**ÇANKIRI KARATEKİN ÜNİVERSİTESİ**
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

# BİTKİ ÖZLERİ VE ANTİBİYOTİKLER ARASINDAKİ SİNERJİNİN *PSEUDOMONAS AERUGİNOSA* ÜZERİNDEKİ ETKİSİNİN İNCELENMESİ

**ALİ SARMAD MAJEED ALNAISANI**

**BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**ÇANKIRI**
**2022**

**Her hakkı saklıdır**

**TEZ ONAYI**

Ali SARMAD MAJEED ALNAISANI tarafından hazırlanan **"Bitki Özleri ve Antibiyotikler Arasındaki Sinerjinin *Pseudomonas aeruginosa* Üzerindeki Etkisinin İncelenmesi"** adlı tez çalışması 08/06/2022 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği/oy çokluğu ile Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

**Danışman** : Doç. Dr.Mehmet SEZGİN

**Eş Danışman** : Doç. Dr. Usama NADHOM NAJRES

**Jüri Üyeleri** :

**Başkan** : Doç.Dr. Mehmet SEZGİN
Biyoloji Anabilim Dalı
Çankırı Karatekin Üniversitesi

**Üye** : Dr.Öğr.Üyesi Filiz SARIKAYA PEKACAR
Biyoloji Anabilim Dalı
Çankırı Karatekin Üniversitesi

**Üye** : Doç.Dr.Atilla ÇAKIR
Bitkileri Anabilim Dalı
Bingöl Üniversitesi

**Yukarıdaki sonucu onaylarım**

**Prof. Dr. İbrahim ÇİFTÇİ**

**Enstitü Müdürü**

## ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Çankırı Karatekin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğine göre hazırlamış olduğum "**Bitki Özleri ve Antibiyotikler Arasındaki Sinerjinin *Pseudomonas aeruginosa* Üzerindeki Etkisinin İncelenmesi**" konulu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı, tezin içerdiği yenilik ve sonuçları başka bir yerden almadığımı, tezde kullandığım eserleri usulüne göre kaynak olarak gösterdiğimi, tezin Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nden başka bir bilim kuruluna akademik amaç ve unvan almak amacıyla vermediğimi ve bu çalışmanın Çankırı Karatekin Üniversitesi tarafından kullanılan "Bilimsel İntihal Tespit Programı"yla tarandığını, "intihal içermediğini" beyan ederim. Çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması halinde ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçlara razı olduğumu bildiririm. Çankırı Karatekin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca gereğinin yapılmasını arz ederim (08/06/2022).

**Ali Sarmad Majeed ALNAISANI**

# ÖZET


Yüksek Lisans Tezi

BİTKİ ÖZLERİ VE ANTİBİYOTİKLER ARASINDAKİ SİNERJİNİN *PSEUDOMONAS AERUGİNOSA* ÜZERİNDEKİ ETKİSİNİN İNCELENMESİ

Ali sarmad majeed ALNAISANI

Çankırı Karatekin Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Mehmet SEZGİN
Eş Danışman: Doç. Dr. Usama NADHOM NAJRES

Bu çalışma, 2021 yılı Nisan-Haziran ayları arasında Samarra/Salah al-Din şehrinde Samarra Devlet Hastanasinde yapılmıştır. Hastaneden yaşları 1-60 yaş arasında değişen kadın ve erkek hastaların yanık ve yaralarından 100'er adet sürüntü örneği toplanmıştır. Bu örneklerden (%40) yanık ve (%12) yara örnekler kanlı agar, McConkey agar ve setrimid agarda 37 °C'de 24 saat inkübe edilerek kültüre alınmıştır. *P.aeruginosa* izolatları konvansiyonel yöntemlerle kolonyal morfoloji, şekil, boyut, renk, koku ve boya üretimine göre teşhis edilmiştir. Toplanan 40 örnekten, 16 (%40) erkek ve 24 (%60) kadın arasında dağıtılan %100 bakteri üremesi gerçekleşmiştir. Antibiyotik duyarlılık testi ile ilgili olarak çalışma sonuçları, *P.aerginosa* izolatlarının yüksek antimikrobiyal direncinin tetrasiklinler, ampisilin, kloramfenikol ve sefaleksine %100 dirençli iken Siprofloksasin ve Levofloksasine %100 duyarlı olduğunu göstermiştir. Mevcut çalışmanın sonuçları, *Myrtus communis*'in sulu ekstraktının alkollü ekstrakttan üstün olduğunu, *Calendula officinalis*'in alkollü ekstraktının ise sulu ekstrakttan üstün olduğunu göstermiştir. *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı direnç gösteren bu bitkilerin antibiyotiklerle Sinerjistik bir karışımı ile ilgili ilk çalışmadır.



**2022, 67 sayfa**

**ANAHTAR KELİMELER:** *Pseudomonas aeruginosa*, Bitkisel ekstraktlar, Antibiyotik, Mik, Sinerji

## ABSTRACT

Master of Science Thesis

INVESTIGATION OF THE EFFECT OF THE SYNERGY BETWEEN PLANT EXTRACTS AND ANTIBIOTICS ON *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*

Ali sarmad majeed ALNAISANI

Çankırı Karatekin University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology

Advisor: Assoc. Prof. Dr. Mehmet SEZGIN
Co-Advisor: Asst. Prof. Dr. Osama NADHOM NAJRES

This study was conducted in Samarra State Hospital in the city of Samarra/Salah al-Din between April and June 2021. 100 swab samples were collected from the burns and wounds of male and female patients aged 1-60 years old from the hospital. Burned samples (40%) and wounds (12%) were cultured on blood agar, McConkey agar and cetrimide agar after incubation at 37 °C for 24 hours. *Pseudomonas aeruginosa* isolates were identified by conventional methods according to colonial morphology, shape, size, colour, odour and dye production of the 40 samples collected, 100% bacterial growth occurred, distributed among 16 (40%) males and 24 (60%) females. Regarding the antibiotic susceptibility test, the study results showed that the high antimicrobial resistance of *P.aerginosa* isolates was 100% resistant to tetracyclines, ampicillin, chloramphenicol, and cephalexin, while 100% susceptible to Ciprofloxacin and Levofloxacin. The results of the present study showed that the aqueous extract of *Myrtus communis* was superior to the alcoholic extract, while the alcoholic extract of *Calendula officinalis* was superior to the aqueous extract. This is the first study of a Synergistic blend of these plants with antibiotics that show resistance to *P.aerginosa*



**2022, 67 pages**

**Keywords:** *Pseudomonas aeruginosa*, Herbal extracts, Antibiotics, MIC, Synergy

## ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Doç.Dr.Mehmet Sezgin Yüksek lisans tezimin her aşamasındaki değerli yardımlarınız ve ilginiz için teşekkür ederim, saygılarımı sunarım. İkinci danışmanım Doç.Dr.Osama NADHOM NAJRES'e en derin şükranlarımı sunarım.

Bu araştırmanın tamamlanmasında büyük katkıları olan aileme teşekkürlerimi ve şükranlarımı sunarım. Samarra Üniversitesi Uygulamalı Bilimler Yüksekokuluna ve Patolojik analizler Bölümüne, çalışmalarım sırasında gerekli kolaylıkları sağlayan ve bu çalışmada bana yardım edenlere teşekkür ederim. Son olarak bu tez çalışmasını eğitimim boyunca bana destek olan rahmetli amcam Hamed Majeed'e ithaf ediyorum.

**Ali SARMAD MAJEED ALNAISANI**

**Çankırı, 2022**

# İÇİNDEKİLER

**ÖZET** ..... **i**
**ABSTRACT** ..... **ii**
**ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR** ..... **iii**
**İÇİNDEKİLER** ..... **iv**
**SİMGELER DİZİNİ** ..... **vi**
**KISALTMALAR DİZİNİ** ..... **vii**
**ŞEKİLLER DİZİNİ** ..... **viii**
**ÇİZELGELER DİZİNİ** ..... **ix**
**1. GİRİŞ** ..... **1**
**2. LİTERATÜR ÖZETİ** ..... **4**
**2.1 *Pseudomonas* sp.lerin Sınıflandırması** ..... **4**
**2.2 Genel Özellikleri** ..... **5**
**2.3 *Pseudomonas* Türlerinin Doğal Habitatı** ..... **6**
**2.4 *P. aeruginosa*'nın Neden Olduğu Enfeksiyonların Klinik Belirtileri** ..... **6**
**2.5 Hastane Kaynaklı Enfeksiyonlar** ..... **7**
**2.5.1 Yara enfeksiyonları** ..... **8**
**2.5.2 Yanık enfeksiyonları** ..... **8**
**2.6 *P. aeruginosa* ile Enfeksiyon ve Bağışıklık Arasındaki İlişki** ..... **9**
**2.7 Virülans Faktörleri** ..... **9**
**2.8 Biyofilm ile Direnç** ..... **10**
**2.9 *P. aeruginosa*'nın Antimikrobiyal Direnci** ..... **11**
**2.10 Tıbbi Bitkiler** ..... **13**
**2.10.1 *Calendula officinalis*** ..... **14**
**2.10.2 *Myrtus communis*** ..... **16**
**3. MATERYAL VE YÖNTEM** ..... **18**
**3.1 İzolasyon Ve Teşhis Çalışmaları** ..... **18**
**3.1.1 Besiyerleri** ..... **18**
**3.1.2 Reaktiflerin hazırlanması** ..... **20**
**3.2 *Pseudomonas aeruginosa*'nın Teşhisi** ..... **22**
**3.2.1 Morfolojik ve mikroskobik teşhis** ..... **22**

**3.2.2 Biyokimyasal testler** ..... **23**
**3.3 Bakteri İzolatlarının Korunması ve Sürdürülmesi** ..... **27**
**3.4 Antimikrobiyal Duyarlılık Testi** ..... **27**
**3.5 Bitki Ekstraktlarının Hazırlanması** ..... **28**
**3.5.1 Sıcak sulu ekstraktların hazırlanması** ..... **28**
**3.5.2 Alkol ekstraktların hazırlanması** ..... **29**
**3.6 Bitki Ekstraktlarının *P.aeruginosa*'ya Karşı Önleyici Aktivitesini Testi** ..... **30**
**3.7 Antibiyotiklerin *P.aeruginosa* 'ya Karşı Inhibitör Aktivitesini Testi** ..... **30**
**3.8 Antimikrobiyal Aktivite Için Tarama** ..... **30**
**3.9 Minimum Inhibitör Konsantrasyonunun (MIK) Belirlenmesi** ..... **31**
**3.10 Antibiyotiklerle Karıştırılmış Bitkisel Özler** ..... **32**
**3.11 İstatistiksel Analiz** ..... **32**
**4. BULGULAR** ..... **33**
**4.1 İzolasyon Sonuçları** ..... **33**
**4.2 *P.aeruginosa*'nın Teşhisi** ..... **34**
**4.3 Antimikrobiyal Duyarlılık Testi** ..... **35**
**4.4 *M. communis* ve *C. officinalis* Ekstraktlarının Antibiyotiklerle *P. aeruginosa* Üzerindeki Etkisinin Karşılaştırılması** ..... **37**
**4.5 Ekstraktlar ve Antibiyotikler Arasındaki Sinerjik Etki** ..... **40**
**5. TARTIŞMA VE SONUÇ** ..... **45**
**KAYNAKLAR** ..... **53**
**EKLER** ..... **65**
**ÖZGEÇMİŞ** ..... **67**

## SİMGELER DİZİNİ

| | |
|---|---|
| α | Alpha |
| β | Beta |
| ° | Derece |
| MR | Gram |
| PH | Hidrojen potansiyeli |
| KB | Kilobaz |
| L | Litre |
| CM | Santimetre |
| ºC | Santigrat derece |
| MM | Milimetre |
| µg | Mikrogram |
| PPM | Milyonda bir |
| NM | Nanometre |
| N | Normal |

## KISALTMALAR DİZİNİ

| | |
|---|---|
| ATP | Adenozin trifosfat |
| D.W | Arıtılmış su |
| MDR | Çoklu ilaç direnci |
| OPRD | Dış membran porin proteini |
| DMSO | Dimetil sülfoksit |
| WHO | Dünya sağlık örgütü |
| EPS | Ekstrasellüler polimerik madde |
| EXOS | Ekzoenzim S |
| ETA | Ekzotoksin A |
| HCL | Hidroklorik Asit |
| $H_2S$ | Hidrojen sülfit |
| SAS | Statistiksel analiz sistemi |
| CLSI | Klinik ve laboratuvar standartları enstitüsü |
| MR | Metil kırmızı testi |
| MIK | Minimum inhibitör konsantrasyonunun belirlenmesi |
| PB | Penisilin bağlayıcı proteinler |
| KOH | Potasyum hidroksit |
| T3SS | Tip III salgı sistemi aracılığıyla |
| TNF | Tümör nekroz faktörü |
| VP | Voges proskauer testi |
| ICU | Yoğun bakım ünitesi |

# ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 *P.aeruginosa* 'nin virülans faktörleri (Gellatly and Hancock 2013). ..... 10
Şekil 2.2 *P. aeruginosa* çeşitli antibakteriyel maddelere veya antibiyotik sınıflarına direnç (1.Enzimin modifikasyonunu, 2. Geçirimsizlik direncini, 3. Akış sistemini, 4. Dış membran modifikasyonunu) (Mohanty *et al.* 2020)..... 11
Şekil 2.3 *Calendula officinalis* (Safdar *et al.* 2010). ..... 15
Şekil 2.4 *Myrtus communis* (Sumbul *et al.*2011). ..... 16
Şekil 3.1 Katalaz testi, gaz kabarcıklarının görünümü (test pozitif)..... 23
Şekil 3.2 Oksidaz testi, mor görünümü (test pozitif) ..... 23
Şekil 3.3 İndol testi, sarı bir halkanın ortaya görünümü (test negatif)..... 24
Şekil 3.4 Metil kırmızısı testi, sarı renginin görünümü (test negatif ) ..... 24
Şekil 3.5 Voges proskauer testi, sarı renginin görünümü (test negatif ) ..... 25
Şekil 3.6 Sitrat testi, ortamın renginin yeşilden maviye değişmesi (test pozitif)..... 25
Şekil 3.7 Üreaz testi, sarı renginin görünümü (test negatif ) ..... 26
Şekil 3.8 Kligler testi, Gaz (negatif), $H_2S$ (negatif) ..... 26
Şekil 3.9 *Myrtus communis* ve *Calendula officinalis* su ekstraktları ..... 29
Şekil 3.10 *Myrtus communis* ve *Calendula officinalis* etanol ve metanol ekstrakları .... 29
Şekil 4.1 Yara ve yanık vakalarından izole edilen *P.aeruginosa*'nın antibiyotik dirençleri ..... 35
Şekil 4.2 *Myrtus communis*'in su ekstraktının *P.aeruginosa* üzerindeki etkisi..... 38
Şekil 4.3 *Myrtus communis*'in alkol ekstraktının *P.aeruginosa* üzerindeki etkisi ..... 38
Şekil 4.4 *Calendula officinalis*'in su ekstraktının *P.aeruginosa* üzerindeki etkisi..... 38
Şekil 4.5 *Calendula officinalis*'in alkol ekstraktı *P.aeruginosa* üzerindeki etkisi ..... 38
Şekil 4.6 *P.aeruginosa* üzerinde Tetrasiklinin etkisi ..... 39
Şekil 4.7 *P.aeruginosa* üzerinde Kloramfenikol etkisi ..... 39
Şekil 4.8 *P.aeruginosa* üzerinde Ampisilin etkisi..... 39
Şekil 4.9 *P.aeruginosa* üzerinde Sefaleksin etkisi ..... 39
Şekil 4.10 *Myrtus communis*'in su ekstraktısi ve antibiyotikler arasındaki sinerjistik etki ile *P.aeruginosa*'ya karşı önleyici etki..... 41
Şekil 4.11 *Myrtus communis*'in etanol ekstresi ve antibiyotikler arasındaki sinerjistik etki ile *P.aeruginosa*'ya karşı önleyici etki..... 42
Şekil 4.12 *Calendula officinalis*'in su ekstraktısi ve antibiyotikler arasındaki sinerjistik etki ile *P.aeruginosa*'ya karşı önleyici etki..... 42
Şekil 4.13 *Calendula officinalis*'in etanol ekstresi ve antibiyotikler arasındaki sinerjistik etki ile *P.aeruginosa*'ya karşı önleyici etki..... 42

# ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1 *Pseudomonas aeruginosa*'nın Bilimsel Sınıflandırması (Fetar 2011). .....5
Çizelge 2.2 *Calendula officinalis*'in bilimsel sınıflandırması (Muley *et al.* 2009). .....14
Çizelge 2.3 *Myrtus communis* 'in bilimsel sınıflandırması (Wilson 2011). .....16
Çizelge 3.1 Çalışmada kullanılan antibiyotik diski (CLSI 2020). .....28
Çizelge 4.1 Cinsiyete göre yara ve yanık enfeksiyonlarından alınan örneklerin oranları .....33
Çizelge 4.2 Yaş gruplarına göre enfeksiyon kaynaklarının dağılımı ve izole edilen bakteri yüzdeleri .....34
Çizelge 4.3 *P.aeruginosa* izolatlarının fenotipik ve biyokimyasal incelemeleri .....34
Çizelge 4.4 Yara ve yanık vakalarından izole edilen *P.aeruginosa*'nın antibiyotik dirençleri .....36
Çizelge 4.5 *Myrtus communis* ve *Calendula officinalis* için su ve alkol ekstraktlarının etkileri .....40
Çizelge 4.6 Antibiyotiklerin *P.aeruginosa*'ya karşı önleyici etkisi .....40
Çizelge 4.7 *Myrtus communis*'in su ekstraktısi ve antibiyotikler arasındaki sinerjistik etki ile *P.aeruginosa*'ya karşı önleyici etki .....43
Çizelge 4.8 *Myrtus communis*'in etanol ekstraktısi ve antibiyotikler arasındaki sinerjistik etki ile *P.aeruginosa*'ya karşı önleyici etki .....43
Çizelge 4.9 *Calendula officinalis*'in su ekstraktısi ve antibiyotikler arasındaki sinerjistik etki ile *P.aeruginosa*'ya karşı önleyici etki .....44
Çizelge 4.10 *Calendula officinalis*'in etanol ekstraktısi ve antibiyotikler arasındaki sinerjistik etki ile *P.aeruginosa*'ya karşı önleyici etki .....44

# 1. GİRİŞ

Fırsatçı bakteriyel patojenlerin neden olduğu enfeksiyonlar, hem gelişmiş hem de gelişmekte olan dünyada başlıca morbidite ve mortalite nedenidir. Bu enfeksiyonlar genellikle enfeksiyon bölgesinde patojenin güçlü büyümesi ve antibiyotik tedavisine karşı giderek artan direnç ile karakterize edilir. Fırsatçı patojen *Pseudomonas aeruginosa*, bağışıklığı baskılanmış konaklarda çok çeşitli enfeksiyonlardan sorumludur (Bodey *et al.* 1983). Bu enfeksiyonların en önemlileri, kronik ve yanık yaraları dahil olmak üzere yumuşak dokulara lokalize olanlardır (Davies *et al.* 2004).

Kronik yaralar, "anatomik ve fonksiyonel bütünlük oluşturmak için düzenli ve zamanında bir süreçten geçemeyen veya sürekli bir anatomik ve fonksiyonel sonuç oluşturmadan onarım sürecinden geçen" yaralar olarak tanımlanır (Lazarus *et al.* 1994). Yanık yaralarındaki enfeksiyonlar aynı zamanda yalnızca gelişmiş ülkelerde değil, yanıkların %70'inin çocukları etkilediği ve toplam vücut yüzey alanının >%40'ını kaplayan yanıklı hastalarda ölümlerin olduğu gelişmekte olan ülkelerde de ağır bir tıbbi ve ekonomik yük taşımaktadır (Potokar *et al.* 2008).

Ayrıca, *P. aeruginosa*'nın neden olduğu yanık enfeksiyonları genellikle hızla kötüleşir ve günler veya haftalar içinde sistemik yayılmaya ve ölüme yol açar. Ancak *P. aeruginosa* kronik yara enfeksiyonları çok az ölümle ilişkili olarak çok daha uzun süre devam eder (McManus *et al.* 1985). Enfeksiyon yörüngesindeki bu farklılığın, spesifik *P. aeruginosa* suşları ile kolonizasyonun bir sonucu olduğu düşünülmediğinden, bu farklılığın altında yatan mekanizmalar bir sır olarak kalmaktadır. Bir olasılık, yaralanma türünün bağışıklık tepkisi gibi konakçı ortamın temel özelliklerini etkilemesi ve bunun hastalığın ilerlemesini belirlemesidir (Kravitz 1993).

*P.aeruginosa*'nın antibiyotik direnci, antibiyotiklerin gelişigüzel ve sınırsız kullanımı nedeniyle dünya çapında büyük bir sorundur (Mitiku *et al.* 2014). Bu direncin beta-laktamaz enzimlerinin üretimi ve hücre duvarının geçirgenliğinin olmaması gibi çeşitli nedenlerle de oluşabileceği bilinmektedir. Ayrıca bakteri konjugasyonu yoluyla

plazmitler ve transpozonlar aracılığıyla diğer bakteri cinslerinden direnç genlerinin dahil edilmesi ve kazanılması ve genlerde genetik mutasyonların ortaya çıkması bu antibiyotiklere direnç gelişmesine yol açmaktadır (Ekizoğlu *et al.* 2016, Hashemi *et al.* 2017).

Bitkisel özler, özellikle dirençli patojenlere karşı etkili bir tedaviye sahip olmak için antibiyotiklerle birleştirilebilir. Kombinasyon tedavisinin amacı, sinerjik etkileşim yoluyla antimikrobiyal aktiviteyi arttırmak ve enfeksiyonlar için direnç gelişimini en aza indirmektir. Lin vd. (2005) yılında yaptıkları bir çalışmada, seçilen bitki Jextracts'tan elde edilen bir antibiyotik ve flavonoid kombinasyonu, gelişmiş antibakteriyel aktiviteler göstermiştir.

Bitkisel bazlı ürünler, geleneksel antibiyotiklerin ve sentetik antimikrobiyallerin yerini almak için incelenen alternatif ajanlar arasındadır. Daha güvenli ilaçlar geliştirmek için bitki özleri ve uçucu yağların antimikrobiyal aktivitesi üzerine birçok çalışma yapılmıştır (Harikrishnan *et al.* 2003, Immanuel *et al.* 2004).

Uçucu yağları yoğun olarak incelenen bitkilerden biri de *Myrtus communis*'tir. *Myrtaceae* familyasına ait, tipik Akdeniz florasının ortak bir parçası olan yaprak dökmeyen bir çalıdır (Snow *et al.* 2011). *M. communis* yaprak, çiçek ve meyve bezlerindeki yüksek uçucu yağ içeriği ile bu familyadan önemli aromatik ve tıbbi türlerden biridir. Mersin esansiyel yağlarının in vitro ve in vivo biyolojik aktiviteleri literatürde doğrulanmış ve gözden geçirilmiştir olmasına rağmen (Akin *et al.* 2010, Berka-Zougali *et al.* 2012 , Aleksic and Knezevic 2014), uçucu yağların antibiyotiklerle kombinasyon halinde sinerjik etkisine odaklanan çalışmalar yapılmıştır (Rosato *et al.* 2007).

Asteraceae familyasının bir üyesi olan *Calendula officinalis*, karotenoidler, flavonoidler, terpenoidler, kumarinler, amino asitler, karbonhidratlar ve lipidler gibi biyolojik olarak çeşitli birçok aktif maddeyi bünyesinde barındırması sebebiyle çoklu farmakolojik aktiviteler gösterebilmektedir. *C. officinalis* ekstraktı, anti-inflamatuar,

antioksidan, antikanser, yara iyileşmesi, antibakteriyel ve antifungal aktivite sergilemiştir (Shah *et al.* 2018).

Bu çalısmanın amacı, *P.aeruginosa*'nın yara ve yanıklardan izolasyonu ve teşhisinin yapılması ile birlikte *P.aeruginosa* izolatları üzerine Ampisilin, Siprofloksasin, Sefaleksin, Levofloksasin, Tetrasiklin, Kloramfenikol'e karşı duyarlılık testlerinin yapılmasıdır. Aynı zamanda, *Myrtus communis* ve *Calendula officinalis* bitkilerinin etanol ve su ekstraktlarının bir dizi seyreltme sonrasında minimum inhibitör konsantrasyonunun ortaya konulmasıdır.

# 2. LİTERATÜR ÖZETİ

*Pseudomonas aeruginosa*, dünya çapında insanlarda, hayvanlarda ve bitkilerde bakteriyel enfeksiyonun yaygın bir nedenidir. Enfeksiyonun şiddeti, hafif, kendi kendini sınırlayan bir hastalıktan, önemli morbidite ve mortalite ile ilişkili ciddi ve zayıflatıcı sistemik hastalığa kadar değişebilir. *P. aeruginosa*, hem sağlıklı hem de bağışıklığı baskılanmış hastalarda dikkate değer bir hastalık yelpazesinin etken maddesi olarak kabul edilmektedir ve kistik fibroz (KF) hastalarında başlıca morbidite ve mortalite nedenidir (Sekiguchi *et al.* 2007).

*Pseudomonas* cinsi, belirgin ekolojik önemi yanında genetik ve fizyolojik olarak çeşitli bir grubu ifade etmektedir. *Pseudomonas* cinsi yaklaşık 140 türü veya daha fazlasını kapsar, çoğu saprofit olarak bilinir, 25'in üzerinde tür insanlığa bağlıdır. İnsanlıkta hastalıklara neden olduğu belirlenen pseudomonasların çoğu fırsatçı enfeksiyonla ilgilidir; *P. putrefaciens, P. maltophilia, P. stutzeri, P. cepacia, P. putida, P. fluorescens* ve *P. aeruginosa*'dır. Bunlardan ikisi (*P.pseudomallei* ve *P. mallei*) insanlarda melioidoz ve glander gibi hastalıkların oluşmasına neden olmaktadır (Ryan and Ray 2004).

## 2.1 *Pseudomonas* sp.lerin Sınıflandırması

*P. aeruginosa* fransız eczacı Carle Gessard tarafından iltihaplı yaralardan izole edilmiştir. 1900 yılına kadar Pyocynain pigmentini ürettiği için *Bacillus pyocyaneas* adını verilmiştir. Daha sonra adı *Pseudomonas pyocyaneas* olarak değiştirilmiş ve *P.aeruginosa* adını alınmıştır. Yunanca bir terimdir (Fetar 2011, Anthony *et al*. 2014). Bu bakteri Pseudomonadaceae familyasına aittir ve *Pseudomonas* cinsi insanlarda ve hayvanlarda yaralanmaya neden olan türleri (*P. pseudomallei, P. mallei, P. fluorescens, P. aeruginosa*) içerir. 16S rRNA dizisi ve taksonomik sıralaması aşağıdaki şekildedir (Smith *et al.* 2005) (Çizelge 2.1).

**Çizelge 2.1** *Pseudomonas aeruginosa*'nın Bilimsel Sınıflandırması (Fetar 2011).

| | |
|---|---|
| **Üst âlem** | Bakteri |
| **Şube** | Proteobakteriler |
| **Sınıf** | Gamaproteobakteriler |
| **Takım** | Pseudomonadales |
| **Familya** | Pseudomonadaceae |
| **Cins** | *Pseudomonas* |
| **Tür** | *P. aeruginosa* |

## 2.2 Genel Özellikleri

*P. aeruginosa* spor oluşturmayan, fermentatif olmayan bir Gram negatif basildir. Organizma, katalaz pozitif ve oksidaz pozitiftir ve geleneksel olarak katı bir aerob olarak kabul edilmiştir; biyokimyasal yollarda bir terminal elektron alıcısı olarak oksijen gereksinimi nedeniyle anaerobik koşullarda büyüyemez. Bununla birlikte, organizmanın terminal elektron alıcıları olarak da kullanabileceği nitrat veya arginin varlığında *P. aeruginosa*'nın anaerobik büyümesinin mümkün olduğu gösterilmiştir (Kiska and Gilligan 2003). *P. aeruginosa*, oda sıcaklığında ve 37˚C'de eşit derecede iyi büyüyen, geniş bir büyüme sıcaklık aralığına sahiptir. 4˚C'de daha yavaş büyüme oranları görülmektedir (Pier and Ramphal 2005). *P. aeruginosa*, 42˚C'de büyüme kapasitesi ile klinik olarak önemli diğer *Pseudomonas* türlerinden ayırt edilebilir (Kiska and Gilligan 2003).

MacConkey agarda üreyebilir ve şeker laktozu fermente edemediğinden kolonileri solgun görünür, Fermente üzüm kokusuna benzer bir kokuya sahiptir, Kanlı agarda kolonileri koyu renkli görünür ve şeffaf bir hale ile çevrilidir, hemolizin enzimi üretimi nedeniyle β-hemolitik kanı analiz etme kabiliyetinin yanı sıra 42°C sıcaklıkta büyüme kabiliyetini gösterir (Hossain *et al.* 2013).

## 2.3 *Pseudomonas* Türlerinin Doğal Habitatı

*P.aeruginosa* sağlıklı insanlarda hastalığa neden olur ve genellikle bağışıklık sistemi baskılanmış kişilerde, yanık ve yaralarla ulaşılır, bu bakteriler, konakçıyı enfekte ettiğinde, sitotoksik olan ve doku nekrozu üzerinde etkili olan flagella, pili ve ekzoenzim S'nin (*ExoS*) aracılık ettiği yapışma fazı başladığında büyük ölçekli hastane enfeksiyonları üretme potansiyeline sahip fırsatçı patojenlerdir (Neamah 2017). İltihap daha sonra fagositler için toksik olan bir protein olan Ekzotoksin A (*ETA*) tarafından temsil edilen virülans faktörü aracılığıyla proteinlerin sentezini engelleyen ve ardından doku nekrozuna ve gecikmiş yara iyileşmesine neden olan uzama faktörü 2 ile bir kompleks oluşturarak meydana gelir. Yanık vakalarında ölüme neden olan difteri toksinine benzer bir yapıdadır (Gellatly and Hancock 2013).

Yanık ve yaralarda mavi-yeşil floresan pigmentlerin üretimi ile ateş ve şoka bağlı septisemiden ve ekzotoksinlerin üretimine bağlı olarak koloni oluşturan ve dokuların lokal invazyonundan sorumlu endotoksindir. *P. aeruginosa* tip III salgı sistemi aracılığıyla T3SS ve konağın savunmasını parçalayan enzimlerin yanı sıra fagositoz veya antibiyotik süreçlerine karşı önemli bir rol oynayan bir kapsülün bulunmaktadır (Alhazmi 2015). Ardından sistemik yayılımı özellikle kistik fibrozlu kişilerde idrar yolu enfeksiyonu, menenjit, orta kulak iltihabı, osteoporoz, gastroenterit, endokardit ve zatürreye neden olmaktadır. Ayrıca kan dolaşımına girerek septisemiye neden olan hastalık, özellikle derin yanıkları olan kişilerde etkilidir (Levinson 2016).

## 2.4 *P. aeruginosa*'nın Neden Olduğu Enfeksiyonların Klinik Belirtileri

Şiddetli *P. aeruginosa* enfeksiyonlarına neden olan farklı risk faktörlerinin, sağlıklı insanlar için minimum patojenik potansiyele sahip olduğu kabul edilmiştir. *Pseudomonas aeruginosa* enfeksiyonları, diğer bakteriyel enfeksiyonlara kıyasla daha yüksek bir ölüm oranı göstermiştir. *S. aureus* ve/veya diğer Gram negatif bakteriler gibi, sıklıkla primer immünosupresyonu ve malignitesi olan hastalarda bulunmuştur (Thaden *et al*. 2017).

## 2.5 Hastane Kaynaklı Enfeksiyonlar

*P. aeruginosa*, belirli yerlerde çeşitli hastalıklara yol açar, bir yanık veya ameliyattan sonra ortaya çıkan lokalize enfeksiyonlar genellikle sıklıkla ve yaygın ölümcül bakteriyemiye yol açar. Ek olarak, kistik fibrozlu hastaların neredeyse tamamı sürekli olarak *P. aeruginosa* tarafından kolonize edilir. Dikkat çekici bir şekilde, kistik fibrozlu hastalarda, muhtemelen dolaşımdaki *P. aeruginosa* antikorlarının artan aşamaları nedeniyle, *P. aeruginous* ve bakteriyemiye pek rastlanmaz. Bununla birlikte, neredeyse tüm kistik fibrozlu hastalar, *P. aeruginosa*'nın lokalize enfeksiyonu nedeniyle sonunda ölmektedir. Nekrotizan *P. aeruginosa* pnömonisi, kirli solunum cihazı kullanımına bağlı olarak farklı insan tiplerinde bulunabilir (Bachta *et al.* 2020).

Molina vd. (1991) tarafından yapılan çalışma, *P.aeruginosa'*nın hastanede yatan hastalarda yara ve yanık enfeksiyonlarının en yaygın bakteriyel nedenlerinden biri olduğunu göstermiştir. Timoney vd. (1992) tarafından yapılan çalışma ise ayrıca, *P. aeruginosa*'nın yaralar ve yüksek düzeyde antibiyotiklere maruz kalma gibi belirli enfeksiyonlara yatkın olma durumların varlığı ile ilişkili yaygın enfeksiyona neden olabileceğini göstermiştir. Giacomett vd. (2000) tarafından yapılan çalışmada, yara enfeksiyonlarının, ameliyat sırasında mikrobun yaraya girmesinden hemen sonra veya mikrobun yanık gibi açık yaralara yayılmasından hemen sonra meydana geldiğini göstermiştir. Dubouix vd. (2004) ise *P.aeruginosa*'nın sebep olduğu enfeksiyonun bir sonucu olarak, bu bakterilerin sahip olduğu bir dizi virülans faktörü nedeniyle doku yıkımının meydana geldiğini göstermiştir.

*P. aeruginosa*, bir göz yaralanması veya ameliyatından sonra kornea enfeksiyonuna neden olabilir. Kirlenmemiş kültürlerde, özellikle orta kulak enfeksiyonu olan yavrularda bulunabilir. Nadiren lomber endokardit sonrası menenjite ve kalp ameliyatı sonrası yaraya yol açar. Aynı zamanda birkaç ishal hastalığı dönemiyle de ilişkilidir. Organizma, 1980'de ilk kez rapor edildiğinden beri aşamalı olarak bakteriyemi ile bağlantılıdır ve şu anda Gram-negatif bakteriyemili vakaların %15'inden fazlasını oluşturmaktadır. Yaklaşık %50 ölüm oranı *P. aeruginosa* ve bakteriyemi ile ilişkilidir. Kulak ve göz gibi enfeksiyonlar lokalize olmaya devam etmektedir; yanık ve yara gibi

enfeksiyonlar ile lenfoma ve lösemi hastalarında enfeksiyonlar sepsise yol açar. Bu farklılık, doğrudan konakçı bağışıklık sistemine bağlıdır (Alvi et *et al.* 2020, Bachtaet *et al.* 2020).

### 2.5.1 Yara enfeksiyonları

Yara enfeksiyonunun gelişimi derinin bütünlüğüne ve savunma fonksiyonuna bağlıdır (Percival *et al.* 2012). Yara enfeksiyonunun yaygın olduğu ve bakteri türünün coğrafi konuma, yara bölgesindeki giysiye ve yara ile muayene arasındaki süreye göre değişiklik gösterdiği gösterilmiştir (Oguntibeju and Rau 2004). Son yıllarda, *P.aeruginosa'*nın özellikle ilgi çekici olduğu Gram-negatif organizmaların prevalansı giderek artmaktadır, çünkü önceki bir çalışmaya kıyasla yara enfeksiyonundaki insidansı artmıştır (Joshi *et al.* 1984). Hastane ortamındaki sağlıklı kişilerin %28'inin *P.aeruginosa* taşıyıcısı olduğu da gözlemlenmiştir (Anupurba *et al.* 2006).

### 2.5.2 Yanık enfeksiyonları

Yanığı olan hastaların, özellikle termal bir yaradan, septisemi ve ardından ölümle sonuçlanan *P.aeruginosa* geliştirmesi genellikle daha olasıdır (Pruitt *et al.* 1998). Baskın konak savunma kusuru cilt bütünlüğünün kaybı gibi görünse de, yanık kişilerin sistemik bağışıklıklarıyla ilgili sorunları olduğu gösterilmiştir, *P. aeruginosa*, çok çeşitli sulu ortamlarda (su ve sıvı dezenfektanlar dahil) gelişebilen hidrofilik bir bakteridir, termal yanıklardan iyileşen hastalarda cilt yaralarına uygulanmasını kolaylaştıran yüksek düzeyde içsel antimikrobiyal direnci, yüksek antibiyotik basıncı olan hastanelerde kullanım için iyi bir aday olmasını sağlar. *P.aeruginosa* tüm bu nedenlerle hastane yanık ünitelerinin vebasıdır ve ortaya çıkmaması için önemli çabalar sarf edilmektedir (Speert 2002).

## 2.6 *P. aeruginosa* ile Enfeksiyon ve Bağışıklık Arasındaki İlişki

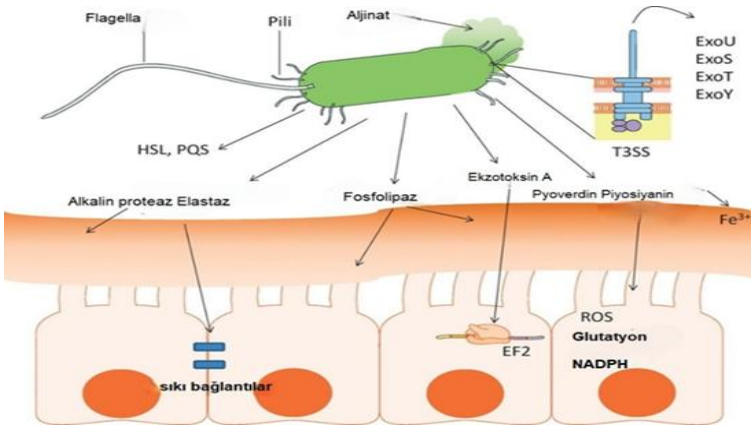
*P. aeruginosa*, yanıklar, diyabetes mellitus veya kanser veya HIV gibi daha ciddi bağışıklık sistemi baskılanma durumları gibi bağışıklığı baskılanmış hastalarda yaygın bir enfeksiyon nedenidir. Bu gibi durumlarda enfeksiyon, hem hastane kaynaklı edinimler hem de toplum ortamında maruz kalma yoluyla meydana gelebilir. *P. aeruginosa*, Amerika Birleşik Devletleri'nde yanık enfeksiyonlarının bir nedeni olarak sadece *Staphylococcus aureus*'tan sonra ikinci sıradadır (Stryjewski and Sexton 2003). Yanık enfeksiyonlarından sonra en sık bakteriyemi nedeni olduğu gösterilmiştir (Vostrugina *et al.* 2006).

## 2.7 Virülans Faktörleri

*P.aeruginosa'*nın patojenitesi, kendisine bağlı birçok virülans faktörü üretmesinden kaynaklanmaktadır ve bu bakterilerin patogenezinde ve doku invazyonunda önemli rol oynayan çok sayıda hücresel ve hücre dışı faktör içerir ve iki grupla temsil edilir. Şekil 2.1'de gösterildiği gibi, akut enfeksiyona dahil olan ilk grup ve bu ajanlar ya bakteri yüzeyindedir ya da salgılanır ve konakçının epitel hücreleri ile ilişkili tüm kılcal damarları, üzerinde etkili olan ekzoenzim S'yi içerir. Doku nekrozu ve fagositozunu inhibe eder, ayrıca protein sentezini ve fosfolipidlerin hidrolizi ve bir tür Fosfolipaz olan lesitinaz üretimi yoluyla enfekte dokularda bakteri kolonizasyonunu uyarmaya yardımcı olan enzim fosfolipaz C'nin üretimini inhibe ederek ökaryotik organizmalarda doku nekrozundan sorumlu eksotoksinler üretir. Konakçıyı inhibe ederek üretilen lesitin, fosfolipidlerin parçalanmasını uyaran lipaz ve ayrıca nötrofillerin zarını bozan bir sitotoksin türü olan lökosidindir (Alhazmi 2015).

Üzerine etki eden, kanamaya da neden olan dört proteolitik enzim ve kollajen ve proteoglikanlar gibi proteinlerin yapısal bozunması ile akciğer dokusunun parçalanmasından sorumlu olan alkalin proteaz gibi doku nekrozunu üretir. Yanık enfeksiyonunda ve hidrojen peroksitin su ve oksijene parçalanmasını uyaran fibrin oluşum katalazına müdahale eden Tümör Nekroz Faktörüdür (TNF). Hidrolize etme aktivitesine sahip Elastaz enziminin inaktivasyonunda önemli rol oynayan konakçı

hücrelerin proteinlerini ve kolajeni parçalayarak kan damarlarının astarını da yok eder (Bai *et al.* 2011).




**Şekil 2.1** *P.aeruginosa* 'nin virülans faktörleri (Gellatly and Hancock 2013).

## 2.8 Biyofilm ile Direnç

*P.aeruginosa* tarafından üretilen aljinat adı verilen bir ekzojen polisakkarit kalıbına gömülmüş bir dizi küçük koloniden oluşur, ayrıca biyofilme giren bir kanal ağı vardır. Sıvı malzemeler temel malzeme boyunca moleküler difüzyon yoluyla hareket ederken biyofilm meydana getirir (Alhazmi 2015).

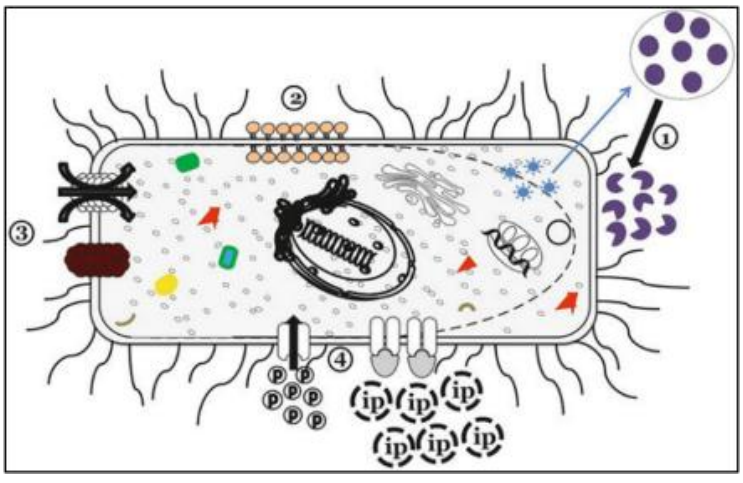
*P.aeruginosa'*nın biyofilminin oluşumu, *Flagellum*, Pili tip 4, ekzoenzim S, fimbria ve Polisakkarit tarafından hedef hücrenin yüzeyine yapıştıkları için, yüzeyde bakteriyel birleşme aşaması ile temsil edilen birkaç aşamadan geçer. Bu bakteriler toplandıktan sonra sistem bakteri hücrelerinin zar içinde birbirleriyle iletişim kurmasına yardımcı olduğu için Quorum-Sensing sistemi aşaması başlar. Daha sonra EPS üreterek bir biyofilm şablonu oluşturma aşamasına geçilir. Hücre dışı polimerler, proteinler, nükleik asitler ve polisakkaritlerden oluşan, daha sonra bir altpopülasyon etkileşim aşaması olan ve daha sonra başka bir yerde küçük koloniler şeklinde veya tek başına biyomembranı oluşturmak üzere göç eden maddelerdir (Köse and Yapar 2017).

Olgun biyofilm, yeni kolonizasyon için yeni yüzey içinde hareketsiz bir düzenlemeyi ayırmaya ve büyütmeye başlamaktadır. Bir molekül, glikokaliks adı verilen

ekzopolisakkarit matrisi gibi örtü ürünleri nedeniyle kompleks biyofilm matrisine nüfuz edemediğinden antibiyotiklerin kimyasal tedavisi etkin değildir. Tipik olarak, *P. aeruginosa* pathovars diyaliz zarı üzerindeki biyofilmleri prosedürler ve ardından kompleksin agregasyonunda piperasilin antibiyotik difüzyonunu sınırlar. Bakterilerin biyofilminin birçok antibiyotik grubuna/sınıfına direnç gösterdiğine atıfta bulunmak önemlidir (Ryder *et al.* 2007).

## 2.9 *P. aeruginosa*'nın Antimikrobiyal Direnci

Geniş bir *P. aeruginosa* suş grubu, enfeksiyonları kontrol etmede zorluk sağlayan birçok antibakteriyel ajana veya antibiyotik sınıfına dirençlidir. *Pseudomonas* türlerinin direnci, modifikasyon enzimi, akış sistemi yoluyla geçirimsizlik direnci, dış membran modifikasyonu, biyofilm direnci, çekirdek algılama yoluyla direnç ve adaptif direnç, kazanılmıştır direnç ve içsel direnç gibi diğerleri nedeniyle geniştir. Şekil (1-2), *P. aeruginosa* dirençlerinin bazı mekanizmalarını açıkça göstermektedir. *Pseudomonas* türlerindeki direnç gelişiminin arkasındaki direnç mekanizması ve modeli, araştırmacılar arasında ana endişe olarak kabul edilir, çünkü bu özel husus, *P. aeruginosa*'nın neden olduğu poli-profilaktik ve enfeksiyon azaltma prosedürlerinin geliştirilmesine yardımcı olmaktadır (Mohanty *et al.* 2020).




**Şekil 2.2** *P. aeruginosa* çeşitli antibakteriyel maddelere veya antibiyotik sınıflarına direnç (1.Enzimin modifikasyonunu, 2. Geçirimsizlik direncini, 3. Akış sistemini, 4. Dış membran modifikasyonunu) (Mohanty *et al.* 2020).

*P.aeruginosa*'nın neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde antibiyotiklerin gelişigüzel ve yaygın bir şekilde kullanılması çeşitli antibiyotiklere karşı çoklu dirençli suşlarınortaya çıkmasına yol açtığından, bakterilerin antibiyotiklere karşı direnci halk sağlığının temel sorunlarından biri haline gelmiştir. Özellikle hastanede yatan hastalarda tedavi miktarının ve tedavi süresinin artması nedeniyle sağlık ocaklarında ekonomik kayba neden olan temel sorunlardan biridir (Yusuf *et al.* 2017).

*P.aeruginosa'*nın direnci, Internist direnci ile temsil edilir ve bakterinin dış duvarının geçirimsizliği nedeniyle antibiyotikler üzerinde çok az etkisi olan genetik özelliklerden sorumlu bakterilerin doğal direncinin bir göstergesi olarak adlandırılmıştır. Antibiyotikleri hücre dışına taşıma yeteneği ve transpozonların neden olduğu belirli antibiyotiklere maruz kaldıktan sonra daha önce duyarlı olan bakterilerin dirençli suşlarının ortaya çıkması nedeniyle kazanılmıştır. Direnç, kromozomal mutasyonlar, plazmit direnci veya akış pompaları suşların farklılığını ortaya koymaktadır (Ekizoğlu *et al.* 2016).

*P.aeruginosa*'nın birden fazla antibiyotik türüne direnmek için sahip olduğu mekanizmalardan biri oprD (Dış membran porin proteini) tipi porinler adı verilen protein yuvalarını içeren *P.aeruginosa* bakterilerinin dış zarının geçirgenliğinde bir değişiklik ve bu yuvaların konumlarındaki herhangi bir değişikliktir antibiyotik direncine yol açar (Cox *et al.* 2015).

Diğer bir direnç mekanizması, penisilinaz ve sefalosporin enzimleri tarafından temsil edilen beta-laktamazların üretilmesidir çünkü bu enzimler antibiyotiğin oluşumunda beta-laktam halkasını parçalayarak onu etkisiz bir antikor haline getirir. Bu antibiyotiklerin yaygın ve gelişigüzel kullanımı genişletilmiş spektrumlu beta-laktamazların üretimi ile temsil edilen birçok yolla bu bakterilere karşı direncin arttırılmasında rol oynamıştır (Ullah *et al.* 2017). Efflux sistemi, *P. aeruginosa*'nın başka bir mekanizmasıdır. (MexAB-OprM) β-laktamaz, Makrolid, Tetrasiklin, trimetoprim ve kinolonları hücre dışına pompalayarak direnmeye çalışan özelliklere sahiptir (Brooun *et al.* 2000, Kiser *et al.* 2010). MexXY-oprM tarafından temsil edilen akış sistemi, bu bakterilerin anti-aminoglikozitlere direncinden sorumludur. Çalışma

*P.aeruginosa* bakterilerinin sürekli olarak Anti-aminoglikozitlere maruz kalmasının bu sistem aracılığıyla dirençlerini uyardığını göstermiştir (Morita *et al.* 2014).

Hedef bölgedeki değişiklik, *P.aeruginosa*'nın beta-laktam antibiyotiklere direncinin mekanizmalarından biridir, çünkü bölge (PBP'ler) beta-laktam antibiyotiklerin bağlanmasını, yani ondan sorumlu genlerdeki bir genetik mutasyonu temsil eder. Plazmitler üzerinde taşınarak bu bölgede değişikliğe neden olarak bakteri hücresinde hedef bölgede antagonistin tanınmamasına neden olur (Sun *et al.* 2014). Bu bakterilerin anti-glikozitlere direncine gelince, küçük (30S) ribozomal birim değiştirilir. Bu da grubun antibiyotik aktivitesinin yanı sıra antibiyotik molekülünü değiştiren Modifiye edici enzimlerin kaybına yol açar (Cox *et al.* 2015). *P.aeruginosa*'nın anti-kinolonlara direnci, DNA (Deoksiribonükleik asit) giraz enzimindeki kromozomal mutasyonlardan kaynaklanmıştır (Morita *et al*. 2014).

## 2.10 Tıbbi Bitkiler

İlaç alanında tıbbi bitkilerin kullanımı önemli ölçüde artmıştır. Tüm dünyada bu alandaki birçok araştırmacı ishal, ateş, soğuk algınlığı ve diğerlerinin tedavisi de dahil olmak üzere birçok terapötik rahatsızlık için kullanılan şifalı bitkileri incelemeye odaklanmıştır. Şifalı bitkilerin kullanımı insanlar arasında yaygınlaşmış ve halk hekimliği olarak bilinen kavram gelişmiştir (Khafagi and Dewedar 2000).

Tıbbi bileşiklerin bir kaynağı olarak bitkiler, eski çağlardan beri insan sağlığının korunmasında baskın bir rol oynamaya devam etmiştir. Dünya Sağlık Örgütü'ne göre bitki özleri veya etken maddeler dünya nüfusunun %80'inin geleneksel tedavilerinde halk ilacı olarak kullanılmaktadır. Tüm modern klinik ilaçların %50'den fazlası doğal ürünlerden kaynaklanmaktadır (Kirbağ *et al.* 2009).

Birçok fitokimyasalın spesifik işlevi hala belirsizdir; bununla birlikte, önemli sayıda çalışma, bitkilerin/zararlıların/hastalıkların etkileşiminde yer aldıklarını göstermiştir.

O halde bitki ekstraktlarının ve fitokimyasalların antimikrobiyal taraması, antimikrobiyal ilaç keşfi için bir başlangıç noktası teşkil etmektedir. Fitokimyasal çalışmalar, yeni ve sofistike tekniklerin gelişmesi nedeniyle bitki bilim adamlarının dikkatini çekmiştir. Bu teknikler, ilaç endüstrisi için ek hammadde kaynakları arayışında önemli bir rol oynamıştır (Shakeri *et al.* 2012).

Tıbbi bitkiler, bakteri veya mantar gibi patojen mikroorganizmalara karşı aktiviteleri ile bitkileri hastalıklardan korumada rol oynayan farklı bileşikleri içerir. Ancak bu mikroorganizmalar sürekli olarak bu antibiyotiklerin üzerlerindeki etkilerine karşı direnç geliştirmek ve yeni etken maddeler ekleyerek sürekli çalışırlar. Bu problemlere dayalı olarak patojenik mikroorganizmaları yok etme yeteneğine sahiptir ve antibiyotik geliştirmek gerekli hale gelmiştir (Gupta and Birdi 2017).

### 2.10.1 *Calendula officinalis*

Asteraceae familyasına ait bir bitkidir (Çizelge 2.2), Hindistan, Çin, Avrupa ve Amerika Birleşik Devletleri'nde yaygın olarak kullanılan, ekonomik ve tıbbi öneme sahip bitkidir (Muley *et al.* 2009).

**Çizelge 2.2** *Calendula officinalis*'in bilimsel sınıflandırması (Muley *et al.* 2009).

| | |
|---|---|
| **Alem** | Plantae |
| **Şube** | Magnoliophyta |
| **Sınıf** | Magnoliopsida |
| **Takım** | Asterales |
| **Familya** | Asteraceae |
| **Cins** | *Calendula* |
| **Türler** | *C. officinalis* |



**Şekil 2.3** *Calendula officinalis* (Safdar *et al.* 2010).

Hindistan'da halk tıbbında geniş kullanımları vardır. Çiçekler, ağrıyan yaraları tedavi etmek ve kanı temizlemek için merhem yapmak için kullanılmıştır. Yapraklar ayrıca İngiltere'de varisleri harici olarak tedavi etmek için bir macun yapmak, ayrıca kızamık ve çiçek hastalığını tedavi etmek için kullanılmıştır. Sarılık tedavisinde ve antispazmodik olarak kullanılırken, suyu kabızlığı tedavi etmek ve adet kanamasını bastırmak için kullanılmıştır (Khare 2004).

*Calendula officinalis* bitkisinin köklerinden yapraklarından çiçeklerinden alınan ekstraktların birçok bakteri türü için antibakteriyel olarak doğrudan bir etkiye sahip olduğunu doğrulanmıştır (Bissa and Bohra 2011).Çünkü bu ekstraktlar ayrıca immün yetmezlik hastalığına karşı farmakolojik aktivite göstermiştir (Muley *et al.* 2009).Bu ekstraktların hemorajik hastalıkların tedavisindeki etkinliği araştırılmıştır (Amoian *et al.* 2010).

Bu, krizantem bitkisinin özlerinin farmakolojik ve farmakolojik aktivitesinden kaynaklanmaktadır. Çünkü iyi bilinen Calenduladiol-3-miristat bileşiği gibi terpenlerin yanı sıra flavonoidler, Comarine, Narcissin, Rutin ve Esansiyel yağdan çeşitli bileşikler dahil olmak üzere etkili kimyasal bileşikler içermektedir. Bitki büyümesinin farklı aşamalarındaki farklı kısımları için, ayrıca bitkinin farklı kısımlarının alkollü ekstraktlarında on beş çeşit amino asit olduğu kanıtlanmıştır. Örneğin, arginin, alanin,

aspartik glutamik, histidin, valin, asit ve diğerleri dahil olmak üzere çok sayıda karbonhidratın yanı sıra daha yaygın olarak Calendar olarak bilinen Loliolide bileşiğini içermektedir (Muley *et al.* 2009).

### 2.10.2 *Myrtus communis*

*Myrtus communis*, Myrtaceae familyasına ait aromatik bir yıllık bitkidir (Çizelge 2.3). Yüksekliği iki metre veya daha fazla olan, yaprak dökmeyen çalılardır, yaprakları salkım şeklinde, oval, iç içe, pürüzsüz, parlak, kösele ve hoş kokulu bir aromaya sahiptir, çiçekler kokulu beyaz, meyveler basit, pürüzsüz, siyah ve tohumlar yoğun kapaklı beyazdır (Wilson 2011) (Şekil 2.4 ).

**Çizelge 2.3** *Myrtus communis* 'in bilimsel sınıflandırması (Wilson 2011).

| | |
|---|---|
| **Alem** | Plantae |
| **Şube** | Tracheophyta |
| **Sınıf** | Magnoliopsida |
| **Takım** | Myrtales |
| **Familya** | Myrtaceae |
| **Cins** | *Myrtus* |
| **Türler** | *Myrtus Communis* |



**Şekil 2.4** *Myrtus communis* (Sumbul *et al.*2011).

Bitkinin yaprakları, normal ishal ve kanlı ishal gibi antiseptik ve iltihap önleyici maddeler ve diş etlerinin iltihaplı hastalıklarının tedavisinde etkili maddeler içerir (Twaij and Jalil 2009).

Aynı zamanda antioksidanlar içerir, ağrı kesici özelliği de vardır (Akin *et al.* 2010). *Myrtus communis* yaraları tedavi etmek ve iyileştirmek için kullanılmış ve yan etkilere neden olmadan yaraları iyileştirmede önemli bir etkiye sahiptir (Villegas *et al.* 1997). Çeşitli çalışmalarda alkol ekstraktların gram pozitiflere karşı inhibitör aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir (Grierson and Afolayan 1999).

# 3. MATERYAL VE YÖNTEM

Samarra Devlet Hastanesinden 2021 yılı Nisan ayı ortasından 2021 yılı Haziran ayı sonuna kadar yaşları 1 ile 60 arasında değişen her iki cinsiyetten (erkek ve kadın) yanık ve yaralardan 100 adet örnek alınmıştır.

## 3.1 İzolasyon Ve Teşhis Çalışmaları

*P.aeruginosa* izolasyon ve tanımlama çalışmalarında %5 koyun Kan agarı (Himedia / Hindistan), Müller Hinton ağarı (Himedia / Hindistan), MacConkey agarı (Himedia / Hindistan), Besin agarı (nütrient agarı) (Oxoid / İngiltere) , Setrimid agarı (Himedia / Hindistan) medya kullanılmıştır.

Antibiyotik duyarlılık testlerinde disk difüzyon için Mueller Hinton agar, broth mikrodilüsyon testinde katyonlu Mueller Hinton broth besi yerleri kullanılmıştır. Tüm besi yerleri üretici firmanın önerileri doğrultusunda hazırlanmıştır. Hazırlanan besiyerleri sterilite kontrolü için 37 $^{o}$C de 18 saat bekletildikten sonra kullanılıncaya kadar + 4 $^{o}$C de saklanmıştır.

### 3.1.1 Besiyerleri

#### a. Besin agar (Nütrient Agar)

Nütrient agarın (28 g) 1000 mL distile suda çözülmesiyle hazırlanmıştır. Saf koloniler elde etmek ve izolatların geçici olarak korunması için onlardan habitatlar hazırlamak için bakteri üremesi ve sayımı için kullanılmıştır (Macfaddin 2000).

#### b. Kanlı agar

Kanlı agar baz besiyeri üreticinin talimatlarına göre hazırlanmış ve otoklavda sterilize edildikten sonra 40-45°C'de soğutulmuş, besiyerine %5 kan eklenerek steril Petri

kaplarına dökülmüştür. Kanlı agar besiyeri, bakteri kültürü ve hemoliz tipinin tespiti için uygundur. Bakterilerin gelişimi için zengin bir besiyeridir ve bakteri izolatlarının kanı analiz etme ve bozunma türünü ayırt etme yeteneğini bilmek için kullanılmıştır (Collee *et al.* 1996).

**c. Setrimid agar**

Setrimid agar (45,3g) 1000 mL distile suda eritilerek stramit agar besiyeri hazırlanmış, ardından 10 mL gliserol ilave edilmiştir. Ardından 121°C'de ve 1.2 atm basınçta 15 dakika boyunca buharla sterilize edilmiştir. Stiramid agar 45°C'de soğutulduktan sonra (15mg) Nalidiksik asit eklenmiş ve iyice karıştırılmıştır. Katılaşmaya başlayınca sterilize edilmiş kaplara dökülmüştür (Hashim 2013).

**d. MacConkey agar**

Bu ortam 1000 mL distile suya (51,5g) besiyeri ilave edilerek üretici firmanın tavsiyesine göre hazırlanmıştır. Ortam, gram-negatif büyümeye izin veren ve gram-pozitif bakterilerin büyümesini engelleyen safra tuzu içerdiğinden, gram-negatif bakterileri izole etmek kullanılmıştır. Bu yöntemle gram-pozitif ve Gram-negatif bakterilerde ayırt edilmesinin yanında laktozu fermente eden bakteriler ile laktozu fermente etmeyen bakterilerinde ayırımında kullanılmıştır (Govan and Deretic 1996).

**e. Üre agar besiyeri**

Bu ortam (4,6g) 190 mL distile suda çözülerek hazırlanmış, otoklavla sterilize edilmiş, soğutulduktan sonra pH 7.1'e ayarlanmış ve ortama 10 mL üre (%20) ilave edilmiştir. Sterilize edilmiş test tüplerine dağıtılmış ve eğik bir biçimde katılaşmasına izin verilmiştir. Bakterilerin üreaz enzimleri üretme kabiliyetini araştırmak, üreaz üreten bakterilerin tespitini kullanmak için kullanılmıştır (Forbes *et al.* 2007).

**f. Muller-Hinton agar**

Ortam 1000 mL distile suya (38g) besiyeri ilave edilerek hazırlanmıştır. Antimikrobiyal duyarlılık testi modelini belirlemek, izole bakteri türleri üzerinde antibiyotiklere ve bitki ekstraktlarına duyarlılık testi yapmak için kullanılmıştır (MacFaddin 2000).

**g. MR-VP besiyeri**

Metil kırmızısı-Voges Proskauer besiyeri, 1000 mL distile suya (57,5g) eklenerek hazırlanmıştır. Glikozun kısmi ve tam hidrolizini saptamak, bakteri izolatının aseton ve organik asitler oluşturma yeteneğini belirlemek için kullanılmıştır (MacFaddin,2000).

**h. Simmon's itrat besiyeri**

Simmon sitrat besiyeri (22,8g) 1000 mL distile suda çözülerek hazırlanmıştır. Bakterilerin karbonun tek kaynağı olarak sitratı kullanma kabiliyetinin belirlenmesinde ve tek karbon kaynağı olarak sitratı tüketme kabiliyetine sahip bakterilerin tespit edilmesinde kullanılmıştır (MacFaddin, 2000).

**i. Üçlü şekerli demir**

Toz besiyerinin (57,5g) 1000 mL distile suda çözülmesiyle hazırlanmış, otoklavlanmış ve test tüplerine dağıtılmıştır (MacFaddin, 2000).

### 3.1.2 Reaktiflerin hazırlanması

**a. Oksidaz reaktifi**

Bu reaktif 100 mL distile suya (1g) (Tetrametil-para-fenilen-diamin dihidro klorür) eklenerek hazırlanmış ve steril bir şişede saklanmıştır. Bu reaktif, bakteri izolatının oksidaz enzimini üretme yeteneğini saptamak için kullanılmıştır (Brown and Smith 2017).

**b. Katalaz reaktifi**

Bu reaktif %3 konsantrasyonda reaktif elde etmek için 96 mL damıtılmış su içinde hidrojen peroksit $H_2O_2$'den 4 mL çözülerek hazırlanmıştır. Bu reaktif, bakteri izolatlarının katalaz enzimleri üretme kabiliyetini araştırmak için kullanılmıştır (Tadesse and Alem 2006).

**c. Metil kırmızısı göstergesi**

Bu reaktif 0,1 mL metil kırmızı boyanın 300 mL etil alkol içerisinde %95 konsantrasyonda çözülmesiyle hazırlanmış ve hacmi distile su ile 500 mL ye tamamlanmıştır (Brown and Smith 2017).

**d. Voges-proskauer reaktifi**

A ve B olmak üzere iki çözeltiden oluşur. İlk çözelti (40 g) (Potasyum hidroksit) 100 mL distile suda çözülerek hazırlanmıştır. İkinci çözelti 50 mL alfa naftol ve 100 mL saf Etanol içinde çözülerek hazırlanmıştır. Bu reaktif bakterilerin aseton üretme yeteneğini tespit etmek için Voges-Proskauer testinde kullanılmıştır (Brown and Smith 2017).

**e. Kovac reaktifi**

Bu reaktif (5 g) P-dimetil-amino benzaldehitin 75 mL Isoamil alkol içinde çözülmesiyle hazırlanmış ve ardından 25 mL HCL ilave edilerek steril bir kapta kullanılıncaya kadar buzdolabında saklanmıştır. Reaktif, indol halkası oluşum testinde kullanılmıştır (Brown and Smith 2017).

### f. Normal tuzlu su çözeltisi

Bu çözelti (0,85 g) sodyum klorürün 90 mL distile suda çözüldükten sonra hacim 100 mL ye tamamlanmışve sterilize edilinceye kadar 4°C'de tutularak hazırlanmıştır (Forbes *et al.* 2002).

### g. Gram boyama çözeltileri

Üretici firmanın talimatlarına göre Gram pozitif ve Gram negatif bakterileri ayırt etmek için hazırlanmış ve kullanılmıştır (Brook *et al.* 2001).

### h. Üre çözeltisi

Bu çözelti, %40'lık bir konsantrasyon elde etmek için 50 mL damıtılmış su içinde (20 g) üre tozu çözülerek hazırlanmış ve ardından Millipore Filtreleri kullanılarak süzülerek sterilize edilmiştir (MacFaddin 2000).

## 3.2 *Pseudomonas aeruginosa*'nın Teşhisi

İzole edilenlerin tümü bu morfolojik ve biyokimyasal teste bağlı olarak teşhis edilmiştir.

### 3.2.1 Morfolojik ve mikroskobik teşhis

Birincil kültürün, kültür besiyerinin yüzeyinde büyüyen koloniler, başlangıçta şekil, boyut, renk, doku, koku ve kanlı agar besiyerinde hemoliz, MacConkey agar besiyerinde şeker laktozunun fermantasyonu ve oğul verme olgusu açısından kültürün özelliklerine göre karakterize edilmiştir. Mikroskobik inceleme ile bakteriyel, Gram boyama ile boyandıktan ve ardından ışık mikroskobunun yağ merceği altında incelendikten sonra bakteri hücrelerinin boyutu, şekli ve Gram boyama ile toplanma ve etkileşim şekli gözlemlenmiştir (Betsy and Keogh 2005).

### 3.2.2 Biyokimyasal testler

#### a. Katalaz testi

Genellikle aerobik ve anaerobik mikroorganizmaların sahip olduğu katalaz enzimi, Serbest oksijenin gaz kabarcıkları şeklinde gözlenebilmesi, hidrojen peroksitin bozunmasına ve buna bağlı olarak katalaz enziminin varlığına işaret etmektedir. Bu test besin agar besiyeri üzerindeki genç kolonilerin bir kısmının steril bir yağ kullanılarak temiz bir cam slayta aktarılması ve ardından bakteri kültürüne bir damla hidrojen peroksit ($H_2O_2$) eklenmesiyle gerçekleştirilmiştir (Forbes *et al.* 2007).



**Şekil 3.1** Katalaz testi, gaz kabarcıklarının görünümü (test pozitif)

#### b. Oksidaz testi

Sitokrom C oksidaz enziminin varlığını kontrol etmek için bir testtir ve bakterileri sınıflandırmak için kullanılmıştır. Bu test genç koloninin bir kısmının steril bir tahta çubuk vasıtasıyla oksidaz reaktifi (%1 konsantrasyonda Tetrametil-p-fenil diamin dihidroklorür) ile doyurulmuş bir filtre kağıdına besleyici agardan aktarılmasıyla gerçekleştirilmiştir (Josephine *et al.* 2006).



**Şekil 3.2** Oksidaz testi, mor görünümü (test pozitif)

### c. İndol testi

Bu test, mikroorganizmaların bir aminoasit olan triptofanı ayrıştırarak indol meydana getirebilme yeteneğini belirlemek için kullanılmıştır. Bu test pepton suyu içeren tüplerin test edilecek bakterilerle aşılanması ve 37°C sıcaklıkta 24-48 saat süreyle inkübe edilmesiyle gerçekleştirilmiştir. Daha sonra inoküle edilen tüplere 0,5 mL Kovacs reaktifi eklenmiştir. Reaktifi ekledikten sonra Sarı bir halkanın ortaya çıkması, testin negatif olduğunun bir göstermiştir (Mahon *et al* 2011).



**Şekil 3.3** İndol testi, sarı bir halkanın ortaya görünümü (test negatif)

### d. Metil Kırmızısı testi

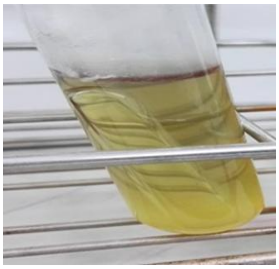
Bu test, ortamda organik asitlerin oluştuğunu ve glikozun fermentatif metabolizması sonucunda pH'ın düştüğünü ortaya çıkarmak için yapılmıştır. Bu test bakteri izolatının glikoz şekerini fermente etmesi ve organik asitler oluşturması, bakteri kolonileri ile MR-VP besiyeri içeren aşılanmış tüpler oluşturma yeteneğini araştırmak için yapılmıştır. 24-48 saat 37°C'de inkübe edildikten sonra her tüpe 5 damla metil kırmızısı reaktifi eklenmiştir (Mahon *et al.* 2011).



**Şekil 3.4** Metil kırmızısı testi, sarı renginin görünümü (test negatif )

### e. Voges-proskauer testi

Bu test, belirli mikroorganizmaların glikozu fermente ederek nötr bir ürün, asetilmetilkarbinol (asetoin) oluşturma yeteneğini belirlemek için kullanılmıştır. (MR-VP) besiyeri 37°C sıcaklıkta 48 saat inkübe edilen genç bir bakteri kolonisi ile aşılandığından, bu işlemlerin arkasından 6 damla 5 alfa- naftol eklendi ve her tüpe 3 damla potasyum hidroksit iyice çalkalanarak eklenmiştir (Brown and Smith 2017).



**Şekil 3.5** Voges proskauer testi, sarı renginin görünümü (test negatif )

### f. Sitrat testi

Bu test, mikroorganizmaların ortama eklenen sitratı karbon kaynağı olarak ve amonyum tuzlarını nitrojen kaynağı olarak kullanma yeteneğini belirlemek ve bakteri cinslerini ve türlerini belirlemek için kullanılmıştır. Sitrat, enzim sistemi tarafından bakteriler tarafından hidrolize edilir (sitrat metabolizması). Sitrat besiyerinin habitatları bakteri izolatları ile aşılandı ve ardından 18-24 saat 37°C'de inkübe edilmiştir (Cappuccino and Welsh 2018).



**Şekil 3.6** Sitrat testi, ortamın renginin yeşilden maviye değişmesi (test pozitif)

### g. Üreaz testi

Bu test, mikroorganizmalarda üreyi parçalayan üreaz enzimini saptamak için yapılmıştır. Bu test üre besiyerinin besiyerinin yüzeyine çizilerek bakteri kültürü ile aşılanması ve 37°C'lik bir sıcaklıkta 24 saat süreyle inkübe edilmesiyle gerçekleştirilmiştir (Obeid and Abbas 2015).



**Şekil 3.7** Üreaz testi, sarı renginin görünümü (test negatif )

### h. Kligler testi

Bu test, dekstroz ve laktozu fermente etme ve sülfit üretme yeteneklerine dayalı olarak Gram-negatif enterokok basillerini ayırt etmek için kullanılmıştır. Bu test temizlenmiş dönümlük habitatlara, çizim ve bıçaklama yoluyla bakteri kültürü aşılanarak ve ardından 37°C'de 24 saat süreyle inkübe edilerek gerçekleştirilmiştir. Sarıya fenol kırmızısı reaktif damlaları ekleyerek besiyerinin rengini değiştirerek, veya besiyeri kırmızı renkte bir değişiklik olmadan kalır, veya besiyerinin eğimli kısmının yüzeyinin rengini değiştirmeden besiyerinin tabanının rengi değişir (Forbes *et al.* 2007).




**Şekil 3.8** Kligler testi, Gaz (negatif), $H_2S$ (negatif)

## 3.3 Bakteri İzolatlarının Korunması ve Sürdürülmesi

Bakteriyel izolatlar iki şekilde saklamıştır (Green 2015) Bunlar;

### A) Kısa süreli saklama

Bakteriyel izolatlar, kalp ve beyin infüzyon besiyerinde yeniden aktif hale getirilerek her ay periyodik olarak yenilendiği ve çalışma süresi boyunca hayatta kalmalarını sağlamak için eğimli kültür besiyerlerinde büyütülmesi dikkate alınarak, buzdolabında 4°C'de Slant besin besiyerinde tutulmuştur.

### B) Uzun süreli saklama

Teşhis edilen bakteri izolatları steril bir kalp-beyin infüzyon besiyerinde tüplere dağıtılmış, tüp başına 5 mL miktarında (genetik özelliklerini korumak ve özelliklerinin değişmemesini sağlamak için) korunmuştur. Bu işlemden sonra tüplere 1 mL gliserol %20 ekleyin ve tüpü üstte ve altta iyice çalkalanmış ve -20°C'de saklamıştır.

## 3.4 Antimikrobiyal Duyarlılık Testi

Çalışma kapsamındaki izolatlara, Dünya Sağlık Örgütü tarafından açıklanan modifiye Baure-Kiby yöntemine göre disk difüzyon yöntemiyle antibiyotik duyarlılık testi yapılmıştır (Morello *et al.* 2006). Bakteri izolatlarının bir süspansiyonu hazırlanırken Agar Muller Hinton besiyeri kullanılarak beş tip antibiyotik tablet kullanılmıştır. İncelenen izolatların tek bir kolonisi besin sıvı besiyeri içeren tüplere aktarılmış ve tüpler bir süre 35°C sıcaklıkta inkübe edilmiştir. 18-24 saat sonra tüplerdeki büyüme, yaklaşık olarak 1.5 x 108 hücre/mL'ye eşit olan MacFarland çözeltisini içeren tüp ile karşılaştırılmıştır. Steril bir pamuklu çubuk kullanılarak bakteriler Muller-Hinton's agar besiyerine yayılmış ve tabaklar kuruması için 15 dakika bırakılmıştır. Daha sonra antibiyotik tabletleri steril penslerle besiyerinin yüzeyine dağıtılmış ve tabaklar bakteriler için 37°C'de 24 saat ve mantarlar için 26°C'de 3-5 gün süreyle inkübe

edilmiştir. Daha sonra, bakterilerin antibiyotiklere karşı dirençli, duyarlı ve orta dereceli duyarlılığını bilmek için standart bir cetvel kullanılarak inhibisyon bölgesinin çapı ölçülerek ve standart tablolarla (CLSI 2020) karşılaştırılarak sonuçlar okunmuştur.

**Çizelge 3.1** Çalışmada kullanılan antibiyotik diski (CLSI 2020).

| **Antibiyotikler** | **Doz (Mg)** | **Simge** | **İnhibisyon Çapları** | | | **Üretici firma. Ülke** |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | **Duyarlı** | **Orta** | **Dirençli** | |
| **Siprofloksasin** | 10 | CIP | ≥25 | 19-24 | ≤18 | **Bioanalyses-Turkeye** |
| **Levofloksasin** | 5 | LEV | ≥22 | 15-21 | ≤14 | |
| **Tetrasiklin** | 5 | TE | ≥19 | 16-18 | ≤15 | |
| **Ampisilin** | 10 | AM | ≥19 | 16-18 | ≤15 | |
| **Kloramfenikol** | 30 | CH | ≥18 | 13-17 | ≤12 | |
| **Sefaleksin** | 30 | CL | >21 | 19-20 | ≤18 | |

## 3.5 Bitki Ekstraktlarının Hazırlanması

*Myrtus communis* ve *Calendula officinalis* bitkileri Samarra şehrinin aromatik bitki satan dükkanlarından satın alınmış çeşitlerin teşhisi Dr. Omar Khalil Jassim / Bitki Sınıflandırması / Araştırma ve Geliştirme Şirketi / İlaç Endüstrileri Genel Şirketi ve Tikrit Üniversitesi Fen Fakültesinde doğrulanmıştır. Bitki örnekleri tozdan arındırılarak gölge ve havadar bir zeminde kurutulmuştur. Kurutma işleminden sonra bitkiler elektrikli değirmende ince öğütülmüş ve kuru koşullarda steril ve hava geçirmez kaplarda hazır hale getirilmiştir.

### 3.5.1 Sıcak sulu ekstraktların hazırlanması

İncelenen bitkilerin sıcak sulu ekstraktları Al-Jubouri ve Al-Rawi (1994) yöntemine göre her bitki için (25 g) ağırlığında kuru toz olacak şekilde hazırlanmış ve üzerine 250 mL sıcak distile su eklenmiştir. Sulu numuneler 24 saat buzdolabında, ardından

çalkalayıcı da 24 saat çalkalanmıştır. Bitkinin büyük kısımlarından kurtulmak için ekstraktı birkaç kat gazlı bezle süzülmüş ve ardından Whatman No.1 filtre kağıdı kullanarak konsantre edilmiştir. Ekstrakt, konsantre ekstrakt elde edilene kadar 40°C'yi geçmeyen bir sıcaklıkta döner bir buharlaştırıcı kullanılarak su buharlaştırıldıktan sonra steril, opak bir şişede buzdolabında kullanılana kadar saklanmıştır.




**Şekil 3.9** *Myrtus communis* ve *Calendula officinalis* su ekstraktları

### 3.5.2 Alkol ekstraktların hazırlanması

Bitkiler için etanol ve metanol ekstraktı, Shtayeh ve Abu-Ghdeib (1999) e göre hazırlanmıştır. Bitkilerin (25 g) kuru tozu üzerine %70 konsantrasyonda 250 mL metanol ve etanol ilave edilmiştir. Şişeler oda sıcaklığında sabit bir derecede 24 saat çalkalayıcıda tutulmuştur. Gazlı bez katmanlarından, ardından Whatman No.1 filtre kağıtı ve bir Buchner hunisinden süzülerek elde edilen süzüntü bir kapta toplanmıştır. Ardından çözücünün uzaklaştırılması amacıyla Rotary evaporatör ile 60°C'de buharlaştırılmıştır. Ekstrakt miktarının dörtte birine ulaşıldığında ise, karışım klorofilden ayrılması amacıyla Whatman No.1' filtre kağıdından süzülmüştür. Çözücünün tamamen uzaklaştırılması amacıyla tekrar Rotary evaporatöre alınmıştır. Burada elde edilen ekstrakt alındıktan sonra sterilize edilmiş opak şişelere yerleştirilerek etiketlendikten sonra kullanılana kadar buzdolabında saklanmıştır.




**Şekil 3.10** *Myrtus communis* ve *Calendula officinalis* etanol ve metanol ekstrakları

### 3.6 Bitki Ekstraktlarının *P.aeruginosa*'ya Karşı Önleyici Aktivitesini Testi

Agar difüzyon yöntemi, bakteriler için Muller Hinton agar ve mantarlar için patates dekstroz agar üzerinde 6 mm çapında olmak üzere karışmayı önlemek için eşit çaplarda delikler açmak için mantar delici ile açılan kuyularla kullanılmıştır. Daha sonra bakterinin besin besiyerinin (400, 200, 100, 50,25 12,5, mg/mL) konsantrasyonlarında bitki ekstraktlarına duyarlılığını test etmek için besiyerine 0,1 mL bakteri yaydıktan sonra delik başına 0,5 mL oranında bitki çözeltilerini yerleştirilmiştir. Daha sonra plakalar, bitki solüsyonlarının difüze edilmesi için bir saat buzdolabında bırakılmıştır. Bakteriler için 37°C'de 24 saat, mantarlar için ise 26°C'de 3-5 gün süreyle inkübe edilmiş, inhibisyon bölgesinin çapını ölçerek sonuçlar okunmuştur (Saxena *et al.* 1995).

### 3.7 Antibiyotiklerin *P.aeruginosa* 'ya Karşı Inhibitör Aktivitesini Testi

Bakteri izolatlarının antibiyotik tozlarına duyarlılığını test etmek amacıyla bir dizi dereceli antibiyotik toz dilüsyonları hazırlandı ve belirtilen (100, 50, 25, 12.5, 6.5, 3.12 mg/mL ) dilüsyonları alınmıştır. Muller Hinton Agar'ın besiyeri bir ölçülü balonda hazırlanmış ve bir oksitleyici ile 121°C sıcaklıkta çeyrek saat ve 15 psi/ing$^2$ basınçta sterilize edilmiştir. Çeyrek saat kurumaya bekletilmiştir. Yukarıdaki konsantrasyonlar için bir mantar matkabı vasıtasıyla sondaj yapılmış ve buna altı konsantrasyon ilave edilmiştir. Daha sonra kaplar, inkübatörde 37 °C sıcaklıkta 24 saat inkübe edilmiştir. İnhibisyon alanlarının sonuçları, bir sonraki gün standart bir cetvel kullanılarak kaydedildi ve izole edilen ekstraktların inhibisyon bölgesinin çapını ölçerek sonuçlar okunmuştur (CLSI, 2020).

### 3.8 Antimikrobiyal Aktivite Için Tarama

Etanol ve sıcak sulu *Calendula officinalis* (Çiçekler), *Myrtus communis* (Yapraklar) ekstreleri ve antibiyotikler, agar kuyusu difüzyon yöntemi ile antimikrobiyal aktivitenin değerlendirilmesi için kullanılmıştır (Ahmad and Beg 2001). Bu yöntemde, her bir mikrobun saf izolatı, agar besiyeri plakaları üzerinde 37$^o$C'de 24 saat boyunca alt

kültürlendi her mikroorganizmadan birer tabak alınmış ve en az dört koloniye steril bir öze ile ekilmiştir. Aseptik koşullar altında %0,85 normal saline aktarılmış, her mikrobiyal süspansiyonun yoğunluğu, 106 cfu/mL'ye eşit olarak ayarlanmıştır. 0,5 McFarland standardı ile standardize edilmiiş ve agar kuyusu difüzyon tahlilini gerçekleştirmek için aşı olarak kullanılmıştır. Her test organizmasından yüz mikrolitre (100 µL) inokulum, birleşik bir büyüme elde etmek için agar plakalarına yayılmıştır. Agar plakalarının kurumasına izin verilmiş ve aşılanmış agar plakalarında steril bir delici ile 8 mm'lik oyuklar yapılmıştır. Her kuyunun alt kısmı bir miktar spesifik erimiş agar ortamı ile kapatılmıştır. Kurutulmuş özler, biyoanaliz analizi için %20 dimetilsülfoksit (DMSO) içinde yeniden oluşturulmuştur (Rajasekaran *et al.* 2008).

Her bir ekstrakt ve antibiyotikten 100 µL hacim, her test organizması için aşılanmış agar plakalarının üç kopyası halinde doğrudan kuyulara konulmuştur. Plakaların, özütün agar içine difüzyonu için 1 saat beklemesine izin verilmiş ve 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir (Rios *et al.* 1980). Steril DMSO %20, bakteriler için negatif kontrol ve ciplox olarak görev yapmıştır. Özü içeren kuyuyu çevreleyen bir inhibisyon bölgesi ile gösterilen antimikrobiyal aktivite, inhibisyon bölgesi 8 mm 40'tan büyükse kaydedilmiştir. Deneyler üç kopya halinde yapılmış ve ± standart sapma ile inhibisyon bölgelerinin çapının ortalama değerleri hesaplanmıştır.

### 3.9 Minimum Inhibitör Konsantrasyonunun (MIK) Belirlenmesi

Her bir ekstraktın ve antibiyotiklerin iki kat seri seyreltmesi, önce 400 mg/mL kurutulmuş ekstraktı DMSO Etanol ekstraktı ve steril damıtılmış su sulu ekstraktları ve antibiyotikler içinde sulandırılarak hazırlanmıştır. Ardından 400 mg/mL ila 12,5 mg/mL'lik azalan bir konsantrasyon aralığı elde edilmiştir. Bitki özleri ve 100 mg/mL ila 3,12 mg/mL antibiyotik aralığında her seyreltmeden 100 µL'lik bir hacim, agar plakalarındaki kuyulara (üç kopya halinde) yerleştirilmiştir. Tüm test plakaları aerobik olarak 37$^{o}$C'de 24 saat inkübe edildi ve inhibisyon bölgeleri için gözlemlenmiştir. Mikrobun büyümesini tamamen engelleyen test özütünün en düşük konsantrasyonu olarak alınmış ve >8 mm'lik net bir inhibisyon bölgesi ile gösterilen MIK, her test organizması için kaydedilmiştir (Okeke *et al.* 2001).

### 3.10 Antibiyotiklerle Karıştırılmış Bitkisel Özler

Antibiyotiklerin minimum inhibitör konsantrasyonu alınmış ve tüm konsantrasyonlarda bitki ekstraktları ile karşılaştırılmıştır. 50 µL bitki özü ile birlikte agar plakalarının oyuklarına (üç kopya halinde) 50 µL antibiyotik ilave edilmiştir. Tüm test plakaları aerobik olarak 37°C'de 24 saat inkübe edilmiş ve inhibisyon bölgeleri açısından gözlemlenmiştir.

### 3.11 İstatistiksel Analiz

Çalışma parametrelerinde farklı faktörlerin etkisi için İstatistiksel Analiz Sistemi-SAS (2012) programı kullanılmıştır. Bu çalışmada anlamlı karşılaştırma yüzdeleri için Ki-kare testi kullanılmıştır.

# 4. BULGULAR

## 4.1 İzolasyon Sonuçları

Yaşları 1-60 yaş arasında değişen kadın ve erkek hastaların yanık ve yaralarından 100'er adet sürüntü örneği toplanmıştır (Çizelge 4.1). Örnekler uygun besiyerinde kültüre edildikten sonra 37 $^{o}$C'de 18-24 saat inkübe edilmiştir. Enfeksiyonlarında sırasıyla (%40) ve (%60) oranıyla kadınlarda enfeksiyon oranının erkeklerden daha yüksek olduğunu göstermiştir.

**Çizelge 4.1** Cinsiyete göre yara ve yanık enfeksiyonlarından alınan örneklerin oranları

| **Cins** | **İzole** | | **Yanıklar** | | **Yaralar** | | ***P. aeruginosa*** | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | **N** | **%** | **N** | **%** | **N** | **%** | **N** | **%** |
| **Erkek** | 48 | %48 | 35 | %46,67 | 13 | %52 | 16 | %40 |
| **Kadın** | 52 | %52 | 40 | %53,33 | 12 | %48 | 24 | %60 |
| **Toplam** | 100 | %100 | 75 | %100 | 25 | %100 | 40 | %100 |
| **Ki-Kare ($\chi^2$)** | | 8.962 | | (P<0.05). | | | | |

Yara ve yanık enfeksiyonlarından alınan örneklerin sayıları ve yüzdeleri yaş gruplarına göre dağılmıştır (Çizelge 4.2). Hastaların yaşları 1 ile 60 arasında değişmekte olup, 33 (%33) yanık ve 7 (%7) yara olmak üzere toplam 40 izolat (%40) ile en yüksek oran 1-10 yaş grubunda gerçekleşmiştir. Bunu 20 (%20) yanık ve 6 (%6) yara toplam 26 izolat (%26) ile 11-20 yaş grubu, 9 (%9) yanık ve 7'si (%7) yara toplam 16 izolat (%16) ile 21-30 yaş grubu, sırasıyla 8 (%8) ve 3 (%3) toplam 11 izolat (%11) ile (31-40) yaş grubu takip ederken (41-50) yaş grubu ve 51 yaş üstü hastalardan sırasıyla 2 (%2), 0 (%0) yanık ve 3 (%3), 2 (%2) yara elde edilmiştir.

**Çizelge 4.2** Yaş gruplarına göre enfeksiyon kaynaklarının dağılımı ve izole edilen bakteri yüzdeleri

| Yaş Grupları | İzole | | Yanıklar | | Yaralar | | *P. Aeruginosa* | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | N | % | N | % | N | % | N | % |
| **1-10** | 40 | %40 | 33 | %33 | 7 | %7 | 23 | %57,5 |
| **11-20** | 26 | %26 | 20 | %20 | 6 | %10 | 10 | %25 |
| **21-30** | 16 | %16 | 9 | %9 | 7 | %7 | 7 | %17,5 |
| **31-40** | 11 | %11 | 8 | %8 | 3 | %3 | 0 | %0 |
| **41-50** | 5 | %5 | 2 | %2 | 3 | %3 | 0 | %0 |
| **51-60** | 2 | %2 | 0 | %2 | 2 | %2 | 0 | %0 |
| **Toplam** | 100 | %100 | 72 | %72 | 28 | %28 | 40 | %100 |

## 4.2 *P.aeruginosa*'nın Teşhisi

Bakteriyel izolatlar, fenotipik ve mikroskobik kültür özelliklerine ve klinik örneklerden izole edilen Gram negatif bakteriler için testleri içeren bir dizi biyokimyasal teste dayanarak teşhis edilmiştir. İlk tanı gelişen bakteri kolonisinin şekline ve gücüne dayandığından ve koloniler ortaya çıktığından, tanıda kullanılan bakteri kolonilerinin soluk renkli göründüğü MacConkey agar olan ve Laktoz Non-Fermentation, Gram boyama yapılan kültür besiyeri üzerindeki bakteri izolatlarının morfolojisine dayanılarak tanı konulmuştur.

**Çizelge 4.3** *P.aeruginosa* izolatlarının fenotipik ve biyokimyasal incelemeleri

| Test | Sonuç |
|---|---|
| Gram boyama | Negatif |
| Hücre Şekli | Çubuklar |
| Macconkey Agar'da Büyüme | Laktozsuz Fermente Edilmiş |
| Cetrimide Agar Üzerinde Büyüme | + |
| 78°C Sıcaklıkta Büyüme | + |
| Oksidaz | + |
| Katalaz | + |
| Üre | - |
| Indol | - |
| Voges Proskauer | - |
| Sitrat Kullanımı | + |
| Üçlü Şeker Ütü | K/K |

(+) pozitif test, (-) Negatif test ,(K) Alkali reaksiyon

## 4.3 Antimikrobiyal Duyarlılık Testi

Bakteri izolatlarının antibiyotiklere karşı direnç ve duyarlılık derecesini disklerden difüzyon yoluyla duyarlılık testi ile göstermekte olup daha sonra (CLSI, 2020) 'de belirtilenler uyarınca standart tablolarla karşılaştırılmıştır (Çizelge 4.4) (Şekil 4.1).




**Şekil 4.1** Yara ve yanık vakalarından izole edilen *P.aeruginosa*'nın antibiyotik dirençleri

**Çizelge 4.4** Yara ve yanık vakalarından izole edilen *P.aeruginosa*'nın antibiyotik dirençleri

| Antibiyotikler | Doz (µg) | Simge | Inhibisyon Çapları | | | *Pseudomonas aeruginosa* | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | Yaralar | | Yanıklar | |
| | | | S | I | R | R %NO | S %No | R %NO | S %No |
| **Siprofloksasin** | 10 | CIP | ≥25 | 19-24 | ≤18 | 0 (%0) | 10 (%100) | 0 (%0) | 30 (%100) |
| **Levofloksasin** | 5 | LEV | ≥22 | 15-21 | ≤14 | 0 (%0) | 10 (%100) | 0 (%0) | 30 (%100) |
| **Tetrasiklin** | 5 | TE | ≥19 | 16-18 | ≤15 | 10 (%100) | 0 (%0) | 30 (%100) | 0 (%0) |
| **Ampicillin** | 10 | AM | ≥19 | 16-18 | ≤15 | 10 (%100) | 0 (%0) | 30 (%100) | 0 (%0) |
| **Kloramfenikol** | 30 | CH | ≥18 | 13-17 | ≤12 | 10 (%100) | 0 (%0) | 30 (%100) | 0 (%0) |
| **Sefaleksin** | 30 | C | >21 | 19-20 | ≤18 | 10 (%100) | 0 (%0) | 30 (%100) | 0 (%0) |
| **Ki-kare ($\chi^2$)** | **12.579 (P<0.01)** | | | | | | | | |

**S=** duyarlı**, I=** orta**, R=** direnç

## 4.4 *M. communis* ve *C. officinalis* Ekstraktlarının Antibiyotiklerle *P. aeruginosa* Üzerindeki Etkisinin Karşılaştırılması

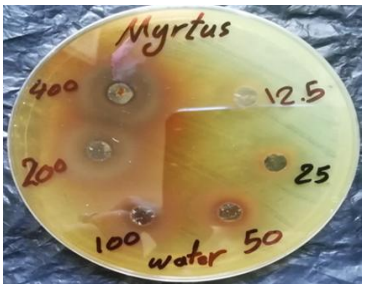
*M.communis* ve *C.officinalis*'in antibiyotiklerle karşılaştırıldığında *P. aeruginosa* üzerindeki etkisi su ve alkol *M.communis* ekstraktının tüm konsantrasyonlarının *P.aeroginosa* üzerindeki inhibitör etkisi arasında önemli farklılıklar olduğunu göstermiştir (Çizelge 4.5). *M.communis*'in su ekstraktının (400, 200, 100, 50,25, 12.5 mg/mL) olan konsantrasyonları sırasıyla 20, 18, 16, 15, 12, 11 mm inhibisyon çap oranlarını verirken, *M.communis* alkol ekstraktı için sırasıyla 15, 12, 11, 10, 8, 6 mm inhibisyon çap oranları verilmiştir.

*M.communis* suyu ekstraktının en yüksek inhibitör aktivitesinin ortalama 20 mm inhibisyon çapı ile 400 mg/mL konsantrasyonunda olduğu, en düşük inhibisyon aktivitesinin 12,5 mg/mL konsantrasyonunda ve inhibisyon çapının yukarıda bahsi geçen bakteriye karşı 11mm olduğu gözlenmiştir. *M.communis* alkol ekstraktı en yüksek inhibitör aktiviteyi 400 mg/mL konsantrasyonda ve ortalama 15 mm inhibisyon çapı ile verirken, en düşük inhibisyon aktivite 6 mm ortalama inhibisyon çapı ile 12,5 mg/mL konsantrasyonda olmuştur (Şekil 4.2-4.3).

*C.officinalis*'in su ekstraktının (400, 200, 100, 50, 25, 12.5 mg/mL) olan konsantrasyonları sırasıyla 12, 10, 10, 8, 8, 7 mm inhibisyon çap oranlarını verirken, *C.officinalis* alkol ekstraktı için sırasıyla 25, 21, 15, 14, 12, 10 mm inhibisyon çap oranları verilmiştir. *C.officinalis* su ekstraktının en yüksek inhibitör aktivitesinin ortalama 12 mm inhibisyon çapı ile 400 mg/mL konsantrasyonunda olduğu, en düşük inhibisyon aktivitesinin 12,5 mg/mL konsantrasyonunda ve inhibisyon çapının yukarıda bahsi geçen bakteriye karşı 7 mm olduğu gözlenmiştir. *C.officinalis* alkol ekstraktı en yüksek inhibitör aktiviteyi 400 mg/mL konsantrasyonda ve ortalama 25 mm inhibisyon çapı ile verirken, en düşük inhibisyon aktivite 10 mm ortalama inhibisyon çapı ile 12,5 mg/mL konsantrasyonda olmuştur (Şekil 4.4-4.5).

Antibiyotiklerden elde edilen sonuçlar Şekil 4.6, 4.7, 4.8, 4.9 ve Çizelge 4.6'da gösterilmiştir. Antibiyotiklerin 100, 50, 25, 12,5, 6.5,3.12 mg/mL konsantrasyonları,

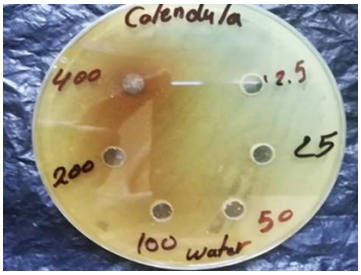
Tetrasiklin için sırasıyla 40, 35, 30, 28, 26, 24 mm Ampisilin, için sırasıyla 10, 8, 0, 0, 0, 0 mm Kloramfenikol için sırasıyla 36, 34, 30, 18, 16, 14 mm ve Cephalexin, için sırasıyla 0, 0, 0, 0, 0, 0 mm. inhibisyon çap oranları verilmiştir.



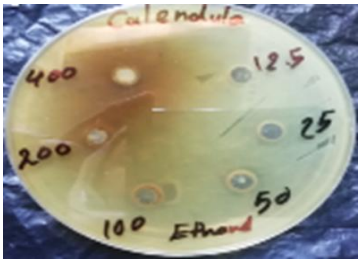

**Şekil 4.2** *Myrtus communis*'in su ekstraktının *P.aeruginosa* üzerindeki etkisi



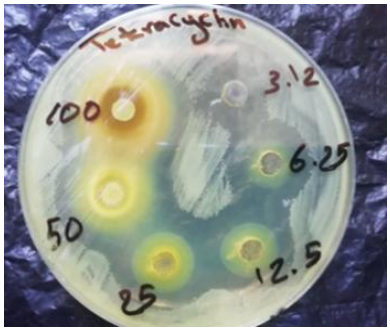

**Şekil 4.3** *Myrtus communis*'in alkol ekstraktının *P.aeruginosa* üzerindeki etkisi



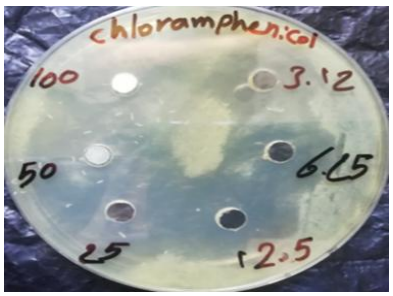

**Şekil 4.4** *Calendula officinalis*'in su ekstraktının *P.aeruginosa* üzerindeki etkisi



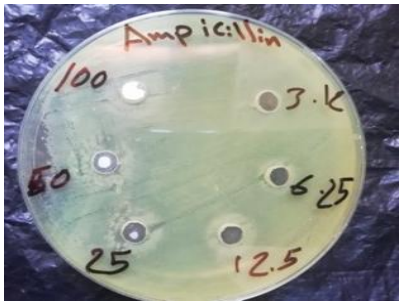

**Şekil 4.5** *Calendula officinalis*'in alkol ekstraktı *P.aeruginosa* üzerindeki etkisi




**Şekil 4.6** *P.aeruginosa* üzerinde Tetrasiklinin etkisi




**Şekil 4.7** *P.aeruginosa* üzerinde Kloramfenikol etkisi




**Şekil 4.8** *P.aeruginosa* üzerinde Ampisilin etkisi




**Şekil 4.9** *P.aeruginosa* üzerinde Sefaleksin etkisi

**Çizelge 4.5** *Myrtus communis* ve *Calendula officinalis* için su ve alkol ekstraktlarının etkileri

| **Doz .mg/mL** / **Ekstrakt** | | **400** | **200** | **100** | **50** | **25** | **12,5** |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| ***Myrutus communis*** | **Su** | 20 aA | 18 aA | 16 bA | 15 bA | 12 cA | 11cA |
| | **Etanol** | 15 aA | 12 bA | 11 bB | 10 bB | 8 cB | 6 cB |
| ***Calendula officinalis*** | **Su** | 12 aA | 10 aA | 10 aC | 8 Bb | 8 bB | 7 bB |
| | **Etanol** | 25 aB | 21 bB | 15 cD | 14 cA | 12 dA | 10 dA |

Yatay olarak benzer olan harfler, aralarında önemLi bir fark olmadığı anlamına gelir.
Dikey olarak benzer olan harfler, aralarında önemli bir farkın olmadığı anlamına gelir.
Duncan'ın Çoklu Aralığı olasılık olarak p≤0.05

**Çizelge 4.6** Antibiyotiklerin *P.aeruginosa*'ya karşı önleyici etkisi

| **Doz. mg/mL** / **Antibiyotik** | **100** | **50** | **25** | **12,5** | **6,25** | **3,12** |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **Tetrasiklin** | 40 aA | 35 bA | 30 bA | 28 aA | 26 aA | 24 aA |
| **Ampisilin** | 10 aB | 8 aB | 0 bB | 0 bB | 0 bB | 0 bB |
| **Kloramfenikol** | 36 aA | 34 aA | 30 aA | 18 bC | 16 bC | 14 bC |
| **Sefaleksin** | 0 aC | 0 aB | 0 aB | 0 aB | 0 aB | 0 aB |

Yatay olarak benzer olan harfler, aralarında önemli bir fark olmadığı anlamına gelir.
Dikey olarak benzer olan harfler, aralarında önemli bir farkın olmadığı anlamına gelir.
Duncan'ın Çoklu Aralığı olasılık olarak p≤0.05

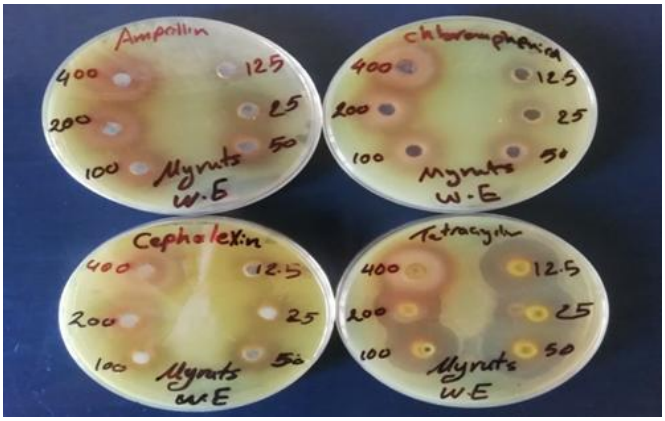
## 4.5 Ekstraktlar ve Antibiyotikler Arasındaki Sinerjik Etki

*M. communis* ve *C.officinalis*'in su ve alkol ekstraktlarının *P.aeruginosa*'ya karşı geliştirilen antibiyotiklerle sinerjik etkisini gözlemlenmiştir (Çizelge 4.7, 4.8, 4.9, 4.10) (Şekil 4.7, 4.8, 4.9, 4.10).

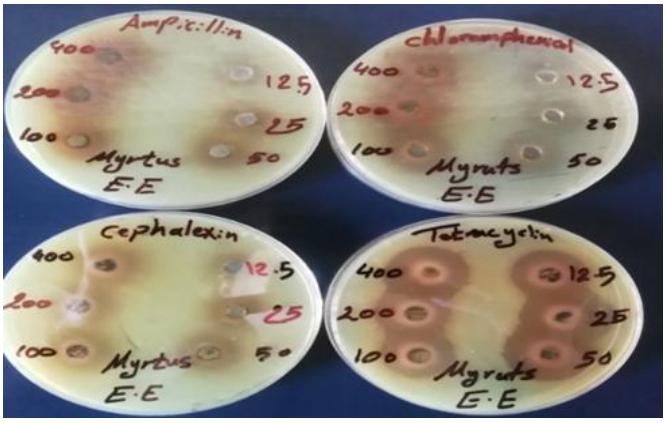
Sonuçlar, sinerjistiğin bakteri izolatının büyümesi üzerindeki etkisinde bir tutarsızlık olduğunu göstermiştir. Antibiyotik konsantrasyonunun 3,12 mg/mL olan en düşük önleyici, su ve alkol ekstraktlar konsantrasyonuyla birleştirildiğinde yüksek etkinlik

verdiğini göstermiştir. *Myrutus communis* ekstreleri için (400, 200, 100, 50, 25, 12.5 mg/mL) konsantrasyonlarına sahip, Tetrasiklin su ekstraktı ile sırasıyla 41, 40, 38, 36, 34, 33 mm inhibisyon çaplarını verirken, alkol ekstraktı ile sırasıyla 28, 25, 24, 22, 21, 21 mm inhibisyon çap oranları verilmiştir. Ampisilin, su ekstraktı ile sırasıyla 21, 17, 16, 15, 14, 12 mm inhibisyon çaplarını verirken, alkol ekstraktı ile sırasıyla 20, 15, 14, 12, 12, 11 mm inhibisyon çap oranları verilmiştir. Kloramfenikol, su ekstraktı ile sırasıyla 32, 29, 27, 26, 25, 24 mm inhibisyon çaplarını verirken, alkol ekstraktı ile sırasıyla 30, 29, 27, 26, 25, 24mm inhibisyon çap oranları verilmiştir. Sefaleksin, su ekstraktı ile sırasıyla 28, 28, 27, 27, 26, 25 mm inhibisyon çaplarını verirken, alkol ekstraktı ile sırasıyla 23, 22, 15, 13, 12, 10 mm inhibisyon çap oranları verilmiştir.

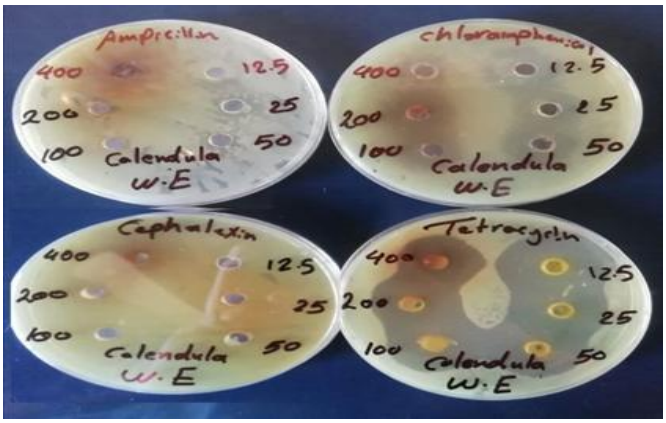
*C.officinalis* ekstreleri için 400, 200, 100, 50, 25, 12.5 mg/mL konsantrasyonlarına sahip, Tetrasiklin, su ekstraktı ile sırasıyla 35, 30, 30, 29, 28, 25 mm inhibisyon çaplarını verirken, alkol ekstraktı ile sırasıyla 32, 30, 30, 28, 27, 25 mm inhibisyon çap oranları verilmiştir. Ampisilin, su ekstraktı ile sırasıyla 13, 10, 0, 0, 0, 0 mm inhibisyon çaplarını verirken, alkol ekstraktı ile sırasıyla 13, 12, 12, 10, 9, 9 mm inhibisyon çap oranları verilmiştir. Kloramfenikol, su ekstraktı ile sırasıyla 20, 19, 15, 14, 13, 11 mm inhibisyon çaplarını verirken, alkol ekstraktı ile sırasıyla 0, 14, 0, 0, 12, 0 mm inhibisyon çap oranları verilmiştir. Sefaleksin, su ekstraktı ile sırasıyla 30, 28, 27, 25, 24, 16 mm inhibisyon çaplarını verirken, alkol ekstraktı ile sırasıyla 25, 22, 20, 18, 17, 17 mm inhibisyon çap oranları verilmiştir.



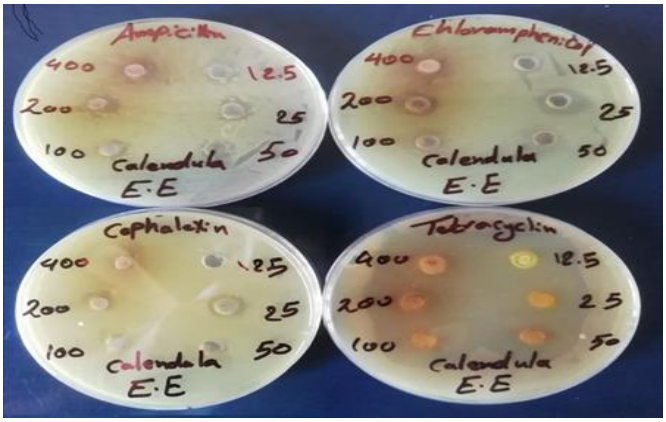

**Şekil 4.10** *Myrtus communis*'in su ekstraktısi ve antibiyotikler arasındaki sinerjistik etki ile *P.aeruginosa*'ya karşı önleyici etki




**Şekil 4.11** *Myrtus communis*'in etanol ekstresi ve antibiyotikler arasındaki sinerjistik etki ile *P.aeruginosa*'ya karşı önleyici etki




**Şekil 4.12** *Calendula officinalis*'in su ekstraktısi ve antibiyotikler arasındaki sinerjistik etki ile *P.aeruginosa*'ya karşı önleyici etki




**Şekil 4.13** *Calendula officinalis*'in etanol ekstresi ve antibiyotikler arasındaki sinerjistik etki ile *P.aeruginosa*'ya karşı önleyici etki

**Çizelge 4.7** *Myrtus communis*'in su ekstraktısi ve antibiyotikler arasındaki sinerjistik etki ile *P.aeruginosa*'ya karşı önleyici etki

| **Doz. mg/mL**<br>**Antibiyotik** | **400** | **200** | **100** | **50** | **25** | **12,5** |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **Tetrasiklin**<br>3,12 mg/mL | 41 aA | 40 aA | 38 Aa | 36 bA | 34 bA | 33 bA |
| **Ampisilin**<br>3,12 mg/mL | 21 aB | 17 bB | 16 bB | 15 bB | 14 bB | 12 cB |
| **Kloramfenikol**<br>3,12 mg/mL | 32 aA | 29 aA | 27 cA | 26 cA | 25 cA | 24 cA |
| **Sefaleksin**<br>3,12 mg/mL | 28 aC | 28 aA | 27 bA | 27Ab | 26 cA | 25 Ac |

Yatay olarak benzer olan harfler, aralarında önemli bir fark olmadığı anlamına gelir.

Dikey olarak benzer olan harfler, aralarında önemli bir farkın olmadığı anlamına gelir.

Duncan'ın Çoklu Aralığı olasılık olarak $p \leq 0.05$

**Çizelge 4.8** *Myrtus communis*'in etanol ekstraktısi ve antibiyotikler arasındaki sinerjistik etki ile *P.aeruginosa*'ya karşı önleyici etki

| **Doz. mg/mL**<br>**Antibiyotik** | **400** | **200** | **100** | **50** | **25** | **12,5** |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **Tetrasiklin**<br>3,12 mg/mL | 28 aA | 25 aA | 24 aA | 22 bA | 21 bA | 21 bA |
| **Ampisilin**<br>3,12 mg/mL | 20 aB | 15 bB | 14 bB | 12 cB | 12 Bc | 11 cB |
| **Kloramfenikol**<br>3,12 mg/mL | 30 Aa | 29 Ca | 27 Cb | 26 Cb | 25 cC | 24 Ac |
| **Sefaleksin**<br>3,12 mg/mL | 23 aC | 22 aA | 15 bB | 13 bB | 12 bB | 10 cB |

Yatay olarak benzer olan harfler, aralarında önemli bir fark olmadığı anlamına gelir.

Dikey olarak benzer olan harfler, aralarında önemli bir farkın olmadığı anlamına gelir.

Duncan'ın Çoklu Aralığı olasılık olarak $p \leq 0.05$

**Çizelge 4.9** *Calendula officinalis*'in su ekstraktısi ve antibiyotikler arasındaki sinerjistik etki ile *P.aeruginosa*'ya karşı önleyici etki

| **Doz. mg/mL** / **Antibiyotik** | **400** | **200** | **100** | **50** | **25** | **12,5** |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **Tetrasiklin** 3,12 mg/mL | 35 Aa | 30 bA | 30 bA | 29 bA | 28 bA | 25 cA |
| **Ampisilin** 3,12 mg/mL | 13 aB | 10 bB | 0 bB | 0 bB | 0 bB | 0 bB |
| **Kloramfenikol** 3,12 mg/mL | 20 Ca | 19 Ca | 15 bC | 14 Cb | 13 Cb | 11 cC |
| **Sefaleksin** 3,12 mg/mL | 30 aD | 28 aD | 27 bD | 25 bA | 24 Dc | 16 dD |

Yatay olarak benzer olan harfler, aralarında önemli bir fark olmadığı anlamına gelir.

Dikey olarak benzer olan harfler, aralarında önemli bir farkın olmadığı anlamına gelir.

Duncan'ın Çoklu Aralığı olasılık olarak $p \leq 0.05$

**Çizelge 4.10** *Calendula officinalis*'in etanol ekstraktısi ve antibiyotikler arasındaki sinerjistik etki ile *P.aeruginosa*'ya karşı önleyici etki

| **Doz. mg/mL** / **Antibiyotik** | **400** | **200** | **100** | **50** | **25** | **12,5** |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **Tetrasiklin** 3,12 mg/mL | 32 Aa | 30 Aa | 30 Aa | 28 Ab | 27 Ab | 25 Ab |
| **Ampisilin** 3,12 mg/mL | 13 aA | 12 Bb | 12 Ba | 10 bB | 9 bB | 9 bB |
| **Kloramfenikol** 3,12 mg/mL | 0 aC | 14 bA | 0 aC | 0 aC | 12 bC | 0 aC |
| **Sefaleksin** 3,12 mg/mL | 25 aD | 22 bB | 20 cC | 18 cC | 17 dC | 17 dD |

Yatay olarak benzer olan harfler, aralarında önemli bir fark olmadığı anlamına gelir.

Dikey olarak benzer olan harfler, aralarında önemli bir farkın olmadığı anlamına gelir.

Duncan'ın Çoklu Aralığı olasılık olarak $p \leq 0.05$

# 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu tez çalışmasında; Samarra Devlet Hastanesinden 2021 yılı içerisinde yaşları 1 ile 60 arasında değişen erkek ve kadın hastaların yanık ve yaralardan 100 adet örnek alınmıştır. Bu örnekler üzerinde *Pseudomonas aeruginosa*'nın yara ve yanıklardan izolasyonu ve teşhisinin yapılması ile birlikte *P.aeruginosa* izolatları üzerine Ampisilin, Siprofloksasin, Sefaleksin, Levofloksasin, Tetrasiklin, Kloramfenikol'e karşı duyarlılık testlerinin yapılmasıdır. Aynı zamanda, *Myrtus communis* ve *Calendula officinalis* bitkilerinin etanol ve su ekstraktlarının bir dizi seyreltme sonrasında minimum inhibitör konsantrasyonunun (MIK) ortaya konulmasıdır.

*Pseudomonas aeruginosa* hastane yanık ünitelerinin vebasıdır ve ortaya çıkmaması için önemli çabalar sarf edilmektedir. *P.aeruginosa* sağlık bakımıyla ilişkili enfeksiyonların en kritik nedenlerinden biridir ve hastane kaynaklı enfeksiyonların %10'undan sorumludur (Obritsch *et al*. 2004). *P.aeruginosa,* ciddi yanıkları veya ameliyat sonrası yaraları olanlar gibi immün yetmezliği olan hastalarda kritik enfeksiyonlara neden olabilir (Sule *et al*. 2002, Dale *et al*. 2004). *P.aeruginosa* birçok antibiyotiğe karşı dirençli hale gelme potansiyeline sahiptir. Bu nedenle son zamanlarda doktorlar için ciddi bir komplikasyon olarak kabul edilen MDR *P.aeruginosa'nın* ani bir gelişimi olmuştur.

Bu çalışmada yanık hastalarından en sık izole edilen bakteri *P.aeruginosa* (%36) olmuştur. Benzer şekilde Ekrami ve Kalantar (2007) ve Okon vd (2009) gibi diğer çalışmalar da yanık hastalarında *P.aeruginosa* enfeksiyonu prevalansının sırasıyla %37,5 ve %39,1 olduğunu göstermiştir. Buna karşılık, Ekrem vd (2014) ve Naqvi vd (2005) tarafından yapılan çalışmalarda prevalansın sırasıyla %17,85 ve %59,6 olduğu gösterilmiştir. Çok sayıda çalışma arasında prevalans ortalamasındaki bu farklılıklar, nüfus ve coğrafi konumun hijyenik uygulamalarındaki farklılıklarla ilişkilendirilebilir.

Yara ve yanık enfeksiyonlarından alınan ve cinsiyete göre dağılım gösteren örneklerin sayı ve yüzdelerine göre erkeklerden toplanan örnek sayısı 35 (%35) yanık ve 13 (%13)

yara olmak üzere 48 (%57) iken, kadınlardan toplanan örnek sayısı 40 (%40) yanık ve 12 (%12) yara olmak üzere 52 (%43) olmuştur. Örnekler uygun besiyerinde kültürlendikten sonra 37C'de 18-24 saat inkübe edilmiştir. *P.aeruginosa* sırasıyla 16 (%40) ve 24 (%60) ile kadınlarda erkeklerden daha yüksek olmuştur (Çizelge 4.1).

Yara ve yanık enfeksiyonlarından alınan örneklerin sayıları ve yüzdeleri yaş gruplarına göre dağılmıştır. Hastaların yaşları 1 ile 60 arasında değişmekte olup, 33 (%33) yanık ve 7 (%7) yara toplam 40 izolat (%40) ile en yüksek oran 1-10 yaş grubunda gerçekleşmiştir. Bunu 20 (%20) yanık ve 6 (%6) yara toplam 26 izolat (%26) ile 11-20 yaş grubu, 9 (%9) yanık ve 7'si (%7) yara toplam 16 izolat (%16) ile 21-30 yaş grubu, sırasıyla 8 (%8) ve 3 (%3) toplam 11 izolat (%11) ile (31-40) yaş grubu takip ederken (41-50) yaş grubu ve 51 yaş üstü hastalardan sırasıyla 2 (%2), 0 (%0) yanık ve 3 (%3), 2 (%2) yara elde edilmiştir. Al-zubaidy (2012), tarafından yapılan çalışma en yüksek insidansın 21-30 yaş grubunda görüldüğünü, Shyamala ve Reddy'nin (2012) tarafından yapılan çalışma ise en yüksek insidansın bebeklerde ve küçük çocuklarda görüldüğünü göstermiştir.

*P. aeruginosa*'nın yüksek oranı 1-10 yaş grubunda 23 (%57,5) olup, bunu 11-20 yaş arasında 10 (%25) izolat ve 21-30 yaş arasında 7 (%17,5) izolat takip etmiştir. Bu sonuç, en yüksek *P.aeruginosa* prevalansının kadınlarda (%61,1) olduğu ve yaş grubuna göre bu izolatların en yüksek prevalansının genç yaştaki hastalarda (%61,1) olduğu ve (1-25 yaş) hastaların yaş gruplarının aksine, en düşük prevalansın (%11,11) kırk beş yaş ve üzeri grupta olduğu konusunda Hasan vd. (2019) tarafından yapılan çalışma ile uyumludur (Çizelge 4.2). Bunun nedeni, genç yaştaki grubun en aktif grup olması ve en çok açık hava etkinliklerine katılması olabilir.

Teşhisde kullanılan kültür besiyeri olan MacConkey agar üzerindeki bakteri izolatlarının morfolojisine göre teşhis edilmiş olup, bakteri kolonilerinin rengi soluk görünmekle beraber Laktoz Fermentasyon yapmamıştır (Forbes *et al.* 2002).

Gram negatif çubuğun ilk tanımlaması, *Pseudomonas* spp. MacConkey agar üzerinde laktoz içermeyen fermente koloni üretimiyle kolonyal morfolojiye bağlı olmuştur.

Piyosiyanin pigmentinin üretimi (Koneman *et al.* 1997) ve sonuçlar (Al-Dahmoshi 2013) tarafından yapılan çalışmanın sonuçlarıyla tutarlı olmuştur. Çizelge 4.3'te gösterildiği üzere, biyokimyasal testler, bakterilerin hidrojen peroksiti su ve oksijen gazına parçalama yeteneğini açıklayan katalaz testi için tüm izolatlar pozitif sonuç vermiş olup, oksidaz testinde, İndol (-), Metil kırmızısı(-), Voges Proskauer(-), Sitrat kullanımı (+), Üçlü Şekerli Demir (K/K), 42°C'de büyüme, Üreaz (-) içeren IMViC biyokimyasal grubunda bakterinin sitokrom oksidaz enzimine sahip olduğu gösterilmiştir.

*P.aeruginosa*, yayılımı ve şiddetli patogenezi nedeniyle *Pseudomonas* cinsinin en önemli türlerinden biridir. Yoğun bakım ünitelerinde (YBÜ'ler), özellikle yanık bakım merkezlerindeki hastalarda fırsatçı patojenlerden biri olup enfeksiyonun ana nedenleri arasındadır (Patil *el al.* 2015).

Çalışmalar, özellikle gelişmekte olan ülkelerde ölümlerin %75'inin sepsis ile ilişkili yanık yaralanmaları ile ilişkili olduğunu göstermiştir (Al-Aali 2016). Mevcut çalışma, *P. aeruginosa*'nın yanıklardan ve yaralardan izole edilen en yaygın bakteri türü olduğunu gösteren birçok uluslararası çalışma ile uyumlu olmakla beraber (Pruitt *et al.* 2001) tarafından Amerika Birleşik Devletleri'nde yaptığı çalışmada sonucun %51,2 oranında olduğu ve izolasyon oranlarındaki farklılığın nedenlerinden birinin, örneğin kaynağındaki, örnek sayısındaki, coğrafi konumdaki, yaraları veya yanıkları sterilize etme yöntemindeki, sterilizasyon sürelerinin sayısındaki ve ayrıca bu bakteriye karşı direncin ortaya çıkmasında büyük rol oynayan antibiyotiklerin yaygın ve gelişigüzel kullanımındaki farklılıklardan kaynaklandığı belirtilmiştir.

*P. aerogenosa'*nın 40 adet izolatı için CLSI'ye göre disk difüzyon yöntemi kullanılarak antimikrobiyal duyarlılık testi yapılmıştır (CLSI 2020).

Çalışmanın sonuçları, *P.aerginosa* izolatlarının yüksek düzeyde antimikrobiyal direncinin Tetrasiklin, Ampisilin, Kloramfenikol ve Sefaleksin'e karşı %100 dirençli, Siprofloksasin ve Levofloksasine ise %100 duyarlı olduğunu göstermiştir (Çizelge 4.4). Kashkool (2020) yaptığı çalışmada, izolatların orta düzeyde %18,75'inin Levofloksasin

ve Amikasin'in her birine dirençli göründüğünü, bakteri izolatlarının %16,66'sında Siprofloksasine dirençli göründüğünü bulmuştur. Levofloksasine direnç, izolatların %33'ünün Levofloksasine dirençli olduğunu bulan Abdelshafy vd. (2015) tarafından yapılan çalışmada kaydedilmiştir. Ayrıca, siprofloksasin kullanımı hem ampirik hem de topikal olarak üstün bulunmuş, en yaygın olarak bulunan topikal antibiyotik solüsyonları arasında gentamisin, siprofloksasinden sonra umut verici sonuçlar göstermiş olup, siprofloksasin kulak damlalarının gentamisin üzerindeki ek avantajı çok toksik olmamasıdır (Shamweel 2013).

*Pseudomonas*'ın çoğu antibiyotiğe direnci, hücre duvarı geçirgenliğinin azalması, β-laktamaz aktiviteleri ve akış pompalarını içeren direnç mekanizmasının ifade edilmesinden kaynaklanıyor olabilir. Direnç genlerini ve mutasyonları ifade etmek için geniş bir genoma sahip olduklarından, tedavinin etkisiz olması durumunda kolaylıkla daha fazla direnç geliştirmekle beraber plazmid, transpozon ve bakteriyofaj transfer yeteneğine sahiptir ve en önemlisi antibiyotiklere karşı artan direncin biyofilm oluşumu ile ilişkisidir (Al-zubaidy 2012).

*Myrutus communisi* ve *Calendula officinalis* için su ve alkol ekstraktlarının *P.aeruginosa*'ya karşı inhibitör etkisine gelince sonuçlar, ekstraktların bakteri izolatının büyümesi üzerindeki etkisinde bir tutarsızlık olduğunu ve bu etkinin kullanılan ekstraktın konsantrasyonuna ve türüne göre değiştiğini göstermiştir. Konsantrasyonların 200 ve 400 mg/mL dozları, deneyde kullanılan diğer konsantrasyonlara kıyasla en yüksek inhibitör etkiye sahip iki konsantrasyon olmakla beraber, ekstraktların inhibitör etkisine uygun bulunmuştur.

Bitki ekstraktlarınınuygulamalarında antibiyotik konsantrasyonlarla doğru orantılı olup, inhibisyon çapları arasında önemli farklılıklar söz konusudur (Çizelge 4.5). Sonuçlar, *Myrutus communis*'in su ekstraktı ve *Calendula officinalis*'in alkol ekstraktının 400 mg/ml'lik bir konsantrasyonda izole edilen bakteriler üzerinde en fazla etkiye sahip olan bitki ekstraktlarının olduğunu göstermiş olup bu ekstraktların en yüksek inhibitör etkisi sırasıyla 20 ve 25 mm çapındaki bir inhibisyon oranı ile olmuştur. *Myrutus communis*'in alkol ekstraktı, aynı konsantrasyonda ve ortalama 15 mm çapta en yüksek engelleyici

etkiye sahip olmuştur. *Calendula officinalis* su ekstraktına gelince, en yüksek inhibitör etki 400 mg/mL konsantrasyonda ve 12 mm çapta olmuştur. Ayrıca *Myrutus communis*'in alkollü ekstraktının *P.aeraginosa*'ya karşı inhibitör aktivite gösterdiği de Masoumian ve Zandi'nin (2017) sonuçlarıyla da uyumludur.

*Calendula* çiçeklerinin ekstraktı ile ilgili bu çalışmanın sonuçları, aynı zamanda, alkol ekstraktının aynısafa bitkisinde *P.aeraginosa*'ya karşı yüksek bir aktiviteye sahip olduğunu ve maksimum inhibisyon zonunu 100 mg/mL konsantrasyonda ve bakteri izolatı *P. aeruginos*'ta 25 mm olduğunu ortaya koyan Hamad vd. (2017) tarafından yapılan çalışmayla da uyumludur. Shapour vd. (2016), aynısefa yağının *P.aeruginos*'a karşı inhibitör bir aktiviteye sahip olduğunu bildirmiştir.

*Myrtus communis* yaprak ekstraktı, bazı patojenik bakteri ve mantar suşlarına karşı antibakteriyel ve antifungal aktiviteler göstermiştir (Besufekad *et al.* 2017). *C. officinalis*, hafif bir antibakteriyel ve antiviral ajan olmanın yanı sıra antiseptik, anti-inflamatuar ve sikatrize edici olarak geniş çapta uygulanabilir (Martins *et al.* 2014).

Mersin yapraklarının sulu ekstraktının test mikroplarına karşı aktivitesi, kimyasal bileşimine (örn., flavonoller, terpineol, asetat, linalil, linalool, sineol ve tanenler) bağlanmıştır (Taheri *et al.* 2013). Bu tür bileşenler, hücre duvarı ve sitoplazmik membran bozulması, yağ asitleri ve fosfolipidlerde değişiklik, genetik materyaller üzerindeki etki ve protein translasyonu gibi mikroplara karşı farklı mekanizmalarda yer alabilir (Shan *et al.* 2007).

Araştırmacı Lou vd. (2016), *P.aeraginosa* bakterileri tarafından salgılanan ilk yapışma süreci, biyofilm oluşumu ve virülans faktörleri üzerine bitki yapraklarının etkisini değerlendirmek için bir çalışma yürütmüştür. Araştırma sonuçları, bitkinin yapraklarının yüzey su direncini azaltarak biyofilm oluşumunu engellediğini göstermiştir. Bunun nedeni, aktif bitki bileşenlerinin bakterilerin yüzey yapışma bölgesine bağlanması ve böylece hidrofobisiteyi azaltması, bunun da yapışma yeteneğinde bir azalmaya yol açması olup bu sonuç ta virülans faktörlerinin içeriğini ve izolat tarafından ilaç direncini önemli ölçüde azaltabilir. Sonuçlar ayrıca bitkinin yaprak

bileşeninin bakterilerin toplanma yeteneğini önemli ölçüde engelleyebileceğini, böylece bakteri kolonilerinin ve biyofilmlerin oluşumunu engellediğini ve kalabalıkların hareketini sınırladığını göstermiştir.

Bitki ekstraktlarının Çizelge 4.6'da, 200, 400 mg/mL'lik bir konsantrasyonda inhibitör etkisini antibiyotiklerin inhibisyon çaplarıyla karşılaştırarak, Tetrasiklin, Ampisilin ve Kloramfenikol'ün, kullanılan ekstraktlara kıyasla *P.aeruginosa* izolatlarına karşı farklı bir inhibitör etki göstermiştir. Tetrasiklin, 100 mg/mL konsantrasyonda 40 mm konsantrasyonda en yüksek etkiye sahip iken, bunu 36 mm oranında Kloramfenikol izlemiştir. Aynı konsantrasyonda, bunları, ortalama inhibisyon çapı 10 mm olan antibakteriyel Ampisilin takip ederken, Sefaleksin yukarıdaki bakterilere karşı herhangi bir aktivite vermemiştir. Yukarıdakilerden ve tablo verilerinden, izole edilmiş bakteriler üzerinde en etkili bitki ekstraktlarının, *M.communis*'in su ekstraktları ve alkol ekstraktı ile *C. officinalis*'in su ve alkol ekstraktı ile karşılaştırıldığında, *C. officinalis*'in alkol ekstraktının olduğu sonucuna varılmıştır. Antibiyotiklerin çoğu, kullanılan bitki ekstraktları ile karşılaştırıldığında da, engelleyici etkide mükemmel olmuştur.

Sonuçlar, sinerjistik etkinin bakteri izolatının büyümesi üzerindeki etkisinde bir tutarsızlık olduğunu göstermiştir. Çizelge 3.7, 3.8, 3.9 ve 3.10'da gösterildiği üzere, her iki tipteki ve tüm konsantrasyonlarındaki bu ekstraktların, 3,12 mg/mL konsantrasyonlu antibiyotiklerin çoğu ile özellikle de *P.aeruginosa*'ya karşı tek başına kullanıldığında herhangi bir aktivite vermeyen Ampisilin ve Cephalexin antibiyotikleri ile yüksek sinerjistik etki göstermiş ve ekstrakt ile birleştirildiğinde yüksek bir inhibitör etki vermiştir. Bu sonuçlar, *M. communis* özü ve antibiyotik Ciprofloxacin arasında *P.aeruginosa*'ya karşı güçlü bir sinerjistik etki bulan Masoumian ve Zandi'nin (2017) tarafından elde edilen sonuçlarla tutarlıdır. Aynı zamanda, *M. communis* ekstraktının, antibiyotik tetrasiklin ile karıştırıldığında tek başına antibiyotikten daha yüksek etkinlik sağladığını bulan Aabed vd. (2020) ile de aynı doğrultudadır.

Bitki türevli bileşikler, antibiyotiklerle birleştiğinde etkinliklerini artıran antibiyotik direnci değiştirici bileşikler olarak doğrudan bir antibakteriyel aktivite ve/veya dolaylı bir aktivite sergileyebilir. Bitki aktif maddelerinin bu yeteneği, direnç mekanizmasının

değiştirilmesine veya bloke edilmesine yansımakta ve böylece bakteri antibiyotiğe duyarlı hale gelmekte veya antibiyotik daha düşük konsantrasyonlarda etki etmektedir (Stefanović 2018).

Her iki ekstraktın antibiyotiklerle sinerjistik etkisi muhtemelen bakteriyel sitoplazmik membranın geçirgenliğini artırarak bakteriyel bileşenleri (proteinler, nükleik asitler ve potasyum veya fosfat gibi inorganik iyonlar) azaltan gallik, benzoik ve rosmarinik asitlerin varlığından kaynaklanmaktadır. Gallik asidin bir başka ilginç mekanizması ise, giraz B'nin ATP bağlanma bölgesine bağlanarak bakteriyel girazın süper sarma aktivitesini inhibe etmesidir (Jayaraman *et al.* 2010). Chusri vd. (2009) elajik'in Gram-negatif bakterilerde akış pompası inhibitörleri olarak hareket ettiğini ve bazı antibiyotiklerin çoklu ilaca dirençli *Acinetobacter baumannii*'ye karşı etkinliğini arttırdığını bulmuştur. Direnç değiştirici ajanlar olarak antibiyotiklerle sinerjistik olarak hareket edebilenler de dahil olmak üzere bitki kaynaklı biyoaktif bileşiklerin sistematik olarak taranması, bakteriyel direncin üstesinden gelmek için potansiyel bir yaklaşımı temsil etmektedir (Stefanović 2018).

Bu çalışmaya göre; Kadınlar ve erkekler arasında yaralanma, yara ve yanık açısından önemli bir fark yoktur. *P. aeruginosa* kadınlarda erkeklerden daha yüksek bir oranda meydana gelmektedir. Antibiyotik duyarlılık testine göre, *P.aerginosa* izolatlarının yüksek antimikrobiyal direnci tetrasiklinler, ampisilin, kloramfenikol ve sefaleksine %100 dirençli iken Siprofloksasin ve Levofloksasine %100 duyarlı olarak bulunmuştur. Tetrasiklin, ampisilin ve kloramfenikolün kullanılan ekstraktlara kıyasla *P.aeruginosa* izolatına karşı farklı bir inhibitör etki gösterdiği ortaya konulmuştur. 100 mg/ml konsantrasyonda, Tetrasiklin 40 mm ile en yüksek etkiye sahipken, bunu 36 mm ile kloramfenikol takip etmiş, ardından ortalama inhibisyon çapı 10 mm olan antibakteriyel ampisilin gelirken, sefaleksin bakterilere karşı herhangi bir aktivite göstermemiştir. 200 ve 400 mg/mL konsantrasyonları, deneyde kullanılan diğer konsantrasyonlara kıyasla en yüksek inhibitör etkiye sahip iki konsantrasyon olmuştur. Ekstraktların inhibitör etkisine uygun bulunmuştur. Bitkiler, konsantrasyonlarla doğru orantılı olmuş, inhibisyon çapları ve kullanılan konsantrasyonlar arasında önemli farklılıklar ortaya çıkmıştır. *M. communis*'in su ekstraktı ve *C. officinalis*'in alkol ekstraktından oluşan

bitki ekstraktlarının 400 mg/mL konsantrasyonda izole edilen bakteriler üzerinde en fazla etkiye sahip olduğunu göstermiştir. Bu ekstraktların en yüksek inhibitör etkisi sırasıyla 20 ve 25 mm çapında bir inhibisyon oranı ile gerçekleşirken, *M. communis*'in alkol ekstraktı aynı konsantrasyonda ve ortalama 15 mm çapında en yüksek inhibitör etkiye sahip olmuştur.

*M. communis*'in su ekstraktı, alkol ekstrakttan daha etkili olurken, *C. officinalis*'in alkol ekstraktı, su ekstraktına göre daha etkilidir. Her iki tipte ve tüm konsantrasyonlarında bu ekstraktlar, özellikle antibiyotiklerden ampisilin ve sefaleksin ile 3,12 mg/mL'lik bir konsantrasyonda, antibiyotiklerin çoğu ile yüksek sinerjistik aktivite vermiştir. Ancak en yüksek sinerjistik aktivite *M.communis*'in su ekstraktı ile olmuştur. *M. communis*'in su ekstraktı, antibiyotik tetrasiklin ile karıştırıldığında, tek başına antibiyotik olmasına rağmen daha yüksek bir etkinlik vermiştir.

## KAYNAKLAR


Aabed, K., Mohammed, A. E., Benabdelkamel, H., Masood, A., Alfadda, A. A., Alanazi, I. O., and Alnehmi, E. A. 2020. Antimicrobial Mechanism and Identification of the Proteins Mediated by Extracts from Asphaltum punjabianum and Myrtus communis. ACS omega, 5(48), 31019-31035.

Abdelshafy, I. A., Haleem, A. A., Khalil, Y. A., Ghazal, A. A., and Gaballah, A. 2015. Microbiology of chronic suppurative otitis media, study of the role of bacterial biofilm and fungal infection. J Otolaryngol ENT Res, 3(1), 00051.

Ahmad, I., and Beg, A. Z. 2001. Antimicrobial and phytochemical studies on 45 Indian medicinal plants against multi-drug resistant human pathogens. Journal of ethnopharmacology, 74(2), 113-123.

Ahmad, S. 2013. Antibiotics in chronic suppurative otitis media: A bacteriologic study. Egyptian Journal of Ear, Nose, Throat and Allied Sciences, 14(3), 191-194.

Akin, M., Aktumsek, A., and Nostro, A. 2010. Antibacterial activity and composition of the essential oils of Eucalyptus camaldulensis .L leaves against salivary Mutans streptococci".Saudi Dental Journal, Vol.120, No.2, pp: 82-87.

Al-Aali, K. Y. 2016. Microbial Profie of Burn Wound Infectins in Burn Patiants. Taif, Saudi Arabia. Archives of Clin. Microbiol., 7: 23-15.

Al-Dahmoshi, H. O. M. 2013. Genotypic and Phenotypic Investigation of Alginate Biofilm Formation among Pseudomonas aeruginosa Isolated from Burn Victims in Babylon, Iraq.ph.D.thesis,Babylon University, Science Faculty-Biology Department, Iraq.

Aleksic, V., and Knezevic, P. 2014. Antimicrobial and antioxidative activity of extracts and essential oils of Myrtus communis L. Microbiological research, 169(4), 240-254.

Alhazmi, A. 2015. Pseudomonas aeruginosa-pathogenesis and pathogenic mechanisms. International Journal of Biology, 7(2), 44.

Al-Joboory, A. and Al-Rawi, M. 1994. Natural pharmacology.1st ed. Baghdad , dar AlHuriah.

Alvi, I. A., Asıf, M., Tabassum, R., Aslam, R., Abbas, Z. and Rehman, S. U. 2020. RLP, a bacteriophage of the family Podoviridae, rescues mice from bacteremia

caused by multi-drug-resistant Pseudomonas aeruginosa. Archives of Virology, 1-9.

Al-zubaidy, I. 2014. Microbiological assessment of chronic suppurative otitis media. Kufa journal for nursing scinces, 3(4), 101-105.

Amoian, B., Moghadamnia, A. A., Mazandarani, M., Amoian, M. M., and Mehrmanesh, S. 2010. The effect of Calendula extract toothpaste on the plaque index and bleeding in gingivitis. research Journal of medicinal plant, 4(3), 132-140.

Anthony, D., Amanda, J., Eshwar, M., Pavel, D., Wieslaw, K., Zuzanna,D., and Stoyanka R.2014.Microbiology Open. Developing an international Pseudomonas aeruginosa reference panel. Blackwell publishing Ltd. 389: 23-46

Anupurba, S., Bhattacharjee, A., Garg, A., and Sen, M. R.2006. Antimicrobial susceptibility of Pseudomonas aeruginosa isolated from wound infections.Indian journal of dermatology, 51(4), 286.

Bachta, K. E., Allen, J. P., Cheung, B. H., Chıu, C.-H. and Hauser, A. R. 2020. Systemic infection facilitates transmission of Pseudomonas aeruginosa in mice. Nature communications, 11, 1-13.

Bai, F., Xu, H., Zhang, Q., Qi, X., Mou, R., Bai, G., and Qiao, M. 2011.Functional characterization of pfm in protein secretion and lung infection of Pseudomonas aeruginosa . Can. J. Microbiol. 57:829-837 .

Berka-Zougali, B., Ferhat, M.A., Hassani, A., Chemat, F., Allaf, K.S., 2012. Comparative study of essential oils extracted from Algerian Myrtus communis L. leaves using microwaves and hydrodistillation. Int. J. Mol. Sci. 13, 4673–4695.

Besufekad, S. Y., Mekdes, M., Abebech, M., Delesa, D., Tekalign, D., Demitu, K., and Birtukan, B. 2017. The antimicrobial activity of leaf extracts of Myrtus communis. J Microb Biochem Tech, 9(6), 290-2.

Betsy, T., and Keogh, J. E. 2005. Microbiology demystified (pp. 70-74). New York, NY: McGraw-Hill.

Bissa, S., and Bohra, A.2011.Antibacterial potential of pot marigold. Journal of Microbiology and Antimicrobials, 3(3), 51-54.

Bodey GP, Bolivar R, Fainstein V, Jadeja L 1983. Infections caused by Pseudomonas aeruginosa. Rev Infect Dis 5: 279–313.

Brook ,G ,F.; Butel, J, S.; and Morse,S ,A. 2001.Medical microbiology lange medical brook Mcgraw-hill.tewenty-second edition pp 197-202.

Brooun, A., Liu, S., and Lewis, K. 2000. A dose-response study of antibiotic resistance in Pseudomonas aeruginosa biofilms. Antimicrobial agents and chemotherapy, 44(3), 640-646.

Brown, A. E. and Smith, H. R. 2017. Benson's Microbiological Applications Laboratory Manual in General Microbiology 14th Ed. McGraw-Hill .U S A.

Cappuccino, J. G. and Welsh, C. 2018.Microbiology A la boratory manual. 11th ed. Pearson Education Limited Edinburgh Gate Harlow Essex CM20 2JE. England.

Chusri, S., Villanueva, I., Voravuthikunchai, S. P., and Davies, J.2009. Enhancing antibiotic activity: a strategy to control Acinetobacter infections. Journal of antimicrobial chemotherapy, 64(6), 1203-1211.

Clinical and Laboratory Standards Institute. 2020 .Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, CLSI Supplement M100S. 27th ed. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, USA.

Collee, J.G., Miles, R.S. and Watt, B. 1996 . Tests for the Identification of Bacteria. In: Collee, J.G., Marmion, B.P., Fraser, A.G. and Simmons, A., Eds., Mackie and McCartney Practical Medical Microbiology, 14th Edition, Churchill Livingstone, New York, 131-151.

Cox, G., Stogios, P. J., Savchenko, A., and Wright, G. D. 2015. Structural and molecular basis for resistance to aminoglycoside antibiotics by the adenylyltransferase ANT (2 ″)-Ia. MBio, 6(1), e02180-14.

Dale, R. M., Schnell, G., and Wong, J. P. 2004. Therapeutic efficacy of "Nubiotics" against burn wound infection by Pseudomonas aeruginosa.Antimicrobial agents and chemotherapy, 48(8), 2918-2923.

Davies, C. E., Hill, K. E., Wilson, M. J., Stephens, P., Hill, C. M., Harding, K. G., and Thomas, D. W. 2004. Use of 16S ribosomal DNA PCR and denaturing gradient gel electrophoresis for analysis of the microfloras of healing and nonhealing chronic venous leg ulcers. Journal of clinical microbiology, 42(8), 3549-3557.

Dubouix, A., Nieto, M., Fauvel, J., Chap, H., Marty, N., Salles, J. P.,and Gaits, F. 2004. A simple and reliable method for rapid production and purification of

Pseudomonas aeruginosa haemolytic phospholipase C. Letters in applied microbiology, 38(3), 191-196

Ekizoğlu, M., Sağiroğlu, M., Kilic, E., and Hasçelik, A. G. 2016. An investigation of the bactericidal activity of chlorhexidine digluconateagainst multidrug-resistant hospital isolates. Turkish journal of medical sciences, 46(3), 903-909.

Fetar, H. 2011. Characterization of the MexT Regulator of the mexEF-oprN Multidrug Efflux Operon of Pseudomonas aeruginosa .ph.D thesis, Queen's University, Kingston. Ontario.Canada.

Forbes, B. A., Sahm, D. F., and Weissfeld, A. S. 2002. Pseudomonas, Burkholderia, and similar organisms. Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology. 11th ed.: Mosby, 389.

Forbes, B. A.; Sahm, D. F. and Weissfeld, A. S. 2007. Bailey and Scott,S. Diagnostic Microbiology . 12th ed. Mosby . inc . U.S.A

Gellatly, S. L. and Hancock, R. E. W. 2013. Pseudomonas aeruginosa: new insights into pathogenesis and host defenses . J. Path. Dis.,67: 159-1739.

Giacometti, A., Cirioni, O., Schimizzi, A. M., Del Prete, M. S., Barchiesi, F., D'errico, M. M., ...andScalise, G. 2000. Epidemiology and microbiology of surgical wound infections. Journal of clinical microbiology, 38(2), 918-922.

Govan, J. R., and Deretic, V. 1996. Microbial pathogenesis in cystic fibrosis: mucoid Pseudomonas aeruginosa and Burkholderia cepacia. Microbiological reviews, 60(3), 539-574

Green, L. H. 2015. Culturing and Preserving Microorganisms,p. 3944.In: E. Goldman and L. H. Green(ed.), Practical Handbook of Microbiology,3rd ed. CRC Press, New York.

Grierson, D.A. and Afolayan, A.J. 1999. "Antibacterial activity of some indigenous plant used for the treatment of wound in the Eastern Cape". South Africa J. Ethnopharmacol., 66(1): 103-106.

Gupta, P. D., and Birdi, T. J. 2017. Development of botanicals to combat antibiotic resistance. Journal of Ayurveda and integrative medicine, 8(4), 266-275.

Hamad, M. N., Mohammed, H. J., and Merdaw, M. A. 2017. Antibacterial activity of Calendula officinalis flowers in vitro. Ibn AL-Haitham Journal For Pure and Applied Science, 24(3).

Harikrishnan, R., Nisha, R.M., Balasundaram, C., 2003. Hematological and biochemical parameters in common carp, Cyprinus carpio, following herbal treatment for Aeromonas hydrophila infection. Aquaculture 221 (1–4), 41–50.

Hasan, S. A., Najati, A. M., and Abass, K. S. 2019. Isolation and identification of multi-drug resistant "pseudomonas aeruginosa" from burn wound infection in Kirkuk City, Iraq. EurAsian Journal of BioSciences, 13(2), 1045-1050.

Hashemi, N. S., Mojiri, M., Yazdani Kachouyi, P., Eskandari, S., Mohammadian, M., and Alavi, I. 2017. Prevalence of antibiotic resistance and blaIMP-1 gene among Pseudomonas aeruginosa strains isolated from burn and urinary tract infections in Isfahan, central Iran. Microbiology Research, 8(2), 59-63.

Hashim, I. 2013. Microbiological Culture Media in Pharmaceutical Industry.

Hossain, M. G., Saha, S., Rahman, M. M., Singha, J. K., and Mamun, A. A. 2013. Isolation, identification and antibiogram study of Pseudomonas aeruginosa from cattle in Bangladesh. J. Vet. Adv, 3(7), 180-185.

Immanuel, G., Vincybai, V.C., Sivaram, V., Palavesam, A., Marian, M.P., 2004. Effect of butanolic extracts from terrestrial herbs and seaweeds on the survival, growth and pathogen (Vibrio parahaemolyticus)load on shrimp Penaeus indicus juveniles. Aquaculture 236 (1–4), 53–65.

Jayaraman, P., Sakharkar, M. K., Lim, C. S., Tang, T. H., and Sakharkar, K. R. 2010. Activity and interactions of antibiotic and phytochemical combinations against Pseudomonas aeruginosa in vitro. International journal of biological sciences, 6(6), 556.

Josephine, A. Morella, A. M., Helen-Eckel, R. N. and Granato, P. A., 2006. Laboratory manual and work book in microbiolog Application to patient care. 8th ed. New York, USA.

Joshi, K. R., Onaghise, E. O., Oyide, S. M., Wemumbu, S. N. C., and Uriah, N. 1984. Aeruginosine typing of P. aeruginosa isolated at the University of Benin Teaching Hospital, Benin. Afr. J. Clin. Microbiol, 1(1), 8-13.

Kashkool, DA . 2020. Bacteriological Study of Otitis Media and Biological and Molecular Investigation of some Virulence Factor Associated with Pseudomonas aeruginosa In Najaf Province, Thesis of Master , University of Kufa.

Khafagi, I. K., and Dewedar, A. 2000. The efficiency of random versus ethno-directed research in the evaluation of Sinai medicinal plants for bioactive compounds. Journal of ethnopharmacology, 71(3), 365-376.

Khare, C. 2004. "Encyclopedia of Indian Medicinal Plant. Germany". Springer- Verlag Publiher,pp. 116-116.

Kirbağ, S. E. V. D. A., Zengin, F., and Kursat, M. 2009. Antimicrobial activities of extracts of some plants. Pak. J. Bot, 41(4), 2067-2070.

Kiser, T. H., Obritsch, M. D., Jung, R., McLaren, R., and Fish, D. N. 2010. Efflux pump contribution to multidrug resistance in clinical isolates of Pseudomonas aeruginosa. Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy, 30(7), 632-638.

Kiska, D. L. and P. H. Gilligan 2003. Pseudomonas. The Manual of Clinical Microbiology. P. R. Murray, E. J. Baron, J. H. Jorgensen, M. A. Pfaller and R. H. Yolken. Washington, D.C., ASM Press. 1: 719-728.

Koneman, E. W., Allan, S.D., Janda, W.M., et al., eds. 1997. Color Atlas and Textbook of Daignostic Microbiology, 5th ed. J.B. Lippincott, Philadelphia.

Köse, H., and Yapar, N. 2017. The comparison of various disinfectants? efficacy on Staphylococcus aureus and Pseudomonas aeruginosa biofilm layers. Turkish journal of medical sciences, 47(4), 1287-1294.

Kravitz, M. 1993. Immune consequences of burn injury. AACN Clin Issues Crit Care Nurs 4: 399–413.

Lazarus GS, Cooper DM, Knighton DR, Margolis DJ, Pecoraro RE, et al. 1994 .Definitions and guidelines for assessment of wounds and evaluation of healing. Arch Dermatol 130: 489–493

Levinson, W. 2016. Medical Microbiology and Immunology.14th.Mc Graw Hill Education. USA . 821

Lin, R. D., Chin, Y. P., and Lee, M. H. 2005. Antimicrobial activity of antibiotics in combination with natural flavonoids against clinical extended- spectrum β-lactamase (ESBL)- producing Klebsiella pneumoniae. Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives, 19(7), 612-617.

Lou, Z., Li, C., Kou, X., Yu, F., Wang, H., Smith, G. M., and Zhu, S. 2016. Antibacterial, antibiofilm effect of Burdock (Arctium lappa L.) leaf fraction and its efficiency in meat preservation. Journal of food protection, 79(8), 1404-1409.

MacFaddin, J. F. 2000. Biochemical tests for identification of medical bacteria, Williams and Wilkins. Philadelphia, PA, 113.

Mahon, C.R. ; Lehman , D.C. ; Manuselis , G. 2011 . Textbook of diagnostic microbiology 4th ed. , W.B. Saunders company , China.

Martins, F. S., da Conceição, E. C., Bandeira, E. S., and Silva, J. O. C. 2014. The effects of extraction method on recovery rutin from Calendula officinalis L.(Asteraceae). Pharmacognosy magazine, 10(Suppl 3), S569.

Masoumian, M., and Zandi, M. 2017. Antimicrobial activity of some medicinal plant extracts against multidrug resistant bacteria. Zahedan Journal of Research in Medical Sciences, 19(11).

McManus AT, Mason AD, McManus WF, Pruitt BA .1985. Twenty-five year review of Pseudomonas aeruginosa bacteremia in a burn center. Eur J Clin Microbiol 4: 219–223.mechanisms. International Journal of Biology, 7(2), 44.

Mitiku, M., Ali, S., and Kibru, G. 2014. Antimicrobial drug resistance and disinfectants susceptibility of Pseudomonas aeruginosa isolates from clinical and environmental samples in Jimma University specialized hospital, Southwest Ethiopia. Ame. J. Biom. Life Sci, 2(2), 40-45.

Mohanty, S., Balıyarsıngh, B. and Nayak, S. K. 2020. Antimicrobial Resistance in Pseudomonas aeruginosa: A Concise Review. Antimicrobial Resistance. IntechOpen.

Molina, D. N., Colón, M., Bermúdez, R. H.,and Ramírez-Ronda, C. H. 1991. Unusual presentation of Pseudomonas aeruginosa infections: a review. Boletin de la Asociacion Medica de Puerto Rico, 83(4), 160-163.

Morello , J.K. ; Mizer , H.E. and Granato , P.A. 2006. Laboratory manual and work book in Microbiology Application to Patient care . 8th ed. McGraw Hill.

Morita, Y., Tomida, J., and Kawamura, Y. 2014. Responses of Pseudomonas aeruginosa to antimicrobials. Frontiers in microbiology, 4, 422.

Muley, B. P., Khadabadi, S. S., and Banarase, N. B. 2009. Phytochemical constituents and pharmacological activities of Calendula officinalis Linn (Asteraceae): a review. Tropical journal of pharmaceutical research, 8(5).455-465.

Neamah, A. A. 2017. Molecular detection of virulence factor genes in Pseudomonas aeruginosa isolates from human and animals in Diwaniya province Kufa9 J. Vet. Med. Sci., 8(1): 218-231.

Obeid, A. H., and Abbas, D. A. H. 2015. Comparative study of antidiarrheal effect of proposed new formulae from D. innoxia hydroalcoholic leave extract against E. coli O: 157 induced diarrhea in goats. *Kufa Journal For Veterinary Medical Sciences*, *6*(1).

Obritsch, M. D., Fish, D. N., MacLaren, R., and Jung, R. 2004. National surveillance of antimicrobial resistance in Pseudomonas aeruginosa isolates obtained from intensive care unit patients from 1993 to 2002. Antimicrobial agents and chemotherapy, 48(12), 4606-4610.

Oguntibeju, O. O., and Rau, N. 2004. Occurrence of Pseudomonas aeruginosa in post-operative wound infection. Pakistan Journal of Medical Sciences, 20, 187-192.

Okeke, M. I., Iroegbu, C. U., Eze, E. N., Okoli, A. S., and Esimone, C. O. 2001. Evaluation of extracts of the root of Landolphia owerrience for antibacterial activity. Journal of ethnopharmacology, 78(2-3), 119-127.

Okon, K., Agukwe, P., Oladosu, W., Balogun, S., and Uba, A. 2009. Antibiotic resistance pattern of Pseudomonas aeruginosa isolated from clinical specimens in a tertiary hospital in Northeastern Nigeria. J. Microbiol, 8(2), 5-7.

Percival, S. L., Emanuel, C., Cutting, K. F., and Williams, D. W. 2012. Microbiology of the skin and the role of biofilms in infection. International wound journal, 9(1), 14-32.

Pier, G. B. and R. Ramphal, Eds. 2005. Pseudomonas aeruginosa. Mandell, Douglas and Bennet's Principles and Practice of Infectious Diseases. Philadelphia, Elsevier Churchill Livingstone Inc.

Potokar TS, Ali S, Chamania S, Prowse S, Whitaker IS. 2008. A global overview of burns research highlights the need for forming networks with the developing world. Burns 34: 3–5.

Pruitt Jr, B. A., McManus, A. T., Kim, S. H., and Goodwin, C. W. 1998. Burn wound infections: current status. World journal of surgery, 22(2), 135-145.

Pruitt, J. B. A.; Lindberg, R. B.; McManus, W. F. and Mason Jr, A.D. 2001. Current Approach to Prevention and Treatment of Pseudomonas aeruginosa Infections. Burned Patients J. Clin.Infect. Dis., 5: 889-8.

Rajasekaran, C. 2008.Investigations on antibacterial activity of leaf extracts of Azadirachta indica A. Juss (Meliaceae): a traditional medicinal plant of India. Ethnobotanical Leaflets, 2008(1), 161.

Rios, J. L., Recio, M. C., and Villar, A.1988. Screening methods for natural products with antimicrobial activity: a review of the literature. Journal of ethnopharmacology, 23(2-3), 127-149.

Rosato, A., Vitali, C., De Laurentis, N., Armenise, D., Milillo, M.A., 2007. Antibacterial effect of some essential oils administered alone or in combination with Norfloxacin. Phytomedicine 14, 727–732.

Ryan, K. J. and Ray, C. G. 2004. Medical microbiology. McGraw Hill, 4, 370.

Ryder, C., Byrd, M. and Wozniak, D. J. 2007. Role of polysaccharides in Pseudomonas aeruginosa biofilm development. Current opinion in microbiology, 10, 644-648

Safdar, W., Majeed, H., Naveed, I., Kayani, W. K., Ahmed, H., Hussain, S., and Kamal, A. 2010. Pharmacognostical study of the medicinal plant Calendula officinalis L.(family Compositae). Int J Cell Mol Biol, 1(2), 108-116.

Sas, J. 2012. Statistical Analysis System, v. 10.0. 2. Cary, North Carolina. USA.

Saxena, G., Farmer, S., Hancock, R. E. W., and Towers, G. H. N. 1995. Antimicrobial compounds from Alnus rubra. International journal of pharmacognosy, 33(1), 33-36.

Sekiguchi, J. I., Asagi, T., Miyoshi-Akiyama, T., Kasai, A., Mizuguchi, Y., Araake, M., ... and Kirikae, T. 2007. Outbreaks of multidrug-resistant Pseudomonas aeruginosa in community hospitals in Japan. Journal of clinical microbiology, 45(3), 979-989.

Shah, P. J., and Williamson, M. T. 2018. Synergistic activity of Calendula officinalis petal extract with cefotaxime on esbl producing Escherichia coli. Int J Pharm Biol Scie, 8, 419-425.

Shakeri. A, Hazeri.N, Vlizadeh. J, Ghasemi. A and Tavallaei. F . 2012. Photochemical Screening, Antimicrobial and Antioxidant Activity of *Anabasis aphylla* L. Extracts. *Kragujevac Journal of Science* 34, 71-78.

Shan, B., Cai, Y. Z., Brooks, J. D., and Corke, H. 2007. The in vitro antibacterial activity of dietary spice and medicinal herb extracts. International Journal of food microbiology, 117(1), 112-119.

Shtayeh , M.S.A. and Abu-Ghdeib , S.I. 1999. Antifungal Activity extract Against dematophytes. J. Mycoses., 42:665-672

Shyamala, R., and Reddy, P. S. 2012.The study of bacteriological agents of chronic suppurative otitis media–aerobic culture and evaluation. J Microbiol Biotechnol Res, 2, 152-62.

Smith, E. E., Sims, E. H., Spencer, D. H., Kaul, R., and Olson, M. V. 2005. Evidence for diversifying selection at the pyoverdine locus of Pseudomonas aeruginosa. Journal of bacteriology, 187(6), 2138-2147.

Snow, N., McFadden, J., Evans Evans, T. M., Salywon Salywon, A. M., Wojciechowski, M. F., and Wilson, P. G. 2011. Morphological and molecular evidence of polyphyly in Rhodomyrtus (Myrtaceae: Myrteae). Systematic Botany, 36(2), 390-404.

Speert, D. P. 2002. Molecular epidemiology of Pseudomonas aeruginosa. Front Biosci, 7, 354-361.

Stefanović, O. D. 2018. Synergistic activity of antibiotics and bioactive plant extracts: A study against Gram-positive and Gram-negative bacteria. Bacterial Pathogenesis and Antibacterial Control, 23, 23-48.

Stryjewski, M. E., and Sexton, D. J. 2003. Pseudomonas aeruginosa infections in specific types of patients and clinical settings. In Severe infections caused by Pseudomonas aeruginosa (pp. 1-15). Springer, Boston, MA.

Sule, A. M., Thanni, L. O. A., Odu, O. S., and Olusanya, O. 2002. Bacterial pathogens associated with infected wounds in Ogun state University Teaching Hospital, Sagamu, Nigeria. African Journal of Clinical and Experimental Microbiology, 3(1), 13-16.

Sumbul, S., Ahmad, M. A., Asif, M., and Akhtar, M. 2011. Myrtus communis Linn.-A review.Patil, S., Rao, R. S., Majumdar, B., and Anil, S. 2015. Clinical appearance

of oral Candida infection and therapeutic strategies. Frontiers in microbiology, 6, 1391.

Sun, S., Selmer, M., and Andersson, D. I. 2014. Resistance to β-lactam antibiotics conferred by point mutations in penicillin-binding proteins PBP3, PBP4 and PBP6 in Salmonella enterica. PLoS One, 9(5), e97202.

Tadesse, A. and Alem, M. 2006. Medical Bacteriology. EPHTI.Gondar University.

Taheri, A., Seyfan, A., Jalalinezhad, S., and Nasery, F. 2013. Antibacterial effect of Myrtus communis hydro-alcoholic extract on pathogenic bacteria. Zahedan J Res Med Sci, 15(6), 19-24.

Thaden, J. T., Park, L. P., Maskarinec, S. A., Ruffin, F., Fowler Jr, V. G., and van Duin, D. 2017. Results from a 13-year prospective cohort study show increased mortality associated with bloodstream infections caused by Pseudomonas aeruginosa compared to other bacteria. Antimicrobial agents and chemotherapy, 61(6), e02671-16.

Timoney JF, Gillespie JH, Scott FW and Barlough JE. Hagan and Bruners. 1992. Microbiology and Infectious Diseases of Domestic Animals. 8th ed., USA; pp.36-37.

Twaij, H., and El-Jalil, H. A. 2009. Evaluation of narcotic (opioid like), analgesic activities of medicinal plants. Eur J Sci Res, 33, 179-82.

Ullah, W., Qasim, M., Rahman, H., Jie, Y., and Muhammad, N. 2017. Beta-lactamase-producing Pseudomonas aeruginosa: Phenotypic characteristics and molecular identification of virulence genes. Journal of the Chinese Medical Association, 80(3), 173-177.

Villegas, L. F., Fernández, I. D., Maldonado, H., Torres, R., Zavaleta, A., Vaisberg, A. J., and Hammond, G. B. 1997. Evaluation of the wound-healing activity of selected traditional medicinal plants from Peru. Journal of ethnopharmacology, 55(3), 193-200.

Vostrugina, K., Gudaviciene, D., and Vitkauskiene, A. 2006. Bacteremias in patients with severe burn trauma. Medicina (Kaunas), 42(7), 576-9.

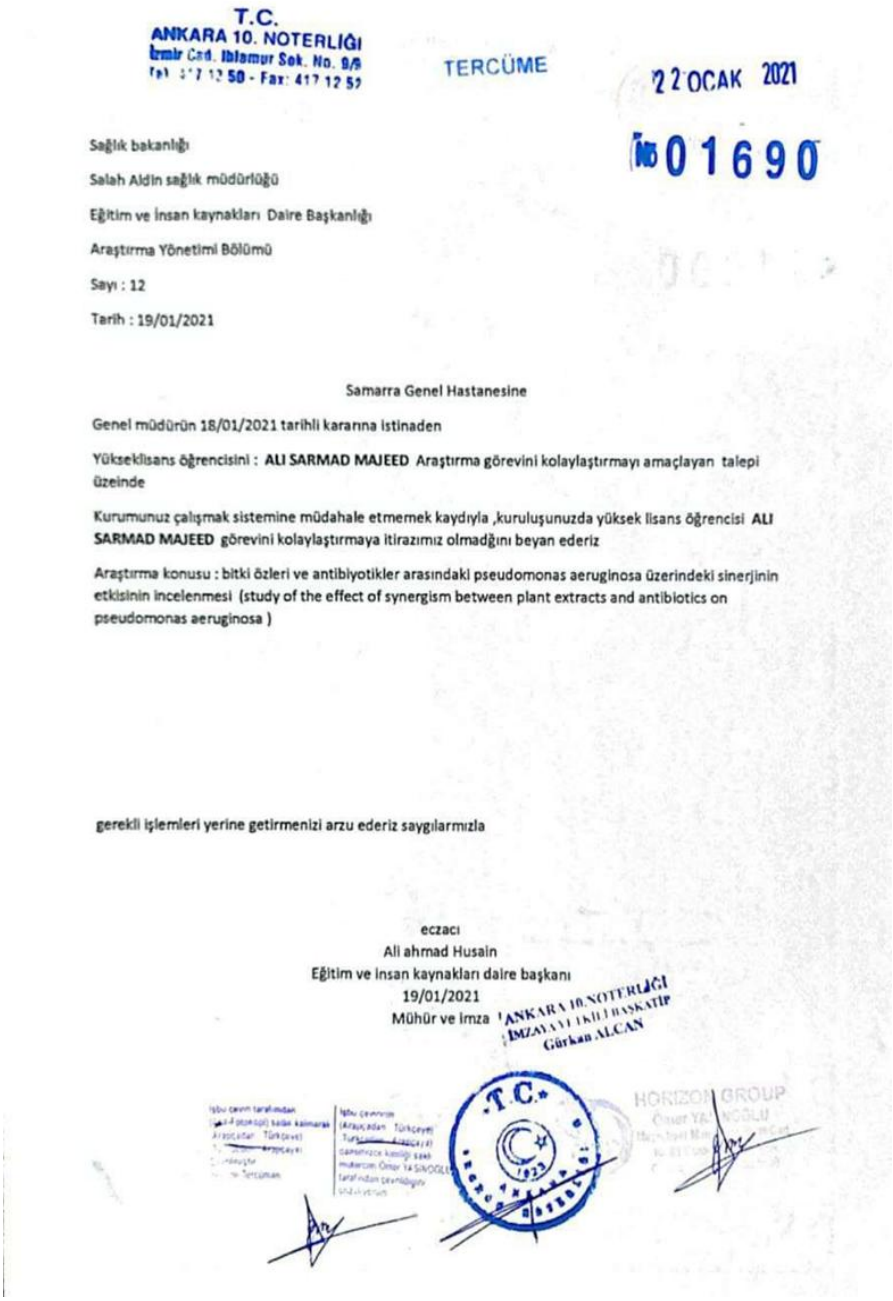
Wilson, P. G. 2011 Myrtaceae. In The Families and Genera of Vascular Plants. Volume X. Sapindales, Cucurbitales, Myrtaceae, edited by K. Kubitzki, X:212–71. Heidelberg: Springer-Verlag, 2011.

Yusuf, E.; Herendael, B. V.; Verbugghe, W.; Leven, M.; Goovaerts, E.;Bergs, K.; Wouters, K.; Jorens, ph. G. and Goossens, H. 2017.Emergence of antimicrobial resistance to Pseudomonas aeruginosa in the intensive care Unit; association with the duration of antibiotic exposure and mode of administration.Springer open. 7:72 pp.

## EKLER

### EK 1. Etik kurul

## EK 1. Etik kurul



T.C.
ANKARA 10. NOTERLİĞİ
İzmir Cad. Ihlamur Sok. No. 9/B
Tel: 417 12 50 - Fax: 417 12 52

TERCÜME

22 OCAK 2021

No 01690

Sağlık bakanlığı

Salah Aldin sağlık müdürlüğü

Eğitim ve İnsan kaynakları Daire Başkanlığı

Araştırma Yönetimi Bölümü

Sayı : 12

Tarih : 19/01/2021

Samarra Genel Hastanesine

Genel müdürün 18/01/2021 tarihli kararına istinaden

Yükseklisans öğrencisini : **ALI SARMAD MAJEED** Araştırma görevini kolaylaştırmayı amaçlayan talepi üzeinde

Kurumunuz çalışmak sistemine müdahale etmemek kaydıyla ,kuruluşunuzda yüksek lisans öğrencisi **ALI SARMAD MAJEED** görevini kolaylaştırmaya itirazımız olmadığını beyan ederiz

Araştırma konusu : bitki özleri ve antibiyotikler arasındaki pseudomonas aeruginosa üzerindeki sinerjinin etkisinin incelenmesi (study of the effect of synergism between plant extracts and antibiotics on pseudomonas aeruginosa )

gerekli işlemleri yerine getirmenizi arzu ederiz saygılarmızla

eczacı
Ali ahmad Husain
Eğitim ve insan kaynakları daire başkanı
19/01/2021
Mühür ve imza

ANKARA 10.NOTERLİĞİ
İMZAYI ATAN İKİNCİ BAŞKATİP
Gürkan ALCAN

T.C.

HORIZON GROUP

## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

Adı ve Soyadı : Ali SARMAD MAJEED ALNAİSANİ

### Eğitim

| | | |
|---|---|---|
| Yüksek Lisans | Çankırı Karatekin Üniversitesi<br>Fen Bilimleri Enstitüsü<br>Biyoloji Anabilim Dalı | 2022 |
| Lisans | University of Samarra | 2018 |

### İş Deneyimi

| Yıl | Kurum | Görev |
|---|---|---|
| 2019-2018 | Kalite Kontrol Müdürü Dubai İlaç Fabrikası | İlaç kalite kontrolü |

### Akademik Aktiviteler

(Bilgisayar ve programlama konusunda deneyimli (C + , paython, video tasarımı)