

2017

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Y. ÖZEL

T.C.
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI



CINNAMOMUM ZEYLANICUM UÇUCU YAĞI İLE
BİLEŞENLERİNİN ANTİBAKTERİYEL AKTİVİTESİNİN VE
TOPIKAL ANTİBİYOTİKLERLE SİNERJİSİNİN ARAŞTIRILMASI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Yener ÖZEL

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Mehmet ÜNLÜ

BALIKESİR-2017

T.C.
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**CINNAMOMUM ZEYLANICUM UÇUCU YAĞI İLE
BİLEŞENLERİNİN ANTİBAKTERİYEL AKTİVİTESİNİN VE
TOPIKAL ANTİBİYOTİKLERLE SİNERJİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Yener ÖZEL

TEZ SINAV JÜRİSİ

Prof. Dr. Mehmet ÜNLÜ
Balıkesir Üniversitesi - Başkan

Prof. Dr. Gülhan VARDAR ÜNLÜ
Balıkesir Üniversitesi - Üye

Prof. Dr. Ahmet ÖZBİLGİN
Manisa Celal Bayar Üniversitesi - Üye

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Mehmet ÜNLÜ

Bu araştırma; Balıkesir Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 2015/218 nolu proje ile desteklenmiştir.

BALIKESİR-2017



T.C.
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TEZ KABUL VE ONAY

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Yüksek Lisans Programı çerçevesinde yürütülmüş olan

**“CİNNAMOMUM ZEYLANİCUM UÇUCU YAĞI İLE BİLEŞENLERİNİN
ANTİBAKTERİYEL AKTİVİTESİNİN VE TOPIKAL
ANTİBİYOTİKLERLE SİNERJİSİNİN ARAŞTIRILMASI”**

başlıklı tez çalışması, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 05 /07 / 2017

TEZ SINAV JÜRİSİ

Prof. Dr. Mehmet ÜNLÜ
Balıkesir Üniversitesi
Başkan

Prof. Dr. Gülhan VARDAR ÜNLÜ
Balıkesir Üniversitesi
Üye

Prof. Dr. Ahmet ÖZBİLGİN
Manisa Celal Bayar Üniversitesi
Üye

Yukarıdaki Doktora / Yüksek Lisans Tezi, sınav jüri komisyonu tarafından imzalanarak
18../08./2017 tarihinde teslim edilmiştir.

Prof. Dr. Özlem YAVUZ
Enstitü Müdürü

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda patent ve telif haklarını ihlal edici etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tezde kullanılmış olan tüm bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi beyan ederim. 09.06.2017

Yener ÖZEL



TEŐEKKÜR

Tezimin yürütülmesinde bana rehberlik eden ve her türlü desteğini esirgemeyen danıŐman hocam Sayın Prof. Dr. Mehmet ÜNLÜ'ye, tezimin yürütülmesinde bilimsel katkılarından dolayı Sayın Prof. Dr. Gülhan VARDAR ÜNLÜ'ye ve Prof. Dr. Mehmet Tevfik YAVUZ'a, bu araştırmaya sağladığı desteklerden dolayı Balıkesir Üniversitesi Bilimsel Araştırma Koordinatörlüğüne, tez dönemim boyunca bana destek olan çalışma arkadaŐlarım Kaan DURAN, Nilsu AYDIN, Pelin DİLER ve Melike Sena BOZGL'e ve yine tez çalıŐmamda bana büyük katkıları olan merkezi sterilizasyon nitesi sorumlusu Mehmet KÖSE ve ekibine, her zaman ve her koŐulda yanımda olan, hiçbir yardımını ve desteğini esirgemeyen sevgili aileme ve canım eŐim Seval ÖZEL'e teŐekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	v
ABSTRACT	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
TABLolar DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. <i>Cinnamomum zeylanicum</i>	3
2.1.1. Tarihçe.....	3
2.1.2. Kullanımı	4
2.2. <i>Cinnamomum zeylanicum</i> Uçucu Yağı	4
2.3. <i>Cinnamomum zeylanicum</i> Uçucu Yağ Bileşenleri.....	4
2.3.1. Biyolojik Etkileri.....	8
2.3.2. Antimikrobiyal Etkileri	8
2.4. Topikal Antibiyotikler.....	9
2.5. Antibiyotik Direnci	15
2.6. Bakteriler.....	17
2.6.1 <i>Staphylococcus aureus</i>	17
2.6.2. <i>Enterococcus faecalis</i> ve <i>Enterococcus faecium</i>	18
2.6.3. <i>Listeria monocytogenes</i>	19
2.6.4. <i>Escherichia coli</i>	19
2.6.5. <i>Klebsiella pneumoniae</i>	20
2.6.6. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	21

2.6.7. <i>Salmonella</i> Typhimurium	22
2.6.8. <i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	23
2.6.9. <i>Acinetobacter lwoffii</i>	23
2.7. AntimikrobiyalAktivite	24
2.7.1. Disk Difüzyon Yöntemi	25
2.7.2. Mikrodilüsyon Yöntemi	25
2.7.3. <i>Checkerboard</i> Yöntemi.....	25
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	29
3.1. <i>Cinnamomum zeylanicum</i> ve Bileşenleri	29
3.2. <i>Cinnamomum zeylanicum</i> Uçucu Yağının Eldesi.....	29
3.3. <i>Cinnamomum zeylanicum</i> Uçucu Yağının GC-MS Analizi	30
3.4. Bakteri Kökenleri	31
3.5. <i>Cinnamomum zeylanicum</i> Uçucu Yağı ve Bileşenlerinin Antibakteriyel Aktivitesinin Belirlenmesi	31
3.5.1 Disk Difüzyon Yöntemi	31
3.5.2. Minimum İnhibisyon Konsantrasyon (MIK) ve Minimum Bakterisidal Konsantrasyon (MBK) Değerlerinin Belirlenmesi.....	32
3.6. Antibiyotiklerin Belirlenmesi.....	33
3.6.1 Antibiyotiklerin Stok Çözeltilerinin Hazırlanması	33
3.6.2. Antibiyotiklerin Disk Difüzyon Sonuçlarının Belirlenmesi	33
3.6.3. Antibiyotiklerin MİK Değerlerinin Belirlenmesi.....	34
3.7. <i>Checkerboard</i> Yöntemi ile Etkileşimlerin Belirlenmesi.....	34

3.7.1. <i>Cinnamomum zeylanicum</i> Uçucu Yağı ve Topikal Antibiyotikler Arasındaki Etkileşimlerin Belirlenmesi.....	34
3.7.2. Cinnamaldehyde ve Topikal Antibiyotikler Arasındaki Etkileşimlerin Belirlenmesi.....	37
3.7.3. Cinnamaldehyde ve Diğer Bileşenlerin Etkileşiminin Belirlenmesi	37
4. BULGULAR.....	38
4.1. <i>Cinnamomum zeylanicum</i> Uçucu Yağının GC-MS Analiz Sonuçları	38
4.2. <i>Cinnamomum zeylanicum</i> Uçucu Yağının Disk Difüzyon Sonuçları.....	38
4.3. <i>Cinnamomum zeylanicum</i> Uçucu Yağının MİK ve MBK Sonuçları	40
4.4. <i>Cinnamomum zeylanicum</i> Uçucu Yağ Bileşenlerinin Disk Difüzyon Sonuçları	40
4.5. <i>Cinnamomum zeylanicum</i> Uçucu Yağ Bileşenlerinin MİK ve MBK Sonuçları	40
4.6. Antibiyotiklerin Disk Difüzyon Sonuçları	43
4.7. Antibiyotiklerin MİK Sonuçları.....	44
4.8. <i>Cinnamomum zeylanicum</i> Uçucu Yağı-Antibiyotik Kombinasyon Sonuçları .	48
4.9. Cinnamaldehyde-Antibiyotik Kombinasyon Sonuçları	51
4.10. Cinnamaldehyde ve <i>Cinnamomum zeylanicum</i> Uçucu Yağında Bulunan Diğer Bileşenlerin Kombinasyon Sonuçları	55
5. TARTIŞMA	58
5.1. CZUY'nin GC-MS Analizi	58
5.2. CZUY'nin Antibakteriyel Etkinliği	60
5.3. Cinnamaldehyde'in Antibakteriyel Etkinliği	67
5.4. Cinnamyl Asetate'nin Antibakteriyel Etkinliği	70
5.5. Coumarin'in Antibakteriyel Etkinliği	70

5.6. Isoborneol'ün Antibakteriyel Etkinliği	72
5.7. T-caryophyllene'in Antibakteriyel Etkinliği.....	73
5.8. A-terpinene'in Antibakteriyel Etkinliği	74
5.9. Eucalyptol'ün Antibakteriyel Etkinliği	74
5.10. D-limonene'in Antibakteriyel Etkinliği	75
5.11. Benzaldehyde'in Antibakteriyel Etkinliği.....	77
5.12. CZUY/Cinnamaldehyde ve Antibiyotik Kombinasyonları.....	78
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	86
KAYNAKLAR	88
EK-1.ÖZGEÇMİŞ.....	114

ÖZET

***Cinnamomum zeylanicum* Uçucu Yağı ile Bileşenlerinin Antibakteriyel Aktivitesinin ve Topikal Antibiyotiklerle Sinerjisinin Araştırılması**

Bu çalışma, *Cinnamomum zeylanicum* uçucu yağ bileşiminin belirlenmesi, antibakteriyel etkinliklerinin saptanması, uçucu yağ ve bileşenlerinin topikal antibiyotiklerle sinerjik etkileşim gösterip göstermeyeceğinin belirlenmesi amacıyla yapılmıştır.

Su distilasyonu ile elde edilen *C. zeylanicum* uçucu yağının bileşimi, GC-MS analizi ile tespit edilmiştir. Uçucu yağ ve bileşenlerinin antibakteriyel aktiviteleri, Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ve sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile belirlenirken, topikal antibiyotiklerle sinerji çalışmaları da checkerboard yöntemi ile yapılmıştır.

Bu çalışmada klinik örneklerden soyutlanan çoklu ilaç dirençli bakteriler (ÇİDB) ile standart bakteri kökenleri kullanılmıştır. Gram pozitif bakterileri temsilen *Staphylococcus aureus* ÇİDB, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 (MRSA), *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Enterococcus faecium* ATCC 6057 ve *Listeria monocytogenes* F 1483 kökenleri, Gram negatif bakterileri temsilen *Klebsiella pneumoniae* ÇİDB, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Salmonella* Typhimurium ATCC 14028, *Stenotrophomonas maltophilia* ATCC 17666 ve *Acinetobacter lwoffii* ATCC 19002 kökenleri seçilmiştir.

C. zeylanicum uçucu yağı ve GC-MS analizi ile majör bileşen olduğu gösterilen cinnamaldehyde bileşeninin test edilen tüm bakteri kökenlerine karşı güçlü antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu gösterildi. *C. zeylanicum* uçucu yağı-tetrasiklin, -neomisin ve -basitrasin kombinasyonları tüm kökenlere karşı sinerjik aktivite gösterirken, sadece cinnamaldehyde-neomisin kombinasyonu tüm bakteriler için aynı etkiyi gösterdi.

Sonuç olarak, *C. zeylanicum* uçucu yağı ve majör bileşeni olan cinnamaldehyde'in güçlü antibakteriyel özelliğe ve topikal antibiyotikler ile sinerjik etkileşime sahip olması, uçucu yağlar ve bileşenlerinin, her gün giderek büyüyen antibiyotik direnci sorununa çözüm arayışında, bize antibakteriyel yeni seçenekler sunabileceğini göstermektedir.

Anahtar kelimeler: Antibakteriyel Sinerji, Antibiyotikler, Cinnamaldehyde, *C. zeylanicum*, Uçucu Yağ

ABSTRACT

Investigation of Antibacterial Activity and Synergy with Topical Antibiotics of *Cinnamomum zeylanicum* Essential Oil and Its Components

This study was conducted to determine the composition of *Cinnamomum zeylanicum* essential oil, to determine antibacterial activities, and to determine whether essential oil and its components exhibit synergistic interaction with topical antibiotics.

The composition of *C. zeylanicum* essential oil obtained by water distillation was determined by GC-MS analysis. The antibacterial activities of essential oil and its components were determined by Kirby-Bauer disc diffusion method and liquid microdilution method, while the checkerboard method was used to study synergy of the essential oil and its components with topical antibiotics chosen.

Multidrug resistant bacteria (MDR) isolated from clinical specimens and standard bacterial strains were used in this study. *Staphylococcus aureus* MDR, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 (MRSA), *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Enterococcus faecium* ATCC 6057 and *Listeria monocytogenes* F 1483 strains representing Gram positive bacteria, *Klebsiella pneumoniae* MDR, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *Stenotrophomonas maltophilia* ATCC 17666 and *Acinetobacter lwoffii* ATCC 19002 strains, representing Gram negative bacteria, were selected.

C. zeylanicum essential oil and the cinnamaldehyde component, indicated as the major component by GC-MS analysis, were shown to have strong antibacterial activity against all bacterial strains tested. The combination of *C. zeylanicum* essential oil-tetracycline, -neomycin and -bacitracin showed synergistic activity against all strains, while only cinnamaldehyde-neomycin combination showed the same effect for all bacteria.

In conclusion, the strong antibacterial property of *C. zeylanicum* essential oil and its major component cinnamaldehyde, and their synergistic interactions with topical antibiotics, indicate that essential oils and their components may offer us new antibacterial options in search of a solution to antibiotic resistance problem that grows everyday.

Key words: Antibacterial Synergy, Antibiotics, Cinnamaldehyde, *C. zeylanicum*, Essential Oil.

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ATCC	: American Type Culture Collection
CDC	: Centers for Disease Control and Prevention
CFU	: Colony Forming Unit
CLSI	: The Clinical and Laboratory Standards Institute
CZUY	: <i>Cinnamomum zeylanicum</i> Uçucu Yağı
ÇİDB	: Çoklu İlaç Dirençli Bakteri
DMSO	: Dimetilsülfoksit
ECDC	: European Centre for Disease Prevention and Control
EMA	: European Medicines Agency
EUCAST	: European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
FİK	: Fraksiyonel İnhibisyon Konsantrasyonu
FİKİ	: Fraksiyonel İnhibisyon Konsantrasyon İndeksi
GAA	: Glasiyel Asetik Asit
GC-MS	: Gaz Kromatografisi Kütle Spektrometresi
GSBL	: Geniş Spektrumlu Beta Laktamaz
HMEC-1	: Human Microvascular Endothelial Cells
KKMHA	: Koyun Kanlı Müeller-Hinton Agar
KAMHB	: Katyon Ayarlı Müeller-Hinton Broth
MBK	: Minimum Bakterisidal Konsantrasyonu
MCR-1	: The Mobilized Colistin Resistance Gene
MexAB-oprM	: <i>Pseudomonas</i> Suşlarındaki Dışa Atım Pompa Sistemi
MHA	: Müeller-Hinton Agar
MİK	: Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu
MRSA	: Metisiline Dirençli <i>Staphylococcus aureus</i>
PBP	: Penisilin Bağlayıcı Protein
T98G	: Glioblastoma Cell Line
VRE	: Vankomisin Dirençli Enterokok
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 2.1. FİKİ Değerlerinin Hesaplanacağı Kuyucuklar	27
Şekil 3.1. Clevenger Aparatı	29
Şekil 3.2. Shimadzu QP 2010 Plus GC – MS Analizörü	30
Şekil 3.3. Checkerboard İşleminde Birinci Mikroplakanın Hazırlık Şeması	35
Şekil 3.4. Checkerboard İşleminde İkinci Mikroplakanın Hazırlık Şeması	36
Şekil 3.5. Checkerboard Mikroplakasının İnkübasyon Sonrası Görünüm Şeması	36



TABLolar DİZİNİ

Sayfa No

Tablo 2.1. <i>Cinnamomum zeylanicum</i> 'un Taksonomisi.	3
Tablo 2.2. <i>Cinnamomum zeylanicum</i> 'un Farklı Kısımlarının Kimyasal Bileşenleri	5
Tablo 2.3. FİKİ Değerlendirme Ölçütleri.....	27
Tablo 3.1. Antibiyotiklerin Hazırlanması İçin Gerekli Çözücü ve Sulandırıcılar...	34
Tablo 4.1. CZUY 'nin GC-MS Analiz Sonuçları.....	38
Tablo 4.2. CZUY'nin Disk Difüzyon Sonuçları	39
Tablo 4.3. CZUY'nin MİK ve MBK değerleri.....	39
Tablo 4.4. CZUY Bileşenlerinin Disk Difüzyon Sonuçları	41
Tablo 4.5. CZUY Bileşenlerinin MİK ve MBK değerleri.....	42
Tablo 4.6. Antibiyotiklerin Disk Difüzyon Sonuçları	46
Tablo 4.7. Antibiyotiklerin MİK Değerleri	47
Tablo 4.8. CZUY-Gentamisin Kombinasyon Sonuçları	48
Tablo 4.9. CZUY-Tetrasiklin Kombinasyon Sonuçları	49
Tablo 4.10. CZUY-Neomisin Kombinasyon Sonuçları	49
Tablo 4.11. CZUY-Fusidik asit Kombinasyon Sonuçları	50
Tablo 4.12. CZUY-Mupirosin Kombinasyon Sonuçları	50
Tablo 4.13. CZUY-Eritromisin Kombinasyon Sonuçları	50
Tablo 4.14. CZUY-Klindamisin Kombinasyon Sonuçları	51
Tablo 4.15. CZUY-Basitrasin Kombinasyon Sonuçları.....	51
Tablo 4.16. Cinnamaldehyde-Gentamisin Kombinasyon Sonuçları	52
Tablo 4.17. Cinnamaldehyde-Tetrasiklin Kombinasyon Sonuçları	52
Tablo 4.18. Cinnamaldehyde-Neomisin Kombinasyon Sonuçları	53
Tablo 4.19. Cinnamaldehyde-Fusidik asit Kombinasyon Sonuçları.....	53
Tablo 4.20. Cinnamaldehyde-Mupirosin Kombinasyon Sonuçları.....	53
Tablo 4.21. Cinnamaldehyde-Eritromisin Kombinasyon Sonuçları	54
Tablo 4.22. Cinnamaldehyde-Klindamisin Kombinasyon Sonuçları.....	54
Tablo 4.23. Cinnamaldehyde-Basitrasin Kombinasyon Sonuçları.....	55
Tablo 4.24. Cinnamaldehyde-Benzaldehyde Kombinasyon Sonuçları.....	55
Tablo 4.25. Cinnamaldehyde-Eucalyptol Kombinasyon Sonuçları	56
Tablo 4.26. Cinnamaldehyde- α -terpinene Kombinasyon Sonuçları	57
Tablo 4.27. Cinnamaldehyde-Cinnamyl asetat Kombinasyon Sonuçları.....	57

1. GİRİŞ

1928’de penisilinin keşfedilmesi ile önceleri insan sağlığı için geliştirilen antibiyotikler ilerleyen zamanlarda hayvanların tedavisi, tarım ve endüstriyel uygulamalara kadar yayılmıştır (Fleming, 1929; Goldman, 2004; Sengeløv ve ark., 2003; WHO, 2017).

Antibiyotiklerin geniş kullanım alanı bulması; dirençli yeni bakteri türlerinin ortaya çıkması ile antibiyotiklerin etkinliğini azaltmış ve antibiyotik direnci küresel bir halk sağlığı sorunu haline gelmiştir. Enfeksiyonlara karşı birinci basamak ilaçlar etkisiz hale geldiğinde ise daha pahalı tedaviler kullanılmak zorunda olacaktır (ECDC/EMA, 2009). Örneğin, antibiyotiklere karşı direnç gelişimi; Avrupa Birliği'nde yılda tahmini olarak 400,000 enfeksiyon vakasına, 25,000 kişinin ölümüne ve yaklaşık 1,5 milyar Euro daha fazla sağlık maliyetine neden olmaktadır (Bush ve ark., 2011; ECDC/EMA, 2009).

Özellikle dünyanın bazı bölgelerinde tüm antibiyotiklere dirençli enfeksiyon etkenleri ortaya çıkmaya başlamıştır (Udwadia ve ark., 2012). Günümüzde yeni nesil antibiyotik araştırmaları için yapılan çalışmalar büyük ölçüde azalmış hatta neredeyse piyasada yeni nesil bir antibiyotik üretilmez duruma gelmiştir (Lewis, 2012). Bunun asıl nedeni finansal verimlilik adına; yeni nesil antibiyotiklerin geliştirilmesi üzerine odaklanmış araştırmaların mevcut antibiyotiklerin yapısında değişiklikler yapılması yönünde değişmesi olmuştur (ECDC/EMA, 2009; Nordberg ve ark., 2005).

Önceleri önemli yan etkilerinin olduğu bilinen ilaçlar tekrar tekrar kullanılmaktaydı (Boucher ve ark., 2009). Ancak 2011 yılında, akademisyenler ve sanayi kuruluşları antibiyotik direnç gelişimindeki krizi çözmek için bir araya gelerek çözüm arayışına girmişlerdir. Önerilen olası stratejilerin başında antibiyotiklere karşı yeni alternatiflerin ve adjuvanların keşfi veya geliştirilmesi yer almıştır (Bush ve ark., 2011). Bununla birlikte, antibiyotik direnç gelişiminin önüne geçmek için birinci olasılık antibiyotiklerin diğer antibiyotik dışı ilaçlarla birlikte kombine edilerek kullanılması önerileri olmuştur (Ejim ve ark., 2011). Çünkü bazı

antipsikotik ve anti-inflamatuar ilaçlar *in vitro* antibiyotik etkinliğini artırmaktadır (Lehtinen ve Lilius, 2007; Mazumdar ve ark., 2009). Diğer bir olasılık ise antibiyotiklerin adjuvanlar ile ya da doğada rezervuar olarak bulunan aktif doğal bileşenler ile kombine edilerek uygulanması ve direnç gelişiminin engellenmesi önerisi olmuştur (Bush ve ark., 2011).

Fitokimyasallar antibiyotikler için umut verici adjuvanlar sunmakta, bu metabolitlerin antibiyotikler ile sinerjik etkileşimi araştırmacılarca değerlendirilmektedir (Hemaiswarya ve ark., 2008). Fitokimyasallar içinde özellikle bazı bitkilerden elde edilen yağlı aromatik sıvılar uçucu yağlar olarak tanımlanmakta ve güçlü antibakteriyel aktivite göstermektedir (Guenther ve ark., 1948).

Çalışmamızın çıkış noktası, sürekli artan ve ciddi boyutlara ulaşan antibiyotik direnci olmuştur. Yukarıda da bahsedildiği gibi antimikrobiyal etkinlik gösteren doğal kaynakların belirlenmesi ve antibiyotiklerle ilişkisinin araştırılması gelecekteki çalışmalara yön vermesi açısından oldukça önemlidir. Bu bağlamda, çalışmamızda *Cinnamomum zeylanicum* uçucu yağı (CZUY) doğal antimikrobiyal kaynak olarak seçilmiş, *C. zeylanicum* kabuklarından distilasyon yolu ile elde edilen uçucu yağın antibakteriyel aktivitesi; inhibisyon zonu, minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) ve minimum bakterisidal konsantrasyonu (MBK) belirlenerek değerlendirilmiştir. Ayrıca elde edilen CZUY'nın GC-MS analizi yapılarak bileşenleri ve miktarları saptanmıştır.

Bu çalışmada, 5'i Gram pozitif ve 6'sı Gram negatif olmak üzere 11 standart bakteri kökeni ve 2 çoklu ilaç direnci gösteren klinik köken kullanılarak, CZUY ve içerdiği bileşenlerin antibakteriyel aktivitesi ve antibiyotiklerle ve bileşenlerin kendi arasındaki sinerjik etkileşimleri çalışılmıştır. Uçucu yağ ve bileşenlerinin antibiyotiklerle kombinasyonu *checkerboard* (dama tahtası) yöntemiyle araştırılmış, kombinasyon çalışmaları için topikal uygulanabilen antibiyotikler tercih edilmiştir. Uçucu yağ içeriğinde bulunan diğer bileşenlerin adjuvan özelliklerinin bulunup bulunmadığı belirlemek için de, bu maddelerle majör bileşen cinnamaldehyde arasında kombinasyon çalışması yapılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. *Cinnamomum zeylanicum*

Halk arasında “Darçın”, “Loğusa”, “Şerbet Kokusu” gibi adlarla bilinen tarçın, bazı *Cinnamomum* (*Lauraceae*) türlerinin kurutulmuş kabuğudur. Çin Tarçını (*Cinnamomum cassiae*) ve Seylan Tarçını (*Cinnamomi zeylanicum*) olmak üzere başlıca iki cins tarçın bulunmaktadır (Vangalapati ve ark., 2012). Cinnamon türleri *Lauraceae* ailesi içinde yer almaktadır (Tablo 2.1).

Tablo 2.1. *Cinnamomum zeylanicum*’un taksonomisi
(<http://taxonomicon.taxonomy.nl/TaxonTree.aspx>)

Takson	Bilimsel Adı
Kingdom	Plantae
Subkingdom	Tracheobionta
Superdivision	Spermatophyta
Division	Magnoliophyta
Class	Magnoliopsida
Subclass	Magnoliidae
Order	Lurales
Family	Lauraceae
Genus	<i>Cinnamomum</i> Schaeff.
Species	<i>Cinnamomum zeylanicum</i>

Dünyada bazı bölgelere dağılmış olarak yaklaşık 250 farklı Cinnamon türü tespit edilmiştir (Sangal, 2011; Vangalapati ve ark., 2012). En fazla üretimin yapıldığı bölgeler; Sri Lanka, Güneydoğu Hindistan, Endonezya, Güney Amerika ve Batı Hint Adalarıdır. Dünyadaki tarçın üretiminin %90’ı Sri Lanka’da yapılmaktadır (Vangalapati ve ark., 2012).

2.1.1. Tarihçe

Uçucu yağ içeren bitkilerin kullanımı çok eski zamanlara dayanmaktadır. Örneğin, Sümer tabletlerinde aromatik bitkilerden söz edilmektedir. Hipokrat, Galen,

İbn-i Sina gibi ünlü bilim insanları aromatik bitkiler ve bu bitkilerin uygulama yöntemleri ile ilgili çalışmalar yapmıştır. Yapılan bu çalışmalar bugün yapılanlara temel oluşturmuştur (Berk, 1953).

Aromatik kokulu cinnamon kabuğuna ait bilgilere eski Mezopotamya, Roma, Hint, Çin, Yunan ve Latin yazıtlarında sıklıkla rastlanmaktadır. Bu belgelerde rastlanan tarçın türünün M.Ö. 2700'den beri bilinen Çin tarçını (*Cinnamomi cassiae*) olduğu ve daha kalın kabuklu, daha az aromatik olan bir tür olduğu düşünülmektedir. 13. yüzyıla kadar Seylan'da tarçın yetiştiğine dair bir bulguya rastlanmamıştır. Seylan'da tarçın kültürü yapılması, Hollandalıların 1770'te Seylan'ı işgali ile başlamıştır (Gürson ve Özçelikay, 2015).

2.1.2. Kullanımı

C. zeylanicum baharat olarak tüketilmesinin yanı sıra ilaç, parfümeri, kozmetik ve gıda sektöründe de oldukça fazla miktarda kullanılmaktadır. Özellikle güçlü antimikrobiyal etkisinden dolayı çeşitli gıdalarda koruyucu katkı maddesi olarak tercih edilmektedir (Huang ve ark., 2007).

2.2. *Cinnamomum zeylanicum* Uçucu Yağı

Uçucu yağlar bitkilerin, çiçek, yaprak, gövde, kabuk, kök, meyve ve tohum gibi kısımlarından elde edilmektedir. Normal koşullarda sıvı, uçucu, kokulu ve yağimsi karışımlardır. Uçucu yağlar bilinen bitkisel yağlardan farklı olmakla birlikte, emici bir kâğıda damlatıldıklarında hiçbir iz bırakmadan uçmaları ile ayrılmaktadır. Genel olarak bitkilerin taşıdığı uçucu yağ oranı %10 ile %0,01 arasında değişmektedir (Toroğlu ve Çenet, 2006).

2.3. *Cinnamomum zeylanicum* Uçucu Yağ Bileşenleri

Bitkilerden elde edilen uçucu yağların bileşimi, coğrafi, mevsimsel, iklimsel, tür düzeyinde ve yağ çıkarma yöntemlerindeki farklılıklara göre değişiklik gösterme eğilimindedir (Santoyo ve ark, 2006). Bu durum uçucu yağların antibakteriyel etkinliğini değiştirebilir. Antimikrobiyal etkinliği yorumlamak için, uçucu yağ içinde

bulunan tüm bileşenlerin birbiri ile olan etkileşimleri de değerlendirilmelidir (Bassolé ve Juliani, 2012; Van Vuuren ve Viljoen, 2011). En iyi çalışılan uçucu yağlardan biri *Cinnamomum zeylanicum* uçucu yağıdır (CZUY) ve doğal bileşenleri olan cinnamaldehyde ve cinnamic acid güçlü antimikrobiyal aktivite göstermektedir (Woehrlin ve ark., 2010).

CZUY’de majör bileşen olarak cinnamaldehyde, daha düşük oranlarda ise benzaldehyde, cinnamyl asetat, limonene, eugenol, α -pinene, 1,8 cineole, linalool ve cinnamic acid gibi diğer bileşenlerin yer aldığı bildirilmiştir (Ünlü ve ark., 2010). Tablo 2.2.’de görüleceği üzere, uçucu yağ içerikleri bitkinin çeşitli bölgelerinde farklı oranlarda bulunabilmektedir (Vangalapati ve ark., 2012). Çalışmamızda kullandığımız CZUY’nin GC-MS analizi ile belirlenen kimyasal bileşenleri aşağıda verilmiştir.

Tablo 2.2. *C. zeylanicum* farklı kısımlarının kimyasal bileşenleri

Bitkinin bölgeleri	Bileşenleri
Yaprak	Cinnamaldehyde: % 1-5 Euganol: % 70-95
Kabuk	Cinnamaldehyde: % 65-80 Euganol: % 5-10
Kök kabuğu	Camphor : % 60
Meyve	Trans - cinamyl asetat: % 42-54 Caryophyllene: % 9-14
<i>C. zeylanicum</i> tomurcukları	Terpene Hidrocarbons: % 78 α -Bergamotene: % 27,38 α -Copaene: % 23,05 Oxygenated terpenoids: % 9
<i>C. zeylanicum</i> çiçekleri	(E)-cinamyl asetat: % 41,98 Trans α -Bergamotene: % 7,97 Caryophyllene oxide: % 7,20

Cinnamaldehyde

Tarçına tadını ve kokusunu veren bir aldehit türevidir. Cinnamon bitkisinin kabuğundan elde edilen uçucu yağ içeriğinde majör olarak bulunmaktadır. Güçlü antimikrobiyal etkiye sahiptir (<http://www.hmdb.ca/metabolites/HMDB03441>).

Cinnamyl asetat

CZUY içeriğinde bulunmasının yanında diğer tarçın türlerinden ve fesleğen bitkisinden elde edilen uçucu yağda da bulunmaktadır. Ayrıca guava bitkisinin meyve ve kabuğunda, kavun ve çilekte de bulunmaktadır. Cinnamyl asetat tat verici bir katkı maddesidir ve fenilpropaner ailesine aittir.

(<http://www.hmdb.ca/metabolites/HMDB29699>)

Coumarin

Pek çok bitkide bulunan, özellikle tonka fasulyesi, tarçın, melilot (tatlı yonca), yeşil çay, nane, kereviz, yaban mersini, lavanta, kereviz gibi doğal bitkiler, doğal baharatlar ve gıdalarda bulunan bir bileşiktir. Tatlı bir kokusu olup, çeşitli antikoagülanların, özellikle de varfarinin öncüsü olarak klinik değeri vardır.

(<http://www.hmdb.ca/metabolites/HMDB01218>)

Isoborneol:

Bir aroma maddesidir ve bisiklik monoterpenler ailesine aittir. Bunlar, birbirlerine kaynaşmış iki halka içeren monoterpenlerdir. Borneol keskin camphor benzeri bir kokuya sahip ve beyaz renklidir. Kolayca yanar. Sudan biraz daha yoğun ve suda çözünmez. Parfüm yapmak için kullanılır.

(<http://www.hmdb.ca/metabolites/HMDB35819>)

Alfa-copaene

Alfa-copaene, seskiterpenoidler olarak bilinen organik bileşik sınıfına aittir. Bunlar üç ardışık izopren birimi olan terpenlerdir.

(<http://www.hmdb.ca/metabolites/HMDB61851>)

Trans-caryophyllene

Tüm baharatlarda bulunur. Baharatların dışında *Jasminum*, *Origanum* ve *Pimpinella* cinsi bitkilerde yaygın olarak bulunur.

(<http://www.hmdb.ca/metabolites/HMDB36792>)

Alfa-terpinene

Tüm baharatlarda bulunan α -terpinene, narenciye, ökaliptüs, *Juniperus* türleri ve *Litsea ceylanica* gibi pek çok uçucu yağın bileşeni olup tatlandırıcı bir maddedir. Terpinenler, terpenler olarak sınıflandırılan üçlü izomerik hidrokarbonlar olup, her biri aynı molekül formülüne ve karbon iskeletine sahiptir, ancak karbon-karbon çift bağlarının konumlarında farklılık gösterir. α -terpinene, kakule ve marjoram yağlarından ve diğer doğal kaynaklardan soyutlanmıştır.

(<http://www.hmdb.ca/metabolites/HMDB36995>)

Eucalyptol

Renksiz organik bir bileşik olan eucalyptol siklik bir eter ve monoterpendir. Eucalyptol, birçok aromatik bitkinin doğal bir bileşeni ve uçucu yağ fraksiyonudur. Eucalyptol ile ilgili toksikolojik veriler oldukça sınırlıdır. Beşten fazla sigara şirketi tarafından yayımlanan bir raporda, eucalyptol, sigaraya eklenen 599 katkı maddesinden biri olarak listelenmiştir.

(<http://www.hmdb.ca/metabolites/HMDB04472>)

D-limonene

Oda sıcaklığında berrak, renksiz, sıvı bir monoterpen olup, portakal yağı içindeki ana bileşendir. Limonene yaygın olarak lezzet ve koku artırıcı olarak kullanılmaktadır. Limonene, düşük toksik etkisi olan bir çözücüdür. Limonene maruz kaldığında hafif cilt tahrişi meydana gelebilir, limonene oksidasyon ürünleri dermal sensitizasyona neden olabilir, tahriş edici ve bronkokonstriktif hava yolu

etkilerine sahip olabilir; Limonene'in hiyalin damlacık nefropatisi olarak tanımlanan sıçan spesifik böbrek toksisitesine sahip olduğu gösterilmiştir. Limonene, kansere karşı koruyucu olduğu görünen, diyetle kullanılan fitokimyasal maddelerin aktif bileşenlerinden biridir. (<http://www.hmdb.ca/metabolites/HMDB04321>)

Benzaldehyde

Kozmetikte denatüre edici, tatlandırıcı ve parfüm olarak kullanılan aromatik bir aldehittir. En yüksek kullanım konsantrasyonu parfümlerde % 0,5'dir. Benzaldehyde, ABD'nde genel olarak güvenli gıda katkı maddesi ve Avrupa Birliği'nde aroma maddesi olarak kabul edilmektedir. Benzaldehyde cilt yoluyla emilir ve akciğerler tarafından, iyi perfüze edilmiş tüm organlara dağıtılır, ancak belli bir dokuda birikmez. Benzoik aside metabolize edildikten sonra, glisin veya glukuronik asit ile konjuge olur ve idrarla atılır. Çeşitli çalışmalar ile benzaldehyde'in karsinostatik veya antitümör özelliklere sahip olabileceğini ileri sürülmüştür. Genel olarak, kozmetikte kullanılan konsantrasyonlarda, benzaldehyde insanlar için kanserojen bir risk oluşturmamaktadır. (<http://www.hmdb.ca/metabolites/HMDB06115>)

2.3.1. Biyolojik Etkileri

CZUY birden fazla biyolojik aktivite göstermektedir. CZUY, antioksidan (Mancini ve ark., 1998; Shobana ve Akhilender Naidu, 2000; Mathew ve Abraham, 2006a; Mathew ve Abraham, 2006b; Kim ve ark., 1993), antidiabetik (Kim ve ark., 2006; Jia ve ark., 2009; Jarwill Taylor ve ark., 2001; Lu ve ark., 2011; Subash Babu ve ark., 2007; Onderoglu ve ark., 1999; Bandara ve ark., 2012), kolesterol düzenleyici (Amin ve El-Twab, 2009), kolon sağlığını düzenleyerek kolon kanseri riskini azaltıcı (Wondrak ve ark., 2010), pıhtılaştırıcı özelliği ile kanamayı önleyici (Hosseini ve ark., 2013), uterustaki kan dolaşımını artırıcı ve doku rejenerasyonunu geliştirici, (Minich ve Msom, 2008), anti-inflamatuar (Chao ve ark., 2005; Tung ve ark., 2008; Tung ve ark., 2010), antinematodal (Park ve ark., 2005; Kong ve ark., 2007), sivrisinek larvasidal (Cheng ve ark., 2004), insektisit (Cheng ve ark., 2009) gibi geniş bir spektrumda etkilere sahiptir.

2.3.2. Antimikrobiyal etkileri

CZUY'nin sahip olduğu uçucu yağ ve içerdiği kimyasal bileşenlerin güçlü antimikrobiyal (Hili ve ark., 1997; Chang ve ark., 2001; Wang ve ark., 2005; (Prabuseenivasan ve ark., 2006; Matan ve ark., 2006; Gende ve ark., 2008; Ünlü ve ark., 2010) etkileri bulunmaktadır.

Uçucu yağ bileşenleri için önerilen spesifik hedeflerden birisi, antibiyotik direncinden sorumlu olduğu düşünölen ve hücre membranında bulunan *efflux* sisteminin inhibe edilmesidir (Johnny ve ark., 2010; Shahverdi ve ark., 2007). *Efflux* sisteminin inhibe edilmesinde büyük alkoloidal ve lipofilik moleköllerin rol aldığı tahmin edilmekle birlikte membran hasarı ve metabolik yolların bozulmasının da etkili olduğu düşünölmektedir (Gibbons, 2008). Aynı zamanda çeşitli enzimlerin üretiminin inhibe edilmesi ya da aktivitelerinin azaltılmasında uçucu yağlar etkili görev almaktadır. Cinnamaldehyde'in bulundurduğu karbonil grubunun, bazı proteinleri bağlayarak bakterilerin aminoasit dekarboksilasyon fonksiyonlarını inhibe etmesi, uçucu yağların bu etkilerine örnek verilebilir (Wendakoon ve Sakaguchi, 1993; Wendakoon ve Sakaguchi, 1995).

2.4. Topikal Antibiyotikler

Birçok antibakteriyel madde, başta deri ve yumuşak dokuyu ilgilendiren çeşitli enfeksiyonların önlenmesi ve tedavisi için topikal olarak uygulanmaktadır. Topikal antibiyotiklerin ilk hedef organı deridir ve daha sonra değişen miktarlarda emilerek vücuda yayılmaktadır. Sistemik antibiyotiklerin tersine, ilacın konsantrasyonu deri yüzeyinden deri altına doğru azalmakta ve bu nedenle patolojik olay epidermis ya da papiller dermiste ise, topikal uygulama avantaj sağlamaktadır (O'Donnel ve Tunkel, 2005).

Gentamisin, tetrasiklin, basitrasin, neomisin, fusidik asit, mupirosin, klindamisin ve eritromisin, gibi antibiyotikler bu amaçla kullanılmaktadır (İşğör ve Sultan, 2007).

Gentamisin ve Neomisin

Gentamisin ve neomisin aminoglikozid grubunda yer alan antibiyotiklerdir. Gentamisin, ilk olarak 1963 yılında *Micromonospora purpurea* ve *Micromonospora echinospora*'dan, neomisin ise 1949 yılında *Streptomyces fradiae*'den elde edilmiştir. Her iki antibiyotik de Gram pozitif ve Gram negatif bakterileri kapsayan geniş bir spektrumda kullanılmaktadır (Waksman ve Lechevalier, 1949; Gilbert, 1995). Gentamisin oral, parenteral ve topikal olarak, neomisin ise, sistemik uygulandığında ciddi toksisite göstermesi nedeniyle sadece bağırsak sterilizasyonu için oral olarak kullanılmaktadır. Neomisin, bu nedenle genellikle topikal olarak uygulanmaktadır (Köksal, 2009).

Gentamisin ve neomisin, bakterilerde ribozomların 30S alt birimine bağlanarak mRNA'nın yanlış okunmasına ve bunun sonucunda bakterinin ölümüne yol açmaktadır. Gentamisin'in klinik kullanım alanları, diğer antibiyotiklere dirençli Gram negatif bakterilerle oluşan enfeksiyonlar ve nötropenik hastalardaki hastane enfeksiyonları, komplike üriner sistem enfeksiyonları, sepsis, peritonit ve diğer intra-abdominal enfeksiyonlar, endokardit, neonatal sepsis ve deri ve yumuşak doku enfeksiyonları, oküler enfeksiyonlar, otitis eksterna gibi enfeksiyonları içerir (Pancoast, 1988; Montie ve Patamasucon, 1995). Neomisin ise deri enfeksiyonları, göz ve kulak yolu enfeksiyonlarında etkili olarak kullanılmaktadır. Bazı antidiyareiklerin içinde yer almaktadır. Genellikle cilt enfeksiyonlarında basitrasin ile kombine edilerek kullanılmaktadır (O'Donnel ve Tunkel, 2005). Tüm antibiyotiklerde olduğu gibi, aminoglikozidlere karşı direnç de giderek artmaktadır. Aminoglikozid antibiyotiklerin tekrarlayan tekli kullanımı, yeni direnç mekanizmalarının gelişmesine ve direnç insidansının artmasına neden olmaktadır (Garneau-Tsodikovaa ve Labby, 2016).

Tetrasiklin

Tetrasiklinler bugün bir grup antibiyotiğe verilen genel isim olup, tetrasiklin de bu antibiyotiklerden biridir. Tetrasiklin, *Streptomyces rimosus*'dan üretilen yarı sentetik bir antibiyotiktir. Birçok bakteriyel enfeksiyonlarda kullanılır. Tetrasiklin,

geniş spektrumlu antibiyotik olarak tanımlanmaktadır. Bakteriyostatiktir ancak yüksek konsantrasyonda bakterisid olabilirler. Gram pozitif ve Gram negatif patojenlere, mikoplazmalara, hücre içi klamidyalara, riketsiyalara ve protozoonlara kadar geniş bir yelpazede etkili olurlar (Chopra ve ark., 1992).

Tetrasiklin pasif difüzyon ve enerjiye bağlı aktif transport sistemi ile bakteriyel hücre duvarını aşmakta ve 30S ribozomal alt birimine bağlanarak etkili olmaktadır. Bu bağlanma, aminoasil-tRNA'nın RNA-ribozom kompleksine bağlanmasını önleyerek protein sentezini bloke etmesine neden olmaktadır. Tetrasiklin ayrıca sitoplazmik membranı değiştirmekte ve nükleotidler ile diğer komponentlerin hücre dışına sızmasına yol açmaktadır (Schnappinger ve Hillen, 1996; Stein ve Craig, 2006). Genel olarak oral, parenteral ve topikal olarak kullanılan tetrasiklin, genellikle vücut sıvılarına ve dokulara orta derecede nüfuz etmekte ve idrarla atılmaktadır. Ayrıca topikal kullanımda yara ve yumuşak doku enfeksiyonları ile sebum içine nüfuz ederek ve terleme ile atılarak akne tedavisinde etkili olmaktadır (Chopra ve ark., 1992).

Bu antibiyotiğe direncin ortaya çıkması nedeniyle glisilsiklinler, daktilosiklin, tigesiklin gibi tetrasiklinlerin yeni türevleri geliştirilmeye devam edilmektedir (McMurry ve Levy, 2000). Ancak tetrasiklinin çok yaygın kullanılmasına bağlı olarak direnç gelişimi görülmektedir (Taşova, 2010).

Basitrasin

İlk olarak 1945 yılında *Bacillus licheniformis* bakterisinden elde edilmiş peptid bağlı aminoasitlerden oluşan peptid bir antibiyotiktir. Önceleri şiddetli stafilokokal enfeksiyonların tedavisinde önerilmesine karşın günümüzde sistemik toksisitesi nedeniyle topikal kullanımla kısıtlanmıştır (Köksal, 2009). Basitrasin, bakteriyel hücre duvarı sentezinin başlangıç basamağı olan C55-pirenol pirofosfat yapısına bağlanarak hücre duvar sentezini etkisiz kılmaktadır. Ayrıca bakteriyel sitoplazmik membranı bozmaktadır (Köksal,2009).

Basitrasin özellikle stafilokoklar ve A grubu beta hemolitik streptokoklar olmak üzere Gram pozitif bakterilere etkilidir. Buna karşın C ve G streptokoklara etkinliği azdır ve grup B streptokoklar dirençlidir. *Neisseria* türleri duyarlı iken Gram

negatif basiller dirençlidir (Finland ve ark., 1976). Basitrasın sıklıkla kremler, merhemler, antibiyotik spreylere pudralar, yara veya mesane irrigasyon solüsyonları gibi değişik topikal preparatlarda kullanılmaktadır. Topikal kullanıldığında önemli sistemik absorpsiyonu yoktur. Ancak seröz kavitelere yüksek doz irrigasyon yapıldığında sistemik toksisite gelişebilmektedir (Köksal, 2009). Basitrasın topikal olarak, neomisin, polimiksin B veya her ikisi ile kombine edilerek kullanılmaktadır. Oral olarak verildiğinde *Clostridium difficile* kolitinin tedavisinde etkili olmaktadır (Dudley ve ark., 1986). Basitrasın, stafilokokların nazal taşıyıcılığı ve impetigo için de kullanılmaktadır (O'Donnel ve Tunkel, 2005).

Fusidik asit

Fusidik asit, 1962 yılında *Fusidium coccineum*'dan elde edilen ve yaklaşık elli beş yıldır *Staphylococcus aureus* enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılan dar spektrumlu bir antibiyotiktir (Verbist, 1990). Uzama faktörü G, protein sentezi sırasında peptid bağ oluşumundan sonra bakteriyel ribozom üzerinde translokasyon için gerekli olan bir bakteri proteinidir. Fusidik asit, bu proteine ve ribozoma bağlanarak bakterinin protein sentezini inhibe etmektedir. Fusidik asidin etkisi büyük oranda bakteriyostatiktir ancak yüksek konsantrasyonlarda kullanıldığında bakterisidal olabilmektedir (Verbist, 1990).

Fusidik asit, *Corynebacterium*, *Nocardia*, anaeroblar ve *Neisseria* türlerini içeren bir spektruma sahiptir, ancak genellikle antistafilokokal ajan olarak, MRSA enfeksiyonu ve kolonizasyonunun sistemik tedavisinde, deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarının topikal tedavisi ile atopik dermatitin topikal tedavisinde kullanılmaktadır (Dobie ve Grey, 2004; Collignon ve Turnidge, 1999). Fusidik asit, sağlam ve zedelenmiş deriye penetre olabildiği için tedavide avantaj sağlamaktadır. Ayrıca piyodermi ve impetigo ile nazal taşıyıcılık eradikasyonunda da kullanılan önemli bir antibiyotiktir (O'Donnel ve Tunkel, 2005). Fusidik aside direnç oranlarında artış saptanmaktadır. Derin doku enfeksiyonları ve MRSA kontrolü gibi önemli endikasyonlarda fusidik asit etkisiz kalmaktadır. Ülkemizde yapılan birçok çalışmada fusidik asidin direnç oranları %10'nun altında bulunmuştur. Direnç gelişiminin azaltılması için bölgesel duyarlılık oranlarının yakından takip edilerek

fusidik asit kullanımının ayakta hastalar için sınırlandırılması önerilmektedir (Dobie ve Grey, 2004; Yaman ve ark., 2010).

Mupirosin

Pseudomonas fluorescens'ten 1971 yılında üretilen mupirosin (pseudomonik asit A), Gram pozitif bakteriler ve özellikle *Staphylococcus aureus*'un neden olduğu yüzeysel enfeksiyonların tedavisinde topikal bir ajan olarak kullanılmaktadır. Mupirosin, izolözil-tRNA sentetaz inhibisyonu yoluyla bakteriyel protein sentezini önleyerek etki göstermektedir. Oral ve parenteral uygulandığında iyi absorbe olmakla birlikte metabolik yıkımının hızlı olması nedeniyle topikal kullanımı tercih edilmektedir (Hurdle ve ark., 2005).

Nazal taşıyıcılık kontrolü, yüzeysel stafilokok enfeksiyonları ve impetigo tedavisinde ilk tercih edilen antibiyotiklerden biridir. Klinik kullanıma 1985 yılında girmesinden iki yıl sonra ilk dirençli olgu bildirilmiştir. Türkiye'de ise 1991 yılında kullanıma girmiştir (Park ve ark, 2006; Gündüz ve ark. 2005). Tedavi veya profilaktik amaçla kullanılan mupirosine direnç gelişimini engellemek için antimikrobiyal duyarlılık testinin yapılması ve sonuçlar dikkate alınarak tedavi uygulanması gerekmektedir (Vardar-Ünlü ve ark., 2006).

Eritromisin

Makrolid grubu antibiyotiklerin ilk üyesidir. Eritromisin, *Streptomyces erythraeus*'tan üretilen doğal bir makroliddir. 1952 yılında kullanıma girmiş ve direnç gelişimi arttıkça yeni türevleri üretilmiştir (Haight ve Finland, 1952; Sivapalasingam ve Steigbigel, 2005). Eritromisin bakteriyostatik olup, protein sentezini inhibe etmektedir. Duyarlı organizmaların 50S ribozomal alt birimindeki 23S rRNA'ya reversible bağlanarak polipeptid zincir elangasyonunun translokasyonunu bloke etmektedir. Eritromisin topikal, parenteral ve oral kullanılmaktadır. Oral kullanım sonrası eritromisin mide asidi ile hızla inaktif olabilmektedir. İntravenöz kullanımda daha yüksek konsantrasyonlara ulaşabilmektedir. Eritromisin dokulara dağılımı mükemmeldir ve serum konsantrasyonunun 10-100 katına ulaşabilmektedir (Köksal, 2009).

Eritromisin, Gram pozitif ve bazı Gram negatif bakteriler, anaeroplara, mikoplazmalar, treponemalar, ve riketsiyalara etkili olan nispeten geniş spektrumlu bir antibiyotiktir ve stafilokoklar ve *Streptococcus pneumoniae*'da dahil olmak üzere streptokoklara iyi etki göstermektedir. Sifiliz ve gonore tedavilerinde penisiline alerjisi olan hastalarda eritromisin kullanılmaktadır. Eritromisinin yan etki insidansı nispeten düşüktür. Ancak günümüzde eritromisinin yüksek oranda kullanılmasına bağlı olarak özellikle MRSA ve MSSA kökenleri için yüksek direnç oranları bildirilmektedir (Köksal, 2009; Yüksekaya ve ark, 2017).

Klindamisin

Klindamisin, *Streptomyces lincolnensis*'ten elde edilen linkomisin kimyasal modifikasyonu ile elde edilmiştir. Klindamisin oral, parenteral ve topikal olarak kullanılabilir (McGehee ve ark., 1968). Bu antibiyotik 50S ribozomal alt birime bağlanarak peptid zincirinin uzamasını engellemekte ve protein sentezini baskılamaktadır. Klindamisin, ilaç konsantrasyonu, bakteri türü ve bakteri yoğunluğuna bağlı olarak bakteriyostatik veya bakterisidal olabilir (Leclercq, 2002).

Oral kullanım dozunun yaklaşık %90'ı bağırsaklardan geri emilmekte ve gıdalardan etkilenmemektedir. Kemik, akciğer, plevral sıvı ve safraya iyi dağılmakta fakat menenjit olgularında BOS'a iyi penetre olamamaktadır (Leigh, 1981). Klindamisin en sık kullanılan topikal antibiyotiktir. Toplum kökenli MRSA enfeksiyonlarında, karbonkül ve fronkül, erizipel, selülit, nekrotizan fasit (kombine), klostriyal miyonekroz, piyomiyozit ve *Acne vulgaris*'te sıklıkla tercih edilmektedir (Tan, 2004). Penisilin alerjisi olanlarda penisiline alternatif olarak kullanılmaktadır (Stevens ve ark., 2005). Klindamisin, metisilin duyarlı stafilokoklar, *Streptococcus pneumoniae*, grup A ve viridans streptokoklara karşı etkilidir (Leigh, 1981). Enterokoklar ve tüm *Enterobacteriaceae*'ler klindamisine dirençlidir. *Bacteriodes fragilis* grup üyeleri ve *Clostridium perfringens* dahil anaeroplara en etkili antibiyotiktir (Leigh, 1981). Sık tercih edilen bir antibiyotik olmasından dolayı direnç oranlarında artış görülmektedir. Özellikle MRSA kökenlerinde direnç oranı %50'nin üzerinde bulunmaktadır (Yaman ve ark., 2017).

2.5. Antibiyotik Direnci

Antibiyotik terimi genel olarak doğada bulunan ve bazı mikroorganizmaların üremesini durduran maddeler anlamına gelmektedir. Uzunca bir süredir insanlığa büyük faydaları olan bir ilaç grubudur. Antibiyotik terimi ilk kez Waksman ve Woodruff (1941) tarafından kullanılmıştır. Ancak antibiyotik çağının kapıları 1928 yılında Sir Alex Flemming'in *Penicillium notatum* küfünün bakterileri öldürdüğünü bulmasıyla açılmış, 1948 yılında penisilinin ilaç olarak kullanıma başlanmasıyla da antibiyotiklerin altın çağı başlamıştır (Llarrull ve ark., 2010). 1950-1970 yıllarında birçok antibiyotik keşfedilmiş ve kullanılmaya başlanmıştır. Ancak 1980'li yılların sonuna gelindiğinde geliştirilen yeni antimikrobiyal maddelerin sayısı oldukça azalmaya başlamıştır. Bu durumun meydana gelmesindeki en büyük etkenler, onaylanan her antibiyotiğin ilaç şirketleri için yüksek araştırma-geliştirme maliyeti getirmesi, enfeksiyonların kısa süreli tedavi gerektirmesine karşın, kronik hastalıkların tedavisinin yaşam boyu sürebilmesi, yeni ajanlara rakip olabilecek ve ruhsatlandırılmış durumda çok sayıda antibiyotik olması ve direnç gelişmesi kaygısıyla yeni geliştirilmiş geniş spektrumlu ajanların ilk seçenek olarak kullanılmalarının önlenmesi şeklinde sayılabilir (IOM, 2010).

Diğer taraftan en önemli sorun giderek artan antibiyotik direncidir ve bunun en büyük nedeninin aşırı ve gereksiz antibiyotik kullanımı olduğu düşünülmektedir. Doğada bile mantarlar ile bakteriler arasındaki ilişki incelendiğinde mantarların savunma mekanizması olarak kullandıkları antibiyotik özellikteki maddeleri düşük konsantrasyonlarda ürettikleri görülmektedir. Ancak içinde bulunduğumuz zaman diliminde antibiyotikler tıptaki kullanımından daha fazla miktarda tarımda ve hayvancılık sektöründe kullanılmaktadır (Davey ve ark., 2013; Hollis ve Ahmad, 2013). Örneğin ABD'de hayvancılık sektöründe kullanılan antibiyotik miktarı günlük 51 tondur. Bu şekilde hayvanların dışkıları ile çevreye yayılan dirençli *Clostridium* kökenlerinde artış görülmektedir (SAGACMPVU, 2009).

Tıp alanında da aşırı miktarda antibiyotik kullanımı direnç gelişimini artırmaktadır. Ortamda ne kadar fazla miktarda antibiyotik varsa, dirençli bakterilerin bakteri popülasyonunda egemen hale gelmesi de paralel şekilde artmaktadır. Bu nedenledir ki özellikle yoğun bakım ünitelerinde ve yanık ünitelerinde nazokomiyal enfeksiyonlara neden olan bakterilerde direnç oranı yüksek bulunmaktadır. Bakteriler

aşırı antibiyotik kullanımına bağlı olarak, PBP modifikasyonu, GSBL üretimi, *efflux* (dışa atım) pompaları gibi çeşitli savunma mekanizmaları geliştirmektedir. En son geliştirilen antibiyotikler arasında olan karbapenem grubuna karşı da bakteriler tarafından karbapenemaz enzimleri üretilmeye başlanmıştır (Gündem ve ark., 2013).

Tek bir antibiyotiğe karşı direnç gelişmesi tek bir antibiyotik sınıfının hatta bazen birden fazla antibiyotik sınıfının etkisiz kalmasına neden olmaktadır (ECDC/EMA, 2009). Antibiyotik direnci intrinsek (doğal) ya da sonradan kazanılmış olabilmektedir ve mekanizmalarına göre farklı kategorilere ayrılmaktadır.

Bakteriler antibiyotiklerin yapısını bozan ya da değiştiren enzimler üretmektedir. Örneğin, bakterilerin ürettiği beta laktamaz enzimlerinin penisilinleri ve diğer beta laktam antibiyotikleri parçalayarak etkisiz kılması gibi.

Antibiyotiğin hedef bölgesinde meydana gelen modifikasyon sonucu, ilgili antibiyotik etkisiz bir bölgeye bağlanabilmektedir. Örneğin, MRSA'da penisilin bağlayan protein hedef bölgesinin modifikasyonu gibi.

Az miktar bulunan bazı antibiyotikler hücreden çıkarılabilmekte ya da dışa pompalanabilmektedir. Örneğin, *Pseudomonas spp.* de olduğu gibi.

Antibiyotiğe karşı dirençli olan farklı bir hedef bölge bakteri tarafından üretilmektedir. Örneğin Trimetoprim dirençli *E. coli*'de hedef enzimin aşırı miktarda üretilmesi gibi (Huovinen, 2001; Sheldon, 2005).

Gram negatif bakterilerde hücrede oluşan toksinlerin dışarı atılmasını sağlayan dışa atım pompaları doğal bir direnç mekanizması olarak çeşitli deterjanlara ve antibiyotiklere karşı direnç gelişiminde önemli rol oynamaktadır (Lehtinen ve Lilius., 2007; Ma ve ark., 1994; Nikaido, 2001).

Bütün bu nedenlerden dolayı günümüzde tüm antibiyotiklere dirençli bakteriler ortaya çıkmaya başlamış, “super bug” olarak adlandırılan ve kolistin dahil tüm antibiyotiklere dirençli olan bakterilerde söz konusu dirençten sorumlu gen, MCR-1 olarak saptanmış ve ilk olarak Kasım 2015'te Çin'den bildirilmiştir. Bunun üzerine CDC, ABD'de MCR-1 geni taşıyan bakterileri araştırmaya başlamış, Çin'den

bildirilen vakadan altı ay sonra Amerika'nın Pensilvanya eyaletinde MCR-1 geni taşıyan ilk bakteri tespit edilmiştir (CDC, 2017).

2.6. Bakteriler

2.6.1. *Staphylococcus aureus*

Micrococcaceae familyasına ait olan ve doğada çok yaygın olarak bulunan bu bakteriler insan ve hayvanlar için patojen olabilir (Kilpper ve ark.,1980). Bu cinsin üyeleri 0,5-1,5µm çapında, düzensiz kümeler ve üzüm salkımı oluşturan Gram pozitif kok görünümündedir. Sporsuz, hareketsiz, genellikle kapsülsüz, katalaz pozitif ve fakültatif anaerobik bakterilerdir. Optimal üreme sıcaklığı 30-37°C ve pH'sı 7,4 dür. Önemli bir patojen olan *Staphylococcus aureus* türü diğer stafilokoklardan koagülaz pozitifliği ile ayrılır. Krem rengi, sarı-portakal rengi pigment oluşturan, düzgün, hafif kabarık olan *S. aureus* kolonileri kanlı agarda geniş hemoliz oluşturur. Isıya ve kuruluğa oldukça dayanıklıdırlar (Gümral, 2009).

Normal insanların, hastane çalışanlarının ve tedavi altında olan hastaların burun mukozasında yerleşebilen *S. aureus* en önemli nazokomiyal etkenlerindedir. Stafilokoklar fronkül, selülit ve impetigo gibi cilt ve yumuşak doku enfeksiyonları, kemik, eklem, kalp kapağı, dalak ve karaciğer, akciğer ve üriner sistem enfeksiyonları gibi derin enfeksiyonlara neden olur. Toksine bağlı olarak besin zehirlenmesi, haşlanmış deri sendromu ve toksik şok sendromu görülebilir (Gümral, 2009).

Stafilokok enfeksiyonlarında tedavi, antibiyogram testi sonucuna göre uygun antibiyotik seçimi yapılarak yapılır. Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) kökenlerinin ortaya çıkması ile birlikte, çoklu antibiyotik direncine sahip bu bakteriler için vankomisin önerilmekteydi (CDC, 2004a). Günümüzde vankomisine dirençli kökenlerin de hızla artmasıyla tedavide yeni antibiyotiklerden daptomisin ve linezolid kullanılabilmektedir (Anstead ve Owens, 2004). Yüzeyel enfeksiyonların tedavisinde ve nazal taşınmanın önlenmesinde topikal bir ajan olarak kullanılan mupirosine karşı da dirençli kökenlerin artmakta olduğu bildirilmektedir.

2.6.2. *Enterococcus faecalis* ve *Enterococcus faecium*

Enterokoklar uzun yıllar *Streptococcus* cinsi içinde kabul edilmiş, ancak kimyasal ve fiziksel ajanlara dirençli olmaları ile *Streptococcus* cinsinden ayrılmış ve yeni cins olarak tanımlanmıştır. Gram pozitif tekli, ikili ya da kısa zincirli koklardan oluşan *Enterococcus* cinsi bakteriler, katalaz negatif, L-pirolidonil- β -naftilamid (PYN) pozitif, fakültatif anaerop, glikozdan laktik asit üretimi pozitif, gaz oluşturmayıp, optimal üreme sıcaklığı 10°C ile 45°C arasındadır (Akan, 2009).

İnsan ve hayvanlarda gastrointestinal sistem (GİS) florasının üyesi olan enterokoklar, günümüzde daha çok altta yatan önemli bir hastalığı olan yaşlılarda, uzun süreli hastanede yatan, ya da tedavilerinde geniş spektrumlu antibiyotiklerin aşırı kullanıldığı immün zorluklu hastalarda önemli hastane enfeksiyonu etkeni olarak saptanmaktadır. Bu enfeksiyonların çoğundan *Enterococcus faecalis* ve *Enterococcus faecium* türleri sorumludur. Enterokoklar nozokomiyal, üriner sistem ve yara enfeksiyonları, bakteriyemi, endokardit, intraabdominal ve pelvik enfeksiyonları etkeni olarak soyutlanmaktadır (Başustaoğlu ve Aydoğan, 2002). Ayrıca, solunum yolları enfeksiyonu, otit, sinüzit, septik artrit ve endoftalmi de nadir olarak görülür (Hancock ve Gilmore, 2000).

Aminoglikozid antibiyotiklere intrensek dirence sahip olan Enterokoklar, plazmid ve transpozon aracılığı ile tetrasiklinlere, makrolidlere, kloramfenikole, aminoglikozidlere (yüksek düzeyde), glikopeptidlerden vankomisin ve teikoplanine direnç kazanabilir. İntrensek direnç yanında, kazanılmış direnç genlerinin de aynı bakteride bulunabilmesi, ciddi enfeksiyonların tedavisinde zorluklara neden olmaktadır. Aminoglikozid antibiyotikler, beta-laktam antibiyotik ya da vankomisin gibi hücre duvar sentezini engelleyen bir antibiyotikle kombine edilecek olursa, sinerjik etki gösterir. Penisilinler hücre duvar sentezini engeller ve hasarlanan hücre duvarından aminoglikozid antibiyotiklerin daha kolay geçmesine neden olur. Klinik olarak ilk kez 1988 yılında tanımlanan; ardından hızla dünyaya yayılan; ülkemizde ise ilk kez 1998 yılında bildirilen vankomisine dirençli enterokok (VRE) kökenleri, günümüzde tüm hastanelerin sorunu haline gelmiştir. Özellikle VRE'ler, diğer birçok antibiyotiğe de dirençli olmaları nedeniyle, hastane ortamında kolayca çoğalıp yayılarak yatan hastalarda ciddi morbidite ve mortalite nedeni olabilmektedir. Glikopeptid direnci, *E. faecalis*'e oranla *E. faecium*'da daha fazladır (Simonsen ve

ark, 2003). Vankomisine bağımlı (Tambyah ve ark., 2004) ve vankomisine heteroresistant (Alam ve ark., 2001) türlerin, klinik olarak önemli enfeksiyonlardan az da olsa soyutlanmaya başlanması, enterokok enfeksiyonlarının tedavi ve kontrolünde yeni zorluklar oluşturmaktadır.

2.6.3. *Listeria monocytogenes*

Listeria monocytogenes, *Clostridium* alt bölümünde ve *Listeria* cinsi içinde yer alan altı türden biridir. *Listeria* cinsi üyeleri sporsuz, dallanmayan, düzgün, kısa (0,5-2 ve 0,4-0,5µm), tek tek ya da zincirler halinde görülen Gram pozitif basillerdir. Bakteri 28°C'de hareketli iken, 37°C'de hareketi zayıflar. Optimal üreme sıcaklığı 30-37°C olmasına rağmen 4°C'de birkaç günde üreyebilir. *Listeria* türleri fakültatif anaeroptur. Voges-Proskauer ve metilen kırmızısı testleri pozitif iken, üre, jelatin hidrolizi, indol ve H₂S oluşumu negatiftir (Gültekin, 2009).

Tüm dünyada yaygın olarak bulunan *L. monocytogenes*, yiyeceklere geçebilme ve 4°C'de üreyebilmesi ile kolonize olduğu gıdaları soğutucuda uzun süre bekleterek tüketen insanlarda hastalığa neden olur (Rocourt ve Cossart, 1997). Gebe olmayan erişkinlerde özellikle menenjit, ensefalit ve septisemiye yol açarken, gebelerde plesantayı geçebildiği için plasentit ve fetüs enfeksiyonu ile abortus ve ölü doğum veya erken doğuma yol açabilir (Lecuit ve ark., 2004). Ayrıca *Listeria monocytogenes* nadirde olsa yara enfeksiyonlarından soyutlanabilir (Tilton ve Ebrom, 1982).

Listeryoz tedavisinde genellikle penisilin veya ampisilin ve/veya bir aminoglikozid önerilmektedir. Trimetoprim-sulfametaksazol ve aminoglikozidler *L. monocytogenes*'e karşı bakterisit etkilidir. Klinik örneklerden soyutlanan bazı *L. monocytogenes* kökenlerinde kloromfenikol, makrolidler, ve tetrasikline direnç plazmidlerinin bulunduğu bildirilmiştir (Hadorn ve ark., 1993; Evirgen, 2005).

2.6.4. *Escherichia coli*

Escherichia cinsi *Enterobacteriaceae* ailesinde yer alan hareketli ve hareketsiz bakterilerden oluşmaktadır. Cins içindeki tipik tür *Escherichia coli*'dir. *E.*

coli, EMB ve MacConkey agarda iyi üreyen Gram negatif bir basil olup, D-glikozu fermente ederek genellikle gaz üretir (Levent, 2009).

Sağlıklı bireylerin barsak florasında bulunmakla birlikte, *E. coli*'nin bazı patojenik kökenleri, immün düşkün bireylerde olduğu kadar sağlıklı bireylerde de idrar yolu enfeksiyonları, bakteriyemi, menenjit ve ishaller gibi barsak dışı ve barsak enfeksiyonlarına neden olabilmektedir (Kaper ve ark., 2004). Bunların yanında yara enfeksiyonlarından en sık soyutlanan Gram negatif bakterilerin başında gelmektedir (Doğan ve ark., 2010). Tanımlanmış beş diyarejenik *E. coli* kategorisi bulunmaktadır: i) Shiga-toksin üreten *E. coli* (STEC), aynı zamanda enterohemorajik *E.coli* (EHEC) olarak ta bilinir, ii) enterotoksijenik *E. coli* (ETEC), iii) enteropatojenik *E. coli* (EPEC), iv) enteroagregatif *E. coli* (EAEC) ve v) enteroinvaziv *E. coli* (EIEC) (Kaper ve ark., 2004).

Uygun antibiyotik seçimi, ETEC enfeksiyonunun süresini ve semptomlarını azaltır. Antimikrobiyal direnç özellikle tetrasiklin direnci ETEC kökenlerinde yaygındır (Dalton ve ark., 1999). Antibiyotik tedavisi EPEC'in neden olduğu ishallerde faydalı olabilir. Bazı EPEC kökenleri çoklu ilaç direncine sahiptir (Donenberg, 2002). EAEC kökenleri genellikle florokinolonlara duyarlı olduğu halde çoğu antibiyotiğe dirençlidir (Glandt ve ark., 1999). Üriner sistem enfeksiyonlarından sıklıkla soyutlanan *E. coli* kökenlerinde ise, son yıllarda düşük direnç oranı ile fosfomisin ilk tercih haline gelmiştir (Özel ve Vardar Ünlü, 2015).

2.6.5. *Klebsiella pneumoniae*

Klebsiella pneumoniae türü *Enterobacteriaceae* familyası içinde yer almakta ve genel özelliklerini taşımaktadır. *K. pneumoniae*, aerop ve fakültatif anaerob ortamlarda 37°C ve pH 7'de iyi üreyebilen, oksidaz negatif, hareketsiz, sporsuz, genellikle kapsüllü, Gram negatif bir basildir (Unat, 1986).

İnsanlarda üst solunum yolu ve dışkı florasında bulunabilen bu bakteriler fırsatçı patojen olarak hastane enfeksiyonlarına neden olabilir (Balıkcı ve Keskin, 2011). *K. pneumoniae*'nin neden olduğu lobar pnömoni, alkoliklerde, diyabetiklerde, kronik obstrüktif akciğer hastalığı olanlarda genellikle üst solunum yollarına yerleşmiş bakterilerin aspirasyonu neticesinde meydana gelmektedir. *K. pneumoniae*

ile idrar yolu ve cerrahi yara enfeksiyonları ve bakteriyemi olguları, diğer Gram negatif bakterilerle oluşan enfeksiyonlardaki klinik belirtilere benzer seyreder. *K. pneumoniae* ile menenjit, safra kesesi enfeksiyonu, çeşitli organlarda abse oluşumu gibi enfeksiyonlar da meydana gelebilir (Töreci, 2002; Akalın, 2003).

β -laktam antibiyotiklere dirençten sorumlu genişlemiş spektrumlu β -laktamaz (GSBL), sefalosporinaz ve karbapenemaz üreten kökenlerin sayısı ve artan kinolon direnci *Enterobacteriaceae* üyeleri ile ilgili başlıca sorunlardır (ASCP, 1997). Özellikle son yıllarda görülen *K. pneumoniae* karbapenemaz enzimlerine bağlı olarak gelişen karbapenem direnci ciddi boyutlara ulaşmıştır (Quenaan ve Bush, 2007).

2.6.6. *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas cinsi, klinik ve çevresel açılardan dikkate alınması gereken pek çok tür içeren, büyük ve kompleks bir Gram negatif bakteri grubudur. İlk kez Migula (Migula, 1894) tarafından tanımlanan ve *Proteobacteria*' ların gama alt sınıfında yer alan (De Vos ve De Ley, 1983) *Pseudomonas* türleri aerop, sporsuz, düz veya hafif kıvrımlı, 0,5-1,0 ve 1,5-5,0 μ m boyutlarında, katalaz pozitif, oksidaz pozitif, Gram negatif çomaklardır (Holt ve ark., 1994).

Pseudomonas aeruginosa hidrofilik olup lavabolar, sebzeler, nehir suları, hatta antiseptik solüsyonlar gibi nemli ortamlarda kolayca üreyebilir. Nötropenik kanser hastaları, kemik iliği transplantasyonu olan hastalar, sık yüzen çocukların dış kulak yolları, mekanik ventilasyon hastalarının entübasyon tüpleri ve kistik fibrosis hastalarının solunum yolları, *P. aeruginosa* açısından risk altındadır (Şener, 2009). *P. aeruginosa* kökenleri, deride oluşan yanıklarda ve yaralarda en sık soyutlanan bakterilerden biridir (Demir ve Erandaç, 2001). Dış kulak yolu enfeksiyonlarında, kontakt lens kullanımına bağlı konjunktivitte, diyabetik hastalarda, eksternal otitte, yeni doğan sepsis ve menenjitinde, endokardit ve osteomyelitte, idrar yolu enfeksiyonlarında sıklıkla soyutlanır (Şener, 2009).

P. aeruginosa başlıca iki intrensek direnç mekanizmasına sahiptir. Biricisi, ampisilin, amoksisilin, amoksisilin-klavulanat, dar ve geniş spektrumlu seflosporinler, sefotaksim ve seftriaksona direnç sağlayan AmpC β -laktamazlar, ikincisi ise *efflux* pompa sistemleridir (Livermore, 2002). Ancak çeşitli antibiyotikler

intrensek direncin üstesinden gelebildiği için, *P. aeruginosa* enfeksiyonunda kullanılabilir. Bunlar; piperasilin, tikarsilin, seftazidim, sefepim, imipenem, meropenem, siprofloksasin, levofloksasin, gentamisin, tetrasiklin, amikasin ve kolistindir (Şener, 2009).

2.6.7. *Salmonella* Typhimurium

Salmonella cinsi, *Enterobacteriaceae* ailesi içinde yer alır ve *Salmonella enterica* ve *Salmonella bongori* olmak üzere iki türden oluşur. *S. enterica* da altı alt tür içerir ve *Salmonella* serotip Typhimurium gibi alt türlerin serotiplendirilmesi, bakterinin üç yüzey yapısının (O, H, Vi antijenleri) immünolojik karakterizasyonuna dayanmaktadır. *Salmonella* türleri, metilen kırmızısı pozitif, Voges-Proskauer negatif, üre negatif, büyük çoğunluğu H₂S pozitif, hareketli, glikozdan asit üreten, laktoz negatif, oksidaz negatif Gram negatif basillerdir (Aktepe, 2009).

Salmonella kökenleri, ilişkili oldukları hastalığa uygun olarak tifo ve tifo dışı olmak üzere ayrılmaktadır. Tifo dışı *Salmonella* kökenleri bir hafta veya daha uzun süren barsak enfeksiyonuna neden olur (Hohman, 2001). İmmün zorluklu bireylerde ise, daha az olarak bakteriyemi, üriner sistem enfeksiyonu veya osteomyelite neden olur. Salmonelloz, hayvanlarla direk temas, hayvansal gıdalar ve sularla ilişkilidir. Tifo etkeni *Salmonella* serotip Typhi' dir. Tüm dünyada yaygın olan, vücutta kan ve lenfatik yolla yayılan ciddi bir barsak enfeksiyonudur (Mead ve ark., 1999). Ancak son yıllarda bağırsak dışı (BOS, kan, idrar, serviks, yara ve abse) *Salmonella* enfeksiyonlarından artış görülmüştür (Abbott ve ark., 2012; Sfeir ve ark., 2013).

Tifoda tedavi edilmeyen vakaların mortalite oranı %10'nun üzerindedir. Çoklu ilaç direnci, tifo dışı *Salmonella* serotiplerinde dikkat çekmektedir (Levent, 2009). *Salmonella* serotip Typhimurium faj tip DT104 kökeni ampisilin, kloromfenikol, streptomisin, sülfonamid ve tetrasikline dirençlidir ve tüm dünyada tanınmaktadır. ABD'de soyutlanan *Salmonella* serotip Typhimurium kökenlerinin %21'i bu direnç profiline sahiptir (CDC, 2004b).

2.6.8. *Stenotrophomonas maltophilia*

Önceleri *Pseudomonas maltophilia* olarak bilinen ve çeşitli genotipik ve fenotipik özelliklerine göre *Xanthomonas* cinsine alınan ancak flagella sayısı, nitrat indirgeme özellikleri ve fibrinasyon tiplerinde bir çok farklılık sonucu yeni bir cins olan *Stenotrophomonas* içinde sınıflandırılan *Stenotrophomonas maltophilia* (Palleroni ve Bradbury, 1993), aerobik, spor oluşturmeyen, düz, 0,7-1,8 ile 0,4-0,7µm boyutunda, hareketli, katalaz pozitif, oksidaz negatif, optimum üreme sıcaklığı 30-37°C olan Gram negatif bir basildir (Holt ve ark., 1994).

S. maltophilia sık rastlanan fırsatçı bir patojendir. Tarımsal makineler gibi çeşitli araçlarla travma sonrası deride gelişen yara enfeksiyonlarından soyutlanan bir türdür. Yoğun bakım ünitelerinde solunum cihazına bağlı ve immün zorluklu hastalarda yüksek morbidite ve mortaliteye neden olan önemli bir nozokomiyal patojen olup, bakteriyemi, pnömoni, üriner sistem enfeksiyonu, oküler enfeksiyon, endokardit, menenjit, yumuşak doku ve yara enfeksiyonu, epididimit, kolanjit ve peritonit oluşturabilmektedir (Denton ve Kerr, 1998).

S. maltophilia birçok antibiyotiğe intrinsek direnç gösterir. Enfeksiyon süresince de direnç gelişebilir. İki farklı β-laktamaz enzimine sahip olduklarından β-laktam antibiyotiklere dirençlidirler (Emektaş, 2009). Trimetoprim-sulfametoksazol genellikle en etkili ajandır. Bunun yanında tikarsilin klavulanat, minosiklin veya piperasilin tazobaktam ile kombine edilerek kullanılır. Siprofloksasin+piperasilin tazobaktam, siprofloksasin+tikarsilin klavulanat ve doksisisiklin+tikarsilin klavulanat kombinasyonlarının tedavide etkili olduğu bildirilmiştir (San Gabriel ve ark., 2004).

2.6.9. *Acinetobacter lwoffii*

Bu cins, önceleri *Neisseriaceae* ailesinde iken günümüzde *Moraxellaceae* ailesinde yer almaktadır. *Acinetobacter* cinsi, zorunlu aerop, oksidaz negatif, hareketsiz, nitrat negatif, nonfermantatif, 1-1,5 ile 1,5-2,5µm boyutlarında, Gram negatif koko-basil görünümündedir (Zarakolu, 2009). Glikozu okside eden, hemolitik olmayan kökenlerin birçoğu *Acinetobacter baumannii*, glikozu okside etmeyen, hemolitik olmayan kökenler ise *Acinetobacter lwoffii* olarak tanımlanmıştır (Rossau ve ark., 1991).

Acinetobacter türleri, doğada ve hastane ortamında yaygın olarak bulunmaktadır. İnsan örneklerinde *P. aeruginosa*'dan sonra ikinci en sık soyutlanan nonfermantatif bakteri grubudur. Bu türün sağlıklı insanlarda patojen olmadığı, immün zorluklu kişilerde enfeksiyona neden olabileceği düşünülmektedir (Getchell-White ve ark., 1989). Hastane kaynaklı enfeksiyonlar, endotrekeal tüp veya trakeostomilere bağlı olarak solunum sistemi, üriner sistem ve yara yerini tutmakta ve septisemiye kadar ilerlemektedir (Bergogne-Berezin ve Towner, 1996). *A. lwoffii* diğer *Acinetobacter* türlerine göre menenjit ile daha sık ilişkilidir (Siegman-Igra ve ark., 1993).

Trimetoptim sulfametoksazol, imipenem, ampisilin sulbaktam, tikarsilin klavulonat, doksisisiklin ve kinolonlar, *Acinetobacter* cinsinin bir çok türüne karşı etkilidir (Siegman-Igra ve ark., 1993). Hastane salgınlarında karbapenem dahil çoklu dirençli türler bildirilmektedir. Aminoglikozid ve tikarsilin veya piperasilin kombine tedavisi sinerjik etkilidir ve ciddi enfeksiyonlarda kullanılmaktadır. Ayrıca sefeperozon ile sulbaktam kombinasyonu da tedavide etkili bulunmuştur. Çoklu ilaç direnci gösteren kökenlerde diğer bir etkili antibiyotik ise kolistindir (Zarakolu, 2009).

2.7. Antimikrobiyal Aktivite

Antibiyotiklerin test edilmesinde kullanılan antimikrobiyal duyarlılık testleri, (NCCLS, 2005'ten sonra CLSI adını almıştır) uçucu yağların antibakteriyel etkilerinin test edilmesi için bazı değişiklikler yapılarak uygulanmıştır (Hammer ve ark., 1999; NCCLS, 2000a). Uçucu yağların antimikrobiyal etkinliğini araştıran çalışmalarda, tam olarak standardize edilmemiş yöntemlerin kullanılması sonuçların kıyaslanmasında sorunlara yol açmaktadır. Uçucu yağın bitki materyalinden çıkarılması için kullanılan yöntem, uçucu yağ için kullanılan çözücü madde, yöntem seçimi (agar disk difüzyon, agar kuyucuk difüzyon, mikrodilüsyon yöntemleri), bakteri inokulum hacmi, kullanılan kültür ortamı, ortamın pH'sı ve inkübasyon süresi ve sıcaklığı gibi faktörler, test sonuçlarını etkilediği için (Rios ve ark., 1988), yayınlanan verilerin karşılaştırılması zorlaşmaktadır (Janssen ve ark., 1987; Friedman ve ark., 2002).

2.7.1. Disk Difüzyon Yöntemi

Disk difüzyon yöntemi, antibakteriyel duyarlılık testinde en eski yaklaşımlardan biri olup yaygın olarak kullanılmaktadır. Güç üreyen ancak sık rastlanan bakteriler de dahil bakteriyel patojenlerin çoğunu test etmeye uygundur. Ayrıca, birçok antibakteriyel ajanın eş zamanlı test edilmesi sağlar ve özel bir donanıma gerek yoktur. Testin prensibi antibakteriyel madde emdirilmiş disklerin etrafında bakteri üremesinin inhibe olmasıyla oluşan zon çapının ölçülmesine dayanır (CLSI, 2014).

2.7.2. Mikrodilüsyon Yöntemi

Dilüsyon yöntemleri antibiyotiklerin minimum inhibisyon konsantrasyonlarını (MİK) saptamak için kullanılmaktadır ve antibiyotik duyarlılık testlerinde referans testlerdir. Tanımlanmış bir süre içinde bir mikroorganizmanın gözle görülebilen üremesini engelleyen en düşük antibiyotik konsantrasyonu MİK olarak tanımlanmaktadır. Sıvı mikrodilüsyon ise sıvı dilüsyon testinin mikrodilüsyon plakalarında yapıldığı şeklidir. Bu yöntem “mikrodilüsyon” adının verilmesinin nedeni, besiyerlerinin küçük hacimlerde U tabanlı 96 kuyucuklu steril plastik mikropalakalara dağıtılmasıdır. Testin prensibi ise antimikrobik ilaçların MİK değerlerinin tespit edilmesine dayanmaktadır. MİK değeri bakterilerin mikrodilüsyon kuyucuklarındaki üremesini tamamen inhibe eden ve çıplak gözle belirlenebilen en düşük antimikrobik ilaç konsantrasyonudur. Minimum bakterisidal konsantrasyon (MBK) değeri ise test edilen bakterinin %99.9’unu öldüren en küçük antimikrobik ilaç konsantrasyonunun belirlenmesine dayanmaktadır. Bu amaçla mikrodilüsyon plakalarında üreme olmayan kuyucuklardan katı besiyerine pasajlama yapılır. İnkübasyonun ardından katı besiyerinde bakteri üremesinin olmadığı en düşük konsantrasyon MBK değeri olarak belirlenir (Koneman, 1997).

2.7.3. Checkerboard Yöntemi

Antimikrobiyaller arasındaki sinerjik etkileşimi belirlemede kullanılan en yaygın yöntem *Checkerboard* (dama tahtası) yöntemidir. 96 kuyucuklu “U” tabanlı 2 adet mikropalaka kullanarak uygulanan bu yöntemde, birinci antibakteriyel madde

MİK değerinin 2-3 sulandırım üstünden başlayıp 5-6 sulandırım altına kadar, birinci mikroplakada dikey düzlemde yukarıdan aşağıya doğru dilüe edilirken, ikinci antibakteriyel madde ise MİK değerinin 2-3 sulandırım üstünden 5-6 sulandırım altına kadar, ikinci mikroplakada yatay düzlemde sağdan sola doğru dilüe edilir. İkinci mikroplakada yapılan dilüsyonlar, diğer mikroplakaya birebir aynı kuyucuğa olmak üzere 50µl aktarılır. Böylelikle her kuyucukta her iki antibakteriyel maddenin farklı kombinasyonları elde edilir (Eliopoulos ve Moellering, 1996). Bakteri süspansiyonları CLSI kriterlerine göre hazırlanarak her bir kuyucuğa eklendikten sonra 37°C’de 18 saat inkübasyona bırakılır ve her iki antibakteriyel maddenin ve bu maddelerin kombinasyonlarındaki MİK değerleri saptanır (Şekil. 2.1).

Checkerboard testinin sonuçları, iki antibakteriyel maddenin fraksiyonel inhibisyon konsantrasyon indeksi (FİKİ) hesaplanarak yorumlanır. FİKİ değeri aşağıdaki formül kullanılarak belirlenmektedir. Hesaplanan en küçük FİKİ değeri baz alınır. Hesaplanan FİKİ değerinin yorumu Tablo 2.3.’deki sınır değerlere göre yapılmaktadır (Li ve ark., 2013).

$$FİKİ = FİK A + FİK B$$

$$FİKİ = \frac{\text{Kombinasyondaki A MİK}}{MİK_A} + \frac{\text{Kombinasyondaki B MİK}}{MİK_B}$$

MİK_A: A maddesinin tek başına denenen kökene karşı saptanan MİK değeri

MİK_B: B maddesinin tek başına denenen kökene karşı saptanan MİK değeri

Birinci antibakteriyel	A8						
	A7						
	A6						
	A5 MİK A	FİKİ 1					
	A4		FİKİ 2				
	A3			FİKİ 3			
	A2				FİKİ 4		
	A1/B1	B2	B3	B4	B5 MİK B	B6	B7
İkinci antibakteriyel							

Şekil 2.1. FİKİ değerlerinin hesaplanacağı kuyucuklar (FİKİ 1,2,3,4)

FİK değerlerinin örnek olarak hesaplanması;

$$\text{FİKİ 1: } (A5/A5) + (B2/B5)$$

$$\text{FİKİ 2: } (A4/A5) + (B3/B5)$$

$$\text{FİKİ 3: } (A3/A5) + (B4/B5)$$

$$\text{FİKİ 4: } (A2/A5) + (B5/B5)$$

Tablo 2.3. FİKİ değerlendirme ölçütleri

Sınır Değerler	Etkileşim
≤0,50	Sinerji
>0,50-0,75	Kısmi sinerji
>0,75-1,00	Aditif etki
>1,00-4,00	Indifferent
>4,00	Antagonizma

Checkerboard testinin değerlendirilmesi aşağıdaki tanımlarla yapılmaktadır;

Sinerji

Sinerji kelimesi “birlikte çalışmak” anlamına gelen iki yunanca sözcükten gelmektedir. Sinerji pozitif bir ilişkidir. Maddelerin ayrı olarak test edildiklerinde elde edilen etkilerin toplamından daha büyük bir etkinlik oluşmasıdır (Anderson ve ark., 1978).

Kısmi sinerji/Additif etki

İki maddenin kombinasyonunda oluşturdukları etkinin ayrı ayrı etkilerinin toplamına eşit olduğu durumdur.

İndifferent

İki maddenin kombinasyonundan elde edilen sonuç, bunlardan en etkin olan maddenin sonucundan farksız olmadığında etkisiz durum kabul edilmektedir (Eliopoulos ve Moellering, 1996).

Antagonizma

Negatif bir ilişki olup, maddeler ayrı olarak test edildiklerinde oluşan etkilerin toplamından belirgin şekilde daha düşük bir etkinlik elde edilmektedir (Ayanoğlu, 1987).

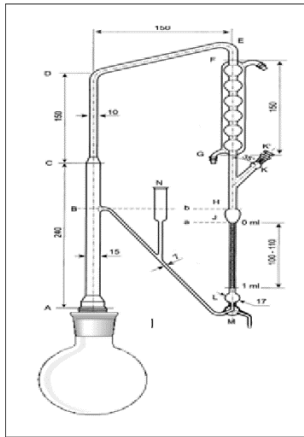
3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. *Cinnamomum zeylanicum* ve Bileşenleri

Çalışma kapsamında kullandığımız *C. zeylanicum* kabukları Balıkesir ili içerisinde bulunan bir baharatçıdan alınmıştır. CZUY'nın GC-MS analizi ile bileşenlerinin belirlenmesinin ardından aşağıdaki maddelerin saf ve analitik formları Sigma-Aldrich Co. LLC.'den temin edildi: Cinnamaldehyde (C80687), cinnamyl asetat (166170), coumarin (C4261), trans-caryophyllene (W225207), isoborneol (I13901), α -terpinene (223182), eucalyptol (C80601), d-limonene (183164), ve benzaldehide (B1334).

3.2. *Cinnamomum zeylanicum* Uçucu Yağının Eldesi

Uçucu yağ, *clevenger* aparatı kullanılarak su distilasyon yöntemiyle elde edildi (Şekil 3.1). *C. zeylanicum* kabukları küçük parçalara ayrılarak 100g olacak şekilde *clevenger*'in haznesine konuldu ve 200ml su ilave edildi. Dört saat süre ile çalıştırılan cihazın birikim haznesinde toplanan yağ steril kahverengi şişelere aktarıldı. 100g *C. zeylanicum* kabuğundan distilasyon işlemi sonunda yaklaşık olarak 1,04ml uçucu yağ elde edildi. Uçucu yağın suyunun alınması için susuz sodyum sülfat kullanıldı. Filtrasyon işlemi uygulandıktan sonra analiz edileceği zamana kadar +4°C'de saklandı (Linskens and Jackson, 1997).



Şekil 3.1. Clevenger cihazı

3.3. *Cinnamomum zeylanicum* Uçucu Yağının GC-MS Analizi

Uçucu yağın GC-MS analizi, Teknokroma TRB-5 MS kapiler kolonu OV-5 (Spain: 30m, 0,25m i.d., 0,25 μ m) ve 70eV EI detektör ile donatılmış Shimadzu GC-MS QP 2010 Plus (Tokyo, Japan) marka GC-MS analizörü kullanılarak Ankara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Kimya Mühendisliği Bölümünde gerçekleştirildi (Şekil 3.2). GC-MS tespiti için, 70eV iyonizasyon enerjisi uygulanan elektron iyonlaştırma sistemi kullanıldı. Helyum, 1,9ml/dakika'lık akış hızı ile taşıyıcı gaz olarak kullanıldı. Enjeksiyon ve MS taşıyıcı hattı sırasıyla 250°C ve 280°C sıcaklığa ayarlandı.

Kolon sıcaklığı başlangıçta 40°C'de 2 dakika tutuldu, daha sonra yavaşça 2°C/dakika hızında 125°C 'ye yükseltildi, 2 dakika tutuldu ve son olarak 5°C/dakika hızında 250°C'ye yükseltilerek 2 dakika tutuldu. Dilüe edilen numuneden (1:25v/v, aseton içinde) 1 μ l otomatik ve kesintisiz olarak cihaza enjekte edildi. GC-MS sisteminde tespit edilen göreceli tutma süresi ve kütle spektrumları, NBS75K, Wiley 7, NIST MS 2.0 kütüphane verileri ile literatür verileri ve ana bileşiklerin standartları karşılaştırılarak komponentler belirlendi. Sonuçlar, aynı zamanda, OV-5 kolonlarındaki göreceli tutma indeksleri ile bileşik elüsyon sırasının karşılaştırılmasıyla da doğrulandı (Adams, 2001).



Şekil 3.2. Shimadzu GC-MS QP 2010 Plus (Tokyo, Japan) marka GC-MS analizörü.

3.4. Bakteri Kökenleri

Bu çalışmada, standart bakteri kökenleri ile klinik örneklerden soyutlanan çoklu ilaç dirençli bakteriler (ÇİDB) kullanıldı. Çalışmada Gram pozitif bakteri olarak *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 (MRSA), *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Enterococcus faecium* ATCC 6057 ve *Listeria monocytogenes* F 1483 kökenleri, Gram negatif bakteri olarak *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Salmonella* Typhimurium ATCC 14028, *Stenotrophomonas maltophilia* ATCC 17666 ve *Acinetobacter lwoffii* ATCC 19002 kökenleri seçildi. Ayrıca ÇİDB bakteri olarak, Balıkesir Üniversitesi Hastanesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarına gönderilen klinik örneklerden izole edilmiş *Staphylococcus aureus* ÇİDB ve *Klebsiella pneumoniae* ÇİDB kökenleri kullanıldı. Bu bakterilerin tanımlanması ve antibiyotik duyarlılık testleri Vitek 2 (BioMerioux, Fransa) cihazı ile yapıldı. Antibiyotik duyarlılık testine göre *S. aureus* ÇİDB kökeni linezolid, tigesiklin ve trimetoprim/sulfametaksazole duyarlı, gentamisin, tetrasiklin, eritromisin, klindamisin, fusidik asit, fosfomisin, oksasilin, sefoksitin, penisilin, siprofloksasin, daptomisin ve teikoplanine dirençli bulundu. *K. pneumoniae* ÇİDB kökeninin ise kolistine duyarlı, tigesikline orta duyarlı, amikasin, gentamisin, ampisilin, amoksisilin/klavunat, piperasilin/tazobaktam, sefepim, seftazidim, seftriakson, sefuroksim, sefuroksim aksetil, siprofloksasin, meropenem, ertapenem, ve trimetoprim/sulfametaksazole dirençli olduğu saptandı.

3.5. *Cinnamomum zeylanicum* Uçucu Yağı ve Bileşenlerinin Antibakteriyel Aktivitesinin Belirlenmesi

Antibakteriyel aktivite tayini için Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile inhibisyon zon çapları, sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile de minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) ve minimum bakterisidal konsantrasyonu (MBK) belirlendi (CLSI, 2014).

3.5.1. Disk Difüzyon Yöntemi

CZUY, 1-1/512 aralığında olmak üzere DMSO kullanılarak dilüe edildi. Bileşenlerinde 256mg/ml olacak şekilde DMSO ile stok solüsyonları hazırlandı. Stok bileşen çözeltileri ve CZUY'nin seri dilüsyonlarından her biri çapı 6mm olan standart disklere 15µl olarak emdirildi. Disklerdeki bileşenlerin miktarı 3,84mg olacak şekilde hesaplandı. Besiyeri olarak %5 koyun kanı ilave edilmiş Müeller-Hinton agar (KKMHA) kullanıldı (Becton and Dickinson, ABD). Test edilecek bakteri kökenleri KAMHA'a ekilerek 18 saat 37°C'de inkübe edildi. Kültürlerden alınan bakteri kolonileri ile McFarland 0,5 yoğunluğunda bakteri süspansiyonları hazırlandı. Bakteri süspansiyonu steril silgiç kullanılarak tüm plak yüzeyini kaplayacak şekilde ekildi. Ekim işleminde her bir bakteri kökeni için ayrı bir KKMHA kullanıldı. Hazırlanmış olan CZUY ve seri dilüsyonları ile kimyasal bileşenleri içeren diskler pens yardımıyla KKMHA yüzeyine yerleştirildi. DMSO emdirilmiş bir disk, çözücü kontrolü olarak kullanıldı. Plaklar, 37°C'de 18-24 saat inkübe edildi (CLSI, 2014).

3.5.2. MİK ve MBK Değerlerinin Belirlenmesi

CZUY'nin ve bileşenlerinin MİK ve MBK değerleri sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile 96 kuyucuklu U tabanlı steril mikroplakalar kullanılarak belirlendi (CLSI, 2014). Tüm çalışmalar Katyon Ayarlı Müeller-Hinton Broth (KAMHB) (Becton and Dickinson, ABD) besiyeri kullanılarak yapıldı. Sıvı besiyerine son konsantrasyonu %0,5 olacak şekilde Tween 80 ilave edildi. Mikroplakalardaki her bir kuyucuğa 50µl KAMHB pipetlendi. CZUY ve bileşenlerin seri dilüsyonları 256-0,125mg/ml olacak şekilde hazırlandı. KKMHA'da üretilmiş her bir bakteri kökeninden dört beş koloni seçilerek McFarland 0,5 yoğunlukta olacak şekilde bakteri süspansiyonları hazırlandı (10^8 CFU/ml). Bakteri süspansiyonları 1/100 oranında dilüe edildi (10^6 CFU/ml). Mikroplakalardaki her bir kuyucuğa bu süspansiyondan 50µl eklendi (son konsantrasyon 5×10^5 CFU/ml). Mikroplaka üzerinde üreme kontrolü (KAMHA+bakteri), çözücü kontrolü (KAMHA+bakteri+DMSO), besiyeri kontrolü (KAMHB) ve sterilite kontrolü (KAMHA+CZUY ve bileşenleri) için birer kuyucuk kullanıldı. Mikroplakaların kapakları kapatılarak 18-24 saat 37°C'de inkübe edildi. Bakteri üremesinin gözle

görülmediği en düşük konsantrasyon MİK değeri olarak belirlendi. Tüm çalışmalar 3 kez tekrarlandı.

MBK tespiti için, MİK değerleri belirlendikten sonra mikropkaka üzerinde bakteri üremesi görülmeyen kuyucukların her birinden 10µl alınarak birbirine karışmayacak şekilde KKMHA'ya pipetlendi. Besiyerleri 37°C de 18-24 saat inkübe edildi. KKMHA üzerinde bakterilerin %99,9'unu öldüren en küçük konsantrasyon MBK olarak belirlendi (Koneman ve ark.,1997).

3.6. Antibiyotiklerin Belirlenmesi

Çalışma kapsamında topikal olarak uygulanabilen antibiyotikler seçildi. Antibiyotik etken maddelerinden gentamisin, eritromisin, klindamisin, fusidik asit ve mupirosin Bilim İlaç firmasından, tetrasiklin (T7660), neomisin (N1876) ve basitrasin (11702) ise Sigma-Aldrich firmasından sağlandı.

3.6.1. Antibiyotiklerin Stok Çözeltilerinin Hazırlanması

Antibiyotiklerin etken maddeleri ile birlikte gönderilen protokollerden uygun çözücü/sulandırıcı çeşidi ve potens değerlerine ulaşıldı. İstenen antibiyotik konsantrasyonunun hazırlanması CLSI kriterleri (2014) doğrultusunda yapıldı (Tablo 3.1). Hassas terazide tartılan antibiyotiklerin uygun çözücülerle 2560µg/ml'lik stok çözeltileri aşağıdaki formüle göre hazırlandı.

$$\text{Ağırlık (mg)} = \text{Hacim (ml)} \times \text{Konsantrasyon (µg/ml)} / \text{Potens (µg/mg)}$$

Hazırlanan stok çözeltiler 1,5ml'lik miktarlarda ayrı tüplere konuldu ve test edilecekleri zamana kadar -20⁰C'de saklandı. Sıvı mikrodilüsyon çalışması öncesinde çözdürülen antibiyotik stok solüsyonu 1/10 dilüe edilerek 256µg/ml'lik çalışma solüsyonları elde edildi.

3.6.2. Antibiyotiklerin Disk Difüzyon Sonuçlarının Belirlenmesi

Seçilen topikal antibiyotiklerden gentamisin (10µg), tetrasiklin (30µg), eritromisin (15µg), klindamisin (2µg), fusidik asit (10µg), mupirosin (10µg) ve

basitrasin (10µg) diskleri ticari (Biorad, ABD) olarak satın alındı. Neomisin diskleri ise etken maddesi uygun çözücüde çözülerek ve standart boş disklere emdirilerek (30µg) hazırlandı. 3.6.1.'de anlatılan yöntem aynı şekilde uygulandı.

Tablo 3.1. Antibiyotiklerin Hazırlanması İçin Gerekli Çözücü ve Sulandırıcılar (CLSI, 2014).

Antimikrobik ilaç	Çözücü	Sulandırıcı
Gentamisin	Su	Su
Tetrasiklin	Su	Su
Eritromisin	%95 etanol veya GAA*	Su
Klindamisin	Su	Su
Fusidik asit	Su	Su
Mupirosin	Su	Su
Neomisin	Su	Su
Basitrasin	Su	Su

*GAA: Glasiyel asetik asit

3.6.3. Antibiyotiklerin MİK Değerlerinin Belirlenmesi

Antibiyotiklerin MİK değerleri sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile CLSI kriterlerine (2014) göre belirlendi. Antibiyotiklerin hazırlanan stok çözeltileri çalışma öncesinde 1/10 dilüe edilerek 256µg/ml olacak şekilde hazırlandı. Tüm çalışmalar katyon ayarlı Müeller-Hinton Broth (Becton and Dickinson, ABD) besiyeri kullanılarak yapıldı. 3.6.2.'de anlatılan yöntem uygulandı.

3.7. Checkerboard Yöntemi ile Etkileşimlerin Belirlenmesi

3.7.1. *Cinnamomum zeylanicum* Uçucu Yağı ve Topikal Antibiyotikler Arasındaki Etkileşimlerin Belirlenmesi

CZUY ve antibiyotikler arasındaki etkileşim *checkerboard* yöntemi ile belirlendi (Eliopoulos, 1988; Eliopoulos ve Moellering, 1996). Bu amaçla 2 adet 96 kuyucuklu “U” tabanlı steril mikropkaya kullanıldı. Birinci mikropkaya son konsantrasyonu %0,5 olacak şekilde Tween 80 ilave edilmiş KAMHB'dan 50µl dağıtıldı ve birinci antibakteriyel madde MİK değerinin 2-3 sulandırım üstünden

başlayıp 5-6 sulandırım altına kadar, dikey düzlemde yukarıdan aşağıya doğru dilüe edildi. İkinci mikroplakaya ise 100µl KAMHB dağıtıldı ve ikinci antibakteriyel madde, MİK değerinin 2-3 sulandırım üstünden 5-6 sulandırım altına kadar, yatay düzlemde sağdan sola doğru dilüe edildi. İkinci mikroplakada yapılan dilüsyonlar, diğer mikroplakaya birebir aynı kuyucuğa olmak üzere 50µl aktarıldı. Böylelikle her kuyucukta her iki antibakteriyel maddenin farklı kombinasyonları elde edildi (Eliopoulos ve Moellering, 1996).

UÇUCU YAĞIN SERİ DİLÜSYON ALANI								MİK ALANI		KONTROL ALANI	
4	4	4	4	4	4	4	4	4	640	ÜREME KONTROLÜ	ÇÖZÜCÜ KONTROLÜ TWEEN 80/DMSO +
2	2	2	2	2	2	2	2	2	320		
1	1	1	1	1	1	1	1	1	160	KAMHB +	KAMHB +
0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	80		
0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	40	BESİYERİ KONTROLÜ	STERİLİTE KONTROLÜ KAMHB +
0,125	0,125	0,125	0,125	0,125	0,125	0,125	0,125	0,125	20		
0,062	0,062	0,062	0,062	0,062	0,062	0,062	0,062	0,062	10		
0,031	0,031	0,031	0,031	0,031	0,031	0,031	0,031	0,031	5		

Şekil 3.3 Checkerboard işleminde birinci mikroplakanın hazırlık şeması.

Bakteri süspansiyonları 3.6.2’de açıklandığı gibi hazırlandı. Bu süspansiyonlardan 100µl birinci mikroplakanın besiyeri kontrolü ve sterilite kontrolü kuyucukları hariç diğer tüm kuyucuklara pipetlendi. Birinci mikroplaka üzerinde üreme kontrolü (KAMHB + bakteri), besiyeri kontrolü (KAMHB), çözücü kontrolü (%0,5 Tween 80 veya DMSO+KAMHB+bakteri) ve sterilite kontrolü (KAMHB+CZUY veya bileşen) için kuyucuklar kullanıldı. Mikroplakalar 37°C’de 18-24 saat inkübe edildi. Tüm çalışmalar üç kez tekrarlandı. *Checkerboard* mikroplakalarının hazırlık şemaları Şekil 3.10 ve 3.11’de gösterilmiştir.

Uçucu yağ ile antibiyotikler arasındaki etkileşimin belirlenmesi için FİKİ (fraksiyonel inhibisyon konsantrasyonu indeksi) hesaplaması yapıldı. Bu hesaplama için aşağıdaki formül kullanıldı.

$$FİKİ = FİK CZUY + FİK Antibiyotik$$

$$FİKİ = \frac{\text{Kombinasyondaki CZUY MİK} + \text{Kombinasyondaki Antibiyotik MİK}}{\text{CZUY MİK} \times \text{Antibiyotik MİK}}$$

Hesaplanan FİKİ değerlerinin yorumu sınır değerlere göre yapıldı. Etkileşimler, $\leq 0,5$: sinerji, $>0,50-0,75$: kısmi sinerji, $>0,75-1,00$: aditif etki, $>1,00-4,00$: indifferent ve $>4,00$: antagonizma olarak değerlendirildi (Li ve ark., 2013).

İKİNCİ MİKROPLAKA (ANTİBİYOTİK MİKROPLAKASI)							
GENTAMİSİNİN SERİ DİLÜSYON ALANI							KULLANILMAYAN BOŞ ALAN
10	20	40	80	160	320	640	1280
10	20	40	80	160	320	640	1280
10	20	40	80	160	320	640	1280
10	20	40	80	160	320	640	1280
10	20	40	80	160	320	640	1280
10	20	40	80	160	320	640	1280
10	20	40	80	160	320	640	1280
10	20	40	80	160	320	640	1280

Şekil 3.4. Checkerboard işleminde ikinci mikrolakanın hazırlık şeması.

Checkerboard yöntemi ile CZUY ve gentamisin kombinasyonunun *S. aureus* ÇİDB kökeni için şematik olarak görünümü şekil 3.12’de verilmiştir.

										UY	ANT		
UÇUCU YAĞ	2	2 2,5	2 5	2 10	2 20	2 40	2 80	2 160	2 320	4	640	b	c
	1	1 2,5	1 5	1 10	1 20	1 40	1 80	1 160	1 320	2	320	b	c
	0,5	0,5 2,5	0,5 5	0,5 10	0,5 20	0,5 40	0,5 80	0,5 160	0,5 320	1	160	b	c
	0,25	0,25 2,5	0,25 5	0,25 10	0,25 20	0,25 40	0,25 80	0,25 160	0,25 320	^a 0,5	^a 80	b	c
	0,125	0,125 2,5	0,125 5	0,125 10	0,125 20	0,125 40	0,125 80	0,125 160	0,125 320	0,25	40	d	e
	0,062	0,062 2,5	0,062 5	0,062 10	0,062 20	0,062 40	0,062 80	0,062 160	0,062 320	0,125	20	d	e
	0,031	0,031 2,5	0,031 5	0,031 10	0,031 20	0,031 40	0,031 80	0,031 160	0,031 320	0,062	10	d	e
	0,015	0,015 2,5	0,015 5	0,015 10	0,015 20	0,015 40	0,015 80	0,015 160	0,015 320	0,031	5	d	e
		2,5	5	10	20	40	80	160	320				
ANTİBİYOTİK													

Mavi renkli alanlar bakteri üreyen, beyaz renkli alanlar bakteri üremeyen ve turuncu renkli alanlar ise FİKİ hesaplanacak kuyucukları temsil etmektedir, ^aUçucu yağ ve antibiyotik MİK değeri, ^bÜreme kontrolü (KAMHB+Bakteri), ^cÇözücü kontrolü (KAMHB+Tween80/DMSO+Bakteri), ^dBesiyeri kontrolü (KAMHA), ^eSterilite kontrolü (KAMHA+UY/bileşen), UY: Uçucu yağ, ANT: Antibiyotik

Şekil 3.5. Checkerboard mikrolakasının inkübasyon sonrası görünüm şeması

3.7.2. Cinnamaldehyde ve Antibiyotikler Arasındaki Etkileşimin Belirlenmesi

Cinnamaldehyde ile antibiyotikler arasındaki etkileşimin belirlenmesinde 3.8.1’de açıklanan yöntem uygulandı. CZUY yerine uçucu yağın majör bileşeni cinnamaldehyde kullanıldı. Cinnamaldehyde ve antibiyotiklerin her biri için ise önceden saptanan MİK değerleri göz önüne alınarak seri dilüsyonlar hazırlandı. Cinnamaldehyde ile antibiyotikler arasındaki etkileşimin belirlenmesi için FİKİ hesaplaması yapılarak, FİKİ değerlerinin yorumu sınır değerlere göre yapıldı.

3.7.3. Cinnamaldehyde ile Diğer Bileşenlerin Etkileşiminin Belirlenmesi

CZUY’de majör bileşen olan cinnamaldehyde ile diğer bileşenlerin arasındaki etkileşimin belirlenmesinde 3.8.1’de açıklanan yöntem uygulandı. Cinnamaldehyde’in seri dilüsyonları birinci mikrolakada, benzaldehide, cinnamyl asetate, eucalyptol ve α -terpinene bileşenlerinin seri dilüsyonları ikinci mikrolakada MİK değerleri göz önüne alınarak hazırlandı. Cinnamaldehyde ile diğer bileşenler arasındaki etkileşimin belirlenmesi için FİKİ hesaplaması yapılarak, FİKİ değerlerinin yorumu sınır değerlere göre yapıldı.

4. BULGULAR

4.1. *Cinnamomum zeylanicum* Uçucu Yağının GC-MS Analiz Sonuçları

C. zeylanicum uçucu yağının GC-MS analiz sonuçlarına göre, CZUY'nın %57,41'ini Cinnamaldehyde, %31,65'ini cinnamyl asetat ve %3,75'ini coumarin bileşeninin oluşturduğu görüldü. Cinnamaldehyde, cinnamyl asetat ve coumarin bileşenleri uçucu yağın %92,81'ini oluştururken, trans-caryophyllene, isoborneol, α -copaene, benzaldehyde, α -terpinene, eucalyptol, d-limonene gibi diğer bileşenlerin daha az oranlarda bulunduğu saptandı. CZUY GC-MS analiz sonuçları Tablo 4.1'de sunulmuştur.

Tablo 4.1. CZUY' nin GC-MS analiz sonuçları.

Sıra	Bileşenler ^b	KI ^a	%
1	Butanoic acid, 2- propenyl ester	887	0,02
2	Benzaldehyde	961	0,07
3	α -terpinene	1018	0,71
4	d-limonene	1027	0,08
5	Eucalyptol	1040	0,32
6	1,3,8 - p-Menthatriene	1100	0,02
7	Isoborneol	1156	1,89
8	Cinnamaldehyde	1225	57,41
9	α -copaene	1376	1,87
10	Trans-caryophyllene	1418	1,38
11	Coumarin	1428	3,75
12	Cinnamyl acetate	1456	31,65

^a Kovats Index, ^bBileşenler OV-5 kolonundan elüsyon sırasıyla dizilmiştir

4.2. *Cinnamomum zeylanicum* Uçucu Yağının Disk Difüzyon Sonuçları

Uçucu yağın DMSO ile 1-1/512 aralığında dilüsyonları hazırlandı. Seri dilüsyonların disk difüzyon yöntemi ile antibakteriyel etkinlik sınırları belirlendi. Sonuçlar incelendiğinde, uçucu yağın emdirildiği disklerin inhibisyon zonlarının tüm bakteri grupları için 21-50mm arasında değiştiği görüldü. İnhibisyon zon aralıkları, 1/2 dilüsyon için 20-46mm, 1/4 dilüsyon için 19-40mm, 1/8 dilüsyon için 19-38mm,

1/16 dilüsyon için 15-35mm, 1/32 dilüsyon için 8-27mm, 1/64 dilüsyon için 9-16mm olarak saptandı. Tüm bakteriler ve dilüsyonlar için inhibisyon zonları Tablo 4.2’de sunulmuştur.

Tablo 4.2. CZUY’nin disk difüzyon sonuçları (mm).

Bakteriler	Uçucu yağ seri dilüsyonları									
	1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512
<i>S.aureus</i> ATCC ÇİDB	22	te	te	te	te	te	te	te	te	te
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	35	34	33	32	21	16	10	6	6	6
<i>S. aureus</i> ATCC 43300	36	34	34	30	22	13	9	6	6	6
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	21	20	19	18	15	9	6	6	6	6
<i>E. faecium</i> ATCC 6057	34	32	30	24	18	10	6	6	6	6
<i>L. monocytogenes</i> F 1483	33	29	26	21	16	8	6	6	6	6
<i>E. coli</i> ATCC 25922	26	25	25	24	18	14	9	6	6	6
<i>K. pneumoniae</i> ÇİDB	20	te	te	te	te	te	te	te	te	te
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 700603	23	22	21	20	16	12	8	6	6	6
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	22	22	21	19	15	9	6	6	6	6
<i>S. Typhimurium</i> ATCC 14028	26	26	24	22	16	11	9	6	6	6
<i>S. maltophilia</i> ATCC 17666	50	46	40	38	35	27	14	8	6	6
<i>A. lwoffii</i> ATCC 19002	40	38	34	32	28	21	16	12	8	6

ÇİDB: Çoklu ilaç dirençli bakteri, te: Test edilmedi,

Tablo 4.3. CZUY ‘nin MİK ve MBK değerleri (mg/ml).

Bakteriler	MİK	MBK
<i>S. aureus</i> ÇİDB	0,5	2
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	0,5	2
<i>S. aureus</i> ATCC 43300	0,5	4
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	1	8
<i>E. faecium</i> ATCC 6057	1	8
<i>L. monocytogenes</i> F 1483	0,5	2
<i>E. coli</i> ATCC 25922	0,125	0,25
<i>K. pneumoniae</i> ÇİDB	0,5	1
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 700603	0,5	1
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	1	1
<i>S. Typhimurium</i> ATCC 14028	0,125	0,25
<i>S. maltophilia</i> ATCC 17666	0,062	0,125
<i>A. lwoffii</i> ATCC 19002	0,031	0,125

MİK: Minimum inhibisyon konsantrasyonu, MBK: Minimum bakterisidal konsantraayonu

ÇİDB: Çoklu ilaç dirençli bakteri.

4.3. *Cinnamomum zeylanicum* Uçucu Yağının MİK ve MBK Sonuçları

CZUY'nın MİK değerlerinin, özellikle gram negatif bakteri grubunda bulunan *S. Typhimurium* ATCC 14028, *S. maltophilia* ATCC 17666 ve *A. lwoffii* ATCC 19002 kökenleri için sırasıyla 0,125, 0,062 ve 0,031mg/ml, gram pozitif bakteri grubunda ise 0,5-1mg/ml arasında olduğu saptandı. MBK verileri incelendiğinde ise 8mg/ml uçucu yağ konsantrasyonunun çalışmamızda test edilen tüm bakteri kökenleri için bakterisidal etki gösterdiği belirlendi. CZUY'nın MİK ve MBK değerleri Tablo 4.3'te sunulmuştur.

4.4. *Cinnamomum zeylanicum* Uçucu Yağ Bileşenlerinin Disk Difüzyon Sonuçları

CZUY'de bulunan bileşenler disk difüzyon yöntemiyle test edildi. Uçucu yağın majör bileşenleri, cinnamaldehyde'in tüm bakteri kökenleri için 17-38mm ile en etkin bileşen olduğu, cinnamyl asetat'ın ise *S. maltophilia* ATCC 17666 ve *A. lwoffii* ATCC 19002 kökenleri için 12 ve 13mm inhibisyon zonu oluştururken diğer kökenler için etkisiz olduğu görüldü.

Minör bileşen coumarin, *P. aeruginosa* ATCC 27853 ve *A. lwoffii* ATCC 19002 kökenleri için 19 ve 20mm inhibisyon zonu oluşturdu. CZUY bileşenlerinin inhibisyon zonları Tablo 4.4.'te sunulmuştur.

4.5. *C. zeylanicum* Uçucu Yağ Bileşenlerinin MİK ve MBK Sonuçları

CZUY bileşenlerinin MİK ve MBK değerleri incelendiğinde, en etkili bileşenlerin, sırasıyla cinnamaldehyde, isoborneol, coumarin, benzaldehyde olduğu görülmektedir. Cinnamaldehyde'in test edilen bakteri gruplarında 0,015-1mg/ml aralığında MİK değerlerine sahip olup, 2mg/ml'lik konsantrasyonun, test edilen tüm bakteri kökenleri için bakterisidal etki gösterdiği belirlendi. Isoborneol, *K. pneumoniae* ATCC 700603 ve *P. aeruginosa* ATCC 27853 dışındaki tüm bakterilerde cinnamaldehyde'e benzer derecede etkinlik gösterdi. CZUY bileşenlerinin MİK ve MBK değerleri Tablo 4.5'te sunulmuştur.

Tablo 4.4. CZUY bileşenlerinin disk difüzyon sonuçları (mm).

Bakteriler	Uçucu yağ bileşenleri								
	cinnamaldehyde	cinnamyl asetate	coumarin	isoborneol	t-caryophyllene	α -terpinene	eucalyptol	d-limonene	benzaldehyde
<i>S. aureus</i> ÇİDB	21	te	te	te	te	te	te	te	te
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	30	8	11	6	10	14	7	24	20
<i>S. aureus</i> ATCC 43300	33	7	10	6	10	6	6	13	32
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	20	6	7	6	9	9	9	11	7
<i>E. faecium</i> ATCC 6057	23	6	9	6	11	6	6	10	11
<i>L. monocytogenes</i> F 1483	24	6	8	6	10	9	9	22	8
<i>E. coli</i> ATCC 25922	25	8	15	6	6	6	10	12	12
<i>K. pneumoniae</i> ÇİDB	19	te	te	te	te	te	te	Te	te
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 700603	21	6	9	6	6	6	6	15	10
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	17	6	19	6	6	6	6	10	11
<i>S. Typhimurium</i> ATCC 14028	30	6	13	6	6	6	6	10	12
<i>S. maltophilia</i> ATCC 17666	38	12	13	6	6	6	11	21	18
<i>A. lwoffii</i> ATCC 19002	35	13	20	6	6	7	8	17	20

ÇİDB: Çoklu ilaç dirençli bakteri, te: Test edilmedi.

Tablo 4.5. CZUY bileşenlerinin MİK ve MBK değerleri (mg/ml).

Bakteriler	Uçucu yağ bileşenleri																	
	cinnamaldehyde		cinnamyl a.		coumarin		isoborneol		t-caryophyllen		α-terpinene		eucalyptol		d-limonene		benzaldehyde	
	MİK	MBK	MİK	MBK	MİK	MBK	MİK	MBK	MİK	MBK	MİK	MBK	MİK	MBK	MİK	MBK	MİK	MBK
<i>S. aureus</i> ÇİDB	1	2	te	te	te	te	te	te	te	te	te	te	te	te	te	te	te	te
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	0,25	2	32	64	2	4	1	1	> 64	> 64	32	32	64	> 64	8	32	4	32
<i>S. aureus</i> ATCC 43300	0,25	2	32	64	4	8	1	1	> 64	> 64	32	32	64	> 64	16	32	8	32
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	1	1	16	32	2	4	0,5	0,5	> 64	> 64	32	64	32	> 64	8	64	8	64
<i>E. faecium</i> ATCC 6057	0,25	0,5	16	32	2	4	0,5	0,5	> 64	> 64	8	8	16	64	16	16	8	16
<i>L. monocytogene</i> ATCC 19002	0,25	1	16	64	4	4	0,25	0,25	> 64	> 64	8	8	32	32	16	32	8	32
<i>E. coli</i> ATCC 25922	0,125	0,25	32	64	2	4	0,25	0,25	> 64	> 64	32	64	8	8	8	16	4	8
<i>K. pneumoniae</i> ÇİDB	0,25	1	te	te	te	te	te	te	te	te	te	te	te	te	te	te	te	te
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 700603	0,015	0,031	32	64	4	8	64	> 64	> 64	> 64	32	32	32	32	16	32	4	16
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	1	2	32	64	2	4	64	> 64	> 64	> 64	16	32	16	64	16	16	2	8
<i>S. Typhimurium</i> ATCC 14028	0,25	0,5	16	32	4	8	0,062	0,062	> 64	> 64	16	16	32	64	4	4	8	16
<i>S. maltophilia</i> ATCC 17666	0,031	0,062	8	16	2	4	0,125	0,25	> 64	> 64	32	64	4	8	2	4	2	4
<i>A. lwoffii</i> ATCC 19002	0,015	0,062	8	16	2	4	0,062	0,125	> 64	> 64	32	32	8	8	2	2	2	8

4.6. Antibiyotiklerin Disk Difüzyon sonuçları

Bu çalışmada topikal antibiyotikler kullanıldı. Antibiyotiklerin disk difüzyon çalışmaları CLSI (2014) kriterleri doğrultusunda yapıldı. Antibiyotiklerin sınır değerleri için CLSI (2014) verileri kullanıldı. Sadece fusidik asidin *S. aureus* ATCC 29213 ve *S. aureus* ATCC 43300 için EUCAST (2017) sınır değerleri kullanıldı. Bu rehberlerde yer almayan sınır değerler için önceden yayınlanmış makale verilerinden yararlanıldı. Bu kısımda atıf yapılan çalışmalar, sınır değerler bakımından dikkate alınan çalışmalardır.

Antibiyotikler için disk difüzyon sonuçları incelendiğinde, gentamisin *S. aureus* ATCC 29213, *L. monocytogenes* F 1483, *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *S. Typhimurium* ATCC 14028 ve *A. lwoffii* ATCC 19002 kökenleri için etkili, *K. pneumoniae* ATCC 700603 için orta derecede etkili ve *S. maltophilia* ATCC 17666, *K. pneumoniae* ÇİDB, *S. aureus* ATCC 43300 ve *S. aureus* ÇİDB kökenleri için de etkisiz olduğu görüldü (CLSI, 2014).

Aminoglikozidler enterokok türlerine *in vitro* olarak etkili görünse de klinik olarak kullanımı uygun değildir (CLSI, 2014). Bu yüzden CLSI ve EUCAST rehberlerinde enterokok kökenleri için duyarlılık sınır değerleri verilmemiştir. Yüksek düzey gentamisin direnci olan enterokok kökenlerinde 120µg'lık disk kullanıldığında 10mm üzeri duyarlı kabul edilmektedir (CLSI, 2014). Çalışmamızda 10µg'lık gentamisin diski kullanıldı ve her iki enterokok türü için de 12mm inhibisyon zonu ölçüldü.

Tetrasiklin, *S. aureus* ATCC 29213, *S. aureus* ATCC 43300, *L. monocytogenes* F 1483, *E. faecium* ATCC 6057, *E. coli* ATCC 25922, *S. Typhimurium* ATCC 14028 ve *A. lwoffii* ATCC 19002 kökenleri için etkili, *K. pneumoniae* ATCC 700603 kökeni için orta derecede etkili, *S. aureus* ÇİDB, *E. faecalis* ATCC 29212, *K. pneumoniae* ÇİDB ve *S. maltophilia* ATCC 17666 kökeni için etkisiz bulundu (CLSI, 2014). CLSI ve EUCAST rehberlerinde *P. aeruginosa* kökenleri için sınır değer verilmemiştir. Çalışmamızda kullandığımız *P. aeruginosa* ATCC 27853 kökeni için tetrasiklin dirençli olarak saptandı (Livermore, 1994). Eritromisin, *S. aureus* ATCC 29213 ve *L. monocytogenes* F 1483 için etkili, enterokok kökenleri için orta derecede etkili, *S. aureus* ÇİDB ve *S. aureus* ATCC 43300 kökenleri için ise etkisiz olarak

bulundu (CLSI, 2014). Klindamisin *S. aureus* ATCC 29213, *E. faecium* ATCC 6057 kökenleri için etkili bulunurken *S. aureus* ÇİDB, *S. aureus* ATCC 43300, *E. faecalis* ATCC 29212 ve *L. monocytogenes* F 1483 kökenleri için ise etkisiz olarak belirlendi (CLSI, 2014).

Fusidik asidin, *S. aureus* ÇİDB ve *S. aureus* ATCC 29213 kökenleri için etkisiz, *S. aureus* ATCC 43300 kökeni için ise etkili olduğu görüldü (EUCAST, 2017). Toma ve Barriault (1995) tarafından kullanılan değerlere göre, her iki enterokok türünün de fusidik aside dirençli olduğu saptandı. *L. monocytogenes* için de rehberlerde fusidik asit sınır değeri bulunmamaktadır. Çalışmamızda, *L. monocytogenes* F 1483 kökeninde fusidik asit için 19mm inhibisyon zonu saptanmıştır. Özkan ve ark. (1997) tarafından kullanılan değerlere göre, mupirosin, *S. aureus* ÇİDB kökeni için etkisiz, *S. aureus* ATCC 29213 ve *S. aureus* ATCC 43300 kökenleri için etkili olarak, Fuchs ve ark. (1990) tarafından kullanılan değerlere göre de *E. faecium* ATCC 6057 kökeni için etkili olarak belirlenmiştir. Rehberlerde yine sınır değeri verilmeyen *L. monocytogenes* kökeni için çalışmamızda 13mm inhibisyon zonu saptanmıştır. Neomisin, *S. aureus* ÇİDB, *S. aureus* ATCC 29213, *E. faecalis* ATCC 29212, *L. monocytogenes* F1483, *E. coli* ATCC 25922, *K. pneumoniae* ÇİDB, *S. Typhimurium* ATCC 14028 ve *A. lwoffii* ATCC 19002 kökenleri için etkili (>16mm, Bessa ve ark., 2016) *S. aureus* ATCC 43300, *E. faecium* ATCC 6057, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *S. maltophilia* ATCC 17666 için etkisiz bulunmuştur (<16mm, Bessa ve ark., 2016). Basitrasinin için sınır değerleri CLSI ve EUCAST rehberlerinde yer almamaktadır. Basitrasinin 10µg diskleri için sınır değerlerin verildiği bir çalışmaya literatürde rastlanmamıştır. Antibiyotiklerin test edilen kökenlere ait inhibisyon zonları Tablo 4.6.'da sunulmuştur.

4.7. Antibiyotiklerin MİK Sonuçları

Antibiyotiklerin MİK değerleri sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile saptandı (Tablo 4.7). Gentamisin, *S. aureus* ATCC 29213, *E. faecium* ATCC 6057, *L. monocytogenes* F 1483, *E. coli* ATCC 25922, *K. pneumoniae* ATCC 700603, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *S. Typhimurium* ATCC 14028 ve *A. lwoffii* ATCC 19002 kökenleri için etkili bulunurken (MİK ≤ 4µg/ml, CLSI 2014), *S. aureus* ÇİDB, *S. aureus* ATCC 43300, *E. faecalis* ATCC 29212 ve *K. pneumoniae* ÇİDB kökenleri için ise dirençli olarak

saptandı (MİK \geq 16 μ g/ml, CLSI 2014). *S. maltophilia* kökeni için sınır değeri CLSI rehberinde yer almamaktadır. Ancak NCCLS (2005) kriterlerine göre dirençli kabul edildi (MİK \geq 8 μ g/ml, NCCLS 2005).

Tetrasiklinin MİK değerleri incelendiğinde, *S. aureus* ATCC 29213, *S. aureus* ATCC 43300, *E. faecium* ATCC 29212, *L. monocytogenes* F 1483, *E. coli* ATCC 25922 ve *S. Typhimurium* ATCC 14028 kökenleri için etkili (MİK \leq 4 μ g/ml, CLSI 2014), *E. faecalis* ATCC 29212 ve *K. pneumoniae* ATCC 700603 kökenleri için orta derecede etkili (MİK=8 μ g/ml, CLSI 2014), *S. aureus* ÇİDB, *K. pneumoniae* ÇİDB, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *S. maltophilia* ATCC 17666 ve *A. lwoffii* ATCC19002 kökenleri için ise etkisiz olduğu görüldü (MİK \geq 16 μ g/ml, CLSI 2014).

Eritromisin ve Klindamisin, *S. aureus* ATCC 29213 ve *L. monocytogenes* F 1483 kökenleri için etkili (MİK \leq 0.5 μ g/ml; CLSI, 2014), *S. aureus* ÇİDB, *S. aureus* ATCC 43300 ve enterokok kökenleri ise etkisiz oldukları saptandı (eritromisin için MİK \geq 8 μ g/ml, klindamisin için MİK \geq 4 μ g/ml, CLSI 2014). Fusidik asit, *S. aureus* ATCC 29213, *S. aureus* ATCC 43300 kökenleri için etkili (MİK \leq 0.5 μ g/ml; Skov ve ark., 2001) bulunurken, *S. aureus* ÇİDB kökeni için etkisiz (MİK \geq 2 μ g/ml; Skov ve ark., 2001) olarak saptandı. Enterokok ve *L. monocytogenes* F 1483 kökenlerinin değerleri incelendiğinde üç köken için de fusidik aside duyarlı (MİK \leq 2 μ g/ml) (Toma ve Barriault, 1995; NCCLS, 2000b) olarak saptandı. Mupirosin, *S. aureus* standart kökenleri (MİK \leq 4 μ g/ml) ve *E. faecium* ATCC 6057 kökeni (MİK \leq 2 μ g/ml) için etkili bulunurken (Vardar-Ünlü ve ark., 2006; Fuchs ve ark., 1990), *S. aureus* ÇİDB, *E. faecalis* ATCC 29212 ve *L. monocytogenes* F 1483 kökenleri (MİK \geq 4 μ g/ml, Fuchs ve ark., 1990) için etkisiz olarak saptandı. Basitrasin için CLSI ve EUCAST rehberinde sınır değerler verilmemiştir. Ancak test edilen kökenlerin tamamı duyarlı (MİK \leq 32 μ g/ml) bulunmuştur (Manson ve ark. 2004). Neomisin, *L. monocytogenes* F 1483 kökeni (Troxler ve ark., 2000), *S. aureus* ATCC 29213 ve *E. faecium* ATCC 6057 için etkili bulunurken (MİK $<$ 8 μ g/ml), *S. aureus* ÇİDB, *S. aureus* ATCC 43300 ve *E. faecalis* ATCC 29212 kökenlerinde ise etkisiz (MİK \geq 16 μ g/ml) olarak saptanmıştır (Members of the SFM Antibioqram Committee, 2003).

Tablo 4.6. Antibiyotiklerin disk difüzyon sonuçları (mm).

Bakteriler	Antibiyotikler							
	Gentamisin	Tetrasiklin	Neomisin	Fusidik asit	Mupirosin	Eritromisin	Klindamisin	Basitrasin
<i>S. aureus</i> ÇİDB	6	6	22	13	14	6	6	8
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	18	21	20	17	20	24	21	15
<i>S. aureus</i> ATCC 43300	11	25	13	25	21	6	6	15
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	12	8	18	14	6	22	8	10
<i>E. faecium</i> ATCC 6057	12	21	15	14	16	16	22	11
<i>L. monocytogenes</i> F 1483	19	21	21	12	13	27	10	12
<i>E. coli</i> ATCC 25922	23	21	18	6	6	6	6	6
<i>K. pneumoniae</i> ÇİDB	6	6	16	6	6	6	6	6
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 700603	14	10	14	6	6	6	6	6
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	20	11	7	6	6	6	6	6
<i>S. Typhimurium</i> ATCC 14028	23	18	20	6	6	6	6	6
<i>S. maltophilia</i> ATCC 17666	6	9	6	6	6	6	6	6
<i>A. lwoffii</i> ATCC 19002	24	18	20	6	6	6	6	6

Tablo 4.7. Antibiyotiklerin MİK değerleri (mg/ml).

Bakteriler	Antibiyotikler							
	Gentamisin	Tetrasiklin	Neomisin	Fusidik asit	Mupirosin	Eritromisin	Klindamisin	Basitrasin
<i>S. aureus</i> ÇİDB	>64	>64	>64	32	4	>64	>64	4
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	0,25	0,25	0,5	0,25	0,5	0,5	0,25	2
<i>S. aureus</i> ATCC 43300	32	4	32	0,25	0,5	>64	>64	2
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	16	8	16	2	32	8	8	4
<i>E. faecium</i> ATCC 6057	4	4	2	1	2	8	4	4
<i>L. monocytogenes</i> F 1483	0,125	0,5	0,125	2	32	0,062	0,5	2
<i>E. coli</i> ATCC 25922	0,5	0,5	>64	>64	>64	>64	>64	>64
<i>K. pneumoniae</i> ÇİDB	>64	>64	>64	>64	>64	>64	>64	>64
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 700603	4	8	>64	>64	>64	>64	>64	>64
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	1	32	>64	>64	>64	>64	>64	>64
<i>S. Typhimurium</i> ATCC 14028	0,5	0,5	>64	>64	>64	>64	>64	>64
<i>S. maltophilia</i> ATCC 17666	> 64	16	>64	>64	>64	>64	>64	>64
<i>A. lwoffii</i> ATCC 19002	1	32	>64	>64	>64	>64	>64	>64

4.8. *Cinnamomum zeylanicum* Uçucu Yağı-Antibiyotik Kombinasyon Sonuçları

Kombinasyon çalışmaları *checkerboard* yöntemi ile yapıldı. İnkübasyon sonunda *checkerboard* mikrolakasında üreme olmayan en düşük konsantrasyonlardaki her kuyucuğun hem uçucu yağ hem de antibiyotik için hesaplanan fraksiyonel inhibisyon konsantrasyon (FİK) değerleri toplanarak fraksiyonel inhibisyon konsantrasyon indeksi (FİKİ) hesaplandı. En küçük FİKİ değeri baz alınarak uçucu yağ ve test edilen antibiyotüğün kombinasyon sonuçları değerlendirildi.

CZUY-gentamisin kombinasyon çalışmasında *S. aureus* ÇİDB, *S. aureus* ATCC 29213, *S. aureus* ATCC 43300, *E. faecium* ATCC 6057, *E. coli* ATCC 25922, *K. pneumoniae* ATCC 700603 ve *S. typhimurium* ATCC 14028 kökenleri için sinerji, *E. faecalis* ATCC 29212, *L. monocytogenes* F 1483, *K. pneumoniae* ÇİDB, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *S. maltophilia* ATCC 17666 ve *A. lwoffii* ATCC 19002 kökenleri için ise kısmi sinerji saptandı (Tablo 4.8).

Tablo 4.8. CZUY-gentamisin kombinasyon sonuçları.

Bakteriler	FİK _{UY} /FİK _{ANT}	FİKİ	Etkileşim
<i>S. aureus</i> ÇİDB	0,124/0,062	0,186	Sinerji
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	0,124/0,124	0,248	Sinerji
<i>S. aureus</i> ATCC 43300	0,124/0,062	0,186	Sinerji
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	0,500/0,062	0,562	Kısmi sinerji
<i>E. faecium</i> ATCC 6057	0,250/0,250	0,500	Sinerji
<i>L. monocytogenes</i> F 1483	0,500/0,024	0,524	Kısmi sinerji
<i>E. coli</i> ATCC 25922	0,248/0,250	0,498	Sinerji
<i>K. pneumoniae</i> ÇİDB	0,500/0,004	0,504	Kısmi sinerji
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 700603	0,250/0,250	0,500	Sinerji
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	0,500/0,031	0,531	Kısmi sinerji
<i>S. Typhimurium</i> ATCC 14028	0,248/0,250	0,498	Sinerji
<i>S. maltophilia</i> ATCC 17666	0,496/0,016	0,512	Kısmi sinerji
<i>A. lwoffii</i> ATCC 19002	0,500/0,016	0,516	Kısmi sinerji

CZUY-tetrasiklin kombinasyon çalışması değerlendirildiğinde test edilen tüm bakteri kökenlerinde sinerji saptandı (Tablo 4.9).

Tablo 4.9. CZUY-tetrasiklin kombinasyon sonuçları.

Bakteriler	FİK _{UY} /FİK _{ANT}	FİKİ	Etkileşim
<i>S. aureus</i> ÇİDB	0,124/0,062	0,186	Sinerji
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	0,124/0,250	0,374	Sinerji
<i>S. aureus</i> ATCC 43300	0,248/0,125	0,373	Sinerji
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	0,250/0,125	0,375	Sinerji
<i>E. faecium</i> ATCC 6057	0,250/0,250	0,500	Sinerji
<i>L. monocytogenes</i> F 1483	0,250/0,250	0,500	Sinerji
<i>E. coli</i> ATCC 25922	0,248/0,250	0,498	Sinerji
<i>K. pneumoniae</i> ÇİDB	0,248/0,250	0,498	Sinerji
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 700603	0,124/0,250	0,374	Sinerji
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	0,250/0,250	0,500	Sinerji
<i>S. Typhimurium</i> ATCC 14028	0,248/0,125	0,373	Sinerji
<i>S. maltophilia</i> ATCC 17666	0,248/0,125	0,373	Sinerji
<i>A. lwoffii</i> ATCC 19002	0,242/0,125	0,367	Sinerji

CZUY-neomisin kombinasyonunda test edilen tüm Gram pozitif kökenlere karşı sinerji bulundu (Tablo 4.10).

Tablo 4.10. CZUY-neomisin kombinasyon sonuçları.

Bakteriler	FİK _{UY} /FİK _{ANT}	FİKİ	Etkileşim
<i>S. aureus</i> ÇİDB	0,062/0,250	0,312	Sinerji
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	0,124/0,124	0,248	Sinerji
<i>S. aureus</i> ATCC 43300	0,250/0,031	0,281	Sinerji
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	0,125/0,125	0,250	Sinerji
<i>E. faecium</i> ATCC 6057	0,125/0,250	0,375	Sinerji
<i>L. monocytogenes</i> F 1483	0,125/0,250	0,375	Sinerji

CZUY-fusidik asit ve -mupirosin kombinasyonu incelendiğinde, *S. aureus* ÇİDB, *S. aureus* ATCC 29213, *S. aureus* ATCC 43300 ve *L. monocytogenes* F 1483 kökenleri için sinerji görülürken enterokok kökenleri için ise kısmi sinerji saptandı (Tablo 4.11 ve 4.12).

Tablo 4.11. CZUY-fusidik asit kombinasyon sonuçları.

Bakteriler	FİK _{UY} /FİK _{ANT}	FİKİ	Etkileşim
<i>S. aureus</i> ÇİDB	0,250/0,016	0,266	Sinerji
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	0,125/0,248	0,373	Sinerji
<i>S. aureus</i> ATCC 43300	0,125/0,248	0,373	Sinerji
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	0,500/0,031	0,531	Kısmi sinerji
<i>E. faecium</i> ATCC 6057	0,500/0,015	0,515	Kısmi sinerji
<i>L. monocytogenes</i> F 1483	0,250/0,031	0,281	Sinerji

Tablo 4.12. CZUY-mupirosin kombinasyon sonuçları.

Bakteriler	FİK _{UY} /FİK _{ANT}	FİKİ	Etkileşim
<i>S. aureus</i> ÇİDB	0,062/0,250	0,310	Sinerji
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	0,250/0,248	0,498	Sinerji
<i>S. aureus</i> ATCC 43300	0,250/0,248	0,498	Sinerji
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	0,500/0,031	0,531	Kısmi sinerji
<i>E. faecium</i> ATCC 6057	0,500/0,031	0,531	Kısmi sinerji
<i>L. monocytogenes</i> F 1483	0,125/0,250	0,375	Sinerji

CZUY-eritromisin kombinasyonu değerlendirildiğinde, *S. aureus* ÇİDB, *S. aureus* ATCC 43300, *E. faecium* ATCC 6057 ve *L. monocytogenes* F 1483 kökenleri için sinerji, *S. aureus* ATCC 29213 ve *E. faecalis* ATCC 29212 kökenleri için de kısmi sinerji saptandı (Tablo 4.13).

Tablo 4.13. CZUY-eritromisin kombinasyon sonuçları.

Bakteriler	FİK _{UY} /FİK _{ANT}	FİKİ	Etkileşim
<i>S. aureus</i> ÇİDB	0,248/0,250	0,498	Sinerji
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	0,500/0,031	0,531	Kısmi sinerji
<i>S. aureus</i> ATCC 43300	0,250/0,250	0,500	Sinerji
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	0,500/0,031	0,531	Kısmi sinerji
<i>E. faecium</i> ATCC 6057	0,250/0,250	0,500	Sinerji
<i>L. monocytogenes</i> F 1483	0,250/0,248	0,498	Sinerji

CZUY-klindamisin kombinasyonunun, *S. aureus* ATCC 29213 ve *L. monocytogenes* F 1483 kökenleri için sinerji, *S. aureus* ÇİDB, *E. faecalis* ATCC

29212 ve *E. faecium* ATCC 6057 için kısmi sinerji oluşturduğu, *S. aureus* ATCC 43300 kökeni için de etkisiz olduğu bulundu. (Tablo 4.14)

Tablo 4.14. CZUY-klindamisin kombinasyon sonuçları.

Bakteriler	FİK _{UY} /FİK _{ANT}	FİKİ	Etkileşim
<i>S. aureus</i> ÇİDB	0,500/0,125	0,625	Kısmi sinerji
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	0,125/0,124	0,249	Sinerji
<i>S. aureus</i> ATCC 43300	1,000/0,004	1,004	Indifferent
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	0,500/0,031	0,531	Kısmi sinerji
<i>E. faecium</i> ATCC 6057	0,500/0,031	0,531	Kısmi sinerji
<i>L. monocytogenes</i> F 1483	0,250/0,124	0,374	Sinerji

CZUY-basitrasin kombinasyonunda test edilen tüm Gram pozitif kökenlere karşı sinerji bulundu (Tablo 4.15).

Tablo 4.15. CZUY-basitrasin kombinasyon sonuçları.

Bakteriler	FİK _{UY} /FİK _{ANT}	FİKİ	Etkileşim
<i>S. aureus</i> ÇİDB	0,248/0,125	0,372	Sinerji
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	0,125/0,250	0,375	Sinerji
<i>S. aureus</i> ATCC 43300	0,125/0,125	0,250	Sinerji
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	0,125/0,125	0,250	Sinerji
<i>E. faecium</i> ATCC 6057	0,062/0,125	0,187	Sinerji
<i>L. monocytogenes</i> F 1483	0,124/0,125	0,249	Sinerji

4.9. Cinnamaldehyde-Antibiyotik Kombinasyon Sonuçları

Uçucu yağ içeriğinde majör bileşen olan cinnamaldehyde'in topikal antibiyotiklerle olan kombinasyon ilişkisi *checkerboard* yöntemi ile belirlendi. Cinnamaldehyde-gentamisin kombinasyonu incelendiğinde, *S. aureus* ÇİDB, *S. aureus* ATCC 29213, *S. aureus* ATCC 43300, *E. faecalis* ATCC 29212, *E. faecium* ATCC 6057, *L. monocytogenes* F 1483, *E. coli* ATCC 25922, *K. pneumoniae* ATCC 70603 ve *S. Typhimurium* ATCC 14028 kökenleri için sinerji, *K. pneumoniae* ÇİDB, *S. maltophilia* ATCC 17666 ve *A. lwoffii* ATCC 19002 kökenleri için kısmi sinerji saptanırken sadece *P. aeruginosa* ATCC 27853 kökeni için etkisiz bulundu (Tablo 4.16).

Tablo 4.16. Cinnamaldehyde-gentamisin kombinasyon sonuçları.

Bakteriler	FİK _{UY} /FİK _{ANT}	FİKİ	Etkileşim
<i>S. aureus</i> ÇİDB	0,125/0,062	0,187	Sinerji
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	0,124/0,248	0,372	Sinerji
<i>S. aureus</i> ATCC 43300	0,124/0,125	0,249	Sinerji
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	0,124/0,250	0,374	Sinerji
<i>E. faecium</i> ATCC 6057	0,124/0,250	0,374	Sinerji
<i>L. monocytogenes</i> F 1483	0,248/0,248	0,496	Sinerji
<i>E. coli</i> ATCC 25922	0,248/0,250	0,498	Sinerji
<i>K. pneumoniae</i> ÇİDB	0,500/0,004	0,504	Kısmi sinerji
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 700603	0,242/0,250	0,492	Sinerji
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	1,000/0,031	1,031	Indifferent
<i>S. Typhimurium</i> ATCC 14028	0,250/0,031	0,281	Sinerji
<i>S. maltophilia</i> ATCC 17666	0,496/0,016	0,512	Kısmi sinerji
<i>A. lwoffii</i> ATCC 19002	0,242/0,500	0,742	Kısmi sinerji

Cinnamaldehyde-tekrasiklin kombinasyon sonuçları değerlendirildiğinde test edilen tüm Gram pozitif kökenler ile *K. pneumoniae* ÇİDB kökeni için sinerji saptanırken diğer Gram negatif kökenler için ise kısmi sinerji görüldü (Tablo 4.17).

Tablo 4.17. Cinnamaldehyde-tetrasiklin kombinasyon sonuçları.

Bakteriler	FİK _{UY} /FİK _{ANT}	FİKİ	Etkileşim
<i>S. aureus</i> ÇİDB	0,125/0,062	0,187	Sinerji
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	0,250/0,248	0,498	Sinerji
<i>S. aureus</i> ATCC 43300	0,124/0,125	0,249	Sinerji
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	0,062/0,250	0,312	Sinerji
<i>E. faecium</i> ATCC 6057	0,250/0,250	0,500	Sinerji
<i>L. monocytogenes</i> F 1483	0,250/0,250	0,500	Sinerji
<i>E. coli</i> ATCC 25922	0,500/0,015	0,515	Kısmi sinerji
<i>K. pneumoniae</i> ÇİDB	0,250/0,250	0,500	Sinerji
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 700603	0,500/0,031	0,531	Kısmi sinerji
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	0,500/0,031	0,531	Kısmi sinerji
<i>S. Typhimurium</i> ATCC 14028	0,500/0,125	0,625	Kısmi sinerji
<i>S. maltophilia</i> ATCC 17666	0,500/0,062	0,562	Kısmi sinerji
<i>A. lwoffii</i> ATCC 19002	0,500/0,016	0,516	Kısmi sinerji

Cinnamaldehyde-neomisin kombinasyonu için test edilen tüm Gram pozitif kökenlerde sinerji saptanmıştır (Tablo 4.18).

Tablo 4.18. Cinnamaldehyde-neomisin kombinasyon sonuçları.

Bakteriler	FİK _{UY} /FİK _{ANT}	FİKİ	Etkileşim
<i>S. aureus</i> ÇİDB	0,250/0,062	0,312	Sinerji
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	0,248/0,248	0,496	Sinerji
<i>S. aureus</i> ATCC 43300	0,248/0,062	0,310	Sinerji
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	0,250/0,031	0,281	Sinerji
<i>E. faecium</i> ATCC 6057	0,248/0,125	0,373	Sinerji
<i>L. monocytogenes</i> F 1483	0,248/0,248	0,496	Sinerji

Cinnamaldehyde-fusidik asit kombinasyon sonuçları değerlendirildiğinde, *S. aureus* ÇİDB kökeni için sinerji ve etkisiz olunan *S. aureus* ATCC 29213 kökeni dışında diğer kökenler için ise kısmi sinerji saptandı (Tablo 4.19).

Tablo 4.19. Cinnamaldehyde-fusidik asit kombinasyon sonuçları.

Bakteriler	FİK _{UY} /FİK _{ANT}	FİKİ	Etkileşim
<i>S. aureus</i> ÇİDB	0,250/0,250	0,500	Sinerji
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	0,500/0,500	1,000	Indifferent
<i>S. aureus</i> ATCC 43300	0,500/0,062	0,562	Kısmi sinerji
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	0,500/0,062	0,562	Kısmi sinerji
<i>E. faecium</i> ATCC 6057	0,500/0,062	0,562	Kısmi sinerji
<i>L. monocytogenes</i> F 1483	0,500/0,015	0,515	Kısmi sinerji

Cinnamaldehyde-mupirosin kombinasyon sonuçları değerlendirildiğinde, test edilen tüm Gram pozitif kökenlerde kısmi sinerji saptandı (Tablo 4.20).

Tablo 4.20. Cinnamaldehyde-mupirosin kombinasyon sonuçları.

Bakteriler	FİK _{UY} /FİK _{ANT}	FİKİ	Etkileşim
<i>S. aureus</i> ÇİDB	0,500/0,062	0,562	Kısmi sinerji
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	0,500/0,030	0,530	Kısmi sinerji
<i>S. aureus</i> ATCC 43300	0,500/0,030	0,530	Kısmi sinerji
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	0,500/0,016	0,516	Kısmi sinerji
<i>E. faecium</i> ATCC 6057	0,500/0,015	0,515	Kısmi sinerji
<i>L. monocytogenes</i> F 1483	0,124/0,500	0,624	Kısmi sinerji

Cinnamaldehyde-eritromisin kombinasyonunun, *S. aureus* ÇİDB ve *S. aureus* ATCC 43300 kökeni için sinerji, *E. faecalis* ATCC 29212 ve *L. monocytogenes* F

1483 kökenleri için kısmi sinerji, *S. aureus* ATCC 29213 kökeni için aditif etki oluştururken, *E. faecium* ATCC 6057 kökeni için etkisiz olduğu saptandı (Tablo 4.21).

Tablo 4.21. Cinnamaldehyde-eritromisin kombinasyon sonuçları.

Bakteriler	$FİK_{UY}/FİK_{ANT}$	FİKİ	Etkileşim
<i>S. aureus</i> ÇİDB	0,250/0,250	0,500	Sinerji
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	0,500/0,500	1,000	Aditif etki
<i>S. aureus</i> ATCC 43300	0,015/0,250	0,265	Sinerji
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	0,250/0,500	0,750	Kısmi sinerji
<i>E. faecium</i> ATCC 6057	1,000/0,031	1,031	Indifferent
<i>L. monocytogenes</i> F 1483	0,250/0,496	0,746	Kısmi sinerji

Cinnamaldehyde-klindamisin kombinasyonu, *E. faecium* ATCC 6057 ve *L. monocytogenes* F 1483 kökeni için sinerji, *S. aureus* ÇİDB, *S. aureus* ATCC 29213 ve *E. faecalis* ATCC 29212 kökeni için kısmi sinerji oluştururken, *S. aureus* ATCC 43300 kökeni için etkisiz olduğu görüldü (Tablo 4.22).

Tablo 4.22. Cinnamaldehyde-klindamisin kombinasyon sonuçları.

Bakteriler	$FİK_{UY}/FİK_{ANT}$	FİKİ	Etkileşim
<i>S. aureus</i> ÇİDB	0,500/0,004	0,504	Kısmi sinerji
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	0,500/0,062	0,562	Kısmi sinerji
<i>S. aureus</i> ATCC 43300	1,000/0,031	1,031	Indifferent
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	0,500/0,015	0,515	Kısmi sinerji
<i>E. faecium</i> ATCC 6057	0,124/0,120	0,244	Sinerji
<i>L. monocytogenes</i> F 1483	0,250/0,062	0,312	Sinerji

Cinnamaldehyde-basitrasin kombinasyon çalışmasında *S. aureus* ÇİDB ve *E. faecalis* ATCC 29212 kökeni için sinerji görülürken diğer kökenler için kısmi sinerji saptandı (Tablo 4.23).

Tablo 4.23. Cinnamaldehyde-basitrasin kombinasyon sonuçları.

Bakteriler	FIK _{UY} /FIK _{ANT}	FIKİ	Etkileşim
<i>S. aureus</i> ÇİDB	0,125/0,125	0,250	Sinerji
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	0,500/0,031	0,531	Kısmi sinerji
<i>S. aureus</i> ATCC 43300	0,500/0,031	0,531	Kısmi sinerji
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	0,125/0,250	0,375	Sinerji
<i>E. faecium</i> ATCC 6057	0,500/0,062	0,562	Kısmi sinerji
<i>L. monocytogenes</i> F 1483	0,500/0,031	0,531	Kısmi sinerji

4.10. Cinnamaldehyde ve *Cinnamomum zeylanicum* Uçucu Yağında Bulunan Diğer Bileşenlerin Kombinasyon Sonuçları

CZUY'nın majör bileşeni cinnamaldehyde ile diğer bileşenlerin antibakteriyel aktivite açısından ilişkisinin anlaşılması için kombinasyon çalışmaları *checkerboard* yöntemiyle yapıldı. Total yağın majör bileşeni olan cinnamaldehyde ile cinnamyl asetat, benzaldehide, eucalyptol ve α -terpinen'in birbiri ile olan ilişkileri test edildi.

Tablo 4.24. Cinnamaldehyde-benzaldehide kombinasyon sonuçları.

Bakteriler	FIK _{UY} /FIK _{ANT}	FIKİ	Etkileşim
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	0,250/0,250	0,500	Sinerji
<i>S. aureus</i> ATCC 43300	0,248/0,250	0,498	Sinerji
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	0,500/0,250	0,750	Kısmi sinerji
<i>E. faecium</i> ATCC 6057	0,250/1,000	1,250	Indifferent
<i>L. monocytogenes</i> F 1483	0,113/0,250	0,363	Sinerji
<i>E. coli</i> ATCC 25922	0,124/0,250	0,374	Sinerji
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 700603	0,062/0,250	0,281	Sinerji
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	0,250/0,250	0,500	Sinerji
<i>S. Typhimurium</i> ATCC 14028	0,248/0,250	0,498	Sinerji
<i>S. maltophilia</i> ATCC 17666	0,062/0,500	0,562	Kısmi sinerji
<i>A. lwoffii</i> ATCC 19002	0,062/1,000	1,062	Indifferent

Cinnamaldehyde-benzaldehide kombinasyonunun, *S. aureus* ATCC 29213, *S. aureus* ATCC 43300, *L. monocytogenes* F 1483, *E. coli* ATCC 25922, *K. pneumoniae* ATCC 700603, *P. aeruginosa* ATCC 27853 ve *S. Typhimurium* ATCC 14028 kökenleri için sinerji, *E. faecalis* ATCC 29212 ve *S. maltophilia* ATCC 17666 kökenleri için kısmi sinerji oluştururken, *E. faecium* ATCC 6057 ve *A. lwoffii* ATCC 19002 kökenleri için etkisiz olduğu saptandı (Tablo 4.24).

Cinnamaldehyde-eucalyptol kombinasyonunun, *S. aureus* ATCC 29213 ve *S. aureus* ATCC 43300 kökenleri için sinerji, *E. faecalis* ATCC 29212, *E. faecium* ATCC 6057, *L. monocytogenes* F 1483, *E. coli* ATCC 25922, *S. Typhimurium* ATCC 14028 ve *A. lwoffii* ATCC 19002 kökenleri için kısmi sinerji oluştururken, *K. pneumoniae* ATCC 700603, *P. aeruginosa* ATCC 27853 ve *S. maltophilia* ATCC 17666 kökenleri için etkisiz olduğu saptandı (Tablo 4.25).

Cinnamaldehyde- α -terpinen kombinasyonunun, *E. coli* ATCC 25922 kökeni için sinerji, *L. monocytogenes* F 1483 ve *P. aeruginosa* ATCC 27853 kökenleri için kısmi sinerji oluştururken, *S. aureus* ATCC 29213, *S. aureus* ATCC 43300, *E. faecalis* ATCC 29212, *E. faecium* ATCC 6057, *K. pneumoniae* ATCC 700603, *S. Typhimurium* ATCC 14028, *S. maltophilia* ATCC 17666 ve *A. lwoffii* ATCC 19002 kökenleri için etkisiz olduğu saptandı (Tablo 4.26).

Tablo 4.25. Cinnamaldehyde-eucalyptol kombinasyon sonuçları.

Bakteriler	$F_{IK_{UY}}/F_{IK_{ANT}}$	F_{IKI}	Etkileşim
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	0,124/0,250	0,374	Sinerji
<i>S. aureus</i> ATCC 43300	0,124/0,250	0,374	Sinerji
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	0,031/0,500	0,531	Kısmi sinerji
<i>E. faecium</i> ATCC 6057	0,125/0,500	0,625	Kısmi sinerji
<i>L. monocytogenes</i> F 1483	0,062/0,500	0,562	Kısmi sinerji
<i>E. coli</i> ATCC 25922	0,125/0,500	0,625	Kısmi sinerji
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 700603	1,000/0,007	1,007	Indifferent
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	1,000/0,031	1,031	Indifferent
<i>S. Typhimurium</i> ATCC 14028	0,500/0,125	0,625	Kısmi sinerji
<i>S. maltophilia</i> ATCC 17666	0,244/1,000	1,244	Indifferent
<i>A. lwoffii</i> ATCC 19002	0,240/0,500	0,740	Kısmi sinerji

Tablo 4.26. Cinnamaldehyde- α -terpinene kombinasyon sonuçları.

Bakteriler	FİK _{UY} /FİK _{ANT}	FİKİ	Etkileşim
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	1,000/0,015	1,015	Indifferent
<i>S. aureus</i> ATCC 43300	2,000/0,015	2,015	Indifferent
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	1,000/0,008	1,008	Indifferent
<i>E. faecium</i> ATCC 6057	1,000/0,008	1,008	Indifferent
<i>L. monocytogenes</i> F 1483	0,062/0,500	0,562	Kısmi sinerji
<i>E. coli</i> ATCC 25922	0,248/0,250	0,498	Sinerji
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 700603	1,000/0,015	1,015	Indifferent
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	0,124/0,500	0,624	Kısmi sinerji
<i>S. Typhimurium</i> ATCC 14028	1,000/0,016	1,016	Indifferent
<i>S. maltophilia</i> ATCC 17666	0,031/1,000	1,031	Indifferent
<i>A. lwoffii</i> ATCC 19002	0,031/1,000	1,031	Indifferent

Cinnamaldehyde-cinnamyl asetate kombinasyonun ise, *E. faecalis* ATCC 29212 ve *S. Typhimurium* ATCC 14028 kökenlerinde kısmi sinerji oluşturduğu, *A. lwoffii* ATCC 19002 kökeninde aditif, *S. aureus* ATCC 29213, *S. aureus* ATCC 43300, *E. faecium* ATCC 6057, *L. monocytogenes* F 1483, *E. coli* ATCC 25922, *K. pneumoniae* ATCC 700603, *P. aeruginosa* ATCC 27853 ve *S. maltophilia* ATCC 17666 kökenlerinde ise etkisiz olduğu saptandı (Tablo 4.27).

Tablo 4.27. Cinnamaldehyde-cinnamyl asetate kombinasyon sonuçları.

Bakteriler	FİK _{UY} /FİK _{ANT}	FİKİ	Etkileşim
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	0,062/1,000	1,062	Indifferent
<i>S. aureus</i> ATCC 43300	0,062/1,000	1,062	Indifferent
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	0,500/0,062	0,562	Kısmi sinerji
<i>E. faecium</i> ATCC 6057	1,000/0,031	1,031	Indifferent
<i>L. monocytogenes</i> F 1483	1,000/0,125	1,125	Indifferent
<i>E. coli</i> ATCC 25922	1,000/0,015	1,015	Indifferent
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 700603	1,000/0,250	1,250	Indifferent
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	1,000/0,062	1,062	Indifferent
<i>S. Typhimurium</i> ATCC 14028	0,500/0,016	0,516	Kısmi sinerji
<i>S. maltophilia</i> ATCC 17666	1,000/0,031	1,031	Indifferent
<i>A. lwoffii</i> ATCC 19002	0,500/0,500	1,000	Aditif etki

5. TARTIŞMA

Tıptaki ilerlemeye bağılı olarak yaşam süresinin uzamasıyla birlikte bakteriyel enfeksiyonlar çoğalmakta ve enfeksiyona neden olan bakterilerin antibiyotiklere direnci de paralel olarak artmaktadır. Bu bakımdan antibiyotik direnci, sağıık maliyetlerini ve mortalite oranlarını arttırarak ciddi bir sağıık sorunu oluşturmaktadır (Giske ve ark., 2008).

Son yıllarda, alternatif antimikrobiyal maddelerin kullanımı da dâhil olmak üzere dirençli patojenlerin yayılmasını kontrol etmek için önemli çalışmalar yapılmaktadır (Ünlü ve ark. 2010; Orchard A, 2017). Bu çalışmaların birçoğıu da uçucu yağları temel almaktadır. Uçucu yağlar çeşitli bitkilerden elde edilen ve geniş bir mikroorganizma yelpazesine karşı antimikrobiyal etkileri kanıtlanmış olan doğal ürünlerdir (Burt, 2004; Becerril ve ark., 2007; Tajkarimi ve ark., 2010).

5.1. CZUY'nın GC-MS analizi

Çalışmamızda *Cinnamomum zeylanicum* uçucu yağının GC-MS analizinde %57.41 ile major bileşen olarak saptanan cinnamaldehyde'in daha önceki çalışmalardaki oranının %50,5-97,7 aralığında değııştiğı bildirilmiştir (Paranagama ve ark., 2001; Simic ve ark., 2004; Singh ve ark., 2007; Shahverdi ve ark., 2007; Ünlü ve ark., 2010; Vangalapati ve ark., 2012; Sienkiewics ve ark., 2014; Hadri ve ark., 2014; Raesi ve ark., 2015; Abbaszedagan ve ark., 2016).

CZUY'nda %31,65 oranında saptadığımız ikinci bileşen, cinnamyl asetat, Panaragama ve ark. (2001) tarafından %8,78, Hadri ve ark. (2014) tarafından %8,6, Ünlü ve ark. (2010) tarafından %7,44, Sienkiewicz ve ark. (2014) tarafından %3,2, Chericoni ve ark. (2005) tarafından %2,8, Raesi ve ark. (2015) tarafından %1,58, Simic ve ark. (2004) tarafından %0,32 olarak bildirilirken, Abbaszedagan ve ark. (2016) ile Singh ve ark. (2007) tarafından cinnamyl asetat saptanmamıştır.

CZUY'nda %3,75 oranında saptadığımız coumarin, Panaragama ve ark. (2001) tarafından %0,36 olarak bildirilmiştir. Bazı çalışmalarda CZUY'nın GC-MS

analizlerinde coumarin rapor edilmemiştir (Ünlü ve ark., 2014; Chericoni ve ark., 2005; Simic ve ark., 2004; Raesi ve ark., 2015; Singh ve ark., 2007; Abbaszedagan ve ark., 2016).

CZUY'nda %1,89 oranında saptadığımız isoborneol, Panaragama ve ark. (2001) tarafından %0,08 olarak bildirilirken, yapılan bir çok çalışmada CZUY'nda isoborneol bileşenin saptanmadığı görülmüştür (Ünlü ve ark., 2010; Simic ve ark., 2004; Singh ve ark., 2007; Chericoni ve ark., 2005; Abbaszedagan ve ark., 2016; Raesi ve ark., 2015; Shahverdi ve ark., 2007).

Çalışmamızda %1,38 olarak saptanan α -copaene, Abbaszedagan ve ark., (2016) tarafından %8,47, Shahverdi ve ark. (2007) tarafından %2,43, Raesi ve ark. (2015), tarafından %1,31, Singh ve ark. (2007), tarafından %0,8, Chericoni ve ark. (2005) tarafından %0,7, Hadri ve ark. (2014) tarafından %0,22, Simic ve ark. (2004) tarafından %0,09 olarak saptanırken, Ünlü ve ark. (2010) ile Paraganama ve ark. (2001) α -copaene'in saptanmadığını bildirmiştir.

GC-MS analizimizde %1,38 olarak saptanan trans-caryophyllene, Paraganama ve ark. (2001) ile Chericoni ve ark. (2005) tarafından sırasıyla, %8 ve %2,8 olarak bildirilirken, Ünlü ve ark., (2010), Simic ve ark., (2004), Singh ve ark., (2007), Abbaszedagan ve ark., (2016) ve Raesi ve ark., (2015) tarafından trans-caryophyllene saptanmamıştır.

GC-MS analizimizde α -terpinene oranı %0,71 olarak saptanmıştır. Paraganama ve ark., (2001), çalışmalarında α -terpinene oranını %1,30 olarak rapor etmiştir. Bir çok çalışmada CZUY içeriğinde α -terpinene bildirilmemiştir (Ünlü ve ark., 2010; Simic ve ark., 2004; Singh ve ark., 2007; Chericoni ve ark., 2005; Abbaszedagan ve ark., 2016; Raesi ve ark., 2015; Shahverdi ve ark., 2007; Freire ve ark., 2011).

GC-MS analizimizde %0,32 olarak saptanan eucalyptol, Paraganama ve ark. (2001), Chericoni ve ark. (2005) ve Ünlü ve ark. (2010) tarafından sırasıyla, %4,60, %0,2 ve %1,55 olarak bildirilirken, Simic ve ark., (2004), Singh ve ark., (2007), Abbaszedagan ve ark., (2016), Raesi ve ark., (2015), Shahverdi ve ark., (2007),

Freire ve ark., (2011), Hadri ve ark., (2014) ve Sienkiewicz ve ark., (2014) tarafından eucalyptol saptanmamıştır.

GC-MS analizimizde %0,08 olarak saptanan d-limonene, Ünlü ve ark. (2010), Simic ve ark. (2004) ve Paranagama ve ark., (2001) tarafından sırasıyla, %4,42, %8,31 ve %1,2 olarak bildirilirken, Singh ve ark., (2007), Abbaszedagan ve ark., (2016), Raesi ve ark., (2015), Shahverdi ve ark., (2007), Chericoni ve ark., (2005), Freire ve ark., (2011), Hadri ve ark., (2014) ve Sienkiewicz ve ark., (2014) tarafından d-limonene saptanmamıştır.

GC-MS analizimizde %0,07 olarak saptanan benzaldehyde, Ünlü ve ark. (2010), Raesi ve ark., (2015), Simic ve ark. (2004), Paranagama ve ark., (2001) ve Chericoni ve ark., (2005) tarafından sırasıyla, %9,94, %1,71, %1,66, %0,61 ve %0,2 olarak bildirilirken, Singh ve ark., (2007), Abbaszedagan ve ark., (2016), Shahverdi ve ark., (2007); Freire ve ark., (2011), Hadri ve ark., (2014) ve Sienkiewicz ve ark., (2014) tarafından benzaldehyde saptanmamıştır.

CZUY'nın bileşimi, coğrafi, mevsimsel, iklimsel, tür düzeyinde ve yağ çıkarma yöntemlerindeki farklılıklara göre değişiklik göstermektedir (Santoyo ve ark, 2006). GC-MS verileri karşılaştırıldığında, CZUY bileşenleri ve miktarlarının oldukça farklılık gösterdiği açıkça görülmektedir. Ancak CZUY'nın majör bileşeni olan cinnamaldehyde, yapılan tüm çalışmalarda oransal olarak değişmekle birlikte, varlığını koruduğu gözlenmekte ve buna bağlı olarak ta CZUY'nın antibakteriyel etkinliğinde farklılıklar görülebilmektedir (Bassolé ve Juliani, 2012).

5.2. CZUY'nın Antibakteriyel Etkinliği

Uçucu yağın antibakteriyel etkinliği disk difüzyon ve mikrodilüsyon yöntemi kullanılarak saptanmıştır. CZUY, 1-1/512 aralığında olmak üzere DMSO kullanılarak dilüe edilirken, bileşenlerin de 256mg/ml olacak şekilde DMSO ile stok solüsyonları hazırlandı. Stok bileşen çözeltileri ve CZUY'nın seri dilüsyonlarından her biri, çapı 6mm olan standart disklerle 15µl olarak emdirildi. Disklerdeki bileşenlerin miktarı 3,84mg olacak şekilde hesaplandı.

Uçucu yağın disk difüzyon sonuçları değerlendirildiğinde *S. aureus* ÇİDB, *S. aureus* ATCC 29213 ve *S. aureus* ATCC 43300 kökenlerinde sırasıyla 22, 35 ve 36mm inhibisyon zonu saptanmıştır. Klinik örnekten izole ettiğimiz çoklu ilaç direncine sahip kökenin inhibisyon zonu standart kökenlerden düşük bulunmuştur. Yapılan diğer çalışmalara bakıldığında, Ünlü ve ark. (2010) ile Herman ve ark. (2013), 6mm çapındaki disklerle 15µl uçucu yağ emdirerek yaptıkları çalışmalarda, *S. aureus* ATCC 29213 kökeni için inhibisyon zonunu, sırasıyla >40 ve 44mm olarak bildirmiştir. Raesi ve ark. (2015) ile Dubey ve ark. (2005), 6mm çapındaki disklerle 10µl uçucu yağ emdirerek yaptıkları çalışmalarda ve inhibisyon zonunu *S. aureus* ATCC 6538 kökeni ve *S. aureus* kökeni için, sırasıyla 28,5 ve 27,6mm olarak bildirmiştir. Elumalai ve ark. (2010) ise, çalışmasında çapı belirsiz disklerle hava kurutucu kullanarak ve desikatörde bekleterek 100µl uçucu yağ emdirmiş ve *S. aureus* kökeni için inhibisyon zonunu 34mm olarak rapor etmiştir. Hadri ve ark. (2014) ile Prabuseenivasan ve ark. (2006) ise, 6mm çapındaki disklerle 50µl uçucu yağ emdirerek yaptıkları çalışmalarda ve inhibisyon zonunu *S. aureus* klinik kökeni ve *S. aureus* ATCC 25923 kökeni için, sırasıyla 30,5 ve 20,8mm olarak bildirmiştir. Bu tip çalışmalarda, standart yöntemler yerine farklı yöntemlerin tercih edilmesi, verilerin karşılaştırılması ve tartışılmasında zorluklar yaratmakta, standart yöntemlerin kullanılması gerekliliğini ortaya koymaktadır. Bu değerlendirme, tartışmada atıf yapılan kaynaklarla gözlenen farklı sonuçları büyük ölçüde açıklamakta olup, ilgili kısımlarda sadece yöntemsel farklılıklar ve uçucu yağ içeriklerine vurgu yapılacaktır.

CZUY'nın 1-1/512 aralığında hazırlanan dilüsyonlarının antibakteriyel etkinliğinin, *S. aureus* ATCC 29213 ve *S. aureus* ATCC 43300 kökenleri için 1/64 dilüsyona kadar sürdüğü saptanmış, 1/32 dilüsyonda iki köken için, sırasıyla 16 ve 13mm inhibisyon zonu gözlenmiştir. Dubey ve ark. (2005), CZUY'nın 1, 1/5-1/35 arasında hazırladığı dilüsyonları standart disklerle 10µl emdirmiş, *S. aureus* kökeni için 1/35 dilüsyonda inhibisyon zonunu 7mm olarak bildirmiştir. Farklı bir çalışmada, Prabuseenivasan ve ark. (2006), CZUY'nın 1, 1/5, 1/10 ve 1/20 oranlarında hazırladığı dilüsyonlarını standart disklerle 50µl emdirmiş, *S. aureus* ATCC 25923 kökeni için 1/20 dilüsyonda inhibisyon zonunu 13,7mm olarak bildirmiştir. Dilüsyon aralığı ve diske emdirilen CZUY miktarının farklı olması nedeniyle, her iki çalışma ile de sağlıklı bir kıyaslama yapmak mümkün olmamıştır.

Çalışmamızda, *S. aureus* ÇİDB, *S. aureus* ATCC 29213 ve *S. aureus* ATCC 43300 kökenlerinin minimum inhibisyon konsantrasyon (MİK) değeri her bir köken için 0,5mg/ml ve minimum bakterisidal konsantrasyon (MBK) değerleri ise ilk iki köken için 2mg/ml, son köken için 4mg/ml olarak bulunmuştur. CZUY içindeki cinnamaldehyde miktarının belirtilmediği Becerril ve ark. (2007) tarafından yapılan çalışmada, CZUY'nın antibakteriyel etkisi test edilmiş ve *S. aureus* ATCC 29213 kökeni için MİK değeri 0.370mg/ml, MBK değeri ise 0.640mg/ml olarak rapor edilmiştir. Yapılan diğer çalışmalara bakıldığında, Ünlü ve ark. (2010), *S. aureus* ATCC 29213 kökeni için MİK değerini 0.56mg/ml ve Raesi ve ark. (2015) *S. aureus* ATCC 6538 kökeni için MİK ve MBK değerini 0.625mg/ml olarak bildirmiştir. Verilerimiz, bizden daha yüksek cinnamaldehyde içerikli yağ kullanan Ünlü ve ark. (2010) ile Raesi ve ark. (2015) verileri ile uyumlu bulunurken, Becerril ve ark. (2007) daha düşük MİK ve MBK değerleri saptamıştır.

E. faecalis ATCC 29212 ve *E. faecium* ATCC 6057 kökenlerine karşı CZUY'nın antibakteriyel aktivitesi disk difüzyon yöntemiyle çalışıldığında, inhibisyon zonları, sırasıyla 21 ve 34 mm olarak bulunmuştur. Ünlü ve ark. (2010), *E. faecalis* ATCC 29212 ve *E. faecium* ATCC 6057 kökenleri için 30mm inhibisyon zonu bildirmiştir. Abbaszedegan ve ark. (2016)'nın standart disklere emdirilen uçucu yağ miktarını belirtmediği çalışmasında, *E. faecalis* ATCC 29212 kökeni için 25mm inhibisyon zonu bildirmiştir. Revati ve ark. (2013), çeşitli klinik örneklerden izole ettikleri yüksek düzey gentamisin direnci gösteren 148 enterokok (102'si *E. faecalis*, 42'si *E. faecium*, 2'si *E. avium*, 1'i *E. durans* ve 1' i *E. raffinosus*) kökeni kullanarak yaptıkları çalışmada CZUY'nın antibakteriyel etkinliğini agar kuyucuk difüzyon yöntemiyle test etmiş, 6mm çapındaki kuyucuklara 50µl uçucu yağ pipetleyerek, inhibisyon zon aralığını 31-34mm olarak bildirmiştir. Disk difüzyon sonuçlarımız, çalışmasında standart yöntemler kullanan Ünlü ve ark. (2010)'nın sonuçları ile uyumlu bulunmuştur. Sonuçlarımız, Abbaszedegan ve ark. (2016) ile Revati ve ark. (2013)'nin sonuçları ile uyumludur ancak bu çalışmalarda farklı yöntem kullanılmasından dolayı sağlıklı bir karşılaştırma yapılamamıştır.

CZUY'nın enterokok türlerine ait MİK değerleri her iki köken için 1mg/ml ve MBK değerleri ise 8mg/ml olarak bulunmuştur. Ünlü ve ark. (2010), çalışmasında *E. faecalis* ATCC 29212 ve *E. faecium* ATCC 6057 kökenlerinin her biri için MİK

değerini 1,12mg/ml olarak saptamıştır. Abbaszedegan ve ark. (2016) ise, *E. faecalis* ATCC 29212 kökeni için MİK değerini 0.01mg/ml, MBK değerini ise 0.100mg/ml olarak bildirmiştir. Enterokoklar için verilerimiz, Ünlü ve ark. (2010) ile benzer değerlerde olmasına rağmen Abbaszedegan ve ark. (2016) oldukça düşük MİK ve MBK değerleri bildirmiştir. Bu farklılığın, Abbaszedegan ve ark. (2016) tarafından kullanılan CZUY’nda bulunan cinnamaldehyde oranının (%77,19) daha yüksek olması ve/veya içeriğin farklı olması ile ilgili olabileceği düşünülmüştür.

L. monocytogenes F1483 kökeni için, CZUY’nın disk difüzyon verileri incelendiğinde, 33mm inhibisyon zonu saptanırken antibakteriyel etkinliğin 1/16 dilüsyona (16mm) kadar sürdüğü görülmüştür. MİK ve MBK değerleri ise, sırasıyla 0.5mg/ml ve 2mg/ml olarak bulunmuştur. CZUY’ni aynı köken üzerinde deneyen Ünlü ve ark. (2010), inhibisyon zonu ile MİK değerini 35mm ile 0.56mg/ml olarak bildirmiştir.

E. coli ATCC 25922 kökeni için disk difüzyon verileri değerlendirildiğinde, 26mm inhibisyon zonu saptanmıştır. Diğer çalışmalar incelendiğinde, Ünlü ve ark.(2010) ile Herman ve ark. (2013), çalışmalarında kullandıkları standart disklerle 15µl uçucu yağ emdirmiş ve *E. coli* ATCC 25922 kökeni için inhibisyon zonlarını 26 ve 32mm olarak bildirmiştir. Prabuseenivasan ve ark. (2006) çalışmasında standart disklerle 50µl uçucu yağ emdirmiş ve aynı köken için 29,8mm inhibisyon zonu bildirmiştir. Raesi ve ark. (2015) ile Dubey ve ark. (2005) ise çalışmalarında standart disklerle 10µl uçucu yağ emdirmiş ve *E. coli* ATCC 43894 kökeni ve *E. coli* kökeni için 21,7 ve 31,6mm inhibisyon zonu rapor etmiştir. Elumalai ve ark. (2010) ise çalışmasında çapı belirtilmemiş disklerle, hava kurutucu kullanarak ve desikatörde bekleterek 100µl uçucu yağ emdirmiş ve *E. coli* ATCC 11775 kökeni için 36mm inhibisyon zonu bildirmiştir. Senhaji ve ark. (2013) yaptıkları çalışmada, agar kuyucuk difüzyon yöntemini kullanmıştır. Araştırmacılar bu çalışmada 4mm çapındaki agar kuyucuklarına 10µl uçucu yağ pipetlemiş ve *E. coli* O157 H7, *E. coli* ATCC 25921, *E. coli* ATCC 25922 ve *E. coli* ATCC 11105 kökenleri için inhibisyon zonlarını sırasıyla 28, 25, 22 ve 20mm olarak raporlamıştır. Yapılan çalışmaların sonuçları, yöntemsel farklılıklar dikkate alındığında kıyaslanabilir bulunmuştur.

E. coli ATCC 25922 kökeni için antibakteriyel etkinliğin 1/32 dilüsyona (14mm) kadar sürdüğü görülmüştür. Dubey ve ark. (2005), CZUY’nın 1, 1/5-1/35

arasında hazırladığı dilüsyonları standart disklere 10 µl emdirmiş, *E. coli* kökeni için 1/35 dilüsyonda inhibisyon zonunu 6,3mm olarak bildirmiştir. Diğer bir çalışmada, Prabuseenivasan ve ark. (2006), CZUY'nın 1, 1/5, 1/10 ve 1/20 oranlarında hazırladığı dilüsyonlarını standart disklere 50µl emdirmiş, *E. coli* ATCC 25922 kökeni için, 1/20 dilüsyonda inhibisyon zonunu 21mm olarak bildirmiştir. Dilüsyon aralığı ve diske emdirilen CZUY miktarının farklı olması nedeniyle, her iki çalışma ile de sağlıklı bir kıyaslama yapmak mümkün olmamıştır.

Bu çalışmada, CZUY'nın *E. coli* ATCC 25922 kökeni için MİK ve MBK değerleri, 0,125 ve 0,25mg/ml olarak saptanmıştır. MİK ve MBK değerlerini, Becerril ve ark. (2007), aynı köken için, sırasıyla 0,28 ve 0.46mg/ml, Raesi ve ark. (2015), *E. coli* ATCC 43894 kökeni için, sırasıyla 2,5 ve 2,5mg/ml olarak belirlemiştir. Ünlü ve ark. (2010) *E. coli* ATCC 25922 kökeni için MİK değerini 1,12mg/ml olarak bildirirken, Senhaji ve ark. (2007) *E. coli* O157 H7, *E. coli* ATCC 25921, *E. coli* ATCC 25922 ve *E. coli* ATCC 11105 kökenleri için ilk ikisinin MİK değerini 0.625mg/ml, diğerleri için sırasıyla 1,25 ve 2,50mg/ml olarak bildirmiştir. MİK değerleri karşılaştırıldığında Becerril ve ark. (2007) ile Senhaji ve ark. (2007) çalışmaları ile benzer sonuçlar görülürken, diğer iki çalışmada daha yüksek MİK değerleri saptanmıştır.

K. pneumoniae ÇİDB ve *K. pneumoniae* ATCC 700603 kökenleri için disk difüzyon verilerimiz incelendiğinde, 20 ve 23mm inhibisyon zonu saptanmıştır. Ünlü ve ark. (2010) çalışmasında, *K. pneumoniae* ATCC 13883 kökeni için inhibisyon zonunu 21mm olarak bildirmiştir. Dubey ve ark. (2005), standart disklere 10µl uçucu yağ emdirmiş ve *K. pneumoniae* kökeni için inhibisyon zonunu 30,3mm olarak rapor etmiştir. Prabuseenivasan ve ark. (2006), ise standart disklere 50µl uçucu yağ emdirmiş, *K. pneumoniae* ATCC 15380 kökeni için inhibisyon zonunu 27,5mm olarak bildirmiştir. Elumalai ve ark. (2010) ise çalışmasında kullandıkları diskin boyutlarını belirtmemiştir. Bu çalışmada kullanılan disklere, hava kurutucu kullanarak ve desikatörde bekleterek 100µl uçucu yağ emdirilmiş ve *K. pneumoniae* kökeni için 38mm inhibisyon zonu saptanmıştır. Sonuçlarımız, Ünlü ve ark. (2010) verileri ile uyumlu bulunmuştur. Dubey ve ark. (2005) çalışmasında 10µl uçucu yağ emdirilmiş disk kullanılmasına rağmen bizim sonucumuzdan büyük inhibisyon zonu saptanmasının, bakteri kökenlerindeki farklılıktan kaynaklandığı düşünülmüştür.

Çalışmamızda CZUY'nın antibakteriyel etkinliği, *K. pneumoniae* ATCC 700603 kökeni için 1/32 dilüsyona (12mm) kadar sürmektedir. Dubey ve ark. (2005), CZUY'nın 1, 1/5-1/35 arasında hazırladığı dilüsyonları standart disklerle 10µl emdirmiş, *K. pneumoniae* kökeni için 1/35 dilüsyonda inhibisyon zonunu 6,3mm olarak bildirmiştir. Diğer bir çalışmada, Prabuseenivasan ve ark. (2006), CZUY'nın 1, 1/5, 1/10 ve 1/20 oranlarında hazırladığı dilüsyonlarını standart disklerle 50µl emdirmiş, *K. pneumoniae* ATCC 15380 kökeni için, 1/20 dilüsyonda inihibisyon zonunu 18,6mm olarak bildirmiştir. Dilüsyon aralığı ve diske emdirilen CZUY miktarının farklı olması nedeniyle, her iki çalışma ile de sağlıklı bir kıyaslama yapmak mümkün olmamıştır.

Bu çalışmada, CZUY'nın *K. pneumoniae* ÇİDB ve *K. pneumoniae* ATCC 700603 kökenlerinin her ikisi içinde MİK ve MBK değerleri 0,5 ve 1mg/ml olarak saptanmıştır. Ünlü ve ark. (2010), *K. pneumoniae* ATCC 13883 kökeni için MİK değerini 0,14mg/ml olarak bildirmiştir. CZUY'nın çalışmada kullandığımız çoklu ilaç direncine sahip *K. pneumoniae* ÇİDB ve *K. pneumoniae* ATCC 700603 kökenlerine karşı, aynı derecede antibakteriyel etki gösterdiği saptandı.

Bu çalışmada, *P. aeruginosa* ATCC 27853 kökeni için 22mm inhibisyon zonu saptanmıştır. Standart yöntemler kullanan Ünlü ve ark. (2010) ile Herman ve ark. (2013), *P. aeruginosa* ATCC 27853 kökeni için inhibisyon zonunu, sırasıyla 18 ve 24mm olarak bildirmiştir. Standart diske 50µl uçucu yağ emdiren, Prabuseenivasan ve ark. (2006) ise aynı köken için inhibisyon zonunu 33,3mm olarak bildirmiştir. *P. aeruginosa* ATCC 27853 kökeni için disk difüzyon verilerimiz, Ünlü ve ark. (2010) ile Herman ve ark. (2013) sonuçları ile uyumlu bulunmuştur. Prabuseenivasan ve ark. (2006)'nın çalışmasında ise, diske emdirilen CZUY miktarının 50µl olması nedeniyle inhibisyon zonu yüksek saptanmıştır.

Dilüe ettiğimiz CZUY'nın antibakteriyel etkinliğinin *P. aeruginosa* ATCC 27853 kökeni için 1/16 dilüsyona (15mm) kadar sürdüğü belirlenmiştir. Prabuseenivasan ve ark. (2006), CZUY'nın 1, 1/5, 1/10 ve 1/20 oranlarında hazırladığı dilüsyonlarını standart disklerle 50µl emdirmiş, *P. aeruginosa* ATCC 27853 kökeni için, 1/20 dilüsyonda inihibisyon zonunu 21mm olarak bildirmiştir. Dilüsyon aralığı ve diske emdirilen CZUY miktarının farklı olması nedeniyle, sözkonusu çalışma ile bir kıyaslama yapmak mümkün olmamıştır. *P. aeruginosa*

ATCC 27853 kökeni için MİK ve MBK değerleri 1mg/ml olarak belirlenmiştir. Aynı köken üzerinde yapılan başka bir çalışmada Ünlü ve ark. (2010) MİK değerini 0,28mg/ml olarak bildirmiştir. Sonuçlarımız ile Ünlü ve ark. (2010)'nın verileri ile uyumlu bulunmuştur.

Bu çalışmada, *S. Typhimurium* ATCC 14028 kökeni için 26mm inhibisyon zonu saptanmıştır. Ünlü ve ark. (2010), aynı köken için inhibisyon zonunu 25mm olarak bildirmiştir. Dubey ve ark. (2005) ise, 10µl uçucu yağ emdirilmiş standart disk kullanarak, *S. Typhi* kökeni için inhibisyon zonunu 28,3mm olarak bildirmiştir. *S. Typhimurium* ATCC 14028 kökeni için sonuçlarımız iki çalışma ile de uyumlu görünmektedir. Çalışmamızda, *S. Typhimurium* ATCC 14028 kökeni için CZUY'nın antibakteriyel etkinliğinin 1/32 dilüsyona (11mm) kadar sürdüğü saptanmıştır. Dubey ve ark. (2005), CZUY'nın 1, 1/5-1/35 arasında hazırladığı dilüsyonları standart disklerle 10µl emdirmiş, *S. Typhi* kökeni için 1/35 dilüsyonda inhibisyon zonunu 6,3mm olarak bildirmiştir. Diske emdirilen CZUY miktarının farklı olması nedeniyle, sözkonusu çalışma ile de sağlıklı bir kıyaslama yapmak mümkün olmamıştır. *S. Typhimurium* ATCC 14028 kökeni için MİK ve MBK değerlerimiz 0.125 ve 0.25mg/ml olarak belirlenmiştir. Ünlü ve ark. (2010) aynı köken üzerinde yaptıkları çalışmada sonuçlarımız ile uyumlu olarak MİK değerini 0.14mg/ml olarak bildirmiştir.

S. maltophilia ATCC 17666 kökeni için 50mm inhibisyon zonu saptanmış ve CZUY'nın 1/64 dilüsyona kadar antibakteriyel etkinliğinin sürdüğü görülmüştür. MİK ve MBK değerleri 0,062 ve 0,125mg/ml olarak saptanan *S. maltophilia* kökeni ile ilgili literatürde, CZUY'nın antibakteriyel etkinliğinin belirlendiği bir çalışma saptanmamıştır.

A. lwoffii ATCC 19002 kökeni için 40mm inhibisyon zonu saptanmış ve CZUY'nın 1/128 dilüsyona kadar antibakteriyel etkinliğinin sürdüğü görülmüştür. MİK ve MBK değeri 0.031 ve 0,125mg/ml olarak saptanan bu kökeni kullanan Ünlü ve ark. (2010) çalışmasında inhibisyon zonunu 37mm, MİK değerini ise <0,04mg/ml olarak rapor etmiştir. *A. lwoffii* ATCC 19002 kökeni için Ünlü ve ark. (2010)'nın verileri ile benzer sonuçlar elde edilmiştir.

CZUY için test edilen Gram negatif kökenlerin MİK değerleri incelendiğinde, bu kökenlerin Gram pozitif kökenlerden daha duyarlı olduğu görüldü. Uçucu yağ molekülerinin lipofilik karakterde olması ve Gram negatif bakterilerin hücre duvarına bağlanmasının daha kolay olması, bu bakterilerin CZUY'na daha duyarlı olabileceğini düşündürmektedir. Benzer şekilde Dubey ve ark. (2005), Gram negatif kökenlerin CZUY'na karşı daha duyarlı olduğunu bildirmiştir.

5.3. Cinnamaldehyde'in Antibakteriyel Etkinliği

CZUY bileşiminde en fazla bulunan bileşenlerin antibakteriyel aktivitesi disk difüzyon ve mikrodilüsyon yöntemleri kullanılarak saptanmıştır. Majör bileşen cinnamaldehyde'in *S. aureus* ÇİDB, *S. aureus* ATCC 29213 ve *S. aureus* ATCC 43300 kökenleri için disk difüzyon yöntemi ile inhibisyon zonları, sırasıyla 21, 30 ve 33mm olarak bulunmuştur. Al-Bayati ve Mohammed (2009), standart disklere 20µl cinnamaldehyde emdirmiş ve *S. aureus* kökeni için inhibisyon zonunu 24,1mm olarak rapor etmiştir. Singh ve ark. (2007), agar kuyucuk difüzyon yönteminin kullanıldığı bir çalışmada her bir kuyucuğa 1, 2, 3mg/ml konsantrasyonda 200µl cinnamaldehyde aktarmış ve *S. aureus* için inhibisyon zonlarını, sırasıyla 23, 41,6 ve 53,7mm olarak bildirmiştir.

Mikrodilüsyon yöntemiyle yaptığımız çalışmada cinnamaldehyde'in MİK değerleri *S. aureus* ÇİDB kökeni için 1 mg/ml, diğer iki köken için 0,25mg/ml olarak saptanmış, MBK değerleri ise her üç köken için de 2mg/ml olarak bulunmuştur. Becerril ve ark. (2007) *S. aureus* ATCC 29213 kökeni için MİK değerini 0,37mg/ml, Ye ve ark. (2013) ise *S. aureus* kökeni için 0,31mg/ml olarak raporlamıştır. Ferro ve ark. (2016) *S. aureus* ATCC 25923, *S. aureus* ATCC 6538 ve 4 adet *S. aureus* klinik izolatının MİK değerlerini ilk köken için 0,5mg/ml diğer kökenler için 0,25mg/ml olarak bildirmiş, MBK değerlerini ise tüm kökenler için 1 mg/ml olarak raporlamıştır. Cinnamaldehyde'in antistafilokokal etkinliğine yönelik elde ettiğimiz sonuçlar karşılaştırılan çalışmalar ile uyumlu görünmektedir.

E. faecalis ATCC 29212 ve *E. faecium* ATCC 6057 kökenleri için cinnamaldehyde'in inhibisyon zonları 20 ve 23mm olarak belirlenmiştir. Literatürde, enterokok kökenleri için cinnamaldehyde'in disk difüzyon yöntemiyle antibakteriyel

etkisi bildirilmemiştir. Bu çalışmada, aynı kökenlerde MİK değerleri, sırasıyla 1 ve 0.25mg/ml, MBK değerleri ise 1 ve 0,5mg/ml olarak saptanmıştır. Ferro ve ark. (2016) mikrodilüsyon yöntemiyle cinnamaldehyde'in antibakteriyel aktivitesini bir adet *E. faecalis* ATCC 19443 ve üç adet *E. faecalis* klinik izolatını kullanarak saptamış, tüm kökenler için MİK değerlerini 0,25mg/ml, MBK değerlerini ise 1mg/ml olarak bildirmiştir. Bu sonuçlar, çalışmamızda elde ettiğimiz verilerle benzerlik göstermektedir.

Cinnamaldehyde'in disk difüzyon sonuçları değerlendirildiğinde *L. monocytogenes* F 1483 kökeni için inhibisyon zonu 24mm olarak saptanmıştır. Cinnamaldehyde'in *L. monocytogenes* kökeni için antibakteriyel aktivitesinin disk difüzyon yöntemiyle test edildiği başka bir çalışmaya rastlanmamıştır. Mikrodilüsyon yöntemi ile bu köken için MİK ve MBK değerleri ise 0,25 ve 1mg/ml olarak belirlenmiştir. Liu ve ark. (2015), aynı köken için cinnamaldehyde'in MİK değerini bizim değerimize yakın bir şekilde 0,51mg/ml olarak bulmuştur.

E. coli ATCC 25922 kökeni için cinnamaldehyde'in inhibisyon zonu 25mm olarak saptanmıştır. Al-Bayati ve Mohammed (2009), standart disklere 20µl cinnamaldehyde emdirmiş ve *E. coli* kökeni için inhibisyon zonunu 23,2mm olarak rapor etmiştir. Signh ve ark. (2007) aynı bakteri kökeni ile, agar kuyucuk difüzyon yöntemini kullanarak, 1, 2 ve 3mg/ml konsantrasyon için sırasıyla, 26.1, 33,2 ve 34,1mm inhibisyon zonu saptamıştır. Cinnamaldehyde'in *E. coli* ATCC 25922 kökeni için MİK ve MBK değerleri 0,125 ve 0,25mg/ml olarak belirlenmiştir. Aynı standart kökeni kullanan Becerril ve ark. (2007) tarafından yapılan çalışmada, MİK değerinin 0,28mg/ml, Ye ve ark. (2013) tarafından farklı bir *E. coli* kökeni ile yapılan çalışmada ise, MİK değerinin 0,31mg/ml olduğu ve sonuçlarımız ile benzerlik gösterdiği saptanmıştır.

Çalışmamızda, *K. pneumoniae* ÇİDB ve *K. pneumoniae* ATCC 700603 kökenleri için inhibisyon zonları 19 ve 21mm olarak, her iki köken için MİK değerlerimiz sırasıyla 0,25 ve 0,015mg/ml, MBK değerlerimiz ise 1 ve 0,031mg/ml olarak saptanmıştır. Al-Bayati ve Mohammed (2009) tarafından standart diske 20µl cinnamaldehyde emdirilerek yapılan bir çalışmada, *K. pneumoniae* kökeni için inhibisyon zonu 23,6mm. MİK değeri 0,062mg/ml olarak bildirilmiştir.

Cinnamaldehyde'in *P. aeruginosa* ATCC 27853 kökeni için inhibisyon zonu 17mm olarak saptanmıştır. Al-Bayati ve Mohammed (2009) çalışmalarında, standart diske 20µl cinnamaldehyde emdirerek aynı köken için inhibisyon zonunu 21,2mm olarak rapor etmiştir. Diğer bir çalışmada Signh ve ark. (2007), agar kuyucuk difüzyon yöntemini kullanmış ve 1mg/ml için 30,2mm, 2mg/ml için 48,5mm ve 3mg/ml için 59,2mm inhibisyon zonu ölçmüştür. Araştırmacıların çalışmasında kullandıkları yöntemin farklı olması nedeniyle tam bir kıyaslama yapılamamaktadır. Mikrodilüsyon yönteminde, *P. aeruginosa* ATCC 27853 kökeni için cinnamaldehyde'in MİK ve MBK değeri 1 ve 2mg/ml olarak saptanmıştır. Al-Bayati ve Mohammed (2009) yaptıkları çalışmada farklı bir *P. aeruginosa* kökeni için MİK değerini 0,125mg/ml olarak bildirmiştir. Al-Bayati ve Mohammed (2009) tarafından kullanılan yöntemlerin benzer olması nedeniyle sonuçlar kıyaslanabilir görünmektedir.

S. Typhimurium ATCC 14028 kökeni için cinnamaldehyde'in inhibisyon zonunun 30mm olduğu saptanmıştır. Signh ve ark. (2007), kullandıkları agar kuyucuk difüzyon yöntemi ile 1mg/ml için 18,6mm, 2mg/ml için 31,7mm ve 3mg/ml için 40,3mm inhibisyon zonu bildirmiş ancak kıyaslamak mümkün olmamıştır. Çalışmamızda *S. Typhimurium* ATCC 14028 kökeni için MİK ve MBK değerleri 0,25 ve 0,5mg/ml olarak belirlenmiştir. Ye ve ark. (2013) çalışmalarında *S. Enteritidis* kökeninde MİK değerini 0,31mg/ml, Liu ve ark. (2015) ise 1,02mg/ml olarak bildirmiştir. MİK sonuçlarımız sözkonusu çalışmalarla köken farklılığı da dikkate alındığında uyumlu bulunmuştur.

Cinnamaldehyde'in *S. maltophilia* ATCC 17666 kökeni için inhibisyon zonu 38mm, MİK ve MBK değeri ise 0.031 ve 0.062mg/ml olarak saptanmıştır. Çalışmamızda kullandığımız bu köken için yapılan benzer bir çalışmaya rastlanmamıştır.

A. lwoffii ATCC 19002 kökeni için cinnamaldehyde'in inhibisyon zonunun 35mm, MİK ve MBK değerlerinin ise 0,015 ve 0,062mg/ml olduğu saptanmıştır. Cinnamaldehyde'in *A. lwoffii* ATCC 19002 kökeni için antibakteriyel etkinliğine yönelik benzer bir çalışma saptanamamıştır. Montagu ve ark. (2016) yaptıkları bir çalışmada, sefalosporinaz ve beta-laktamaz üreten çoklu ilaç direncine sahip bir *A. baumannii* kökeninde cinnamaldehyde'in MİK değerini 0,31mg/ml olarak

bildirmiştir. Bizim çalışmamızda kullandığımız kökenin standart ATCC kökeni olması nedeniyle, saptadığımız MİK değerinin daha düşük çıkmasına karşın, iki çalışmada da bulunan düşük MİK değerleri uyumlu görünmektedir.

5.4. Cinnamyl asetatın Antibakteriyel Etkinliği

Cinnamyl asetatın *S. aureus* ATCC 29213 ve *S. aureus* ATCC 43300 kökenleri için etkili olmadığı görülmüştür. MİK ve MBK değerlerinin de 32 ve 64mg/ml olarak saptanması disk difüzyon sonuçları ile paralellik göstermektedir. Cinnamyl asetatın, *E. faecalis* ATCC 29212, *E. faecium* ATCC 6057 ve *L. monocytogenes* ATCC 19002 kökenleri için disk difüzyon yönteminde etkisiz olduğu görülmüştür. Enterokokların ve *L. monocytogenes*'in cinnamyl asetat için saptanan MİK değeri 16mg/ml, MBK değeri ise enterokoklar için 32mg/ml, *L. monocytogenes* için 64mg/ml olarak bulunmuştur.

Gram negatif kökenlerin sonuçlarını incelediğimizde, cinnamyl asetatın *E. coli* ATCC 25922, *K. pneumoniae* ATCC 700603, *P. aeruginosa* ATCC 27853 ve *S. Typhimurium* ATCC 14028 kökenleri için etkisiz olduğu, *S. maltophilia* ATCC 17666 ve *A. lwoffii* kökeni için ise 12 ve 13mm inhibisyon zonu oluşturduğu saptanmıştır. MİK ve MBK değerleri ise *E. coli* ATCC 25922, *K. pneumoniae* ATCC 700603 ve *P. aeruginosa* ATCC 27853 kökenleri için, sırasıyla 32 ve 64mg/ml olarak bulunurken, *S. maltophilia* ATCC 17666 ve *A. lwoffii* kökenlerinin her ikisi için MİK ve MBK değeri, sırasıyla 8 ve 16mg/ml olarak saptanmıştır. Gram pozitif ve Gram negatif bakteri kökenleri üzerinde zayıf antibakteriyel etkinliğinin olduğu belirlenen cinnamyl asetat için literatürde benzer bir çalışmaya rastlanmamıştır.

5.5. Coumarin'in Antibakteriyel Etkinliği

Coumarin'in *S. aureus* ATCC 29213 ve *S. aureus* ATCC 43300 kökenleri için inhibisyon zonları 11 ve 10mm olarak belirlenmiştir. Literatürde, coumarin bileşeninin bu kökenler için antibakteriyel etkisinin disk difüzyon yöntemiyle saptandığı bir çalışmaya rastlanmamıştır. Mikrodilüsyon yöntemi ile coumarin'in MİK değerler aynı köken için, sırasıyla 2 ve 4mg/ml olarak, MBK değerleri ise 4 ve 8mg/ml olarak saptanmıştır. De Souza ve ark. (2005) yaptığı çalışmada, coumarin'in

S. aureus ATCC 25923 kökeni için MİK değerini 0,5mg/ml ve MBK değerini ise 2mg/ml olarak bildirmiştir.

Coumarin, *E. faecalis* ATCC 29212 ve *E. faecium* ATCC 6057 kökenleri için, disk difüzyon yöntemiyle etkisiz görünürken, MİK ve MBK değerleri 2 ve 4mg/ml olarak saptanmıştır. Diğer bir Gram pozitif köken olan *L. monocytogenes* ATCC 19002 kökeni için, disk difüzyon yöntemiyle etkisiz görünürken, MİK ve MBK değerleri 4mg/ml olarak bulunmuştur. Coumarin'in, enterokok ve *L. monocytogenes* kökenlerinde antibakteriyel aktivitesinin disk difüzyon ve mikrodüsyon yöntemiyle araştırıldığı benzer bir çalışma bulunamamıştır.

E. coli ATCC 25922 kökeni için, coumarin'in inhibisyon zonu 15mm olarak belirlenmiştir. Nitiema ve ark. (2012) tarafından yapılan çalışmada standart disklere 10µl (her bir disk 1mg) coumarin emdirilerek klinik örnekten izole edilmiş *E. coli* kökeni için inhibisyon zonu 25,5mm olarak rapor edilmiştir. Kullanılan kökenlerin farklı olması, kıyaslama yapmayı zorlaştırmaktadır. Coumarin'in *E. coli* ATCC 25922 kökeni için MİK ve MBK değerleri 2 ve 4mg/ml olarak saptanmıştır. Nitiema ve ark. (2012) tarafından yapılan çalışmada, klinik örnekten izole edilmiş *E. coli* kökeni için MİK ve MBK değerleri 1,25 ve >5mg/ml olarak rapor edilmiştir. De Souza ve ark. (2005)'nin yaptıkları diğer bir çalışmada, aynı köken için MİK ve MBK değeri 0,5 ve 1mg/ml olarak bildirilmiştir. Bu iki çalışmada elde edilen MİK ve MBK değerleri, bulgularımızla benzerlik göstermektedir.

P. aeruginosa ATCC 27853 kökeni için, coumarin'in inhibisyon zonu 19mm olarak belirlenmiştir. Coumarin bileşeninin bu köken için inhibisyon zonlarının araştırıldığı çalışmaya rastlanmamıştır. Aynı köken için, MİK ve MBK değerleri 2 ve 4mg/ml olarak saptanmıştır. De Souza ve ark. (2005), bu kökenin MİK ve MBK değerlerini 0,5 ve 1mg/ml olarak bildirmiştir.

Coumarin'in *S. Typhimurium* ATCC 14028 kökeni için inhibisyon zonu 13mm olarak saptanmıştır. Nitiema ve ark. (2012) tarafından standart disklere 10µl (1mg) coumarin emdirilerek yapılan çalışmada, *S. Typhimurium* ve *S. Infantis* kökenleri için coumarin'in inhibisyon zonu 14 ve 10,5mm olarak rapor edilmiştir. Coumarin'in aynı köken için MİK ve MBK değerleri 4 ve 8mg/ml olarak saptanmıştır. Nitiema ve ark. (2012)'nin çalışmasında, *S. Typhimurium* ve *S. Infantis*

için MİK değerleri 2,5 ve 5mg/ml, MBK değerleri ise iki köken için de >5mg/ml olarak bildirilmiştir. Sonuçlarımız sözkonusu çalışma ile benzerlik göstermektedir.

S. maltophilia ATCC 17666 kökeni için, coumarin'in inhibisyon zonu 13mm, MİK ve MBK değerleri ise 2 ve 4mg/ml olarak saptanmıştır. Literatürde coumarin'in *S. maltophilia* için antibakteriyel etkisinin disk difüzyon veya mikrodilüsyon yöntemiyle belirlendiği bir çalışma bulunamamıştır. Coumarin'in *K. pneumoniae* ATCC 700603 ve *A. lwoffii* ATCC 19002 kökenleri için inihibisyon zonları, sırasıyla 21 ve 35mm olarak bulunurken, MİK değerleri, sırasıyla 4mg/ml ve 2mg/ml, MBK değerleri ise, sırasıyla 8mg/ml ve 4mg/ml olarak saptanmıştır. Coumarin'in *K. pneumoniae* ve *A. lwoffii* kökenlerinde antibakteriyel aktivitesinin belirlendiği başka bir çalışmaya ulaşamamıştır.

5.6. Isoborneol'ün Antibakteriyel Etkinliği

Isoborneolün disk difüzyon verileri değerlendirildiğinde, denenen tüm kökenler için etkisiz olduğu belirlenmiştir. Isoborneol'ün antibakteriyel aktivitesinin disk difüzyon yöntemiyle araştırıldığı başka bir çalışma bulunamamıştır.

Mikrodilüsyon yöntemi ile belirlediğimiz MİK ve MBK değerlerinin, *K. pneumoniae* ATCC 700603 ve *P. aeruginosa* ATCC 27853 kökenleri dışında, denenen tüm kökenler için cinnamaldehyde ile kıyaslanabilir düzeyde düşük olduğu belirlenmiştir.

Erdoğan Orhan ve ark. (2009), çalışmamızda da kullanılan *S. aureus*, *E. faecalis*, *E. coli*, *K. pneumoniae* ve *P. aeruginosa* bakterilerinin standart ve klinik kökenlerini kullanarak yaptıkları çalışmada, isoborneol için, bizim değerlerimizle kıyaslandığında çok düşük MİK değerleri rapor etmişlerdir. Sözkonusu çalışmada, bileşenlerin ethanol-hexane solüsyonu ile çözüldüğü ama çözücü kontrolünün yapılmadığı görülmektedir.

Isoborneol, disk difüzyon yönteminde kullanılan tüm kökenler için antibakteriyel etki göstermemiştir. Ancak mikrodilüsyon yöntemi ile belirlenen MİK ve MBK sonuçlarına bakıldığında oldukça güçlü antibakteriyel etkinlik saptanmıştır. İki yöntem arasındaki bu farklılığın, disk difüzyon testinde, isoborneol'ün besiyeri

içinde iyi difüze olamamasından kaynaklanmış olabileceği düşünülmüştür. Bu sonuçlar, antibakteriyel etkinliği test edilecek tüm maddelerin farklı yöntemlerle çalışılarak karşılaştırılması gerekliliğini ortaya koymuştur.

5.7. T-caryophyllene'in Antibakteriyel Etkinliği

T-caryophyllene'in disk difüzyon verileri değerlendirildiğinde, denenen Gram negatif kökenler için etkisiz, Gram pozitif kökenler için zayıf etkili olduğu belirlenmiştir. MİK ve MBK değerleri ise, test edilen tüm kökenler için, >64mg/ml saptanmıştır.

Disk difüzyon yöntemini kullanan Donati ve ark. (2014), yaptığı çalışmada *E. coli* ATCC 25922 ve *P. aeruginosa* ATCC 27853 kökenleri için çalışmamızla benzer sonuçlar elde ederken, *S. aureus* ATCC 29213 kökeni için t-caryophyllene'nin antibakteriyel etkisinin saptanmadığını bildirmiştir.

Köpeklerin dış plaklarından izole ettikleri altı adet *Staphylococcus sp.* ve altı adet *Enterococcus sp.* kökeninde t-caryophyllene'in antibakteriyel aktivitesini araştıran Pieri ve ark. (2016), MİK değerlerini, *Staphylococcus sp.* için, bizim sonuçlarımıza yakın olarak, bir kökende 25mg/ml diğer beş kökende ise >100mg/ml, *Enterococcus sp.*, için, iki kökende 12,5mg/ml, bir kökende 25mg/ml ve üç kökende ise 50mg/ml olarak bildirmiştir.

Başka bir çalışmada, Neta ve ark. (2016), *S. aureus* ATCC 25923 ve *E. faecalis* ATCC 14506 kökenlerinin her ikisi için, t-caryophyllene'nin MİK ve MBK değerlerini, sırasıyla 1 ve 4 mg/ml olarak bildirmiştir. Aynı çalışmada, *E. coli* ATCC 8739 ve *S. Typhimurium* ATCC 14028 kökenleri için MİK değeri, sırasıyla 1 ve 0,5mg/ml, MBK değeri ise, iki köken için de 2mg/ml olarak saptanmıştır. Araştırmacılar bu çalışmada, MİK sonuçlarını < 0,1mg/ml: güçlü antibakteriyel etki, 0,1-0,5mg/ml: ılımlı (moderate) antibakteriyel etki, 0,5-1mg/ml: zayıf antibakteriyel etki ve >1mg/ml: etkisiz olarak yorumlamıştır.

5.8. α -terpinene'in Antibakteriyel Etkinliği

α -terpinene'in disk difüzyon verileri değerlendirildiğinde, denenen tüm Gram negatif kökenler ve *S. aureus* ATCC 43300 ile *E. faecium* ATCC 6057 için etkisiz, *E. faecalis* ATCC 29212 ve *L. monocytogenes* ATCC 19002 için zayıf etkili ve *S. aureus* ATCC 29213 kökeni için orta derecede etkili olduğu belirlenmiştir. MİK ve MBK değerleri, Gram pozitif kökenler *E. faecium* ATCC 6057 ve *L. monocytogenes* ATCC 19002 (8mg/ml) dışında test edilen tüm kökenler için, 16-64mg/ml saptanmıştır.

Limaverde ve ark. (2017) tetrasiklin direncinden sorumlu *efflux* pompası bulunduran *S. aureus* IC-58 kökeninde α -terpinene'nin MİK değerini >1024 μ g/ml olarak belirlemiştir. Bu değer araştırmacıların çalıştıkları en yüksek α -terpinene değerü olduğu için çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlarla tam bir karşılaştırma yapılamamıştır.

5.9. Eucalyptol'ün Antibakteriyel Etkinliği

Eucalyptol için disk difüzyon verilerimiz incelendiğinde, Gram pozitif kökenler *E. faecalis* ATCC 29212, *L. monocytogenes* F 1483 ve Gram negatif kökenler, *E. coli* ATCC 25922 ve *S. maltophilia* ATCC 17666 için zayıf etkili (9-11mm), test edilen diğer kökenler için etkisiz olduğu belirlenmiştir. MİK ve MBK değerleri ise, Gram pozitif kökenler için, sırasıyla 16->64mg/ml ve 16->64mg/ml arasında değişirken, Gram negatif kökenler, *E. coli* ATCC 25922, *S. maltophilia* ATCC 17666 ve *A. lwoffii* ATCC 19002 için, sırasıyla 4-8mg/ml ve 8mg/ml olarak saptanmıştır. Eucalyptol'ün antibakteriyel aktivitesi için elde ettiğimiz MİK sonuçları kıyaslanan diğer çalışmalara benzer olarak yüksek bulunmuştur.

Somboli ve ark. (2005), standart diske 10 μ l eucalyptol emdirerek inhibisyon zonunu *S. aureus* ATCC 25922 için 15mm, *E. faecalis* ATCC 15753 için 10mm, *K. pneumoniae* ATCC 700603 için 8mm, *E. coli* ATCC 25922 için 20mm olarak bildirmiş, MİK değerlerini ise, *E. faecalis* ATCC 15753 için 7,5mg/ml, *E. coli* ATCC 25922 için 1,87mg/ml olarak saptamıştır. Bosnić ve ark. (2006), agar yüzeyine 0,5mm çapında kuyucuk açarak, eucalyptol'ün etkinliğini, *S. aureus* ATCC 6538P kökeni için 10,4mm olarak, *E. coli* ATCC 8739 ve *P. aeruginosa* ATCC 9027

kökenleri için etkisiz olduğunu bildirmiştir. Bu çalışmada kuyucuklara eklenen eucalyptol miktarı belirtilmediği ve standart yöntem kullanılmadığı için karşılaştırma yapmak olanaksızdır. Hendry ve ark. (2009) tarafından yapılan çalışmada, eucalyptol'un MİK değeri, *S. aureus* ATCC 6538 ve *S. aureus* N325 (MRSA) kökenleri için 16 ve 64mg/ml, *P. aeruginosa* ATCC 15442 kökeni için, >256mg/ml, *E. coli* NCTC 10418 kökeni için 64mg/ml, MBK değeri, *S. aureus* ATCC 6538 ve *S. aureus* N325 (MRSA) kökenleri için 256mg/ml, *E. coli* NCTC 10418 kökeni için 64mg/ml olarak bildirilmiştir. Li ve ark. (2014), eucalyptol için MİK ve MBK değerini, *S. Enteridis* CMCC 5041 kökeni için 6,25µl/ml olarak bildirmiştir. Van Vuuren ve Viljoen (2007) yaptıkları çalışmada, MİK değerini, *E. faecalis* ATCC 29212 kökeni için 23mg/ml, *E. coli* ATCC 11775 kökeni için 8mg/ml, *K. pneumoniae* ATCC 3583 kökeni için 8mg/ml ve *P. aeruginosa* ATCC 9027 kökeninde 4mg/ml olarak saptamıştır.

5.10. d-limonene'in Antibakteriyel Etkinliği

D-limonene'nin antibakteriyel etkinliğinin araştırıldığı disk difüzyon çalışmasında, *S. aureus* ATCC 29213 kökeni için, inhibisyon zonu 24mm olarak saptanırken, *S. aureus* ATCC 43300 (MRSA) kökeni için 13mm olarak saptanmıştır. Somboli ve ark. (2005), standart diske 10µl d-limonene emdirerek *S. aureus* ATCC 25923 kökeni için inhibisyon zonunu 10,2mm olarak rapor etmiştir. Araştırmacıların daha düşük miktarda d-limonene kullanması daha küçük bir inhibisyon zonuna yol açmış olabilir.

Çalışmamızda, d-limonene'nin MİK değeri, *S. aureus* ATCC 29213 ve *S. aureus* ATCC 43300 kökenleri için, sırasıyla 8 ve 16mg/ml, MBK değeri ise iki köken için de 32mg/ml olarak belirlenmiştir. Somboli ve ark. (2005), *S. aureus* ATCC 25923 kökeni için MİK değerini 2,4mg/ml, Van Vuuren ve Viljoen (2007) ise, *S. aureus* ATCC 12600 kökeni için MİK değerini 13mg/ml olarak saptamıştır.

Çalışmamızda, *E. faecalis* ATCC 29212 ve *E. faecium* ATCC 6057 kökenleri için, inhibisyon zonu, sırasıyla 11 ve 10mm olarak, MİK değerleri 8 ve 16mg/ml, MBK değerleri ise 64 ve 16mg/ml olarak saptanmıştır. Aynı kökeni kullanan Van Vuuren ve Viljoen (2007), *E. faecalis* ATCC 29212 için, MİK değerini 27mg/ml,

Somboli ve ark. (2005) ise *E. faecalis* ATCC 15753 kökeni için 4,8mg/ml olarak bildirmiştir. Çalışmamızda kullandığımız *L. monocytogenes* F 1483 kökeni için inhibisyon zonu 22mm, MİK ve MBK değeri 16 ve 32mg/ml olarak saptanmıştır. Bu köken için başka bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Çalışmamızda *E. coli* ATCC 25922 kökeni için, d-limonene'nin inhibisyon zonu 12mm olarak ölçülmüştür. Aynı köken için, Somboli ve ark. (2005), inhibisyon zonunu 10,3mm olarak rapor etmiştir. Çalışmamızda bu köken için MİK ve MBK değeri 8 ve 16mg/ml olarak belirlenirken, Somboli ve ark. (2005) söz konusu köken için, MİK değerini 4.8mg/ml, Van Vuuren ve Viljoen (2007) ise, *E. coli* ATCC 11775 kökeni için 11mg/ml olarak rapor etmiştir. Antibakteriyel etkinliğin test edildiği iki yöntemde de sonuçlarımız diğer çalışmalar ile benzerlik göstermektedir.

Çalışmamızda, *K. pneumoniae* ATCC 700603 kökeni için, d-limonene'nin inhibisyon zonu 15mm, MİK ve MBK değerleri ise, 16 ve 32mg/ml olarak belirlenmiştir. *K. pneumoniae* ATCC 3583 kökenini kullanan Somboli ve ark. (2005), *K. pneumoniae* ATCC 3583 kökeni için, inhibisyon zonunu 8.4mm, MİK değerini ise, 1,2mg/ml olarak bildirmiştir. *K. pneumoniae* ATCC 13883 kökenini kullanan Van Vuuren ve Viljoen (2007), MİK değerini 12mg/ml olarak rapor etmiştir. Farklı *Klebsiella* kökenleri kullanılmış olmasına rağmen sonuçlardaki benzerlik dikkate değerdir.

Çalışmamızda, *P. aeruginosa* ATCC 27853 kökeni için, d-limonene'nin inhibisyon zonu 10mm, MİK ve MBK değerleri ise, 16mg/ml olarak saptanmıştır. *P. aeruginosa* ATCC 9027 kökenini kullanan Van Vuuren ve Viljoen (2007), MİK değerini 4mg/ml olarak rapor etmiştir.

Diğer Gram negatif kökenler, *S. Typhimurium* ATCC 14028, *S. maltophilia* ATCC 17666 ve *A. lwoffii* ATCC 19002 kökenleri için, d-limonene'nin inhibisyon zonu, sırasıyla 10, 21 ve 17mm olarak belirlenmiştir. MİK değerleri ilk köken için 4mg/ml diğer iki köken için 2mg/ml olarak saptanırken, MBK ise ilk iki köken için 4mg/ml, son köken için 2mg/ml olarak bulunmuştur. Söz konusu kökenlerin antibakteriyel etkinliğini araştıran başka çalışmaya rastlanmamıştır.

5.11. Benzaldehide'in Antibakteriyel Etkinliği

Benzaldehide'in *S. aureus* ATCC 29213 ve *S. aureus* ATCC 43300 için inhibisyon zonu 20 ve 32mm, MİK değeri, sırasıyla 4 ve 8mg/ml, MBK değeri ise, her iki köken için de 32mg/ml olarak bulunmuştur. Wang ve ark., (2010), *S. aureus* ATCC 6538 kökeni için, MİK ve MBK değerini 0,08 ve 0,15mg/ml olarak saptamıştır. İki çalışmada da tespit edilen düşük MİK değerleri, benzaldehide'in stafilokok kökenleri için antibakteriyel etkinliğinin olduğunu göstermektedir. Diğer Gram pozitif bakteriler, *E. faecalis* ATCC 29212, *E. faecium* ATCC 6057 ve *L. monocytogenes* F 1483 kökenleri için, inhibisyon zonu, sırasıyla 7, 11 ve 8mm, MİK değeri, üç köken için 8mg/ml, MBK değeri ise, sırasıyla 64, 16 ve 32mg/ml olarak belirlenmiştir. Çalışmamızda saptadığımız yüksek MİK ve MBK değerleri aynı kökenlerin disk difüzyon verileri ile uyumlu bulunmuş ve benzer yayınlara rastlanmamıştır.

Çalışmamızda kullandığımız Gram negatif kökenler, *E. coli* ATCC 25922 ve *S. Typhimurium* ATCC 14028 için, inhibisyon zonu, 12mm, MİK değeri, sırasıyla 4 ve 8mg/ml, MBK değeri ise, sırasıyla 8 ve 16mg/ml olarak belirlenmiştir. Wang ve ark., (2010), *E. coli* ATCC 29425 ve *S. Typhimurium* ATCC 14028 kökenleri için, MİK değerini, sırasıyla 0,2 ve 0,15mg/ml, MBK değerini ise her iki köken için 0,2mg/ml olarak saptamıştır. Çalışmamızda, Wang ve ark. (2010)'nın çalışması ile uyumlu olarak, benzaldehide'in bu kökenler için antibakteriyel etkinliğe sahip olduğu saptanmıştır.

K. pneumoniae ATCC 700603 ve *P. aeruginosa* ATCC 27853 kökenleri için, benzaldehide'in inhibisyon zonu, sırasıyla 10 ve 11mm, MİK değeri, sırasıyla 4 ve 16mg/ml, MBK değeri ise, sırasıyla 2 ve 8mg/ml olarak belirlenmiştir. Söz konusu kökenler için bildirilmiş başka bir çalışmaya rastlanmamıştır. Çalışmamızda, *S. maltophilia* ATCC 17666 ve *A. lwoffii* ATCC 19002 kökenleri için inhibisyon zonu, sırasıyla 18 ve 20mm olarak saptanırken aynı kökenler için MİK değeri 2mg/ml ve MBK değeri ise, sırasıyla 4 ve 8mg/ml olarak bulunmuştur.

5.12. CZUY/Cinnamaldehyde ve Antibiyotik Kombinasyonları

Günümüzde artış gösteren çoklu antibiyotik direnci gösteren bakterilerin neden olduğu enfeksiyonların tedavilerinde tek antibiyotik yerine kombine antibiyotik kullanımı zorunlu olmaktadır (Song ve ark., 2009; Saballs ve ark., 2006, Yin ve ark., 2005, Montero ve ark., 2004). Antibiyotiklerin etkinliğinde gözlenen azalmalar ve aşırı/yanlış kullanıma bağlı, mikrobiyotanın dengesinin bozulması gibi, olumsuz yan etkiler nedeniyle, uçucu yağlar ve bileşenleri gibi doğal kaynaklardan elde edilen biyoaktif maddelerle kombinasyonu yoluyla, antibiyotiklerin etkinliğini artırma ve kullanım dozunu düşürerek olumsuz yan etkilerini azaltma sağlanabileceği düşünülmektedir.

Uçucu yağlar ve bileşenlerinin antibiyotiklerle etkileşiminin mekanizmasının anlaşılması, öncelikle uçucu yağ ve bileşenlerinin etki mekanizmasının aydınlatılmasına bağlıdır. *C. zeylanicum* uçucu yağının etki mekanizması ile ilgili çeşitli görüşler mevcuttur. Bouhdid ve ark., (2010), *C. zeylanicum* uçucu yağının, ilk önce, membran bütünlüğünü bozmayıp, membranın seçici geçirgenliğini etkileyerek, bakterinin metabolik aktivitesinde ve replikasyon kapasitesinde önemli ölçüde azalmaya yolaçan potasyum iyonu ve diğer sitoplazmik materyallerin sızmasına neden olarak, membranda enzimatik aktivitenin bozulması ile solunumun engellendiğini ve bakteri hücresinin ölümünün gerçekleştiğini ileri sürmüştür.

Cinnamaldehyde'in etki mekanizması değerlendirildiğinde, Wendakoon ve Sakaguchi (1993; 1995) cinnamaldehyde'in çeşitli proteinlere bağlanarak bakteriyel aminoasit dekarboksilasyonunu inhibe ettiğini bildirmiştir. Gill ve Holley (2004; 2006a; 2006b) cinnamaldehyde'in ATPaz aktivitesini inhibe ederek membran hasarı oluşturduğunu ileri sürmüştür. Helander ve ark. (1998) cinnamaldehyde'in Gram negatif bakterilerde dış membranda bulunan porin proteinleri boyunca periplazmik aralığa geçerek hücrenin iç kısımlarına kadar ulaşabildiğini rapor etmiştir. Kim ve ark. (2004) ise, cinnamaldehyde'in bakteri hücre yüzeyini parçaladığını, Haines ve Shankel (1990)'de hücresel glutathione seviyesini azalttığını bildirmiştir.

CZUY ve cinnamaldehyde'in etki mekanizmaları göz önüne alındığında, bu maddelerle birlikte kullanılan antibiyotiklerin bakteri hücrelerine girişinin kolaylaşmasına bağlı olarak olumlu bir etkileşim görülebileceği düşünülmüştür. Bu

çalışmada, CZUY ve cinnamaldehyde ile topikal olarak uygulanabilen antibiyotikler arasındaki etkileşimi belirlemek için *checkerboard* yöntemi uygulanmıştır.

Literatürde, CZUY-antibiyotik kombinasyonuna yönelik sınırlı sayıda çalışma yer almaktadır ve bu çalışmalarda genellikle bir veya iki köken kullanılmıştır. Çalışmamızda olduğu gibi geniş bir bakteri grubu ve CZUY-antibiyotik kombinasyonun kullanıldığı benzer bir çalışma bulunmamaktadır.

Bu çalışmada, CZUY-gentamisin kombinasyon sonuçları incelendiğinde, *E. faecalis* ATCC 29212, *L. monocytogenes* F 1483, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *S. maltophilia* ATCC 17666 ve *A. lwoffii* ATCC 19002 kökenleri için kısmi sinerji, diğer tüm kökenler için sinerji saptanmıştır. Guerra ve ark. (2012) tarafından yapılan bir çalışmada, klinik örneklerden izole edilmiş *A. baumannii* kökeni için CZUY-gentamisin ve -amikasin kombinasyonu çalışılmıştır. Bu çalışmada araştırmacılar, CZUY-gentamisin kombinasyonu için, FİKİ değerini 0.5 bulmuş, etkileşimi ise aditif etki olarak tanımlamıştır. Bizim çalışmamızda ise yorumlar, Li ve ark. (2013) kullandığı FİKİ sınır değerlerine göre yapılmış ve 0.5 değeri, sinerji olarak kabul edilmiştir. Çalışmamızda kullandığımız *A. lwoffii* ATCC 19002 kökeni için CZUY-gentamisin etkileşimi kısmi sinerji olarak tanımlanmıştır. Araştırmacılar başka bir aminoglikozid olan amikasin ve CZUY kombinasyonunu aynı köken için çalışmış ve FİKİ değerini 0,045 bularak etkileşimi sinerji olarak rapor etmiştir.

Gram pozitif kökenler için, cinnamaldehyde-gentamisin kombinasyonunda kullanılan tüm bakterilerde sinerji saptanmıştır. Gram negatif kökenlerde ise, *E. coli* ATCC 25922, *K. pneumoniae* ATCC 700603 ve *S. Typhimurium* ATCC 14028 için sinerji, *K. pneumoniae* ÇİDB, *S. maltophilia* ATCC 17666 ve *A. lwoffii* ATCC 19002 kökenlerinde kısmi sinerji görülürken *P. aeruginosa* ATCC 27853 kökeninde etkisiz bulunmuştur.

Gram pozitif kökenlerde cinnamaldehyde-gentamisin kombinasyonunun CZUY-gentamisin kombinasyonundan daha etkili olduğu görülmüştür. Gram negatif kökenlerde ise, her iki kombinasyonda da *P. aeruginosa* ATCC 27853 kökeni dışında aynı etkileşimler saptanmıştır. Bu kökende cinnamaldehyde-gentamisin etkisiz bulunurken, CZUY-gentamisin için kısmi sinerji saptanmıştır. Literatür

incelendiğinde cinnamaldehyde ve gentamisin kombinasyonunun araştırıldığı herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Bu çalışmada, CZUY-tetrasiklin kombinasyonu tüm kökenler için sinerjik etkileşim göstermiştir. Bu kombinasyon ile yapılmış başka bir çalışmaya rastlanmamıştır. Cinnamaldehyde-tetrasiklin kombinasyonu ise, test edilen tüm Gram pozitif kökenler için sinerji gösterirken, Gram negatif kökenler için kısmi sinerji saptanmıştır. İki kombinasyon karşılaştırıldığında, Gram pozitif kökenler için aynı etkileşim saptanırken, Gram negatif kökenlerde ise, CZUY-tetrasiklin kombinasyonunun daha etkili olduğu görülmüştür. CZUY ve cinnamaldehyde'in hücre zarının geçirgenliğine zarar vermesinin, 30S ribozomal alt birime bağlanarak protein sentezini bloke eden tetrasiklinin etkinliğini artırmış olabileceği düşünülmüştür. Palaniappan ve Holey (2010) yaptıkları bir çalışmada, cinnamaldehyde-tetrasiklin kombinasyonunu, *tetA* geni taşıyan ve tetrasikline dirençli *S. Typhimurium* ve *E. coli* klinik kökenlerinde araştırmıştır. Her iki köken için de cinnamaldehyde-tetrasiklin kombinasyonunun sinerjik olduğunu (FİKİ: 0,37) bildirmiş ve sonuçlarımızla uyumlu bulunmuştur.

Hem CZUY-neomisin hem de cinnamaldehyde-neomisin kombinasyonunda Gram pozitif bakteriler test edilmiş ve tüm kökenler için sinerjik etkileşim saptanmıştır. Neomisin, bakterilerde ribozomların 30S alt birimine bağlanarak mRNA'nın yanlış okunmasına ve bunun sonucunda bakterinin ölümüne yol açmaktadır (Köksal, 2009). CZUY ve cinnamaldehyde'in hücre zarı üzerine olan etkisinin, neomisinin hedefine ulaşmasını kolaylaştırdığı için sinerjik etkileşimlerin saptandığı düşünülmüştür. Literatürde cinnamaldehyde-neomisin kombinasyonu için başka bir araştırmaya rastlanmamıştır.

CZUY-mupirosin kombinasyonu, Gram pozitif kökenler üzerinde araştırılarak, enterokok kökenlerinde kısmi sinerji görülürken diğer Gram pozitif kökenlerde sinerji saptanmıştır. Cinnamaldehyde-mupirosin kombinasyonunda ise tüm Gram pozitif kökenlerde kısmi sinerji saptanmıştır. CZUY ve cinnamaldehyde'in hücre zarına etki ederek mupirosinin, hedefi olan isolösin-tRNA bağlanma bölgesine ulaşmasını kolaylaştırmış olabileceği düşünülmüştür. Çok bileşenli CZUY'nın cinnamaldehyde göre daha etkili olduğu görülmüştür. Bu kombinasyonlar için başka bir çalışmaya rastlanmamıştır.

CZUY-fusidik asit kombinasyonu değerlendirildiğinde, kısmi sinerji bulunan enterokok türleri dışında diğer tüm Gram pozitif kökenler için sinerji saptanmıştır. *S. aureus* ATCC 29213 için etkisiz olan, Cinnamaldehyde-fusidik asit kombinasyonu, *S. aureus* ÇİDB kökeni için sinerjik, diğer kökenler için kısmi sinerjik etki göstermiştir. Bakterilerin farklı kökenlerinin kombinasyonlara farklı yanıt verdiği gözlenmektedir. Fusidik asit protein sentezi sırasında elangasyon faktör G'ye bağlanarak etkili olmaktadır. CZUY veya cinnamaldehyde ile birlikte uygulandığında, hücreye giriş kapasitesinin artmasına bağlı olarak fusidik asidin etkisinin arttığı düşünülmüştür. Çalışmamıza benzer bir kombinasyon verisine literatürde rastlanmamıştır.

S. aureus ATCC 29213 ve *E. faecalis* ATCC 29212 kökenleri için CZUY-eritromisin kombinasyonunda kısmi sinerji görülürken, diğer Gram pozitif kökenler için sinerji saptanmıştır. Vyas ve ark. (2015), *C. zeylanicum*'un metanol ekstratını ve agar kuyucuk yöntemini kullanarak yaptıkları çalışmada, *S. aureus* MTCC 737 kökeni inoküle edilmiş agar yüzeyine açılan 8mm çapında üç kuyucuktan birincisine 100µl *C. zeylanicum* metanol ekstraktı, ikincisine 100µl eritromisin süspansiyonu, üçüncüsüne ise toplamda 100µl olacak şekilde *C. zeylanicum* metanol ekstraktı ve eritromisin süspansiyonu birlikte eklemiştir. Bu çalışmada, inhibisyon zonları *C. zeylanicum* metanol ekstratı için 14mm, eritromisin için 18mm ve kombinasyon için 24mm olarak bulunmuş ve etkileşim sinerji olarak bildirilmiştir. Bu çalışmada farklı bir yöntem kullanılmasına karşın, çalışmamız ile benzer sonuçlar elde edilmiştir. Cinnamaldehyde-eritromisin kombinasyonu ise, *E. faecium* ATCC 6057 kökeni için etkisiz, *S. aureus* ÇİDB, *S. aureus* ATCC 43300 kökenleri için sinerji, *E. faecalis* ATCC 29212 ve *L. monocytogenes* ATCC F 1483 kökenleri için kısmi sinerji, *S. aureus* ATCC 29213 kökeni için aditif etki oluşturmuştur. CZUY-eritromisin kombinasyonunda daha fazla etki saptanması, çeşitli bileşenleri içeren CZUY'nın kombinasyonda cinnamaldehyde'den daha etkili olduğunu düşündürmüştür. Kombinasyonda kullanılan eritromisin, bakterilerin 70S proteinin 50S alt birimine bağlanıp t-RNA'nın buraya bağlanmasına engel olmaktadır (Aydın, 2007). Bu kombinasyonda eritromisin'in bakteri hücrelerine geçişinin kolaylaşabilmesi nedeniyle sinerjinin görülmüş olabileceği düşünülmüştür. Palaniappan ve Holey (2010) tarafından yapılan bir çalışmada, cinnamaldehyde-eritromisin kombinasyonu, *S. Typhimurium* ve *E. coli* klinik kökenleri için sinerjik (FİKİ: 0,24) olarak rapor

edilmiştir. Çalışmamızda sadece Gram pozitif kökenler araştırıldığı için bu çalışma ile karşılaştırma yapılamamıştır.

CZUY-klindamisin kombinasyonu, *S. aureus* ATCC 43300 kökeninde etkisiz, *S. aureus* ATCC 29213 ve *L. monocytogenes* ATCC F 1483 kökenlerinde sinerjik etkili, *S. aureus* ÇİDB, *E. faecalis* ATCC 29212 ve *E. faecium* ATCC 6057 kökenlerinde kısmi sinerjik etkili bulunmuştur. CZUY-klindamisin kombinasyonu için çalışmamızda kullanılan kökenler üzerine yapılmış bir çalışma bulunmamaktadır. Ancak Shahverdi ve ark. (2007) anaerob Gram pozitif bir basil olan *Clostridium difficile* kökeni için CZUY-klindamisin kombinasyonunu *checkboard* yöntemi ile çalışmış ve kombinasyon etkileşimini sinerji (FİKİ: 0,312) olarak rapor etmiştir.

Cinnamaldehyde-klindamisin kombinasyonu, *S. aureus* ATCC 43300 kökeninde etkisiz, *E. faecium* ATCC 6057 ve *L. monocytogenes* ATCC F 1483 kökenlerinde sinerjik etkili, *S. aureus* ÇİDB, *S. aureus* ATCC 29213, *E. faecalis* ATCC 29212 kökenlerinde kısmi sinerjik etkili bulunmuştur. Cinnamaldehyde-klindamisin etkileşiminin belirlendiği başka bir çalışma bulunamamıştır.

CZUY ve cinnamaldehyde ile kombine edilen gentamisin, tetrasiklin, neomisin, mupirosin, fusidik asit, eritromisin ve klindamisin antibiyotiklerinin etki mekanizmaları protein sentezinin inhibisyonuna dayanmaktadır. Uçucu yağların ve bileşenlerinin etki mekanizmaları da temelde hücre zarı hasarına dayanmaktadır (Gill ve Holley, 2004, 2006a, 2006b; Kim ve ark., 2004; Helander ve ark., 1998; Ultee ve ark., 2002). Bu veriler ışığında, protein sentezine etkili antibiyotiklerin, CZUY ve cinnamaldehyde ile sinerji ya da kısmi sinerji göstermesinin temelinde bu etkileşimin olduğu düşünülmektedir.

Yukarıda bahsedilen antibiyotiklerden farklı olarak basitrasin, bakteriyel hücre duvarı sentezinin başlangıç basamağı olan C55-pirenol pirofosfat yapısına bağlanarak, hücre duvar sentezini etkisiz kılmaktadır. Çalışma verilerimize bakıldığında, CZUY-basitrasin kombinasyonunda test edilen tüm kökenler için sinerji tespit edilirken cinnamaldehyde-basitrasin kombinasyonunda *S. aureus* ÇİDB ve *E. faecalis* ATCC 29212 kökeni için sinerji, diğer Gram pozitif kökenler için ise kısmi sinerji saptanmıştır. Bu kombinasyonda CZUY'deki farklı bileşenlerin de

sinerjiye katkısı olduğu düşünülmektedir. CZUY-basitrasın kombinasyonu için literatürde yapılan bir çalışmaya rastlanmamıştır ancak Palaniappan ve Holey (2010) cinnamaldehyde-basitrasın kombinasyonunu *S. aureus* ve *S. Typhimurium* kökenlerinde test etmiş ve iki köken için de sinerji (FİKİ: 0.24) bildirmiştir. Bu çalışma, *S. aureus* ÇİDB kökeni ile yaptığımız çalışmanın sonucu ile uyumlu görünmektedir. Basitrasın Gram negatif bakterilere etkili olmadığı için çalışmamızda denenmemiştir.

CZUY ve majör bileşen cinnamaldehyde'in antibakteriyel etkisi birçok araştırmacı tarafından gösterilmiştir (Ünlü ve ark., 2010; Ye ve ark., 2013). Diğer majör bileşen olan cinnamyl asetat'ın ise, antibakteriyel etkisinin zayıf olduğu belirlenmiştir. CZUY içindeki benzaldehide, isoborneol gibi minör bileşenlerin de antibakteriyel etkiye sahip olduğu çalışmamızda gösterilmiştir. CZUY'nın antibiyotiklerle sinerjik etkisi saptandığı gibi, uçucu yağ içinde bulunan minör bileşenlerin de antibakteriyel etkiye katkıda bulunabileceği düşünülmektedir (Burt, 2004).

Çalışmamızda majör bileşen cinnamaldehyde ile ikinci majör bileşen olan cinnamyl asetat dahil olmak üzere diğer minör bileşenler benzaldehide, eucalyptol ve α -terpinen kombinasyonları test edilmiştir.

Cinnamaldehyde-cinnamyl asetat kombinasyonunda, *E. faecalis* ATCC 29212 ve *S. Typhimurium* ATCC 14028 kökenleri için kısmi sinerji ve *A. lwoffii* ATCC 19002 kökeni için aditif etki görülürken diğer tüm kökenler için etkisiz bulunmuştur. Bu sonuçlara göre cinnamaldehyde ve cinnamyl asetat arasında antibakteriyel etkinlik bakımından kuvvetli bir ilişki görülmemektedir.

Cinnamaldehyde-benzaldehide kombinasyonu analiz edildiğinde, *E. faecium* ATCC 6057 ve *A. lwoffii* ATCC 19002 kökenleri için etkisiz, *E. faecalis* ATCC 29212 ve *S. maltophilia* ATCC 17666 kökenleri için kısmi sinerji, diğer tüm kökenler için ise sinerji saptanmıştır. *E. faecium* ATCC 6057 ve *A. lwoffii* ATCC 19002 kökenleri dışında, diğer kökenlerde sinerji/kısmi sinerji etkileşimi bulunmuş ve cinnamaldehyde ile benzaldehide'in antibakteriyel etkinlik açısından birbirleriyle olumlu bir etkileşim içinde oldukları düşünülmüştür.

Cinnamaldehyde-eucalyptol kombinasyonu, *K. pneumoniae* ATCC 700603, *P. aeruginosa* ATCC 27853 ve *S. maltophilia* ATCC 17666 kökenlerinde etkisiz iken, *S. aureus* ATCC 29213, *S. aureus* ATCC 43300 kökenlerinde sinerji, diğer kökenlerde ise kısmi sinerji oluşturmuştur. Cinnamaldehyde- α -terpinene kombinasyonunun, *E. coli* ATCC 25922 kökeni için sinerjik, *L. monocytogenes* F 1483 ve *P. aeruginosa* ATCC 27853 kökenleri için kısmi sinerjik, diğer tüm kökenler için ise etkisiz olduğu saptanmıştır. Eucalyptol ve α -terpinene'nin antibakteriyel etkinliklerinin zayıf olduğu göz önüne alındığında test edilen kökenlerin büyük çoğunluğunda sinerji/kısmi sinerji etkileşiminin görülmesi, her iki minör bileşenin adjuvan bir etki göstermiş olabileceğini düşündürmüştür. Literatürde, CZUY içinde bulunan bileşenlerin antibakteriyel etkinlik açısından birbiri ile ilişkisinin araştırıldığı herhangi bir çalışma bulunmamaktadır.

Uçucu yağlar ve bileşenlerin antibakteriyel maddeler olarak çalışılmasının en büyük nedenlerinden birisi bu maddelere karşı direnç gelişiminin antibiyotiklere göre daha uzun sürede olmasıdır. Becerril ve ark. (2012) tarafından yapılan bir çalışmada, çeşitli antibiyotiklerle muamele edilmiş *Morganella morganii*, *Serratia mercenscens*, *Proteus mirabilis* ve *P. aeruginosa* kökenleri 50 kez pasajlanmış ve MİK değerlerindeki değişim gözlemlenmiştir. Çalışma sonunda *S. mercenscens* kökeni için, test edilen antibiyotiklerin MİK değerlerinin, tetrasiklin için 16'dan >64 μ g/ml'ye, minosiklin için 32'den 64 μ g/ml'ye, nalidik asit için 2'den 16 μ g/ml'ye, siprofloksasin için 0.2'den 0.5 μ g/ml'ye ve kloromfenikol için ise 8'den 16 μ g/ml'ye çıktığı buna karşın *C. zeylanicum* uçucu yağı ile muamele edilen *S. mercenscens*, *P. mirabilis* ve *P. aeruginosa* kökeninin MİK değerinin değişmediği, sadece *M. morganii* kökeninin MİK değerinin 200'den 400 μ g/ml'ye çıktığı bildirilmiştir.

Uçucu yağlara karşı direnç gelişimi antibiyotiklere göre çok daha yavaştır. Günümüzde çoklu ilaç direnci gösteren kökenlerde, kombine antibiyotik kullanımı sık tercih edilen bir yöntemdir (Orchard ve Van Vuuren, 2017). Enfeksiyonun tedavi etkinliği bakımından faydalı olsa da, kullanılan antibiyotiklerin miktarının ve yan etkilerinin artması sorun oluşturmaktadır. Ancak uçucu yağlardan elde edilen doğal kaynaklı bileşenlerin antibiyotikler ile kombine edildiğinde sinerjik etki gösterdiği hem çalışmamızda hem de literatürde gösterilmiştir (Langeveld ve ark., 2014). Gelecekte bu tarz uygulamaların, kombine tedavilerde kullanılan antibiyotiğin

dozunun azalmasına bağlı olarak yan etkilerinin hafifletilmesi için yararlı olacağını düşünmekteyiz.

Uçucu yağlarda bulunan bileşenler *in vitro* antibakteriyel etkinliklerinden dolayı aday antibakteriyeller olarak görülebilir ancak bu bileşenlerin toksik, farmakokinetik ve farmakodinamik özelliklerinin belirlenmiş olması gerekmektedir. Sienkiewicz ve ark. (2014) yapmış oldukları bir çalışmada CZUY nin toksik etkilerini HMEC-1 (Human microvasculer endothelial cells) ve T98G (Glioblastoma cell line) hücre kültürlerinde çalışmışlardır. Sonuç olarak hem normal hücre (HMEC-1) hem de kanser hücre kültürlerinde (T98G) *C. zeylanicum* uçucu yağının, MİK değerinden daha düşük konsantrasyonda toksik etki gösterdiğini bildirmiştir. Ancak Stammati ve ark. (1999) memeli deney hayvanları üzerinde yaptıkları kısa süreli çalışma sonucunda hücresel seviyede orta derecede toksik etki gösteren cinnamaldehyde bileşenin *in vivo* şartlarda önemli bir toksik etki göstermediğini ileri sürmüştür.

Sonuç olarak, doğal kaynaklardan elde edilen biyoaktif bileşenler, güçlü antibakteriyel ve diğer biyolojik etkinlikleri ile tıpta kullanılmak üzere çalışılması gereken önemli aday moleküllerdir. Antimikrobiyal direnç gelişimine çözüm arayışında potansiyele sahip olan bu moleküllerin pratik kullanıma girebilmesi için daha ileri düzeyde araştırma ve çalışmaların yapılması gerekmektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, kullarımdaki antibakteriyel maddeler için tamamlayıcı özellikte, onlarla sinerji oluşturabilen, adjuvan etki gösterebilen yeni aday moleküllerin araştırılması ve antibakteriyel özelliklerinin belirlenmesi amaçlanmıştır. CZUY'nın ve bileşenlerinin, tek başına veya diğer ajanlarla kombine edilerek etkinlikleri test edilmiş, önemli sonuçlar elde edilmiştir.

Aşağıda, çalışmada ulaşılan sonuçlar anahatlarıyla sıralanmış ve bu sonuçlara bağılı olarak çeşitli öneriler yapılmıştır:

1. CZUY'nin majör bileşeni cinnamaldehyde olarak saptanmıştır.
2. CZUY ile cinnamaldehyde'in disk difüzyon ve sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle hem standart hem de çoklu ilaç direnci gösteren kökenlerde oldukça yüksek bir antibakteriyel etkiye sahip olduğu görülmüştür. CZUY'nin antibakteriyel etkisinden büyük oranda cinnamaldehyde sorumludur. CZUY içinde bulunan diğer bileşenlerin de, özellikle isoborneol, benzaldehyde ve eucalyptol'ün antibakteriyel etkiye katkı verdiği anlaşılmaktadır.
3. CZUY ve cinnamaldehyde'in, topikal antibiyotiklerle ve bileşenlerin kendi arasında sinerjik etkileşim içerisinde olduğu gösterilmiştir.
4. Çalışmamızda standart kökenlere ek olarak çoklu ilaç direncine sahip bakteriler kullanılmış, test edilen CZUY ve majör bileşeni cinnamaldehyde'in sadece standart kökenler değil, klinik kökenlere karşı da etkili olduğu saptanmıştır.
5. Tek başına antibakteriyel etkisi zayıf olduğu saptanan bileşenlerin, kuvvetli etkili başka bir bileşenin ya da antibiyotiğin etkisini artırıcı (adjuvan) etkiye ve/veya diğer biyolojik etkilere sahip olabileceği dikkate alınmalıdır.
6. Aday moleküllerin, farklı biyolojik aktiviteye sahip (yara iyileştirici gibi) ilaçlarla etkileşiminin incelenmesi yararlı sonuçlar verebilir.

7. Yapılan sinerji çalışmalarını tamamlayıcı olarak, *checkerboard* yöntemi ile birlikte zamana bağlı öldürme testlerinin de yapılması uygun olacaktır. Etkinliği kanıtlanmış maddelerin etki mekanizmalarının çalışılması da yararlı olacaktır.
8. Aday moleküllerin, diğer biyolojik aktiviteleri, sitotoksitesi, farmakokinetik ve farmakodinamik özellikleri yönünden incelenmesi gerekmektedir.



KAYNAKLAR

Abbaszadegan A, Dadolahi S, Gholami A, Moein MR, Hamedani S, Ghasemi Y, Abbot PV. Antimicrobial and cytotoxic activity of *Cinnamomum zeylanicum*, calcium hydroxide, and triple antibiotic paste as root canal dressing materials. *J Contemp Dent Pract*, 2016, 17:105-113.

Abbott SL, Frank CY, Janda JM. Increase in extraintestinal infections caused by *Salmonella enterica* Subspecies II–IV. *Emerg Infect Dis*, www.cdc.gov/eid, 4 April 2012.

Adams R.P. Identification of essential oil components by gas chromatography/quadrupole mass spectroscopy. *Allured Publishing Corp, Carol Stream, IL*, 2001.

Akalın H. Çoğul Dirençli Gram Negatif Bakteriler. İçinde: Doğanay M, Unal S. *Hastane infeksiyonları*, Ankara, Bilimsel Tıp Yayınevi, 2003:269-287.

Akan Ö. Enterococcus. İçinde: *Klinik Mikrobiyoloji*, Başustaoğlu A, Kubar A, Yıldırım ŞT, Tanyüksel M, (Çeviri editörleri). *Manuel of Clinical Microbiology*, Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA. 9. Baskı, Ankara, Atlas Kitapçılık, 2009:430-442.

Aktepe O. Enterobacteriaceae: *Giriş ve Tanımlama*. İçinde: *Klinik Mikrobiyoloji*, Başustaoğlu A, Kubar A, Yıldırım ŞT, Tanyüksel M, (Çeviri editörleri). *Manuel of Clinical Microbiology*. Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA. 9. Baskı, Ankara, Atlas Kitapçılık, 2009:649-669.

Alam MR, Donabedian S, Brown W, Gordon J, Chow JW, Zervos MJ, Hersberger. Heteroresistance to vancomycin in *E. faecium*. *J Clin Microbiol*, 2001, 39:3379-3381.

Al-Bayati F, Mohammed MJ. Isolation, identification, and purification of cinnamaldehyde from *Cinnamomum zeylanicum* bark oil. An antibacterial study. *Pharm Biol*, 2009, 47:61-66.

Amin KA, El-Twab TMA. Oxidative markers, nitric oxide and homocysteine alteration in hypercholesterolemia rats: role of atorvastatin and cinnamon. *Int J Clin Exp Med*, 2009, 2:254-265.

Anderson ET, Young LS, Hewitt WL. Antimicrobial synergy in the therapy of Gram negative rod bacteremia. *Chemotherapy*, 1978, 24:45-54.

Anstead GM, Owens AD. Recent advances in the treatment of infection due to resistant *Staphylococcus aureus*. *Curr Opin Infect Dis*, 2004, 17:549-555.

Antimicrobial susceptibility testing, In: Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology, 6th edition, Eds: Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC, Lippincott, New York, 1997.

ASCP Susceptibility Group. United States geographic bacteria susceptibility patterns. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 1997, 35:143-151.

Ayanoğlu G. Antibiyotik-antibiyotik olumsuz etkileşimleri. *ANKEM Derg*, 1987, 1:298-304.

Aydın K. Makrolidler ve linkozamidler. *ANKEM Derg*, 2007, 21:56-61.

Balıkçı E, Keskin C. Çeşitli Nozokomiyal enfeksiyonlara neden olan *Klebsiella pneumoniae* ve *Escherichia coli* şuşlarında genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz enzimlerinin sıklığının moleküler yöntemlerle araştırılması. *Türk Mikrobiyol Cem Derg*, 2011, 41:79-85.

Bandara T, Uluwaduge I, Jansz ER. Bioactivity of cinnamon with special emphasis on diabetes mellitus: a review. *Int J Food Sci Nutr*, 2012, 63:380-386.

Bassolé IHN, Juliani HR. Essential oils in combination and their antimicrobial properties. *Molecules*, 2012, 17:3989-4006.

Başustaoğlu A, Aydoğan H. Enterokoklar. Ed: Uzun Ö. *İnfeksiyon Hastalıkları Serisi*. Bilimsel Tıp Yayınevi. Ankara, 2002, 5:45-60.

Becerril R, Gomez LR, Goni P, Lopez P, Nerin C. Combination of analytical and microbiological techniques to study the antimicrobial activity of a new active food packaging containing cinnamon or oregano against *E. coli* and *S. aureus*. *Anal Bioanal Chem*, 2007, 388:1003-1011.

Becerril R, Nerin C, Gomez Lus R. Evaluation of bacterial resistance to essential oils and antibiotics after exposure to oregano and cinnamon essential oils. *Foodborne Pathogens Dis*, 2012, 9:699-705.

Bergogne-Berezin E, Towner KJ. *Acinetobacter spp.* as nosocomial pathogens: microbiological, clinical and epidemiological features. *Clin Microbiol Rev*, 1996, 9:148-165.

Berk A. *Esanslar (Eterik Yağlar)*, İstanbul, Hüsütabiât Matbaası, 1953.

Bosnić T, Softić D, Vasić-Grujić J. Antimicrobial activity of some essential oils and major constituents of essential oils. *Acta Medica Academica*, 2006, 35:19-22.

Boucher HW, Talbot GH, Bradley JS, Edwards JE, Gilbert D, Rice LB, Scheld M, Spellberg B, Bartlett J. Bad bugs, no drugs: no escape! An update from the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis*, 2009, 48:1-2.

Burt S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods-a review. *Int J Food Microbiol*, 2004, 94:223-253.

Bush K, Courvalin P, Dantas G, Davies J, Eisenstein B, Huovinen P, Jacoby GA, Kishony R, Kreiswirth BN, Kutter E, Lerner SA, Levy S, Lewis K, Lomovskaya O, Miller JH, Mobashery S, Piddock LJV, Projan S, Thomas CM, Tomasz A, Tulkens PM, Walsh TR, Watson JD, Witkowski J, Witte W, Wright G, Yeh P, Zgurskaya HI. Tackling antibiotic resistance. *Nat Rev Microbiol*, 2011, 9:894-896.

Centers for Disease Control and Prevention. Vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*-New York. *Morp Mortal Wkly Rep*, 2004a, 53:322-323.

Centers for Disease Control and Prevention. National Antimicrobial resistance Monitoring System for Enteric Bacteria (NARMS): 2002 Human Isolates Final Report. U.S Department of Health and Human Services, CDC, Anlanta, Ga, 2004b.

Centers for Disease Control and Prevention. Antimicrobial resistance, biggest threats, tracking mcr-1. <https://www.cdc.gov/drugresistance/tracking-mcr1.html>. 23 Nisan 2017.

Chang ST, Chen PF, Chang SC. Antibacterial activity of leaf essential oils and their constituents from *Cinnamomum osmophloeum*. *J Ethnopharmacol*, 2001, 77:123-127.

Chao LK, Hua KF, Hsu HY, Cheng SS, Liu JY, Chang ST. Study on the antiinflammatory activity of essential oil from leaves of *Cinnamomum osmophloeum*. *J Agric Food Chem*, 2005, 53:7274-7278.

Cheng SS, Liu JY, Tsai KH, Chen WJ, Chang ST. Chemical composition and mosquito larvicidal activity of essential oils from leaves of different *Cinnamomum osmophloeum* provenances. *J Agric Food Chem*, 2004, 52:4395-4400.

Cheng SS, Liu JY, Huang CG, Hsui YR, Chen WJ, Chang ST. Insecticidal activities of leaf essential oils from *Cinnamomum osmophloeum* against three mosquito species, *Bioresour Technol*, 2009, 100:457-464.

Chericoni S, Preieto JM, Lacopini P, Cioni P, Morelli I. In vitro activity of the essential oil of *Cinnamomum zeylanicum* and eugenol in peroxynitrite-induced oxidative processes. *J Agric Food Chem*, 2005, 53:4762-4785.

Chopra I, Hawkey PM, Hinton M. Tetracyclines, molecular and clinical aspects. *J Antimicrob Chemother*, 1992, 29:245-277.

Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-fourth informational supplement M100-S24, Vol. 34 No. 1, 950 West Valley Road, Suite 2500 Wayne, PA 19087 USA, 2014.

Collignon P, Turnidge J. Fusidic acid in vitro activity. *Int J Antimicrob Agents*, 1999, 12:45-58.

Dalton CB, Mintz ED, Wells JG, Bopp CA, Tauxe RV. Outbreaks of enterotoxigenic *Escherichia coli* infection in American adults: a clinical and epidemiologic profile. *Epidemiol Infect*, 1999, 123:9-16.

Davey P, Brown E, Charani E, Fenelon L, Gould IM, Holmes A, Ramsay CR, Wiffen PJ, Wilcox M. Interventions to improve antibiotic prescribing practices for hospital inpatients (review). *Cochrane Database Syst Rev*, 2013, 30:5-13.

Demir H, Erandaç M. Cerrahi alan infeksiyonlarından izole edilen mikroorganizmalar. *Cumhuriyet Üniv Tıp Fak Derg*, 2001, 23:89-91.

Denton M, Kerr KG. Microbiological and clinical aspects of infections associated with *Stenotrophomonas maltophilia*. *Clin Microbiol Rev*, 1998, 11:57-80.

De Souza SM, Monache FD, Smânia A. Antibacterial activity of coumarins. *Z Naturforsch C*, 2005, 60:693-700.

De Vos P, De Ley. Intra- and intergeneric similarities of *Pseudomonas* ve *Xanthomonas* ribosomal ribonucleic acid cistron. *Int J Anrimicrob Agents*, 1983, 33:487-509.

Dobie D, Grey J. Fusidic acid resistance in *Staphylococcus aureus*. *Arch Dis Child*, 2004, 89:74-77.

Doğan SŞ, Paköz NİE, Aral M. Laboratuvarımıza gönderilen yara yeri örneklerinden izole edilen mikroorganizmalar ve antibiyotiklere direnç durumları, *Türk Mikrobiyol Cem Derg*, 2010, 40:243-249.

Donati M, Mondin A, Chen Z, Miranda FM, Nascimento BB, Schirato G, Pastore P, Frolidi G. Radical scavenging and antimicrobial activities of *Croton zehntneri*, *Pterodon emarginatus* and *Schinopsis brasiliensis* essential oils and their majör constituents: estragole, trans-anethole, β -caryophyllene and myrcene. *Nat Prod Res*, 2014, 29:939-946.

Donenberg MS. Enteropathogenic *Escherichia coli*. In: Blaser MJ, Smith ED, Ravdin JI, Greenberg HB, Guerrant RL (ed), *Infections of the Gastrointestinal Tract*, 2nd ed, Philadelphia, Pa. Lippincott Williams and Wilkins, 2002:595-612.

Dubey RC, Rana A, Shukla RK. Antibacterial activity essential oil of some medicinal plants againts certain human parthogens. *Indian Drugs*, 2005, 42:443-446.

Dudley MN, McLaughlin JC, Carrington G, Frick J, Nightingale CH, Quintiliani. Oral bacitracin vs vancomycin therapy for *Clostridium difficile* induced diarrhea: a randomized double-blind trial. *Arch Intern Med*, 1986, 146:1101-1104.

ECDC/EMA. Technical report: the bacterial challenge: time to react. European centre for disease prevention and control/european medicines agency joint working group, Stockholm, 2009.

Ejim L, Farha MA, Falconer SB, Wildenhain J, Coombes BK, Tyers M, Brown ED, Wright GD. Combinations of antibiotics and nonantibiotic drugs enhance antimicrobial efficacy. *Nat Chem Biol*, 2011, 7:348-350.

Eliopoulos GM, Eliopoulos CT. Antibiotic combinations: Should they be tested?. *Clin Microbiol Rev*, 1988, 1:139-156.

Eliopoulos G, Moellering R.C. Antimicrobial Combinations. In: Lorian V., Ed., *Antibiotics in Laboratory Medicine*, 4th ed, Williams & Wilkins Co., Baltimore, 1996:330-396.

Elumalai S, Kesavan R, Ramganes S, Prakasam V, Murugasen R. Comparative study on anti-microbial activities of bark oil extract from *Cinnamomum cassia* and *Cinnamomum zeylanicum*. *Biosci Biotech Res Asia*, 2010, 7:251-258.

Emektaş G. Burkholderia, Stenotrophomonas, Ralstonia, Cupriavidus, Pandoraea, Brevundimonas, Comamonas, Delftia ve Acidovorax. İçinde: *Klinik Mikrobiyoloji*, Başustaoglu A, Kubar A, Yıldiran ŞT, Tanyüksel M, (Çeviri editörleri). Manuel of Clinical Microbiology, Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA. 9. Baskı, Ankara, Atlas Kitapçılık, 2009:749-769.

Erdoğan Orhan İ, Özçelik B, Kartal M, Kan Y. Antimicrobial and antiviral effects of essential oils from selected *Umbelliferae* and *Labiatae* plants and individual essential oil components. *Turk J Biol*, 2012, 36:239-246.

Evirgen Ö. *Listeria monocytogenes* İnfeksiyonu; kliniği, tanı ve tedavi özellikleri. *Van Tıp Dergisi*, 2005, 12:32-35.

Ferro TAF, Araújo JMM, Pinto BLS, Santos JS, Souza EB, Silva BLR, Colares VLP, Novais TMG, Filho CMB, Struve C, Calixto JB, Monteiro-Neto V, Silva LCN, Fernandes ES. Cinnamaldehyde inhibits *Staphylococcus aureus* virulence factors and protects against infection in a *Galleria mellonella* model. *Front Microbiol*, 2016, 7:2052. doi: 10.3389/fmicb.2016.02052.

Finland M, Gamer C, Wilcox C, Labath LD. Susceptibility of beta hemolytic streptococci to 65 antibacterial agents. *Antimicrob Agents Chemother*, 1976, 9:11-19.

Fleming A. On the antibacterial action of cultures of a penicillium, with special reference to their use in the isolation of *B. influenzae*. *Br J Exp Pathol*, 1929, 10:226-236.

Freire JM, Cardoso MG, Batista LR, Andrade MA. Essential oil of *Origanum majorana* L., *Illicium verum* Hook. f. And *Cinnamomum zeylanicum* blume: chemical and antimicrobial characterization. *Res Bras Pl Med Botucatu*, 2011, 13:209-214.

Friedman M, Henika PR, Mandrell RE. Bactericidal activities of plant essential oils and some of their isolated constituents against *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella enterica*. *J Food Prot*, 2002, 65:1545-1560.

Fuchs PC, Joner RN, Barry AL. Interpretive criteria for disk diffusion susceptibility testing of mupirocin, a topical antibiotic. *J Clin Microbiol*, 1990, 28:608-609.

Garneau-Tsodikovaa S, Labby KJ. Mechanisms of resistance to aminoglycoside antibiotics: Overview and perspectives. *Medchemcomm*, 2016, 7:11-27.

Gende LB, Floris I, Fritz R, Eguaras MJ. Antimicrobial activity of cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*) essential oil and its main components against *Paenibacillus* larvae from argentine. *Bulletin of Insectology*, 2008, 61:1-4.

Getchell-White SL, Donovitz LG, Groschel DHM. The inanimate environment of an intensive care unit as a potential source of nosocomial bacteria: evidence for long

survival of *Acinetobacter colcoaceticus*. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 1989, 10:402-407.

Gibbons S. Phytochemicals for bacterial resistance-strengths, weaknesses and opportunities. *Planta Med*, 2008, 74:594-602.

Gilbert DN. Aminoglycosides. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, eds. *Douglas and Bennett's Principles and practice of infectious diseases*. New York: Churchill Livingstone, 1995:279-301.

Gill AO, Delaquis P, Russo P, Holley RA. Evaluation of antilisterial action of cilantro oil on vacuum packed ham. *Int J Food Microbiol*, 2002, 73:83-92.

Gill AO, Holley RA. Mechanisms of bactericidal action of cinnamaldehyde against *Listeria monocytogenes* and of eugenol against *L. monocytogenes* and *Lactobacillus sakei*. *Appl Environ Microbiol*, 2004, 70:5750-5755.

Gill AO, Holley RA. Disruption of *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* and *Lactobacillus sakei* cellular membranes by plant oil aromatics. *Int J Food Microbiol*, 2006a, 108:1-9.

Gill AO, Holley RA. Inhibition of membrane bound ATPases of *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes* by plant oil aromatics. *Int J Food Microbiol*, 2006b, 11:170-174.

Giske CG, Monnet DL, Cars O, Carmeli Y. Clinical and economic impact of common multidrug resistant Gram negative bacilli. *Antimicrob Agents Chemother*, 2008, 52:813-821.

Glandt M, Adachi JA, Mathewson JJ, Jiang ZD, DiCesare D, Ashley D, Ericsson CD, DuPont HL. Enterotoxigenic *Escherichia coli* as a cause of traveler's diarrhea: clinical response to ciprofloxacin. *Clin Infect Dis*, 1999, 29:335-338.

Goldman E. Antibiotic abuse in animal agriculture: Exacerbating drug resistance in human pathogens. *Human Ecol Risk Assess*, 2004, 10:121-134.

Guenther E. *The essential oils*. 1st ed. New York, D. Van Nostrand Company Inc, 1948.

Guerra FQS, Mendes JM, Sousa JP, Morais Braga MFB, Santos BHC, Countinho HDM, Lima EO. Increasing antibiotic activity against a multidrug resistant *Acinetobacter spp* by essential oils of *Citrus limon* and *Cinnamomum zeylanium*. *Nat Prod Res*, 2012, 26:2235-2238.

Gültekin B. Listeria ve Erysipelothrix. İçinde: *Klinik Mikrobiyoloji*, Başustaoğlu A, Kubar A, Yıldırım ŞT, Tanyüksel M, (Çeviri editörleri). Manuel of Clinical Microbiology, Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA. 9. Baskı, Ankara, Atlas Kitapçılık, 2009:474-484.

Gümral R. Staphylococcus, Micrococcus ve Diğer Katalaz Pozitif Koklar. İçinde: *Klinik Mikrobiyoloji*, Başustaoğlu A, Kubar A, Yıldırım ŞT, Tanyüksel M, (Çeviri editörleri). Manuel of Clinical Microbiology, Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA. 9. Baskı, Ankara, Atlas Kitapçılık, 2009:390-411.

Gündem NS, Çıkman A, Gülhan B. İdrar kültürlerinden izole edilen *E. coli* ve *Klebsiella spp.* suşlarının genişlemiş spektrumlu beta laktamaz (GSBL) üretimi ve antibiyotik direnci. *J Clin and Experiment Invest*, 2013, 4:56-62.

Gündüz T, Tosun S, Demirel MM: Bir çocuk hastanesinde izole edilen stafilocokların mupirosin duyarlılığı, *İnfeksiyon Derg*, 2005, 19:345-347.

Gürson O, Özçelikay G. Tarçın'ın tarih boyunca ve günümüzdeki kullanımı. <http://dergiler.ankara.edu.tr/dergiler/19/23/120.pdf>. 25 Temmuz 2017.

Hadorn K, Hachler H, Schaffner A, Kayser FH. Genetic characterizations of plasmid-encoded multiple antibiotic resistance in a strain of *Listeria monocytogenes* causing endocarditis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 1993, 12:928-937.

Hadri Z, Allem R, Perry MG. Effect of essential oil of *Cinnamomum zeylanicum* on some pathogenic bacteria. *Afr J Microbiol Res*, 2014, 8:1026-1031.

Haight T, Finland M. The antibacterial action of erythromycin. *Proc Soc Exp Biol Med*, 1952, 81:175-83.

Haines CE, Shankel DM. The effects of cinnamaldehyde and vanillin in growth assays of *Escherichia coli* and *Salmonella Typhimurium*. *Environ Mol Mutagen*, 1990, 15:23-24.

Hammer KA, Carson CF, Riley TV. Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *J Appl Microbiol*, 1999, 86:985-990.

Hancock LE, Gilmore MS. Pathogenicity of enterococci. In: Fischetti VA, Novick RR, Ferretti JJ, Portnoy, Rood JI. (eds). *Gram Positive Pathogens*. Washington, D.C, ASM press, 2000:251-258.

Helander IM, Alakomi HL, Latva Kala K, Mattila Sandholm T, Pol I, Smid EJ, Gorris LGM, Wright A. Characterization of the action of selected essential oil components on gram negative bacteria. *J Agric Food Chem*, 1998, 46:3590-3595.

Hemaisvarya S, Kruthiventi AK, Doble M. Synergism between natural products and antibiotics against infectious diseases. *Phytomedicine*, 2008, 15:639-652.

Hendry ER, Worthington T, Conway BR, Lambert PA. Antimicrobial efficacy of eucalyptus oil and 1,8-cineole alone and in combination with chlorhexidine digluconate against microorganisms grown in planktonic and biofilm cultures. *J Antimicrob Chemother*, 2009, 64:1219-1225.

Herman A, Herman AP, Domagalska BW, Młynarczyk A. Essential oil and herbal extract as antimicrobial agents in cosmetic emulsion. *Indian J Microbiol*, 2013, 53:232-237.

Hosseini N, Zahra Z, Abolfazl M, Mahdi S, Ali K. Effect of *Cinnamomum zeylanicum* essence and distillate on the clotting time. *J Med Plants Res*, 2013, 7:339-343.

Hili P, Evans CS, Veness RG. Antimicrobial action of essential oils: the effect of dimethylsulphoxide on the activity of cinnamon oil. *Lett Appl Microbiol*, 1997, 24:269-275.

Hohman EL. Nontyphoidal salmonellosis. *Clin Infect Dis Rep*, 2001, 32:236-269.

Hollis A, Ahmad Z. Preserving antibiotics, rationally. *N Engl J Med*, 2013, 369:2474-2476.

Holt JG, Kreig NR, Sneath PHA, Staley JT, Williams ST. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 9th ed. Baltimore, The Williams & Wilkins, Co, 1994:93-94.

Huang TC, Fu HY, Ho TC, Tan D, Huang YT, Pan MH. Induction of apoptosis by cinnamaldehyde from indigenous cinnamon *Cinnamomum osmophloeum* kaneh through reactive oxygen species production, glutathione depletion, and caspase activation in human leukemia K562 cells. *Food Chemistry*, 2007, 103:434-443.

Huovinen P. Resistance to trimethoprim – sulfamethoxazole. *Clin Infect Dis*, 2001, 32:1608-1614.

Hurdle JG, O'Neill AJ, Mody L, Chopra I, Bradley SF. In vivo transfer of high-level mupirocin resistance from *Staphylococcus epidermidis* to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* associated with failure of mupirocin prophylaxis. *J Antimicrob Chemother*, 2005, 56:1166-1168.

IOM (Institute of Medicine). *Antibiotic resistance: Implications for global health and novel intervention strategies*. Washington DC. The National Academies Press, 2010.

İşgör A, Sultan N. Topikal antibiyotik kullanımı gerekli mi?. *Ankem Derg*, 2007, 21:118-124.

Janssen AM, Scheffer JJC, Baerheim Svendsen A. Antimicrobial activity of essential oils: a 1976– 1986 literature review. Aspects of the test methods. *Planta Medica*, 1987, 53:396-398.

Jarvill Taylor KJ, Anderson RA, Graves DJ. A hydroxychalcone derived from cinnamon functions as a mimetic for insulin in 3T3-L1 adipocytes. *J Am Coll Nutr*, 2001, 20:327-336.

Jia Q, Liu X, Wu X, Wang R, Hu X, Li Y, Huang C. Hypoglycemic activity of a polyphenolic oligomer rich extract of *Cinnamomum parthenoxylon* bark in normal and streptozotocin induced diabetic rats. *Phytomedicine*, 2009, 16:744-750.

Johny AK, Hoagland T, Venkitanarayanan K. Effect of subinhibitory concentrations of plant derived molecules in increasing the sensitivity of multidrug-resistant *Salmonella enterica serovar typhimurium* DT104 to antibiotics. *Foodborne Pathog Dis*, 2010, 7:1165-1170.

Kaper JB, Nataro JP, Mobley HL. Pathogenic *Escherichia coli*. *Nat Rev Microbiol*, 2004, 2:123-140.

Kim HO, Park SW, Park HD. Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 by cinnamic aldehyde purified from *Cinnamomum cassia* shoot. *Food Microbiology*, 2004, 21:105-110.

Kim N, Sung H, Kim W. Effect of solvents and some extraction conditions on antioxidant activity in cinnamon extracts. *Korean J Food Sci Technol*, 1993, 25:204-209.

Kim SH, Hyun SH, Choung SY. Antidiabetic effect of cinnamon extract on blood glucose in db/db mice. *J Ethnopharmacol*, 2006, 104:119-123.

Kilpper R, Buhl U, Schleifer KH. Nucleic acid homology studies between *Peptococcus saccharolyticus* and various anaerobic and facultative anaerobic Gram positive cocci. *FEMS Microbiol Lett*, 1980, 8:205-210.

Kong JO, Lee SM, Moon YS, Lee SG, Ahn YJ. Nematicidal activity of cassia and cinnamon oil compounds and related compounds toward *Bursaphelenchus xylophilus* (Nematoda: Parasitaphelenchidae). *J Nematol*, 2007, 39:31-36.

Köksal İ. Antibakteriyel Ajanlar. İçinde: *Klinik Mikrobiyoloji*, Başustaoğlu A, Kubar A, Yıldırım ŞT, Tanyüksel M, (Çeviri editörleri). *Manuel of Clinical Microbiology*, Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA. 9. Baskı, Ankara, Atlas Kitapçılık, 2009:1077-1113.

Langeveld WT, Veldhuizen EJA, Burt SA. Synergy between essential oil components and antibiotics: a review. *Crit Rev Microbiol*, 2014, 40:76-94.

Leclercq R. Mechanisms of resistance to macrolides and lincosamides: nature of the resistance elements and their clinical implications. *Clin Infect Dis*, 2002, 34:482-492.

Lecuit M, Nelson DM, Smith SD, Kuhn H, Huerre M, Vacher-Lavenu MC, Gordon JI, Cossart P. Targeting and crossing of the human maternofetal barrier by *Listeria monocytogenes*: role of internalin interaction with trophoblast E-cadherin. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101:6152-6157.

Lehtinen J, Lilius EM. Promethazine renders *Escherichia coli* susceptible to penicillin G: real time measurement of bacterial susceptibility by fluoroluminometry. *Int J Antimicrob Agents*, 2007, 30:44-51.

Leigh DA. Antibacterial activity and pharmacokinetics of clindamycin. *J Antimicrob Chemother*, 1981, 7:3-9.

Levent B. *Escherichia*, *Shigella* ve *Salmonella*. İçinde: *Klinik Mikrobiyoloji*, Başustaoğlu A, Kubar A, Yıldırım ŞT, Tanyüksel M, (Çeviri editörleri). Manuel of Clinical Microbiology, Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA. 9. Baskı, Ankara, Atlas Kitapçılık, 2009:670-687.

Lewis K. Recover the lost art of drug discovery. *Nature*, 2012, 485:439-440.

Li L, Li ZW, Yin ZQ, Wei Q, Jia RY, Zhou LJ, XU J, Song X, Zhou Yi, Du YH, Peng LC, Kang S, Yu W. Antibacterial activity of leaf essential oil and its constituents from *Cinnamomum longepaniculatum*. *Int J Exp Med*, 2014, 7:1721-1727.

Li YJ, Pan CZ, Zhao ZW, Zhao ZX, Chen HL, Lu WB. Effects of a combination of amlodipine and imipenem on 42 clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* obtained from a teaching hospital in Guangzhou, China. *BMC Infect Dis*, 2013, 13:1-9.

Limaverde PW, Campina FF, Cunha FAB, Crispim FD, Figueredo FG, Lima LF, Oliveira-Tintino CDM, Mantos YML, Morais-Braga MFB, Menezes IRA, Balbino VQ, Coutinho HDM, Siqueira-Junior JP, Almeida JRGS, Tintino SR. Inhibition of the *TetK* efflux-pump by the essential oil of *Chenopodium ambrosioides* L. and α -terpinene against *Staphylococcus aureus* IS-58. *Food Chem Toxicol*, 2017;1-5. doi: 10.1016/j.fct.2017.02.031.

Linskens HF, Jackson JF. Essential Oils and waxes. In: *Modern Methods of Plant Analysis*. Springer, 1997.

Liu Q, Niu H, Zhang W, Mu H, Sun C, Duan J. Synergy among thymol, eugenol, berberine, cinnamaldehyde and streptomycin against planktonic and biofilm-associated food-borne pathogens. *Lett Appl Microbiol*, 2015, 60:421-30.

Livermore DM. Multiple mechanisms of antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: our worst nightmare?. *Clin Infect Dis*, 2002, 34:634-640.

Livermore DM, Li XZ, Nikaido H. Role of efflux pumps in intrinsic resistance of *P. aeruginosa*-Resistance to tetracycline, chloramphenicol, and norfloxacin. *Antimicrob Agents Chemother*, 1994, 38:1732-1741.

Llarrull L, Testero SA, Fisher JF, Mobashery S. The future of the β lactams. *Curr Opin in Microbiol*, 2010, 13:551-557.

Lu Z, Jia Q, Wang R, Wu X, Wu Y, Huang C, Li Y. Hypoglycemic activities of a and b type procyanidin oligomer rich extracts from different Cinnamon barks. *Phytomedicine*, 2011, 18:298-302.

Ma D, Cook DN, Hearts JE, Nikaido H. Efflux pumps and drug resistance in gram negative bacteria. *Trends Microbiol*, 1994, 2:489-493.

Mancini Filho J, Van Kooij A, Mancini DAP, Cozzolino FF, Torres RP. Antioxidant activity of cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*, breyne) extracts. *Bollettino Chimico Farmaceutico*, 1998, 137:443-447.

Manson JM, Keis S, Smith JMB, Cook GM. Acquired bacitracin resistance in *Enterococcus faecalis* is mediated by an ABC transporter and a novel regulatory protein, BcrR. *Antimicrob Agent Chemother*, 2004, 48:3743-3748.

Matan N, Rimkeeree H, Mawson AJ, Chompreeda P, Haruthaithanasan V, Parker M. Antimicrobial activity of cinnamon and clove oils under modified atmosphere conditions. *Int J Food Microbiol*, 2006, 107:180-185.

Mathew S, Abraham TE. Studies on the antioxidant activities of cinnamon (*Cinnamomum verum*) bark extracts, through various in vitro models. *Food Chemistry*, 2006a, 94:520-528.

Mathew S, Abraham TE. *In vitro* antioxidant activity and scavenging effects of *Cinnamomum verum* leaf extract assayed by different methodologies. *Food Chem Toxicol*, 2006b, 44:198-206.

Mazumdar K, Dastidar SG, Park JH, Dutta NK. The Antiinflammatory nonantibiotic helper compound diclofenac: an antibacterial drug target. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2009, 28:881-891.

Mead PS, Slutsker L, Dietz V, McCaig LF, Bresee JS, Shapiro C, Griffin PM, Tauxe RV. Food-related illness and death in the United States. *Emerg Infect Dis*, 1999, 5:607-625.

Members of the SFM Antibioqram Committee. Comite' de l'Antibiogramme de la Societe' Francaise de Microbiologie Report 2003. *Int J Antimicrob Agents*, 2003, 21:364-391.

McGehee RF, Smith CB, Vilcox C, Finland M. Comparative studies of antibacterial activity in vitro and absorption and excretion of lincomycin and clindamycin. *Am j Med Sci*, 1968, 256:279-292.

McMurry LM, Levy SB. Tetracycline resistance in Gram positive bacteria. In V. A. Fischetti, R. P. Novick, J. J. Ferretti, D. A. Portnoy, and J. I. Rood (ed.), *Gram-positive pathogens*. American Society for Microbiology, Washington, D.C, 2000:660-667.

Migula W. Uber ein neues System der Bakterien. *Arb Bakteriolog Inst Karlsruhe*, 1894, 1:235-238.

Minich ST, Msom L. *Chinese Herbal Medicine in Women's Health*, Women's Health, 2008.

Montagu A, Joly-Guillou ML, Rossines E, Cayon J, Kempf, Sauinler P. Stress condition induced by carvacrol and cinnamaldehyde on *Acinetobacter baumannii*. *Front Microbiol*, 2016, 19:1133. doi: 10.3389/fmicb.2016.01133.

Montero A, Ariza J, Corbella X, Doménech A, Cabellos C, Ayats J, Tubau F, Borraz C, Gudiol F. Antibiotic combinations for serious infections caused by carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in a mouse pneumonia model. *J Antimicrob Chemother*, 2004, 54:1085-1091.

Montie T, Patamasucon P. Aminoglycosides: The complex problem of antibiotic mechanisms and clinical applications. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 1995, 14:85-87.

Mourey A, Canillac N. Anti *Listeria monocytogenes* activity of essential oils components of conifers. *Food Control*, 2002, 13:289-292.

NCCLS. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing 15th informational supplement (M 100-S15) National Committee for Clinical Laboratory Standards Wayne Pa. 2005.

NCCLS. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; approved standard-Fifth edition. NCCLS document M7-A5. [ISBN 1-56238-3949] NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898. USA, 2000a.

NCCLS. Modifications of standard methods for susceptibility testing of *Listeria spp.* and *Neisseria meningitidis*. NCCLS document M7-A5 (Table 7). Villanova, Pa: NCCLS, 2000b.

Neta MCS, Vittorazzi C, Guimarães AC, Martins JDL, Fronza M, Endringer DC, Scherer R. Effects of β -caryophyllene and *Murraya paniculata* essential oil in the

murine hepatoma cells and in the bacteria and fungi 24-h time–kill curve studies. *Pharm Biol*, 2016, 55:190-197.

Nikaido H. Preventing drug access to targets: cell surface permeability barriers and active efflux in bacteria. *Semin Cell Dev Biol*, 2001, 12:215-223.

Nitiema LW, Savado A, Simpure J, Dianou D, Traore AS. In vitro Antimicrobial Activity of Some Phenolic Compounds (Coumarin and Quercetin) Against Gastroenteritis Bacterial Strains. *Int J Microbiol Res*, 2012, 3:183-187.

Nordberg P, Monnet DL, Cars O. Antibacterial drug resistance: option for concerted action. Geneva, Switzerland: WHO Department of Medicines Policy and Standards, World Health Organization. 2005.

O'Donnel JA, Tunkel AR: Topical antimicrobials, In:“Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds): *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Disease*, 6th, Churchill and Livingstone Inc., Philadelphia, 2005:478-489.

Onderoglu S, Sozer S, Erbil KM, Ortac R, Lermioglu F. The evaluation of long term effects of cinnamon bark and olive leaf on toxicity induced by streptozotocin administration to rats. *J Pharm Pharmacol*, 1999, 51:1305-1312.

Orchard A, Van Vuuren S. Commercial essential oil as potential antimicrobials to treat skin diseases. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2017, 2017:4517971. doi: 10.1155/2017/4517971.

Özel Y, Vardar Ünlü G. Üriner sistem infeksiyonlarından soyutlanan *Escherichia coli* suşlarında fosfomisin in vitro etkinliği. *ANKEM Derg*, 2015, 29:95-98.

Özkan F, Yegane S, Tünger A, Özinel MA, Tokbaş A. Stafilokoklarda mupirosin direnci. *ANKEM Derg*, 1997, 11:45-49.

Pancoast SJ. Aminoglycoside antibiotics in clinical use. *Med Clin North Am*, 1988, 72:581-612.

Palaniappan K, Holley RA. Use of natural antimicrobials to increase antibiotic susceptibility of drug resistant bacteria. *Int J Food Microbiol*, 2010, 140:164-168.

Palleroni NJ, Bradbury JE. *Stenotrophomonas*, a new bacterial genus for *Xanthomonas maltophilia*. *Int J Syst Bacteriol*, 1993, 43:606-609.

Panaragama PA, Wimalasena S, Jayatilake GS, Jayawardena AL, Senanayake UM, Mubarak AM. A comparison of essential oil constituents of bark, leaf, root and fruit of Cinnamon (*Cinnamomum Zeylanicum* blum) grown in Sri Lanka. *J Natn Sci Foundation Sri Lanka*, 2001, 29:147-153.

Park DW, Kim MJ, Yang JA, Jeong HW, Sohn JW, Chun BC. Risk factors for isolation of low-level mupirocin-resistant versus –susceptible methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from patients in intensive care units. *J Infect*, 2007, 54:337-342.

Park IK, Park JY, Kim KH, Choi KS, Choi IH, Kim CS, Shin SC. Nematicidal activity of plant essential oils and components from garlic (*Allium sativum*) and cinnamon (*Cinnamomum verum*) oils against the pine wood nematode (*Bursaphelenchus xylophilus*). *J Nematol*, 2005, 7:767-774.

Pieri FA, Souza MCC, Vermelho LLR, Vermoho MLR, Perciano PG, Vargas FS, Borges APB, Veiga-Junior VF, Moreira MAS. Use of β -caryophyllene to combat bacterial dental plaque formation in dogs. *BMC Vet Res*, 2016, 12:216-224.

Prabuseenivasan S, Jayakumar M, Ignacimuthu S. In vitro antibacterial activity of some plant essential oils. *BMC Complement and Altern Med*, 2006, 6:1-8.

Quenaan AM, Bush K. Carbapenemases; the versatile beta-lactamases, *Clin Microbiol Rev*, 2007, 20:440-458.

Raeisi M, Tajik H, Yarahmadi A, Sanginabadi S. Antimicrobial effect of cinnamon essential oil against *Escherichia Coli* and *Staphylococcus aureus*. *Health Scope*, 2015, 4:e21808.

Revati S, Bipin C, Chitra PB, Minakshi B. In vitro antibacterial activity of seven Indian spices against high level gentamicin resistant strains of enterococci. *Arch Med Sci*, 2015, 11:863-868.

Rios JL, Recio MC, Villar A. Screening methods for natural antimicrobial products with antimicrobial activity: a review of the literature. *J Ethnopharmacol*, 1988, 23:127-149.

Rocourt j, Cossart P. *Listeria monocytogenes*. In: Doyle PM, Beuchat LR, Montville TJ (ed), *Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers*, Washington, D.C., ASM press, 1997:337-352.

Rossau R, Van Landschoot, Gillis M, De Ley J. Taxonomy of *Moraxellaceae* fam. Nov., a new bacterial family to accommodate the genera *Moraxella*, *Acinetobacter*, and *Psychrobacter* and related organisms. *Int J Syst Bacteriol*, 1991, 41:310-319.

Saballs M, Pujol M, Tubau F, Pena C, Montero A, Dominguez M.A, Gudiol F, Ariza J. Rifampicin/imipenem combination in the treatment of carbapenem resistant *Acinetobacter baumannii* infections. *J Antimicrob Chemother*, 2006, 58:697-700.

San Gabriel R, Zhou J, Tabibi S, Chen Y, Trauzzi M, Saiman. Antimicrobial susceptibility and synergy studies of *Stenotrophomonas maltophilia* isolates from patients with cystic fibrosis. *Antimicrob Agents Chemother*, 2004, 48:168-171.

Sangal A. Role of cinnamon as beneficial antidiabetic food adjunct: a review. *Adv Appl Sci Res*, 2011, 2:440-450.

Santoyo S, Cavero S, Jaime L, Ibanez E, Senorans FJ, Reglero G. Supercritical carbon dioxide extraction of compounds with antimicrobial activity from *Origanum vulgare* L.: determination of optimal extraction parameters. *J Food Prot*, 2006, 69:369-375.

Senhaji O, Faid Mohamed, Kalalou I. Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 by essential oil from *Cinnamomun zeylanicum*. *Braz J Infect Dis*, 2007, 11:234-236.

Schnappinger D, Hillen W. Tetracyclines: antibiotic action, uptake, and resistance mechanisms, *Arch Microbiol*, 1996, 165:359-369.

Scientific Advisory Group on Antimicrobials of the Committee for Medicinal Products for Veterinary Use. Reflection paper on the use of third and fourth generations cephalosporins in food producing animals in the European Union: Development of resistance and impact on human and animal health. *J Vet Pharmacol Therap*, 2009, 32:515-533.

Sengeløv G, Agersø Y, Halling Sørensen B, Bloda SB, Andersen JS, Jensen LB. Bacterial antibiotic resistance levels in Danish farmland as a result of treatment with pig manure slurry. *Environ Int*, 2003, 28:587-595.

Sfeir M, Youssef P, Mokhbat JE. *Salmonella* Typhi sternal wound infection. *Am J Infect Control*, 2013: e123-e124.

Shahverdi AR, Monsef Esfahani HR, Tavasoli F, Zaheri A, Mirjani R. Trans cinnamaldehyde from *Cinnamomum zeylanicum* bark essential oil reduces the clindamycin resistance of *Clostridium difficile* in vitro. *J Food Sci*, 2007, 72:55-58.

Sheldon AT. Antibiotic resistance: a survival strategy. *Clin Lab Sci*, 2005, 18:170-180.

Shobana S, Akhilender Naidu K. Antioxidant activity of selected Indian spices. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*, 2000, 62:107-110.

Siegman-Igra Y, Bar-Yosef S, Gorea A, Avram J. Nosocomial *Acinetobacter* meningitis secondary to invasive procedures: report of 25 cases and review. *Clin Infect Dis*, 1993, 17:843-849.

Sienkiewicz M, Głowacka A, Kowalczyk E, Wiktorowska Owczarek A, Jozwiak Bębenista M, Łysakowska M. The biological activities of cinnamon, geranium and lavender essential oils. *Molecules*, 2014, 19:20929-20940.

Simić A, Soković MD, Ristić M, Grujić-Jovanović S, Vukojević J, Marin PD. The chemical composition of some *Lauraceae* essential oil and their antifungal activities. *Phytother Res*, 2004, 18:713-717.

Simonsen GS, Smabrekke L, Monnet DL, Sørensen TL, Møller JK, Kristinsson KG, Lagerqvist-Widh A, Torell E, Digranes A, Harthug S, Sundsfjord A. Prevalence of resistance to ampicillin, gentamicin and vancomycin in *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* isolates from clinical specimens and use of antimicrobials in five Nordic hospitals, *J Antimicrob Chemoter*, 2003, 51:323-331.

Singh G, Maurya S, Lampasona MP, Catalan CAN. A comparison of chemical, antioxidant and antimicrobial studies of cinnamon leaf and bark volatile oils, oleoresins and their constituents. *Food Chem Toxicol*, 2007, 45:1650-1661.

Sivapalasingam S, Steigbigel NH. Macrolides, clindamycin, and ketolides. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds), *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Disease*. 6 th ed. Elsevier Inc, New York, 2005:396-417.

Skov R, Frimodt-Møller N, Espersen F. Correlation of MIC methods and tentative interpretive criteria for disk diffusion susceptibility testing using NCCLS methodology for fusidic acid. *Diagn Microbiol Infect*, 2001, 40:111-116.

Somboli A, Babakhani B, Mehrabian AR. Antimicrobial activity of six constituents of essential oil from *Salvia*. *Z Naturforsch C*, 2005, 61:160-164.

Song JY, Cheong HJ, Lee J, Sung AK, Kim WJ. Efficacy of monotherapy and combined antibiotic therapy for carbapenem resistant *Acinetobacter baumannii* pneumonia in an immunosuppressed mouse model. *Int J Antimicrob*, 2009, 33:33-39.

Stammati A, Bonsi P, Zucco F, Moezelaar R, Alakomi HI, Von Wright A. Toxicity of selected plant volatiles in microbial and mammalian short term assays. *Food Chem Toxicol*, 1999, 37:813-823.

Stein GE, Craig WA. Tigecycline: a critical analysis. *Clin Infect Dis*, 2006, 43:518-524.

Stevens DL, Bisno AL, Chambers HF, Everett ED, Dellinger P, Goldstein EJC, Gorbach SL, Hirschmann JV, Kaplan EL, Montoya JG, Wade JC. Practice guidelines for the diagnosis and management of skin and soft-tissue infections. *Clin Infect Dis* 2005, 41:1373-1406.

Subash Babu P, Prabuseenivasan S, Ignacimuthu S. Cinnamaldehyde a potential antidiabetic agent. *Phytomedicine*, 2007, 14:15-22.

Şener B. Pseudomonas. İçinde: *Klinik Mikrobiyoloji*, Başustaoğlu A, Kubar A, Yıldiran ŞT, Tanyüksel M, (Çeviri editörleri). *Manuel of Clinical Microbiology*, Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA. 9. Baskı, Ankara, Atlas Kitapçılık, 2009:734-748.

Tajkarimi MM, Ibrahim SA, Cliver DO. Antimicrobial herb and spice compounds in food. *Food Control*, 2010, 21:1199-1218.

Tambyah PA, Marx JA, Maki DG. Nosocomial Infection with Vancomycin-dependent Enterococci. *Emerg Infect Dis*, 2004, 10:1277-1281.

Tan HH: Topical antibacterial treatments for acne vulgaris. *Am J Clin Dermatol*, 2004, 5:79-84.

Taşova Y, Tetrasiklinden tigesikline. *ANKEM Derg*, 2010, 24:36-44.

The European Commitee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 5.0, 2017. <http://www.eucast.org>

The Taxonomicon. <http://taxonomicon.taxonomy.nl/TaxonTree.aspx>. 25 Temmuz 2017.

Tilton RC, Ebrom SJ. *Listeria monoytogenes* wound infection. *Clin Microbiol News*, 1982, 4:44-50.

TMIC. The metabolomics innovation centre. <http://www.hmdb.ca/metabolites/HMDB03441>. 25 Temmuz 2017.

TMIC. The metabolomics innovation centre. <http://www.hmdb.ca/metabolites/HMDB29699>. 25 Temmuz 2017.

TMIC. The metabolomics innovation centre. <http://www.hmdb.ca/metabolites/HMDB01218>. 25 Temmuz 2017.

TMIC. The metabolomics innovation centre.
<http://www.hmdb.ca/metabolites/HMDB35819>. 25 Temmuz 2017.

TMIC. The metabolomics innovation centre.
<http://www.hmdb.ca/metabolites/HMDB61851>. 25 Temmuz 2017.

TMIC. The metabolomics innovation centre.
<http://www.hmdb.ca/metabolites/HMDB36792>. 25 Temmuz 2017.

TMIC. The metabolomics innovation centre.
<http://www.hmdb.ca/metabolites/HMDB36995>. 25 Temmuz 2017.

TMIC. The metabolomics innovation centre.
<http://www.hmdb.ca/metabolites/HMDB04472>. 25 Temmuz 2017.

TMIC. The metabolomics innovation centre.
<http://www.hmdb.ca/metabolites/HMDB04321>. 25 Temmuz 2017.

TMIC. The metabolomics innovation centre.
<http://www.hmdb.ca/metabolites/HMDB06115>. 25 Temmuz 2017.

Toma E, Barriault D. Antimicrobial activity of fusidic acid and disk diffusion susceptibility testing criteria for Gram positive cocci. *J Clin Microbiol*, 1995, 33:1712-1715.

Töreci K. Klebsiella türleri. İçinde: Topcu AW, Söyletir G, Doğanay M, *İnfeksiyon hastalıkları ve mikrobiyolojisi*, Nobel tıp kitapçevleri, 2002, 2:1575-1608.

Toroğlu S, Çenet M. Tedavi amaçlı kullanılan bazı bitkilerin kullanım alanları ve antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi için kullanılan metodlar. *KSU J Sci Eng*, 2006, 9:12-20.

Troxler R, Graevenitz A, Funke G, Wiedemann B, Stock I. Natural antibiotic susceptibility of *Listeria* species: *L. grayi*, *L. innocua*, *L. ivanovii*, *L. monocytogenes*, *L. seeligeri* and *L. welshimeri* strains. *Clin Microbiol Infect*, 2000, 6:525-535.

Tung YT, Chua MT, Wang SY, Chang ST. Antiinflammation activities of essential oil and its constituents from indigenous cinnamon (*Cinnamomum osmophloeum*) twigs. *Bioresour Technol*, 2008, 99:3908-3913.

Tung YT, Yen PL, Lin CY, Chang ST. Antiinflammatory activities of essential oils and their constituents from different provenances of indigenous cinnamon (*Cinnamomum osmophloeum*) leaves. *Pharmaceutical Biology*, 2010, 48:1130-1136.

Udwadia ZF, Amale RA, Ajbani KK, Rodrigues C. Totally drug resistant tuberculosis in India. *Clin Infect Dis*, 2012, 54:579-581.

Ultee A, Bennik MHJ, Moezelaar R. The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food borne pathogen *Bacillus cereus*. *Appl Environ Microbiol*, 2002, 68:1561-1568.

Unat EK. Escherichia coli. İçinde: *Tıp bakteriyolojisi ve virolojisi*, ikinci baskı, Dergah Tıp yayınları, 1986:546.

Ünlü M, Ergene E, Vardar Ünlü G, Sivas Zeytinoğlu H, Vural N. Composition, antimicrobial activity and in vitro cytotoxicity of essential oil from *Cinnamomum zeylanicum* Blume (*Lauraceae*). *Food Chem Toxicol*, 2010, 48:3274-3280.

Vangalapati M, Sree Satya N, Surya Prakash D, Avanigadda S. A review on pharmacological activities and clinical effects of cinnamon species. *Res J Pharm Biol Chem Sci*, 2012, 3:653-663.

Van Vuuren SF, Viljoen AM. Antimicrobial activity of limonene enantiomers and 1,8-cineole alone and in combination. *Flavour Frag J*, 2007, 22:540-544.

Van Vuuren SF, Viljoen AM. Plant based antimicrobial studies, methods and approaches to study the interaction between natural products. *Planta Med*, 2011, 77:1168-1182.

Vardar-Ünlü G, Ünlü M, Yağmuroğlu A. Klinik örneklerden soyutlanan *Staphylococcus aureus* ve koagülaz negatif stafilokok izolatlarında mupirosin direnci. *ANKEM Derg*, 2006, 20:222-225.

Verbist L. The antimicrobial activity of fusidic acid. *J Antimicrob Chemother*, 1990, 25:1-5.

Vyas P, Suthar A, Patel D, Dayma P, Raval J, Joshi G. Antimicrobial activity of extracts of *Cinnamomum zeylanicum* bark and its combination with antibiotics against various microorganisms. *J Chem Pharm Res*, 2015, 7:68-70.

Waksman SA, Lechevalier HA. Neomycin, a new antibiotic active against Streptomycin-resistant bacteria, including Tuberculosis organisms. *Science*, 1949, 109:305-357.

Waksman SA, Woodruff HB. *Actinomyces antibioticus*, a new soil organism antagonistic to pathogenic and non pathogenic bacteria. *J Bacteriol*, 1941, 42:231-249.

Wang J, Liu H, Zhao J, Gao H, Zhou L, Liu Z, Chen Y, Sui P. Antimicrobial and Antioxidant Activities of the Root Bark Essential Oil of *Periploca sepium* and Its Main Component 2-Hydroxy-4-methoxybenzaldehyde. *Molecules*, 2010, 15:5807-5817.

Wang SY, Chen PF, Chang ST. Antifungal activities of essential oils and their constituents from indigenous cinnamon (*Cinnamomum osmophloeum*) leaves against wood decay fungi. *Bioresour Technol*, 2005, 96:813-818.

Wendakoon CN, Sakaguchi M. Combined effect of sodium chloride and clove on growth and biogenic amine formation of *Enterobacter aerogenes* in mackerel muscle extract. *J Food Prot*, 1993, 56:410-413.

Wendakoon CN, Sakaguchi M. Inhibition of amino acid decarboxylase activity of *Enterobacter aerogenes* by active components in spices. *J Food Prot*, 1995, 58:280-283.

Woehrlin F, Fry H, Abraham K, Preiss Weigert A. Quantification of flavoring constituents in cinnamon: high variation of coumarin in cassia bark from the German retail market and in authentic samples from Indonesia. *J Agric Food Chem*, 2010, 58:10568-10575.

Wondrak GT, Villeneuve NF, Lamore SD, Bause AS, Jiang T, Zhang DD. The cinnamon derived dietary factor cinnamic aldehyde activates the Nrf2 dependent antioxidant response in human epithelial colon cells. *Molecules*, 2010, 15:3338-3355.

World Health Organization. Antimicrobial resistance, fact sheet 194. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs194/en/>. 23 Nisan 2017.

Yaman G, Çıkman A, Berktaş M, Parlak M, Güdücüoğlu H, Karahocagil MK. Hastane kökenli *Staphylococcus aureus* izolatlarında MLSB, fusidik asit ve diğer antibiyotiklere direnç. *ANKEM Derg*, 2010, 24:130-135.

Ye H, Shen S, Xu J, Lin S, Yuan Y, Jones GS. Synergistic interactions of cinnamaldehyde in combination with carvacrol against food-borne bacteria. *Food Control*, 2013, 34:619-623.

Yin LY, Lazzarini L, Li F, Stevens M, Calhoun JH. Comparative evaluation of tigecycline and vancomycin, with and without rifampicin, in the treatment of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* experimental osteomyelitis in a rabbit model. *J Antimicrob Chemother*, 2005, 55:995-1002.

Yüksekkaya Ş, Opuş A, İren Güvenç H, Kaya M, Akkaya O, Güzelant A, Kurtoğlu MG. 2009-2013 yılları arasında Konya Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde kan kültüründen izole edilen *Staphylococcus aureus* suşlarının antimikrobiyal ajanlara duyarlılıklarının değerlendirilmesi. *ANKEM Derg*, 2017, 31:1-6.

Zarakolu P. Acinetobacter, Achromobacter, Chryseobacterium, Moraxella ve Diğer Nonfermantatif Gram-Negatif Basiller. İçinde: *Klinik Mikrobiyoloji*, Başustaoğlu A, Kubar A, Yıldırım ŞT, Tanyüksel M, (Çeviri editörleri). *Manuel of Clinical Microbiology*. Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA. 9. Baskı, Ankara, Atlas Kitapçılık, 2009:770-802.

EK-1. ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER	
Adı Soyadı	: Yener ÖZEL
Doğum tarihi	: 23.08.1983
Doğum yeri	: Bursa
Medeni hali	: Evli
Uyruğu	: T.C.
Adres	: Atatürk Mahallesi, Yeni Hastane Caddesi, Nail Manav Apartmanı, Numara 15/8 Kat: 4 Karesi/Balıkesir
Tel	: 0 544 325 73 52
Faks	:
E-mail	: yener_ozel@hotmail.com
EĞİTİM	
Lise	: Karacabey Lisesi (2002)
Lisans	: Gazi Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi (2003-2007)
Yüksek lisans	: Balıkesir Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı (2014 -)
Doktora	:
YABANCI DİL BİLGİSİ	
İngilizce	:Orta derecede (YDS: 56,25 Mart 2016)
ÜYE OLUNAN MESLEKİ KURULUŞLAR	