Med Plants* 6(2):123-135.
- Siriwong, S., Y. Teethaisong, K. Thumanu, B. Dunkhunthod, ve G. Eumkeb. 2016. The synergy and mode of action of quercetin plus amoxicillin against amoxicillin-resistant *Staphylococcus epidermidis*. *BMC Pharmacology and Toxicology* 17(1):1-14.
- Siriwong, S., K. Thumanu, T. Hengpratom, ve G. Eumkeb. 2015. Synergy and Mode of Action of Ceftazidime plus Quercetin or Luteolin on *Streptococcus pyogenes*. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 2015
- Smith, C. A., N. T. Antunes, N. K. Stewart, M. Toth, M. Kumarasiri, M. Chang, S. Mobashery, ve S. B. Vakulenko. 2013. Structural basis for carbapenemase activity of the OXA-23 β -lactamase from *Acinetobacter baumannii*. *Chemistry & biology* 20(9):1107-1115.

- Smith, C. A., N. K. Stewart, M. Toth, ve S. B. Vakulenko. 2019. Structural Insights into the Mechanism of Carbapenemase Activity of the OXA-48 β -Lactamase. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 63(10):e01202-01219.
- Taylor, P. W., J. M. Hamilton-Miller, ve P. D. Stapleton. 2005. Antimicrobial properties of green tea catechins. *Food science and technology bulletin* 2:71.
- Toda, M., S. Okubo, R. Ohnishi, ve T. Shimamura. 1989. Antibacterial and bactericidal activities of Japanese green tea. *Nihon saikingaku zasshi. Japanese journal of bacteriology* 44(4):669-672.
- Tohidpour, A., M. Sattari, R. Omidbaigi, A. Yadegar, ve J. Nazemi. 2010. Antibacterial effect of essential oils from two medicinal plants against Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Phytomedicine* 17(2):142-145.
- URL-1. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Carvacrol> (9 Kasım 2020 15:57).
- URL-2. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Cinnamaldehyde#section=Structures> (19 Aralık 2020, 14:00).
- URL-3. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Epigallocatechin-gallate#section=2D-Structure> (19 Aralık 2020, 14:05).
- URL-4. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5280343#section=Structures> (19 Kasım 2020, 14:10).
- URL-5. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/6989#section=2D-Structure> (19 Kasım 2020, 14:15).
- Usman Amin, M., M. Khurram, T. A. Khan, H. S. Faidah, Z. Ullah Shah, S. Ur Rahman, A. Haseeb, M. Ilyas, N. Ullah, ve S. M. Umar Khayam. 2016. Effects of luteolin and quercetin in combination with some conventional antibiotics against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *International Journal of Molecular Sciences* 17(11):1947.
- Wang, J., R. M. Wolf, J. W. Caldwell, P. A. Kollman, ve D. A. Case. 2004. Development and testing of a general amber force field. *Journal of computational chemistry* 25(9):1157-1174.
- Warnke, P. H., S. T. Becker, R. Podschun, S. Sivananthan, I. N. Springer, P. A. J. Russo, J. Wiltfang, H. Fickenscher, ve E. Sherry. 2009. The battle against multi-resistant strains: Renaissance of antimicrobial essential oils as a promising force to fight hospital-acquired infections. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery* 37(7):392-397.
- Wolska, K. I., K. Grzes, ve A. KuREK. 2012. Synergy between novel antimicrobials and conventional antibiotics or bacteriocins. *Pol J Microbiol* 61(2):95-104.

- Yap, P. S., T. Krishnan, K. G. Chan, ve S. H. Lim. 2015. Antibacterial Mode of Action of *Cinnamomum verum* Bark Essential Oil, Alone and in Combination with Piperacillin, Against a Multi-Drug-Resistant *Escherichia coli* Strain. *J Microbiol Biotechnol* 25(8):1299-1306.
- Yilmaz, S. O., ve S. Ercisli. 2011. Antibacterial and antioxidant activity of fruits of some rose species from Turkey. *Rom Biotech Lett* 16(4):6407-6411.
- Zeković, Z., A. Cvetanović, J. Švarc-Gajić, S. Gorjanović, D. Sužnjević, P. Mašković, S. Savić, M. Radojković, ve S. Đurović. 2017. Chemical and biological screening of stinging nettle leaves extracts obtained by modern extraction techniques. *Industrial Crops and Products* 108:423-430.
- Zenão, S., A. Aires, C. Dias, M. J. Saavedra, ve C. Fernandes. 2017. Antibacterial potential of *Urtica dioica* and *Lavandula angustifolia* extracts against methicillin resistant *Staphylococcus aureus* isolated from diabetic foot ulcers. *Journal of Herbal Medicine* 10:53-58.
- Zhang, Y., X. Liu, Y. Wang, P. Jiang, ve S. Quek. 2016. Antibacterial activity and mechanism of cinnamon essential oil against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Food Control* 59:282-289.
- Zhao, W.-H., Z.-Q. Hu, Y. Hara, ve T. Shimamura. 2002. Inhibition of penicillinase by epigallocatechin gallate resulting in restoration of antibacterial activity of penicillin against penicillinase-producing *Staphylococcus aureus*. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 46(7):2266-2268.
- Zhao, W. H., N. Asano, Z. Q. Hu, ve T. Shimamura. 2003. Restoration of antibacterial activity of beta-lactams by epigallocatechin gallate against beta-lactamase-producing species depending on location of beta-lactamase. *J Pharm Pharmacol* 55(6):735-740.
- Živković, J., D. Stojković, J. Petrović, G. Zdunić, J. Glamočlija, ve M. Soković. 2015. *Rosa canina* L.–new possibilities for an old medicinal herb. *Food & function* 6(12):3687-3692.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı:	Eda AYDEMİR				Fotoğraf
Doğum Yeri:	Şavşat				
Doğum Tarihi:	1992				
Medeni Durumu:	Evli				
Öğrenim Durumu					
Derece	Okulun Adı	Program	Yer	Yıl	
İlköğretim	Şavşat Atatürk İlk Öğretim Okulu		Şavşat	2005	
Lise	Şavşat Çok Programlı Lisesi		Şavşat	2009	
Lisans	Kafkas Üniversitesi Eğitim Fakültesi	Fen Bilgisi Öğretmenliği	Kars	2014	
Yüksek Lisans					
İş Deneyimi:					
Hakkımda bilgi almak için önerebileceğim şahıslar:					
e-posta	edaa.dedee@hotmail.com				
Yayınlarıım:					