

KİLİS 7 ARALIK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ANTİ *HELICOBACTER PYLORI* TERAPİLERİ

LÜTFİYE KADIOĞLU

DANIŞMAN: YRD. DOÇ. DR. GÜLCİHAN GÜZELDAĞ

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

HAZİRAN 2011

KİLİS

KABUL VE ONAY SAYFASI

Yrd. Doç. Dr. Gülcihan GÜZELDAĞ danışmanlığında, Lütüfiye KADIOĞLU tarafından hazırlanan “ *Anti Helicobacter pylori terapileri* ” adlı tez çalışması 22/06/2011 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Kilis 7 Aralık Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Biyoloji Anabilim Dalı**’nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri	Unvanı, Adı Soyadı (Kurumu)	İmza
---------------------	--	-------------

Başkan	Yrd. Doç. Dr. Gülcihan GÜZELDAĞ (Kilis 7 Aralık Üniv. Fen-Edeb. Fak. Biyoloji ABD)	
---------------	--	--

Üye	Yrd. Doç. Dr. Hikmet Yeter ÇOĞUN (Kilis 7 Aralık Üniv. Fen-Edeb. Fak. Biyoloji ABD)	
------------	---	--

Üye	Yrd. Doç. Dr. Ayşenur KAYA (Kilis 7 Aralık Üniv. Fen-Edeb. Fak. Moleküler Biyoloji ABD)	
------------	---	--

Bu tezin kabulü, Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunun/....../2011 tarih ve sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Tez no:

Prof. Dr. Ahmet ÇAKIR
Enstitü Müdürü

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

ANTI-*HELICOBACTER PYLORI* TERAPİLERİ

Lütfiye KADIOĞLU

Kilis 7 Aralık Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Gülcihan GÜZELDAĞ

Yıl: 2011

Sayfa:71

Bu çalışmada bitkisel ekstratların *Helicobacter pylori* üzerine antimikrobiyal etkileri araştırılmıştır. *H. pylori* Gram negatif, mikroaerofilik bir bakteri olup, dünya nüfusunun yarısından fazlasını infekte etmektedir. Yaptığımız bu çalışmada *Laurus nobilis*, *Citrus limon*, *Citrus unshiu*, *Citrus sinensis*, *Allium sativum*, *Citrus paradisi* bitkileri kullanılmış ve çalışma üç basamak halinde sürdürülmüştür. Birinci aşamada ekstraksiyonlar yapılmış, bu çerçevede Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesinde çalışılmıştır. İkinci aşamada Hacettepe Üniversitesi Mikrobiyoloji anabilim dalında bakteri izolasyon ve optimal gelişim parametreleri araştırılmıştır. Çalışmanın son basamağı İtalya'da Siena University Azienda Hospital Internal Medicine'de gerçekleştirilmiş ve bakteriyostatik/bakteriyosidal etkiler araştırılmıştır. Araştırma sonuçlarına göre: *C. limon*'dan elde edilen aseton ekstresi 33 mm lik bir zon oluşturarak antibakteriyel etki gösterdi. *Citrus sinensis*' den elde edilen hekzan ekstresi ise 26 mm'lik inhibisyon zonu ile antibakteriyel etki gösteren diğer ekstrelerdir. En yüksek bakterisidal etki aseton ekstreleri arasında *Citrus sinensis*'de 1:512 oranında, hekzan ekstreleri arasında ise *C.sinensis* ve *C.unshiu* türlerinde 1:512 oranında bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: *Helicobacter pylori*, mikroaerofilik, *Laurus nobilis*, *Citrus limon*, *Citrus unshiu*, *Citrus sinensis*, *Allium sativum*, *Citrus paradisi*, Bakterisidal.

ABSTRACT

Msc. Thesis

ANTI- *HELICOBACTER PYLORI* THERAPIES

Lütfiye KADIOĞLU

Kilis 7 Aralık University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biology

Supervisor: Asist. Prof. Dr. Gülcihan GÜZELDAĞ

Year: 2011

Page:71

In this study we investigated some plant effects on *Helicobacter pylori*. *H. pylori* is gram negative, microaerophilic bacterium that is infected more than a half of world population. *Laurus nobilis*, *Citrus limon*, *Citrus unshiu*, *Citrus sinensis*, *Allium sativum*, and *Citrus paradise* were carried out with three steps during the study. In first step extractions were made in the Gazi University Pharmacy Department. In the second step bacteria isolation and optimal development parameters are searched in the Hacettepe University Microbiology Department. In the last step of study, bactericidal effects were investigated in the Siena University Azienda Hospital Internal Medicine in Italy. According to research results; the acetone extracts of *C. limon* were showed antibacterial activity with 33 mm inhibition zone. The hexane extract of *C. sinensis* was another extract showed antibacterial activity exhibiting 26 mm inhibition zone. Among the acetone extracts, the most bactericidal effect was determined for the acetone extract of *C. sinensis* with the range of 1:512 and among the hexane extracts, the hexane extracts of *C. sinensis* and *C. unshiu* with the range of 1:512 were found.

Key words: *Helicobacter pylori*, microaerophilic, *Laurus nobilis*, *Citrus limon*, *Citrus unshiu*, *Citrus sinensis*, *Allium sativum*, *Citrus paradisi*, Bactericidal.

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın konusunun belirlenmesinde gerek deneysel gerekse yazımı aşamasında yardımlarını ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen değerli danışman hocam sayın Yrd. Doç. Dr. Gülcihan GÜZELDAĞ'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Deneysel çalışmalarında verdiği desteklerden dolayı Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi sayın Prof. Dr. Yakut AKYÖN YILMAZ'a teşekkür ederim.

Bitkilerin ekstraksiyonu aşamasında verdiği destekten dolayı Gazi Üniversitesi Farmakognozi Anabilim Dalı Öğretim Üyesi sayın Yrd. Doç. Dr. Ufuk KOCA'ya ve Kilis 7 Aralık Üniversitesi Biyoloji Bölümü öğretim üyelerine teşekkür ederim.

Laboratuar çalışmalarında yardımını ve ilgisini esirgemeyen İtalya Siena Üniversitesi Internal Medicine öğretim üyesi sayın Prof. Dr. Natale FIGURA'ya ve İtalya Siena Üniversitesi Moleküler Biyoloji öğretim üyesi sayın Prof. Dr. Annalisa SANTUCCI'ye teşekkür ederim.

Hayattaki en değerli valığım olan aileme;

Beni uzaklardan izleyen sevgili babacığım, her koşulda yanımda olan sevgili anneciğim, desteğini hiçbir zaman esirgemeyen sevgili eşim Semih Dalkılıç'a, sevgili kardeşlerim Tülin, Abdullah, Murat, Serap, yeğenlerime ve sevgili halacığım Fatma Uğurluya teşekkür ederim.

Lütfiye Kadioğlu DALKILIÇ

Kilis, Haziran 2011

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR	x
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xi
RESİMLER DİZİNİ.....	xii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xiii
1. GİRİŞ.....	1
1.1. <i>Helicobacter pylori</i>	1
1.1.1. <i>Helicobacter pylori</i> 'nin Özellikleri.....	1
1.1.2. Görünüm ve Boyanma Özellikleri.....	1
1.1.3. Hücre zarı duvar yapısı ve Antijenik Özellikleri.....	2
1.1.4. <i>H. pylori</i> 'nin Doğal Ortamları.....	3
1.1.5. Kültür ve Üreme özellikleri.....	3
1.1.6. <i>H. pylori</i> 'nin Gelişimi.....	5
1.2. <i>H. pylori</i> 'nin Sağlık Açısından Önemi.....	5
1.2.1. <i>Helicobacter pylori</i> 'nin Tedavisi.....	6
1.2.1.1. Bizmut tuzları.....	6
1.2.1.2. Proton pompa inhibitörleri (PPI).....	6
1.2.1.3. Antibiyotikler.....	7
1.2.2. <i>H. pylori</i> ile ilgili hastalıklar.....	9

1.2.2.1. Akut infeksiyon.....	9
1.2.2.2. Gastrit.....	9
1.2.2.3.Gastrik ülser.....	9
1.2.2.4.Duodenal ülser.....	9
1.2.2.5.Gastrik karsinoma.....	10
1.2.2.6.Gastrik lenfoma; MALT (Mucosa-Associated Lymphoid Tumors).....	10
1.2.2.7.Gastro-özofageal reflü hastalığı.....	10
1.2.2.8.Fonksiyonel dispepsi.....	11
1.2.3.Mide dışı hastalıklar.....	11
1.3.Bitkisel Kaynaklı Ürünlerin Sağlıkta Kullanılması.....	11
1.3.1. <i>Citrus unshiu</i> 'nun tıbbi açıdan önemi	11
1.3.2. <i>Citrus sinensis</i> 'in tıbbi açıdan önemi.....	11
1.3.3. <i>Citrus limon</i> 'un tıbbi açıdan önemi.....	11
1.3.4. <i>Laurus nobilis</i> 'is tıbbi açıdan önemi.....	12
1.3.5. <i>Citrus paradisi</i> 'nin tıbbi açıdan önemi.....	12
1.3.6. <i>Allium sativum</i> 'un tıbbi açıdan önemi.....	12
1.4.Tanıda Kullanılan Testler.....	12
1.4.1.Non-İnvaziv Testler.....	12
1.4.1.1.Üre Nefes Testi.....	12
1.4.1.2. Gaitada Antijen Testi.....	13
1.4.1.3. Serolojik Testler.....	14

1.4.2.İnvaziv testler.....	14
1.4.2.1.Histopatolojik inceleme.....	14
1.4.2.2.Üreaz Testi.....	15
1.4.2.3.Kültür.....	15
1.4.2.4.Moleküler Testler.....	16
1.5.Kaynak Özetleri.....	16
2. MATERYAL ve YÖNTEM.....	21
2.1.Materyal.....	21
2.1.1.Ekstraksiyon materyal ve solisyonları.....	21
2.1.1.2.Ekstraksiyon materyalleri.....	21
2.1.1.3.Solüsyonlar.....	21
2.1.2.Süzme materyalleri.....	22
2.1.3.Miktar tayini materyalleri.....	22
2.1.4.Çözdürme materyalleri.....	22
2.1.5.Antimikrobiyal çalışma için kullanılan besi ortamları ve aparatlar.....	22
2.1.5.1.Besi ortamları.....	22
2.1.5.2.Aparatlar.....	22
2.2.Yöntem.....	22
2.2.1. <i>Citrus unshiu</i>	22
2.2.1.1.Ekstraksiyon aşaması.....	22
2.2.1.2. Süzme aşaması.....	23

2.2.1.3.Ekstrenin miktar tayini.....	24
2.2.1.4. <i>Citrus unshiu</i> Dimetil sülfoksit (DMSO) içerisinde çözülmesi.....	24
2.2.2. <i>Citrus sinensis</i>	24
2.2.2.1.Ekstraksiyon aşaması.....	24
2.2.2.2.Süzme aşaması.....	25
2.2.2.3.Ekstrenin miktar tayini.....	26
2.2.2.4. <i>Citrus sinensis</i> Dimetil sülfoksit (DMSO) içerisinde çözülmesi	26
2.2.3. <i>Citrus limon</i>	26
2.2.3.1.Ekstraksiyon aşaması.....	26
2.2.3.2.Süzme aşaması.....	27
2.2.3.3.Ekstrenin miktar tayini.....	28
2.2.3.4. <i>Citrus limon</i> Dimetil sülfoksit (DMSO) içerisinde çözülmesi	28
2.2.4. <i>Laurus nobilis</i>	28
2.2.4.1. <i>Laurus nobilis</i> 'in ekstraksiyon aşaması.....	28
2.2.4.2.Süzme aşaması.....	29
2.2.4.3.Ekstrenin miktar tayini.....	30
2.2.4.4. <i>Laurus nobilis</i> Dimetil sülfoksit (DMSO) içerisinde çözülmesi.....	30
2.2.5. <i>Citrus paradisi</i>	30
2.2.5.1. <i>Citrus paradisi</i> 'nin ekstraksiyon aşaması.....	30
2.2.5.2.Süzme aşaması.....	31
2.2.5.3.Ekstrenin miktar tayini.....	32

2.2.5.4. <i>Citrus paradisi</i> Dimetil sülfoksit içerisinde çözülmesi.....	32
2.2.6. <i>Allium sativum</i>	32
2.2.6.1 <i>Allium sativum</i> 'un ekstraksiyon aşaması.....	32
2.2.6.2.Süzme aşaması	33
2.2.6.3.Ekstrenin miktar tayini.....	33
2.2.6.4. <i>Allium sativum</i> ekstresinin Dimetil sülfoksit içerisinde çözülmesi.....	33
2.2.7. <i>Helicobacter pylori</i> 'nin canlandırılması.....	34
2.2.8.Ekstraktların antimikrobik aktivitelerinin belirlenmesi.....	34
2.2.9.Bakterisidal/Bakteriyostatik etki tespiti.....	35
2.2.10.Minimum Bakterisidal Konsantrasyonu(MBK).....	36
2.3. Ekstrat+antibiyotik kombinasyonunun <i>H. pylori</i> gelişimi üzerine etkisi.....	36
2.3.1. <i>Helicobacter pylori</i> 'nin aktifleştirilmesi.....	36
2.3.2. <i>Citrus sinensis</i> 'in Sinerjik Etkisi.....	37
2.3.3. <i>Citrus sinensis</i> için Minimum Bakterisidal Konsantrasyonu.....	37
3. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	39
3.1.Ekstre değerlendirmeleri.....	40
3.2.Ekstrelerin verimlilik değerlendirmeleri.....	42
3.3.Antimikrobiyal sonuçları.....	46
3.4.Antimikrobiyal (MBC) Değerlendirmeleri.....	54
3.5. <i>Allium sativum</i> ekstraktının (Distile su) MBC sonuçları.....	57
3.6. <i>Citrus sinensis</i> 'in Sinerjik etkisi.....	58

4. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	61
6. KAYNAKLAR.....	62
ÖZGEÇMİŞ.....	71

SİMGELER VE KISALTMALAR

1. Simgeler

°C: Santigrat celcius

µg :Mikrogram

µm: Mikrometre

C: Karbon

CO₂: Karbondioksit

g: Gram

mg: Miligram

ml: Mililitre

2. Kısaltmalar

BHIA: Brain heart infüsiyon agar

CA: Colombia agar

DMSO: Dimethyl sulfoxide

EIA: Enzyme immuno assay

HPA: Helicobacter pylori agar

LPS: Lipopolisakkarit

MALT: Mucosa Associated Lymphoid Tissue

MBC: Minimum Bacterisidal Concentration

MIC: Minimum Inhibitory Concentration

PPİ: Proton pompa inhibitörleri

WHO: World Health Organization

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1. <i>L. nobilis</i> için verimlilik, kuru ağırlık ve ekstre değeri.....	43
Şekil 3.2. <i>Citrus paradisi</i> için verimlilik, kuru ağırlık ve ekstre değeri.....	43
Şekil 3.3. <i>Citrus sinensis</i> için verimlilik, kuru ağırlık ve ekstre değeri.....	44
Şekil 3.4. <i>C. unshiu</i> için verimlilik, kuru ağırlık ve ekstre değeri.....	44
Şekil 3.5. <i>Citrus limon</i> için verimlilik, kuru ağırlık ve ekstre değeri.....	45
Şekil 3.6. <i>Allium sativum</i> için verimlilik, kuru ağırlık ve ekstre değeri.....	46

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1.1. <i>Helicobacter pylori</i> 'nin mikroskopik görünümü.....	2
Resim 3.1. <i>Laurus nobilis</i> <i>H. pylori</i> Agar ve Müller Hinton agar sonuçları.....	48
Resim 3.2. <i>Laurus nobilis</i> hekzan ekstre <i>H. pylori</i> Agar sonuçları.....	48
Resim 3.3. <i>Citrus paradisi</i> aseton ekstre <i>H. pylori</i> agar sonuçları.....	49
Resim 3.4. <i>C. paradisi</i> hekzanlı ekstre <i>H. pylori</i> Agar sonuçları.....	49
Resim 3.5. <i>Citrus sinensis</i> aseton ekstre <i>H. pylori</i> agar sonuçları.....	50
Resim 3.6. <i>C. sinensis</i> hekzan ekstre <i>H. pylori</i> Agar sonuçları.....	50
Resim 3.7. <i>Citrus unshiu</i> aseton ekstre <i>H. pylori</i> agar sonuçları.....	51
Resim 3.8. <i>C. unshiu</i> hekzan ekstre <i>H. pylori</i> Agar sonuçları.....	51
Resim 3.9. <i>Citrus limon</i> aseton ekstre <i>H. pylori</i> Agar ve M.H agar sonuçları.....	52
Resim 3.10. <i>C. limon</i> hekzan ekstre <i>H. pylori</i> Agar sonuçları.....	52
Resim 3.11. <i>Allium sativum</i> sulu ekstrenin <i>H. pylori</i> agar sonuçları.....	53
Resim 3.12. Bitki ekstraktlarının MBC sonuçları (Hekzan ve aseton).....	55
Resim 3.13. Bitki ekstraktlarının MBC sonuçları.....	56
Resim 3.14. <i>A. sativum</i> ekstraktlarının MBC sonuçları	57
Resim 3.15. Bitki ekstraktının hekzanlı MBC sonuçları	58
Resim 3.16. Bitki ekstraktının hekzanlı MBC sonuçları	59
Resim 3.17. Bitki ekstraktının hekzanlı MIC sonuçları	59
Resim 3.18. Bitki ekstraktının hekzanlı MIC sonuçları	60

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Deneme materyalleri.....	21
Çizelge 2.2. Minimum bakterisidal konsantrasyon.....	36
Çizelge 3.1. <i>L.nobilis</i> verimlilik değeri.....	40
Çizelge 3.2. <i>C. paradisi</i> verimlilik değeri.....	41
Çizelge 3.3. <i>C.limon</i> verimlilik değeri	41
Çizelge 3.4. <i>C.unshiu</i> verimlilik değeri.....	41
Çizelge 3.5. <i>C.sinensis</i> verimlilik değeri.....	42
Çizelge 3.6. <i>A.sativum</i> verimlilik değeri.....	42
Çizelge 3.7. Aseton ekstrelerin antimikrobiyal sonuçları.....	47
Çizelge 3.8. Hekzan ekstrelerin antimikrobiyal sonuçları.....	47
Çizelge 3.9. <i>Allium sativum</i> sulu ekstrenin antimikrobiyal sonuçları.....	53
Çizelge 3.10. Bitki ekstraktlarının (Asetonlu) MBC sonuçları.....	54
Çizelge 3.11. Bitki ekstraktlarının (Hekzanlı) MBC sonuçları.....	55
Çizelge 3.12. Bitki ekstraktının MBC sonuçları (distile su).....	57
Çizelge 3.13. <i>C. sinensis</i> hekzan ekstresinin MIC sonuçları (sinerjik etki).....	60

1. GİRİŞ

Bitkiler yüzyıllardan beri tüm dünyada gıdaların tat ve aromasının artırılması (Shelef, 1983), gıdalarda istenmeyen kokuların giderilmesi (Giese, 1994) ve hepsinden önemlisi de tedavi amaçlı olarak kullanılmıştır. Uzun yıllar geleneksel şekilde devam eden bu kullanım şekilleri, 20. yüzyılın başından itibaren değişime uğramış, gıdalara baharat olarak katılan ve tedavi amaçlı kullanılan bitkilerin çeşitli özellikleri laboratuvarlarda araştırılmaya başlanmıştır (Vonderbank, 1949; Dığrak ve ark., 1998).

Dünyada tedavi amaçlı ve baharat olarak kullanılan bitkilerin sayısının 20.000 civarında olduğu Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından rapor edilmiştir (Kalaycıoğlu ve Öner, 1994). Son zamanlarda baharatların maya, mantar ve bakterileri inhibe ettiği doğrulanmıştır (Shelef, 1983). Ancak geleneksel olarak kullanılan baharat ve bitkilerin antimikrobiyal aktiviteleri hakkındaki çalışmalar halen devam etmektedir. Baharatların antimikrobiyal aktiviteleri geniş oranda çeşitlilik göstermekte olup, baharat ve bitkinin türüne, kullanılan besiyerine ve mikroorganizmaların türüne bağlıdır (Giese, 1994).

1.1. *Helicobacter pylori*

1.1.1. *Helicobacter pylori*'nin Özellikleri

Helicobacter pylori spiral yapıda, "S" virgül, martı veya kısa spiraller şeklinde görülen, hareketli, kapsülsüz ve sporsuz mikroaerofilik , Gram negatif, bir bakteri olup, ilk olarak Barry Marshall ve J. Robin Warren tarafından izole edilmiştir (Cogo ve ark., 2009). Hücre duvarına somatik antijenik özellik veren lipopolisakkarit (LPS)'deki karbon yan zincirleri sayı ve yapısı ile diğer Gram negatif bakterilerden farklı olmakla beraber helikobakterler Gram negatif basillerdir.

1.1.2. Görünüm ve Boyanma Özellikleri

H. pylori, 2,5-5,0 µm boyunda, 0,5-1,0 µm eninde, küt ve yuvarlak uçlu, sporsuz, spiral veya helikal şekilli mikroorganizmadır. Mukus ve epitelyum yüzeyinden hazırlanan preparatlarda balık sürüleri halinde nispeten daha uzun ve kıvrımlı görünüm dominantken, besiyerinde üretilmiş kolonilerden hazırlanan preparatlarda spiral formlar

daha nadir olup, sıklıkla kısa kıvrımlı tekli basiller şeklinde görülürler. Dışkıdan hazırlanan yayma preparatlarla, antibiyotik kullanımı sonrası veya oksidatif strese maruz kalmış gastrik doku örneklerinden hazırlanan preparatlarda ise düzensiz çubuklar veya yuvarlak, kokoid şekillerde görülürler. *H. pylori*'nin gastrik mukozada birçok farklı formda görülebilmesi, bakterinin mikroçevrenin şartlarına bağlı olarak dinamik ve değişen durumlara adapte olabilen bir biyolojiye sahip olduğu göstermektedir. Nitekim enteropatik türler *H. pylori*'ye oranla daha basit ve stabil morfolojik özelliğe sahiptirler. Hematoksilen-Eozin, Modifiye Giemsa, Warthin-Starry gümüş boyası, Akridin oranj (floresan boya), Cresil-fast Moru, Gimenez ve Brown-Hopps moru gibi çeşitli histolojik boyalarla başarılı bir şekilde boyanabilmektedir.



Resim 1.1. *Helicobacter pylori*'nin mikroskopik görünümü

1.1.3. Hücre Zarı Duvar Yapısı ve Antijenik Özellikleri

Helikobakteriler; hücreye somatik antijenik özellik veren LPS ve ince bir peptidoglikan tabakadan oluşan yarı geçirgen dış duvar ve fosfolipidlerden zengin stoplazmik membran varlığı ile tipik Gram negatif hücre duvarı yapısına sahiptir.

H. pylori'nin hücre duvarında yer alan protein ve yağ asitlerinin kompozisyonu diğer Gram negatif bakterilerden özellikle de kampilobakterlerden farklıdır ve ayırıcı niteliktedir.

H. pylori'nin lipit içeriğini ağırlıklı olarak %73,4 oranında fosfolipitler, %20,6 oranında glikolipitler ve %6 oranında da nötral lipitler oluşturmaktadır. Major fosfolipidler fosfatidiletanolamin, kardiyolipin ve fosfatidilgliserol'dür. En çok rastlanan hücresel

yağ asidi % 31-45 oranıyla miristik asit ve %20-24 oranıyla 19- karbon siklopropan yağ asididir. Ultrastrüktürel çalışmalar hücre duvarı ile sitoplazmik membran arasında Gram negatif bakterilerde olduğu gibi yaklaşık olarak 30 nm genişliğinde bir periplazmik boşluk olduğu gösterilmiştir (Harry, 2001). Elektron yoğun sitoplazmada genomik materyal ve ribozomları bulunmaktadır (Martin ve ark, 2006).

1.1.4. *H. pylori*'nin Doğal Ortamları

Helicobacter'ler insanların mide veya bağırsak mukozalarının yanı sıra, köpekler, kediler, koyunlar, sığırlar ile birçok küçük kemirici ve kuşlarda gastrointestinal sisteminde yerleşebilirler. İnsanlarda mide ve gastrik hücre metaplazisi görülen alanlar dışındaki bölgelerden kolonizasyonu oldukça nadirdir. Bununla birlikte *H. pylori*'nin tükürük, diş plağı ve aterom plaklarında görüldüğü bildirilmiş, safra taşlarının oluşumu ile ilişkili oldukları da moleküler düzeydeki çalışmalarla ispatlanmıştır (Fox, 1998). Diğer taraftan *H.pullorum* ve *H.cholecystetusun*'un da karaciğer ve safra yollarına yerleşebildiği ileri sürülmüştür (Suzuki, 2008). *H. pylori* ve diğer gastrik türler için en önemli doğal ortam mide mukoza yüzeyidir. Bakteri gastrik mukozayı örten mukus tabakasının asit gradientinden etkilenmez, ancak mukozal yüzeydeki nötr mukusa kadar ilerleyerek, özellikle alkali mukus sekrete eden antrum bölgesinde yerleşir. Fakat artmış asit sekresyonuna bağlı olarak gastrik hücre metaplazisi görülen alanlarda da kolonize olabilir (Goodwin ve ark, 1986).

1.1.5. Kültür ve Üreme Özellikleri

H. pylori adi besiyerlerinde üretilmeyen, optimize edilmiş besiyerlerinde bile son derece yavaş üreyen bir mikroorganizmadır.

Üremenin sağlanması için %7-10 oranında eskitilmiş at kanı, %1 izovitaleks, %0,25 maya ekstraktı içeren Brusella agar, Çikolata agar, Beyin Kalp İnfüzyon agar (BHI) Colombia ve Skirrow agar gibi modifiye zenginleştirilmiş besiyerleri kullanılmaktadır. Ayrıca besiyerlerine hemin, serum, nişasta, kömür ilavesi üremeyi artırabilir. Ancak *C.jejuni* üremesini artırmak amacı ile besiyerlerine ilave edilen ferrözsülfat-sodyummetabisülfid-sodyum pürivat'daki bisülfid'in, safra tuzlarının ve koyun kanının

H. pylori'nin üremesini inhibe ettiği gösterilmiştir (Vega ve ark, 2003). *H. pylori* midenin asit ortamında mukozaya kolonize olarak üremesine rağmen asidofilik bir bakteri değildir. Optimal üreme pH'ları 6,9-7,6 olup, bakteri oldukça geniş pH (5-8) aralığında üreyebilir. Mide'nin özellikle parietal hücrelerin yer aldığı oksintik kanalların içerisinde 1-1,5'e kadar düşen asidik ortamında, üreyebilmesi bakterinin güçlü üreaz aktivitesi ve hücre membranında kısa sürede gerçekleştirdiği adaptif değişikliklere bağlıdır (Köksal ve ark, 2002; Dunn ve ark, 1997). In-vitro şartlarda modifiye besiyerlerinde optimal üremenin sağlanabilmesi için besiyerinin pH'sı 7,2 olmalıdır (Goodwin ve ark, 1993). Güçlü oksidaz superoksit dismutaz, peroksidaz, sitokrom oksidaz ve katalaz aktivitesi göstermelerine rağmen hiç bir helicobakter türü aerobik atmosferde üreyemez. Zorunlu anaerop olan *H.gammani* dışında bütün helicobakter türleri % 5-10 oranında CO2 içeren mikroaerobik atmosferde ürerler. In-vitro üremenin optimizasyonu için ortamda bulunması gereken oksijen konsantrasyonu %2-8 dir. Optimal üreme ısıları 37°C'(30-37°C)dir. Hastadan alınan biyopsi materyalinde üretim yapılacaksa, örneğin lezyonun kenarından ve mümkünse birden fazla alandan alınması gereklidir. Biyopsi materyali mümkünse hasta başında ekilmelidir.

Uygun besiyerlerine ekilen örnekler, uygun atmosfer ve ısı şartlarında inkübe edilerek, üremenin tespiti için 3. 5. ve 7. günlerde kontrol edilir. En iyi sonuç 7 günlük inkübasyon süresi sonunda elde edilir. İnkübasyon periyodu sonunda kanlı besiyerlerinde düzgün, pigmentsiz, 0,5–2 mm çapında saydam su damlasına benzer koloniler oluşturdukları görülür. Bir haftadan daha uzun süre inkübe edilen besiyerlerinde kolonilerin çapı 2 mm'yi geçebilir. At kanlı (%5) agarda zayıf hemoliz oluştururlar. Şüpheli koloniler; Gram yayma preparasyonlarındaki mikroskopik morfolojik özellikleri, oksidaz, katalaz ve üreaz aktiviteleri dikkate alınarak ön tanı alırlar (The European Helicobacter pylori Study Group, 1997).

H. pylori in vitro şartlardaki 3-4 pasajdan sonra canlılığını kaybeder (Dunn ve ark, 1997). *H. pylori* izolatları %0,25 maya ekstraktı, %10 at kanı ve %15 gliserol içeren Beyin Kalp İnfüzyon buyyonda (BHIB - Brain Heart Infusion Broth) –70°C de aylarca korunabilir veya liyofilize halde +4°C'de saklanabilirler.

1.1.6. *H. pylori*'nin Gelişimi

H. pylori, mide mukozasında mukus altında veya lümende görülebilir. Gümüş boyası, Gram boyası, hemotoksilen eosin ve giemza ile boyanır. Kılıflı polar bir flagellası ve üreaz, katalaz, oksidaz enzimleri vardır. *H. pylori* midede antrumda yerleşerek yaşar ve mukus içerisinde koloniler yapar. Üreaz enzimi ile üreyi amonyağa çevirerek, çevresinde bazik bir ortam oluşturmak suretiyle kendisini mide asidinin zararlı etkisinden korur (Ramakrishnan ve Salinas., 2007).

1.2. *H. pylori*'nin Sağlık Açısından Önemi

Yapılan ilk çalışmalarda bu bakterinin mide içerisinde normal flora üyesi olarak bulunduğu iddia edilmiştir. Ancak günümüzde insanlarda ve hayvan modellerinde yapılan çalışmalar, *H. pylori*'nin lokal inflamasyona ve sistemik olarak da humoral bağışık yanıtı neden olduğunu göstermiştir. Bu nedenle de bu mikroorganizmanın mide içerisinde varlığı normal flora üyesi olamayacağını, patojen bir mikroorganizma olarak kabul edildiğini göstermiştir (Blaser, 1993).

Bu mikroorganizma sindirim sistemindeki birçok hastalığın patogenezi ile ilişkilendirilmiştir. Bunlar; ilk olarak gastrit, peptik ülser ve mide kanseridir (Kusters ve ark., 2006).

Günümüzde dünya nüfusunun yaklaşık %50'si *H. pylori* ile enfektedir. Enfeksiyon prevalansı coğrafik olarak değişim göstermektedir.

Genellikle sosyoekonomik olarak geri kalmış, sanitasyon sorunlarını çözememiş, sağlıklı beslenme olanaklarından yoksun, toplumlarda görülmektedir.

Taşıyıcıların yüksek oranda bulunduğu toplumlarda da *H. pylori* enfeksiyonu sık görülmektedir. Gelişmekte olan ülkelerde çocukluk çağında bu bakteri ile enfekte olunmakta ve seropozitiflik oranları %80'lerin üstüne ulaşmaktadır.

Gelişmiş ülkelerde ise oran %40'ların altına inmekte ve çocuklarda daha az karşımıza çıkmaktadır. Ülkemizde *H. pylori* enfeksiyonu prevalansı erişkinlerde %80, çocuklarda ise % 64 olarak bildirilmektedir. *H. pylori*'nin bulaş yolu kesin olarak bilinmemektedir.

Muhtemel bulaş yolu fekal-oral veya oral-oraldır. Bu bakteri ile enfekte kişilerde bakterinin spontan kaybı söz konusu değildir, midede mukus tabakasında yerleşerek kronik seyirli enfeksiyona neden olur. Enfekte kişilerin %100'ünde gastrit görülürken bu hastaların %15'inde peptik ülser, % 0,1-1'nde mide kanseri, % 0,01-0,1'inde mide lenfoması oluşma riski vardır (Ramakrishnan ve Salinas, 2007).

1.2.1. *Helicobacter pylori*'nin Tedavisi

H. pylori penisilin, ampisilin, amoksisilin, eritromisin, gentamisin, sefalosporinler, tetrasiklin, florokinolonlar, imipenem ve metronidazole duyarlıdır. Ayrıca koloidal bizmut substrat ve bizmut subsalisilat da bakteri üzerine etkilidir (Altındış ve ark, 2003). Bakterinin ilaçlar ile ulaşılması güç olan bölgelerde canlılığını sürdürebilmesi ve ilaçlara direnç geliştirebilmesi gibi nedenlerle *H. pylori* enfeksiyonunun en iyi tedavi şeklini belirlemek zordur.

1.2.1.1. Bizmut Tuzları

Bu grupta ranitidin bizmut sitrat, bizmut subsalisilat, koloidal bizmut subsitrat yer alır. Direkt bakterisidal etkilidirler. Bizmut, bakteri duvarına presipite olarak bakteriyi tuttuğu epitelden ayırır. Bizmut tuzlarına karşı direnç gelişemez, ayrıca antibiyotiklere karşı direnç gelişmesini önlerler. Gastro-intestinal rahatsızlık, deride döküntü, baş ağrısı gibi yan etkilerinin yanı sıra dışkı rengini siyaha boyama, dil-diş etinde geçici siyahlaşmaya neden olurlar.

1.2.1.2. Proton-Pompa İnhibitörleri (PPI)

Parietal hücrelerden asit sekresyonunda rol oynayan asit pompası veya proton pompası olarak da isimlendirilen H⁺/K⁺ ATPaz enzimini inhibe ederler. Ancak PPI alanların %70'inde geceleri ilacın yetersiz kaldığı, pH'nın asidik olduğu (<4) bilinmektedir. Buna "nocturnal acid breakthrough" adı verilmektedir. Böyle bir durumda tedaviye geceleri H₂ reseptör antagonistleri (H₂RA) eklenmelidir. Proton pompa inhibitörlerinin *H. pylori* pozitiflerde, negatiflere göre daha etkili oldukları ve asiditeyi geceleri daha iyi kontrol ettikleri gösterilmiştir. *H. pylori* üreaz aktivitesi ile oluşan amonyum, PPI'lerin gastrik

pH'yi arttırma yeteneğine yardımcı olur. Başlıca PPI'ler omeprazol, lansoprazol, esomeprazol, pantaprazol, rabeprazoldür.

1.2.1.3. Antibiyotikler

H. pylori amoksisilin, makrolit, nitrofurantoin, tetrasiklinler ve aminoglikozitler gibi pek çok antimikrobijale in vitro duyarlı olmakla birlikte, bu ilaçların in vivo etkili olacağı anlamına gelmez (Miehlke, 1997). Bunun en önemli nedenlerinden biri de antibiyotiğin asidik pH'ya dayanıksız olması gelmektedir. Antibiyotikleri ilk kez kullananlarda bile direnç (primer direnç) söz konusu olabilir. Özellikle metronidazol için primer direnç oranları %30-40 arasında bildirilmiştir. Bu oranlar ülkelerin gelişmişlik düzeyi ile ilişkili olarak değişebilmektedir. Afrika ve Asya'daki gelişmemiş ülkelerde %70-90 gibi yüksek oranlar bildirilmektedir. Jinekolojik veya parazitik infeksiyonlarda en sık kullanılan ilaçlardan biri olan metronidazollerin daha önce kullanımına bağlı olarak da sekonder direnç gelişebilir. Klaritromisine karşı %2-10, amoksisiline karşı ise nadiren primer direnç gelişebilir (Megraud ve ark, 1999). Primer (doğal) direnç, her suşun kromozomunda her zaman bulunabilir ve antibiyotik hiçbir zaman bu bakteri enfeksiyonunun tedavisi için kullanılmaz. *H. pylori* polimyxinlere, trimethoprime, sulponamidlere ve vancomycine doğal dirençlidir. Cefsulodin, nalidixic acid ve antifungal bileşiklere de bir çok *H. pylori* suşu dirençlidir (Olivieri ve ark, 1993).

Klaritromisin: Etkinliğini kanıtlamış bir ilaçtır. Asit ortamda en stabil makrolittir. Proton-pompa inhibitörleri ile birlikte kullanıldığında antral mukoza ve mukus tabakasına daha iyi konsantre olur. Eritromisin ve azitromisin daha az etkili oldukları için tedavide önerilmezler. Makrolidler bakteri ribozomuna bağlanarak etki gösterirler. *H. pylori* eradikasyonunda önemli bir makrolid olan klaritromisin normal koşullarda 23S rRNA'ya bağlanarak protein sentezini inhibe eder. Bunu da protein sentezinin, peptid zinciri uzama basamağında peptidil-tRNA'nın ribozomdan ayrılmasını uyararak yapar. Klaritromisine karşı oluşan direnç, *H. pylori*'nin 23S rRNA genindeki mutasyondan dolayıdır. Burada meydana gelen mutasyon sonucu, dirençli suşlardaki ribozoma antibiyotik bağlanamaz. Makrolidlerin hedef bölgesi olan 23S rRNA'nın peptidil transferaz bölgesinin V. domainindeki metilasyon yada nokta mutasyonu

modifikasyona uğraması sonucu bağlanma gerçekleşmez (Debets-Ossenkopp ve ark, 1996).

Metronidazol: Mikro-aerofilik mikro-organizmalara karşı selektif toksisite gösterir. İndirgenmiş formu *H. pylori*'ye karşı sitotoksiktir. Asidik pH'ya bağımlı değildir. Metronidazole direnç oranı gelişmekte olan ülkelerde % 80-90'a kadar çıkmaktadır. Gelişmiş ülkelerde ise % 10-50 arasında direnç görülmüştür. Metranidazolun aktif olabilmesi için bakteriye penetrasyonu gerekir. Penetrasyondan sonra imidazol halkasının nitro grubu hidroksilamin turevine indirgenir. İndirgenmiş ürün DNA hasarına neden olur ve hücre olur. Metranidazol mikroorganizma için mutajeniktir (Jenks ve ark, 2002).

Amoksisilin: Bakterisidal etkili, aside dayanıklı semisentetik bir penisilindir. Etkinliği pH'ya bağımlıdır. Alkali ortamda minimal inhibitör konsantrasyonu düşer, yani etkinliği artar.

Tetrasiklin: Aktivitesi asiditeden etkilenmez. Ucuz bir ilaçtır. Direnç gelişimi nadirdir. Tetrasiklin, ribozomun 16S rRNA'sına bağlanarak protein sentezini inhibe eden bir ajandır. Tetrasiklin'e dirençli suşlarda, 16S rRNA genindeki mutasyonlar sonucu tetrasiklin ribozomlara bağlanamaz ve protein sentezi devam eder. Mutasyonlar 16S rRNA'nın iki kopyasında birden görülür (Gerrits ve ark, 2002).

Chiba ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada eradikasyon oranları, tekli tedavi ile %18.6, ikili tedavi ile %48.2, üçlü tedavi ile %82.3 olarak bulunmuştur. Bizmut ile metranidazol kombinasyonu, bizmut ile amoksisilin kombinasyonuna göre %12 daha etkili saptanmıştır. Buna karşılık bizmut + metranidazol + tetrasiklin kombinasyonu, bizmut + metranidazol + amoksisilin kombinasyonuna göre %21 daha etkili bulunmuştur (Chiba ve ark, 1992). PPI'ler içerisinde omeprazol ve lansoprazolun karşılaştırıldığı bir çalışmada her iki ilacın da başarı oranları benzer olarak saptanmıştır (Bazzoli ve ark, 1998).

1.2.2. *H. pylori* ile İlgili Hastalıklar

1.2.2.1. Akut İnfeksiyon

Çoğunlukla akut dönem asemptomatiktir. Bazı hastalarda bulantı, kusma, üst karın bölgesinde şişkinlik, ağrı gibi semptomlarla karakterize üst gastro-intestinal sistem hastalığı gelişebilir. Semptomlar 3-14 gün, genellikle bir haftadan az sürer (Blaser, 2005; Sandıkçı, 2002).

1.2.2.2. Gastrit

H. pylori ile infekte kişilerin hepsinde gastrit gelişir. Gastritin olduğu bölgeye ve meydana gelen hasarın şiddetine göre duodenum ülseri, gastrik ülser, atrofik gastrit, mide kanseri, MALT gibi patolojiler meydana gelir.

Bakteri genellikle korpusa göre asiditenin daha düşük olduğu antrum bölgesine yerleşir. Asit sekresyonunun fazla olması nedeniyle antral gastritte duodenal ülser gelişme riski vardır. Midenin korpus bölgesinde gelişen gastritte ise gastrik atrofi, intestinal metaplazi ve gastrit kanser gelişme riski söz konusudur (Dunn ve ark, 1997).

1.2.2.3. Gastrik Ülser

Gastrik ülserli hastalar duodenal ülserli hastalardan daha az oranda *H. pylori* ile kolozedirler. Gastrik ülserlerin en önemli nedeni nonsteroid ilaç veya aspirin kullanımınıdır. Bunun dışındaki hastalarda en sık neden *H. pylori* olarak belirlenmiştir. Antimikrobiyal tedavi sonuçları duodenal ülserdekine benzerdir (Tünger, 2008).

1.2.2.4. Duodenal Ülser

Genellikle başlangıç bölgesi olan bulbusda yerleşim söz konusudur. *Helicobacter pylori* ile ilişkisi daha fazladır. Duodenal ülserli hastaların %90'dan fazlası *Helicobacter pylori* ile kolonizedir. Gastrik ve duodenal ülser genel olarak peptik ülser olarak da adlandırılır. Peptik ülser uzun yıllar ataklar şeklinde seyreden kronik bir hastalıktır. Mide bölgesindeki ağrı en karakteristik semptomdur. Çoğunlukla açlık ağrıları şeklindedir, uykudan uyandıran gece ağrıları da görülebilir. Bir şey yemek, içmekle,

anti-asitlerle ağrı geçer. Kanama ve perforasyon gibi ciddi komplikasyonlar gelişebilir. Özellikle yaşlılarda bu komplikasyonlar ölümlerle sonuçlanabilir (Forbes ve ark, 1994).

1.2.2.5. Gastrik Karsinoma

Dünya genelinde mide karsinomu en çok görülen solit tümörler arasında ikinci sırada yer almaktadır. Uluslararası Kanser Çalışma Grubu 1994'de *H. pylori*'yi grup 1 karsinojenik olarak bildirmiştir. Üç prospektif epidemiyolojik çalışmanın meta-analiz sonuçları *H. pylori* pozitif hastaların normallere göre dört kat daha fazla kanser gelişme riski taşıdığını göstermiştir. Değişik çalışmalarda farklı yöntemler kullanılarak farklı sonuçlar çıkmasına rağmen en iyimser tahminle, mide kanserlilerin ortalama üçte birinin nedeninin *H. pylori* enfeksiyonu olduğu söylenebilir. Atrofik gastrit ve intestinal metaplazi kansere zemin hazırlayan öncül değişikliklerdir. Özellikle son yıllarda antrum ve mide korpus kanseri oranlarındaki düşüş *H. pylori* prevalansındaki azalma ile paraleldir (Eslick ve Yang, 2006).

1.2.2.6. Gastrik Lenfoma; MALT (Mucosa-Associated Lymphoid Tumors)

H. pylori enfeksiyonu ile direkt ilişkilendirilen ikinci tümöral oluşum mide lenfoması yani mukoza ile ilişkili lenfoit doku tümörüdür. MALT'ın *H. pylori* ile ilişkisi mide kanserinden çok daha belirgindir. MALT olan hastaların %72-98'inde *H. pylori* pozitifliği, ortalama %70'inde ise CagA+'lığı saptanmış, *H. pylori* eradikasyonundan sonra da olguların %70-80'inde gerileme olduğu gözlenmiştir. Patogenezde *H. pylori*'nin neden olduğu kronik antijenik stimülasyonun rol oynadığı, buna bağlı olarak poliklonal lenfoit yanıtın uyarıldığı, sonrasında neoplastik transformasyonun geliştiği ileri sürülmektedir (Parsonnet ve ark, 1994).

1.2.2.7. Gastro-Özofagal Reflü Hastalığı

Son yüzyılda *H. pylori* prevalansında azalma söz konusu olmakla birlikte, gastro-özofageal reflü hastalığı, Barrett özofagusu, özofagus adenokarsinomu oranlarında giderek artış olduğu gözlenmiştir (Makola ve ark, 2007).

1.2.2.8. Fonksiyonel Dispepsi

Dispepside epigastrik şişkinlik, dolgunluk, sıkıntı, yanma, çabuk doyma, bulantı gibi yakınmalar söz konusudur. Ülseri olmayan, ancak dispepsi yakınmaları olan hastaların %4-21'inde bir yıl içinde ülser geliştiği gösterilmiştir. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda fonksiyonel dispepsili olguların bir kısmında *H. pylori* eradikasyonunun semptomlarda azalmaya yol açtığı ve bunun plasebodan %10 daha etkili olduğu gösterilmiştir (Blum ve ark,1998).

1.2.3. Mide Dışı Hastalıklar

H. pylori'nin diğer hastalıklarla ilişkisine yönelik yapılmış pek çok çalışma olmakla birlikte, kesin kanıtlar bulunamamıştır. Koroner kalp hastalığı, demir eksikliği anemisi, pernisiyöz anemi, oto-immün trombositopenik anemi, ürtiker, skleroderma, rozasea, Raynaud fenomeni, migren, gıda allerjisi, Diabetes mellitus, tirodit *H. pylori* ile ilişkili olduğu ileri sürülen, ancak aralarındaki ilişki tam olarak açıklanamamış hastalıklardır (Mendall ve ark, 1994).

1.3. Bitkisel Kaynaklı Ürünlerin Sağlıkta Kullanılması

1.3.1. *Citrus unshiu*'nun Tıbbi Açıdan Önemi

Turunçgiller (*Rutaceae*) familyasına ait olan mandalina zengin bir B ve C vitamin kaynağına sahiptir. Serbest asit oranı oldukça düşüktür.

1.3.2. *Citrus sinensis*'in Tıbbi Açıdan Önemi

Turunçgiller (*Rutaceae*) familyasına ait olan portakal yaprağı kabızlık sorununu giderir. Sindirim sisteminin peristaltik hareketlerini uyarır.

1.3.3. *Citrus limon*'un Tıbbi Açıdan Önemi

Turunçgiller (*Rutaceae*) familyasına ait olan limon mide bulantısını ve baş dönmesini giderir. Mide ağrılarını dindirir.

1.3.4. *Laurus nobilis*'in Tıbbi Açıdan Önemi

Defnegiller (Lauraceae) familyasına ait olan defne terletici, antiseptik ve midevi etkilere sahiptir. Sindirim sistemi hastalıklarından hazımsızlıkta, iştahsızlıkta, gastritte, karındaki gaz şikayetinde etkilidir.

1.3.5. *Citrus paradisi*'nin Tıbbi Açıdan Önemi

Rutaceae familyasına ait olan greyfurt yaprağı sayesinde sindirimi uyarır, hazmı kolaylaştırır ve kabızlığı önler.

1.3.6. *Allium sativum*'un Tıbbi Açıdan Önemi

Alliaceae familyasına ait olan sarımsak antiseptik, idrar artırıcı, safra salgılarını artırıcı, solucan düşürücü (özellikle askarit ve oksiyürlere karşı), iştah açıcı, tansiyon (kan basıncı) ve kolesterol düşürücü, kanı sulandırıcı ve bağışıklık sistemini güçlendirici etkilere sahiptir. Antiseptik (mikrop öldürücü) etki taşıdığı allicin'den ileri gelmektedir.

1.4. Tanıda Kullanılan Testler

H. pylori enfeksiyonlarının tanısında kullanılan testler İnvaziv ve Non-invaziv olmak üzere iki gruba ayrılırlar. Önerilen öncelikle non-invaziv testlerin kullanılmasıdır. Ancak mide mukozasındaki değişiklikler hakkında da bilgi vermesi açısından klinisyenler tarafından biyopsi ve sonrası histopatolojik inceleme yapılması halen sıklıkla tercih edilmektedir. Eradikasyon tedavisi sonrası hastanın şikayetleri yoksa herhangi bir test yapılmasına gerek yoktur, ancak bulgular devam ediyorsa veya yeniden başladı ise test önerilir.

1.4.1. Non-İnvaziv Testler

1.4.1.1. Üre Nefes Testi

Üre nefes testi non-invaziv testler arasında en güvenilir yöntem olarak kabul edilmektedir. Bu amaçla hastaya C-13 ve C-14 izotopları işaretlenmiş üre solüsyonu

içirildikten sonra nefesle dışarı verdiği hava bir torbada toplanarak, işaretli CO₂ ölçülür. Midede *H. pylori* varlığında, bakterinin üreaz enzimi üreyi parçalayarak amonyak ve işaretli CO₂ oluşturur ve bu CO₂ nefeste saptanır. Radyoaktif CO₂ ölçümü en sık Mass spektrofotometre ile yapılmaktadır, ancak infrared spektrofotometreler ile de daha düşük maliyette ve benzer performansta sonuçlar alınmaktadır. Bu testin sensitivitesi %98, spesifitesi %100 olarak bildirilmektedir. En iyi sonuç, üre solüsyonunun sitrik asit ile verilmesi ve üre içilmesinden 20-25 dakika sonra nefes testinin yapılması ile alınmaktadır. Cut-off değeri her protokolda farklılıklar göstermektedir.

H. pylori tedavisinin takibinde de öncelikle önerilen testtir. Ancak yalancı pozitif sonuçları ekarte etmek için üre nefes testi eradikasyon tedavisinin bitiminden en erken 4-6 hafta sonra yapılmalıdır.

1.4.1.2. Gaitada Antijen Testi

Gaitada antijen testi uygulaması kolay ve hızlı sonuç veren bir yöntemdir. Maastricht III kriterlerinin “test and treat” stratejisinde önerilen test olmasına ve üre nefes testi kadar başarılı sonuçlar alınmasına rağmen maalesef yaygın kullanılmamaktadır. İlk üretilen kitlerde poliklonal antikörlerin kullanılması sonucu yalancı pozitif reaksiyonların yüksek oranda görülmesi nedeniyle son yıllarda monoklonal antikör içeren kitler piyasaya sürülmüştür. Bu testlerin duyarlılığı %58-96, özgüllüğü ise %67-100 olarak bildirilmektedir. Klinisyenin hasta başında uygulayabileceği monoklonal antikör içeren immunokromatografik kart testler de geliştirilmiştir. Ancak standart laboratuvar Enzyme İmmuno Assay (EIA) testlerinin daha doğru sonuç verdiği bildirilmektedir. Enfeksiyon prevalansının yüksek olduğu bölgelerde gaitada antijen testleri ile oldukça verimli sonuçlar alınmasına rağmen bu testler ile karşılaşılan problemlerden birisi prevalansın düşük olduğu bölgelerde performanslarının düşük olmasıdır. Bu nedenle prevalansın düşük olduğu bölgelerde bu testlerin üre nefes testi veya serolojik testlerle kombine edilerek kullanılması önerilmektedir. Monoklonal antikörleri içeren antijen testleri eradikasyon tedavisinin takibinde de önerilmektedirler. Tedavi bitiminden 4-8 hafta sonra yapılmalıdırlar. Çocuklarda gaitada antijen testleri kullanıldığında dikkatle değerlendirilmelidir. Çocuk hastalarda “transient *H. pylori* enfeksiyonları” olabilmekte ve bu nedenle antijen testleri ile bu dönemde yalancı pozitif sonuç alınmaktadır.

Çocuklarda eğer semptom varsa testin güvenilirliği artmaktadır, asemptomatik çocuklarda ise test sonuçları dikkatle değerlendirilmelidir.

1.4.1.3. Serolojik Testler

Kanda *H. pylori*'ye karşı oluşmuş antikorları saptayan bu testler yaygın olarak kullanılmaktadır. Uygulaması kolay ve diğer yöntemlere göre ucuz olmaları nedeniyle tercih edilmektedirler. EIA en sık kullanılan yöntemdir. Bu testlerin uygulanmasında kullanılan antijenin seçimi çok önemlidir. Asya ve Avrupa'da enfeksiyon oluşturan suşların farklılıkları nedeniyle lokal antijenlerden hazırlanmış kitlerin tercih edilmesi önerilmektedir. Ayrıca testin cut-off değerinin bölgesel ve yaşa bağlı olarak modifiye edilmesinin test performansını arttırdığı gösterilmiştir. Serolojik testlerin duyarlılığı %88-95, özgüllüğü %86-95 dir. Özgül IgM antikorları enfeksiyonun 18. gününde itibaren yükselir ve kısa sürede kaybolurlar, IgG ve IgA antikorları ise 60. günden sonra genellikle birlikte yükselmeye başlar ve enfeksiyon tedavi edilmedikçe yüksek kalırlar. Tüm IgG pozitif hastalarda IgA yanıtının oluşmadığı, vakaların % 5'inde ise IgG yanıtı olmadan sadece IgA yanıtının olabileceği gösterilmiştir. IgM antikorları akut enfeksiyonun göstergesidir, ancak *H. pylori*'nin kronik seyirli enfeksiyon oluşturmaları nedeniyle semptomatik hastalarda bu antikorlar düşük oranda (%10) pozitif saptanırlar. IgG ve IgA antikorları ise aktif enfeksiyonu göstermezler. Eradikasyon tedavisinden sonra uzun süre (6-12 ay) pozitif sonuç verebilirler. Bu nedenle serolojik testler eradikasyon tedavisinin takibinde önerilmezler. Hastanın antibakteriyel ajan veya PPI kullanması durumunda *H. pylori* enfeksiyonlarının tanısında serolojik testler tercih edilmelidir. Bu testler dışındaki tüm diğer tanı yöntemlerinde ilaç kullanımı test sonucunu etkilemektedir. İdrar, tükürük ve parmaktan alınan kanda *H. pylori* antikorlarını saptayan testlerde mevcuttur ancak bunların duyarlılık ve özgüllükleri düşüktür.

1.4.2. İnvaziv Testler

1.4.2.1. Histopatolojik İnceleme

H. pylori enfeksiyonunun tanısında altın standart olarak kabul edilmektedir. Antral biyopsi örnekleri hematoksilen-Eozin, Warthin-Starry gümüşleme, akridin oranj veya

Giemza ile boyandıktan sonra mukus içinde yüzey epiteline tutunmuş olan bakteri araştırılır. Bu teknikle midede oluşan değişikliklerin de gösterilebilmesi önemli bir tercih nedenidir. Bu nedenle *H. pylori* enfeksiyonlarının tanısında sıklıkla kullanılmaktadır. Bu yöntemin duyarlılığı % 93- 98, özgüllüğü % 95-98'dir.

Mide mukozasında *H. pylori*'yi endoskopi esnasında gösterilebilmesi olanağını sağlayacak olan mikroskopik endoskopi yönteminin üzerinde çalışmalar sürmektedir ve yakın gelecekte kullanılması planlanmaktadır.

1.4.2.2. Üreaz Testi

Endoskopi sırasında alınan antral biyopsi örneklerinde *H. pylori*'nin salgıladığı bir enzim olan üreaz enziminin gösterilmesi esasına dayanır. Üreaz enziminin varlığında ortamdaki üre amonyak ve bikarbonata parçalanarak, ortamın pH'sını yükseltir ve bu değişim pH indikatörü ile gözlenir. Pozitif sonuçların % 90'ı ilk yarım saatte bulunur, kalanlar ise ertesi gün okunur. Hızlı ve pratik bir yöntem olması nedeniyle çok kullanılmaktadır. Duyarlılığı % 89-98, özgüllüğü % 93-98 arasındadır.

1.4.2.3. Kültür

Tanıda altın değerinde bir test olarak kabul edilmekle birlikte uygulanmasındaki zorluklardan dolayı rutin uygulamalarda tercih edilmemektedir.

Ancak son yıllarda tedavide kullanılan antibiyotiklere karşı direnç gelişmiştir. Antibiyotik direnci tedavinin başarısını etkileyen en önemli faktörlerden birisidir. Tedavide kullanılan antibiyotiklerden birisi olan klaritromisine karşı dünyada % 2-30, ülkemizde de % 20-35 oranında direnç geliştiği bildirilmektedir. Bu nedenle özellikle tedaviye yanıt alınamayan vakalarda biyopsi örneklerinin kültürü ve antibiyotik duyarlılık testlerinin yapılması önerilmektedir.

H. pylori'nin oksijene duyarlı bir bakteri olmasından dolayı, eğer kültür çalışılacaksa antral biyopsi örneklerinin hızlı bir şekilde ve transport besiyerinde (% 20 gliserollü Brucella broth/serum fizyolojik) laboratuara ulaştırılması gerekmektedir. Örnekler en fazla 4 saat içinde ekilmeli, eğer hemen ekilemeyecekse +4°C'de bekletilmelidir. At

veya koyun kanı ile zenginleştirilmiş BHI, Colombia agar, Brucella agar gibi besiyerleri kullanılabilir. Mikroaerofilik ortamda 3-7 günde üreme sağlanır. Tiplendirme Gram boyama, katalaz, oksidaz ve üreaz aktiviteleri değerlendirilerek yapılabilir. Duyarlılığı %77-95, özgülüğü %100 olarak bildirilmektedir. Antimikrobiyal duyarlılık testi için Clinical Laboratory Standarts Institute (CLSI) kriterlerine göre agar dilüsyon tekniği önerilmektedir. Ayrıca E-test tekniği de dünyada yaygın olarak kullanılmaktadır.

1.4.2.4. Moleküler Testler

H. pylori enfeksiyonlarının tanısında ve antimikrobiyal direncin gösterilmesinde bakterinin kültürde üretiminin zor olması nedeniyle moleküler tekniklerin kullanımı yönünde hızla ilerlenmektedir.

Bu amaçla mide biyopsi örneklerinde bakterinin 16S rRNA'sının ve klaritromisin direncine neden olan 23S rRNA'daki mutasyonların PCR, real-time PCR veya floresan insitu hibridizasyon (FISH) ile gösterilmesi çok duyarlı ve hızlı sonuç veren tekniklerdir. Ayrıca özellikle çocuk hastalarda yararlı olacağı düşünülen gaitada real-time PCR ile bakteri ve klaritromisin direncini gösteren teknik geliştirilmiştir. Maliyetlerinin yüksek olması moleküler testlerin önemli bir dezavantajıdır.

1.5. Kaynak Özetleri

Adams ve ark., (2003) çalışmalarında doğal tatlı su kaynaklarındaki *H. pylori*'nin canlılığını incelemişlerdir. *H. pylori*'nin hem laboratuvar kültürlerinde hem de doğal tatlı su çevrelerinde morfoloji ve kültüre alınabilirliğini araştırmışlardır. Sonuçta *H. pylori* laboratuvar kültürlerinde persiste kaldığını ancak çevrede ise canlılığını sürdürüp kültüre alınamayan durumda olduğunu ve bunun da halk sağlığı açısından tehlikeli olabileceğini bildirmişlerdir.

Aksoy ve Dığrak., (2006) yaptıkları çalışmada bal ve propolis ekstraktlarının Gram negatif ve Gram pozitif bakterilere karşı antibakteriyal aktivitelerinin olduğu ve kültür ortamına ilave edilen %20 bal konsantrasyonunun *H. pylori* üzerine inhibe edici etkisinin olduğunu saptamışlardır.

Alexander N. Shikov ve ark., (2007) yaptıkları çalışmada *Chamomilla recutita* yağ ekstraktının *H. pylori* üzerine olan antimikrobiyal etkilerini incelemişlerdir. Çalışmada % 10 koyun kanı içeren Colombia agar kullanılarak agar dilüsyon metodu ile ekstraktın *Helicobacter pylori* üzerine olan etkilerine bakılmıştır. Sonuç olarak ekstraktın MIC (Minimum Inhibitory Concentration) 125 mg/mL olarak bulunmuştur. Buna ilaveten ekstraktın *H. pylori*'nin üreaz enzim üretimini inhibe ettiği belirlenmiştir.

Arif ve ark., (2004) yaptıkları bu çalışmada *Centaurea solstitialis*'in toprak üstü kısımlarından hazırlanan metanol ekstresinin kloroformlu fonksiyonu, standart ve klinik suşların %50'sine karşı yüksek antihelicobacter aktivite göstermektedir. Butanollü standart suşa etkisiz iken klinik olarak izole edilen suşlardan birine karşı bir inhibüsyon sağlamaktadır. Bu çalışmada agar dilüsyon metodu kullanılarak *Centaurea* türlerinin antiülserojenik etkisi incelenmiştir.

Ayaz ve Alpsoy., (2007) yaptıkları çalışmada sarımsağın kalp damar hastalıklarında, kan basıncını düzenleyici, kan şekeri ve kolesterolü düşürücü, bakteriyel, viral, mantar ve paraziter enfeksiyonlara karşı etkisi, ümmün sistemi güçlendirici, antitümör ve antioksidan özelliğini vurgulamışlardır. Sarımsağın antibakteriyel ajan olarak *Helicobacter pylori* üzerine karşı etkili olduğu ve bu etkinin de sarımsağın içerisindeki allicinden ileri geldiği bildirilmiştir.

Castillo-Juarez ve ark., (2009) yaptıkları çalışmada 53 bitki türünün *Helicobacter pylori* üzerine olan antimikrobiyal etkilerini agar dilüsyon ve broth dilüsyon tekniğini kullanarak incelemişlerdir. Çalışma sonucunda *Mentha piperita* 125–250 µg/mL MIC konsantrasyonuyla en etkili bitkilerden biri olduğu tespit edilmiştir.

Chiba ve ark., (1992) yaptıkları çalışmada eradikasyon oranları, tekli tedavi ile %18.6, ikili tedavi ile %48.2, üçlü tedavi ile %82.3 olarak bulunmuştur. Bizmut ile metranidazol kombinasyonu, bizmut ile amoksisilin kombinasyonuna göre %12 daha etkili saptanmıştır. Buna karşılık bizmut + metranidazol + tetrasiklin kombinasyonu, bizmut + metranidazol + amoksisilin kombinasyonuna göre %21 daha etkili bulunmuştur.

Degnan ve ark., (2003) çalışmalarında su örneklerinden *Helicobacter pylori*'nin teşhis edilmesinde kullanılacak bir besi yeri geliştirmişlerdir. Çalışmada ilk önce brain heart

infusion, Brucella agar, Columbia blood agar base, campylobacter agar kit Skirrow ve HPSPA agara *Acinetobacter*, *Aeromonas*, *Bacillus*, *Escherichia coli*, *Enterobacter*, *Enterococcus*, *Helicobacter pylori*, ve *Pseudomonas* inoküle edilmiştir. *Acinetobacter*, *E. coli*, ve *H. pylori* bu beş besiyerinde de üremiştir. Ancak *H. pylori* daha yavaş ürediği için tanımlanması güç olmuştur. Daha sonra daha seçici olan bir besiyeri (HP agar) geliştirilmiştir. Agar içerisine üreaz enziminin indikatörü olarak fenol kırmızısı ve amphotericin B ve polymyxin B antibiyotikleri ilave edilmiştir. Çalışma sonucunda ilk 12-24 saat içerisinde *H. pylori* indikatörden dolayı teşhis edilebilmiş ve 7 gün süresince sadece *H. pylori* üremesini sürdürmüştür.

Giaño ve ark., (2008) çalışmalarında *H. pylori*'nin heterotrofik içme suyu biofilm tabakasındaki persistansı incelenmiştir. Bu biofilm tabakasının bir çok patojen bakteriyi düşük karbon konsantrasyonu, stres ve optimalden düşük sıcaklıklar gibi olumsuz etkilerden koruduğu tespit edilmiştir.

Gowsala P. Sivam., (2001) çalışmasında sarımsak (garlic)'ın *H. pylori* üzerine olan etkilerini incelemiş ve sonuç olarak bazı antibiyotiklere dirençli olan suşların bile sarımsağa duyarlı olduğunu, sarımsağın antibiyotiklerle birlikte kullanılabileceğini bildirmiştir.

Johnson ve ark., (1997) yaptıkları çalışmada üç *H. pylori* suşunun klorinasyon ile etkisiz hale getirilmesini incelemişlerdir. Sonuçta her üç suşun da klorinasyon sonucu eradike edildiği tespit edilmiştir.

John ve ark., (2008) yaptıkları çalışmada *H. pylori*'nin abiotik yüzeylere yapışmasında serumun etkisi incelenmiştir. *H. pylori* içeriği bilinen kimyasal besiyerlerinde kültüre alındığı zaman abiotik yüzeylere yapışıp mikro koloniler oluşturabilmektedir. Yapışmanın başlamasında esas olarak proteinler rol oynamakta daha ileriki aşamalarda ise farklı moleküller etkili olmaktadır. Çalışma sonucunda ortama serum eklendiğinde *H. pylori*'nin abiotik yüzeylere yapışmasının engellendiği bildirilmiştir.

Keiji Funatogawa ve ark., (2004) yaptıkları çalışmada medikal olarak kullanılan bitkilerden 36 polyfenol ve 4 terpenoid izole etmişler ve bunların *H. pylori* üzerine antimikrobiyal etkilerini incelemişlerdir. Özellikle monomerik taninlerin oldukça güçlü

aktivite gösterdiği bunun yanında diğer moleküllerin ise minimal düzeyde bir antimikrobiyal etkiye sahip oldukları belirlenmiştir.

Hidroliz edilebilen taninlerden Tellimagrandin I'in zaman ve doza bağlı bakterisidal etki gösterdiği ve ayrıca insan gastrik epitelyum hücrelerinden derivate edilen MKN-28 hücre hattı üzerine herhangi bir olumsuz etkisinin olmadığı tespit edilmiştir.

Lee ve ark., (1997) çalışmalarında *H. pylori*'ye DNA transferinde kullanılacak bir mekik vektörü geliştirmişlerdir. pHP489 plazmidi HindIII enzimi ile kesilmiş ve kanamisin direnç geni içerisine, aktarılmak istenen DNA parçası eklenmiştir. Sonuç olarak *H. pylori*'ye gen transferinde kullanılacak rekombinant bir plazmit geliştirilmiştir.

Nostro ve ark., (2005) yaptıkları çalışmada 17 bitki türünün *H. pylori* üzerine antimikrobiyal etkilerini disk difüzyon tekniğini kullanarak incelemişlerdir. Çalışma sonucunda *Cuminum cyminum L.*'nin 0,075 mg/mL MIC değerine sahip olduğunu tespit etmişlerdir.

O'gara ve ark., (2000) çalışmalarında bazı sarımsak türlerinin anti-*H. pylori* özelliklerini *in vivo* olarak test etmişlerdir. Çalışmada sarımsak yağı ve sarımsak tozunun günlük olarak tüketilmesi baz alınmıştır. Çalışma sonucunda, sarımsak yağının MBC (Minimum Bacterisidal Concentration) ve MIC (Minimum Inhibitory Concentration) değerleri bakımından sarımsak tozundan daha etkili olduğu ancak Allicin ile kıyaslandığında daha düşük değerlere sahip olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçlara göre anti-*H. pylori* potansiyeli en fazla olan Allicin olarak belirlenmiştir.

Ohno ve ark., (2003) yaptıkları bu çalışmada gastroduodenal hastalıkları geliştiren *H. pylori*'nin yok edilmesinde antibiyotiklerin kullanılması ve bu antibiyotiklere karşı hızlı bir şekilde direnç kazanmalarından dolayı *in vitro* olarak yağların %1'lik konsantrasyonda kullanıldığında *H. pylori*'nin çoğalmasını tamamen inhibe ettiğini belirlemişlerdir. Farelerde yapılan *in vivo* çalışmalarda ise lemongrassla muamele edilen farelerin midesindeki *H. pylori*'nin yoğunluğu muamele edilmeyenlere oranla düşmüştür. Bu çalışma sonucunda *H. pylori*'ye karşı dirençlilik gelişimini önlemede uçucu yağların kullanılabileceğini ileri sürmüşlerdir.

Ruiz ve ark., (2007) alışmalarında biyoteknoloji alanında çok fazla uygulama alanı bulan, buna ilaveten virulans faktörü de olan bakteriyel lipaz enzimini ilk defa *H. pylori*'den izole etmişlerdir. EstV adını verdikleri bu enzim ilk defa saflaştırılmış ve identifiye edilmiştir. *Helicobacter pylori*'nin lipaz enzimi özellikle mide mukazısını tahrip etmekte ve bakterinin enfektif özelliğini arttırarak mukozayı zayıflatıp öncelikle ülser daha sonra da gastrik neoplazmlara neden olduğu tespit edilmiştir.

2. MATERYAL ve YÖNTEM

2.1. Materyal

Deneme materyalleri olarak kullanılan bitkilere ait bilgiler Çizelge 3.1.'de verilmiştir. Mandalina (*Citrus unshiu*), portakal (*Citrus sinensis*), limon (*Citrus limon*), defne (*Laurus nobilis*) bitkilerinin yaprakları Hatay'ın Erzin ilçesinden, greyfurt (*Citrus paradisi*) bitkisinin yaprakları Hatay'ın Arsuz ilçesinden, sarımsak (*Allium sativum*) bitkisi Kastamonu'nun Taşköprü ilçesinden temin edilmiştir.

Çizelge 2.1. Deneme materyalleri

<i>Taxa</i>	Orjin	Kullanılan kısım
<i>Citrus limon</i>	Hatay'ın Erzin ilçesinden	Yaprak
<i>Citrus sinensis</i>	Hatay'ın Erzin ilçesinden	Yaprak
<i>Citrus unshiu</i>	Hatay'ın Erzin ilçesinden	Yaprak
<i>Laurus nobilis</i>	Hatay'ın Erzin ilçesinden	Yaprak
<i>Citrus paradisi</i>	Hatay'ın Arsuz ilçesinden	Yaprak
<i>Allium sativum</i>	Kastamonu'nun Taşköprü ilçesinden	Tümü

2.1.1. Ekstraksiyon Materyal ve Solüsyonları

2.1.1.2. Ekstraksiyon Materyalleri

Çalışmada bitkilerin kurutulması ve ekstrat hazırlığı aşaması için kurutma kağıtları, 0,45µm por çaplı whatman filtre, 100 mL - 500 mL'lik beher, hassas terazi, parafilm, alüminyum folyo kullanılmıştır.

2.1.1.3. Solüsyonlar

Çalışmada Merck marka Hekzan ve Aseton solüsyonları kullanılmıştır.

2.1.2. Süzme Materyalleri

Balon joje, huni, filtre kağıdı, rotary evaporatör, parafilm ve alüminyum folyo materyalleri süzme ve kurutma materyalleri olarak çalışmada yer almıştır.

2.1.3. Miktar Tayini Materyalleri

Çalışmada 100 mL -500 mL'lik rodajlı balon, hassas terazi, spatül, 50 mL - 100 mL'lik beher kullanılmıştır.

2.1.4. Çözdürme Materyalleri

Çalışmada 50 mL -100 mL'lik beher, hassas terazi, hekzan, spatül, mezür, DMSO, parafilm, manyetik karıştırıcı, cam tüp, etiket 0.45 µm por çaplı filtre, şırınga , +4°C buzdolabı kullanılmıştır.

2.1.5. Antimikrobiyal Çalışma İçin Kullanılan Besi Ortamları ve Aparatlar

2.1.5.1. Besi ortamları

Çalışmada *H. pylori Agar* (Biomerieux), *Brucella broth* (Biomerieux), *Mueller hinton agar* (Oxoid) kullanılmıştır.

2.1.5.2. Aparatlar

Microplate (Costar 3367), 100/1000/20 µL'lik (Socorex) mikropipet dilusyon amacıyla kullanılmıştır. Gaspak (Oxoid Campygen), jar, öze, bunsen begi alevi, statif (spor) 10-50 mL'lik falkon tüp, 5 numaralı burğu aparatı(10 mm), Klatromisin (Oxoid), cımbız, drigalski, etil alkol, etüv (Termaks), cam yazar kalem, Petri kabı (REF), eküvyon, 10-100-1000 µL'lik pipet ucu çalışmada kullanılan aparatlardır.

2.2. Yöntem

2.2.1. *Citrus unshiu*

2.2.1.1. Ekstraksiyon Aşaması

Çalışmada kullanılan bitkiler herbaryum tekniğine dayanılarak nem ihtiva etmeyen karanlık bir ortamda kağıt arasına alınarak presleme işlemine tabii tutulmuş ve tam olarak kurutma işlemi gerçekleşinceye kadar presleme işlemine devam edilmiştir

(Sawaya ve ark, 2011). Kurutma işlemi tamamlandıktan sonra yapraklar el yardımı ile küçük parçalara ayrıştırılmıştır. Steril 100 mL'lik beher içerisinde darası alınmış hassas terazide ölçülmüştür (Bridson ve Forman, 1999).

Hekzan ekstresinin hazırlanışı: Yapraklar 500 mL'lik bir beher içerisine alınıp üzerine 200 mL hekzan mezürde ölçülerek yaprakların üzerine konulmuştur. Beherin üstü parafilm ile iyice kapatılmıştır. Beherin kenarları alüminyum folyo ile sarıldıktan sonra 24 saat oda sıcaklığında inkübasyona bırakılmıştır.

Aseton ekstresinin hazırlanışı: Hekzan ekstresi hazırlandıktan sonra inkübasyon süresini takiben yapraklar hekzanlı ortamdan uzaklaştırılarak 3 gün süre ile kurutulmaya bırakılmıştır. Kurutma işlemi takiben yapraklar 500 mL'lik beher içerisine alınıp üzerine 200 mL aseton ilave edilmiştir. Beherin üstü parafilm ile iyice kapatılmıştır. Beherin kenarları alüminyum folyo ile sarıldıktan sonra 24 saat oda sıcaklığında inkübasyona bırakılmıştır.

2.2.1.2. Süzme Aşaması

Süzdürme işlemi için uygun büyüklükte bir balon joje alınarak üzerine huni yerleştirilmiş ve filtre kağıdı takılmıştır. Hazırlanan ekstrakt süzildükten sonra rotary evaporatöre yerleştirilmiş ve uçurma işlemine başlanmıştır. Balon jogenin içerisinde hiç sıvı kalmayana kadar 55°C gerçekleştirilmiştir. İşlemlerdeki uçurma süresi 45-60 dakika kadar sürmüştür (Radin, 1966).

Hekzan ekstresi için; İçerisindeki hekzan tamamen buharlaşana kadar beklenmiştir. Daha sonra balon rotary evaporatörden çıkarılıp üzerine tekrardan 200 mL hekzan eklenmiştir. Balonun üst kısmı parafilm ile kapatılmıştır. Kenarları alüminyum folyo ile sarıldıktan sonra 24 saat oda ısısında inkübasyona bırakılmıştır. 24 saatlik aralıklarla toplamda 4 kez tekrarlanmıştır.

Aseton ekstresi için; İçerisindeki aseton tamamen buharlaşana kadar beklenmiştir. Balon rotary evaporatörden çıkarılıp üzerine tekrardan 200 mL aseton eklenmiştir. Balonun üst kısmı parafilm ile kapatılmıştır. Kenarları alüminyum folyo ile sarıldıktan sonra 24 saat oda ısısında inkübasyona bırakılmıştır. 24 saat geçtikten sonra bu kez de

100ml aseton konulup balonun üst kısmı parafilm ile kapatılmıştır. Kenarları alüminyum folyo ile sarıldıktan sonra 24 saat oda ısısında inkübasyona bırakılmıştır. Balon rotary evaporatöre takılmıştır. Balonun içerisinde aseton kalmayana kadar beklenmiştir.

2.2.1.3. Ekstrenin Miktar Tayini

Balonun içerisinden spatül ile alınan ekstre 50 mL 'lik behere konulmuş ve darası alınmış hassas terazide miktarı ölçülmüştür.

2.2.1.4. *Citrus unshiu* ekstresinin Dimetil sülfoksit (DMSO) içerisinde çözülmesi

50 mL'lik bir beherin hassas terazide darası alınıp içerisine 0,2 g *Citrus unshiu* hekzan ekstresinden spatül ile alınıp konulmuştur. Üzerine 4 ml DMSO eklenip ağzı parafilm ile sıkıca kapatıldıktan sonra manyetik karıştırıcıya yerleştirilmiştir. Ekstrenin tamamen çözünmesi sağlanmıştır.

Steril bir tüp alınıp üzerine etiketlenmesi yapılmıştır. Tüpün üzerine 0.45 µm'lik filtre takılmıştır. Ekstre steril bir şırınga yardımıyla filtreden geçirilmiştir. Daha sonra kullanılmak üzere buzdolabına konulmuştur. Benzer işlem aseton ekstresi için de uygulanmıştır.

2.2.2. *Citrus sinensis*

2.2.2.1. Ekstraksiyon Aşaması

Hatayın Erzin ilçesinden toplanan yapraklar nemsiz bir ortamda gölgede kağıtlar arasında preslenerek kurutulmuştur. Kurutma işlemi tamamlandıktan sonra el yardımı ile küçük parçalara ayrıştırılmıştır. 50 mL'lik bir beher içerisine konularak darası alınmış hassas terazide miktar tayini yapılmıştır. (Bridson ve Forman, 1999).

Hekzan Ekstresinin Hazırlanışı: Yapraklar 500 mL'lik bir beher içerisine alınıp üzerine 200 mL hekzan mezürde ölçülerek yaprakların üzerine konulmuştur. Beherin üstü parafilm ile iyice kapatılmıştır. Beher üzerindeki etikete bilgiler kaydedilmiştir.

Beherin kenarları alüminyum folyo ile sarıldıktan sonra 24 saat oda ısısında inkübasyona bırakılmıştır.

Aseton Ekstresinin Hazırlanışı: Yapraklara kurutma işlemi yapılmış müteakiben 500 mL'lik bir beher içerisine alınıp üzerine 200 mL aseton mezürde ölçüldükten sonra yaprakların üzerine konulmuştur. Beherin üstü parafilm ile iyice kapatılmıştır. Beher üzerindeki etikete bilgiler kaydedilmiş ve beherin kenarları alüminyum folyo ile sarıldıktan sonra 24 saat oda ısısında inkübasyona bırakılmıştır.

2.2.2.2. Süzme Aşaması

Süzdürme işlemi için uygun büyüklükte bir balon joje alınarak üzerine huni yerleştirilmiş ve filtre kağıdı takılmıştır. Hazırlanan ekstre süzöldükten sonra rotary evaporatöre yerleştirilmiş ve uçurma işlemine başlanmıştır. Balon jogenin içerisinde hiç sıvı kalmayana kadar 55°C gerçekleştirilmiştir. Yaklaşık olarak işlemlerdeki uçurma süresi 45-60 dakika kadar sürmüştür (Radin, 1966).

500 mL'lik steril bir balon alınıp içerisine huni yerleştirildikten sonra kurutma kağıdı süzgeç haline getirilip huniye yerleştirilmiştir. Portakal ekstraktı süzöldükten sonra balon rotary evaporatöre yerleştirilmiştir.

Hekzan Ekstresi İçin; İçerisindeki hekzan tamamen buharlaşana kadar beklenmiş ve daha sonra 500 mL'lik balon döner buharlaştırıcıdan çıkarılıp üzerine 200 mL hekzan eklenmiştir. Balonun üst kısmı parafilm ile kapatılmıştır. Kenarları alüminyum folyo ile sarıldıktan sonra 24 saat oda ısısında inkübasyona bırakılmıştır. 24 saatlik aralıklarla toplamda 4 kez tekrarlanmıştır.

Aseton Ekstresi İçin; İçerisindeki aseton tamamen buharlaşana kadar beklenmiş ve daha sonra 500 mL'lik balon döner buharlaştırıcıdan çıkarılıp üzerine 200 mL aseton eklenmiştir. Balonun üst kısmı parafilm ile kapatılmıştır. Kenarları alüminyum folyo ile sarıldıktan sonra 24 saat oda ısısında inkübasyona bırakılmıştır. 24 saat geçtikten sonra 100 mL aseton ilave edilip balonun üst kısmı parafilm ile kapatılmıştır. Kenarları alüminyum folyo ile sarıldıktan sonra 24 saat oda ısısında inkübasyona

bırakılmıştır. Balon rotary evaporatöre takılmıştır. Balonun içerisinde aseton kalmayana kadar beklenmiştir.

2.2.2.3. Ekstrenin Miktar Tayini

500 mL'lik balonun içerisinden spatül ile alınan ekstre 50 mL'lik bir behere konulmuş ve hassas terazide miktar tayini yapılmıştır.

2.2.2.4. *Citrus sinensis* Ekstresinin Dimethyl Sülfoksit (DMSO) İçerisinde Çözülmesi

50 mL'lik bir beherin hassas terazide darası alınıp içerisine 0,2 gram hekzanlı *C. sinensis* ekstresinden spatül ile alınıp konulmuştur. Üzerine 4 ml DMSO eklenip ağız parafilm ile sıkıca kapatıldıktan sonra manyetik karıştırıcıya yerleştirilmiştir. Ekstrenin tamamen çözünmesi sağlanmıştır.

Steril bir tüp alınıp üzerine etiket hazırlanmıştır. Tüpün üzerine 0.45 µm'lik filtre takılmıştır ve ekstre steril bir şırınga yardımıyla filtreden geçirilmiştir. Daha sonra kullanılmak üzere +4°C konulmuştur. Benzer işlem aseton ekstresi için de uygulanmıştır.

2.2.3. *Citrus limon*

2.2.3.1. Ekstraksiyon Aşaması

Hatayın Erzin ilçesinden toplanan yapraklar nemsiz bir ortamda gölgede kağıtlar arasında preslenerek kurutulmuştur. Kurutma işlemi tamamlandıktan sonra el yardımı ile küçük parçalara ayrıştırılmıştır. 50 mL'lik bir beher içerisine konularak darası alınmış hassas terazide miktar tayini yapılmıştır. (Bridson ve Forman, 1999).

Hekzan Ekstrenin Hazırlanışı: Yapraklar 500 mL'lik bir beher içerisine alınıp üzerine 200 mL hekzan mezüre alındıktan sonra yaprakların üzerine konulmuştur. Beherin üstü parafilm ile iyice kapatılmıştır. Beher üzerindeki etikete bilgiler yazılmıştır. Beherin kenarları alüminyum folyo ile sarıldıktan sonra 24 saat oda ısısında inkübasyona bırakılmıştır.

Aseton Ekstrenin Hazırlanışı: Hekzan ekstresinin hazırlanışı bittikten sonra yapraklar 3 gün kurutulmaya bırakıldı. Daha sonra yapraklar bir beher içerisine alınıp üzerine 200 mL aseton mezüre alındıktan sonra yaprakların üzerine konulmuştur. Beherin üstü parafilm ile iyice kapatılmıştır. Beher üzerindeki etikete bilgiler yazılmıştır. Beherin kenarları alüminyum folyo ile sarıldıktan sonra 24 saat oda ısısında inkübasyona bırakılmıştır.

2.2.3.2 Süzme Aşaması

Süzdürme işlemi için uygun büyüklükte bir balon joje alınarak üzerine huni yerleştirilmiş ve filtre kağıdı takılmıştır. Hazırlanan ekstrakt süzildükten sonra döner buharlaştırıcıya yerleştirilmiş ve uçurma işlemine başlanmıştır. Balon jojenin içerisinde hiç sıvı kalmayana kadar 55°C’de gerçekleştirilmiştir. Yaklaşık olarak işlemlerdeki uçurma süresi 45-60 dakika kadar sürmüştür (Radin, 1966).

Steril 500 mL’lik bir balon alınıp içerisine huni yerleştirildikten sonra kurutma kağıdı süzgeç haline getirilip huniye yerleştirilmiştir. Limon ekstraktını süzdükten sonra balon rotary evaporatöre yerleştirilmiştir.

Hekzan ekstresi için; İçerisindeki hekzan tamamen buharlaşana kadar beklenmiştir. Daha sonra balon döner buharlaştırıcıdan çıkarılıp üzerine tekrardan 200 mL hekzan eklenmiştir. Balonun üst kısmı parafilm ile kapatılmıştır. Kenarları alüminyum folyo ile sarıldıktan sonra 24 saat oda ısısında inkübasyona bırakılmış ve 24 saatlik aralıklarla toplamda 4 kez tekrarlanmıştır.

Aseton ekstresi için; İçerisindeki aseton tamamen buharlaşana kadar beklenmiştir. Balon rotary evaporatörden çıkarılıp üzerine tekrardan 200 mL aseton eklenmiştir. Balonun üst kısmı parafilm ile kapatılmıştır. Kenarları alüminyum folyo ile sarıldıktan sonra 24 saat oda ısısında inkübasyona bırakılmıştır. 24 saat geçtikten sonra 100 mL aseton konulup balonun üst kısmı parafilm ile kapatılmıştır. Kenarları alüminyum folyo ile sarıldıktan sonra 24 saat oda ısısında inkübasyona bırakılmıştır. Balon rotary evaporatöre takılmıştır. Balonun içerisinde aseton kalmayana kadar beklenmiştir.

2.2.3.3. Ekstrenin Miktar Tayini

500 mL'lik balonun içerisinden spatül ile alınan ekstre 50 mL'lik bir behere konulmuştur. Hassas terazide miktarı ölçülmüştür.

2.2.3.4. *Citrus limon* Ekstresinin DMSO İçerisinde Çözülmesi

Hekzan ekstresi için; 50 mL'lik bir beherin hassas terazide darası alınıp içerisine 0,4 gram limon ekstresinden spatül ile alınıp konulmuştur. Üzerine 4 ml DMSO eklenip ağzı parafilm ile sıkıca kapatıldıktan sonra manyetik karıştırıcıya yerleştirilmiştir. Ekstrenin tamamen çözünmesi sağlanmıştır.

Aseton ekstresi için; 50 mL'lik bir beherin hassas terazide darası alınıp içerisine 0,6 gram limon ekstresinden spatül ile alınıp konulmuştur. Üzerine 4 ml DMSO eklenip ağzı parafilm ile sıkıca kapatıldıktan sonra manyetik karıştırıcıya yerleştirilmiştir. Ekstrenin tamamen çözünmesi sağlanmıştır.

Steril iki tüp alınıp üzerlerine etiket hazırlanmıştır. Tüplerin üzerine 0.45 µm 'lik filtreler takılmıştır. Ekstreler steril şırıngalar yardımıyla filtreden geçirilmiştir. Daha sonra kullanılmak üzere buzdolabına konulmuştur.

2.2.4. *Laurus nobilis*

2.2.4.1. *Laurus nobilis*'in Ekstraksiyon Aşaması

Hatayın Erzin ilçesinden toplanan yapraklar nemsiz bir ortamda gölgede kağıtlar arasında preslenerek kurutulmuştur. Kurutma işlemi tamamlandıktan sonra el yardımı ile küçük parçalara ayrıştırılmıştır. 100 mL'lik bir beher içerisine konularak darası alınmış hassas terazide miktar tayini yapılmıştır. (Bridson ve Forman, 1999).

Hekzan ekstresinin hazırlanışı: İlk olarak yapraklar 500 mL'lik bir beher içerisine alınıp üzerine 200 mL hekzan mezüre alındıktan sonra yaprakların üzerine konulmuştur. Beherin üstü parafilm ile iyice kapatılmıştır. Beher üzerindeki etikete

bilgiler yazılmıştır. Beherin kenarları alüminyum folyo ile sarıldıktan sonra 24 saat oda ısısında inkübasyona bırakılmıştır.

Aseton ekstresinin hazırlanışı: Hekzanlı ekstrenin yapılışı bittikten sonra yapraklar 3 gün kurutulmaya bırakılmıştır. Yapraklar bir beher içerisine alınıp üzerine 200 mL aseton mezüre alındıktan sonra yaprakların üzerine konulmuştur. Beherin üstü parafilm ile iyice kapatılmıştır. Beher üzerindeki etikete bilgiler yazılmıştır. Beherin kenarları alüminyum folyo ile sarıldıktan sonra 24 saat oda ısısında inkübasyona bırakılmıştır.

2.2.4.2. Süzme Aşaması

Süzdürme işlemi için uygun büyüklükte bir balon joje alınarak üzerine huni yerleştirilmiş ve filtre kağıdı takılmıştır. Hazırlanan ekstrakt süzöldükten sonra rotary evaporatöre yerleştirilmiş ve uçurma işlemine başlanmıştır. Balon jolenin içerisinde hiç sıvı kalmayana kadar 55°C gerçekleştirilmiştir. Yaklaşık olarak işlemlerdeki uçurma süresi 45-60 dakika kadar sürmüştür (Radin, 1966).

500 mL'lik steril bir balon alınıp içerisine huni yerleştirildikten sonra kurutma kağıdı süzgeç haline getirilip huniye yerleştirilmiştir. Defne ekstraktını süzdükten sonra balon rotary evaporatöre yerleştirilmiştir.

Hekzan ekstresi için; İçerisindeki hekzan tamamen buharlaşana kadar beklenmiştir. Balon döner buharlaştırıcıdan çıkarılıp üzerine 200 mL hekzan eklenmiştir. Balonun üst kısmı parafilm ile kapatılmıştır. Kenarları alüminyum folyo ile sarıldıktan sonra 24 saat oda ısısında inkübasyona bırakılmıştır. 24 saatlik aralıklarla toplamda 4 kez tekrarlanmıştır.

Aseton ekstresi için; İçerisindeki aseton tamamen buharlaşana kadar beklenmiştir. Balon döner buharlaştırıcıdan çıkarılıp üzerine tekrardan 200 mL aseton eklenmiştir. Balonun üst kısmı parafilm ile kapatılmıştır. Kenarları alüminyum folyo ile sarıldıktan sonra 24 saat oda ısısında inkübasyona bırakılmıştır. 24 saat geçtikten sonra bu kez de 100ml aseton konulup balonun üst kısmı parafilm ile kapatılmıştır. Kenarları alüminyum folyo ile sarıldıktan sonra 24 saat oda ısısında inkübasyona bırakılmıştır.

Balon rotary evaporatöre takılmıştır. Balonun içerisinde aseton kalmayana kadar beklenmiştir.

2.2.4.3. Ekstrenin Miktar Tayini

500 mL'lik balonun içerisinden spatül ile alınan ekstre 50 mL'lik bir behere konulmuştur. Hassas terazide miktarı ölçülmüştür.

2.2.4.4. *Laurus nobilis* Ekstresinin Dimetil sülfoksit (DMSO) İçerisinde Çözülmesi

Hekzan ekstresi için; 50 mL'lik bir beherin hassas terazide darası alınıp içerisine 0,6 gram defne ekstresinden spatül ile alınıp konulmuştur. Üzerine 4 ml DMSO eklenip ağzı parafilm ile sıkıca kapatıldıktan sonra manyetik karıştırıcıya yerleştirilmiştir. Ekstrenin tamamen çözünmesi sağlanmıştır.

Aseton ekstresi için; 50 mL'lik bir beherin hassas terazide darası alınıp içerisine 0,8 gram defne ekstresinden spatül ile alınıp konulmuştur. Üzerine 4 ml DMSO eklenip ağzı parafilm ile sıkıca kapatıldıktan sonra manyetik karıştırıcıya yerleştirilmiştir. Ekstrenin tamamen çözünmesi sağlanmıştır.

Steril iki tüp alınıp üzerlerine etiket hazırlanmıştır. Tüplerin üzerine 0.45 µm'lik filtreler takılmıştır. Ekstreler steril şırıngalar yardımıyla filtreden geçirilmiştir. Daha sonra kullanılmak üzere buzdolabına konulmuştur.

2.2.5. *Citrus paradisi*

2.2.5.1. *Citrus paradisi*'nin Ekstraksiyon Aşaması

Hatayın arsuз ilçesinden toplanan yapraklar nemsiz bir ortamda gölgede kağıtlar arasında preslenerek kurutulmuştur. Kurutma işlemi tamamlandıktan sonra el yardımı ile küçük parçalara ayrıştırılmıştır. 100 mL'lik bir beher içerisine konularak darası alınmış hassas terazide miktar tayini yapılmıştır (Bridson ve Forman, 1999).

Hekzan ekstresinin hazırlanışı: Yapraklar 500 mL'lik bir beher içerisine alınıp üzerine 450 mL hekzan mezüre alındıktan sonra yaprakların üzerine konulmuştur.

Beherin üstü parafilm ile iyice kapatılmıştır. Beher üzerindeki etikete tüm bilgiler yazılmıştır. Beherin kenarları alüminyum folyo ile sarıldıktan sonra 24 saat oda ısısında inkübasyona bırakılmıştır.

Aseton ekstresinin hazırlanışı: Hekzanlı ekstrenin yapılışı bittikten sonra yapraklar 3 gün kurutulmaya bırakılmıştır. Yapraklar 1000 mL'lik bir beher içerisine alınıp üzerine 300 mL aseton mezüre alındıktan sonra yaprakların üzerine konulmuştur. Beherin üstü parafilm ile iyice kapatılmıştır. Beher üzerindeki etikete bilgiler yazılmıştır. Beherin kenarları alüminyum folyo ile sarıldıktan sonra 24 saat oda ısısında inkübasyona bırakılmıştır.

2.2.5.2. Süzme Aşaması

Süzdürme işlemi için uygun büyüklükte bir balon joje alınarak üzerine huni yerleştirilmiş ve filtre kağıdı takılmıştır. Hazırlanan ekstrakt süzöldükten sonra rotary evaporatöre yerleştirilmiş ve uçurma işlemine başlanmıştır. Balon jolenin içerisinde hiç sıvı kalmayana kadar 55°C gerçekleştirilmiştir. Yaklaşık olarak işlemlerdeki uçurma süresi 45-60 dakika kadar sürmüştür (Radin, 1966).

500 mL'lik steril bir balon alınıp içerisine huni yerleştirildikten sonra kurutma kağıdı süzgeç haline getirilip huniye yerleştirilmiştir. Geryfurt ekstraktını süzdükten sonra balon rotary evaporatöre yerleştirilmiştir.

Hekzan ekstresi için; İçerisindeki hekzan tamamen buharlaşana kadar beklenmiştir. Daha sonra balon rotary evaporatörden çıkarılıp üzerine tekrardan 450 mL hekzan eklenmiştir. Balonun üst kısmı parafilm ile kapatılmıştır. Kenarları alüminyum folyo ile sarıldıktan sonra 24 saat oda ısısında inkübasyona bırakılmıştır. 24 saatlik aralıklarla bu işlem toplamda 2 tekrar halinde tamamlanmıştır. Balon rotary evaporatöre takılmıştır. Balonun içerisinde hekzan kalmayana kadar beklenmiştir.

Aseton ekstresi için; İçerisindeki aseton tamamen buharlaşana kadar beklenmiştir. Daha sonra balon rotary evaporatörden çıkarılıp üzerine tekrardan 300 mL aseton eklenmiştir. Balonun üst kısmı parafilm ile kapatılmıştır. Kenarları alüminyum folyo ile sarıldıktan sonra 24 saat oda ısısında inkübasyona bırakılmıştır. 24 saat aralıkla bu

işlem bir kez daha tekrarlanarak işlem 3 tekrar halinde tamamlanmıştır. Balon rotary evaporatöre takılmıştır. Balonun içerisinde aseton kalmayana kadar beklenmiştir.

2.2.5.3. Ekstrenin Miktar Tayini

500 mL'lik balonun içerisinden spatül ile alınan ekstre 50 mL'lik bir behere konulmuştur. Darası alınmış hassas terazide miktarı ölçülmüştür.

2.2.5.4. *Citrus paradisi* Ekstresinin DMSO İçerisinde Çözülmesi

50 mL'lik bir beherin hassas terazide darası alınıp içerisine 0,8 gram hekzanlı greyfurt ekstresinden spatül ile alınıp konulmuştur. Üzerine 4 ml DMSO eklenip ağzı parafilm ile sıkıca kapatıldıktan sonra manyetik karıştırıcıya yerleştirilmiştir. Ekstrenin tamamen çözünmesi sağlanmıştır.

Steril bir tüp alınıp üzerine etiket hazırlanmıştır. Tüpün üzerine 0.45 µm'lik filtre takılmıştır. Ekstre steril bir şırınga yardımıyla filtreden geçirilmiştir. Daha sonra kullanılmak üzere buzdolabına konulmuştur. Benzer işlem asetonlu ekstre için de yapılmıştır.

2.2.6. *Allium sativum*

2.2.6.1. *Allium sativum*'un Ekstraksiyon Aşaması

Kastamonu'nun Taşköprü ilçesinden toplanan kuru sarımsak el yardımı ile kabuğundan ayrıştırılmıştır. 50 mL'lik bir beher içerisine konularak darası alınmış hassas terazide miktar tayini yapılmıştır (Bridson ve Forman, 1999). Daha sonra porselen bir havan içerisine alınarak taneleri tamamen ezilinceye kadar dövülmüştür.

Sulu ekstrenin hazırlanışı: 500 mL'lik bir beher içerisine alınıp üzerine 200 mL distile su mezüre alındıktan sonra yaprakların üzerine konulmuştur. Beherin üstü parafilm ile iyice kapatılmıştır. Beher üzerindeki etikete bilgiler yazılmıştır. Beherin kenarları alüminyum folyo ile sarıldıktan sonra 24 saat oda ısısında inkübasyona bırakılmıştır.

2.2.6.2. Süzme Aşaması

Süzdürme işlemi için uygun büyüklükte bir balon joje alınarak üzerine huni yerleştirilmiş ve filtre kağıdı takılmıştır. Hazırlanan ekstrakt süzildükten sonra rotary evaporatöre yerleştirilmiş ve uçurma işlemine başlanmıştır. Balon jojenin içerisinde hiç sıvı kalmayana kadar 55°C gerçekleştirilmiştir. Yaklaşık olarak işlemlerdeki uçurma süresi 60-120 dakika kadar sürmüştür (Radin, 1966).

500 mL'lik steril bir balon alınıp içerisine huni yerleştirildikten sonra kurutma kağıdı süzgeç haline getirilip huniye yerleştirilmiştir. Sarımsak ekstraktını süzdükten sonra balon rotary evaporatöre yerleştirilmiştir.

Sulu ekstre için; İçerisindeki su tamamen buharlaşana kadar beklenmiştir. Daha sonra balon rotary evaporatörden çıkarılıp üzerine tekrardan 200 mL distile su eklenmiştir. Balonun üst kısmı parafilm ile kapatılmıştır.

Kenarları alüminyum folyo ile sarıldıktan sonra 24 saat oda ısısında inkübasyona bırakılmıştır. 24 saatlik aralıklarla toplamda 6 kez tekrarlanmıştır. Balon rotary evaporatöre takılmış ve balonun içerisinde su kalmayana kadar beklenmiştir.

2.2.6.3. Ekstrenin Miktar Tayini

500 mL'lik balonun içerisinden spatül ile alınan ekstre 50 mL'lik bir behere konulmuştur. Darası alınmış hassas terazide miktarı ölçülmüştür.

2.2.6.4. *Allium sativum* Ekstresinin DMSO İçerisinde Çözülmesi

50 mL'lik bir beherin hassas terazide darası alınıp içerisine 0,2 gram sulu greyfurt ekstresinden spatül ile alınıp konulmuştur. Üzerine 4 ml DMSO eklenip ağzı parafilm ile sıkıca kapatıldıktan sonra manyetik karıştırıcıya yerleştirilmiştir. Ekstrenin tamamen çözünmesi sağlanmıştır.

Steril bir tüp alınıp üzerine etiket hazırlanmıştır. Tüpün üzerine 0.45 µm'lik filtre takılmıştır. Ekstre steril bir şırınga yardımıyla filtreden geçirilmiştir. Daha sonra kullanılmak üzere buzdolabına konulmuştur.

2.2.7. *Helicobacter pylori*'nin Canlandırılması

Öze back alevinde ısıtılmıştır. Petrinin kenar kısmında soğutulduktan sonra -20°C buzdolabından çıkarılan Cag A(-) 104 numaralı *H. pylori* suşunda öze ile alınarak *H. pylori* agara ekimi yapılmıştır. Ekimi yapılan petri uygun büyüklükteki jara yerleştirildikten sonra içerisine 2,5lt'lik gaspak(oxid) konulmuştur. Jarın ağzı iyice kapatıldıktan sonra 37°C ayarlanmış etüve (Termaks) yerleştirilmiş ve 72 saatlik inkübasyona bırakılmıştır.

2.2.8. Ekstraktların Antimikrobik Aktivitelerinin Belirlenmesi

Çalışmanın bu basamağı için *Helicobacter pylori* agarlar kullanılmıştır. Bu besiyerleri +4°C den çıkartılarak oda sıcaklığına geldikten sonra inokülasyon işlemi için kullanılmıştır. Petrilerin üzerine herhangi bir karışıklığa meydan vermemek için numaralandırmalar yapılmış ve çalışma için hazır hale getirilmiştir.

10 mL'lik iki tane falkon tüpü çıkarılarak içlerine otomatik pipetle 1400 µL broth konulmuş ve Cag A(-) 104 numaralı *H. pylori* suşundan eküvyonla alınarak broth içerisine eklenmiştir. Otomatik pipetle birinci falkon tüpündeki karışımdan (broth+*H. pylori*) 14 µL alınarak ikinci falkon tüpüne konulmuş ve hafifçe çalkalanmıştır. Daha sonra Mac Farland ayarı yapılmıştır.

Steril 50 mL'lik bir falkon tüpüne 20 mL etil alkol konulmuş, 5 nolu burgu aparatı (10mm) alkole batırılıp steril edildikten sonra alevden geçirilmiş, petrinin kenar kısmında soğutulduktan sonra negatif ve pozitif kontroller hariç her bir petriye üçer adet kuyucuk açılmıştır. 2.Falkon tüpündeki karışımdan tüm petrilere 100'er µL otomatik pipetle konulmuş ve drigalski ile yayım yapılmıştır. Çalışma sırasında her bir petriye 3 adet kuyu açılarak tek çeşit ekstrat 50 µL düzeyinde ilave edilerek sürdürülmüştür.

Pozitif kontroller için petrilere cımbız ile 15 µg'lık klatromisin disklerinden yerleştirilmiştir. Bu şekilde negatif kontroller için olan petrilere yalnızca 2. Falkondaki broth ve *H. pylori* karışımından eklenmiştir.

Tüm petriler uygun büyüklükte jarlara yerleştirilmiş ve jarların içlerine GasPak (Okzoid) yerleştirildikten sonra 37°C'ye ayarlanmış etüve (Termaks) yerleştirilmiştir. Sonuçlar 72 saatlik inkübasyon süresi sonunda değerlendirilmiştir.

2.2.9. Bakterisidal / Bakteriyostatik Etki Tespiti

Çalışmada kullanılacak bitki ekstraktları ve broth +4°C buzdolabından çıkarılarak oda sıcaklığına geldikten sonra 96'lık plate (Costar)'in A1, B1, C1, D1, E1, F1, G1, H1 kuyucuklarının her birine otomatik pipetle 160µL broth eklenmiştir. Üzerlerine 40'ar µL farklı bitki ekstraktlarından konulmuştur. 1.Kuyucuklar hariç A2 kuyucuğundan başlamak üzere diğer tüm kuyucuklara 100'er µL broth otomatik pipetle konulmuştur. H12 kuyucuğu hariç 1.Kuyucuklardan başlanarak soldan sağa doğru 100'er µL dilue edilmiştir. 10 mL'lik iki tane falkon tüpü çıkarılmıştır. Tüplerin üzerine numara verilmiştir. Her iki tüpün içerisine de otomatik pipetle 1000 µL broth konulmuştur. Cag A(-) 104 numaralı *H. pylori* suşunda eküvonla alınarak broth içerisine eklenmiştir. Otomatik pipetle birinci falkon tüpündeki karışımdan 20 µL alınarak ikinci falkon tüpüne konulmuştur. Hafifçe çalkalanmıştır. Daha sonra Mac Farland ayarı yapılmıştır. İkinci falkondaki karışımdan tüm kuyucuklara 4'er µL eklenmiştir. Plağın kapağı kapatılmıştır. Plate jarın içerisine yerleştirilmiştir. İçerisine Gas Pak yerleştirilmiştir. Jarın kapağı iyice kapatıldıktan sonra 37°C ayarlanmış etüve yerleştirilerek 24 saatlik inkübasyona bırakılmıştır.

Çizelge 2.2. Minimum Bakterisidal Konsantrasyon

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	-	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
B	-	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
C	-	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
D	-	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
E	-	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
F	-	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
G	-	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
H	-	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*

- 160µL broth, 40 µL ekstrakt, 4 µL *H. pylori*

* 100 µL broth, 4 µL *H. pylori*

2.2.10. Minumum Bakterisidal Konsantrasyonu (MBK)

24 saatlik inkübasyondan sonra jarın kapağı açılarak plate içerisinden çıkarılmıştır. İçerisine *H. pylori* Agar dökülmüş olan dört tane petri kabı çıkarılarak üzerlerine hangi bitkilerin konulacağı belirtilmiştir. Her bir petri dört bölgeye bölünmüştür. Her bir bölge de 12 eşit parçaya ayrılmıştır. Mikroplaktaki karışımlar uygun şekilde sıra numarasına göre her birinden her parçaya otomatik pipetle 3 µL düzeylerde konarak besiyerinin kapağı kapatılıp jarın içerisine yerleştirildikten sonra Gas Pak ile mikroaerofik şart oluşturularak 37°C ayarlanmış etüvde 72 saatlik inkübasyona bırakılmıştır.

2.3. Ekstre+Antibiyotik Kombinasyonunun *H. pylori* Gelişimi Üzerine Etkisi

2.3.1 *Helicobacter pylori*'nin Aktifleştirilmesi

Öze beg alevinde kızıl dereceye kadar ısıtılmıştır. Petrinin kenar kısmında soğutulduktan sonra -20°C'de tutulan Cag A(-) 5463 numaralı *H. pylori* suşu alınarak

oda sıcaklığına geldikten sonra *H. pylori* agara ekimi yapılmıştır. Ekimi yapılan petri uygun büyüklükteki jara yerleştirildikten sonra içerisine 2,5lt'lik gaspak(oxid) konulmuştur. Jarın ağzı iyice kapatıldıktan sonra 37°C ayarlanmış etüve (Termaks) yerleştirilmiş ve 72 saatlik inkübasyona bırakılmıştır.

2.3.2. *Citrus sinensis*'in Sinerjik Etkisi

Citrus sinensis ekstraktı ve broth +4°C buzdolabından çıkarıldı. 96'lık iki adet plate (Costar) alınmıştır. Birinci plate'in A1 kuyucuğuna 200 µL ekstraktan konulmuştur. B1, C1, D1, E1, F1, G1, H1 ve ikinci plate'in de A1, B1, C1, D1, E1, F1, G1, H1 kuyucuklarının her birine otomatik pipetle 200 µL klatromisin eklenmiştir.

İki plate'in de birinci kuyucukları hariç diğer tüm kuyucuklara 100'er µL broth otomatik pipetle eklenmiştir. Her iki plate için de (2. plate'in H12 kuyucuğu hariç) 1. Kuyucuktan 12. Kuyucuğa kadar soldan sağa doğru dilüsyon yapılmıştır. Birinci plate'teki C1 kuyucuğundan C12 kuyucuğuna kadar otomatik pipetle 100 µL *Citrus sinensis* eklenmiştir. C kuyucuğundan başlanarak yukarıdan aşağıya doğru otomatik pipetle 100 µL dilüsyon yapılmıştır (2. plate H12 hariç).

20 mL'lik iki tane falkon tüpü çıkarılmıştır. Tüplerin üzerine numara verilmiştir. Her iki tüpün içerisine de otomatik pipetle 4000 µL broth konulmuştur. Cag A(-) 104 numaralı *H. pylori* suşunda eküvonla alınarak broth içerisine eklenmiştir. Otomatik pipetle birinci falkon tüpündeki karışımdan 40 µL alınarak ikinci falkon tüpüne konularak hafifçe çalkalanmıştır. Mac Farland ayarı yapılmıştır.

İkinci falkondaki karışımdan her iki plate'teki tüm kuyucuklara 4'er µL eklenmiştir. Plate'in kapağı kapatılmıştır. Plate jarın içerisine yerleştirilmiştir. İçerisine Gas Pak yerleştirilmiştir. Jarın kapağı iyice kapatıldıktan sonra 37°C ayarlanmış etüve yerleştirilmiştir. 24 saatlik inkübasyona bırakılmıştır.

2.3.3. *Citrus sinensis* için Minimum Bakterisidal Konsantrasyonu

24 saatlik inkübasyonu takiben jarın kapağı açılmıştır. Plate içerisinden çıkarılmıştır. Dolaptan içerisine *H. pylori* Agar dökülmüş olan dört tane petri kabı çıkarılmıştır. Üzerlerine cam yazar kalemle içerisine hangi bitkilerin konulacağı yazılmıştır. Her bir

petri dört bölgeye bölünmüştür. Her bir bölge de 12 eşit parçaya ayrılmıştır. Plaktaki karışımdan sıra numarasına göre her birinden parça başına otomatik pipetle 3 µL konulup besiyerinin kapağı kapatılıp jarın içerisine yerleştirildikten sonra Gas Pak yerleştirilmiştir. 37°C ayarlanmış etüve 72 saatlik inkübasyona bırakılmıştır.

3. BULGULAR ve TARTIŞMA

Günümüzde alternatif sağlık ürünlerine olan talep gün geçtikçe artmakta ve bu noktada çok farklı piyasa ürünleri ortaya çıkmaktadır. Bu ürünleri sağlık sektöründe son derece bilinçli bir şekilde kullanılmaları ve varsa yan etkilerinin bertaraf edilmeleri bilimsel ahlakta üzerimize düşen roldür.

Çalışmamızın temelini oluşturan *H. pylori* peptik ülser kaynaklı önemli bir bakteriyel patojendir. Tedavisi amacıyla amoksisilin, klaritromisin ve ranitidin bizmut sitrat ya da proton pompa inhibitöründen oluşan üçlü tedavi yöntemleri kullanılmaktadır. Ancak birçok antibiyotik invitro koşullarda bakteriyi en küçük miktarlarda (Minimal Inhibitor Concentration=MIC) baskıladığı halde tedavide tam bir eradikasyon sağlanamamaktadır. Bunun nedenlerini şöyle sıralayabiliriz.

Antibiyotiklerin mukozada yeterli yoğunlukta toplanmalarını ve sekrete edilmemeleri. Değişik pH'larda özellikle asidik ortamda stabiliteilerinin sağlanamaması. Midenin boşalması ve ilaçların mide de kalış sürelerinin azalması. Mukusun lümen ve epitel tarafındaki pH farklılıkları. Bakterinin mukusun derin tabakalarına yerleşmesi. Bakterinin katalaz aktivitesi ile fagositozdan kurtulması. *H. pylori*'nin fizik ve kimyasal streslere morfoloji, metabolizma, üreme özelliklerini değiştirmek suretiyle kokkoid forma dönüşerek yanıt vermesi. Rezistans suşlarının bulunması (Palabıyıkoglu ve ark, 1997).

Araştırmamız sırasında çalışılan bitki materyalleri wild-type ve pestisit içermeyen ortamlardan izole edilmiştir. Çalışmanın ikinci ayağını oluşturan bakteriyolojik çalışmalar *H. pylori* üzerinde yapılmıştır. Mikrobiyal anlamda çalışılması zor bir bakteri olan *H. pylori*'nin optimizasyonu sağlanarak çalışmaya uygun hale getirilmiştir.

Çalışmanın üçüncü basamağında hazırlanan bitki ekstraktları ve bakteri aseptik tekniklere uygun olarak bir araya getirilmiş ve bu tarz kompleks bir ortamda etkileşimleri incelenmiştir.

3.1. Ekstre Değerlendirmeleri

Bu tarz çalışmalara yön verebilmek için çalışılan bitki materyallerinin güvenilir yerlerden ve özellikle işlem görmemiş gübresiz (gerek organik gerekse kimyasal) ve pestisid içermeyen ortamlardan tedarik edilmiş olması gerekir. Aksi halde bitki materyalinin bakterinin gelişimi üzerine değil pestisidin bakteri gelişimini etkilediği gözlenerek yanlış sonuçlar elde edilebilir. Bunu egale edebilmek için tedarik ettiğimiz tüm bitkiler bildiğimiz güvenilir ortamlardan temin edilmiştir. Benzer şekilde bu tarz çalışmalarda kullanılan ekstraksiyon solüsyonları çok çeşitli olmakla birlikte çalışmaya yön verebilmek için en iyi sonuç alabileceğimizi düşündüğümüz solüsyonlarla çalışmaya devam edilmiştir.

Bu tarz çalışmalarda %1 den az ekstrat değeri kabul görmemektedir (Odebeyi, 1985). Çalışmanın gidişatına yön verebilmek için öncelikli olarak yüzde verim tespiti yapılmış bu amaçla elimizdeki toplam bitkisel ağırlığın ekstraksiyon aşamasını takiben elimizdeki total ağırlığa oranı şeklinde bir değerlendirme yapılmış ve bulunan miktar 100 gr örnek düzeyinde hesaplanmıştır.

Yapılan değerlendirmelerde çalışılan bitkilerden *L. nobilis* yapraklarından sırasıyla %4,09 ve %5,04 verimle 1,963 gr hekzan ekstresi ve 2,420 gr aseton ekstresi elde edildi. Sonuçlar Çizelge 3.1’de verilmiştir.

Çizelge 3.1. *Laurus nobilis* verimlilik değeri

Solvent	Toplam yaprak ağırlığı (gr)	Ekstre miktarı (gr)	%
Hekzan	47,926	1,963	4,09
Aseton	47,926	2,420	5,04

C. paradisi bitkisinin 100 gr kuru yapraklarından 1,78 gr aseton ekstresi elde edilirken, aynı kuru yaprak ağırlığından ise 2,39 gr hekzan ekstresi elde edilmiş ve Çizelge 3.2.’de belirtilmiştir.

Çizelge 3.2. *Citrus paradisi* verimlilik değeri

Solvent	Toplam yaprak ağırlığı (gr)	Ekstre miktarı (gr)	%
Hekzan	100	2,39	2,39
Aseton	100	1,78	1,78

C. limon bitkisinin 48,463 gr kuru yaprak ağırlığından 0,574 gr aseton ekstresi elde edilirken, aynı kuru yaprak ağırlığından ise 0,861 gr hekzan ekstresi elde edilmiş ve Çizelge 3.3'te belirtilmiştir.

Çizelge 3.3. *Citrus limon* verimlilik değeri

Solvent	Toplam yaprak ağırlığı (gr)	Ekstre miktarı (gr)	%
Hekzan	48,463	0,861	1,78
Aseton	48,463	0.574	1,18

C. unshiu bitkisinin ekstraktından asetonlu solüsyonda 24,675 gr kuru yaprak kütlelerinden 0,536 gr aseton ekstresi elde edilirken, aynı kuru yaprak kütlelerinden 0,592 gr hekzan ekstresi elde edilmiş ve Çizelge 3.4'te belirtilmiştir.

Çizelge 3.4. *Citrus unshiu* verimlilik değeri

Solvent	Toplam yaprak ağırlığı (gr)	Ekstre miktarı (gr)	%
Hekzan	24.675	0.592	2.39
Aseton	24.675	0.536	2.17

C. sinensis bitkisinin 35,639 gr kuru yapraklarından 0,620 gr aseton ekstresi elde edilirken, aynı kuru yaprak kütlelerinden 0,516 gr hekzan ekstresi elde edilmiş ve Çizelge 3.5.'te belirtilmiştir.

Çizelge 3.5. *Citrus sinensis* verimlilik değeri

Solvent	Toplam yaprak ağırlığı (gr)	Ekstre miktarı (gr)	%
Hekzan	35,639	0.516	1,44
Aseton	35,639	0.620	1,73

A. sativum bitkisinin 20 gr meyveleri saf su ile ekstrakte edildiğinde 7,317 gr ekstre elde edilmiştir ve sonuçlar Çizelge 3.6.'da özetlenmiştir.

Çizelge 3.6. *A. sativum* verimlilik değeri

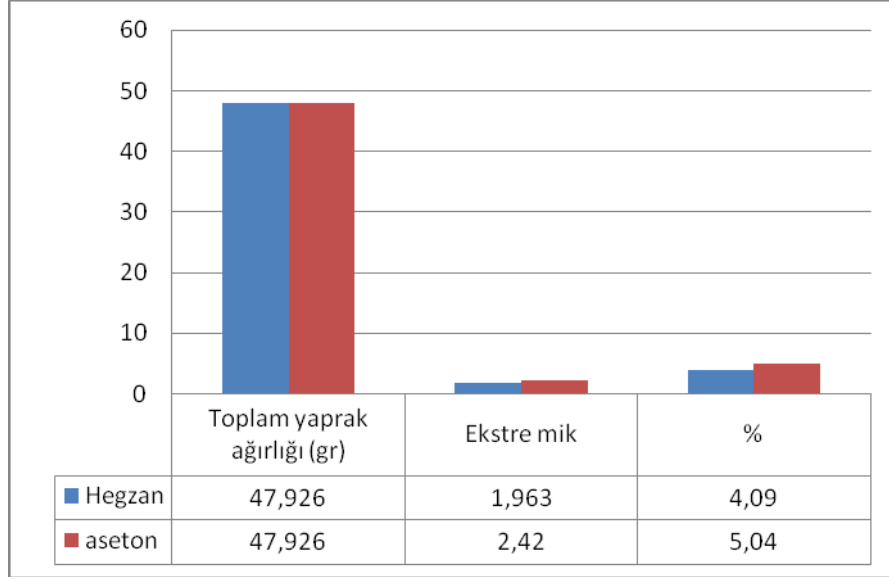
Solvent	Toplam meyve ağırlığı (gr)	Ekstre miktarı (gr)	%
Su	20	7,317	36,58

Hazırlanan ekstratlar için kullanılacak solüsyonlar eldeki stoklarla sınırlı olduğundan bu noktada hekzan ve aseton ekstratları kullanılarak çalışmaya yön verilmiştir.

Etil alkolle de ekstrat hazırlanmış ve benzer ekstre miktarları gözlenmiştir. Lakin her örnek için etanol ekstratı denenmediği için bu verilere çalışmada yer verilmemiştir.

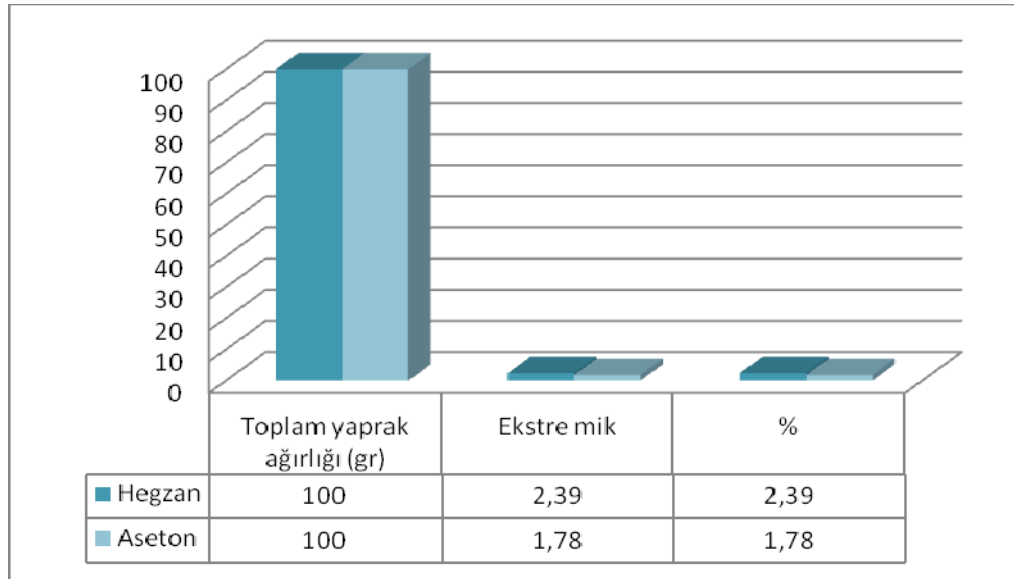
3.2. Ekstrelerin Verimlilik Değerlendirmeleri

Kullanılan bitki materyallerindeki aseton ve hekzan ekstratlarının % verimleri incelendiğinde, en yüksek verimlerin %5,04 ile *L. nobilis*' in aseton ekstratı ve %4,09 ile hekzan ekstratlarının olduğu gözlenmiştir (Şekil 3.1).



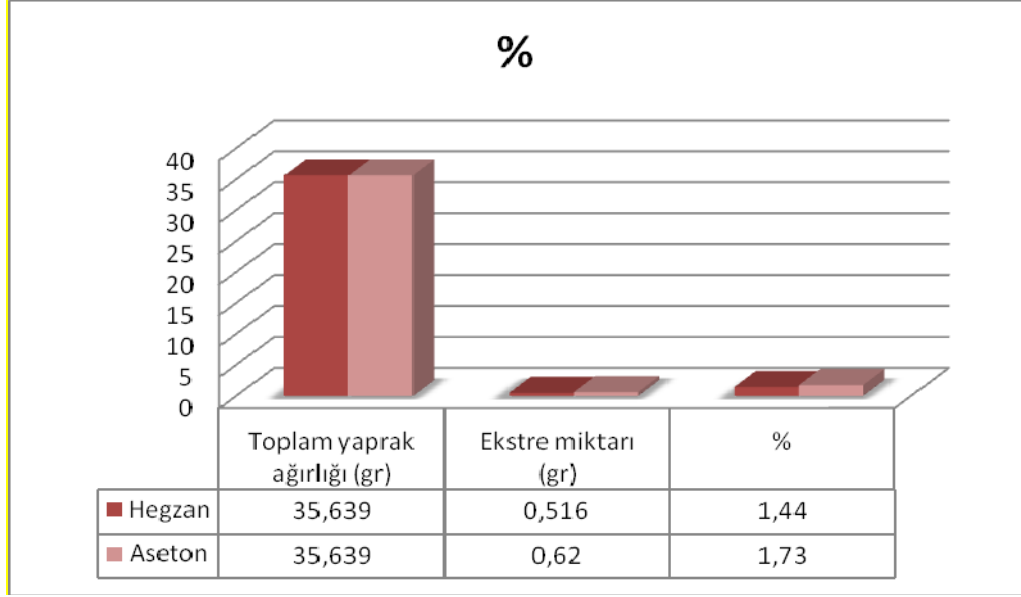
Şekil 3.1. *L. nobilis* için verimlilik, kuru ağırlık ve ekstre değeri

C. paradisi bitkisinin aseton ekstresi için verim %1,78, hekzan ekstresi için verim %2,39 olarak belirlenmiş ve Şekil 3.2’de belirtilmiştir.



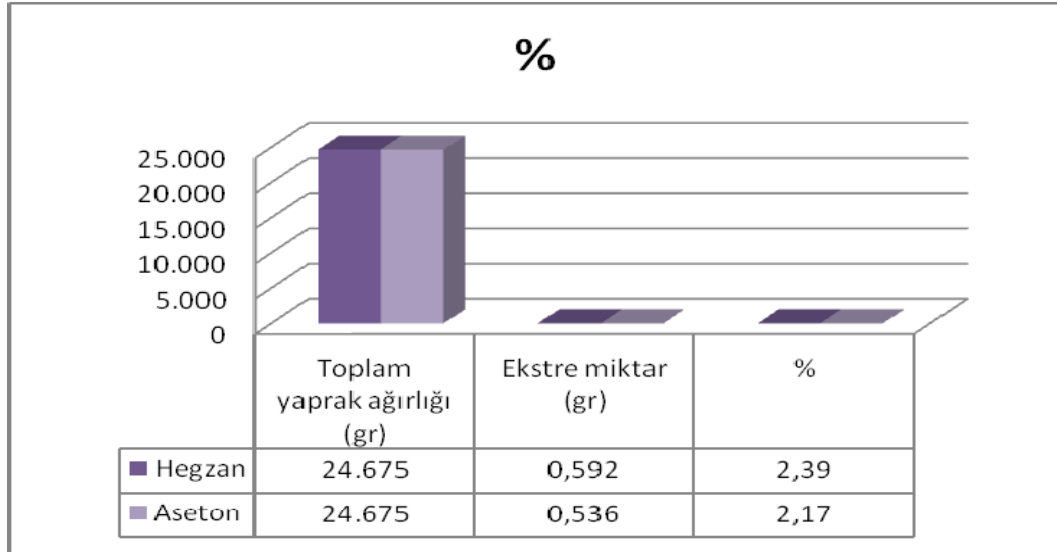
Şekil 3.2. *Citrus paradisi* için verimlilik, kuru ağırlık ve ekstre değeri

C. sinensis bitkisinin aseton ekstresi için verim %1,73 iken, hekzanlı ekstresi için %1,44 olarak belirlenmiş ve Şekil 3.3’te belirtilmiştir.



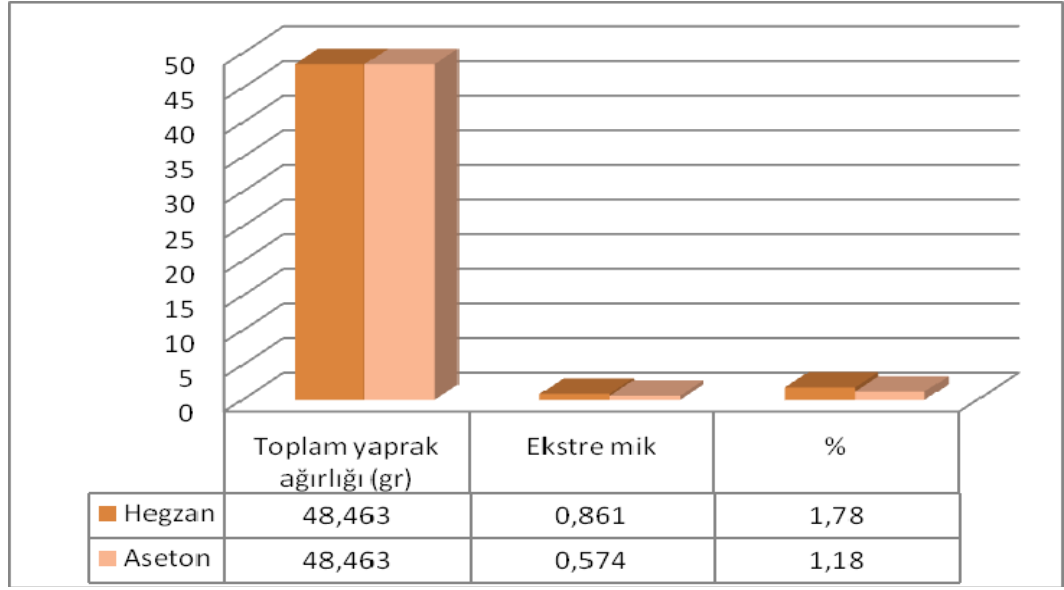
Şekil 3.3. *Citrus sinensis* için verimlilik, kuru ağırlık ve ekstre değeri

C. unshiu bitkisinde aseton ekstresi için %2,17 verim belirlenirken, hekzan ekstresi için %2,39 verim elde edilmiş ve Şekil 3.4.'te belirtilmiştir.



Şekil 3.4. *C. unshiu* için verimlilik, kuru ağırlık ve ekstre değeri

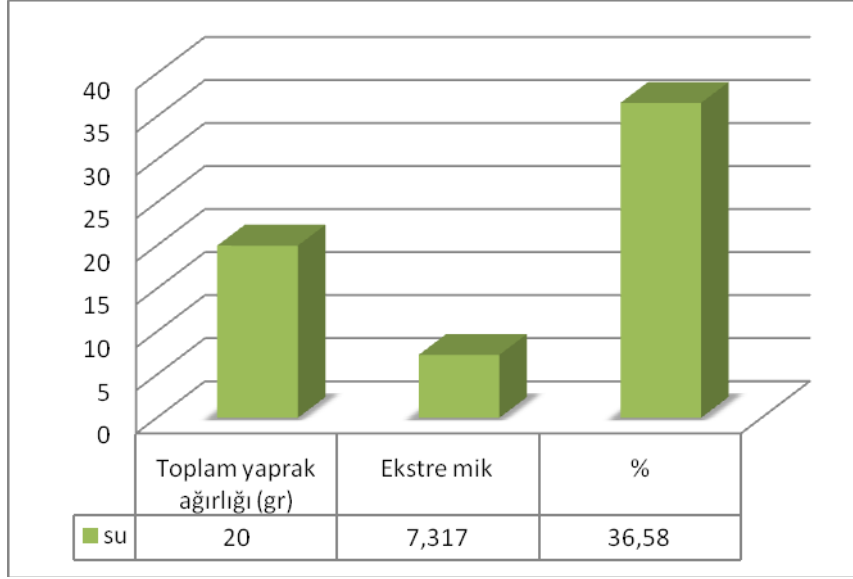
C. limon bitkisinin asetonlu ekstresinde %1,18 verim elde edilirken, hekzan ekstresi için %1,78 verim elde edilmiş ve Şekil 3.5.'te belirtilmiştir.



Şekil 3.5. *Citrus limon* için verimlilik, kuru ağırlık ve ekstre değeri

Yapılan değerlendirmelerde tüm bitki türleri için aseton ekstrelerinin yaklaşık ortalama değeri %2,38 şeklinde iken hekzan ekstrelerinin miktarlarının da ortalama değeri %2,41 şeklinde olduğu gözlenmiş ve benzer çalışmalarda sonuçlarla paralellik taşıdığı tespit edilmiştir (Odebiyi, 1985).

A. sativum çalışmamızda yaprak kaynaklı çalışılmayan tek örnektir. Kök bitkisi olması sebebiyle su hassasiyeti fazla olduğu için ayrı ele alınmış ve ekstraksiyon çalışmaları sulu ortamlarda denenmiştir. Bunun nedeni saf suyun *A. sativumu* daha kolaylıkla bağlaması ve gözlenen neticelerin hekzan ve aseton gibi nanopolar solventlerde yapılan değerlendirmelerden daha net olmasıdır. Bu örnek için sulu solüsyonda %36,58 şeklinde bir verim elde edilmiş ve Şekil 3.6.'da belirtilmiştir.



Şekil 3.6. *Allium sativum* için verimlilik, kuru ağırlık ve ekstre değeri

Çalışmanın ikinci basamağı olan bakteriyel aşamada hazırlanan ekstratlar uygun besi ortamlarında açılan oluklar içerisine her bir petride üç oluk şeklinde ve farklı konsantrasyonlarda denenmiş ve ekstratın jele difüze olması ve bakterinin ekstrat bulunan ortamlarda gelişebilme aralığı şeklinde tespit edilmiştir.

3.3. Antimikrobiyal Sonuçları

DMSO içerisinde çözülmüş aseton ve hekzan ekstratlarının antimikrobiyal aktivite testlerine ait sonuçları Çizelge 3.7 ve Çizelge 3.8’de verilmiştir. Antimikrobiyal aktivite çalışmaları inhibisyon zonunun görüldüğü konsantrasyona kadar denemiştir.

Çizelge 3.7. Asetonlu ekstrelerin antimikrobiyal sonuçları

Ekstreler	Konsantrasyonlar (mg/mL) (zon çapı: mm)			
	50	100	150	200
<i>L.nobilis</i>	*	*	*	22/24/26
<i>C.paradisi</i>	*	*	*	28/29/30
<i>C.sinensis</i>	26/27/28			
<i>C.unshiu</i>	25/26/28			
<i>C.limon</i>	*	28/29/33		

*: Herhangi bir zon görülmemiştir.

50 mg/mL düzeyde ekstrat ihtiva eden örneklere ilişkin inhibisyon zonu çapları Çizelge 3.8’de gösterilmiştir. 100-150-200 mg/mL konsantrasyonlarda herhangi bir zon tespit edilmemiştir.

Çizelge 3.8. Hekzan ekstrelerinin antimikrobiyal sonuçları

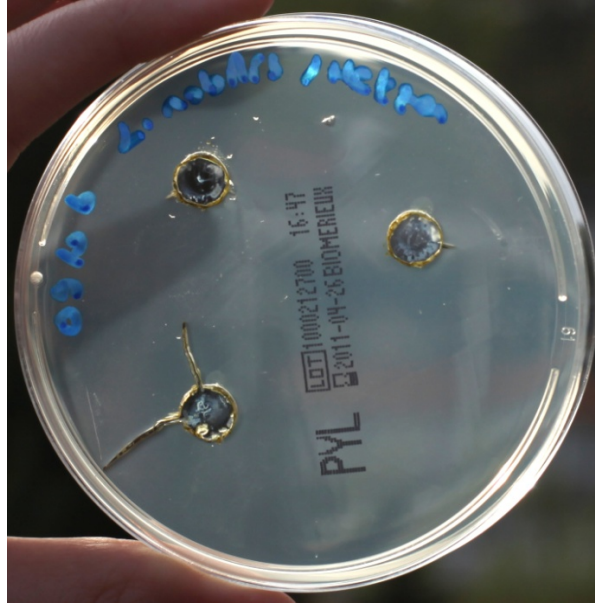
Ekstreler	Zon Çapı (mm)
<i>L.nobilis</i>	*
<i>C.paradisi</i>	*
<i>C.sinensis</i>	23/25/26
<i>C.unshiu</i>	25/22/23
<i>C.limon</i>	*

*: Herhangi bir zon göstermemiştir

Laurus nobilis’in 200 mg/mL düzeyindeki asetonlu ekstresinde *Helicobacter pylori* agarda ortalama 25 mm çapında zon tespit edilmiş, aynı örneğin 50/100/150 mg/mL lik aseton ve hekzan ekstrelerinin hiçbir konsantrasyonunda herhangi bir antibakteriyel etki tespit edilememiş ve bu durum Resim 3.1 ve 3.2’de belirtilmiştir.



Resim 3.1. *Laurus nobilis* aseton ekstresi *H. pylori* Agar ve Müller hinton agar sonuçları



Resim 3.2. *Laurus nobilis* hekzan ekstresi *H. pylori* Agar sonuçları

Benzer şekilde *Citrus paradisi* aseton ekstresi *Helicobacter pylori* agarda 200 mg/mL konsantrasyonda ortalama 29 mm çapında zon ile antibakteriyel etki gösterirken, hekzan ekstresi herhangi bir etki göstermemiş ve bu durum Resim 3.3. ve 3.4'te belirtilmiştir.

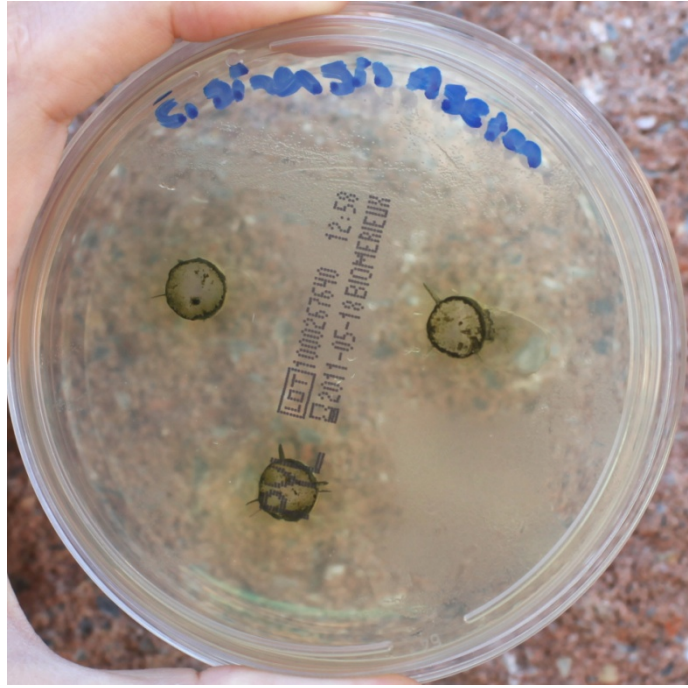


Resim 3.3. *Citrus paradisi* aseton ekstresi *H. pylori* Agar sonuçları



Resim 3.4. *C. paradisi* hekzan ekstresi *H. pylori* Agar sonuçları

Citrus sinensis 50 mg/mL aseton ekstresinde *Helicobacter pylori* agarda ortalama 27 mm çapında zon verirken, hekzan ekstresi aynı agarda 25 mm çapında zon göstermiş ve bu durum Resim 3.5. ve 3.6.'da belirtilmiştir.



Resim 3.5. *Citrus sinensis* aseton ekstresi *H. pylori* Agar sonuçları



Resim 3.6. *C. sinensis* hekzan ekstresi *H. pylori* Agar sonuçları

Citrus unshiu 50 mg/mL aseton ekstresi *Helicobacter pylori* agarda ortalama 27 mm çapında zon verirken, hekzan ekstresi aynı agarda 25 mm çapında zon göstermiş ve bu durum Resim 3.7. ve 3.8’de belirtilmiştir.



Resim 3.7. *Citrus unshiu* aseton ekstresi *H. pylori* Agar sonuçları

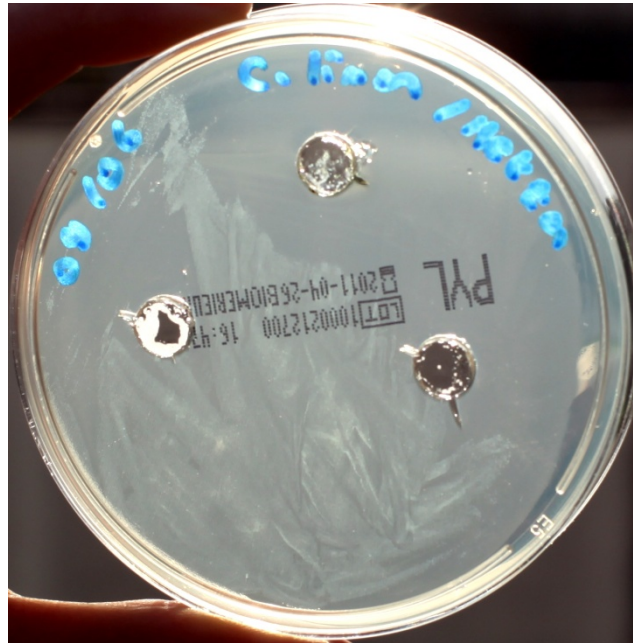


Resim 3.8. *C.unshiu* hekzan ekstresi *H. pylori* Agar sonuçları

Citrus limon 100 mg/mL aseton ekstresi *Helicobacter pylori* agarda ortalama 30 mm çapında zon verirken, aynı bitkinin hekzan ekstresi aynı agarda herhangi bir zon göstermemiş ve bu durum Resim 3.9. ve 3.10’da belirtilmiştir.



Resim 3.9. *C. limon* aseton ekstresi *H. pylori* Agar ve Mueller Hinton agar sonuçları



Resim 3.10. *C. limon* hekzan ekstresi *H. pylori* Agar sonuçları

Yapılan çalışma inhibisyon zon çapları yönünden irdelendiğinde çalışma materyallerinden *Laurus nobilis* ve *Citrus paradisi*'de sadece aseton düzeyinde 200 mg/mL düzeylerde tespit yapılmış ve hekzan açısından da benzerlik göstermiştir. Diğer örnekler citrus cinsine ait benzer karakterde yapılanmaya sahiptir. Bu açıdan irdelendiklerinde 50 mg/mL düzeylerde inhibisyon göstermeleri ve benzerlikler taşımaları cinse özel davranış karakterlerinden kaynaklanabileceği sonucunu doğurmaktadır. *Citrus limon* için gözlenen inhibisyon zon düzeyi 100 mg/mL de tespit

edilmiş olsa dahi çalışmanın bu aşamadaki bütünü incelendiğinde 50 mg/mL’lik farkın çok önem arz etmediği söylenebilir. Bunun nedeni *Citrus limon* bitkisine ait yaprak bileşenini oluşturan komponentlerden kaynaklanmaktadır.

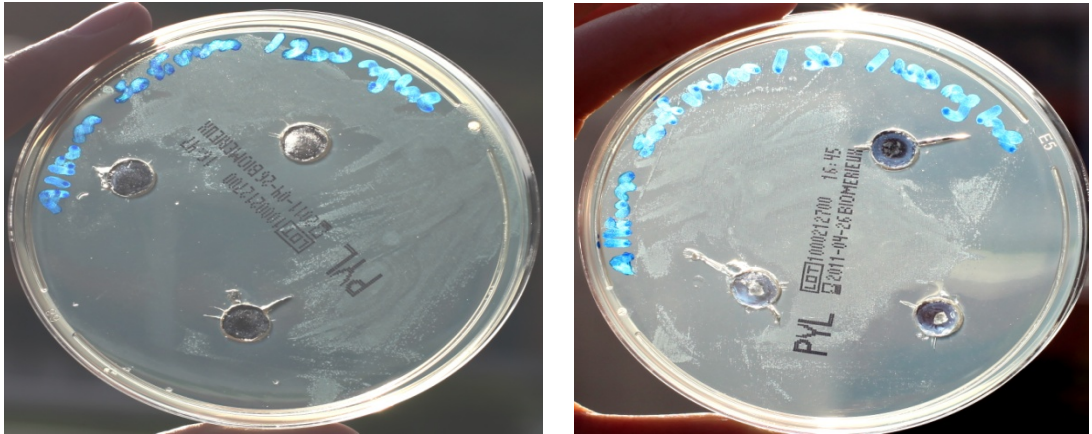
Benzer çalışmalarda, (Hoda ve ark, 1991) *Citrus limon* bitkisindeki limonen ve trans düzeyindeki yağ asit konsantrasyon düzeylerinin diğer citrus cinslerine göre daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir.

Allium sativum ait su ekstresi 100 ve 200 mg/mL konsantrasyonunda *H. pylori* agarda sırasıyla ortalama 13-14 mm’lik ve zonlara rastlanmış 50 mg/mL de herhangi bir inhibisyon zonu gözlenmemiş ve bu durum Çizelge 3.9 ve Resim 3.11.’de belirtilmiştir.

Çizelge 3.9. *Allium sativum* sulu ekstrenin antimikrobiyal sonuçları

	Konsantrasyonlar (mg/mL) (zon çapı: mm)		
	50	100	200
<i>A. sativum</i>	-	12/13/14	13/14/15

-: Herhangi bir zon görülmemiştir



Resim 3.11. *Allium sativum* su ekstresinin antimikrobiyal sonuçları

3.4. Antimikrobiyal (MBC) Değerlendirmeleri

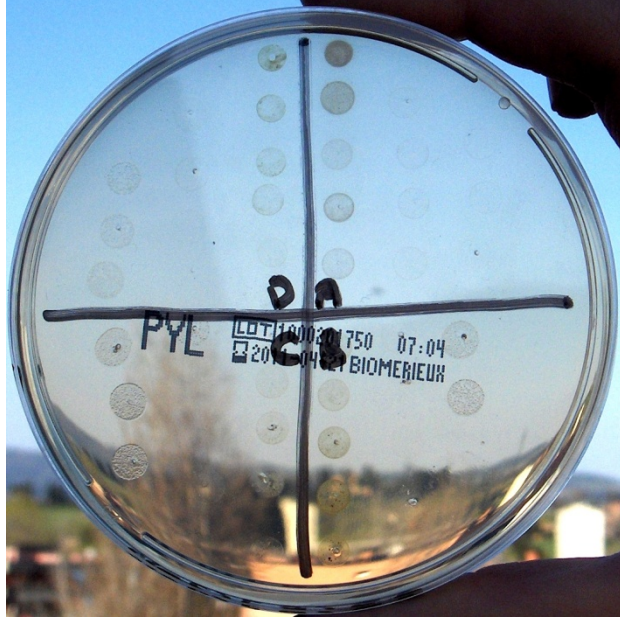
Petri üzerinde farklı konsantrasyonlarda gözlenen zon çaplarından elde edilen sonuçlar neticesinde mevcut etkinin bakteri üzerindeki gelişimi durdurucu ya da bakteriyi tamamen öldürücü nitelikte olup olmadığına yönelik olarak tespitler çalışmanın üçüncü basamağını oluşturmuş ve bu kapsamda yapılan çalışmalar değerlendirilmiştir. Mikro plate üzerinde farklı konsantrasyonlardan bakteri üremesinin gözükmediği ilk plaklardan örnekler mikro pipetle 3 µL düzeyde alınarak petride 4 bölgeye ayrılmış *H. pylori Agar* üzerine her bölgede 12 parçaya ayrılmış kısımlara örnekler inoküle edilmiş ve değerlendirmeler yapılmıştır.

Bunu takiben minimal bakterisidal konsantrasyonlar belirlenmiş ve bu şekilde 12 parçaya ayrılmış bölgelerdeki üreme katsayıları oluşturularak MBC değerleri belirlenmiştir.

C. sinensis için aseton ekstresi minimum bakterisidal konsantrasyon düzeyinde 1:512 oran verirken benzer şekilde hekzan ekstresi minimum bakterisidal konsantrasyon düzeyinde aynı oranı vermiştir. Bu durum Çizelge 3.10 ve 3.11’de ve sırasıyla Resim 3.12 ve 3.13’te belirtilmiştir.

Çizelge 3.10. Bitki ekstralarının (Asetonlu) MBC sonuçları

	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	1:512	1:1024	1:2048	1:4096	≤1:4096
<i>C. sinensis</i>								X				
<i>C. unshiu</i>								X				
<i>C. limon</i>										X		
<i>C. paradisi</i>									X			
<i>L. nobilis</i>												X



A) *L.nobilis* /aseton B) *C.limon* /aseton C) *C.sinensis*/aseton D) *C.paradisi*/aseton

Resim 3.12. Bitki ekstrlerinin MBC sonuçları (aseton)

Çizelge 3.11. Hekzan ekstrlerinin MBC sonuçları

	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	1:512	1:1024	1:2048	1:4096	≤1:4096
<i>C. unshiu</i>								X				
<i>C. sinensis</i>								X				
<i>C. limon</i>									X			
<i>L. nobilis</i>										X		
<i>C. paradisi</i>											X	



E)*C.unshiu*/aseton F)*C.sinensis*/hekzan G)*C.paradisi*/hekzan H)*C.unshiu*/hekzan

Resim 3.13. Bitki ekstralarının (hekzan ve aseton) MBC sonuçları

C. unshiu aseton ekstresi minimum bakterisidal konsantrasyon düzeyinde 1:1024 oran verirken hekzan ekstresi minimum bakterisidal konsantrasyon 1:512 düzeyinde tespit edilmiştir. Bu durum Çizelge 3.10 ve 3.11’de ve sırasıyla Resim 3.12 ve 3.13’te belirtilmiştir.

C. limon aseton ekstresi minimum bakterisidal konsantrasyon düzeyinde 1:2048 oran verirken hekzan ekstresi ise minimum bakterisidal konsantrasyon düzeyinde 1:1024 oranı vermiştir. Bu durum Çizelge 3.10 ve 3.11’de ve sırasıyla Resim 3.12 ve 3.13’te belirtilmiştir.

C. paradisi aseton ekstresi minimum bakterisidal konsantrasyon düzeyinde 1:1024 oran verirken hekzan ekstresi ise minimum bakterisidal konsantrasyon düzeyinde $\geq 1:4096$ oranı vermiştir. Bu durum Çizelge 3.10 ve 3.11’de ve sırasıyla Resim 3.12 ve 3.13’te belirtilmiştir.

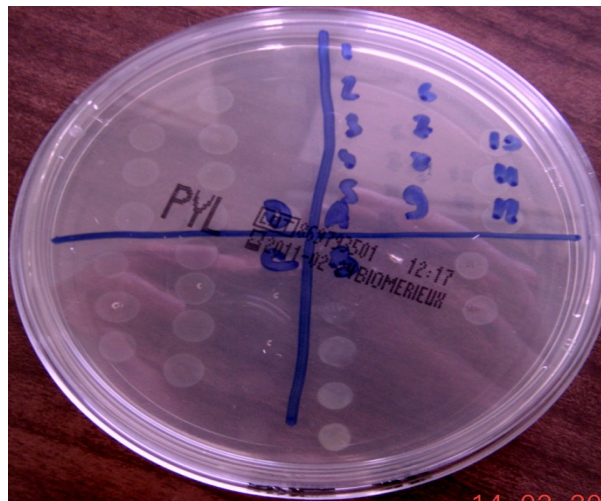
L. nobilis aseton ekstresi minimum bakterisidal konsantrasyon düzeyinde $\geq 1:4096$ oran verirken hekzan ekstresi ise minimum bakterisidal konsantrasyon düzeyinde 1:2048 oranı vermiştir. Bu durum Çizelge 3.10 ve 3.11’de ve sırasıyla Resim 3.12 ve 3.13’te belirtilmiştir.

3.5. *A. sativum* Ekstraktının (Distile su) MBC sonuçları

A. sativum sulu ekstresi minimum bakterisidal konsantrasyon 200 mg/mL düzeyde 1:32 verirken 100 mg/mL konsantrasyonda 1:64 değer vermiştir. Bu durum Çizelge 3.12’de ve Resim 3.14’te belirtilmiştir.

Çizelge 3.12. *A. sativum* ekstresinin (distile su) MBC sonuçları

	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	1:512	1:1024	1:2048	1:4096	$\leq 1:4096$
<i>A. sativum</i> (100 mg/mL)					x							
<i>A. sativum</i> (200 mg/mL)				x								



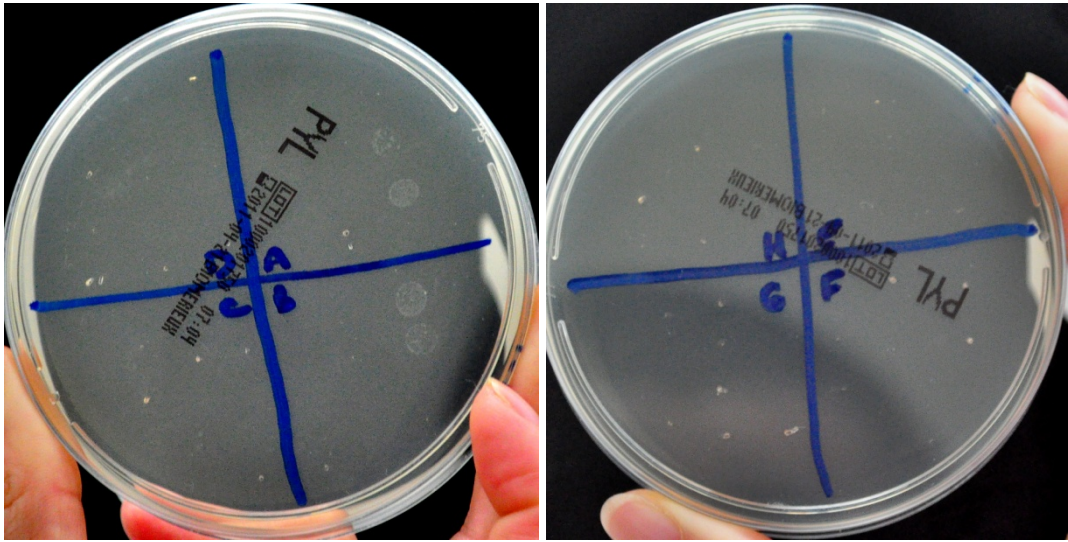
A) *C. limon* / hekzan B) *L. nobilis*/hekzan C) *A. sativum* /su (100 mg/mL) D) *A. sativum* /su (200 mg/mL)

Resim 3.14. *A. sativum* ekstrelerinin (hekzan ve su) MBC sonuçları

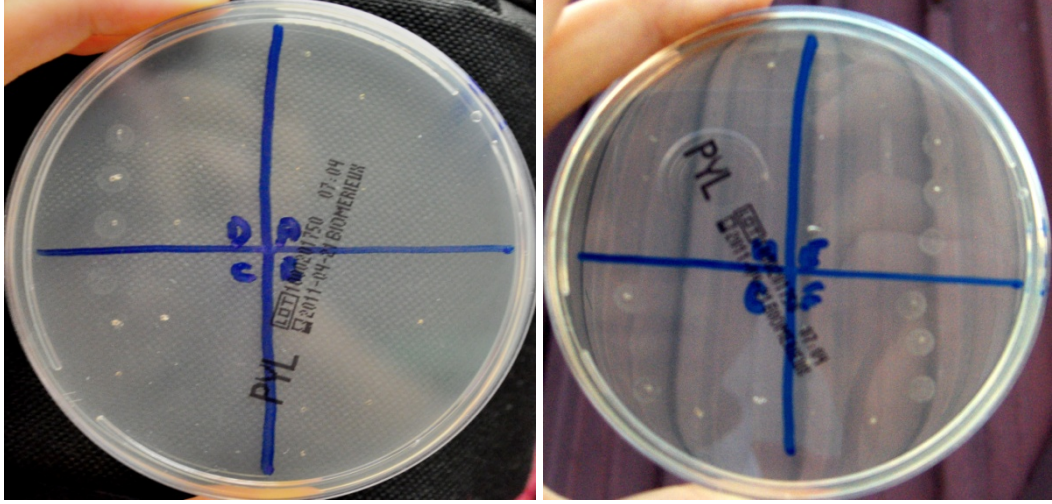
Total değerlendirmede çalışılan örneklerden *A. sativum*da en yüksek MBC değeri gözlenmiştir ve bu durum izelge 3.12’de belirtilmiştir. Değerlendirme zc solüsyonlar nebzinde yapıldığında aseton düzeyinde *Citrus unshiu* ve *Citrus sinensis* için benzerlik arz etmektedir. *Laurus nobilis* ve *Citrus paradisi* de birbirine yakın sonuçlar vermiştir. Hekzan açısından yapılacak değerlendirme de benzer düzeyde sonuç eldesi tespit edilmiştir.

3.6. *Citrus sinensis*’in Sinerjik Etkisi

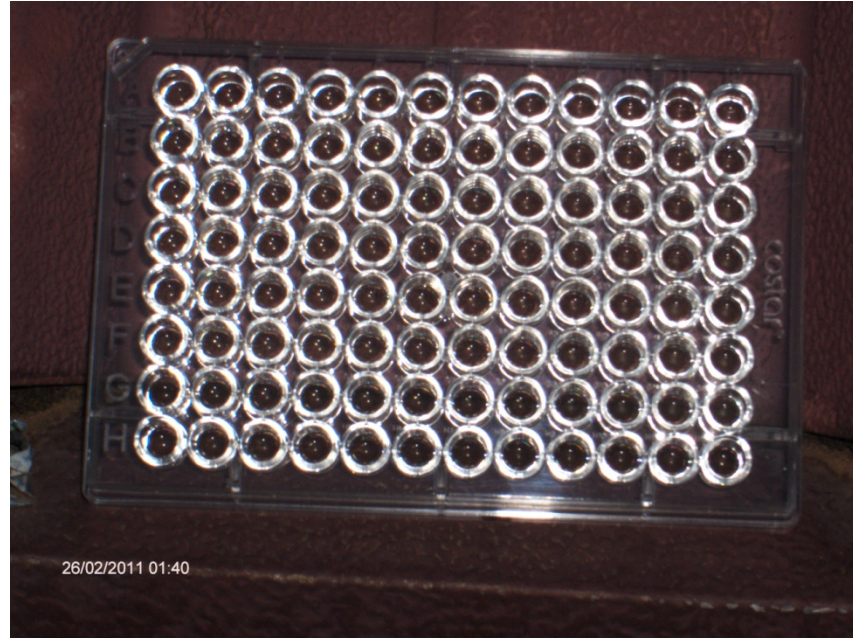
MBC belirlenen *C. sinensis* hekzan ekstresinin *H. pylori* tedavisinde kullanılan klaritromisin antibiyotiği ile sinerjik etkisinin olup olmadığı araştırılmıştır. *C. sinensis* hekzan ekstresinin MBC değeri 1:1280 olarak belirlenmiştir.



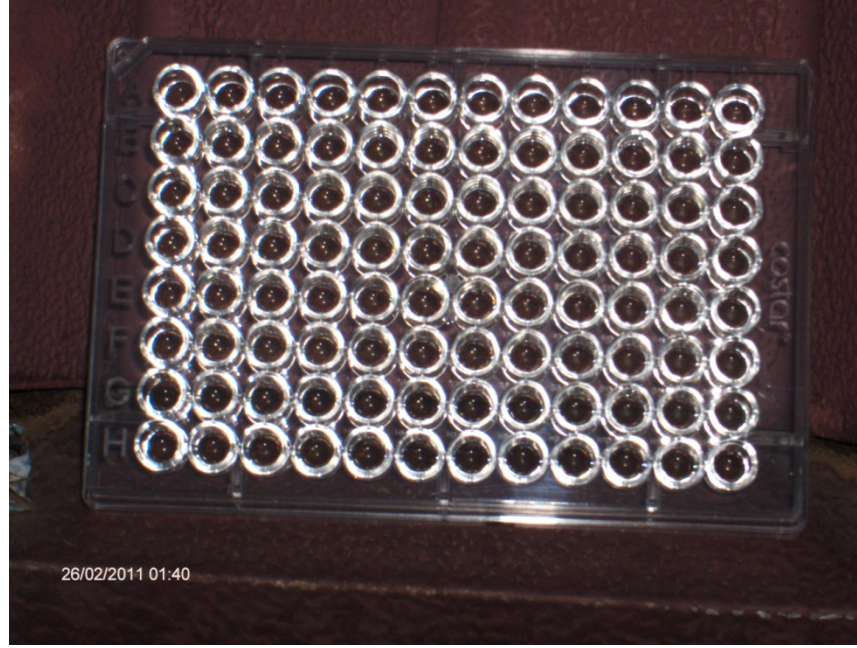
Resim 3.15. Bitki hekzan ekstrelerinin MBC sonuçları (sinerjik etki, plate 1)



Resim 3.16. Bitki hekzan ekstrelerinin MBC sonuçları (sinerjik etki, plate 2)



Resim 3.17. MIC sonuçları (sinerjik etki, plate 1)



Resim 3.18. MIC sonuçları (sinerjik etki, plate 2)

Çizelge 3.13. *C. sinensis* hekzan ekstresinin MIC sonuçları (sinerjik etki)

	1:5	1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	1:1280	1:2560	1:5120	≤1:10240
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A									x			
B										x		
C											x	
D												
E												
F												
G												
H												

4. SONUÇ ve ÖNERİLER

Geçmişten bugüne bitkiler tedavi amacıyla insan sağlığı açısından kullanılmaktadır. Bir bilim insanı olarak bize düşen görev çalışmanın özünü ve günümüz şartlarında kazandığı önemi vurgulayarak çalışma sırasında izlediğimiz yolun açık bir şekilde ifadesi ile ilerde yapılacak uygulamalara ışık tutmasına ön ayak olmaktır. Bu bilinçten hareketle önce ekstraksiyonu yapılan bitkilerin *H.pylori* üzerine antimikrobiyal etkileri'nin tespiti gerçekleştirilmiştir.

Yaptığımız çalışma *H.pylori*'nin mide üzerindeki hasar verici etkilerinin antibiyotikler yerine bitkisel kaynaklı tedavilerle giderilebilmesi amacını taşımaktadır. Her ne kadar tedavi amacıyla antibiyotikler birçok hastalıkta kullanılmakta ise de vücutta bıraktıkları yan etkiler ve uzun süreli kullanımları ile birlikte meydana getirdikleri organ deformasyon ve yetmezlikleri göz önünde bulundurulduğunda bitkisel kaynaklı ürünlerle tedavi yollarına gidilmesi sağlık açısından önem arz etmektedir.

Bilimde öncelik, yenilik getirmek farklı çalışma alanları kazandırmak ve elde edilen bulguların bilimsel faaliyetlerde kullanılabilir olmasıdır.

Bu amaçla çalışmamızda *C. unshiu*, *C. limon*, *C. sinensis*, *C. paradisi*, *L. nobilis*, *A. sativum*'un *H.pylori* üzerine antimikrobiyal etkileri araştırılmış olup önemli bulgular elde edilmiştir. *H. pylori*'yi eradike etmek için çalışmada kullandığımız bitkier ilerde kullanılabilir farklı bitkisel kaynaklar ve beraberinde çıkacak yayınlara ışık niteliği oluşturabilecektir.

KAYNAKLAR

- Abayli, B., and Colakoglu, S., 2005. *Helicobacter pylori* in the etiology of cholesterol gallstones. *Journal of Clinical Gastroenterology* 39(2), 134-137.
- Adams, B.L., Bates, T.C., and Oliver, J.D., 2003. Survival of *Helicobacter pylori* in a natural freshwater environment. *Applied and Environmental Microbiology* 69(12), 7462-7466.
- Aksoy, Z., and Dığrak, M., Bingöl yöresinde toplanan bal ve propolisin antimikrobiyal etkisi üzerinde in vitro araştırmalar. *Fırat Üniversitesi Fen ve Matematik Bilimleri Dergisi.*, 2006. 18 (4), 471-478.
- Akyön, Y., 2004. *Helicobacter pylori*: mikrobiyolojik tanı yöntemleri. *Hacettepe Tıp Dergisi* 35, 182-186.
- Altındış, M., and Özdemir, M., *Helicobacter pylori* and diagnosis. *Kocatepe Tıp Dergisi.* 2003 2(1), 1-12.
- Arif, R., Küpeli, E., and Ergun, F., 2004. The biological activity of *Centaurea l.* species, *G.U. Journal of Science* 17(4), 149-164.
- Ayaz, E., and Alpsoy, H.C., 2004. Sarımsak (*Allium sativum*) ve geleneksel tedavide kullanımı. *Türkiye Parazitoloji Dergisi* 31 (2): 145-149.
- Bağlan, H. P., ve Özden, A., 2003. *Helicobacter pylori*'nin antibiyotiklere direnci. *Güncel Gastroenteroloji.*
- Bazzoli, F., Pozzato, P., and Zagari, M., Fossi, S., Ricciardiello, L., Nicolini, G., Berretti, D., and De Luca, L., 1998. Efficacy of lansaprazole in eradicating *Helicobacter pylori*: a meta-analysis. *Helicobacter* 3(3), 195-201.
- Blaser, M.J., 2005. *Helicobacter pylori* and other gastric *Helicobacter* species. *In: mandell, douglas and bennett's principles of practice of infectious diseases.* Philadelphia: Churchill livingstone 2557-2567.

- Blum, A.L., Talley, N.J., and O'Morain, C., 1998. Lack of effect of treating *Helicobacter pylori* infection in patients with nonulcer dyspepsia. *English Journal of Medicine* 339, 1875-81.
- Bridson, D., Forman, L., 1999. *The Herbarium Handbook*. Royal Botanic Gardens 3, 4.
- Brown, C.J., Huang, G., Zitlin, V.H. and Jiang, X., 2009. Antibacterial effects on *Helicobacter pylori*. *Applied and Environmental Microbiology* 75(3), 848-852.
- Castillo- Juarez, I., Gonzalez, V., Jaime- Aquilar, H., Martinez, G., Linares, E., Bye, R., and Romero, I., 2009. Anti-*Helicobacter pylori* activity of plants used in mexican traditional medicine for gastrointestinal disorders. *Journal of Ethnopharmacology* 122(2), 402-405.
- Cellini, L., Campli, E.D., Masulli, M., Bartolomeo, S.D., and Allocati, N., 1996. Inhibition of *Helicobacter pylori* by garlic extract (*Allium sativum*). *FEMS Immunology and Medical Microbiology* 13(4), 273-277.
- Chiba, N., Rao, B.V., Rademaker , J.W., and Hunt, R.H., 1992. Meta-analysis of the efficacy of antibiotic therapy in eradicating *Helicobacter pylori*., *Journal of Gastroenterology* 87(12), 1716-1727.
- Graham, D.Y., 2000. Therapy of *Helicobacter pylori*: Current status and issues. *Gastroenterology* 118, 2-8.
- Debets-Ossenkopp, Y.J., Sparrius, M., Kusters, J.G., Kolkman, J. J., Vanderbroucke-Grauls, C.M., 1996. Mechanism of clarithromycin resistance in clinical isolates of *Helicobacter plyori*. *FEMS Microbiology Letters* 1(42), 37-42.
- Degnan, A.J., Sonzogni, W.C., and Standridge, J.H., 2003. Development of a plating medium for selection of *Helicobacter pylori* from water samples. *Applied and Enviromental Microbiyology* 69(5), 2914–2918.
- Dunn, B.E., Cohen, B., and Blaser, M.J., 1997. *Helicobacter pylori*. *Clinical Microbiological Reviews* 10, 720-741.

- Dworkin, M., Falkow, S., Rosenberg, E., Schleifer, K.H., Stackebrandt, E., 2006. The Prokaryotes a handbook on the biology of bacteria. Proteobacteria: Delta and Epsilon Subclasses 3(7), 139-170.
- Eslick, G.D., 2006. *Helicobacter pylori* infection causes gastric cancer? A review of the epidemiological, meta-analytic, and experimental evidence. World Journal of Gastroenterology 12, 2991-2999.
- Forbes, G.M., Glaser, M.E., Cullen, D.J., 1994. Duodenal ulcer treated with *Helicobacter pylori* eradication: Seven year FollowUp Group 343, 258-260.
- Fox, J.G., 1998. Hepatic species identified in bile and gallbladder tissue from Chileans with chronic cholecystitis. Gastroenterology 114(4), 755-763.
- Funatogawa, K., Hayashi, S., Shimomura, H., Yoshida, T., Hatano, T., Ito, H., and Hirai, Y., 2004. Antibacterial activity of hydrolyzable tannins derived from medicinal plants against *Helicobacter pylori*. Microbiology – Immunology 48(4), 251-261.
- Gatta, L., Perna, F., Figura, N., Ricci, C., Holton, J., D'Anna, L., Miglioli, M., and Vaira, D., 2003. Antimicrobial activity of esomeprazole versus omeprazole against *Helicobacter pylori*. Journal of Antimicrobial Chemotherapy 51(2), 439-442.
- Gerrits, M.M., Schuijffel, D., Van Zwet, A.A., Kuipers, E.J., Vandenbroucke-Grauls, C.M., Kusters, J.G., 2002. Alterations in penicillin-binding protein 1A confer resistance to beta-lactam antibiotics in *Helicobacter pylori*. Antimicrobial agents Chemotherapy 46 (7), 2229-2233.
- Giao, M.S., Azevedo, N.F., Wilks, S.A., Vieira, M.J., and Keevil, C.W., 2008. Persistence of *Helicobacter pylori* in heterotrophic drinking-water biofilms. Applied and Environmental Microbiology 74(19), 5898–5904.
- Goodwin, C.S., Armstrong, J.A., Marshall, B.J., 1986. *Campylobacter pyloridis*, gastritis, and peptic ulceration. Journal of Clinical Pathology 39(4), 353–365.

- Goodwin, C.S., Worsley, B.W., 1993. Microbiology of *Helicobacter pylori*. Gastroenterology 22(1), 15-19.
- Harry, L.T.M., George, L.M., and Stuart, L.H., 2001. *Helicobacter pylori*: Physiology and Genetics 248, 238-242.
- Hoda, H., and Fodel, M., 1991. Comparison studies on leaf oils of egyptian citrus varieties. Journal of Islamic Academy of Sciences 4(3), 196-199.
- Howden, C.W., and Hunt, R.H., 1998. Recommendation based on "guidelines for the management of *Helicobacter pylori* infection. Journal of gastroenterology 93, 2330-2338.
- Jenks, P.J., and Edwards, D.I., 2002. Metronidazole resistance in *Helicobacter pylori*. International Journal of Antimicrobial Agents 19, 1-7
- Johnson, C.H., Rice, E.W., and Reasoner, D.J., 1997. Inactivation of *Helicobacter pylori* by chlorination. Applied and Environmental Microbiology 63(12), 4969–4970.
- Köksal, F., Topçu, A., Söyletir, G., and Doğanay, M., 2002. *Helicobacter pylori* infeksiyon hastalıkları ve mikrobiyolojisi. İkinci baskı, İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri.
- Kusters, J.G., Vliet, A.H.M., Kuipers, E.J., 2006. Pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection. Clinical Microbiology Reviews 19(3), 450-474.
- Lin, J., and Huang, W.W., 2009. A systematic review of treating *Helicobacter pylori* infection with traditional chinese medicine. World Journal of Gastroenterology 15(37), 4715-4719.

- Ma, F., Chen, Y., Li, J., Wang, J.D., Zhang, Y.L., Long, B.G., and Bai, Y., 2010. Screening test for anti-*Helicobacter pylori* activity of traditional chinese herbal medicines. *World Journal of Gastroenterology* 16(44), 5629-5634.
- Mahady, G.B., Pendland, S.L., Stoia, A., Hamill, F.A., Fabricant, D., Dietz, B.M., and Chadwick, L.R., 2005. In vitro susceptibility of *Helicobacter pylori* to botanical extracts used traditionally for the treatment of gastrointestinal disorders. *Phytotherapy Research* 19(11), 988–991.
- Makola, Di Peura D.A., Crowe, S.E., 2007. *Helicobacter pylori* infection and related gastrointestinal diseases. *Journal of Clinical Gastroenterology* 41, 548-58.
- Marino, A., Bellinghieri, V., Nostro, A., Miceli, N., Taviano, M.F., Güvenç, A., and Bisignano, G., 2010. In vitro effect of branch extracts of *Juniperus* species from Turkey on *staphylococcus aureus* biofilm. *FEMS Immunology Medical Microbiology* 59(3), 470-476.
- Martini, S., D’Addario, C., Colacevich, A., Focardi, S., Borghini, F., Santucci, A., Figura, N., and Rossi, C., 2009. Antimicrobial activity against *Helicobacter pylori* strains and antioxidant properties of blackberry leaves (*Rubus ulmifolius*) and isolated compounds. *International Journal of Antimicrobial Agents* 34(1), 50-59.
- Megraud, F., 1999. Resistance of *Helicobacter pylori* to antibiotics: the main limitation of current proton-pump inhibitor triple therapy. *European Journal Gastroenterology Hepatology* 11(2), 35-37.
- Memik, F., 2003. Her yönüyle peptik ülser hastalığı. Nobel&Güneş kitabevi, 49-173.
- Mendall, M.A., Goggin, P.M., Molineaux, N., 1994. Relation of *Helicobacter pylori* infection and coronary heart disease. *British Heart Journal* 71, 437-439.
- Miehlke, S., 1997. Antimicrobial therapy of peptic ulcer. *International Journal Antimicrobial Agents* 8, 171-178.

- Mofleh, I.A.A., 2010. Spices, herbal xenobiotics and the stomach: Friends or foes. *World Journal of Gastroenterology* 16(22), 2710-2719.
- Nostro, A., Cellini, L., Di Bartolomeo, S., Di Campli, E., Grande, R., Cannatelli, M.A., Marzio, L., and Alonzo, V., 2005. Antibacterial effect of plant extracts against *Helicobacter pylori*. *Phytotherapy Research* 19(3), 198-202.
- Odebiyi, O., 1985. Antimicrobial and antifungal properties of the extractives of *J. podogrica* stem. *Fitoterapia* 56, 297-299.
- O'gara, E.A., Hill, D.J., and Maslin, D.J., 2000. Activities of garlic oil, garlic powder, and their diallyl constituents against *Helicobacter pylori*. *Applied and Environmental Microbiology* 66(5), 2269-2273.
- Ohno, T., Kita, M., Yamaoka, Y., Imamura, S., Yamamoto, T., Mitsufuji, S., Kodama, T., Kashima, K., Imanishi J., 2003. Antimicrobial activity of essential oils against *Helicobacter pylori*. *Helicobacter* 8(3), 207-215.
- Olivieri, R., Bugnoli, M., Armellini, D., Bianciardi, S., Rappuoli, R., Bayeli, P.F., Abate, L., Esposito, E., Gregorio, L., and Aziz, J., 1993. Growth of *Helicobacter pylori* in media containing cyclodextrins. *Journal of clinical Microbiology* 31(1), 160-162.
- Palabıyıköğlu, M., Şahin, F., Özden, A., ve Uzunalımoğlu, Ö., 1997. Disk diffüzyon yöntemi ile *Helicobacter pylori* klinik izolatlarında amoksisiline ve klaritromisine karşı primer duyarlılığın araştırılması ve tedavi sonrası muhtemel değişikliğinin incelenmesi. *Türkiye Gastroenteroloji Dergisi* 8, 309-312.
- Pastene, E., Speisky, H., Troncoso, M., Alarcon, J., and Figueroa, G., 2009. In vitro inhibitory effect of apple peel extract on the growth of *Helicobacter pylori* and respiratory burst induced on human neutrophils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57(17), 7743-7749.

- Piccolomini, R., Bonaventura, G.D., Picciani, C., Laterza, F., Vecchiet, J., and Neri, M., 2001. In vitro activity of clarithromycin against intracellular *Helicobacter pylori*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 45(5), 1568-1571.
- Puttarak, P., Charoonratana, T., and Panichayupakaranant, P., 2010. Antimicrobial activity and stability of rhinacanthins-rich rhinacanthus nasutus extract. *Phytomedicine*. 17(5), 323-327.
- Radin, N.S., 1966. Techniques for improved performance of a rotary vacuum evaporator. *Chemist-Analyst* 55, 117–118.
- Ramakrishnan, K., Salinas, R.C., 2007. Peptic ulcer disease. *American Family Physician* 76(7), 1005–1012.
- Ruiz, C., Falcocchio, S., Pastor, F.I., Saso, L., and Diaz, P., 2007. *Helicobacter pylori* EstV: Identification, cloning, and characterization of the first lipase isolated from an epsilon-proteobacterium. *Applied and Environmental Microbiology* 73(8), 2423–2431.
- Salem, E.M., Yar, T., Bamosa, A.O., Al-Quorain, A., Yasawy, M.I., Alsulaiman, R.M., and Randhawa, M.A., 2010. Comparative study of *Nigella sativa* and triple therapy in eradication of *Helicobacter pylori* in patients with non-ulcer dyspepsia. *Saudi Journal of Gastroenterology* 16(3), 207-214.
- Sandıkçı, M., Gastrit, 2002. Peptik ülser ve *H. Pylori*. M, eds. *İnfeksiyon hastalıkları ve mikrobiyolojisi*'de. İstanbul: Nobel tıp kitabevleri, 787-792.
- Sawaya, A., Cunha, I., Marcucci, M., 2011. Analytical methods applied to diverse types of brazilian propolis. *Chemistry Central Journal* 5(1), 27.
- Serrano, C., Matos, O., Teixeira, B., Ramos, C., Neng, N., Nogueira, J., Nunes, M., and Marques, A., 2011. Antioxidant and antimicrobial activity of *Satureja montana* L.extracts. *Society of Chemical Industry* 10, 4347.

- Shikov, A.N., Pozharitskaya, O.N., Makarov, V.G., and Kvetnaya, A.S., 2008. Antibacterial activity of *Chamomilla recutita* oil extract against *Helicobacter pylori*. *Phytotherapy Research* 22(2), 252-253.
- Sivam, G.P., 2001. Protection against *Helicobacter pylori* and other bacterial infections by garlic. *the Journal of Nutrition* 131(3), 1106S-1108S.
- Stoicov, C., Saffari, R., and Houghton, J., 2009. Green tea inhibits *helicobacter* growth in vivo and in vitro. *Internal Journal of Antimicrobial Agents* 33(5), 473-478.
- Suzuki, N., 2008. Detection of *Helicobacter pylori* DNA in the saliva of patients complaining of halitosis. *Journal of medicinal Microbiology* 57(12), 1553-9.
- Tamil, I.G., Dineshkumar, B., Nandhakumar, M., Senthilkumar, M., and Mitra, A., 2010. In vitro study on α -amylase inhibitory activity of an indian medicinal plant, *Phyllanthus amarus*. *Indian Journal of Pharmacology* 42(5), 280-282.
- Tan, P.V., Boda, M., and Etoa, F.X., 2010. In vitro and in vivo anti- *Helicobacter / Campylobacter* activity of the aqueous extract of *Enantia chlorantha*. *Pharmaceutical Biology* 48(3), 349-356.
- The european *Helicobacter pylori* study group, current european concepts in the management of *Helicobacter pylori* infection. The mastriicht consensus report. *Gut* 1997. 41, 8–13.
- Toroğlu, S., and Çenet, M., 2006. Tedavi amaçlı kullanılan bazı bitkilerin kullanım alanları ve antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi için kullanılan metodlar. *KSÜ. Fen ve mühendislik dergisi* 9(2).
- Toroğlu, S., Dığrak, M., and Çenet, M., 2006. Baharat olarak tüketilen *Laurus nobilis* linn ve *Zingiber officinale* roscoe bitki uçucu yağlarının antimikrobiyal aktiviteleri ve antibiyotiklere in-vitro etkilerinin belirlenmesi. *KSU. Journal of Science and Engineering* 9(1).
- Tünger, Ö., 2008. *Helicobacter pylori* infeksiyonları. *İnfeksiyon dergisi (Turkish Journal of Infection)* 22 (2), 107-115.

- Vega, E., Cortiñas, T.I., Mattana, C.M., Humberto, J.S., and Centorbi, O.P., 2003. Growth of *Helicobacter pylori* in medium supplemented with cyanobacterial extract. *Alba Journal of Clinical Microbiology* 41(12), 5384–5388.
- Yang, K.C., Chu, A., Liao, C.S., Lin, Y.M., Wang, G.M., 2006. Evaluation of the role of *H. pylori* infection in pathogenesis of gastric cancer by immunoblot assay. *World Journal of Gastroenterology* 12, 7029-7032.
- Yee, Y.K., and Koo, M.W., 2000. Anti- *Helicobacter pylori* activity of chinese tea: in vitro study. *Aliment Pharma Therapies* 14(5), 635-638.
- Williams, J.C., McInnis, K.A., and Testerman, T.L., 2008. Adherence of *Helicobacter pylori* to abiotic surfaces is influenced by serum. *Applied and Environmental Microbiology* 74(4), 1255–1258.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı :LÜTFİYE KADIOĞLU

Doğum Yeri :GAZİANTEP

Doğum Tarihi :18.04.1985

Medeni Hali :EVLİ

Yabancı Dili :İNGİLİZCE

Eğitim Durumu (Okul, Mezuniyet Yılı, Şehir)

Lisans : MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ, 2008, HATAY

Yüksek Lisans: KİLİS 7 ARALIK ÜNİVERSİTESİ, 2011, KİLİS

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl:

1- ANKARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ ONKOLOJİ ANABİLİM DALI
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK A. B. D. 2008-2010

2- ANKARA MAMAK İ. Ö. O. İNGİLİZCE ÖĞRETMENLİĞİ 2010-2010

3- İTALYA SİENA ÜNİVERSİTESİ ERASMUS PRG. 2010-2011