

**T.C.**  
**ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**ÇANAKKALE (TÜRKİYE) İLİNDE TOPLANAN**  
**PROPOLİS ÖRNEKLERİNİN**  
**ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTELERİ**  
**ÜZERİNE ÇALIŞMALAR**

**Selvi DUMAN**

**Biyoloji Anabilim Dalı**

**Tezin Sunulduğu Tarih: 07/06/2010**

**Tez Danışmanı:**

**Doç. Dr. Başaran DÜLGER**

**ÇANAKKALE**

## YÜKSEK LİSANS TEZİ SINAV SONUÇ FORMU

SELVİ DUMAN tarafından DOÇ. DR. BAŞARAN DÜLGER yönetiminde hazırlanan “ÇANAKKALE (TÜRKİYE) İLİNDE TOPLANAN PROPOLİS ÖRNEKLERİNİN ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTELERİ ÜZERİNE ÇALIŞMALAR” başlıklı tez tarafımızdan okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Başaran DÜLGER

---

Danışman

Prof. Dr. Selehattin YILMAZ

Doç.Dr. Cüneyt AKI

---

Jüri Üyesi

---

Jüri Üyesi

Sıra No: 512

Tez Savunma Tarihi: 07/06/2010

Prof. Dr. İsmail TARHAN

---

Müdür

Fen Bilimleri Enstitüsü

## İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI

**Bu tezde görsel, işitsel ve yazılı biçimde sunulan tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uyularak tarafımdan elde edildiğini, tez içinde yer alan ancak bu çalışmaya özgü olmayan tüm sonuç ve bilgileri tezde kaynak göstererek belirttiğimi beyan ederim.**

Selvi DUMAN

## TEŞEKKÜR

Lisan ve Yüksek Lisans öğrenimin süresince, her zaman bilgi ve önerileriyle yol gösteren Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü Öğretim Üyesi değerli hocam Doç. Dr. Başaran DÜLGER'e teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Tez çalışmasında kullanılan propolis örneklerinin temin edilmesinde yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Ziraat Mühendisliği Bölümü Öğretim Üyesi Sayın Prof. Dr. Harun BAYTEKİN'e ve Çanakkale Arı Yetiştiriciliği Birliği Başkanı Sayın Cahit İLERİ'ye teşekkür ederim.

Tezimin her aşamasında yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen, öğrettiklerinin yanında değerli arkadaşlığından dolayı Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü Araş. Gör. Nurcihan HACIOĞLU'na çok teşekkür ederim.

Manevi desteğini her zaman hissettiğim ve hissedeceğimi bildiğim dostluğu ile bana çok şey katan değerli arkadaşım Özlem KÖSE'ye teşekkür ederim.

Doğduğum günden bugüne sevgilerini her zaman hissettiğim, eğitim hayatımın her aşamasında maddi ve manevi her türlü emek ve özveriyi gösteren annem Zehra DUMAN, babam Adnan DUMAN, dedem Hasan ŞEN ve ablalarımın ömrüm boyunca teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Selvi DUMAN

## SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

|                |   |
|----------------|---|
| <b>ATCC</b>    | : American Type Culture Collection  |
| <b>cm</b>      | : Santimetre  |
| <b>mg</b>      | : Miligram  |
| <b>mm</b>      | : Milimetre   |
| <b>mL</b>      | : Mililitre   |
| <b>μ</b>       | : Mikron  |
| <b>μg</b>      | : Mikrogram   |
| <b>μL</b>      | : Mikrolitre  |
| <b>DSM</b>     | : Deutsche Sammlung von Microorganismen, Grisebachstrasse 80-3400<br>Göttingen, Germany |
| <b>m</b>       | : Metre   |
| <b>SAM 20</b>  | : Ampicilin   |
| <b>NY 100</b>  | : Nystatin  |
| <b>P 10</b>    | : Penicilin   |
| <b>KETO 20</b> | : Ketocanazole  |
| <b>CHL 10</b>  | : Chloramphenicol   |
| <b>CLT 30</b>  | : Clotromizole  |
| <b>AK 30</b>   | : Amikasin  |
| <b>NT</b>      | : Denenmedi   |
| <b>CCM</b>     | : Czechoslovak Collection of Microorganisms, Brno, Czechovakla                          |
| <b>EEP</b>     | : Ethanolik Ekstrakt Propolis   |
| <b>MİK</b>     | : Minimum İnhibitör Konsantrasyonu  |
| <b>CAPE</b>    | : Caffaic Acid Phenethyl Ester  |
| <b>P1</b>      | : Çanakkale Derenti köyünden toplanan propolis örneği                                   |
| <b>P2</b>      | : Çanakkale Kumkale (Kırkgözler yöresi) bölgesinden toplanan propolis örneği            |
| <b>P3</b>      | : Çanakkale Özbek köyünden toplanan propolis örneği                                     |
| <b>P4</b>      | : Çanakkale Evciler köyünden toplanan propolis örneği (karakovan)                       |

## ÖZET

### ÇANAKKALE (TÜRKİYE) İLİNDE TOPLANAN PROPOLİS ÖRNEKLERİNİN ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTELERİ ÜZERİNE ÇALIŞMALAR

Selvi DUMAN

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Doç. Dr. Başaran DÜLGER

07.06.2010, 74

Bu çalışmada Çanakkale (Türkiye) ilinden toplanan propolis örneklerinin etanol ile ekstraksiyonu yapıldı. Bu çözeltilerden 50 µL alınarak disk difüzyon yöntemi ile *Bacillus cereus* ATCC 7064, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Escherichia coli* ATCC 11230, *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048, *Micrococcus luteus* ATCC 9341, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Salmonella typhimurium* CCM 5445, *Proteus vulgaris* ATCC 6899, *Candida albicans* ATCC 10239, *Debaryomyces hansenii* DSM 70238, *Kluyveromyces fragilis* ATCC 8608, *Rhodotorula rubra* DSM 70403 test mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal aktiviteleri araştırıldı.

Bulgulara göre, P<sub>2</sub> örneği dışındaki tüm örneklerin yüksek antifungal aktiviteye sahip olduğu saptanırken, en yüksek antimikrobiyal etkiye P<sub>4</sub> örneğinin sahip olduğu gözlenmiştir. Ayrıca, *Micrococcus luteus* ATCC 9341 bakteri kültürüne karşı tüm propolis örneklerinin yüksek antibakteriyal etki gösterdiği belirlenmiştir.

Genel olarak, çalışmada kullanılan bütün propolis örneklerinin değişik inhibisyon düzeylerinde test mikroorganizmalarının tümüne karşı etkili olduğu gözlenmiştir.

**Anahtar sözcükler :** Antimikrobiyal aktivite, Disk difüzyon, Propolis.

## ABSTRACT

### INVESTIGATIONS ON ANTIMICROBIAL ACTIVITIES OF PROPOLIS SAMPLES COLLECTED İN ÇANAKKALE (TURKEY) PROVINCE

Selvi DUMAN

Çanakkale Onsekiz Mart University

Graduate School of Science and Engineering

Chair for Biology Thesis of Master of Science

Advisor: Assoc. Prof. Dr. Başaran DÜLGER

07.06.2010, 74

In this study, the extraction of propolis samples collected from Canakkale and its province were done. The antimicrobial activities were investigated against the test microorganisms such as *Bacillus cereus* ATCC 7064, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Escherichia coli* ATCC 11230, *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048, *Micrococcus luteus* ATCC 9341, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Salmonella typhimurium* CCM 5445, *Proteus vulgaris* ATCC 6899, *Candida albicans* ATCC 10239, *Debaryomyces hansenii* DSM 70238, *Kluyveromyces fragilis* ATCC 8608, *Rhodotorula rubra* DSM 70403 with the disc diffusion method by taking 50 µL from this solution.

The findings obtained from the study while all samples have shown high antifungal activity except for P<sub>2</sub> sample, the highest antimicrobial activity is determined in P<sub>4</sub> sample. In addition, all propolis samples have a strong antibacterial activity against *luteus* ATCC 9341.

Generally, all propolis samples used in this study have affective activity in different inhibition levels against all test microorganisms.

**Keywords:** Antimicrobial activity, Disc diffusion, Propolis.

| <b>İÇERİK</b>   | <b>Sayfa</b> |
|---|--------------|
| TEZ SINAVI SONUÇ BELGESİ .....  | ii           |
| İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI .....  | iii          |
| TEŞEKKÜR .....  | iv           |
| SİMGELER VE KISALTMALAR .....   | v            |
| ÖZET .....  | vi           |
| ABSTRACT .....  | vii          |
| <b>BÖLÜM 1- GİRİŞ</b> .....   | <b>1</b>     |
| <b>BÖLÜM 2- ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR</b> .....   | <b>3</b>     |
| <b>2.1. Türkiye’de Arıcılık</b> .....   | 4            |
| <b>2.2. Arı Ürünleri ve Apiterapi</b> .....   | 5            |
| <b>2.3. Propolis</b> .....  | 5            |
| <b>2.3.1. Propolisin Fiziksel Özellikleri</b> .....                                       | 7            |
| <b>2.3.2. Propolisin Kimyasal Özellikleri</b> .....                                       | 7            |
| <b>2.3.3. Propolisin Biyolojik Aktivitesi</b> .....                                       | 10           |
| <b>2.3.4. Geopropolis</b> .....   | 14           |
| <b>2.3.5. İşçi Arılar Tarafından Propolisin Toplanması</b> .....                          | 14           |
| <b>2.3.6. Propolisin Üretimini Engelleleyen Faktörler</b> .....                           | 16           |
| <b>2.3.6.1. İklim</b> .....   | 16           |
| <b>2.3.6.2. Arı Tür ve Irkları</b> .....  | 17           |
| <b>2.3.6.3. Bitki Kaynakları</b> .....  | 17           |
| <b>2.3.6.4. Üretim ve Pazarlama</b> .....   | 17           |
| <b>2.3.7. Arılar Tarafından Propolisin Kullanımı ve Önemi</b> .....                       | 17           |
| <b>2.3.8. Propolisin Bitkisel Kaynakları</b> .....  | 18           |
| <b>2.3.9. Propolisin Kullanım Şekilleri ve Kullanım Alanları</b> .....                    | 19           |
| <b>2.3.10. Propolis ile Yapılan Ürünler</b> .....   | 21           |
| <b>2.4. Antibiyotikler ve Kemoterapötiklerin Mikroorganizmalar Üzerine Etkileri</b> ..... | 23           |
| <b>2.5. Antimikrobiyal Maddelerin Etki Mekanizmaları</b> .....                            | 25           |
| <b>2.5.1. Hücre Duvarı Sentezini Durdurma</b> .....                                       | 25           |
| <b>2.5.2. Hücre Zarı İşlevini Bozma</b> .....   | 26           |
| <b>2.5.3. Protein Sentezini Bozma</b> .....   | 26           |
| <b>2.5.4. Nükleik Asitleri Bozma</b> .....  | 27           |



|  |           |
|--|-----------|
| 2.5.5. Antimetabolitler .....  | 27        |
| 2.6. Antimikrobiyal Özelliklerinin Belirlenmesinde Kullanılan Teknikler .. | 27        |
| 2.6.1. Katı ve Sıvı Besiyerlerinde Seyreltme (Dilüsyon) Yöntemi .....      | 28        |
| 2.6.2. Disk Difüzyon Yöntemi .....   | 28        |
| 2.6.3. Gradient Difüzyon ( E-Test ) Yöntemi .....                          | 28        |
| 2.6.4. Antimikrobik Ajanları İnaktive Eden Enzimlerin Saptanması ....      | 29        |
| 2.7. Antimikrobik İlaçlara Karşı Direnç Kazanma Mekanizmaları .....        | 29        |
| 2.7.1. Doğal Direnç .....  | 30        |
| 2.7.2. Kazanılmış (Kalıtsal) Direnç .....                                  | 30        |
| 2.8. Propolis Üzerine Yapılan Önceki Çalışmalar .....                      | 31        |
| <b>BÖLÜM 3- MATERYAL VE YÖNTEM.....</b>                                    | <b>40</b> |
| 3.1. Materyal .....  | 40        |
| 3.1.1. Çalışmada Kullanılan Propolis Örnekleri                             | 40        |
| 3.1.2. Test Mikroorganizmaları .....                                       | 40        |
| 3.1.3. Kullanılan Çözücü .....   | 41        |
| 3.2. Yöntem .....  | 41        |
| 3.2.1. Propolis Örneklerinin Toplanması                                    | 41        |
| 3.2.2. Ekstrelerin Hazırlanışı .....                                       | 42        |
| 3.2.3. Disklerin ve Mikroorganizma Kültürlerinin Hazırlanması .....        | 44        |
| <b>BÖLÜM 4- ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA .....</b>                      | <b>45</b> |
| 4.1. Araştırma Bulguları ve Tartışma .....                                 | 45        |
| <b>BÖLÜM 5- SONUÇLAR VE ÖNERİLER .....</b>                                 | <b>67</b> |
| <b>KAYNAKLAR .....</b>   | <b>68</b> |
| Çizelgeler .....   | I         |
| Şekiller .....   | II        |
| Özgeçmiş .....   | IV        |

**BÖLÜM 1****GİRİŞ**

Antibiyotik direnci günümüzde hastane ve toplumda giderek önemli bir sağlık sorunu haline gelmektedir. 1930’larda sülfonamidlerin keşfi, sonraki yıllarda penisilin ve diğer antibiyotiklerin bulunması ile antibiyotiklere dirençli mikroorganizmaların neden olduğu infeksiyonların çoğu kontrol altına alınabilmiştir. Ancak mikroorganizmalar bu savaşta yenilgiyi kabullenmemiş ve her yeni çıkan antibiyotiğe değişik yollarla direnç oluşturmuşlardır. Bu durum, daha geniş etkili ve daha az toksik antibiyotiklerin bulunmasına yönelik çalışmaları artırmıştır. Mikroorganizmalar ile olan bu savaş günümüzde de bütün şiddet ve önemiyle sürmektedir (Durupınar, 2001).

Son yıllarda teknoloji ve tıp ne kadar ilerlerse ilerlesin doğal zenginliklerin tükenmesi ve ekonomik olarak ülkelerin girdikleri çıkmazlar, doğal ürünlerin çok amaçlı kullanılmalarını zorunlu kılmıştır (Dülger ve ark., 1999).

Doğal ürünler yüzyıllardır çeşitli hastalıkların tedavisinde insanlar tarafından kullanılmaya başlanmış ve son yıllarda dünya çapında doğal ürünlerin araştırılması ve farmakolojik olarak kullanımında önemli bir artış görülmüştür. Arı ürünleri de bu doğal kaynaklı ürünler arasında yer almaktadır. Arı ürünleri, arının doğrudan vücudundan salgıladığı ürünler olan arı sütü ve arı zehri ile arının bitkilerden topladığı ve kısmen vücut salgılarını eklediği ürünler olan bal, polen ve propolis’dir (Bayrak, 2005). Birçok kaynak arı ürünleri ile tedavinin uzun süredir gerçekleştirildiğini göstermektedir. Bugün ki modern adıyla arı ürünleriyle tedaviye apiterapi denilmektedir ve birçok ülkede apiterapi merkezleri bulunmaktadır.

Propolis; işçi arıların ağaç kabuklarından, bitkilerin filiz, dal ve tomurcuklarından arka bacaklarındaki polen sepetçiklerinde topladığı reçinemsî maddeleri ve bitki salgılarını, başlarında bulunan salgı bezlerinden salgılanan enzimlerle biyokimyasal değişikliğe uğratarak bir miktar bal mumu karıştırarak oluşturdukları, edinildiği kaynağa göre kirli sarıdan koyu kahverengine kadar değişen renkte ve oda sıcaklığında yarı katı halde olan yapışkan organik bir maddedir. Sıcaklığın 24 °C ve rutubetin % 40-65 olduğu kovan içi, virüsler, bakteriler ve funguslar için çok ideal bir ortam oluşturmasına rağmen, bal arıları propolis sayesinde yaşamlarını sürdürmektedir (Seven ve ark., 2007).

Propolis içeriği toplanılan kaynağa, arı türü, arı ırkı ve ekolojik koşullara bağlı olarak değişim gösterebilmektedir. Yapısında 150 kimyasal bileşik, 20’den fazla mineral madde,

balmumu, reçine ve polen bulunmaktadır (Bayrak, 2005). Yapılan literatür taramalarına göre propolis; antimikrobiyal, antiviral, antifungal, antiinflamatuvar, antihepatotoksik, antikanser, antioksidan, antiülser, immünostimülasyon ve lokal anestezik etkiler göstermektedir (Özan, 2006). Propolis bir yandan immün sistemi güçlendirirken, bir yandan da her türlü enfeksiyonlarla mücadelede başarı göstermiştir, bu sentetik ilaçların yapamadığı bir durumdur (Bayrak, 2005).

Türkiye doğal koşullarının, uygun iklim ve floral zenginliği doğrultusunda büyük bir arıcılık potansiyeline sahiptir. Arıcılık, bitkisel üretime olan katkısı ve insan sağlığındaki önemi nedeni ile de Türkiye'nin en yaygın ve geleneksel tarımsal etkinliklerinden biridir (Sıralı, 2002).

Mevcut bilgiler ışığında gelinen noktada propolis örneklerinin ileri çalışmalarda antimikrobiyal etki gösteren ham maddelerin kimyasal yapı analizleriyle etken maddeleri saptanabilir ve bu bileşiklerin mikroorganizmalar üzerindeki etki mekanizmaları araştırılarak aydınlatılabilir. Sonuç itibarıyla arıcılığın yaygın olarak yapıldığı ülkemizde çok bilinmeyen fakat birçok faydası bulunan propolisin bu etken bileşiklerin daha ayrıntılı çalışılmasıyla her bölgeye özgü propolis örneklerinin standardizasyonu yapılarak insanlık açısından kullanılabilirliği yüksek doğal ürün olarak ülke pazarına sunulabilir.

**BÖLÜM 2****ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR**

Arıcılık tarihi insanlık tarihi kadar eskidir. Bal arısının yaptığı bal ilk çağlardan beri insanoğlu için en önemli besin kaynaklarından birisidir (Ergün, 2003). İspanya’ da Aranas Mağarası’nda bulunan ve M.Ö. 4000 yılında çizildiği belirlenen bir kaya resminde, arı yuvasından bal alan bir insan figürüne rastlanmıştır (Tutkun ve Boşgelmez, 2003). Mağarada bulunan resim, kayaya halatlarla tırmanan bir insanı göstermektedir. Kaya üzerinde çizilen deliğin etrafında arılar vardır. Resimde kayaya tırmanan kişi, deliğin önünde, bal peteklerini elindeki kaba koymaktadır. Bu resim bize arıcılığın ilk çağlardan beri yapıldığını göstermektedir (Ergün, 2003).



**Şekil 2.** Arı yuvasından bal alan insan figürü.

[www.thehoneygatherers.com/html/photolibrary7.html](http://www.thehoneygatherers.com/html/photolibrary7.html)

[www.bee-craft.com/beekeeping-information-history.htm](http://www.bee-craft.com/beekeeping-information-history.htm)

Yazının bulunmasıyla beraber arıcılık da belgelere geçmiştir. Mısır firavunlarının mezarlarında, piramitlerde su kemerlerinden yapılmış çanaklarda bal ve bal mumunun bulunması, arıcılığın bundan 4000 yıl önce Mısır’ da yapıldığının delilidir. Mısırlılar arılı kovanları Nil nehri üzerinde naklederek gezginci arıcılık yapmıştır. Gezginci arıcılığın temelini teşkil eden bilgiler Mısırlılardan elde edilmiştir. Birçok kaynak arıcılığın Mısır’dan Yunanistan’a, Filistin ve Kıbrıs’a, oradan da Ön Asya ve Avrupa’ya yayıldığını bildirmektedir.

Babilliler de M.Ö. 1300 yıllarında balı, gıda ve ilaç olarak kullanmışlardır. Boğazkale kazılarında M.Ö. 1300 yıllarında Hititlerin de arıcılık yaptığı, hatta kanunlarının 9. Maddesinde “ Evvelce arı oğlu hırsızı, 1 gümüş mina ile cezalandırılırdı, şimdi ise 5 gümüş şekel ile cezalandırılır, evini teminat gösterir” denilmektedir. Bundan 3000 yıl önce Hindistan’da bal üretimi yapıldığı belgelerden anlaşılmaktadır. Eski yunanlılardan Aristo, kitabında ana arı, işçi arı ve erkek arıdan söz etmiştir. Aristo kitabında ayrıca arıların çiçek tozu taşıdığını ve bal mumu yaptıklarını yazmıştır. Romalılar arılarla ilgili çok sayıda yazılı eser bırakmışlardır (Ergün, 2003).

Bal arısının, doğadaki ilk yaşama yerleri olarak bilinen yaşlı ağaç gövdeleri ve kaya oyukları arasından çıkartılarak, fenni kovanlara alınması ve uygun yaşam koşullarının sağlanmaya çalışılmasıyla bugünkü modern arıcılık benimsenerek yaygınlaştırılmıştır. İnsanoğlunun bütün çabaları, bal ve birbirinden kıymetli diğer arı ürünlerini elde etmek ve polinasyonu yaygınlaştırmak amacıyla gerçekleştirilmiştir (Tutkun ve Boşgelmez, 2003).

### **2.1. Türkiye’ de Arıcılık**

Arıcılık, Anadolu insanının bir geleneği olarak Türkiye’de çok eski dönemlerden beri yapılmaktadır. Geçmiş çok eskiye dayanmasına rağmen arıcılığın gelişmesi bilim ve teknolojiye bağlı olarak son yüzyıllarda olmuştur. Türkiye’de arı ürünleri arasında bal, polen, balmumu, propolis ve bir miktar da arı sütü üretilmekte olup, arı zehri üretimi gelişmemiştir. Tıp alanında, arı zehrine karşı bağışıklık sisteminin güçlendirilmesi ve romatizmal hastalıkların tedavisinde de kullanılan arı zehrinin üretimi için özel düzeneklere ihtiyaç vardır. Ancak sınırlı kullanım alanından dolayı dünya üzerindeki üretim ve ticaret hacmi de sınırlıdır (Vatansever, 2004).

Arıcılık, bir tarım ülkesi olan ve nüfusunun yaklaşık yarısı köylerde yaşayan Türkiye için ayrı bir önem arz eder. Toprağı olmayan veya az topraklı, orman içi ve kenarı köylerde yaşayan insanlara en kolay iş ve kazanç imkânı yaratmanın yolu arıcılıktan geçer. Türkiye’nin çok zengin bir bitki örtüsüne ve farklı iklim kuşaklarına sahip oluşu

arıcılığımızın gelişmesine önemli katkılarda bulunmaktadır. Nitekim son 10 yılda kovan varlığımız ve bal üretimimiz yaklaşık iki kat artarak sırasıyla 4 milyona ve 63 bin tona ulaşmıştır. Ayrıca, Türkiye’ de hem kovan varlığı hem de bal üretimi bakımından Dünyada 4. sırada bulunmaktadır ki bu da oldukça olumlu bir gelişmedir (Vatansever, 2004).

### **2.2. Arı Ürünleri ve Apiterapi**

Günümüzde kullanılan sentetik ilaçların yan etkilerinin ortaya çıkması ve hastalık etmenlerinin bu ilaçlara karşı direnç kazanması insanları doğal ilaç olarak bilinen ürünlerin tüketimine yönlendirmiştir. Bu doğal ürünler arasında en yaygın olarak kullanılanlardan birisi de arılardan elde edilen ürünlerdir. Arı ürünlerinin tümü birçok hastalıkta, hastalığın ilerlemesinin önüne geçmek, ağrıların azaltılması ve tedavi edilmesi amacıyla kullanılmaktadır. Bal arısı ürünlerinin tedavi amacıyla kullanılmasına Apiterapi denilmektedir. Apiterapi arıcılık kadar eskidir (Bayrak, 2005). 2000 yıl önceki tıpçılar tarafından yazılan Çin metinlerinde halk arasında hastalıkların tedavisinde arı ürünlerinin ilaç olarak kullanıldığına dair açıklamalar bulunmaktadır. Apiterapi bal, propolis, arı sütü, polen ve arı zehri kullanımını kapsar (Zumla, 1989; Bayrak, 2005). Arı ürünleri, arının doğrudan vücudundan salgıladığı ürünler olan arı sütü ve arı zehri ile arının bitkilerden topladığı ve kısmen vücut salgılarını eklediği ürünler olan bal, polen ve propolis’dir (Bayrak, 2005).

### **2.3. Propolis**

Propolis kelime anlamı eski Yunanca’dan gelmektedir. “Pro”; ön, giriş ve “polis”; şehir anlamına gelmekte, bal arılarının kovan savunması ile ilgili olarak kullanılmıştır. Propolis çok eski çağlarda ilk kez Yunanlılar tarafından keşfedilerek doğal bir antibiyotik olarak kullanılmıştır (Ghisalberti, 1979; Duran, 2007).

İnsanoğlu propolisi çok eski çağlardan beri farklı amaçlar için kullanmışlardır. Uzun yıllar boyunca propolisten tıpta çeşitli amaçlar için yararlanılmıştır. Günümüze kadar gelen eski Yunan yazıtları propolisin iltihaplanan yaralar ve diş çürükleri için tedavi amacıyla kullanıldığını tanımlarken, Roma’lılar döneminde yara üzerine konulan lapa benzeri karışımın içerisine katılarak kullanılmaktaydı. İbranice eski vasiyetnamelerde “Tzori” olarak geçmektedir ve tedavi edici özelliklerinden bahsedilmektedir. Avrupa’daki 12.yüzyıl kayıtları propolisin medikal preparatlarının ağız ve yara enfeksiyonlarının tedavisi ve diş sağlığı için kullanımından bahsetmektedir. Propolis son zamanlarda oldukça popüler hale gelmiştir. İnsanlık için bu reçinemi yapının keşfedilen yararları henüz çok az aydınlatılabilmektedir (Ghisalberti, 1979; Duran 2007).





**Şekil 2.3.(a)** Ham propolis.

[http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Propolis\\_taruvaik.jpg](http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Propolis_taruvaik.jpg)



**Şekil 2.3.(b)** Propolis kapanında birikmiş propolis.

<http://www.flickr.com/photos/42305436@N04/3926354852>

**2.3.1. Propolisin Fiziksel Özellikleri**

Arıların balmumu ile karıştırdıkları propolisin bazı bitkilere özgü proteinleri de yapısında bulundurması, propolisin mumsu kısmının bitkisel mum yapısında olduğunu göstermektedir (Kumova ve ark., 2002; Duran, 2007).

Propolis 15-25°C arasında mum kıvamında elastik bir yapı göstermekte, soğukta katı kırılğan bir şekle dönüşmektedir. Yüksek sıcaklıklarda (30-40 °C) yumuşayıp yapışkan bir durum almakta, 80°C da kısmen erimektedir. Propolisin rengi bitki kaynağına bağlı olarak sarı, yeşil ve koyu kahverengiye kadar değişim göstermektedir. Propolis, eter, kloroform, aseton ve diğer organik çözücülerde kısmen, %95'lik alkolde büyük ölçüde çözünmekte, suda çok az çözünmekte veya hiç çözünmemektedir. Propolis, tıbbi alanda %70'lik alkolde çözünmüş çözelti olarak kullanılmaktadır (Kumova ve ark., 2002; Duran, 2007).

**2.3.2. Propolisin Kimyasal Özellikleri**

Coğrafi ve botanik orijin farklılıklarından dolayı ham propolis ekstraktları çok karışık bir kompozisyondadır. Propolis 300'den fazla farklı yapı içermektedir (Özan, 2006). Ham propolisin bileşimi kaynağına göre değişmekle birlikte, genellikle % 50 reçine, %30 mum, %10 esansiyel ve aromatik yağlar, %5 polen ve %5 diğer organik maddelerden oluşmaktadır (Engür, 2007).

Reçine ve balzam içeren kısım terpenler, polisakkaritler, kafeik asit gibi maddeler içerir. Balmumu ise yağ asitleri, B vitaminleri, C ve E vitaminleri içerir. Organik kısmın en önemli bölümü olan flavonoidler (polifenolik içerik), üzerinde en fazla çalışma yapılmış maddelerdir, propolisin biyolojik aktivitesinin önemli bir kısmından sorumludur (Granje ve Davey, 1990). Bu kısım pinosembrin, pinostrobin, kuerasetin gibi maddeleri içerir. Propolis ayrıca farklı mineral ve oligo elemanlar içerir. Flavon ve flavonoidler propolise antifungal, antiviral ve antibakteriyel özellikler kazandıran maddelerdir (Kujumgiev ve ark. 1999; Ghisalberti, 1979).



**Çizelge 2.3.2.** Propolis'te tanımlanmış bileşenler ve sayıları (Marcucci, 1995)

| <b>Bileşikler</b>                      | <b>Tanımlanan Bileşik Sayısı</b> |
|--|----------------------------------|
| Flavonoidler                           | 38                               |
| Hidroksiflavonlar                      | 27                               |
| Hidroksiflavononlar                    | 11                               |
| Kalkonlar                              | 2                                |
| Benzoik asit ve türevleri              | 12                               |
| Asitler                                | 8                                |
| Esterler                               | 4                                |
| Benzaldehit türevleri                  | 2                                |
| Sinamil ve sinamik asit ve türevleri   | 14                               |
| Alkoller, ketonlar, fenoller           | 8                                |
| Heteroaromatik bileşikler              | 12                               |
| Terpen ve sekuterpen ve türevleri      | 7                                |
| Alifatik hidrokarbonlar                | 6                                |
| Sekuterpen ve triterpen hidrokarbonlar | 11                               |
| Steroller ve steroid hidrokarbonlar    | 6                                |
| Mineraller                             | 22                               |
| Şeker                                  | 7                                |
| Aminoasitler                           | 24                               |

İçerdiği başlıca kimyasal bileşikler şunlardır; flavonoidler, sinamik asit ve türevleri benzoik asit, sinaptik ve izoferulik asitler, çeşitli aldehitler, ketonlar ve eser elementler, kleredon, diterpenler, seskiterpenler ve tripenler (özellikle de steroidler) (Özan, 2006).

Propolisin temel komponentlerinin flavonoidler olduğu tespit edilmiştir. Propolisin flavonoid yapısı toplandığı bitkiye bağlı olarak bazı farklılıklar da gösterebilmektedir. Propoliste bulunan bütün komponentlerden flavonoidlerin oranı %25'in üzerindedir. Flavonoidler polifenolik bileşiklerdir. Serbest radikal temizleme özelliklerinden dolayı antioksidandırılar ve lipit peroksidasyonunu inhibe ederler. Alternatif olarak metal şelat oluşturmalarından ötürü de antioksidant olabilecekleri belirtilmektedir (Özan, 2006).

Propolisin içerdiği mineral maddeler şunlardır: Mangan, çinko, barit, titan, bakır, kurşun, nikel, kobalt, wanadyum, krom, kalay (0-110,60 mg/100g), kalsiyum, fosfor, potasyum, kükürt, sodyum, klor, demir, magnezyum, molibden, alüminyum, silisyum,

civa, selen, sirkonyum, flor, antimon. Mangan ve çinkonun miktarlarının başka elementlerle mukayese edildiğinde çok daha yüksek miktarlarda olduğu ifade edilmiştir. Propoliste vitaminlerin miktarları düşüktür ve çok değişkenlik gösterirler. Propolis B1, B2, B6, C, E, nikotik ve pantotenik asit vitaminlerini içermektedir. Propolis serin, glikol, aspargin ve glutamik asitleri, alanin, triptofan, fenilalanin, levsin, sistin, lizin, histidin, arginin, prolin, trionin olmak üzere 8–17 kadar aminosit ihtiva etmektedir (Özan, 2006).

Vahonina, arıların propolisi bitkilerden toplarken tükürük bezlerinden salgılanan maddelerin propolise karıştığına işaret etmiştir. Bu maddeler ise bazı doymamış yağ asitleri ve 10 hidroksi-2 dekononiktir. Bu madde arıların mandibular bezlerinden salgılanır ve arı sütünün temel yapı taşıdır; bu maddelerin propolisteki miktarı %7,2'dir. Propolisin yapısında bulunan ve buraya kadar gösterilen maddeler propolis mekanik karışımlardan ve balmumundan temizlendikten sonra tespit edilmiştir (Özan, 2006).

Araştırmacılar propolisin süksinik dehidrogenaz, glukoz-6-fosfataz, adenozin trifosfataz ve asit fosfataz gibi enzimler içerdiğini belirtmişlerdir. Propolisin kimyasal bileşimi çok komplekstir ve toplandığı alandaki floraya bağlıdır. Avrupa, Asya ve Kuzey Amerika'yı içeren sıcak bölgede, farklı kavak tomurcukların tomurcuk salgıları propolisin ana kaynağıdır. Bu bölgedeki örneklerin kaynağı benzer kimyasal bileşimi ile karakterize edilmiştir. Fenoliklerin ana bileşenleri; flavonoid aglikonlar, aromatik asitler ve onların esterleridir. Propolis toplamak için kullanılan bitki kaynağının bileşimi propolisin kimyasal yapısını belirlemektedir. Propolisin bileşimi toplandığı alanın vejetasyonuna bağlıdır. Propolisin toplanma sezonu da, aynı bölgeden toplanan propolisin kimyasal yapısını etkileyebilmektedir. Örneğin Akdeniz Bölgesi'nden (Sicilya ve Adriyatik kıyıları) toplanan propolis tek tip özellik gösterip, temel bileşeni diterpenik asitler iken Brezilya'da farklı tipte propolis tanımlanmıştır. Propolisin içerdiği maddelerin çeşidi ve miktarı toplandığı bitkinin türüne göre değişir. Pek çok farklı bitkiden toplanan ve birçok bileşiğin bitki öz suyundan hiçbir değişikliğe uğramadan yapısına katıldığı propolis için en önemli kaynağın *Populus nigra* (kara kavak) olduğu düşünülmektedir (Hepşen ve ark., 1996).

Karasal iklime sahip bölgelerden toplanan propolisin (Asya, Avrupa, Kuzey Amerika vb.) başlıca kaynağının kavak bitkisi tomurcukları olduğu belirlenirken, bu propolisin çeşitli flavonoidlerini içeren fenolik bileşikler, aromatik asitler ve onların esterleri bakımından zengin olduğu belirlenmiştir. Kavak ağacı karasal bölgelerde yaygın olarak gözlenirken, tropik ve subtropik bölgelerde yetişmemektedir. Bu sebeple bu bölgelerde bal arıları başka propolis kaynaklarını tercih etmektedirler. Böylece tropik bölgelerde üretilen propolisin kimyasal yapısı kavak propolisinden tümüyle farklı olmaktadır. Örneğin

Brezilya propolisinin ana kaynağı *Baccharis dracunculifolia* (*Cyote brush*) 'dır ve bu propolis tipinde temel kimyasal bileşik sınıfı prenillenmiş p-kumarik asit ve asetofenon türevleri olup kavak tipi propolisten tamamen farklı olarak diterpenler, lignanlar ve flavonoidler içerdiği belirlenmiştir. Son yıllarda dikkat çeken Küba propolisinin ana bileşeni ise poliizoprenillenmiş benzofenonlardır ve bu yapı Küba propolisini Avrupa ve Brezilya propolislerinden farklı kılmaktadır. Ayrıca, *Clusia minor*, *Clusia major* (Guttiferae), *Araucaria heterophylla* ve farklı Baccharis türlerin Venezuela ve Brezilya'dan toplanan propolisin en önemli kaynakları olduğu bildirilmiştir. Bu bitkilerin tropikal propolislerde daha önce rapor edilen proprenillenmiş benzofenonlar ve çeşitli diterpenler içerdiği belirlenmiştir. Benzer şekilde klerodan-tipi ve çeşitli labdan-tipi diterpenoidler karasal iklim propolislerinde bulunamamıştır. Flavonoidler ise tropikal propolislerde de belirlenmiştir. Tropikal bölgelerden toplanan propolisin karasal iklime sahip bölgelerden toplanan propolisten farklı kimyasal yapı göstermesinin nedeni, vejetasyon farklılığıdır. İncelenen literatür bilgileri ışığında dünyanın değişik bölgelerinden toplanan propolis örneklerinde tespit edilen flavon ve flavonoidler; pinosembrin, pinobanksin, organik ve yağ asitleri, kafeik asit, 9-hekzadekanoik asit, sinnamik asit, ferulik asit, terpenler, lignanlar, ketonlar, hidrokarbonlu bileşiklerdir (Engür, 2007).

### **2.3.3. Propolisin Biyolojik Aktivitesi**

Kimyasal ve biyolojik açıdan herhangi bir zararlı reaksiyon ya da organizma üzerinde kontrol edici etki gösteren, onu zararsızlaştıran veya yok eden etkilerin hepsine biyolojik etkinlik adı verilir. Bu etki *in-vivo* ve *in-vitro* olarak test edilebilir. Fakat *in-vivo* çalışmalar oldukça sorumluluk gerektiren, etik kurul kararı, çalışmalar olduğundan çalışmalar önce *in-vitro* olarak yürütülür ve biyolojik etki potansiyeli ölçülür. Daha sonra *in-vivo* çalışmalara geçilir. Biyolojik etki gösteren maddelere biyolojik aktif maddeler adı verilir. Bitkiler diğer organizmalardan farklı olarak sınırsız sayıda biyolojik aktif madde üretebilme yeteneğine sahip canlılardır. Biyokimyasal araştırmalarda daha çok incelenen biyolojik etkinlik testleri; antioksidan aktivite (anti-aging), serbest radikal giderici aktivite, antitümoral, antikanserijen, antifungal, antibakteriyal, antiviral, antiinflatuar, antiherbisit ve anti-insektisit etkiler gibidir (Sarıkaya, 2009).

Propolisin içerdiği maddeler ve bunların etkileri aşağıda özetlenmiştir (Duran, 2007).

**Flavonoidler:** antimikrobiyal özellikler, ateş düşürücü, antioksidant, kılcal damarların geçirgenliğini azaltır, kanamayı durdurucu.

**Krizin:** Tümör hücrel toksisite, Anti-*Helicobacter pylori*.

- Apigenin:** Gastrik ülserin iyileştirilmesi.
- Acacetin:** Ateş düşürücü.
- Kuersetin:** Antiviral, kılcal damarların güçlendirilmesi, anti-tümöral aktivite, spazmolitik.
- Kaempferid:** Spazmolitik, anti-*Mycobacterium phlei*, mikroorganizmaların asit direncine karşı etki.
- Kaemperol-7,4'-dimetil eter:** Antifungal.
- Ermanin:** Antifungal.
- Galanjin:** Bakteriyostatik aktivite, antibakteriyal ve antifungal, anti-*Helicobacter pylori*.
- Pinosembrin:** Bakteriyostatik aktivite, antifungal, antimikrobiyal, *in-vitro* ve harici kullanım, lokal anaestetik, anti-*Helicobacter pylori* aktivitesi.
- Pinobanksin:** Antibakteriyal ve antifungal.
- Pinobanksin-3-asetat:** Antibakteriyal ve antifungal.
- Pinostrobin:** Lokal anestetik.
- 3',4'-dihidroksiflavonidler:** Kılcal damarların güçlendirilmesi.
- Flavan-3-ols:** Kılcal damarların güçlendirilmesi.
- Pektolinarinjenin:** Spazmolitik.
- Luteolin:** Anti-viral, gastrik ülserin iyileştirilmesi.
- Luteolinin 3',4'-dimetil eteri:** Spazmolitik ve hipokoleretik.
- Artepillin C:** Anti-tumoral etki; anti-leukemik etki.
- Eriodiktiol:** Kalp yetmezliğini iyileştirici etki, akut kalp yetmezliğini önleyici etki.
- Pinosilvin (3,5-dihidroksistilben):** *Bacillus subtilis* ve *Bacillus cereus*'u inhibe edici özelliği, *Mycobacterium phlei* ve *M. semegmatis*'e karşı etkinlik.
- Ferulik asit:** Antibakteriyel etki, aglutinant etki, kollojenik etki.
- Isoferulik asit:** *Staphylococcus aureus*'a karşı etkinlik.
- Benzoik asit:** Bakteriostatik ve bakterisid etki, balzamik ve antiseptik aktivite.
- Sinnamik asit:** *Staphylococcus aureus*'a karşı etkinlik.
- Isopentil ferulat:** İnfluenza virusa karşı etkinlik (A/Hong Kong (H3N2) *in-vitro* hemagglutinininlerin *in-vivo* üretiminin inhibe edilmesi).
- p-Kumarik asit benzil ester:** Antimikrobiyal ve antifungal etkinlik.
- Kafeik asit:** Antiviral, bazı Gram-pozitif ve Gram-negatif mikroorganizmalar üzerine antibakteriyel aktivite, ateş düşürücü özellik.
- Prenil kafeat:** Gizli kontakt alerjen.
- 3-metil-2-enil kafeat:** Antiviral aktivite.
- Kafeik asit fenetil ester:** Anti-tumoral aktivite.

**Metil kafeat:** Tümör sitotoksitesisi veya inhibisyonu.

**Diterpenoid clerodan:** Anti-tümöral aktivite, antibakteriyel özellik.

**Eterik yağlar:** Antimikrobiyal aktivite.

**Bisabolol:** Ateş düşürücü özellik (Duran, 2007).

Arılar tarafından doğadan toplanan propolis, insan sağlığı ve yaşamı açısından son derece önemli bir maddedir. İnsanlar eski çağlardan günümüze kadar çeşitli enfeksiyonların tedavisinde doğadan toplanan propolisten yararlanmayı bilmişlerdir. Propolisin cerrahi müdahalelerde tıbbi mum yerine, savaşlarda yara ve dokuların iyileştirilmesinde vazelinle karıştırılarak merhem olarak kullanıldığı bildirilmektedir. İnsanların üretemediği önemli ürünlerden olan propolis, bu yüzyılda keşfedilen en mükemmel doğal ilaçtır ve tıp alanında çeşitli amaçlarla kullanılmaktadır. Arı kovanlarında bu madde ile hijyenin sağlanması insan ve arı sağlığı için son derece önemlidir. Propolisin tıbbi etki açısından antibakterial, antiviral, antiseptik, antifungal ve antibiyotik özellik taşıması yapılan bilimsel çalışmalarla belirlenmiştir. Propolisin bu anestetik, antioksidatif etkisi canlılar için büyük önem taşımaktadır. Propolisin yapısında bulunan ve büyük önem taşıyan flavonoidler ve terpenler oldukça kuvvetli antioksidan ve antisteril etkili bileşiklerdir. Organik çözücülerde çözülen bileşik gruplar içerisinde flavonoidler en önemli grubu oluşturmaktadır. Flavonoidler, bitkilerin hemen her kısmında ve çok fazla sayıda bulunan pigment içeren maddelerdir. Bazı flavonoidler arının tükürük salgılarına karışan enzimlerle değişikliğe uğramaktadır. Flavonoidlerin bazıları çok çeşitli bakteri türlerine etkili olmaktadır. Flavonoidlerin kalp-damar sistemi üzerine olumlu etkileri olduğu; kan dolaşımını düzenlediği; kılcal damar çatlamalarını azalttığı; mide mukozasını ülserle karşı koruduğu; mide yaralarını küçülttüğü; iç salgı sistemini düzenlediği ve halsizliğe karşı olumlu etkisi olduğu belirlenmiştir (Kumova, 2002).

Organik çözücülerde çözünen önemli diğer bir grubu sinamik asit ve türevleri oluşturmaktadır. Bunlardan fülerik asit, Gram pozitif ve Gram negatif bakterilerine karşı güçlü antibiyotik özelliği göstermekte; pıhtılaşmayı hızlandırarak yaraları hızla iyileştirdiği, cilt rahatsızlıklarında merhem şeklinde kullanımının çok olumlu sonuçlar verdiği ortaya konulmuştur. Tropik propolislerde bulunmayan kafeik asitin, antimikotik, antiviral etkileri yanında kuersetin ve luteolin maddeleri ile birlikte kansere karşı etkili olduğu bildirilmektedir. Klinik araştırmalar propolisin, %70'lik alkolde eriyen diğer kısımlarının antibiyotiklerle birlikte kullanıldığında bu ilaçların etkisini arttırdığı, anestetik, antioksidatif etki gösterdiği, ikinci derecede yanıkların tedavisinde olumlu sonuçlar verdiği, çimlenmeyi engellediği ve güçlü bir antiseptik olduğu belirlenmiştir.

Propolis içerisinde bulunan kafeik asit başta olmak üzere bazı bileşiklerin özellikle uçuk ve grip etmeni bazı virüs türleri üzerinde etkili olduğu; kafeik asitin antitümör özellik taşıdığı ve bu nedenle akciğer kanserine karşı etkili olduğu bulunmuştur. Diş macunlarına %1-10 oranında propolis çözeltileri eklenmesi normal koşullarda oluşan ağız mikroflorasını iki saatten altı saate çıkarmaktadır. Arı propolisi virüslere karşı son derece etkilidir. Propolis içeriğinde bulunan bioflavonoid protein örtüsünü tutar ve içinde kilitlenen virüslerin enzim salgılamasını ve çoğalmasını önler. Propolis normal hücrelerin faaliyetlerinin kötü hücreler tarafından engellenmesini önlemede kullanılır. Özellikle üst solunum yolları ve orta kulak enfeksiyonlarında, ağız yaralarında, mide gastrit ve on iki parmak bağırsağı ülserinde tedavi edici özellik gösterir. Propolis vücut fonksiyonları için gerekli bakterilere zarar vermeden enfeksiyonlara karşı, virüs öldürücü ve bakteri saldırılarını önleyici olarak insan ve hayvanlar üzerinde etkili olmaktadır. Propolisin içerdiği bioflavonoidin iltihaplara karşı etkili olduğu ve vücudun güçlenmesinde önemli bir rol oynadığı Avrupa’da yapılan araştırmalarla kanıtlanmıştır. Japonya’da yapılan klinik çalışmalar sonunda propolisin 3-12 ay süre ile sürekli alınmasının çeşitli internal kanser hücrelerini devitalize ettiği saptanmıştır. Bu nedenle propolis canlılar için büyük tehlike yaratan kanser hastalıklarının önlenmesinde önemli bir yere sahiptir. Propolisin kanserin semptomatik koşullarından olan hücre bölünmesinin kontrolünde önemli rol aldığı belirlenmiştir. Hipertansiyon, damar sertliği ve koroner kalp hastalıklarının tedavisinde 30 gün süre ile üç kez alınan 300 mg propolisin olumlu etkiler verdiği yapılan klinik çalışmalarla kanıtlanmıştır. Eski Sovyetler Birliği’nde verem hastalığının iyileştirilmesine yönelik olarak yapılan tedavilerde, hastalara 4 aydan 10 aya kadar 3 kez propolis verilmesinden olumlu sonuçlar alındığı belirlenmiştir. Romanya’da ülser tedavisinde propolis kullanılmasından olumlu sonuçlar alınmıştır. Rusya’da ameliyat öncesi ve sonrası enfeksiyonu önlemek ve ateş yükselmesini önlemek için hastalara propolis verilmektedir. Propolis histamin ve serotonin kaynağı olarak, vücudun her hangi bir alerjiye karşı mücadelesi için gereklidir. Histamin ve serotonin doku hormonları olup, direkt hücrelerde kalır. Alerji yapan madde hücre dışında kendisini bağladığında, bu iki madde alerjik reaksiyona neden olmaktadır. Yapılması gereken bu maddelerin sızıntısını engellemektir ve buda propoliste bulunan bioflavonoidin alınması ile gerçekleşmektedir (Kumova, 2002).

Propolisin sayılan bu etkilerinin yanında; osteogenetik süreci hızlandırma, kemik, kırık ve dental pulpa gibi değişik dokularda rejenerasyonu artırma, çeşitli enzimlerin aktive edilmesi, immünoestimulan ve immünomimetik etki, vejetatif sinir sistemine halinometik etki, hipotansif etki, lokal anestezi etki ve solunum sistemini stabilize edici

etki gibi başka etkilere de sahip olduğu çeşitli çalışmalarla belirlenmiştir. Propolisin bala göre antimikrobiyal, antifungal ve antiinflamatuvar etkilerinin daha güçlü olduğu bildirilmiştir ve % 10-15'lik krem şeklindeki propolis preparatı gözün yüzey hastalıklarında bala göre daha üstün sonuç vermiştir (Hepşen ve ark., 1996).

#### **2.3.4. Geopropolis**

Propolisle ilgili yapılan çalışmaların çoğu genellikle *Apis mellifera* bal arıları tarafından toplanan propolisler üzerine yoğunlaşmıştır. Güney Amerika bulunan *Meliponinae* (iğnesiz) arı türlerinin toprak, mum ve bitkilerin reçineli kısımlarından topladıkları maddeler geopropolis olarak tanımlanmıştır (Barth ve ark., 2003). Çok sınırlı sayıda çalışma propolisin bu türü üzerinde yapılmıştır. Tomas- Barberon ve arkadaşları Venezuela'dan HPLC ile geopropolis ve propolisin fenolik bileşenlerini araştırmış ve tüm örneklerde prenilat benzofenonların hakim olduğunu bildirmişlerdir (Tomas-Barberon ve ark., 1993). Beş yerli balarısı türü ile yapılan araştırmalarda propolisin kimyasal yapıları arasında belirgin farkların olmadığı tespit edilmiştir. Yakın dönemlerdeki bir yayında Bankova ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada (Bankova ve ark., 1996) üç Brezilya iğnesiz arı türünden elde edilen geopropolisin kimyasal kompozisyonu üzerine yaptıkları çalışmada propolis içeriğinin arı türü ve bölgeye göre varyasyon gösterdiğini tespit etmişlerdir. Geopropolisin komponentlerinin balarısı propolisine benzer biyolojik aktiviteye sahip olması araştırmalar için ilginç bir alandır (Barth ve ark., 2003).

#### **2.3.5. İşçi Arılar Tarafından Propolisin Toplanması**

Tarlacı işçi arı, propolis toplayacağı sürgün/tomurcuğa konar; arka bacakların ve üst çenelerini kullanarak bir miktar sakızimsı sızıntıyı koparır, bu parçayı ağzında nemiştirerek yumuşatır ve içine bazı enzimler ilave ederek pelet haline getirir. Pelet ön ve orta bacakların yardımıyla polen sepetçisine yerleştirilir. Polen sepetçisi dolduktan sonra, arı kovana döner. Propolis, genç işçi arılar tarafından yaklaşık 30 dakikada boşaltılır ve gerekli yerlerde kullanılır. İşçi arı, bir seferde ortalama 10 mg propolis taşıyabilir. Propolisin yoğun olarak toplandığı mevsim, bölgeden bölgeye değişir; ancak, nektar akımının fazla olduğu dönemlerde, propolis toplama eğilimi azalır. Arılar, propolisi yaz aylarında sabah sekizden akşam dokuza kadar toplayabilirler; ilkbahar ve sonbahar aylarında ise, havaların uygun olduğu günlerde toplama yapılırlar. Ülkemizde, Ege Bölgesi'nde mart ayından itibaren propolis toplanmaya başlar; Orta ve Doğu Anadolu'da ise, ağustos ve eylül aylarında yoğun bir şekilde toplama gerçekleştirilir (Tutkun ve Boşgelmez, 2003).

Arılar, boya, zift, madeni yağ, cam macunu gibi maddeleri, yanlışlıkla propolis yerine kullanabilirler; ancak, bu tip maddelerin sık sık toplanması, propolisin ilaç olarak kullanımını sınırlamaktadır. Arılar, propolisi yoğun olarak dip tahtası, uçuş deliği arkasına ve örtü tahtaları arasına depolarlar; ancak, dip tahtası ve uçuş deliği arkasına biriktirilen propolis, mum kırıntısı ve artık maddelerin karışması nedeniyle saf değildir. Örtü tahtalarına depolanan propolis ise daha temizdir. Arıcılar, saf propolis üretmek amacıyla plastik veya metalden yapılmış, üzerinde arıların geçemeyeceği kadar genişlikte (3mm) yarıklar bulunan ve örtü tahtası yerine konulan, iç kapak/tuzak kullanırlar. Kovanın üst kısmına yerleştirilen üretim kapakları, yarıklar yeterince propolis ile doldurulduktan sonra alınıp derin dondurucuya konur. Sertleşen propolis, kapağa uygulanan bükme hareketleriyle kaptan çıkarılır. Koloni başına propolis verimi, 50-250 g arasındadır; ancak bunun, 600 grama kadar çıkartılması mümkündür. Günümüzde propolis, dünya ticaretinde düzenli olarak alınıp satılan bir üründür. Çin, Arjantin, Uruguay, Şili, Kanada ve bazı Doğu Avrupa ülkelerinde propolis üretimi yapılmaktadır. Brezilya'da üretilen propolis, Japonya'ya ihraç edilmekte ve o ülkede işlenmektedir (Tutkun ve Boşgelmez, 2003).



**Şekil 2.5.(a)** Propolis taşıyan arı.





**Şekil 2.5.(b)** Kovanda propolis boşaltım işlemi.

<http://www.thehoneygatherers.com/html/photolibrary10.html>

### **2.3.6. Propolis Üretimini Engelleyen Faktörler**

#### **2.3.6.1. İklim**

Propolisin toplanmasında sıcaklık derecesi önemli bir rol oynar. Yüksek sıcaklık dereceleri propolisi yumuşattığından toplanması, taşınması ve diğer kullanma ile ilgili işlemler kolaylaşır. Arılar sabahın erken saatlerinde propolis toplamazlar. Genel olarak saat 10'dan sonra toplama işi başlar. Saat ilerledikçe ve sıcaklık derecesi arttıkça propolis toplama çalışmaları hızlanır. Tek arka ayakla veya her iki ayakla akşamüzeri, propolis taşıyan bu gibi arılar işaretlenmiş ve görülmüştür ki, ertesi gün tarlacı arı grubuna katılmakta ve öğlene kadar güneşlenmektedirler. Çünkü propolis yükünün boşaltılması için onu güneşte yumuşatmak gerekmektedir. Bütün yaz mevsiminde propolis toplandığı belirtilmekle beraber en çok sonbaharda kovana propolis taşındığı belirtilmektedir. Çünkü soğuk kış mevsiminin başlamasından önce propolis ile yapılacak birçok tamirat, yapıştırma gibi işler vardır. Yine bir yılda propolis toplamak için uygun gün sayısı 50 civarındadır. Propolis toplanması için en uygun mevsim, nektar alımının olmadığı yaz sonu ve sonbahardır (Özan, 2006).

Arı kolonisinin mikroplara karşı kendilerini koruyabilmeleri ürettikleri antibiyotiklere bağlı değildir. Bu onların en etkin bir şekilde bu konu ile ilgili bitkileri seçme imkânlarına bağlıdır. Bir başka deyişle aktif propolis taşıyıcı bitkileri bulmalarına bağlıdır (Özan, 2006).

**2.3.6.2. Arı Tür ve Irkları**

Bal arısı türlerinden *Apis florea*, *Apis cerena* ve *Apis dorsata* arıları propolis toplamazlar. Bal arısı ırklarından *A.m.carnica* (Karniyol) arısının petek gözlerinin sterilize edilmesinde çok az propolis kullandığı ve bu durumda peteklerin daha temiz ve beyaz renkte kaldığı belirlenmiştir. *A. mellifera caucasica* (Kafkas) arısının propolis toplama eğilimi oldukça fazla olup, sonbahar mevsiminde kovan girişini, arıların geçebileceği ölçüde küçük bir aralık bırakılarak, tamamen propolis ile kapatılmaktadırlar (Kumova ve ark., 2002).

**2.3.6.3. Bitki Kaynağı**

Bitkilerin genellikle dallarını korumak için salgıladığı yapışkan, reçineli madde dal üzerinde kaplama biçiminde görülür. Propolisi toplayan arılar çok farklı bitki tür ve çeşitlerinden salgılanan bu propolisi toplamaktadır (Kumova ve ark., 2002).

**2.3.6.4. Üretim ve Pazarlama**

Propolisin sentetik olarak üretiminin olmaması; patent sorunu; eğitimsiz arıcıların arıcılık yapması; bal, polen ve arı sütü gibi arı ürünlerinde olduğu gibi etkin bir pazarlama ağının yeterli düzeyde bulunmaması ve gelir kaynağı olarak arıcıları ve özel firmaları tatmin etmemesi gibi nedenler, propolis üretiminin yaygınlaşmasını önlemektedir (Kumova ve ark., 2002).

**2.3.7. Arılar Tarafından Propolisin Kullanımı ve Önemi**

Bal arılarının koloni halinde yaşamaları, kovan içi koşullarının sağlıklı olmasını, sıcaklık (34 °C) ve neminin (%40-65) ayarlanmasını gerektirmektedir. Bu koşulların sağlanamaması durumunda virüs, bakteri ve fungus gibi çeşitli mikroorganizmalar kovan içerisinde üreyebilme özelliği gösterebilmektedir. Bal arıları topladıkları polen, propolis; salgıladıkları bal mumu, çeşitli enzimler ve gösterdikleri davranış modeli ile kovan içerisinde biyolojik aktivitelerini milyonlarca yıl sürdürerek insanların ilgisini çekmiştir. Arıların bireysel vücut ve kovan içi temizleme davranışı, kovan nemini ve sıcaklığını düzenlemeleri, ana arıya özen göstermeleri kovan içi yaşamlarını sağlıklı ve hastalıklara karşı dayanıklı bir duruma getirmektedir. Sağlıklı bir koloni yaşamında arıların doğadan topladıkları ve değişime uğrattıkları propolisin büyük önemi bulunmaktadır. Propolis arılar tarafından kovan içerisinde çok amaçla kullanılmaktadır (Kumova ve ark., 2002).

- Kovanlarının iç duvarlarını ya da yaşadıkları yerde oluşan oyuk ya da çürükleri kaplamada
- Delik ya da çatlakları kapatmada,
- Kovanlarını tamir etmede,

- Kovanların ince kenarlarını güçlendirmede,
- Peteklerin kenarlarını sağlamlaştırma ve savunmada kullanılır.
- Propolis aynı zamanda bir mumyalama maddesidir ki; arılar kovana saldıranları öldürüp kovan içinden atamadıklarında propolis ile bu canlıları mumyalarlar ve bakteri ile maya insidansının dışarıdaki atmosferden daha düşük olmasını sağlarlar. Böylece bu mumyalama işlemi ile bakteri ve maya üremesi durdurulur.
- Ayrıca yavru yetiştirme döneminde yarık ve çatlaklardan suyun buharlaşım kaybolması engellenir. Böylece kovan içi gerekli olan nem de korunmuş olur (Duran, 2007).
- Ana arı, yumurtlamadan önce petek gözlerin propolis ile temizlenip cilalanmasında (Tutkun ve Boşgelmez, 2003).
- Kovan gövdesini örten iç kapak, taban tahtası ve dış kapağı sırlamak (Vatansever , 2004).
- Bunların yanında olumsuz çevre koşullarından kovayı korumak, kovan giriş deliğini daraltıp, arıların uçuş sonrasında kovana girişlerinde bir dezenfektan olarak kullanılmaktadır.

### **2.3.8. Propolisin Bitkisel Kaynakları**

Propolisin bitki kaynağını tam olarak belirlemek güçtür, çünkü propolis üretimi için kullanılan reçine genellikle ağaçların üst kısımlarındaki reçinelerin toplanmasıyla elde edildiği için gözlem yapmak neredeyse imkansızdır. Bunun yerine son yıllarda yapılan çalışmalarda propolisin bitki orijininin belirlenmesi için muhtemel bitki kaynaklarının yaprak, tomurcuk ve sürgünleri ile propolis örneklerinin HPLC, GC-MS gibi kimyasal yöntemlerle karşılaştırmalı olarak analizleri yapılmaktadır (Engür, 2007).

Propolis bilgi kaynağı arı yetiştiricilerinin arıların uçuş alanında yoğun olarak bulunan bitkileri bilmeleri açısından önem taşımaktadır. Arılar çevreden propolis toplayamadıkları zaman çeşitli boya, asfalt ve mineral yağları içeren maddeleri propolis gibi kullanmak amacıyla toplamak zorunda kalırlar. Arıların bu toplama davranışı içersine sokulması propolisin farmakolojik kullanımını tehdit etmektedir (Duran, 2007).

Propolisin yoğun olarak toplandığı bitki çeşitleri bölgeye ve mevsime göre değişmektedir. Propolisin Avrupa'da ana kaynağı olarak kavak (*Populus*) türleri gösterilmektedir. Bu bölgede bal arıları *Populus* türlerinde reçineyi tercihen yaprak sürgünlerinden toplamaktadır. Avrupa için ikinci derece önemli olan propolis kaynağı bitkiler huş, meşe ağacı, kızılâğaç, söğüt ve fındık ağaçlarıdır. Propolisin yoğun olarak

toplandığı kavak türleri Avrupa, Kuzey Amerika ve Kuzey Afrika ile sınırlıdır. Afrika'da propolisin kaynağı akasya (*Acacia*)'dır. Avusturalya'da Avrupa'da olduğu gibi kavağın çok sınırlı olması nedeniyle, arıların bazı yörelerde bulunan kavakların tomurcuklarını tahrip ettikleri ve ökaliptusun (*Eucalyptus*) en önemli propolis kaynağı olduğu bildirilmektedir (Ghisalberti, 1979; Popravko, 1980).

Amerika Bileşik Devletleri'nde kavak türleri; çamlar ve diğer çalılar ile birlikte propolisin ana kaynağını oluştururken, İtalya'da Kestane'nin (*Castaneae*), Rusya'nın orta kesimlerinde Huş ağacı, Hindistan'da Kavak türleri propolis kaynağını oluşturan bitkilerdir. Tropikal Bölgelerde Kavak ve Huş ağaçlarının bulunmamasından arıları propolis için yeni kaynaklara yönlendirmiştir. Bunun yanında Tunus'da bazı *Cistus spp.* Yaprak salgılarının, Brezilya'da ise *Baccharis* türlerinin propolisin asıl kaynağı olduğu belirlenmiştir (Ghisalberti, 1979).

Sıcak bölgelerde kavak türleri ve onun hibritlerinin tomurcuk salgılarının propolisin asıl kaynağı olduğu kabul edilmektedir. Avrupa, Kuzey Amerika, Asya'nın tropik olmayan bölgelerinde ve Yeni Zelanda'da kavak türleri propolis için kaynak bitki olarak gösterilmektesyken, Rusya'da özellikle kuzey bölgelerde huş ağacı (*Betula verrucosa*) önemli bir propolis kaynağıdır (Ghisalberti, 1979; Duran, 2007).

Propolisin yoğun olarak toplandığı bitki çeşitleri bölgeye ve mevsime göre değişmektedir. Palinolojik analizler sonucu belirlenen bazı önemli propolis kaynağı bitkiler; *Abies* (Kökner), *Acer* (Akçaağaç), *Aesculus* (At kestanesi), *Alnus* (Kızılağaç), *Betula* (Huş), *Castaneae* (Kestane), *Corylus* (Fındık), *Eucalyptus* (Ökaliptus), *Pinus* (Çam), *Populus* (Kavak), *Prunus* (Erik), *Quercus* (Meşe) , *Salix* (Söğüt) , *Tilia* (Ihlamur), *Ulmus* (Karaağaç)'tur (Duran, 2007).

### **2.3.9. Propolisin Kullanım Şekilleri ve Kullanım Alanları**

Modern tıpta sentetik ilaçların yaygın olarak kullanımı bilinen doğal ilaçların önemini azaltmıştır. Ancak son yirmi yıl içerisinde, sentetik ilaçların yan etkilerinin ortaya çıkması ve bu hastalık etmenlerinin bu ilaçlara dirençli hale gelmeleri sonucu insanları tekrar doğal ilaçların kullanımına yöneltmiştir. Doğal ilaçların başında gelen propolisin kimyasal yapısı, farmakolojik özellikleri ile etkili ve hızlı bir şekilde fayda sağlaması çeşitli şekillerde kullanımı yaygınlaştırılmış olup propolis ürünlerini kapsül, tablet, granül, pastil ve çiklet şeklinde bulmak olasıdır (Duran, 2007).

İşlenmemiş ham propolis doğal olarak ağızda yumuşatılarak çiğnenebilir veya doğrudan yutularak kullanılabilir. İnsanların günde 10 g kadar propolisi alabileceği belirtilmektedir. Bu şekilde alınan ham propolis, sindirim siteminde yavaş çözülerek kana

geçmekte, halsizlik durumlarında, ağız ve boğaz rahatsızlıklarında, sindirim sistemi mukozasının düzenlenmesinde ve diş ağrılarında kullanılmaktadır. Propolis güvenli bir diyet ürünüdür. Düzenli alındığında herhangi bir yan etkisinin olmadığı, hemen her türlü hastalığa karşı olumlu bir direnç yarattığı belirtilmektedir. Ancak bazı kişilerde hafif allerjik reaksiyonlara neden olabildiği bu açıdan ilk kez kullanıldığında bir iki damla kullanılarak test edilerek alınması önerilmektedir. Tedavi amaçlı kullanımlar için günde 1-3 kez 250 mg'lık kapsül şeklinde alınması tavsiye edilmektedir. Ticari olarak hazırlanmış ve içerisinde 0,2 g saf propolis bulunan kapsüllerden günde 2-6 adet alınması önerilmektedir. Propolis %70'lik alkolde çözülerek, %3-30 oranında su ile seyreltilir. Bu propolis eriyiği yara, yanık ve egzamaya karşı kullanılmaktadır. Balın üzerine (bir çorba kaşığı) bu eriyikten birkaç damla damlatılarak ağızdan alınabilir. Saflaştırılmış propolis, %1-20 arasında vazelin, bal mumu gibi maddeler ile karıştırılarak krem ve merhem şeklinde cilt rahatsızlıklarında kullanılabilir. Bazı çalışmalarda anti kanserojen özelliği ve anti-bakteriyel aktivitesi bulunduğu da bildirilmektedir. Propolisin kısmi kalınlıktaki yanık yaralarını iyileştirmede etkili olduğu da bildirilmiştir (Duran, 2007).

Çok geniş kullanım alanı olan ve her geçen gün önemi daha da artan propolisin kullanıldığı yerler şöyle özetlenebilir (Kumova, 2002; Duran, 2007).

1. Propolis, bakterilerin birçoğuna karşı öldürücü ya da gelişmelerini engelleyici bileşikler içermesi nedeniyle bazı bakteriyel hastalıkların iyileştirilmesinde, vücudun genel çalışma sistemi ve iç salgı bezlerinin çalışmalarının düzenlenmesinde, bazı fungal hastalıkların tedavisinde, içerisindeki esansiyel yağ asitleri nedeniyle lokal anesteziye, grip, uçuk gibi viral enfeksiyonlara karşı, antitümör etkisi nedeniyle özellikle akciğer kanserlerinde, hastalık sonrası halsizliğin ve yorgunluğun giderilmesinde, doku ve hücrelerin formasyonunu düzenlemede, antiromatik özelliği nedeniyle romatizmal hastalıkların tedavisinde, bağışıklık sistemini düzenlenmesinde hastalıklara karşı vücut direncini arttırmakta kullanılır.

2. Çürümeyi ve bozulmayı engelleyici özelliği ile gıda sanayinde kullanılmaktadır.

3. Çimlenme engelleyici olması nedeniyle yumrulu bitkilerin saklanması için kullanılır.

4. Mobilya sanayinde cila işlerinde kullanılır.

5. Propolis bitki ekstraktları, arı sütü ve E vitamini ile birlikte kozmetik alanında gün geçtikçe artan oranlarda kullanılmaktadır. Cildi besleyici, temizleyici ve onarıcı ürünlerden krem, süt ve pomatların yapımında geniş ölçüde kullanım alanına sahiptir.

6. Evcil hayvanların ayak ve deri problemlerinin çözümünde, endometritisin tedavisinde başarılı sonuçlar vermiştir.

### **2.3.10. Propolis ile Yapılan Ürünler**

Propolis ile yapılan ürünlerin bazıları aşağıdaki gibi sıralanabilir (Kumova ve ark., 2002);

**1. Propolis Tableti:** Propolisin sarımsak ve vitamin C ile karıştırılarak hazırlanan tablet şekli soğuk algınlığına ve gribe karşı kullanılır. Propolis tableti bu virüse ve hastalığın baktirıcı özelliklerini rahatlatmak amacı ile özenle formüle edilmiştir.

**2. Propolis Kapsülleri:** Propolis kapsülleri çeşitli enfeksiyonlara karşı vücudun bağışıklığını güçlendirir, bronşial sorunlarda, mide ülserinde kullanılır ve yaşamsal antioksidan önem sağlar.

**3. Propolis Dudak Kremi:** Propolise E vitamini eklenerek elde edilen dudak kremi, dudakları yumuşatmak ve iyileştirmek için kullanılmaktadır. Ayrıca çatlaklardan, güneş ve rüzgar yanıklarından da korumaktadır.

**4. Propolis Diş Macunu:** Propolis ve çay ağacı yağı içermekte ve sağlıklı diş ve diş eti için gerekli doğal antibakteriyel özelliği taşımaktadır. Bakteriyel enfeksiyonlara, diş çürümelerine, ağız temizliğine ve bakımına, diş eti kanamalarına ve diş eti çekilmesine karşı iyileştirme sağlar.

**5. Propolis Alkol Eriyiği:** Sürtünmeden oluşan yaraları, yanıkları, tahrişleri ve enfeksiyonları giderici olarak dıştan kullanılır. Dış kullanım yanında bir çay kaşığı balla birlikte ağız yoluyla da alınabilir.

**6. Propolis Ağız Spreyi:** Propolis ve alkolle hazırlanan bu ürün bakterilere karşı kullanılır. Ayrıca ağız enfeksiyonu sonucu oluşan kokuları giderir, nefes tazeleyici özellik taşır.

**7. Ekstra Güçlü Propolis Alkol Eriyiği:** İki kere daha konsantre standart propolis alkol eriyiği içerir. Her bir mL eriyik 325 mg taze propolise eşdeğerdir. Bu eriyik suda erimeye hazır durumda olup aynı zamanda doğrudan deriye uygulanmaktadır.

**8. Propolis Özü:** Alkolsüz hazırlanan bu eriyik genellikle iç kullanım için antibakteriyel, antimikotik (mantarlara karşı) ve antiviral olarak ağız ve mide hastalıklarına karşı kullanılmakta, barsak problemlerini rahatlatmaktadır.

**9. Propolis ve Bal Karışımı:** Propolis ve bal karışımı olan bu ürün, deri yanıkları, tahriş ve enfeksiyonlara karşı, ülser ve iyileşmeyen inatçı ağrıları, mide sorunlarını gidermede, bağışıklığı güçlendirmede etkilidir.

**10. Propolis ve Çay Ağacı Merhemi:** Deride görülen, tahriş, egzema ve mantar hastalıklarına ve yanıklardan sonra doku iyileşmesi için uygundur.

**11. Propolis sabunu:** Manuka balı ve çay ağacı yağı ile etkin antibakteriyel maddeler içeren karışım, tamamen doğal antiseptik yıkama için hazırlanmıştır.

**12. Propolis Ekstraktı:** Saf propolis konsantresi (%100) ve sifalı bitkileri içeren, alkol bulunmayan karışım, 10 damlasında 500 mg propolis, 500 mg bitki içermektedir. Serin ve kuru yerde korunmalıdır. Günde 5-10 damla doğrudan veya herhangi bir içeceklerle karıştırılarak kullanılır.

**13. Propolis Eriyiği:** Her kullanım dozunda %50 etil alkol içeren 1.25 mL propolis eriği bulunmaktadır. Günde 1/8-1/4 çay kaşığı kullanım dozu olarak önerilmektedir.

**14. Propolis Konsantre Özü:** Saf konsantre propolis özü (%100) bal arısı tarafından enzimatik olarak üretilen bir besin maddesidir. Bir tableti 500 mg propolise eşdeğer miktarda %100 saf propolis içermektedir. Şeker, nisasta, aroma, renk maddesi, mısır, soya, maya, buğday, süt, yumurta ve narenciye ürünleri ve koruyucu maddeler içermez. Günde 1 tablet olarak kullanılmalıdır.

**15. Propolis Jeli:** Amino asit ve vitamin değerleri yüksek propolis jeli, saç derisinin yağ üretimini dengelemede ve dinlendirmede, kaşıntı ve tahrişleri gidermede, zararlı mikroorganizmaların saç diplerinden temizlenmesinde etkilidir. Saç derisine haftada bir kez, şampuan öncesi uygulanır ve 3 dakika masaj yapılarak uygulanır.

**16. Propolis Tozu:** Bal içine (500 g) 10 g propolis tozu ile karışımı zenginleştirmek için polen, arı sütü eklenerek hazırlanır. Sabahları düzenli olarak bir tatlı kaşığı ağız yolu ile kullanmak yeterlidir. Propolis tozu menopoz devresi ve sonrası kemik erimelerine karşı, üst solunum yolu rahatsızlıklarında, kulak, burun, boğaz, astım, bronşit gibi rahatsızlıklarda, romatizmal ağrılar ve eklem ağrılarında, kötü nefes kokularını giderici, diş etlerindeki bakterilerin yok edilmesinde kullanılmaktadır.

**17. Sıvılaştırılmış Saf Propolis:** Ağız hastalıklarının tedavisinde, diş ağrılarına karşı günde 1-2 kez hastalıklı bölgeye 1 veya 2 damla uygulanır. Ciltteki kaşıntı, beriberi, ülser ve yaraların tedavisinde hastalıklı bölgeye günde bir kere uygulanır. Kansere, ülser, damar hastalıkları ve diyabet tedavisi: kansere karşı, iç organlardaki ülserin tedavisinde, kandaki şeker ve yağ seviyelerini düşürmede, damar sertliğini gidermede ve diğer kan ve damar hastalıklarının tedavisinde günde 3 kez kahve, süt, bir parça ekmeğe veya kesme sekere 12 damla propolis damlatılarak kullanılır. Toksinleri atma, kanı temizleme, kalbi güçlendirme

ve bağışıklığı arttırmak amacıyla günde bir kez içeceğe veya yiyeceğe 10 damla damlatılarak kullanılır.

#### **2.4. Antibiyotikler ve Kemoterapötiklerin Mikroorganizmalar Üzerine Etkileri**

İnfeksiyon hastalıkları hemen hemen insanlık tarihi kadar eskidir ve insan, tarihinin her devresinde bu amansız düşmanla savaşmıştır. Yüzyıllar önce kitleleri silip süpüren, veba, kolera, tifüs gibi bakteriyal kökenli pandemilere bugün rastlamıyoruz. Onların yerine yeni yeni etkenler ve bunların neden olduğu yeni enfeksiyonlar ortaya çıkıyor. Bu enfeksiyonlarla savaş, asırlar öncesinden beri süregelmektedir. Önceleri bitki kökleri, şarap, küf gibi doğal maddeler kullanılırdı. M.Ö. 2500 yıllarında Çin'de küfün stafilokoksik deri hastalıklarında kullanıldığı bilinmektedir. Daha sonraları bu bitkilerin değişik kısımlarından çıkarılan ekstratler kullanıldı. Binaltıyüzlü yıllarda Güney Amerika'da kına kına kabuğu ekstresinin sıtmada ve ipeka kökü ekstresinin de amibli dizanteride uygulanması bunlara örnektir. Ondokuzuncu yüzyıl sonlarıyla yirminci yüzyıl başlarında, mikrobiyolojinin altın devrinde, bakteriler hakkında bilgiler arttıkça, enfeksiyonlarla savaş daha bilinçli bir şekilde yürütölmeye başlandı. Kemoterapinin öncülerinden olan Ehrlich, arsenik bileşiklerini bazı protozoon hastalıklarında ve sifilizde başarıyla kullanmış fakat treponemalar dışında, bakterilere etkili ve sistemik verilebilecek bir ilaç bulunamamıştır. O zamanlar insan vücuduna zarar vermeden bakterileri etkilemenin mümkün olmayacağına inanılırdı (Yüce, 1988).

Bindokuzyüz otuzlarda, Domagk tarafından sülfamidlerin (Prontosil) keşfi bu inancı kökünden yıktı ve modern antimikrobik tedavide altın devrini başlattı. Penisilin ve onun arkasından diğer antimikrobiklerin bulunması insanlığı tehdit eden birçok tehlikeli enfeksiyonun, kontrol altına alınmasıyla sonuçlandı. Bakteriler de bu savaşta yenilgiyi hemen kabullenmediler ve her yeni çıkan antibiyotiğe karşı değişik yollarla direnç oluşturdular. Bu durum araştırmacıları daha geniş etki sahalı ve daha az toksik antimikrobikler bulmaya zorladı. Bakterilerle insanlık arasındaki savaş günümüzde de bütün şiddet ve önemiyle sürmektedir (Yüce, 1988).

Mikrobiai popölasyonların kontrolü ile ilgili olan mikrobiyolojide çok kullanılan bazı terimler vardır. Bunlar bakterioistasis, bakterioistatik, bakterisidal, dezenfeksiyon, sterilizasyon, antiseptik, sanitizer, germisid, antimikrobiai madde ve asespsisdir. Bakterioistasis terimi bakterileri öldürmeden sadece onların büyüme ve bazı faaliyetlerinin önlenmesi durumunu belirler. Bakterioistatik terimi ise bakterilerin büyümelerini yani çoğalmalarını onları öldürmeksizin önleyici etkiye sahip madde anlamında kullanılır. Bakterisidal madde denince, bu maddenin bakteriyi öldürebileceği, bakterisit denilince de



herhangi bir bakterisidal, yani bakteriyi öldürebilecek bir madde kastedilir. Sterilizasyon, bir maddenin steril hale getirilmesi için yapılan işlem. Bir maddenin steril hale gelebilmesi ise onun canlı organizmalardan arındırmak, yani üzerindeki tüm canlıları yok etmek veya tahrip etmektir. Antisepsis, çürüme ve sepsis olaylarını mikroorganizmaların büyümelerini önlemek suretiyle önleme anlamında kullanılır. Sanitizer, maddeler içinde ve maddeler üzerinde zararlı mikrobiyal popülasyonu öldürerek onların seviyesini halk sağlığına zarar vermeyecek bir noktaya kadar azaltan ve genellikle kimyasal olan maddelerdir. Germisid mikroorganizmalar, özellikle patojenik olanları öldüren bir madde anlamında kullanılır. Asepsis ise kısaca sepsissiz anlamında kullanılır. Bunu biraz daha açık olarak belirtecek olursak, enfeksiyon yapan mikroorganizmaların ameliyathane gibi istenen bir yerde bulundurulmamasıdır. Mikrobiyoloji ile ilgili kitaplarda antimikrobiyal madde terimi de oldukça yaygın kullanılmaktadır. Genellikle bu terim kullanıldığında teknik olarak mikrobiyal büyümeye ket vuran madde kastedilir. Ne varki pratikte bu terimde mikroorganizmaların hem büyüme ve hemde faaliyetlerine karşı kullanılır. Bazen bu terim kullanıldığı mikroorganizma grubu adını anarak kullanılır (Öner, 2004).

**Antimikrobiyal ilaçlar 5 grupta incelenir:**

1- Antibiyotikler (Antibakteriyal ilaçlar)

2- Antifungal ilaçlar

3- Antiviral ilaçlar

4- Antiparazitik ilaçlar

5- Dezenfektan ve Antiseptikler (Öztürk, 1997).

Antibiyotikler, *Penicillium*, *Cephalosporium*, *Streptomyces*, *Micromonospora* ve *Bacillus* türleri gibi değişik mikroorganizmalar tarafından sentez edilen ve diğer mikroorganizmaların üremesini önleyen veya onları öldüren maddelerdir. Sentez suretiyle elde edilen mikroorganizma karşıtı maddelere kemoterapötik maddeler denir. Günümüzde, değişik antibiyotik etkili maddeler de sentez suretiyle elde edilmekte ve artık antibiyotikler de kemoterapötikler içinde sayılmaktadır (Öztürk, 1997).

Hastalık ajanlarının kontrolü, bunların çoğalmalarının ve yayılmalarının sınırlandırılması ve durdurulması ile daha ziyade öldürülmelerini sağlamak amacıyla uygulanacak yöntemleri kapsamaktadır. Böylece, enfeksiyöz ajanları etrafa yayılmadan, başka kişilere bulaşmadan ve enfeksiyon yaygınlaşmadan kontrol altına alınabilir ve gerekli koruyucu, sağaltıcı önlemler için de zaman kazanılmış olur. Hastalık ajanlarının

kontrol altına almada başlıca 2 prensip göz önünde tutulmaktadır; Kimyasal maddelerin kullanılması ve fiziksel yöntemlerin kullanılmasıdır. Enfeksiyöz ajanlarının giderilmesinde ve kontrol altına alınmasında başlıca 2 grup kimyasal ajan kullanılmaktadır. Bunlardan birisi antimikrobiyal maddeler (kemoterapötikler: antibiyotikler, sulfanomidler vb.) ve diğeri de dezenfektanlardır (Arda, 2000).

Kemoterapötik maddeler, enfeksiyon hastalıklarının tedavi edilmesinde veya önlenmesinde kullanılan kimyasal maddelerdir. Bu maddeler, mikroorganizmalar veya bitkilerden elde edilir veya kimyasal olarak sentezlenir. Genel olarak doğal kimyasal maddeler, sentetik bileşiklerden antibiyotik tanımı ile ayrılır (Özçelik, 1998).

Kimyasal bir maddenin kemoterapötik madde olarak kullanılabilmesi için selektif toksisiteye sahip olması gerekir. Diğer bir ifadeyle, söz konusu madde, parazitleri inhibe etmeli veya öldürmeli fakat konakçı hücrelerine az veya hiç zarar vermemelidir. Ayrıca hücre ve dokulara penetrasyon özelliğine sahip olmalı ve konakçının doğal savunma mekanizmasını bozmamalıdır (Özçelik, 1998).

Bilindiği gibi, bakteriler tek hücreli organizmalardır ve metabolizmaları insan hücrelerinin metabolizmasına benzer. Bu nedenle bir antimikrobik, bakteri üzerine etkisini gösterirken insan hücrelerine zarar vermemelidir. Yani mikrop üzerine seçici bir toksik etkisi olmalıdır. Örneğin memeli hücrelerinde, bakterilerde olduğu gibi bir hücre duvarı yoktur. Bu nedenle hücre duvarı sentezini inhibe eden bir antimikrobik seçici bir toksik etkiye sahiptir. Bunu gibi, sülfamidler bakterilerde folik asid sentezini inhibe ederek etkilerini gösterir. İnsan ise folik asidi dışarıdan besinlerle, hazır olarak alır. Burada sülfamidin etkisinin de selektif olduğunu görüyoruz (Yüce, 1988).

Antimikrobiyal ilaçlar hiçbir zaman gelişigüzel kullanılamazlar. Enfeksiyonun teşhisi yapılsa bile, izole edilen primer etkenin duyarlılığının (antibiyogram) belirlenmesi gerekir. Kemoterapötik ajanların, mikroorganizmalara olan etkilerinin spektrumu oldukça değişiktir. Bazıları çok az türdeki mikroorganizmalara etkiliyken (dar spektrumlu ilaçlar); bazıları daha fazla cins ve türdeki hastalık ajanlarına toksik etki yapar (geniş spektrumlu ilaçlar) (Arda, 2000).

## **2.5. Antimikrobiyal Maddelerin Etki Mekanizmaları**

Antimikrobiyal maddeler başlıca beş mekanizma ile antimikrobiyal etki gösterirler.

### **2.5.1. Hücre Duvarı Sentezini Durdurma**

$\beta$ -laktam antibiyotikler (penisilinler, sefalosporinler), glikopeptitler (vankomisin, teikoplanin), novobiosin, basitrasin, sikloserin gibi antimikrobiyal maddeler bu mekanizma ile etkili olurlar. Hücre duvarı bakterinin bütünlüğünü koruyan, bölünme ve çoğalmasını

sağlayan kısmıdır. Hücre duvarı murein denilen bir polimer bileşikten oluşmaktadır. Bu madde bir mukopolisakkarit olan lineer peptidoglikan zincirlerinin yan dallarla birbirine bağlanması sonucu oluşur. Bu tabaka Gram-pozitif bakterilerde kalın olup 50-100 peptidoglikan molekül tabakasından oluşur. Gram-negatif bakterilerde peptidoglikan tabaka daha ince ve esnek olup 1-2 molekül tabakasından yapılıdır ve bunun dışında da bir lipopolisakkarit-lipoprotein yapılı ikinci bir tabaka bulunmaktadır. Bakteri hücre duvarı, dış ortamdan aktif transportla alınan suda çözülmüş pek çok maddenin yükselttiği hücre içi osmotik basınca karşı direnir bakterinin bütünlüğünü koruyarak parçalanmasına engel olur (Öztürk, 1997).

### **2.5.2. Hücre Zarı İşlevini Bozma**

Polimiksinler, nistatin, amfoterisin B, imidazoller bu mekanizma ile etkili olurlar. Sitoplazma zarı mikroorganizma için gerekli maddelerin dış ortamdan difüzyon veya aktif transportla alındığı osmotik bir engeldir. Buraya etkili antimikrobik maddeler sitoplazma zarının geçirgenliğini artırıp sitoplazma içindeki genellikle ufak moleküllü bileşiklerin (aminoasitler, nükleotitler, potasyum) dışarı çıkmasına neden olup mikroorganizmanın ölümüne neden olurlar (Öztürk, 1997).

Bu maddeler üremesi tamamlanmış mikroorganizmalara da etkili olurlar. Örneğin katyonik deterjan etkisi yapan polimiksinler bakteri hücre zarındaki fosfolipidlerin fosfat bölümleriyle birleşir, kendi moleküllerinin lipofilik bölümünü hücre zarı lipidlerine yerleştirir ve bunları bozar. Sonuçta mikroorganizmanın geçirgenliği artar, osmotik denge bozulur ve hücre içeriği dışarı sızar (Öztürk, 1997).

### **2.5.3. Protein Sentezini Bozma**

Aminoglikozitler (streptomisin, neomisin, kanamisin, gentamisin, tobramisin, amikasin vb.), tetrasiklinler, kloramfenikol, makrolitler (eritromisin, azitromisin, klaritromisin, roksitromisin), linkozamitler (linkomisin, klindamisin) bu şekilde etki ederler. Bu grup antimikrobikler bakteri ribozomlarında protein sentezini inhibe ederek etkili olurlar. Bunların bir kısmı bakterilerin ribozomları ile birleşip orada m-RNA tarafından yönetilen protein sentezini bozarlar. Memeli hücrelerindeki ribozomlar (80 S) bakterilerindekinden (70 S ribozomu, bu 70 S ribozomu 30 ve 50 S alt birimlerine ayrılır) farklı olduğundan bunlar memeli hücrelerindeki protein sentezini bozmazlar. Bu grup ilaçlar ribozomlarda farklı etkilere neden olurlar (Öztürk, 1997).

- a- Aminoasitlerin aktivasyonunu yani tRNA'ya bağlanmasını inhibe etme
- b- mRNA'nın ribozomlara bağlanmasını veya aminoasil-tRNA bileşiğinin

ribozom-mRNA kompleksine bağlanmasını inhibe etme

c- Peptidil transferaz etkinliğini azaltarak peptid bağları oluşumunu inhibe etme

d- mRNA üzerindeki kodonların, tRNA'lar tarafından yanlış okunmasına (tercümesine) neden olma.

#### **2.5.4. Nükleik Asitleri Bozma**

Rifampin, nalidiksik asit ve diğer kinolonlar (ofloksasin, siprofloksasin, norfloksasin, pefloksasin vb.), nitrofuranlar, vidarabin, asiklovir, griseofulvin, nitroimidazole türevleri (metronidazole, tinidazole, ornidazole vb.) bu şekilde etki ederler. Bu grup antimikrobiyaller DNA sentezini veya DNA sentezi altında yapılan mRNA sentezini bozarak etki gösterirler. Bu grupta memeli hücrelerinin nükleusunu etkileyen sitotoksik ilaçlar vardır ve bir kısmı tümör tedavisinde kullanılırlar (antineoplastikler-mitomisin, aktinomisin, doksorubisin vb.). Memeli hücreleri üzerinde fazla toksik olmayan rifamisinler ve kinolonlar antimikrobiyal madde olarak kullanılırlar (Öztürk, 1997).

#### **2.5.5. Antimetabolitler**

Bu grupta sulfonamidler, izoniazit (INH), PAS, ethambutol, dihidrofolat redüktaz inhibitörleri (trimethoprim, primetamin), 5- fluorositozin bulunmaktadır. Antimetabolitler yapıca normal substratlara benzer ve enzimlerin üzerindeki etkin yerler için onlarla yarışırırlar. Bunlar bakterilerin metabolizması için gerekli bazı maddelerin sentezini bozarlar. Örneğin sulfonamidler dihidropteroat sentetazı inhibe edip PABA ve pteridinden dihidropteroik asit sentezini bozarlar ve dihidrofolik asidin ve dihidrofolat redüktazla bundan oluşan tetrahidrofolikasidin yapımı azalır. Sonuçta purin bazları ve timidinin yapımını sağlayan enzimlerin kofaktörü olan tetrahidrofolat türevleri yapılamaz ve bakterilerde DNA ve RNA sentezi bozulur (Öztürk, 1997).

#### **2.6. Antimikrobiyal Özelliklerinin Belirlenmesinde Kullanılan Teknikler**

Bir enfeksiyonun sağaltımı ile ilgili uygun antimikrobik ajanın seçiminde; olası enfeksiyon etkeni, enfeksiyon etkeninin antibiyotik duyarlılığı, ilacın *in-vivo* aktivitesini etkileyebilecek konak faktörleri, enfeksiyonun yeri, ilacın farmakodinamik ve farmakokinetik özellikleri gibi bir dizi faktörün değerlendirilmesi gereklidir. Antimikrobik ajanın etken mikroorganizma üzerinde *in-vitro* aktivitesi tedavide göz önüne alınması gereken faktörlerden biridir. Bir antibiyotiğin antimikrobik aktivitesinin saptanması için uygulanan *in-vitro* işlemlere genel olarak **duyarlılık testleri** adı verilmektedir.

Antimikrobik ilaçlara karşı duyarlılık birçok yöntem ile saptanabilmektedir. Rutin laboratuvarlarda uygulanan testlerle genellikle ilaçların inhibitör (bakteriyostatik) aktivitesi değerlendirilir. Bu amaçla uygulanan yöntemler:

1. Katı veya sıvı besiyerlerinde seyreltme (dilüsyon) yöntemleri
2. Disk difüzyon yöntemi
3. Gradyent difüzyon (Etest) yöntemi
4. Antimikrobik ajanları inaktive eden enzimlerin saptanması olarak sıralanabilir.

### **2.6.1. Katı veya sıvı besiyerlerinde seyreltme (dilüsyon) yöntemleri**

Seyreltme yöntemlerinde standart sayıda bakteri topluluğu (inokulum), iki katlı dilüsyonlar şeklinde değişen yoğunluklarda antimikrobik ajan ile karşılaştırılır. Ünkübasyon süresi sonunda gözle görünür üremeyi engelleyen en düşük antimikrobik ilaç yoğunluğu saptanır. Buna **Minimum İnhibitör Konsantrasyon (MiK)** denir ve (mg/L) şeklinde ifade edilir. MiK değerinin duyarlılığı mı yoksa direnci mi temsil ettiğini belirlemek için, bulunan konsantrasyon **duyarlılık sınırı** adı verilen bir değer ile karşılaştırılır. MiK, bu sınırdan düşük ise mikroorganizma söz konusu ajana ‘duyarlı’ olarak değerlendirilir. Bunun dışında ‘orta’ ve ‘dirençli’ kategorileri de saptanır (Gülay, 2002).

### **2.6.2. Disk difüzyon yöntemi**

Disk difüzyon yönteminde belirli bir miktar antibiyotik emdirilmiş kağıt diskler, test mikroorganizmasından hazırlanan standart süspansiyonun yayıldığı agar plakları yüzeyine yerleştirilir. Böylelikle, diskteki antibiyotik agar içerisine yayılır ve bakteriye etkili olduğu düzeylerde üremeyi engeller. Bunun sonucunda, disk çevresinde bakterilerin üremediği dairesel bir inhibisyon alanı oluşur. Bu alanın çapı ölçülerek ‘duyarlı’, ‘orta’ ve ‘dirençli’ olacak şekilde duyarlılık kategorileri belirlenir. Bu kategoriler ile ilgili sınır değerleri, her antimikrobik ajan için MiK ile korele edilerek ve erişilebilir serum düzeyleri göz önüne alınarak saptanır (Gülay, 2002).

### **2.6.3. Gradyent difüzyon (Etest) yöntemi**

E-Test, disk difüzyon ve agar dilüsyon methodlarının her ikisinin temel prensiplerinin kombine edildiği yani bulunmuş bir gradient tekniğidir. İsveç’te açıklanmış bu yeni buluş ilk kez 1988’de Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy (ICAAC) toplantısında bilimsel camiaya sunuldu (Schwalbe, 2007).

Antibiyotik konsantrasyonlarının önceden belirlenmiş ve tanımlanmış gradientleri plastik bir sribin üstüne kuru formda sabitlenir. Strip üzerinde aralıksız konsantrasyon gradienti vardır ve bu ilgili MIC değerlerine denk gelen seyreltmeleri içerir. Aşılınmış

agar plaka yüzeyine uygulandığında, Etest stribi üzerindeki antibiyotik hemen stribin altına ve yakın çevresine transfer olur. Gradientin sabitliği 18 ile 20 saate kadar belli bir düzeyi korur ki bu anaeroblar ve fungi dahil çok hızlı büyüyen aerobik bakterilerden yavaş büyüyen zor beğenen organizmalara kadar patojenlerin büyük aralığının kritik zamanlarını kapsamaktadır (Schwalbe, 2007).

İnkübasyon süresi sonunda, elips şeklindeki inhibisyon alanının stripi kestiği konsantrasyon MiK olarak belirlenir. Bu yöntem özellikle *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria gonorrhoeae* gibi üreyen bakteri türlerinin MiK değerlerinin saptanmasında yaygın olarak kullanılmaktadır (Gülay, 2002).

#### **2.6.4. Antimikrobik ajanları inaktive eden enzimlerin saptanması**

Enzim üretiminin saptanması: *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*, *N. gonorrhoeae* bi türlerde nitrosefin ile b-laktamaz aktivitesinin saptanması ya da *H. influenzae* izolatlarında kloramfenikol asetil transferaz enzimi aktivitesinin biyokimyasal yöntemlerle gösterilmesi, antibiyotik direncinin klasik yöntemlere kıyasla daha hızlı saptanabilmesini sağlamaktadır (Gülay, 2002).

#### **2.7. Antimikrobik ilaçlara karşı direnç kazanma mekanizmaları**

Son 50-60 yıl içinde kullanıma giren antibiyotikler insan yaşamında en önemli katkıyı sağlamış, ölümcül pek çok infeksiyon hastalığının başarıyla tedavisini olanaklı kılmıştır. İnsanlık tarihinin en önemli buluşlarından olan antibiyotikler, başta uygunsuz ve gereksiz kullanımları sonucu gelişen direnç nedeniyle etkilerini önemli oranda kaybetmişlerdir. Mikroorganizmalar kendilerini yok etmek için kullanılan antimikrobik maddelere karşı er ya da geç karşı koyma gücü yani direnç kazanmaktadır. Antimikrobik maddelere karşı gelişen direnç günümüzde bütün insanlığı tehdit edecek düzeyde çok önemli bir sorundur. Başta hastanelerde çok ilaca karşı dirençli kökenlerle gelişen hastane infeksiyonları hastanede kalışı ve ölüm oranlarını artırmakta ve oldukça fazla ek bir maliyet oluşmasına neden olmaktadır. Artık günümüzde sadece hastane kökenleri değil toplumdan kazanılmış kökenlerde de direnç önemli oranlarda artmakta bu olay sorunu daha da büyütüp ciddi boyutlara taşımaktadır (Öztürk, 2002).

Bir antimikrobik maddeye karşı dirençli hale gelen bir mikroorganizma türünde bu kemoterapotik maddeye yapıcı veya etki tarzı bakımından yakın diğer antimikrobiklere karşı da direnç gelişebilir, bu duruma çapraz direnç (cross resistance) denir. Mikroorganizmanın yapısı ve etkisi farklı bir çok antimikrobik maddeye karşı dirençli hale gelmesi durumuna ise çok ilaca dirençlilik (multiple-drug resistance) denir.

Mikroorganizmaların antimikrobiklere karşı gösterdiği direnç doğal (intrinsik) ve kazanılmış (genotipik, kalıtsal) direnç diye iki ana bölümde ele alınabilir (Öztürk, 2002).

### **2.7.1. Doğal direnç**

Kalıtsal özellikte olmayan direnç tipidir. Bir mikroorganizmanın yapısı nedeniyle dirençli oluşu anlamına gelir. Burada genellikle antimikrobik madde nin bağlanarak etkili olduğu hedef molekülün olmaması doğal dirençten sorumludur. Bir antimikrobik maddeye doğal dirençli olan türün hiç bir kökeni o antibiyotikten etkilenmez. Bir çok Gram-negatif bakteri vankomisine ve metisiline, enterokoklar sefalosporinlere duvar yapıları nedeniyle intrinsik direnç gösterirler. Aminoglikozitlerin hücre mebranından geçişi oksijen bağımlı, enerji gerektiren bir olay olduğundan oksidatif fosforilasyonun olmadığı zorunlu anaerob bakterilerde yeterli ilaç hücre içine giremediğinden anaeroplara üzerine aminoglikozitler etki göstermezler (Öztürk, 2002).

Genellikle ilaçların etkili olması için mikroorganizmanın aktif üreme döneminde olması gerekmektedir. Bakteri sporları veya dormant haldeki mikobakteriler gibi metabolik olarak inaktif mikroorganizmalar ilaçlara fenotipik olarak dirençli görülebilir, ama bunlardan oluşan yeni kökenler ilaçlara duyarlıdır. Buna benzer şekilde bakterilerin hücre duvarsız L şekilleri hücre duvarı sentezini bozarak etkili olan antibiyotiklerden etkilenmezler. L şekilleri ana şekle donup hücre duvarlarını yeniden kazanınca antibiyotiklere duyarlı hale gelirler (Öztürk, 2002).

### **2.7.2. Kazanılmış (Kalıtsal) direnç**

Sonradan kazanılan bir direnç tipidir. Burada bakteri popülasyonu antimikrobik madde ile ilk temas geldiğinde ilaç mikroorganizma üzerine etkilidir, ancak temas sırasında veya tekrarlanan tedaviler sırasında mikroorganizma popülasyonunda antimikrobik maddeye karşı direnç gelişir. Antimikrobiklere karşı gelişen direnç esas olarak bu yolla olmakta ve genetik değişim sonunda seleksiyonla dirençli kökenler ortaya çıkıp yayılmaktadır. Genetik direnç kromozom, plazmid, transpozon kontrolü altındadır. Mikroorganizmalar direnç mekanizmalarından birini, bazen bir kaçını birlikte kullanarak antimikrobiklere direnç kazanmaktadır (Öztürk, 2002).

#### **Kazanılmış direnç mekanizmaları**

##### **1. İlacın hedefinde değişiklik olması**

Penisilin bağlayan proteinlerin değişimi ( $\beta$ -laktamlara karşı direnç)

Ribozomal hedefin değişimi (aminoglikozit, makrolit, linkozamitlere karşı direnç)

Değişmiş enzimatik hedef (sulfonamid, trimetoprim, rifampin, kinolon)

##### **2. Sentezlenen enzimle ilacın inaktive veya modifiye edilmesi, $\beta$ -laktamaz**

Aminoglkozid modifiye eden enzimler (asetilaz, adenilaz, fosforilaz)

Kloramfenikol asetil transferaz

3. Hücreye giren veya biriken ilaç miktarının azalması

a. Geçirgenliğin (permeabilite) azalması

b. Antibiyotığın alım ve transport sisteminin zayıflığı veya yokluğu

c. Aktif pompalama ile ilacın dışarı atılması

4. Antimikrobik maddenin etkisinin sonuçlarını önlemek

ilaç hedefi veya yarışıcı substratların aşırı oluşumu (sulfonamid, trimetoprim)

5. Tolerans (bakterisid etki gösterebilen dozun inhibe edici dozdan normale göre çok yüksek olması)

### **2.8. Propolis Üzerine Yapılan Önceki Çalışmalar**

Aksoy ve Dığrak (2006) yaptıkları çalışmada, Bingöl ili ve çevresinden toplanan bal ve propolisin antimikrobiyal etkisini araştırmışlardır. Bal ve propolis ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitesi *Klebsiella pneumoniae* 13883, *Enterobacter cloaca* ATCC 13047, *Escherichia coli* ATCC 8739, *Pseudomonas aeroginosa* 9027, *Staphylococcus aureus* 6538, *Bacillus subtilis* IMG 22, *Bacillus megaterium* DSM 32, *Micrococcus luteus* LA 2971, *Mycobacterium smegmatis* RUT, *Bacillus brevis* FMC 3, *Enterobacter aeroginosa* ATCC 27859, *Corynebacterium xerosis* ATCC 373, bakterileri ile *Kluyveromyces marxianus* 332, *Rhodotorula rubra* 116, *Candida albicans* 30114 mantar türleri kullanılarak test edilmiş. Araştırma sonucunda, bal ve propolis ekstraktlarının Gram negatif ve Gram pozitif bakterilere karşı antibakteriyal ve mantarlara karşı da antifungal aktivitelerinin olduğu tespit etmişlerdir.

Biray ve ark. (2006) yaptıkları çalışmada; propolisin CCRF-CEM hücre dizisinde sitotoksik ve apoptotik özelliklerini ortaya koymuşlardır. Sitotoksitenin değerlendirilmesi için Tripan mavisi yöntemi ve XTT yöntemleri kullanılmış, apoptozisin değerlendirilmesi için ise, apoptozis esnasında açığa çıkan oligonükleotidlerin saptanması esasına dayalı Eliza yöntemi ve apoptotik cisimciklerin flüoresan mikroskopta görüntülenmesini sağlayan Akridin Oranj – Etidyum Bromid boyama tekniği kullanılmıştır. Propolisin sitotoksik etkisinin saptandıktan sonra, propolisin etken maddelerinden Sinamik asit ve CAPE (Kafeik asit fenetil ester)' in sitotoksik özellikleri aynı yöntemlerle değerlendirilmiştir. Sinamik asit herhangi bir sitotoksik etki göstermez iken CAPE' nin doz ve zamana bağımlı olarak sitotoksik etki gösterdiği ve IC<sub>50</sub> dozunun 1 µM olduğu tespit edilmiştir. Akridin Oranj - Etidyum Bromid boyama yöntemleri ile CAPE' nin aynı hücre dizisinde apoptozise neden olduğu bulunmuştur.



Özcan ve ark. (2003)' in yaptığı çalışmada; *Alternaria alternata* ve *Fusarium oxysporium* f. sp. *melonis*'in misel gelişimi üzerine farklı bölgelerden sağlanmış polen ve propolisin % 2 ve 5 konsantrasyonlarındaki metanol ekstraktlarının inhibitör etkileri araştırılmıştır. Genel olarak her iki ekstraktın % 2'lik konsantrasyonu fungus gelişmesine en az etkili olduğu bulunmuştur. Fakat, *F. oxysporium* ve *A. alternata*'nın gelişmesi üzerine propolis ekstraktlarının her iki konsantrasyonu polen ekstraktlarına göre daha çok etkili olmuş ( $P<0,01$ ). *F. oxysporium*, propolis ekstraktlarına karşı *A. alternaria*'dan çok daha hassas olmuş. Test edilen polen ekstraktlarının hiçbiri denemede kullanılan fungusların misel gelişmesini tamamen engellememiş. Polen ekstraktlarının her iki konsantrasyonu *A. alternata* ve *F. oxysporium*'a karşı % 50'den daha az etkili olduğu saptanmıştır.

Park ve Ikegaki (1998) çalışmalarında, su ve değişik konsantrasyonlar da etanol çözücülerini kullanılarak propolisin ekstraktları elde edilmiş ve bu ekstraktlar UV spektrofotometre kullanılarak absorpsiyon spektrumunun ölçülmesi, ters fazlı yüksek basınçlı ince kolon kromatografisi ve ters fazlı HPLC ile araştırılmıştır. Bütün ekstraktların maksimum absorpsiyon değeri 290 nm, flavonoid kompozisyonları benzer ve %80 etanolik ekstrakt 290 nm 'de çok yüksek absorpsiyon göstermiştir. Propolisin %60 ile 80 arasındaki etanolik ekstraktları mikrobiyal büyümeyi kuvvetli şekilde inhibe ederken, %70 ve %80 etanolik ekstraktları mükemmel antioksidan aktiviteye sahip olduğu ve % 80 etanolik ekstraktı hyaluronidaz aktivitesini güçlü bir şekilde inhibe ettiği saptanmıştır.

Santos ve ark. (2002) Brezilya' nın Minas Gerais eyaletinden toplanmış propolis örnekleri üzerine bir araştırmalar yapmışlardır. Propolis sulu etanolik ekstraktı ve elde edilen fraksiyonlar periodontit problemine sebep olan bakteriye karşı inhibitör aktivitesi için test edilmiş ve test edilen tüm bakteri türlerinin propolis ekstraktlarına karşı duyarlı olduğu belirlenmiştir.

Hatay (Türkiye) ilinden toplanan propolis ve polen örneklerinin ekstraktların antibakteriyal aktiviteleri *in-vitro* koşullarda 13 farklı türde tarımsal açıdan zararlı bakteriler üzerine denenmiştir. Bu çalışma bitki patojeni bakterilere karşı propolis ve polenin antibakteriyal aktivitesinin ilk defa rapor edildiği çalışmadır. Ekstraktlar saf metanol ile hazırlanmış ve en yüksek duyarlılık 1/5' lik polen ekstraktının *Agrobacterium tumefaciens* bakterisine karşı 12 mm inhibisyon zonu olarak belirlenmiştir. Propolisin 1/10' luk ekstraktı ise *P. syringae* pv. *phaseolicola* bakterisine karşı 17 mm inhibisyon zonu ile en etkili olmuştur. Propolisin 1/1000 ve polenin 1/100' lik ekstraktlarının test mikroorganizmalarının üzerine etkisi gözlenmemiştir (Basim, 2006).

İran' ın kuzey batısından propolis örnekleri toplanmış ve bunların antibakteriyal ve antifungal aktiviteleri çalışılmıştır. Bu çalışmada ekstraktın ürünü ve onların pH değerleri ölçülmüş ve etanol ile ekstrakte edilmiş propolisin antibakteriyal ve antifungal aktivitesi petri plak metodu ile araştırılmıştır. Bütün örnekler fungal ve bakteriyal test strainlerine karşı etkili olduğu belirlenmiştir.

Kartal ve ark. (2003) Türkiye'nin Kazan ve Marmaris bölgelerinden iki propolis örneğinin antimikrobiyal aktivitesini disk difüzyon metodu ile araştırmışlardır. Antimikrobiyal aktivite dört farklı etanolik ekstrakt ( %30, %50, %70, %96 etanol) ile yedi Gram pozitif, 4 Gram negatif ve bir maya kültürüne karşı denenmiştir. Bu aktivitenin kafeik asid ve esterlerden dolayı olduğu bulunmuştur.

Kujumgiev ve ark. (1999) yaptıkları çalışmada, farklı coğrafik orjinlerden toplanan propolis örneklerinin antibakteriyal (*Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*), antifungal (*Candida albicans*) ve antiviral (Avian influenza virüs) etkilerini belirlemeye yönelik bir araştırma yapmışlardır. Bütün örnekler fungus ve Gram pozitif bakterilere karşı etkili iken en fazla antiviral aktivite gözlenmiştir. Örneklerin farklı kimyasal kompozisyonlarına rağmen bütün örnekler benzer aktivite göstermişlerdir.

Silici ve Kaftanoğlu (2003) Türkiye'nin farklı coğrafik bölgelerine ait illerden (Bursa, İzmir, Kayseri, Sivas, Yozgat, Erzurum, Hatay, Artvin) toplanan propolis örneklerinin antibakteriyal etkilerini *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli* bakterilerine karşı incelemişlerdir. İncelenen propolis örneklerinin tümü *Staphylococcus aureus* bakterisine karşı önemli aktivite gösterirken, *Escherichia coli* bakterisine karşı gözlenen antibakteriyal aktivite daha zayıf bulunmuştur.

Kurt ve Şahinler (2003) propolis etanol ekstraktının (PEE) 7 farklı konsantrasyonunu (0.0, 0.03, 0.06, 0.25, 0.5, ve 1 ppm) *Verticillium dahliae* Kleb., *Fulvia fulva* (Cooke) Cif., ve *Penicillium digitatum* Sacc. karşı *in-vitro* koşullarda antifungal etkisini araştırmışlar. Araştırma sonucunda, PEE' nin artan konsantrasyonlarında, denemeye alınan fungusların miselyal gelişiminde azalma gözlendiğini tespit etmişlerdir.

Seven ve ark. (2007) propolisin hayvan beslemede kullanımı ile ilgili yaptıkları çalışmada, propolisin doğal bir katkı maddesi olup antikarsinojen, antioksidan, antibakteriyel, antifungal ve daha birçok özellikleriyle çok yönlü bir ekstrakt olduğu ve propolisin söz konusu özelliklerinden dolayı gerek organik hayvancılık, gerek hayvan sağlığı ve gerekse alternatif büyüme faktörleri arayışları bakımından bilim insanı ve yetiştiricilerimizin üzerinde durması gerektiği kanısına varmışlardır.

Lu ve ark. (2005) Tayvan'ın çeşitli bölgelerinden (Taipei, Mingchien ve Fanglia) ve çeşitli periyotlarla (Haziran-Temmuz ve Ekim- Kasım) toplanan propolisin etanolik ekstraktlarının (EEP) antimikrobiyal aktivitesini *Staphylococcus aureus* bakterisine karşı araştırmışlardır. Hücre yaşının, inkübasyon ısısının ve aynı zamanda pH derecesinin etkilerinin önemini vurgulamışlardır. *S. aureus* bakterisine karşı EEP'nin minimum inhibitör konsantrasyonu <3,75 ile 60 µg/mL aralığında iken minimum bakterisidal konsantrasyon 7,5 ve 120 µg/ml arasında bulunmuştur.

Gebara ve ark. (2002) propolisin % 70'lik etanolik ekstraktlarının antimikrobiyal aktivitesi *in-vitro* koşullarda periodontopatik mikroorganizmalar olan; *Prevotella intermedia*, *Prevotella melaninogenica*, *Porphyromonas gingivalis*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Capnocytophaga gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum* ve ayrıca *Candida albicans*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* (yabani tipleri) test mikroorganizmalarına karşı ortaya çıkarılmıştır. Tespit edilen sonuçlara göre propolisin periodontal terapide destekleyici olarak kullanılabilmesi öne sürülmüştür.

Yaghoubi ve ark. (2007) İran propolisinin etanolik ekstraktını bazı mikroorganizmalar üzerine etkisini disk difüzyon yöntemini kullanarak belirlemişlerdir. Ekstraktlar sadece Gram pozitif bakteriler ve funguslara karşı aktivite gösterirken, Gram negatif bakterilere etkili olmadığı saptanmıştır. Yapılan kimyasal analizlerde propolisin içeriğinde pinocembrin, kafeik asit, kaempfenol, phenethyl caffeate, chrysin ve galangin olduğu ortaya çıkarılmıştır.

Ota ve ark. (2001) çalışmalarında farklı *Candida* strainleri üzerine propolisin antifungal aktivitesini çalışmışlardır. En yüksek aktivitenin *Candida albicans* üzerine olduğu tespit edilirken, bu kültürü , *Candida tropicalis*, *Candida krusei* ve *Candida guilliermondii* izlemiştir.

Özen ve ark. (2010) Türkiye'nin çeşitli bölgelerinden toplanan propolis örneklerinin antimikrobiyal aktivitesini onbir adet özellikle oral kavite enfeksiyonlarına neden olan anaerobik mikroorganizmalara karşı agar dilüsyon yöntemi ve makro tüp dilüsyon yöntemi kullanılmıştır. Propolis örnekleri etanol kontrolü ile karşılaştırıldığında tüm test edilen anaerobik mikroorganizmalara karşı etkili olduğu ortaya çıkarılmıştır.

Majiene ve ark. (2007) Litvanya'nın çeşitli bölgelerinden toplanmış 10 farklı propolis örneğinin kimyasal kompozisyonunu ve antimikrobiyal etkisini araştırmışlardır. Araştırmacılar etanolik ekstraktların Gram pozitif, Gram negatif bakteriler ve mayalara karşı etkili olmasının nedenini propolis örneklerinin içerdiği fenolik bileşiklere bağlamışlardır.

Popova ve ark. (2005) yaptıkları çalışmada Türkiye'nin farklı bölgelerinden propolis örneklerinin antibakteriyal aktivitesini çalışmışlardır. Bununla birlikte TLC ve GC-MS analizleri ile kimyasal kompozisyonu ve spektrofotometrik ölçümü de yapılmıştır. Altı adet propolis örneği bakteriyal test strainlerine karşı kullanılmış ve kullanılan test mikroorganizmalarına karşı etkinliği saptanmıştır.

Kılıç ve ark. (2005) yaptıkları çalışmada Türkiye'nin Mamak, Kemaliye 1, Kemaliye 2 bölgelerinden propolis örneklerinin etanolik ekstraktlarının antibakteriyal etkinliğini araştırmışlardır. Propolis etanolik ekstraktlarının, minimal inhibitör konsantrasyonları (MIK) makrodilüsyon broth methodu kullanılarak, 33 metisilin-dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) ve 33 vankomisin-dirençli *Enterococcus faecium* (VREF) klinik izolatlarına karşı denenmiştir. Tüm propolis etanolik ekstraktları MRSA bakterilerine karşı VREF bakterilerine nazaran daha yüksek etkinlik göstermiştir. Mamak propolis örneği etanolik ekstraktının en düşük MIK değerini gösterdiği saptanmıştır.

Duran ve ark. (2008) Adana propolis örneklerinin etanolik ekstraktlarını *Leishmania tropica* parazitinin büyümesi üzerine *in-vitro* koşullarda denemişlerdir. Parazit hücreler propolisin beş farklı konsantrasyonu (25, 50, 100, 500, 750 µg/mL) ile muamele edilmiş ve sonuç olarak Adana propolis örneklerinin etanolik ekstraktlarının, önemli parazitlerden *Leishmania tropica*'nın proliferasyonunda azalmaya sebep olduğu belirlenmiştir.

Scazzocchio ve ark. (2006) propolisin etanolik ekstraktlarının (EEP) alt-inhibitör konsantrasyonlarının antibakteriyal aktivitesini ve bazı antibiyotiklere ilave edilince antibakteriyal etkisindeki değişimi üzerine bir çalışma yapmışlardır. Çalışmada, Gram pozitif klinik izolat strainleri kullanılmış ve aynı zamanda lipaz ve koagülaz enzimleri etkileri de incelenmiştir. Sonuçlara göre, EEP'in tüm klinik strainler üzerine önemli antimikrobiyal aktivite gösterdiği saptanmıştır. Antibakteriyal test ilaçlarına EEP eklenince Ampicilin, gentamycin ve streptomycin antimikrobiyal etkisi şiddetli şekilde artarken, chloramphenicol, ceftriaxon, vancomycin az miktarda artış göstermiş. Eritromycin antibiyotiginde ise hiçbir değişim gözlenmemiştir.

Silici ve ark. (2007) farklı orjinlerden propolis örneklerinin bitkisel kaynağının fitokimyasal analizini ve antimikrobiyal aktivitesini belirlemişlerdir. Türk propolis örneklerinin bitkisel orjinini kavak, okalıptus ve *Castanea sativa* olduğu tanımlanmıştır. Çalışma antibakteriyal faaliyetinde propolis örneklerinin arasında hiçbir önemli fark olmadığını gösterirken, okalıptus propolisine karşı mayaların duyarlı olduğu saptanmıştır. Bununla birlikte Gram negatif bakterilerin örneklerin hiçbirine duyarlı olmadığı görülmüştür.

Bostas ve ark. (2008) Brezilya'nın farklı bölgelerinden topladıkları propolis örneklerini *Paenibacillus larvae* mikroorganizması üzerine denemişlerdir. Çalışmadaki mukayese antibiyotiklerine göre propolis örnekleri daha düşük antimikrobiyal aktivite göstermesine rağmen geleneksel antibiyotik tedavilerine dayanıklılığın evriminden dolayı bu araştırma bal arısı kolonilerinde ki hastalıkların tedavisi için yeni aktif bileşenlerin tanımlanmasında önemli bir ilk adım teşkil etmiştir.

Stepanović ve ark. (2003) çalışmalarında Sırbistan'ın farklı bölgelerinden toplanan 13 propolis örneğinin etanolik ekstraktlarının antimikrobiyal özelliklerini 39 mikroorganizmaya karşı denemişlerdir. Ayrıca antimikrobiyaller ve propolis arasında sinerjistik aktivite araştırılmış. Elde edilen sonuçlara göre 13 propolis örneğinin Gram pozitif bakterilere ve mayalara karşı önemli ölçüde antimikrobiyal aktivitesi olduğu saptanırken Gram negatif bakterilere karşı daha az aktivite gösterdiği belirlenmiştir.

Uzel ve ark. (2005) Anadolu'nun dört farklı bölgesinden propolis örneklerinin antimikrobiyal aktivitesini, bazı oral patojenleri de içeren farklı mikroorganizma grupları üzerine araştırmışlardır. Aynı zamanda propolis örneklerinin kimyasal kompozisyonunu karşılaştırmışlardır. Antimikrobiyal aktivite analizi için minimum inhibitör konsantrasyonu (MIC) makrodilüsyon metodu kullanılarak, örneklerin Gram pozitif bakteriler ve mayalara karşı önemli ölçüde antimikrobiyal aktivite gösterdiği saptanmıştır.

Jorge ve ark. (2008) çalışmalarında Brezilyanın dört farklı bölgesinden toplanan propolis örneklerinin, periyot ve bölgeye bağlı olarak kimyasal kompozisyonu, bunun yanında onun bitkisel orjini, sezonal varyasyonunun etkisi göz önünde bulundurularak *in-vitro* antimikrobiyal aktivitesi ve prenylated *p*-coumaric asitleri içeriğinin her ikisi de saptamışlardır. Bütün propolis örnekleri değerlendirildiğinde benzer antibakteriyal aktivite gözlenmiş fakat yıl boyunca prenylated *p*-coumaric asitleri içeriğinin farklılık gösterdiği belirlenmiştir.

Marion ve ark. (2003) *Apis mellifera* ve *Tetragonisca angustula* tarafından üretilen propolis ve balın *Staphylococcus aureus* bakterisine karşı antibakteriyal etkisi makrodilüsyon metodunu kullanarak ortaya çıkarılmıştır. Bal ile karşılaştırıldığında propolis örneklerinin *Staphylococcus aureus* bakterisine karşı daha yüksek antibakteriyal etkisi olduğu saptanmış ve bunun yanında propolis ve bal örneklerinin her ikisinin de *Staphylococcus aureus* bakterisine karşı antibakteriyal aktivite özelliği olduğu gözlenmiştir.

Basio ve ark. (2000) İtalya'nın Kuzey-Batısındaki bir bölge içinde, farklı alanlardan iki propolis örneği toplamışlar ve bunların etanolik ekstraktlarının 46 *Streptococcus*

*pyogenes* bakterilerine karşı antibakteriyal aktivitesini incelemişler. İki propolis örneğinden biri daha yüksek aktivite gösterirken bu ekstraktın flavonoidlerden pinocembrin ve galangin açısından daha zengin olduğu HPLC kullanılarak kanıtlanmıştır.

Koç ve ark. (2007) dört farklı meyve suyunda propolisin antifungal etkisi ortaya çıkarılmıştır. Bulunan MIC değerlerine göre bozuk meyve sularından izole edilen mayalara karşı propolis, Na-benzoate göre daha yüksek antifungal aktivite gösterdiği bildirilmiştir.

Koru ve ark. (2007) Brezilya'dan ve Türkiye'nin dört farklı bölgesinden, beş propolis örneği toplamışlar ve bu örneklerin etanolik ekstraktlarının dokuz adet anaerobik strainlere karşı MIC ve MBC değerlerini hesaplamışlardır. Kazan- Ankara propolis örneği çalışılan mikroorganizmalara karşı çok etkili MIC değerleri göstermişken, bütün propolis örnekleri Gram pozitif anaerobik bakterilere, Gram negatif olanlardan daha etkili olduğu belirlenmiştir.

Velazquez ve ark. (2007) Meksika'nın kuzey batısında bulunan Soronan Çölünün üç farklı alanından (Pueblo de Alamos (PAP), Ures (UP) ve Caborca (CP)) toplanan propolis örneklerinin antibakteriyal aktivitesini ve serbest radikal temizleme etkisi üzerine çalışmışlardır. Sonoran propolis örneklerinin antibakteriyal ve serbest radikal temizleyici etkisi sırasıyla broth mikrodilüsyon metodu ve DPPH (1,1-diphenyl- 2-picrylhydrazyl) metodu kullanılarak araştırılmıştır. Sonoran CP propolisi ve CAPE (Caffeic acid phenethyl ester) *Staphylococcus aureus* bakterisine karşı güçlü antibakteriyal etki göstermiştir. İlaveten, CP propolis örneği C ve BHT (butylated hydroxytoluene) vitaminleri ile karşılaştırılabilir bir şekilde, kuvvetli serbest radikal temizleme aktivitesi gösterdiği tespit edilmiştir.

Vaz Coelho ve ark. (2007) Brezilya yeşil propolisinin etkisini *Helicobacter pylori* ile infekte olmuş bireyler üzerine denemişlerdir. Uygun dozda kullanılan Brezilya yeşil propolisi *H. pylori* enfeksiyonu üzerine minimal etki gösterdiği ortaya çıkarılmıştır.

Dığrak ve ark. (1995) propolisdeki yağ asitlerini ve antimikrobiyal etkisini araştırmışlardır. Propolisin etanolik ekstraktının tüberküloza neden olan basiller dahil, Gram negatif ve Gram pozitif basil ve koklara karşı antimikrobiyal etkisi olduğu bulunurken, etanolik ekstraktının farklı konsantrasyonlardaki çözeltileri, *Escherichia coli* ATTC 25922 dışında çalışmada kullanılan bakteri ve maya suşlarının gelişmelerini engellediği tespit edilmiştir. Buna ilaveten, ekstrakte edilen yağ asitleri; nervonik asit (24:1) 15,8 mg/g, palmitik asit (16:0) 9,6 mg/g ve stearik asit (18:0) 2,72 mg/g propolis olarak belirlenmiştir.

Temiz ve ark. (2006), antimikrobiyal etkinin propolisin elde edildiği kaynağa, kimyasal kompozisyonuna, etken maddelerin konsantrasyonuna ve etken maddeler arasındaki sinerjizme göre değiştiği sonucuna varılabileceğini bildirmişlerdir.

Tekeli (2007) yaptığı çalışmada, etlik piliç yemlerinde kullanımı yasaklanan antibiyotiklere alternatif doğal bitkisel ekstraktların ve propolisin büyütme faktörü olarak kullanım olanaklarını araştırmıştır. Çalışmanın sonuçlarına göre; bitkisel ekstrakt olarak 240 ppm *Z.officinale* esans yağı ve/veya 1000 ppm propolis katkısının antibiyotiklere alternatif olma açısından büyük avantaj sağladığı belirtilmiştir.

Bayrak (2005), market ve eczanelerde satılan değişik markalı bal, arı sütü ve polen örnekleriyle, farklı arıcılardan temin edilen propolis örneklerinin mikrofloraları ve antimikrobiyal aktivitelerini incelemiştir. Mikrofloraları incelenen propolis örneklerinin tümünde küf, maya ve bakteri üremesi görülmemiştir. Çalışılan arı ürünlerinin tümünün farklı oranlarda antimikrobiyal ve antifungal etkiye sahip oldukları belirlenirken en yüksek antibakteriyel ve antifungal etkiye sahip arı ürününün propolis olduğu tespit edilmiştir.

Duran (2007) çalışmasında, Adana orijinli propolisin bazı Gram pozitif standart suşları ile Gram pozitif klinik izolatı ve Gram negatif standart suşları ile Gram negatif klinik izolatlarına karşı antibakteriyel, mayadan ise *Candida albicans* ATCC 90028, *Candida krusei* ATCC 6258, *Candida glabrata* ATCC 32554, *Candida tropicalis* ATCC 22019 standart suşları ve klinik bir izolat olan *Candida parapsilosis* mikroorganizmasına karşı antifungal aktivitelerinin varlığını, ayrıca *Leishmania tropica*'nın 5 farklı klinik izolatına karşı Leyişmanyasidal aktivitesinin varlığını araştırmıştır. Propolis örneklerinin Gram pozitif bakterilere karşı antibakteriyel etkileri, Gram negatif ve maya suşlarına karşı olan antimikrobiyal aktivitelerinden daha yüksek olarak bulunmuştur. Mayalara karşı etkinliğin Gram negatif bakterilere nazaran daha yüksek olduğu saptanmıştır. *Leishmania tropica* izolatlarında ise konsantrasyonun 250 µg/ml, 500 µg/mL ve 750 µg/ml düzeyine çıkarılması durumunda propolisin leyişmanyasidal etkisinin varlığı açıkça tespit edilmiştir.

Özan (2006) propolisin ratlar üzerine kırık iyileşmesine yönelik bir çalışmada bulunmuştur. Buna göre, propolisin radyolojik ve histopatolojik veriler ışığında ratlar üzerine kırık iyileşmesini hızlandırdığı ve kemik kalitesini arttırdığını bildirmiştir.

El- Fadaly ve El- Bardrawy (2001) Mısır ve Yemen'den elde ettikleri iki propolis örneğinin flavonoidlerini ve *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurim*, *Brucella abortus*, *Shigella dysenteria* bakterilerine karşı antibakteriyel aktivite spektrumunu ortaya koymuşlardır. Sonuçlara göre, flavonoidlerin Gram negatif bakteri

strainlerinin, Gram pozitif bakteri strainlerine karşı daha dirençli bulunduğunu bildirmişlerdir.



## BÖLÜM 3

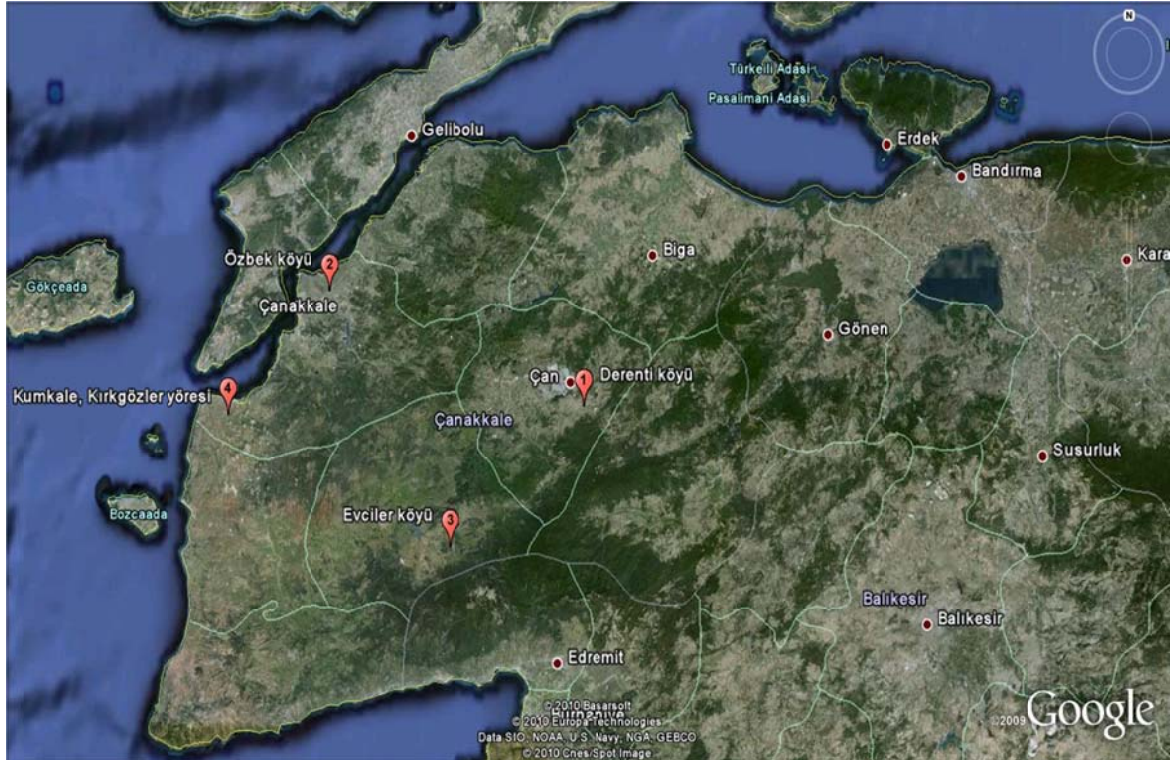
## MATERYAL VE YÖNTEM

## 3.1. Materyal

## 3.1.1. Çalışmada Kullanılan Propolis Örnekleri

Çalışma materyali olan propolis örnekleri Çanakkale (Türkiye) İlinde arıcılık faaliyetlerinin gerçekleştirildiği alanlardan toplanmıştır. P<sub>1</sub> ve P<sub>2</sub> örnekleri Çanakkale Arı Yetiştiriciliği Birliği Başkanı Cahit İLERİ tarafından sırasıyla Derenti köyü, Kumkale (Kırgözler yöresi)' deki arı kovanlarından temin edilmiştir.

P<sub>3</sub> örneği Çanakkale merkeze bağlı Özbek köyünden, P<sub>4</sub> örneği ise Evciler köyündeki kovanlardan (karakovan) alınmıştır.



Şekil 3.1.1. Toplanan propolis örneklerinin haritada gösterimi.

## 3.1.2. Test Mikroorganizmaları

Çalışmada kullanılan, *Bacillus cereus* ATCC 7064, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048, *Escherichia coli* ATCC 11230, *Micrococcus luteus*

ATCC 9341, *Proteus vulgaris* ATCC 6899, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Salmonella typhimurium* CCM 5445, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Candida albicans* ATCC 10239, *Debaryomyces hansenii* DSM 70238, *Kluyveromyces fragilis* ATCC 8608, *Rhodotorula rubra* DSM 70403 test mikroorganizmaları ve cihazlar Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Mikrobiyoloji Araştırma Laboratuvarından temin edilmiştir.

### **3.1.3. Kullanılan Çözücü**

**Etanol:** CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>OH formülüne sahip bir organik birleşiktir. Etanol glikozun mayalanmasından oluşur (Uyar, 1992). Su içerisinde tamamen çözünür ve kaynama noktası 78,5 °C' dir. Besin ve eczacılıktaki kullanımının yanı sıra besin sanayisinde kullanılan asetik asit ya da sirke yapımında ana madde olarak kullanılmaktadır.

Etanol melasın mayalandırılmasından elde edilir. Melas şeker kamışı şekerinin saflaştırılması sonucu kalan kısımdır. Hububat, patates ve pirinç içerisindeki nişasta benzer şekilde etanolü vermek üzere mayalandırılır. Mayalandırmanın yanında, etanol, etilene asit-katalizli su katılmasıyla üretilir. Ticari alkol % 95 etanol ve % 5 su içerir. Bu karışımın kaynama noktası sabittir ve damıtma ile ayrılmaz. İçindeki suyu alarak mutlak alkol elde etmek için ticari alkole sönmemiş kireç (CaO) katılır. Sönmemiş kireç suyla tepkimeye girerek kalsiyum hidroksit verir fakat etanolle tepkime vermez. Eskiden beri bira, şarap, viski vb. mayalanma ile elde edilen içkilerin bileşiminde etanol bulunduğu bilinmektedir. Etanol çözücü, antiseptik ile eter ve etil esterlerinin üretiminde çıkış maddesi olarak kullanılır. Ayrıca, yakıt ve tek hücreli proteinlerin karbon kaynağı olarak ta kullanılmaktadır ( Uyar, 1998).

Etanol aynı zamanda bir hipnotiktir (uyku verici). Uyarıcı olduğuna inanılmasına karşın, beyin üst kısmının etkinliğini azaltır. Zehirlidir; ancak bir diğer alkol türü olan metanole oranla zehirliliği çok daha düşüktür ( Uyar, 1992).

## **3.2. Yöntem**

### **3.2.1. Propolis Örneklerinin Toplanması**

Çalışmada kullanılan propolis örnekleri, Çanakkale ilinde arıcılık faaliyetlerinin gerçekleştirildiği yerlerden toplandı. Örnekler steril kavanozlar içerisine alınarak laboratuara getirildi ve antimikrobiyal aktivite çalışmaları yapılmaya kadar 4 °C' de saklandı.



**Şekil 3.2.1.(a)**Özbek köyünden örneklerin toplanışı.



**Şekil 3.2.1.(b)** Çanakkale , Evciler köyü Karakovan.

### **3.2.2. Ekstrelerin Hazırlanışı**

Propolisten 30 g tartıldı ve 300 mL % 95'lik etil alkol ilave edilerek 37 °C de 4 gün süreyle bekletildi. Örnek ara ara elle çalkalanarak homojen hale gelmesi sağlandı. Etanolik ekstrakt, Whatman No.1 filtre kağıdı ile süzülüp, altta kalan sıvı kısım döner



buharlaştırıcıda kuruyuncaya kadar buharlaştırıldı. Propolis balzamı olarak adlandırılan ekstraktın antimikrobiyal etkisi araştırılincaya kadar -24 °C de bekletildi ( Lidenfelser, 1967).



**Şekil 3.2.2.(a)** Ham propolis örnekleri.



**Şekil 3.2.2.(b)** Propolis etanolik ekstraktı.

**3.2.3. Ekstre İçeren Disklerin ve Mikroorganizma Kültürlerinin Hazırlanması**

Çalışmada Disk Difüzyon yöntemi kullanılarak antimikrobiyal aktiviteler belirlendi. Bunun için 6 mm çapındaki steril kağıt disklere 50 µL ekstre emdirilmiştir. Besiyeri olarak antimikrobiyal aktivite tayininde kullanılan Mueller Hinton Agar (OXOID) kullanıldı.

Kullanılan bakteri kültürlerini aktif hale getirebilmek için Brain Heart Infusion Broth (OXOID), maya kültürlerini aktifleştirmek için ise Malt Extract Broth (DIFCO) kullanıldı. Stok kültürlerden alınan bakteri kültürleri ayrı ayrı 4-5 mL buyyonda süspansiyon edilerek, 2 ile 5 saat arasında etüvde inkübasyona tabi tutuldu. Bu süre sonunda bakteri süspansiyonu Mac Farland standart tüne karşı steril serum fizyolojik ile ayarlandıktan sonra tüplere ekim yapıldı. Bakteri süspansiyonuna steril eküvyon daldırılarak karıştırıldı. Bu eküvyon, plağa sık aralıklarla taranmak suretiyle 3 ayrı yönde sürülerek inoküle edildi. Mueller Hinton Agara maya ( $10^2$  adet/mL) strainlerinin 24 saatlik buyyondaki kültürü ile %1 oranında aşılansak iyice çalkalandıktan sonra steril petri kutularına steril pipetlerde 15'er mL dağıtılarak besiyerinin homojen şekilde petri kutusu içinde dağılması sağlandı. Tüm petri plakları bundan sonra 5-15 dakika süre ile oda sıcaklığında kurumaya bırakıldı. Süre sonunda petrilerin içine aseptik olarak farklı ekstreler emdirilmiş diskler yerleştirildi. Bakterilerin inoküle edildiği plaklar 35°C' de 24-48 saat inkübasyona, maya kültürlerinin inoküle edildiği plaklar ise 27°C' de 72 saat inkübasyona bırakıldı. Süre sonunda disklerin çevresinde oluşan inhibisyon zonlarının çapları ölçüldü. Buna ilaveten sadece çözücü emdirilmiş olan diskler kontrol için, standart antibiyotik diskleri ise mukayese olarak kullanıldı (Collins ve Lyne, 1987; NCCLS, 1993).

Tüm test mikroorganizmalarına karşı yapılan antimikrobiyal aktivite deneyleri üç tekrarlı olarak çalışılmıştır.

**BÖLÜM 4****ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA****4.1. Araştırma Bulguları ve Tartışma**

Çalışmada Çanakkale'nin farklı bölgelerinden toplanan 4 propolis örneğinin % 95'lik etanol çözücüsüyle elde edilen ekstralarının, Gram negatif, Gram pozitif bakteriler ve mayalar üzerine olan antimikrobiyal aktiviteleri incelendi. Literatür araştırmalarına göre disk difüzyon yönteminde etanol ekstresinin en iyi sonucu verdiği açıklanmaktadır (Benedict ve Brady, 1972; Hacıoğlu, 2005). Bu sebeple çalışmamızda farklı mikroorganizma grupları olan prokaryot Gram negatif, Gram pozitif bakteriler, ökaryot mayalar kullanılarak toplanan propolis örneklerinin etanol çözücüsü ile hazırlanan ekstraktlarının disk difüzyon metoduyla antimikrobiyal aktivitesi araştırılmıştır. Sonuçlar çizelgeler halinde verilmiştir. Antimikrobiyal etkisi araştırılan propolis örneklerinin çalışmada kullanılan test mikroorganizmalarına karşı göstermiş oldukları antimikrobiyal etkilerinin farklılık gösterdiği saptanmıştır.

P<sub>1</sub> örneğinin etanolik ekstraktının antimikrobiyal aktivitesini belirlemek amacıyla yapılan çalışmanın bulguları Çizelge 4.1.1'de verilmiştir.

Çalışmanın sonucunda elde edilen bulgulara göre P<sub>1</sub> örneğinin her bir boş diske emdirilen 50 µL ekstralarının *Bacillus cereus* ATCC 7064, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Salmonella typhimurium* CCM 5445 ve *Proteus vulgaris* ATCC 6899 bakterilerine karşı dikkate değer derecede bir antibakteriyal aktivite gösterirken, *Escherichia coli* ATCC 11230 ve *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048 bakterilerine karşı daha düşük oranda antibakteriyal aktivite göstermesine rağmen kayda değer şekilde etkili olduğu görülmüştür. En fazla aktivitenin *Micrococcus luteus* ATCC 9341 bakteri kültürüne karşı olduğu gözlenmiştir.

P<sub>1</sub> etanolik ekstraktının her bir boş diske emdirilen 50 µL ekstraları *Debaryomyces hansenii* DSM 70238, *Kluyveromyces fragilis* ATCC 8608, *Rhodotorula rubra* DSM 70403 maya kültürlerine karşı çok yüksek derecede antagonistik etkiye sahipken, *Candida albicans* ATCC 10239 maya kültürüne karşı da kayda değer oranda antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Çalışmada kullanılan maya kültürlerine karşı P<sub>1</sub> örneğinin antimikrobiyal etkisi *Debaryomyces hansenii* DSM 70238 maya kültürüne karşı en yüksek değeri verirken, en düşük aktivite *Candida albicans* ATCC 10239 maya kültüründe

gözlemlenmiştir. P<sub>1</sub> örneğinin antimikrobiyal aktivitesi genel olarak maya kültürleri üzerine daha etkili sonuçlar vermiştir. Kontrol olarak etanol çözücüsünün emdirildiği disklerin etrafında 0-1 mm çapında olan zonlar ölçülmüştür.

P<sub>1</sub> örneğinin 50 µL'lik ekstresinin *Bacillus cereus* ATCC 7064, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048, *Escherichia coli* ATCC 11230, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Salmonella typhimurium* CCM 5445 bakterilerine karşı etkisinin mukayese antibiyotikleri ile kıyaslanması sonucunda, kullanılan tüm antibiyotiklere karşı daha düşük inhibisyon zonu oluşturduğu gözlenmiştir. *Micrococcus luteus* ATCC 9341 bakteri kültürüne karşı P<sub>1</sub> örneğinin ekstresinin P10 (Penicilin) antibiyotiği ile aynı seviyede etki gösterirken, SAM 20 (Ampicilin) ve AK 30 (Amikasin) antibiyotiklerinden daha yüksek inhibisyon zonu oluşturduğu saptanmıştır. Kullanılan mukayese antibiyotiklerinden sadece CHL10 (Chloramphenicol) *Micrococcus luteus* ATCC 9341 bakterisine karşı daha yüksek inhibisyon zonu oluşturmuştur. *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 bakteri kültürüne karşı P<sub>1</sub> örneğinin ekstresi SAM 20 (Ampicilin) antibiyotiğine yakın fakat daha yüksek inhibisyon zon çapı oluştururken, diğer mukayese antibiyotiklerinden daha düşük etki gösterdiği saptanmıştır. P<sub>1</sub> örneğinin ekstresinin *Proteus vulgaris* ATCC 6899 bakteri kültürüne karşı P10 (Penicilin) antibiyotiğine yakın, SAM 20 (Ampicilin), AK 30 (Amikasin) ve CHL10 (Chloramphenicol) mukayese antibiyotiklerinden düşük antibakteriyal etkisinin olduğu belirlenmiştir.

P<sub>1</sub> örneğinin ekstresinin antifungal etkilerinin mayalara karşı genel olarak mukayese antifungal antibiyotiklerinden oldukça yüksek bir antagonistik etki gösterdiği saptanmıştır. Ancak, *Candida albicans* ATCC 10239 maya kültürüne karşı ekstrenin mukayese antibiyotiği CLT 30 (Clotromizole) antibiyotiğine yakın antifungal etki gösterirken, NY 100 ve KETO 20' den düşük antifungal etkisi olduğu gözlemlenmiştir.

P<sub>2</sub> örneğinin etanolik ekstraktının antimikrobiyal aktivitesini belirlemek amacıyla yapılan çalışmanın bulguları Çizelge 4.1.2'de verilmiştir.

Çalışmanın sonucunda elde edilen bulgulara göre P<sub>2</sub> örneğinin her bir boş diske emdirilen 50 µL ekstrelerinin *Bacillus cereus* ATCC 7064, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Proteus vulgaris* ATCC 6899 ve *Salmonella typhimurium* CCM 5445 bakteri kültürlerine karşı düşük antibakteriyal aktivite gösterirken, *Escherichia coli* ATCC 11230 ve *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 bakterilerine karşı kayda değer oranda antibakteriyal aktivite

gösterdiği belirlenmiştir. En yüksek antibakteriyal etkiyi *Micrococcus luteus* ATCC 9341 bakteri kültürüne karşı oluşturduğu saptanmıştır.

P<sub>2</sub> örneğinin her bir boş diske emdirilmiş 50 µL ekstrelerinin *Candida albicans* ATCC 10239 ve *Rhodotorula rubra* DSM 70403 maya kültürlerine karşı düşük değerde antifungal aktivite gösterirken, *Debaryomyces hansenii* DSM 70238 ve *Kluyveromyces fragilis* ATCC 8608 mayalarına karşı kayda değer oranda etkili olduğu belirlenmiştir. En yüksek değer *Debaryomyces hansenii* DSM 70238 mayasına karşı iken, en düşük değer *Candida albicans* ATCC 10239 maya kültürüne karşı gözlemlenmiştir.

P<sub>2</sub> örneği genel olarak maya ve bakteri kültürlerine karşı düşük antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Fakat *Micrococcus luteus* ATCC 9341 bakterisine karşı yüksek değerde antimikrobiyal etki göstermiştir. Kontrol olarak etanol çözücüsünün emdirildiği disklerin etrafında 0-1 mm çapında olan zonlar ölçülmüştür.

P<sub>2</sub> örneğinin 50 µL'lik ekstresinin *Bacillus cereus* ATCC 7064, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Proteus vulgaris* ATCC 6899 ve *Salmonella typhimurium* CCM 5445 bakteri kültürleri ve *Candida albicans* ATCC 10239, *Rhodotorula rubra* DSM 70403, *Debaryomyces hansenii* DSM 70238, *Kluyveromyces fragilis* ATCC 8608 maya kültürlerine karşı etkisi tüm mukayese antibiyotikleri ile karşılaştırıldığında oldukça düşük antimikrobiyal etkiye sahip olduğu saptanmıştır. P<sub>2</sub> örneğinin ekstresi *Escherichia coli* ATCC 11230 bakterisine karşı SAM 20 (Ampicilin) antibiyotiği ile aynı değeri verip diğer antibiyotiklerden daha düşük etki gösterirken, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 bakterisine karşı sadece SAM 20 (Ampicilin) antibiyotiğinden daha yüksek aktivite göstermiştir. *Micrococcus luteus* ATCC 9341 bakterisi en yüksek inhibisyon zonu ile tüm mukayese antibiyotiklerinden yüksek antibakteriyal etki göstermiştir.

P<sub>3</sub> örneğinin etanolik ekstraktının antimikrobiyal aktivitesini belirlemek amacıyla yapılan çalışmanın bulguları Çizelge 4.1.2'de verilmiştir.

Çalışmanın sonucunda elde edilen bulgulara göre P<sub>3</sub> örneğinin her bir boş diske emdirilen 50 µL ekstrelerinin *Bacillus cereus* ATCC 7064, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048, *Escherichia coli* ATCC 11230, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Salmonella typhimurium* CCM 5445 bakterilerine karşı dikkate değer derecede antibakteriyal etkiye sahip olduğu, en fazla aktivitenin *Micrococcus luteus* ATCC 9341 ve *Proteus vulgaris* ATCC 6899 bakteri kültürlerine karşı olduğu görülmüştür.



P<sub>3</sub> örneğinin etanolik ekstraktının her bir boş diske emdirilen 50 µL ekstreleri *Candida albicans* ATCC 10239, *Kluyveromyces fragilis* ATCC 8608 ve *Rhodotorula rubra* DSM 70403 maya kültürlerine karşı çok yüksek derecede antagonistik etkiye sahipken, *Debaryomyces hansenii* DSM 70238 maya kültürüne karşıda kayda değer oranda antifungal aktivite göstermiştir. Çalışmada kullanılan maya kültürlerine karşı P<sub>3</sub> örneğinin antifungal etkisi *Rhodotorula rubra* DSM 70403 maya kültürüne karşı en yüksek değeri verirken, en düşük aktiviteyi *Debaryomyces hansenii* DSM 70238 maya kültürüne karşı göstermiştir. P<sub>3</sub> örneğinin antimikrobiyal aktivitesi en yüksek değerlerini maya kültürlerine karşı göstermiştir. Kontrol olarak etanol çözücüsünün emdirildiği disklerin etrafında 0-1 mm çapında olan zonlar ölçülmüştür.

Çizelge 4.1.2'den elde edilen bilgiler ışığında P<sub>3</sub> örneğinin ekstresinin, *Bacillus cereus* ATCC 7064, *Escherichia coli* ATCC 11230, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 bakterilerine karşı aktivitesi SAM 20 (Ampicilin) antibiyotiği ile aynı seviyede etki gösterirken, diğer mukayese antibiyotiklerinden daha düşük etkisi olduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca, *Salmonella typhimurium* CCM 5445, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 bakterileri tüm mukayese antibiyotiklerinden düşük antibakteriyal etki göstermiştir. P<sub>3</sub> örneğinin ekstresinin *Micrococcus luteus* ATCC 9341 bakterisine etkisi P10 (Penicilin) antibiyotiği ile aynı seviyede, SAM 20 (Ampicilin) ve AK 30 (Amikasin)' den daha yüksek, CHL10 (Chloramphenicol) antibiyotiğinden daha düşük antibakteriyal etki gösterirken, *Proteus vulgaris* ATCC 6899 bakteri kültürüne karşı SAM 20 (Ampicilin) antibiyotiği ile aynı seviyede, P10 (Penicilin) antibiyotiğinden daha yüksek antimikrobiyal etkiye sahip olduğu gözlemlenmiştir.

Çalışmada kullanılan *Candida albicans* ATCC 10239, *Kluyveromyces fragilis* ATCC 8608 ve *Rhodotorula rubra* DSM 70403 maya kültürlerine karşı P<sub>3</sub> örneğinin ekstresinin tüm mukayese antibiyotiklerinden daha etkili olduğu saptanmıştır. Ayrıca, *Debaryomyces hansenii* DSM 70238 mayasına karşı KETO 20 (Ketocanazole) antibiyotiği ile aynı değeri verirken, diğer mukayese antibiyotiklerinden düşük etki gösterdiği gözlenmiştir.

P<sub>4</sub> örneğinin etanolik ekstraktının antimikrobiyal aktivitesini belirlemek amacıyla yapılan çalışmanın bulguları Çizelge 4.1.3'de verilmiştir.

Çalışmanın sonucunda elde edilen bulgulara göre P<sub>4</sub> örneğinin her bir boş diske emdirilen 50 µL ekstrelerinin *Bacillus cereus* ATCC 7064, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048, *Escherichia coli* ATCC 11230, *Proteus vulgaris* ATCC 6899, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Salmonella typhimurium* CCM 5445

bakteri kültürlerine karşı kayda değer derecede antibakteriyal aktivite gösterirken, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 bakterisine karşı daha düşük oranda antimikrobiyal aktivite gösterdiği saptanmıştır. En fazla aktiviteyi *Micrococcus luteus* ATCC 9341 ve *Proteus vulgaris* ATCC 6899 bakterilerine karşı gösterdiği belirlenmiştir.

P<sub>4</sub> örneğinin her bir boş diske emdirilmiş 50 µL ekstralarının *Debaryomyces hansenii* DSM 70238, *Kluyveromyces fragilis* ATCC 8608, *Rhodotorula rubra* DSM 70403 maya kültürlerine karşı dikkate değer şekilde antifungal aktivite göstermiştir. P<sub>4</sub> örneğinin antimikrobiyal aktivitesi genel olarak maya kültürleri üzerine daha etkili sonuçlar vermiştir. Kontrol olarak etanol çözücüsünün emdirildiği disklerin etrafında 0-1 mm çapında olan zonlar ölçülmüştür.

Çizelge 4.1.4'den elde edilen sonuçlara göre P<sub>4</sub> örneğinin ekstresi, *Bacillus cereus* ATCC 7064 ve *Escherichia coli* ATCC 11230 bakterilerine karşı mukayese antibiyotiklerinden SAM 20 (Ampicilin) antibiyotiği ile yakın değerde inhibisyon zonu oluştururken, diğer antibiyotiklerden düşük zonlar oluşturduğu gözlemlenmiştir. P<sub>4</sub> örneğinin ekstresi *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Salmonella typhimurium* CCM 5445 bakterileri ve *Candida albicans* ATCC 10239 maya kültürüne karşı etkisinin mukayese antibiyotiklerinden düşük antifungal aktiviteye sahip olduğu saptanmıştır. *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 bakteri kültürüne karşı P<sub>4</sub> örneğinin ekstresinin antimikrobiyal etkisi mukayese antibiyotiklerinden sadece SAM 20 (Ampicilin)' den daha yüksek etki gösterirken, *Micrococcus luteus* ATCC 9341 bakterisine karşı örneğin oluşturduğu inhibisyon zonu tüm bakterilere etkisinden ve mukayese antibiyotiklerinin tümünden daha etkili bulunmuştur. Ayrıca, *Proteus vulgaris* ATCC 6899 bakterisine örneğin ekstresi AK 30 (Amikasin) antibiyotiğine göre düşük inhibisyon zonu oluştururken, P10 (Penicilin), SAM 20 (Ampicilin) ve CHL10 (Chloramphenicol)' den daha etkili olduğu saptanmıştır. Çalışmada kullanılan maya kültürlerinden *Debaryomyces hansenii* DSM 70238, *Kluyveromyces fragilis* ATCC 8608, *Rhodotorula rubra* DSM 70403 mayalarına karşı P<sub>4</sub> örneğinin ekstresinin tüm mukayese antibiyotiklerinden oldukça yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu gözlemlenmiştir.

Çanakkale iline bağlı Derenti köyü (P<sub>1</sub>), Kumkale bölgesi (P<sub>2</sub>), Özbek köyündeki (P<sub>3</sub>) normal fenni kovanlar ve Evciler köyündeki karakovandan toplanan propolis örneklerinin hepsi çalışmada kullandığımız test mikroorganizmalarından Gram negatif, Gram pozitif bakteriler ve mayalara karşı antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu görülmüştür. P<sub>2</sub> örneğinin mikroorganizmalar üzerine düşük antimikrobiyal etki

gösterirken, P<sub>1</sub>, P<sub>3</sub>, P<sub>4</sub> örnekleri genel olarak maya kültürlerine karşı oldukça yüksek inhibisyon zonları oluşturmuşlardır. *Micrococcus luteus* ATCC 9341 bakterisi üzerine P<sub>2</sub> ve P<sub>4</sub> örneklerinin ekstrelerinin mukayese antibiyotiklerine ve diğer örneklere göre daha güçlü etki gösterdiği saptanmıştır. P<sub>3</sub> ve P<sub>4</sub> örneklerinin ekstrelerinin antimikrobiyal etkisi karşılaştırıldığında benzer aktiviteye sahip olduğu ancak, genel olarak P<sub>4</sub> örneğinin ekstresinin test mikroorganizmaları üzerine etkisinin daha güçlü olduğu gözlemlenmiştir.

Propolisin kimyasal yapısı oldukça kompleks olup toplandığı bölgenin bitkisel florasına bağlı olarak değişkenlik göstermektedir (Bankova ve ark., 2000). Bu sebeple propolisin orjinine bağlı olarak antimikrobiyal etkinliğide değişkenlik göstermektedir. Propolis kaynağı bulamayan arıları bitki kaynakları dışında asfalt gibi farklı maddelere yönelebilmektedirler. Buda propolisin antimikrobiyal bir madde olarak kullanımını kısıtlamaktadır. Evciler köyünde karakovandan elde edilen propolis örneğinin (P<sub>4</sub>) etkisinin diğer örneklere göre yüksek oluşu propolisin toplandığı döneme ve propolis kaynağına bağlı olarak daha yüksek aktivite gösterdiğini söyleyebiliriz.

Dığrak ve ark. (1995) Elazığ yöresindeki arı kovanlarından toplanan propolisin antimikrobiyal etkisi ve yağ asidi bileşenlerinin araştırmışlardır. Propolisin etanolik ekstraktının farklı konsantrasyonlarındaki ekstrelerinin (5, 10, 50, 100 µg) test mikroorganizmaları üzerine antimikrobiyal etkisi disk difüzyon metodu kullanılarak araştırılmış. *Escherichia coli* ATCC 25922 bakteri kültürüne karşı 50 µg'lık propolis ekstresi hiçbir etki göstermezken, çalışmamızda kullanılan ve en güçlü antimikrobiyal etkiye sahip olan P<sub>4</sub> örneğinin ekstresinin *Escherichia coli* ATCC 11230 bakteri kültürüne karşı etkili olduğu görülmüştür. Elazığ'dan toplanan propolis örneklerinin 50 µg'lık ekstresi çalışmada kullanılan *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* DSM 50071, *Bacillus subtilis* IMG 22, *Enterobacter aerogenes* bakterilerine karşı denenmiş ve çalışmamızda kullanılan (50µL'lik ekstre) *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048 bakteri kültürlerine karşı daha yüksek inhibisyon zonu oluşturmuştur. Ancak Elazığ propolis ekstresi *Candida albicans* maya kültürüne karşı çalışmamızda gözlenen inhibisyon zonuna yakın bir değer göstermiştir. Çalışmanın sonucuna bakılacak olursa propolis örneği *Escherichia coli* bakterisi hariç test mikroorganizmalarına karşı antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Bu da bizim çalışmamızla paralellik göstermektedir. İki çalışma arasındaki farklılıklar ise arı kovanlarının bulunduğu bölgeye, bölgenin bitki örtüsüne yani arıların propolis kaynağına, toplandığı döneme ve mikroorganizma kültürlerinin strain farkından kaynaklanabilir.

Aksoy ve ark. (2006) Bingöl ili ve çevresinden toplanan bal ve propolis örneklerinin antimikrobiyal etkisini Gram negatif, Gram pozitif bakteri ve maya kültürlerine karşı farklı çözümler kullanarak disk difüzyon metodu ile araştırmışlardır. Çalışmada kullanılan *Bacillus subtilis* IMG 22, *Enterobacter aerogenes* ATCC 27859, *Micrococcus luteus* LA 2971, *Staphylococcus aureus* 6538, *Pseudomonas aeruginosa* 9027 bakterileri ve *Candida albicans* 30114 maya kültürlerine karşı oldukça yüksek antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Fakat, *Escherichia coli* ATCC 8739 bakterisi ve *Rhodotorula rubra* maya kültürüne karşı etki göstermezken, P<sub>4</sub> örneğinin ekstresinin aktivitesinin araştırıldığı çalışmamızda kullanılan *Escherichia coli* ATCC 11230 bakterisine etkili olduğunu göstermiş ve *Rhodotorula rubra* DSM 70403 maya kültürüne karşıda daha yüksek antifungal etkiye sahip olduğu saptanmıştır. Bu farklılıklar bakteri ve maya kültürlerinin strain farklılığından ve propolisin orjininin farklılığından kaynaklanabilir. Yapılan çalışmaya göre değerler daha yüksek olmasına rağmen genel olarak propolisin antimikrobiyal etkisinin varlığından dolayı çalışmamızla paralellik göstermektedir.

Stepanović ve ark. (2003) çalışmalarında Sırbistan'ın farklı bölgelerinden toplanan 13 propolis örneğinin etanolik ekstraktlarının antimikrobiyal özelliklerini 39 mikroorganizmaya karşı denemişler. Ayrıca antimikrobiyaller ve propolis arasında sinerjistik aktivite araştırılmış. Elde edilen sonuçlara göre 13 propolis örneğinin Gram pozitif bakterilere ve mayalara karşı önemli ölçüde antimikrobiyal aktivitesi olduğu saptanırken Gram negatif bakterilere karşı daha az aktivite gösterdiği belirlenmiş. Bunun yanında *Escherichia coli* ATCC 25922 ve *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 bakteri kültürlerine karşı antibakteriyal etki gözlemlenmezken, çalışmamızda kullanılan *Escherichia coli* ATCC 11230 ve *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 bakterilerine karşı P<sub>4</sub> örneğinin ekstresinin bu bakteri kültürlerine etkili olduğu gözlenmektedir. Ayrıca *Candida albicans* maya kültürüne karşı da propolis örnekleri çok düşük antifungal etki gösterirken, çalışmamızda kayda değer bir antifungal etki gözlenmektedir. Sonuçlarımızın bu çalışmadan farklı oluşu propolisin toplandığı bölgeye ve mikroorganizma kültürlerinin farklılığından kaynaklanabileceği düşünülebileceği gibi çalışma bulguları önemli ölçüde antimikrobiyal etkiye sahip olması ile çalışmamızla uyumluluk göstermektedir.

Kartal ve ark. (2003) Türkiye'nin Kazan ve Marmaris bölgelerinden iki propolis örneğinin antimikrobiyal aktivitesini disk difüzyon metodu ile araştırmıştır. Antimikrobiyal aktivite dört farklı etanolik ekstrakt ( %30, %50, %70, %96 etanol) ile yedi Gram pozitif, 4 Gram negatif ve bir maya kültürüne karşı denenmiştir. Bu aktivitenin kafeik asid ve esterlerden dolayı olduğu bulunmuş. Çalışmada kullanılan test

mikroorganizmalarından *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 25922 bakterilerine karşı propolis örneklerinin % 96'lık etanolik ekstraktı antibakteriyal etki göstermezken, P<sub>4</sub> örneğinin ekstresinin kullanıldığı çalışmamızda etki gözlemlenmiştir. Ayrıca Marmaris örneği *Candida albicans* ATCC 10231 mayasına hiçbir antifungal etki göstermemiştir. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ve *Bacillus subtilis* ATCC 6633 bakterilerine karşıda çalışmamıza göre benzer antimikrobiyal etki gözlemlenmiştir. Bu çalışma bazı sonuçlara göre çalışmamızla paralellik gösterirken, farklılıkların propolis örneğinin farklı bölgelerden eldesinden ve kullanılan test mikroorganizmalarının strain farklılığından kaynaklanabileceği düşünülebilir. Hatta propolisi oluşturan bileşenlerin aynı bölgenin farklı alanlarında, çok uzak olmayan alanlarında dahi enteresan olarak değiştiği bildirilmiştir (Kılıç ve ark.,2005).

Kujumgiev ve ark. (1999) yaptıkları çalışmada, farklı coğrafik orjinlerden toplanan propolis örneklerinin antibakteriyal (*Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*), antifungal (*Candida albicans*) ve antiviral (Avian influenza virüs) etkilerini araştırmışlardır. Bütün örnekler fungus ve Gram pozitif bakterilere karşı etkili iken en fazla antiviral aktivite gözlenmiş. Örneklerin farklı kimyasal kompozisyonlarına rağmen bütün örnekler benzer aktivite göstermişler. Örneklerin çalışmamızda kullanılan test mikroorganizmalarından daha yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir. Bu veriler ışığında test mikroorganizmalarının farklılığı ve propolis kaynağının değişikliğinden farklı sonuçların eldesinin mümkün olduğu söylenebilir. Propolis örneklerinin zon çaplarını oluşturmada flavonoidler ve fenolik asitlerin esterleri sorumlu olarak bilinmektedir. Tropikal örneklerin bunun gibi maddeler içermemesine rağmen benzer aktivite gösterdiği belirlenmiştir (Kujumgiev, 1999).

Sonuç olarak bu çalışmada propolisin *Bacillus cereus* ATCC 7064, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048, *Escherichia coli* ATCC 11230, *Micrococcus luteus* ATCC 9341, *Proteus vulgaris* ATCC 6899, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Salmonella typhimurium* CCM 5445, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Candida albicans* ATCC 10239, *Debaryomyces hansenii* DSM 70238, *Kluyveromyces fragilis* ATCC 8608, *Rhodotorula rubra* DSM 70403 test mikroorganizmalarına etkin bir antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir. Literatürde farklı bölgelerden elde edilen propolis örneklerinin kullanıldığı birçok çalışma bulunsa da, propolis bileşenlerinin coğrafik bölgelerdeki bitki örtüsüne, toplandığı döneme bağlı olarak değişebilmesi nedeniyle her bölgeden toplanılan örnekler ile yapılan çalışmaların ayrı bir öneme sahip

olduğu kanısındayız. Bu sebeple, Çanakkale ilinin farklı bölgelerinden topladığımız propolis örneklerinin antimikrobiyal aktivitesinin araştırıldığı çalışmamızda bir ön tarama çalışması olarak önemini korurken, kimyasal içeriğinin saptanıp etken maddelerinin izole edilerek sağlık alanında destekleyici doğal bir ürün olarak değerlendirilebileceğini düşünmekteyiz.

Çizelge 4.1.1. P<sub>1</sub> Örneğinin Antimikrobiyal Aktivitesi

| Test<br>Mikroorganizmaları                  | İnhibisyon Zonları (mm)*   |                          |         |          |           |           |           |            |
|---|----------------------------|--------------------------|---------|----------|-----------|-----------|-----------|------------|
|   | Ekstrakt 50 µL<br>Ortalama | Mukayese Antibiyotikleri |         |          |           |           |           |            |
|   |                            | SAM<br>20                | P<br>10 | AK<br>30 | CHL<br>10 | NY<br>100 | CLT<br>30 | KETO<br>20 |
| <i>Bacillus cereus</i><br>ATCC 7064         | 10,67                      | 12,0                     | 14,0    | 16,2     | 16,0      | NT        | NT        | NT         |
| <i>Bacillus subtilis</i><br>ATCC 6633       | 10,00                      | 16,0                     | 13,0    | 16,4     | 16,2      | NT        | NT        | NT         |
| <i>Escherichia coli</i><br>ATCC 11230       | 9,67                       | 12,0                     | 18,0    | 17,0     | 18,4      | NT        | NT        | NT         |
| <i>Enterobacter aerogenes</i><br>ATCC 13048 | 9,67                       | 15,0                     | 21,0    | 18,0     | 18,4      | NT        | NT        | NT         |
| <i>Micrococcus luteus</i><br>ATCC 9341      | 16,00                      | 12,0                     | 16,0    | 14,4     | 18,2      | NT        | NT        | NT         |
| <i>Staphylococcus aureus</i><br>ATCC 6538   | 10,00                      | 16,0                     | 13,0    | 14,2     | 19,0      | NT        | NT        | NT         |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i><br>ATCC 27853 | 11,00                      | 10,0                     | 18,0    | 16,0     | 24,0      | NT        | NT        | NT         |
| <i>Salmonella typhimurium</i><br>CCM 5445   | 12,00                      | 13,0                     | 13,0    | 19,2     | 17,0      | NT        | NT        | NT         |
| <i>Proteus vulgaris</i><br>ATCC 6899        | 10,33                      | 16,0                     | 10,0    | 20,0     | 18,4      | NT        | NT        | NT         |
| <i>Candida albicans</i><br>ATCC 10239       | 15,00                      | NT                       | NT      | NT       | NT        | 20,0      | 15,8      | 21,0       |
| <i>Debaryomyces hansenii</i><br>DSM 70238   | 36,67                      | NT                       | NT      | NT       | NT        | 16,0      | 20,4      | 14,0       |
| <i>Kluyveromyces fragilis</i><br>ATCC 8608  | 26,33                      | NT                       | NT      | NT       | NT        | 18,0      | 18,6      | 16,0       |
| <i>Rhodotorula rubra</i><br>DSM 70403       | 35,00                      | NT                       | NT      | NT       | NT        | 18,0      | 16,4      | 20,0       |

SAM 20: Sulbactam/Ampicilin (20 µg/disk)

P 10: Penicilin (10 µg/disk)

CHL 10: Chloramphenicol (10 µg/disk)

AK 30: Amikasin (20µg/disk)

NY 100: Nystatin (100 µg/disk)

KETO 20: Ketocanazole (20 µg/disk)

CLT 30: Clotromizole (30 µg/disk)

NT: Denenmedi

(\*): Rakamlar inhibisyon zonlarının çaplarını göstermektedir. Her disk 6mm çapında olup 50 µL (mikrolitre) ekstre emdirilmiştir. Sonuçlar üç deneyin ortalamasıdır.

P<sub>1</sub> : Çanakkale Derenti köyünden toplanan propolis örneği.

Çizelge 4.1.2. P<sub>2</sub> Örneğinin Antimikrobiyal Aktivitesi

| Test<br>Mikroorganizmaları                  | İnhibisyon Zonları (mm)*     |                          |         |          |           |           |           |            |
|---|------------------------------|--------------------------|---------|----------|-----------|-----------|-----------|------------|
|   | Ekstrakt 50 µL<br>(Ortalama) | Mukayese Antibiyotikleri |         |          |           |           |           |            |
|   |                              | SAM<br>20                | P<br>10 | AK<br>30 | CHL<br>10 | NY<br>100 | CLT<br>30 | KEIO<br>20 |
| <i>Bacillus cereus</i><br>ATCC 7064         | 8,33                         | 12,0                     | 14,0    | 16,2     | 16,0      | NT        | NT        | NT         |
| <i>Bacillus subtilis</i><br>ATCC 6633       | 7,33                         | 16,0                     | 13,0    | 16,4     | 16,2      | NT        | NT        | NT         |
| <i>Escherichia coli</i><br>ATCC 11230       | 12,00                        | 12,0                     | 18,0    | 17,0     | 18,4      | NT        | NT        | NT         |
| <i>Enterobacter aerogenes</i><br>ATCC 13048 | 9,00                         | 15,0                     | 21,0    | 18,0     | 18,4      | NT        | NT        | NT         |
| <i>Micrococcus luteus</i><br>ATCC 9341      | 31,00                        | 12,0                     | 16,0    | 14,4     | 18,2      | NT        | NT        | NT         |
| <i>Staphylococcus aureus</i><br>ATCC 6538   | 7,00                         | 16,0                     | 13,0    | 14,2     | 19,0      | NT        | NT        | NT         |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i><br>ATCC 27853 | 13,33                        | 10,0                     | 18,0    | 16,0     | 24,0      | NT        | NT        | NT         |
| <i>Salmonella typhimurium</i><br>CCM 5445   | 8,33                         | 13,0                     | 13,0    | 19,2     | 17,0      | NT        | NT        | NT         |
| <i>Proteus vulgaris</i><br>ATCC 6899        | 9,00                         | 16,0                     | 10,0    | 20,0     | 18,4      | NT        | NT        | NT         |
| <i>Candida albicans</i><br>ATCC 10239       | 8,67                         | NT                       | NT      | NT       | NT        | 20,0      | 15,8      | 21,0       |
| <i>Debaryomyces hansenii</i><br>DSM 70238   | 11,67                        | NT                       | NT      | NT       | NT        | 16,0      | 20,4      | 14,0       |
| <i>Kluyveromyces fragilis</i><br>ATCC 8608  | 10,33                        | NT                       | NT      | NT       | NT        | 18,0      | 18,6      | 16,0       |
| <i>Rhodotorula rubra</i><br>DSM 70403       | 9,67                         | NT                       | NT      | NT       | NT        | 18,0      | 16,4      | 20,0       |

SAM 20: Sulbactam/Ampicilin (20 µg/disk)

P 10: Penicilin (10 µg/disk)

CHL 10: Chloramphenicol (10 µg/disk)

AK 30: Amikasin (20µg/disk)

NY 100: Nystatin (100 µg/disk)

KETO 20: Ketocanazole (20 µg/disk)

CLT 30: Clotromizole (30 µg/disk)

NT: Denenmedi

(\*): Rakamlar inhibisyon zonlarının çaplarını göstermektedir. Her disk 6mm çapında olup 50 µL (mikrolitre) ekstre emdirilmiştir. Sonuçlar üç deneyin ortalamasıdır.

P<sub>2</sub> :Çanakkale Kumkale (Kırkgözler yöresi) bölgesinden toplanan propolis örneği.



Çizelge 4.1.3. P<sub>3</sub> Örneğinin Antimikrobiyal Aktivitesi

| Test<br>Mikroorganizmalar                   | İnhibisyon Zonları (mm)*     |                          |         |          |           |           |           |            |
|---|------------------------------|--------------------------|---------|----------|-----------|-----------|-----------|------------|
|   | Ekstrakt 50 µL<br>(Ortalama) | Mukayese Antibiyotikleri |         |          |           |           |           |            |
|   |                              | SAM<br>20                | P<br>10 | AK<br>30 | CHL<br>10 | NY<br>100 | CLT<br>30 | KETO<br>20 |
| <i>Bacillus cereus</i><br>ATCC 7064         | 12,00                        | 12,00                    | 14,00   | 16,2     | 16,00     | NT        | NT        | NT         |
| <i>Bacillus subtilis</i><br>ATCC 6633       | 10,00                        | 16,0                     | 13,0    | 16,4     | 16,2      | NT        | NT        | NT         |
| <i>Escherichia coli</i><br>ATCC 11230       | 12,00                        | 12,0                     | 18,0    | 17,0     | 18,4      | NT        | NT        | NT         |
| <i>Enterobacter aerogenes</i><br>ATCC 13048 | 11,00                        | 15,0                     | 21,0    | 18,0     | 18,4      | NT        | NT        | NT         |
| <i>Micrococcus luteus</i><br>ATCC 9341      | 16,00                        | 12,0                     | 16,0    | 14,4     | 18,2      | NT        | NT        | NT         |
| <i>Staphylococcus aureus</i><br>ATCC 6538   | 12,00                        | 16,0                     | 13,0    | 14,2     | 19,0      | NT        | NT        | NT         |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i><br>ATCC 27853 | 10,33                        | 10,0                     | 18,0    | 16,0     | 24,0      | NT        | NT        | NT         |
| <i>Salmonella typhimurium</i><br>CCM 5445   | 10,67                        | 13,0                     | 13,0    | 19,2     | 17,0      | NT        | NT        | NT         |
| <i>Proteus vulgaris</i><br>ATCC 6899        | 16,00                        | 16,0                     | 10,0    | 20,0     | 18,4      | NT        | NT        | NT         |
| <i>Candida albicans</i><br>ATCC 10239       | 23,00                        | NT                       | NT      | NT       | NT        | 20,0      | 15,8      | 21,0       |
| <i>Debaryomyces hansenii</i><br>DSM 70238   | 14,00                        | NT                       | NT      | NT       | NT        | 16,0      | 20,4      | 14,0       |
| <i>Kluyveromyces fragilis</i><br>ATCC 8608  | 21,33                        | NT                       | NT      | NT       | NT        | 18,0      | 18,6      | 16,0       |
| <i>Rhodotorula rubra</i><br>DSM 70403       | 36,67                        | NT                       | NT      | NT       | NT        | 18,0      | 16,4      | 20,0       |

SAM 20: Sulbactam/Ampicilin (20 µg/disk)

P 10: Penicilin (10 µg/disk)

CHL 10: Chloramphenicol (10 µg/disk)

AK 30: Amikasin (20µg/disk)

NY 100: Nystatin (100 µg/disk)

KETO 20: Ketocanazole (20 µg/disk)

CLT 30: Clotromizole (30 µg/disk)

NT: Denenmedi

(\*): Rakamlar inhibisyon zonlarının çaplarını göstermektedir. Her disk 6mm çapında olup 50 µL (mikrolitre) ekstre emdirilmiştir. Sonuçlar üç deneyin ortalamasıdır.

P<sub>3</sub>: Çanakale Özbek köyünden toplanan propolis örneği.

Çizelge 4.1.4. P<sub>4</sub> Örneğinin Antimikrobiyal Aktivitesi

| Test  | İnhibisyon Zonları (mm)* |                              |                          |         |          |           |           |           |
|---|--------------------------|------------------------------|--------------------------|---------|----------|-----------|-----------|-----------|
|   | Mikroorganizmalar        | Ekstrakt 50 µL<br>(Ortalama) | Mukayese Antibiyotikleri |         |          |           |           |           |
|   |                          |                              | SAM<br>20                | P<br>10 | AK<br>30 | CHL<br>10 | NY<br>100 | CLT<br>30 |
| <i>Bacillus cereus</i><br>ATCC 7064         | 12,33                    | 12,0                         | 14,0                     | 16,2    | 16,0     | NT        | NT        | NT        |
| <i>Bacillus subtilis</i><br>ATCC 6633       | 11,67                    | 16,0                         | 13,0                     | 16,4    | 16,2     | NT        | NT        | NT        |
| <i>Escherichia coli</i><br>ATCC 11230       | 12,33                    | 12,0                         | 18,0                     | 17,0    | 18,4     | NT        | NT        | NT        |
| <i>Enterobacter aerogenes</i><br>ATCC 13048 | 11,67                    | 15,0                         | 21,0                     | 18,0    | 18,4     | NT        | NT        | NT        |
| <i>Micrococcus luteus</i><br>ATCC 9341      | 20,33                    | 12,0                         | 16,0                     | 14,4    | 18,2     | NT        | NT        | NT        |
| <i>Staphylococcus aureus</i><br>ATCC 6538   | 10,67                    | 16,0                         | 13,0                     | 14,2    | 19,0     | NT        | NT        | NT        |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i><br>ATCC 27853 | 13,00                    | 10,0                         | 18,0                     | 16,0    | 24,0     | NT        | NT        | NT        |
| <i>Salmonella typhimurium</i><br>CCM 5445   | 11,67                    | 13,0                         | 13,0                     | 19,2    | 17,0     | NT        | NT        | NT        |
| <i>Proteus vulgaris</i><br>ATCC 6899        | 18,33                    | 16,0                         | 10,0                     | 20,0    | 18,4     | NT        | NT        | NT        |
| <i>Candida albicans</i><br>ATCC 10239       | 13,00                    | NT                           | NT                       | NT      | NT       | 20,0      | 15,8      | 21,0      |
| <i>Debaryomyces hansenii</i><br>DSM 70238   | 25,67                    | NT                           | NT                       | NT      | NT       | 16,0      | 20,4      | 14,0      |
| <i>Kluyveromyces fragilis</i><br>ATCC 8608  | 20,33                    | NT                           | NT                       | NT      | NT       | 18,0      | 18,6      | 16,0      |
| <i>Rhodotorula rubra</i><br>DSM 70403       | 27,33                    | NT                           | NT                       | NT      | NT       | 18,0      | 16,4      | 20,0      |

SAM 20: Sulbactam/Ampicilin (20 µg/disk)

P 10: Penicilin (10 µg/disk)

CHL 10: Chloramphenicol (10 µg/disk)

AK 30: Amikasin (20µg/disk)

NY 100: Nystatin (100 µg/disk)

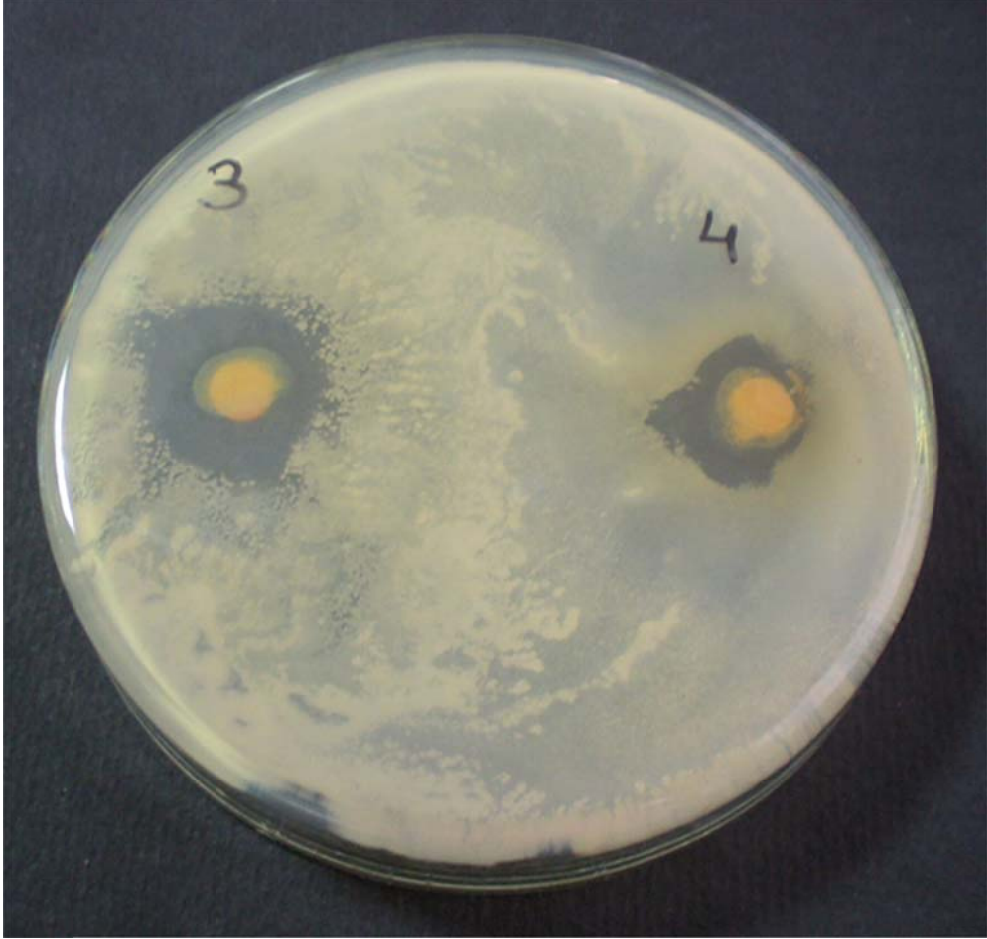
KEFO 20: Ketocanazole (20 µg/disk)

CLT 30: Clotromizole (30 µg/disk)

NT: Denenmedi

(\*): Rakamlar inhibisyon zonlarının çaplarını göstermektedir. Her disk 6mm çapında olup 50 µL (mikrolitre) ekstre emdirilmiştir. Sonuçlar üç deneyin ortalamasıdır.

P<sub>4</sub>: Çanakkale Evciler köyünden toplanan propolis örneği (karakovan).



Şekil 4.1.1. 50µL propolis ekstraktlarının, *Candida albicans* ATCC 10239 mayasına karşı antimikrobiyal aktivitesi.

3: 50µL P<sub>3</sub> örneğinin ekstraktı (Çanakkale Özbek köyünden toplanan propolis örneğinin ekstraktı).

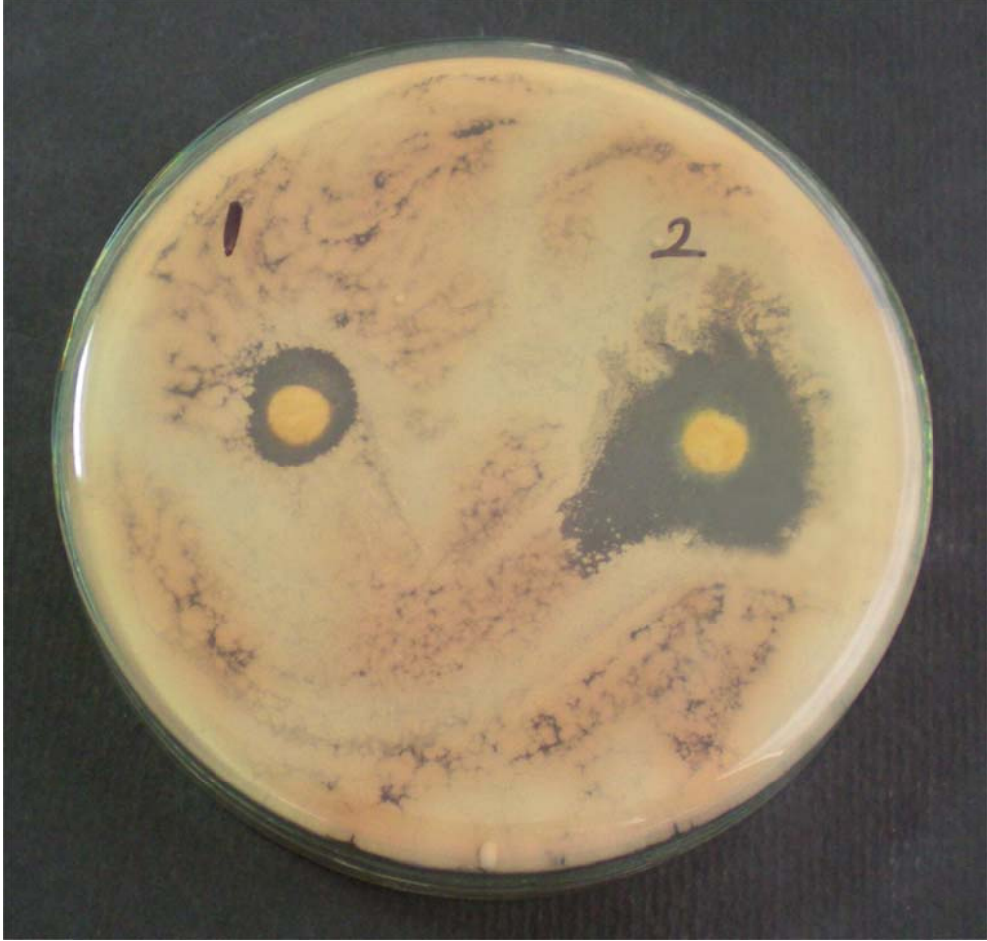
4: 50µL P<sub>1</sub> örneğinin ekstraktı (Çanakkale Derenti köyünden toplanan propolis örneğinin ekstraktı).



Şekil 4.1.2. 50µL propolis ekstraktlarının, *Debaryomyces hansenii* DSM 70238 mayasına karşı antimikrobiyal aktivitesi.

1: 50µL P<sub>1</sub> örneğinin ekstraktı (Çanakkale Derenti köyünden toplanan propolis örneğinin ekstraktı).

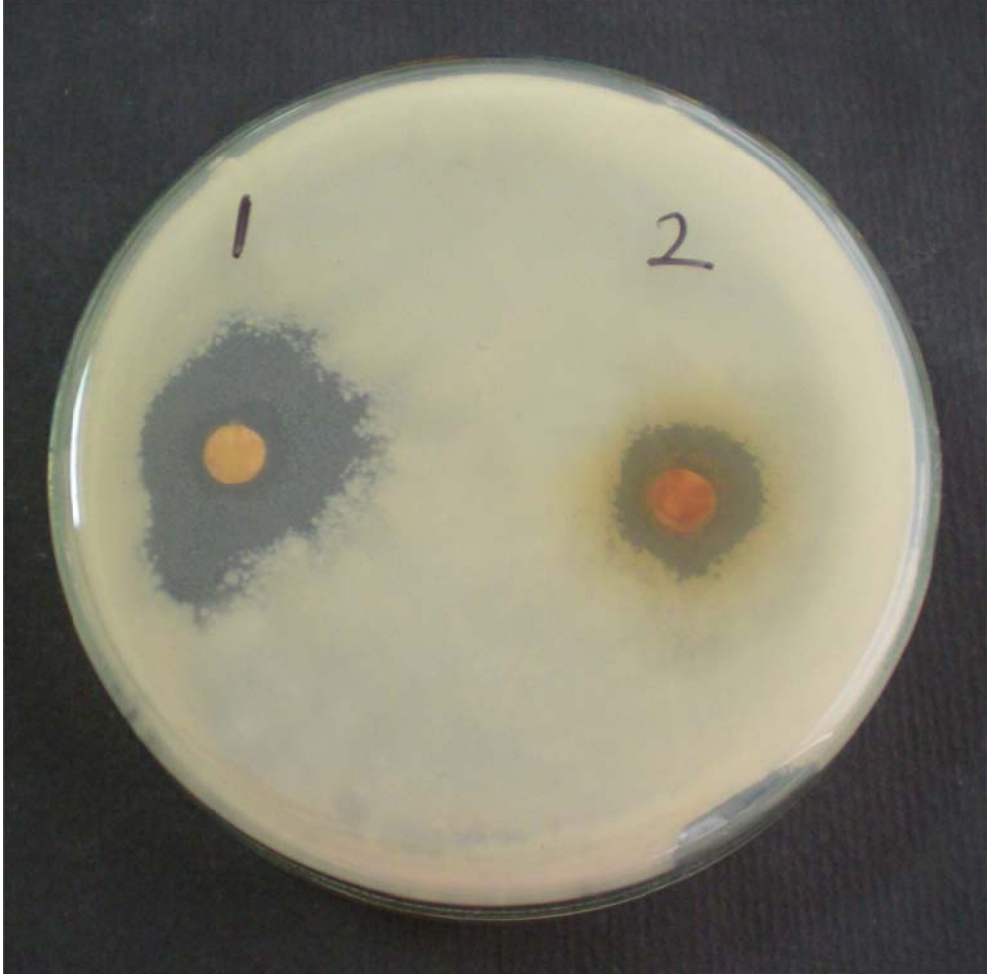
2: 50µL P<sub>2</sub> örneğinin ekstraktı (Çanakkale Kumkale (Kırgözler yöresi) bölgesinden toplanan propolis örneğinin ekstraktı).



Şekil 4.1.3. 50µL propolis ekstraktlarının, *Kluyveromyces fragilis* ATCC 8608 mayasına karşı antimikrobiyal aktivitesi.

1: 50µL P<sub>2</sub> örneğinin ekstraktı (Çanakkale Kumkale (Kırkgözler yöresi) bölgesinden toplanan propolis örneğinin ekstraktı).

2: 50µL P<sub>1</sub> örneğinin ekstraktı (Çanakkale Derenti köyünden toplanan propolis örneğinin ekstraktı).

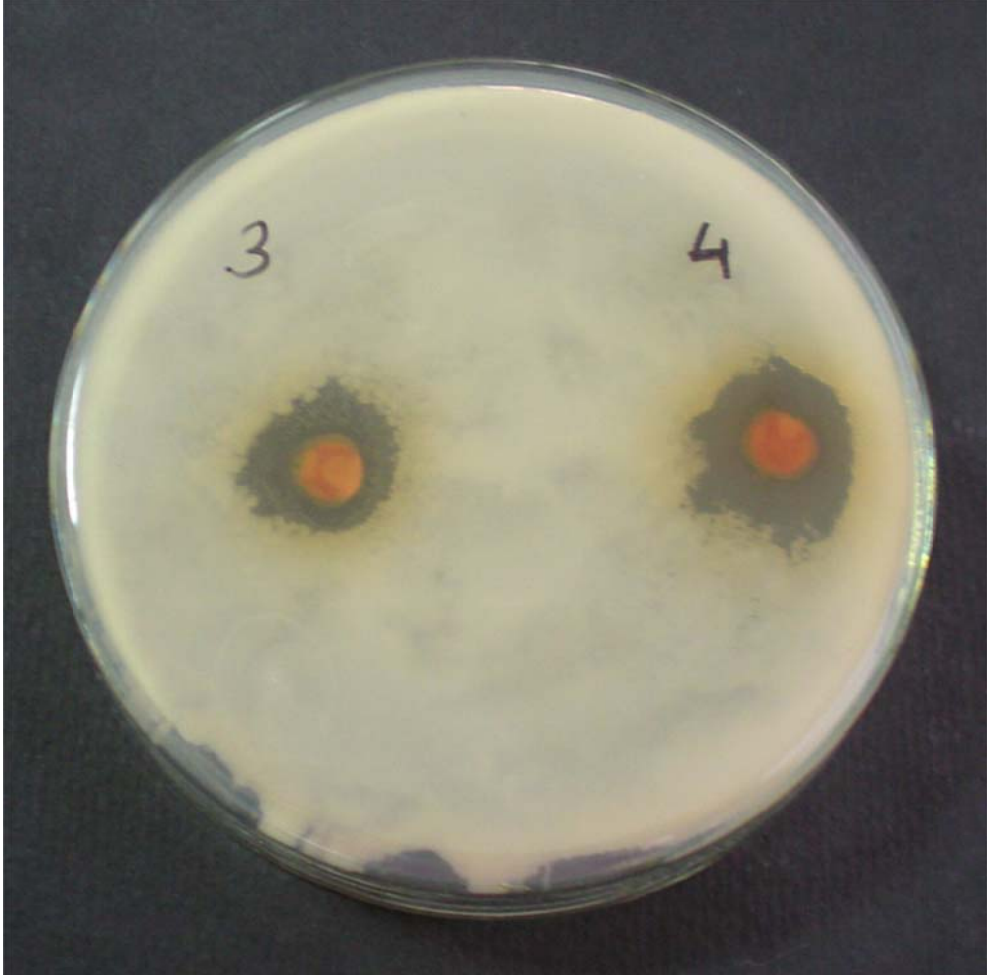


Şekil 4.1.4. 50µL propolis ekstraktlarının, *Micrococcus luteus* ATCC 9341 bakterisine karşı antimikrobiyal aktivitesi.

1: 50µL P<sub>2</sub> örneğinin ekstraktı (Çanakkale Kumkale (Kırkgözler yöresi) bölgesinden toplanan propolis örneğinin ekstraktı).

2: 50µL P<sub>1</sub> örneğinin ekstraktı (Çanakkale Derenti köyünden toplanan propolis örneğinin ekstraktı).

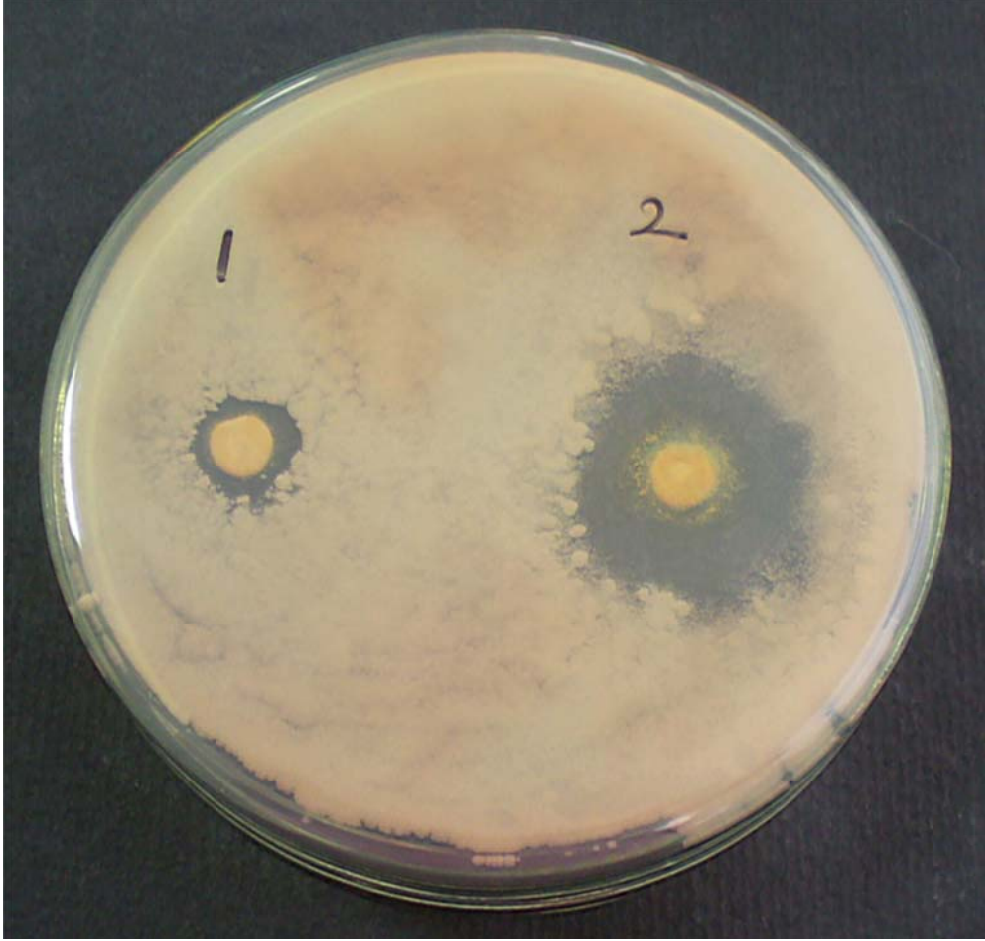




Şekil 4.1.5. 50µL propolis ekstraktlarının, *Micrococcus luteus* ATCC 9341 bakterisine karşı antimikrobiyal aktivitesi.

3: 50µL P<sub>3</sub> örneğinin ekstraktı (Çanakkale Özbek köyünden toplanan propolis örneğinin ekstraktı).

4: 50µL P<sub>4</sub> örneğinin ekstraktı (Çanakkale Evciler köyünden toplanan propolis örneğinin (karakovan) ekstraktı).



Şekil 4.1.6. 50µL propolis ekstraktlarının, *Rhodotorula rubra* DSM 70403 mayasına karşı antimikrobiyal aktivitesi.

1: 50µL P<sub>2</sub> örneğinin ekstraktı (Çanakkale Kumkale (Kırkgözler yöresi) bölgesinden toplanan propolis örneğinin ekstraktı).

2: 50µL P<sub>1</sub> örneğinin ekstraktı (Çanakkale Derenti köyünden toplanan propolis örneğinin ekstraktı).





Şekil 4.1.7. 50µL propolis ekstraktlarının, *Escherichia coli* ATCC 11230 bakterisine karşı antimikrobiyal aktivitesi.

1: 50µL P<sub>2</sub> örneğinin ekstraktı (Çanakkale Kumkale (Kırgözler yöresi) bölgesinden toplanan propolis örneğinin ekstraktı).

2: 50µL P<sub>4</sub> örneğinin ekstraktı (Çanakkale Evciler köyünden toplanan propolis örneğinin (karakovan) ekstraktı).

3: 50µL P<sub>3</sub> örneğinin ekstraktı (Çanakkale Özbek köyünden toplanan propolis örneğinin ekstraktı).



Şekil 4.1.8. 50µL propolis ekstraktlarının, *Salmonella typhimurium* CCM 5445 bakterisine karşı antimikrobiyal aktivitesi.

1: 50µL P<sub>1</sub> örneğinin ekstraktı (Çanakkale Derenti köyünden toplanan propolis örneğinin ekstraktı).

2: 50µL P<sub>3</sub> örneğinin ekstraktı (Çanakkale Özbek köyünden toplanan propolis örneğinin ekstraktı).

3: 50µL P<sub>4</sub> örneğinin ekstraktı (Çanakkale Evciler köyünden toplanan propolis örneğinin (karakovan) ekstraktı).



Şekil 4.1.9. 50µL propolis ekstraktlarının, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 bakterisine karşı antimikrobiyal aktivitesi.

1: 50µL P<sub>1</sub> örneğinin ekstraktı (Çanakkale Derenti köyünden toplanan propolis örneğinin ekstraktı).

2: 50µL P<sub>2</sub> örneğinin ekstraktı (Çanakkale Kumkale bölgesinden toplanan propolis örneğinin ekstraktı).

3: 50µL P<sub>4</sub> örneğinin ekstraktı (Çanakkale Evciler köyünden toplanan propolis örneğinin (karakovan) ekstraktı).

**BÖLÜM 5****SONUÇLAR VE ÖNERİLER**

Yapılan araştırmalarda disk difüzyon metodunun kolay uygulanabilmesi ve maliyetinin düşük olması nedeniyle tercih edilen yöntemler arasında olduğu görölmektedir.

Literatür araştırmalarına göre disk difüzyon yönteminde etanol ekstresinin en iyi sonucu verdiği açıklanmaktadır (Benedict ve Brady, 1972; Hacıoğlu 2005). Bu sebeple çalışmamızda farklı mikroorganizma grupları olan prokaryot Gram negatif, Gram pozitif bakteriler, ökaryot maya test mikroorganizmaları kullanılarak Çanakkale'nin farklı bölgelerinden toplanan propolis örneklerinin etanol çözücüsü ile hazırlanan ekstratların disk difüzyon metoduyla antimikrobiyal aktivitesi araştırılmıştır. Bu çalışmalarda bazı araştırmacılar birkaç bakteri ve maya kültürü ile çalışmalarını sürdürdükleri gözlemlenmektedir. Çalışmamızda Gram negatif ve Gram pozitif 9 bakteri kültürü ve 4 maya kültürü toplam 13 test mikroorganizması kullanılarak, materyallerden elde edilen sonuçların geniş spektrum oluşturacak düzeyde mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal aktivitesi ortaya çıkarılmıştır.

Bulgulara bakıldığında, P<sub>2</sub> örneği dışındaki tüm örneklerin yüksek antifungal aktiviteye sahip olduğu saptanırken, en yüksek antimikrobiyal etkiye P<sub>4</sub> örneğinin sahip olduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca, tüm propolis örneklerinin *Micrococcus luteus* ATCC 9341 bakteri kültürüne karşı yüksek antibakteriyel etki gösterdiği belirlenmiştir. Bununla birlikte çalışmada kullanılan bütün propolis örneklerinin test mikroorganizmalarının tümüne etkili olduğu gözlenmiştir.

Elde edilen sonuçlar, propolis ekstraktının birçok mikroorganizmalara karşı etkili antimikrobiyal maddeler içerdiğini göstermektedir. Fakat farklı coğrafik bölgelerden alınan propolis örnekleri farklı kimyasal kompozisyonlar içermektedir. Türkiye'de doğal koşullarının, uygun iklim ve zengin florası ile yüksek arıcılık potansiyeline sahiptir. Bu sebeple her bölgeden alınan propolis örneklerinin kimyasal standardizasyonunun yapılması önemli bir noktadır. Bizim yaptığımız bu ön çalışmanın devamında propolis örneklerinin içeriğindeki antimikrobiyal maddelerin tanımlanması, propolis bileşenlerinin tespit edilip tıp ve endüstride kullanılabilme imkanlarının araştırılmasının yararlı olacağı kanatindeyiz.

## KAYNAKLAR

- Aksoy Z., ve Dığrak M., 2006. Bingöl Yöresinden Toplanan Bal ve Propolisin Antimikrobiyal Etkisi Üzerinde *in vitro* Araştırmalar. *Fırat Ü. Fen ve Müh. Bil. Derg.*, 18 (4): 471-478.
- Arda M., 2000. *Temel Mikrobiyoloji*. Medisan Yayın Serisi: 46. 80-368 s.
- Bankova V. S., Castro S. L. de, Marcucci M. C., 2000. Propolis; Recent Advantages in Chemistry and Plant Origin. *Apidologie*, 31: 3-15.
- Bankova V., Dyulgerov A., Popov S., Evstatieva L., Kuleva L., Pureb O. ve Zamjansan Z., 1992. Propolis produced in Bulgaria and Mongolia: phenolic composition and plant origin, *Apidologie*, 23: 79-85.
- Barth O.M. ve Luz C.F.P., 2003. Palynologica l analysis of Brazilian geopropolis samples. *Grana*, 42: 121-127.
- Basim E., Basim H. ve Özcan M., 2006. Antibacterial activity of Turkish polen and propolis extracts against plant bacterial pathogens. *Journal of Food Engineering*, 77: 992-996.
- Bastos E. M. A. F., Simone M., Jorge D. M., Soares A. E. E. ve Spivak M., 2008. In vitro Study of the Antimicrobial Activity of Brazillian Propolis Aganist *Paenibacillus larvae*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 97: 273-281.
- Bayrak N., 2005. Arı Ürünleri (Bal, Arısütü, Polen ve Propolis) Mikrofloralarının ve Antimikrobiyal Aktivitelerinin İncelenmesi (Yüksek Lisans Tezi). Fırat Üniversitesi, Fen Bilimler Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Elazığ.
- Benedict R. G. Ve Brady L. R., 1972. Antimicrobial Activity of Mushroom Metabolites. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 61(11): 1820-1821.
- Biray Ç., Gündüz C., Yılmaz B., Şahin F., Topçuoğlu N., 2006. Propolis ve Etken Maddelerin Olan Kafeik Asit Fenetil Ester (CAPE) ve Sinamik Asitin, İnsan T Hücreli Akut Lenfoblastik Lösemi Hücre Dizisi (CCRF-CEM)' de Sitotoksik ve Apoptotik Etkinliğinin Değerlendirilmesi. *Ege Tıp Dergisi*, 45(2): 83-92.

- Bosio K., Avanzini C., D'Avolio A., Ozino O. ve Savoia D., 2000. In vitro Activity of Propolis Against *Streptococcus pyogenes*. *Letters in Applied Microbiology*, 31: 174-177.
- Bölüktepe F. E. ve Yılmaz S., 2008. Familiarity and Purchase Frequency of Bee Products. *Uludag Bee Journal*, 8 (2): 53-62.
- Coelho L.G., Bastos E. M., Resende C. C., Paula e Silva C. M., Sanches B. S., de Castro F. J., Moretzsohn L. D., Vieira W. L. ve Trindade O. R., 2007. Brazilian Green Propolis on *Helicobacter pylori* Infection. *Helicobacter*, 12 (5): 572-574.
- Collins C. M. ve Lyne P. M., 1987. *Microbiological Methods* Butterworths & Co. (Publishers) Ltd. London.
- Dığrak M., Yılmaz Ö., Çelik S. ve Yıldız S., 1995. Propolisteki Yağ Asitleri ve Antimikrobiyal Etkisi Üzerinde *in-vitro* Araştırmalar. *Gıda*, 20(4): 249-255.
- Duran G. G., 2007. *In-vitro* Koşullarda Propolisin Antibakteriyal, Antifungal ve Leyişmanyasidal Etkilerinin Araştırılması (Yüksek Lisans Tezi). Mustafa Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Antakya/Hatay.
- Duran G., Duran N., Culha G., Ozcan B., Oztas ve Ozer B., 2008. In vitro Antileishmanial Activity of Adana Propolis Samples on *Leishmania tropica*: A Preliminary Study. *Parasitol Res.*, 102: 1217-1225.
- Durupınar B., 2001. Antibiyotiklere Dirençte Yeni Eğilimler. *Klimik Dergisi*, 14(2): 47-56.
- Dülger B., Ceylan M., Alitsaous M. ve Uğurlu E., 1999. *Artemisia absinthium* L. (Pelin)'un Antimikrobiyal Aktivitesi. *Tr. J. of Biology*, 23: 377-384.
- El- Fadaly H. ve El- Badrewy E. E. Y., 2001. Flavonoids of Propolis and Their Antibacterial Activities. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 4(2): 204-207.
- Engür T., 2007. Kayseri Propolisinin Kimyasal Yapısı ve Standardizasyonu (Yüksek Lisans Tezi). Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kayseri.
- Ergün N., 2003. *Arıcılık*. Hasad Yayıncılık Ltd. şti., İstanbul. 119 s.
- Gebara E. C. E., Lima L. A. ve Mayer M. P. A., 2002. Propolis Antimicrobial Activity Against Periodontopathic Bacteria. *Brazilian Journal of Microbiology*, 33:365-369.

- Ghasem B. Y., Abdolghaffar O. ve Hasanloei M., 2007. Antibacterial and Antifungal Activity of Iranian Propolis Against *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*. *Pakistan Journal of Biological Sciences.*, 10 (8): 1343-1345.
- Ghisalberti E. L., 1979. Propolis: a review. *Bee World*, 60: 59-84.
- Granje J.M. ve Davey R.W., 1990. Antibacterial properties of propolis (bee gleu). *J. Of the Royal Society of Medicine*, 83: 159-160.
- Gülay Z., 2002. Antibiyotik Duyarlılık Testlerinin Yorumu. *Toraks Dergisi*, 3(1):75-88.
- Hacıoğlu, N., 2005. Bazı Makrofungusların Antimikrobiyal Aktiviteleri Üzerine Araştırmalar, (Yüksek Lisans Tezi), Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Ana bilim Dalı, Çanakkale.
- Hepşen İ. F., Tilgen F. ve Er H., 1996. Propolis: Tıbbi Özellikleri ve Oftalmolojik Kullanımı. *Turgut Özalp Tıp Merkezi Dergisi*, 3(4): 386-391.
- Jorge R., Furtado N. A. J. C., Sousa J. P. B., Silva Filho A. A., Gregório Junior L. E., Martins C. H. G., Soares A. E. E., Bastos J. K., Cunha W. R. ve Silva M. L. A., 2008. Brazilian Propolis: Seasonal Variation of the Prenylated *p*-Coumaric Acids and Antimicrobial Activity. *Pharmaceutical Biology*, 46(12): 889-893.
- Kartal M., Yıldız S., Kaya S., Kurucu S. ve Topçu G., 2003. Antimicrobial Activity of Propolis Samples from Two Different Regions of Anatolia. *Journal of Ethnopharmacology*, 86: 69-73.
- Kılıç A., Baysallar M., Besirbellioğlu B., Salih B., Sorkun K. ve Tanyüksel M., 2005. In vitro Antimicrobial Activity of Propolis Against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* and Vancomycin- Resistant *Enterococcus faecium*. *Annals of Microbiology*, 55(2): 113-117.
- Koç A. N., Silici S., Mutlu-Sarıguzel F. ve Sagdıç O., 2007. Antifungal Activity of Propolis in Four Different Fruit Juices. *Food Technol. Biotechnol.*, 45 (1): 57-61.
- Koru O., Toksoy F., Acikel C. H., Tunca Y. M., Baysallar M., Güçlü A. U., Akça E., Tuylu A. O., Sorkun K., Tanyüksel M. ve Salih B., 2007. In-vitro Antimicrobial Activity of Propolis Samples from Different Geographical Origins Against Certain Oral Pathogens. *Anaerobe*, 13: 140-145.

- Kujumgiev A., Tsvetkova I., Serkedjieva Yu., Bankova V., Christov R. ve Popov S., 1999. Antibacterial, Antifungal and Antiviral Activity of Propolis of Different Geographic Origin. *Journal of Ethnopharmacology*, 64: 235–240.
- Kumova U., Korkmaz A., Avcı B. C. ve Ceyran G., 2002. Önemli bir arı ürünü: Propolis. *Uludag Bee Journal* May. 10-23.
- Kurt Ş. ve Şahinler N., 2003. Propolis Ekstraktının Bitki Patojeni Funguslara Karşı Antifungal Aktivitesi. *Uludag Bee Journal*, 3 (3): 35-37.
- Lindenfelser L. A., (1967). Antimikrobiyal activity of propolis. *Am. Bee J.*, 107 (3): 90-92.
- Lu L. C., Chen Y. W. Ve Chou C. C., 2005. Antibacterial activity of propolis against *Staphylococcus aureus*. *International Journal of Food Microbiology*, 102: 213–220.
- Majiene D., Trumbeckaite S., Pavilionis A., Savickas A. ve Martirosvan D. M., 2007. Antifungal and Antibacterial Activity of Propolis. *Current Nutrition & Food Science*, 3: 304-308.
- Marcucci M.C., 1995. Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutical activity, *Apidologie*, 26 :83-99.
- Miorin P. L., Levy Junior N. C., Custodio A. R., Bretz W. A. ve Marcucci M. C., 2003. Antibacterial Activity of Honey and Propolis from *Apis mellifera* and *Tetragonisca angustula* Against *Staphylococcus aureus*. *Journal of Applied Microbiology*, 95: 913-920.
- NCCLS, 1993. Performance Standarts for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests. Approved Standard NCCLS Publication M2-A5, Villanova, PA, USA.
- Ota C., Unterkircher C., Fantinato V. ve Shimizu M. T., 2001. Antifungal Activity of Propolis on Different Species of Candida. *Mycoses*, 44: 375-378.
- Öner M., 2004. *Genel Mikrobiyoloji* (5. Baskı) Ege Üniversitesi Basım Evi, Bornova-İzmir. 171-173.
- Özcan M., Ceylan A. D., Ünver A., Yetişir R., 2003. Türkiye'nin Çeşitli Bölgelerinden Sağlanan Polen ve Propolis Ekstraktlarının Antifungal Etkisi. *Uludag Bee Journal*, 3 (3): 27-34.



- Özan F., 2006. Propolis'in Kırık İyileşmesi Üzerine Etkilerinin Deneysel Olarak İncelenmesi (Doktora Tezi). Cumhuriyet Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi Ana Bilim Dalı, Sivas.
- Özçelik S., 1998. *Genel Mikrobiyoloji*. Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayın No: 1, Ders Kitapları No: 1, Isparta. 209-210.
- Özen T., Kılıç A., Bedir O., Koru Ö., Sorkun K., Tanyüksel M., Kılıç S., Gençay Ö., Yıldız O. ve Baysallar M., 2010. In Vitro Activity of Turkish Propolis Against Anaerobic Bacteria Causing Oral Infections. *Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg.*, 16 (2): 293-298.
- Öztürk R., 1997. Antibiyotiklerin Etki Mekanizmaları, Antimikrobik İlaçlara Karşı Direnç Gelişmesi ve Günümüzde Direnç Durumu. *İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Pratikte Antibiyotik Kullanımı Sempozyumu*, İstanbul. 27-51.
- Öztürk R., 2002. Antimikrobik İlaçlara Karşı Direnç Gelişme Mekanizmaları ve Günümüzde Direnç Durumu. *İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Akılcı Antibiyotik Kullanımı ve Erişkinde Toplumdan Edinilmiş Enfeksiyonlar Sempozyum Dizisi No:31*, İstanbul. 83-100.
- Park K. Y. ve Ikegaki M., 1998. Preparation of Water and Ethanolic Extract of Propolis and Evaluation of the Preparations. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 62(11): 2230-2232.
- Popova M., Silici S., Kaftanoğlu O. ve Bankova V., 2005. Antibacterial Activity of Turkish Propolis and Its Qualitative and Quantitative Chemical Composition. *Phytomedicine*, 12: 221-228.
- Popravko S. A., Sokolov M.V., 1980. Plant sources of propolis, *Pchelovodstvo*, 2: 28- 29.
- Santos F. A., Bastos E. M. A., Uzeda M., Carvalho M. A. R., Farias L. M., Moreira E. S. A. ve Braga F. C., 2002. Antibacterial activity of Brazilian Propolis and Fractions Against Oral Anaerobic Bacteria. *Journal of Ethnopharmacology* , 80: 1-7.
- Scazzocchio F., D'Auria F.D., Alessandrini D. ve Pantanella F., 2006. Multifactorial Aspects of Antimicrobial Activity of Propolis. *Microbiological Research*, 161: 327-333.

- Schwalbe R., Steele- Moore L. ve Goodwin A. C., 2007. *Antimicrobial Susceptibility Testing Protocols*. CRC Press, Taylor & Fransis Group, Newyork, 414 s.
- Seven İ., Aksu T. ve Seven P. T., 2007. Propolis ve Hayvan Beslemede Kullanımı. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi.*, 18 (2): 79-84 s.
- Sıralı R., 2002. Türkiye Arıcılığının Genel Durumu. *Uludağ Arıcılık Dergisi*, 4:31-40.
- Silici S., Ünlü M. ve Vardar- Ünlü G., 2007. Antibacterial Activity and Phytochemical Evidence for the Plant Origin of Turkish Propolis from Different Regions. *World J Microbiol Biotechnol*, 23: 1797-1803.
- Silici S. ve Kaftanoğlu O., 2003. Antimicrobial Analysis of Propolis Samples from Different Regions in Turkey. *Uludag Arıcılık Dergisi*: 3 (3): 16-18.
- Stepanović S., Antić N., Dakić I. ve Švabić-Vlahović M., 2003. In vitro Antimicrobial Activity of Propolis and Synergism Between Propolis and Antimicrobial Drugs. *Microbiological Research*, 158: 353-357.
- Tekeli A., 2007. Etlik Cıvciv Rasyonlarında Doğal Büyüme Uyarıcı Olarak Bitkisel Ekstraktların ve Propolisin Kullanım Olanakları (Doktora Tezi). Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Zootekni Anabilim Dalı, Adana.
- Temiz A., SorkunK., Şener A., Gençay Ö. ve Tüylü A. Ö., 2006. Propolis ve Antimikrobiyal Aktivitesi. *Türkiye 9. Gıda Kongresi*, Bolu, 109-112.
- Tomas-Barberan F.A., Garcia-Viguera C., Vit- Olivier P., Ferreres F. ve Tomas-Lorente F., 1993. Phytochemical evidence for the botanical origin of tropical propolis from Venezuela, *Phytochem.*, 34 : 191-196.
- Tutkun E. ve Boşgelmez A., 2003. *Bal Arısı Zararlıları ve Hastalıkları Teşhis ve Tedavi Yöntemleri*. Bizim Büro Basımevi, Ankara. 365 s.
- Uyar T., 1992. *Organik Kimya*. Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü. 483-484.
- Uyar T., 1998. *Organik Kimya* (9. baskı). Palme Yayıncılık, Ankara. 225.
- Uzel A., Sorkun K., Önçağ Ö., Çoğulu D., Gençay Ö. ve Salih B., 2005. Chemical Compositions and Antimicrobial Activities of four Different Anatolian Propolis Samples. *Microbiological Research*, 160: 189-195.

- Velazquez C., Navarro M., Acosta A., Angulo A., Dominguez Z., Robles R., Robles-Zepeda R., Lugo E., Goycoolea F. M., Velazquez E. F., Astiazaran H. ve Hernandez J., 2007. Antibacterial and Free-radical Scavenging Activities of Sonoran Propolis. *Journal of Applied Microbiology*, 103(5): 1747-1756.
- Vatansever H., 2004. *Arı Yetiştiriciliği ve Hastalıkları*. Özkan Matbaacılık San. Tic. Ltd. Şti. Ankara. 575 s.
- Yaghoubi M. J., Ghorbani Gh., Soleimani Zad S., Satari R., 2007. Antimicrobial Activity of Iranian Propolis and Its Chemical Composition. *Daru*, 15(1): 45-48.
- Yüce K., 1998. *Antibiyotiklerin Etkileri, Antibiyotikler ve İnfeksiyon Hastalıklarında Tedavi Prensipleri*. Bilgehan Basımevi, İzmir.
- Zumla A. ve Lulat A., 1989. Honey-aremedy rediscovered. *Journal or the Royal Society of Medicine*, 82: 384-385.
- [www.bee-craft.com/beekeeping-information-history.htm](http://www.bee-craft.com/beekeeping-information-history.htm) (21.05.2010)
- [http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Propolis\\_taruvaik.jpg](http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Propolis_taruvaik.jpg) (23.05.2010)
- [www.flickr.com/photos/42305436@N04/3926354852](http://www.flickr.com/photos/42305436@N04/3926354852) (23.05.2010)
- [www.thehoneygatherers.com](http://www.thehoneygatherers.com) (2009)
- [www.thehoneygatherers.com/html/photolibrary7.html](http://www.thehoneygatherers.com/html/photolibrary7.html) (22.05.2010)
- [www.thehoneygatherers.com/html/photolibrary10.html](http://www.thehoneygatherers.com/html/photolibrary10.html) (23.05.2010)

## ÇİZELGELER LİSTESİ

### Sayfa No

|   |    |
|---|----|
| Çizelge 2.3.2. Propoliste tanımlanmış bileşenler ve sayılar .....       | 8  |
| Çizelge 4.1.1. P <sub>1</sub> Örneğinin Antimikrobiyal Aktivitesi ..... | 54 |
| Çizelge 4.1.2. P <sub>2</sub> Örneğinin Antimikrobiyal Aktivitesi ..... | 55 |
| Çizelge 4.1.3. P <sub>3</sub> Örneğinin Antimikrobiyal Aktivitesi ..... | 56 |
| Çizelge 4.1.4. P <sub>4</sub> Örneğinin Antimikrobiyal Aktivitesi ..... | 57 |

## ŞEKİLLER LİSTESİ

|  | Sayfa No |
|--|----------|
| Şekil 2. Arı yuvasından bal alan insan figürü. ....  | 3        |
| Şekil 2.3.(a) Ham propolis. ....   | 6        |
| Şekil 2.3.(b) Propolis kapaında birikmiş propolis. ....  | 6        |
| Şekil 2.5.(a) Propolis taşıyan arı. ....   | 15       |
| Şekil 2.5.(b) Kovanda propolis boşaltım işlemi. ....   | 16       |
| Şekil 3.1.1. Toplanan propolis örneklerinin haritada gösterimi. ....   | 40       |
| Şekil 3.2.1.(a)Özbek köyünden örneklerin toplanışı. ....   | 42       |
| Şekil 3.2.1.(b) Çanakkale , Evciler köyü Karakovan. ....   | 42       |
| Şekil 3.2.2.(a) Ham propolis örnekleri. ....   | 43       |
| Şekil 3.2.2.(b) Propolis etanolik ekstraktı. ....  | 43       |
| Şekil 4.1.1. 50µL propolis ekstraktlarının, <i>Candida albicans</i> ATCC 10239<br>mayasına karşı antimikrobiyal aktivitesi. ....           | 58       |
| Şekil 4.1.2. 50µL propolis ekstraktlarının, <i>Debaryomyces hansenii</i> DSM 70238<br>mayasına karşı antimikrobiyal aktivites ....         | 59       |
| Şekil 4.1.3. 50µL propolis ekstraktlarının, <i>Kluyveromyces fragilis</i> ATCC 8608<br>mayasına karşı antimikrobiyal aktivitesi. ....      | 60       |
| Şekil 4.1.4. 50µL propolis ekstraktlarının, <i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341<br>bakterisine karşı antimikrobiyal aktivitesi ....        | 61       |
| Şekil 4.1.5. 50µL propolis ekstraktlarının, <i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341<br>bakterisine karşı antimikrobiyal aktivitesi. ....       | 62       |
| Şekil 4.1.6. 50µL propolis ekstraktlarının, <i>Rhodotorula rubra</i> DSM 70403 ATCC 8608<br>mayasına karşı antimikrobiyal aktivitesi. .... | 63       |

|  |    |
|--|----|
| Şekil 4.1.7. 50µL propolis ekstraktlarının, <i>Escherichia coli</i> ATCC 11230     |    |
| bakterisine karşı antimikrobiyal aktivitesi. ....                                  | 64 |
| Şekil 4.1.8. 50µL propolis ekstraktlarının, <i>Salmonella typhimurim</i> CCM 5445  |    |
| bakterisine karşı antimikrobiyal aktivitesi. ....                                  | 65 |
| Şekil 4.1.9. 50µL propolis ekstraktlarının, <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538 |    |
| bakterisine karşı antimikrobiyal aktivitesi. ....                                  | 66 |

## ÖZGEÇMİŞ

### KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı: Selvi DUMAN

Doğum Yeri: İstanbul

Doğum Tarihi: 11.03.1986

### EĞİTİM DURUMU

Lisans Öğrenimi: 2004-2008 Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Biyoloji Bölümü

Yüksek Lisans Öğrenimi: Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Bölümü.

Bildiği Yabancı Diller: İngilizce

### BİLİMSEL FAALİYETLER

#### a) Yayınlar- SCI- Diğer

09.09.2007- 10. Ulusal Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi

12.05.2009- Türkiye’de Biyoteknoloji Sektörü ve Kariyer Fırsatları Sempozyumu

20.05.2008- İeday İnsan Kaynakları Dayanışma Derneği Katılım Belgesi

27.09.2009- International Symposium on Biotechnology, Middle East Technical University (Poster: Evaluation of Antibacterial Activity of *Verbascum sinuatum*)

07.10.2009- 9. Ekoloji ve Çevre Kongresi (Poster: Türkiye İçin Yeni Bir Koprofilöz Fungus Kaydı: *Pilobolus crystallinus* (Wiggers) Tode)

17.05.2010- Günümüzde Biyolojiye Bakış Paneli

#### b) Katıldığı projeler

20.01.2010- Anaerobic Mikrobiology Course, Yeditepe Üniversitesi Genetik ve Biyomühendislik Bölümü

## **İŞ DENEYİMİ**

Çalıştığı Kurumlar ve Yıl:

2007- İ.Ü.Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü (Staj süresince DNA izolasyon yöntemleri, PCR tekniği, Agaroz Jel Elektroforezi, laboratuvar malzemelerinin sterilizasyonu konularında teorik ve pratik olarak eğitim alınmıştır.)

2006- Çanakkale Devlet Hastanesi, Biyokimya ve Mikrobiyoloji Laboratuvarı (Staj)

2006- İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Moleküler Genetik Laboratuvarı (Staj)

## **İLETİŞİM**

E-posta Adresi: dumanselvi@hotmail.com