ÇANKIRI KARATEKİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

PROTEUS MIRABILIS'E KARŞI ANTİBİYOTİK DİRENCİN ARTIRILMASINDA EKİNEZYA SP. EKSTRAKTI VE ÇİNKO OKSİT NANOPARTİKÜLLERİNİN SİNERJİK KARIŞIMLARIN ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Musaab Mohammed AL-SAMMARRAIE

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ÇANKIRI
2022

Her hakkı saklıdır

TEZ ONAYI

Musaab Mohammed AL-SAMMARRAİE tarafından hazırlanan **"*Proteus mirabilis*'e Karşı Antibiyotik Direncin Artırılmasında Ekinezya sp. Ekstraktı ve Çinko Oksit Nanopartiküllerinin Sinerjik Karışımların Etkilerinin Araştırılması"** adlı tez çalışması 13/05/2022 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Danışman **:** Döç. Dr. Öğr. Üyesi Mehmet SEZGİN

Eş Danışman **:** Prof. Dr. Osama NADHOM NİJRİS

Jüri Üyeleri **:**

Başkan **:** Prof. Dr. İsim SOYİSİM
Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı
Çankırı Karatekin Üniversitesi

Üye **:** Doç. Dr. İsim SOYİSİM
Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı
Yıldız Teknik Üniversitesi

Üye **:** Doç. Dr. İsim SOYİSİM
Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı
Çankırı Karatekin 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 **"*Proteus mirabilis*'e Karşı Antibiyotik Direncin Artırılmasında Ekinezya sp. Ekstraktı ve Çinko Oksit Nanopartiküllerinin Sinerjik Karışımların Etkilerinin Araştırılması"** 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 (13/05/2022).

Musaab Mohammed AL-SAMMARRAIE

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

PROTEUS MIRABILIS'E KARŞI ANTİBİYOTİK DİRENCİN ARTIRILMASINDA EKİNEZYA SP. EKSTRAKTI VE ÇİNKO OKSİT NANOPARTİKÜLLERİNİN SİNERJİK KARIŞIMLARIN ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Musaab Mohammed AL-SAMMARRAIE

Çankırı Karatekin Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç.Dr. Mehmet SEZGİN
Eş Danışman: Prof. Dr. Osama NADHOM NİJRİS

Bu tez çalışmasının amacı, *Proteus mirabilis'*e karşı antibiyotik etkinliğinin nanopartiküller ve ekinezya ekstresi ile karıştırarak ortaya konulmasıdır. Bu amaçla, Irak- Selahaddin şehinde bulunan Samarra Devlet Hastanesi'nden çoğunluğu erkek olan farklı yaş ve cinsiyetten 200 hastadan, yara iltihabı, idrar yolu enfeksiyonu, orta kulak enfeksiyonu vb. örnekler izole edilmiştir. Bu örneklerde, mikroskobik testler, biyokimyasal testler, antibiyotik direnci ve antibiyotik alerji testleri yapılmıştır. Gerçekleştirilen tüm testlerde, bitkinin su ekstraktörünün %75'i antibiyotik tetrasiklinin %25'i ile karıştırılarak uygulandığı çalışmadan elde edilmiştir. Bu nedenle en düşük konsantrasyon ile en iyi soncu ve 16 çap etkisi ile de en iyi etki bulunmuştur. Alkol ekstraktı tek başına da en az konsantrasyonla kullanılan diğer maddelere göre daha iyi bir etkiye ve karışımlar olmadan en iyi sonuca sahip olduğu ortaya konulmuştur.

2022, 56 sayfa

ANAHTAR KELİMELER: Antibiyotik duyarlılık testi, Çinko oksit nanopartikülleri, Bitkisel ekstraktlar, Ekinezya spp, Proteus mirabilis.

ABSTRACT

Master of Science Thesis

INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF SYNERGISTIC MIXTURES OF ECHINACEA EXTRACT AND ZINC OXIDE NANOPARTICLES IN INCREASING ANTIBIOTIC RESISTANCE AGAINST *PROTEUS MIRABILIS*

Musaab Mohammed AL-SAMMARRAIE

Çankırı Karatekin University
Natural and Applied Sciences
Biology Department

Advisor: Asoc. Prof. Dr. Mehmet SEZGİN
Co.Advisor: Prof. Dr. Osama NADHOM NİJRİS

The aim of the research is to demonstrate antibiotic effiency against *Proteus mirabilis* by mixing it with nanoparticles and echinacea extract. For this purpose, 200 people of different ages and genders, mostly men, from the General Samarra Hospital in Salah AL-deen, Iraq, were treated for wound inflammation, urinary tract infection, middle ear infection, etc. isolated from sample patients. In these examples, microscopic tests, biochemical tests, antibiotic and antibiotic allergy tests were performed. The best result of all tests performed was obtained when 75% of the plant's water extractor was mixed with 25% of the antibiotic tetracycline, so this is the best result with the lowest concentration and the best effect with a diameter effect of 16. Alcohol extract alone has a better effect than other substances used with minimal concentration and the best result without mixtures.

2022, 56 pages

KEYWORDS: Antibiotic susceptibility test, Zinc oxide nanoparticles, Herbal extracts, Echinacea spp, Proteus mirabilis.

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Bu çalışma Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında 2021-2022 yılları arasında hazırlanarak Yüksek Lisans Tezi olarak sunulmuştur.

Biyoloji Anabilim dalında bana bu fırsatı veren akademik hayata atılmamı sağlayan ve tez çalışmamda planlanmasında, araştırılmasında, yürütülmesinde ve oluşumunda ilgi ve desteğini esirgemeyen, engin bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, yönlendirme ve bilgilendirmeleriyle çalışmamı bilimsel temeller ışığında şekillendiren Sayın Hocalarım Doç. Dr. Mehmet SEZGİN'e ve Prof. Dr. Osama Nadhom Nijris'e sonsuz teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Musaab Mohammed AL-SAMMARRAIE

Çankırı, Nisan 2022

İÇİNDEKİLER

ÖZET ..... **i**
ABSTRACT ..... **ii**
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR ..... **iii**
İÇİNDEKİLER ..... **iv**
SİMGELER DİZİNİ ..... **vi**
ŞEKİLLER DİZİNİ ..... **vii**
ÇİZELGELER DİZİNİ ..... **viii**
1. GİRİŞ **1**
2. KAYNAK ÖZETLERİ **3**
2.1 *Proteus mirabilis* **3**
2.2 *Proteus* Türlerinin Neden Olduğu En Yaygın Enfeksiyonlar **4**
2.2.1 Yara **4**
2.2.2 Orta kulak iltihabı **4**
2.2.3 İdrar yolu enfeksiyonu (İYE) **5**
2.3 Antibiyotik Direnci **5**
2.4 Antibiyotik **6**
2.5 *Echinacea purpurea* (L.) Moench **7**
2.6 Ekinezya'nın Fitokimyasal Çeşitliliğinin Çeşitli Tedavi Etkilerindeki Önemi **8**
2.7 Biyolojik Özellikler **9**
2.7.1 Ekinezya'nın immünomodülatör etkileri **9**
2.7.2 Antimikrobiyal etkinlik **9**
2.8 Çinko Oksit Nanopartiküllerin Antimikrobiyal Aktivitesi **10**
2.9 Antibiyotikli Sinerjik Nanopartiküller **12**
3. MATERYAL VE YÖNTEM **14**
3.1 Kültür Besiyerleri **14**
3.1.1 Kanlı agar **14**
3.1.2 McConkey agar **15**
3.1.3 Besi ortamı **15**
3.2 Antibiyotik diskler **15**
3.3 Çözeltiler **16**
3.4 Reaktiflerin Hazırlanması **16**
3.4.1 Oksidaz reaktifi **16**
3.4.2 Hidrojen peroksit **17**
3.4.3 Voges-proskauer reaktifleri (barritt reaktifi) **17**
3.4.4 Kovac reaktifi **17**
3.4.5 Metil kırmızı reaktifi **17**
3.4.6 Gram boyama **18**
3.4.7 Kültür besiyerilerinin hazırlanması **19**

3.4.8 İzole bakteriler 20
3.4.9 Biyokimyasal testler 20
3.4.10 Vitek 2 kompakt sistemi 23
3.4.11 Antibiyotik duyarlılık testi 23
3.4.12 Bitki temini 24
3.4.13 Ekinezya bitkisinin ekstraktının çıkarılması 25
3.4.14 Antimikrobiyal aktivite için tarama yapılması 26
3.4.15 Minimum inhibitör konsantrasyonunun belirlenmesi (MIC) 27
3.4.16 Antibiyotik, ekstraktlar ve nanopartiküller kombinasyonlarının hazırlanması 27
4. BULGULAR 29
4.1 *Proteus mirabilis* İzolasyonu 29
4.1.1 Kültürel özellikler 29
4.1.2 Mikroskobik görünüm 30
4.1.3 Biyokimyasal inceleme 30
4.1.4 *Proteus mirabilis*'in antibiyotik duyarlılık paternleri 32
4.1.5 Kullanılan antibiyotikler *Proteus mirabilis* üzerindeki etkisi 32
4.1.6 Ekinezya bitkisinin seri seyreltme ekstraktlarının *Proteus mirabilis* üzerine etkisi 33
4.1.7 Seri seyreltme çinko nanoparçacığının *Proteus mirabilis* üzerindeki etkisi 35
4.1.8 Antibiyotiklerin bitki ekstraktlarının ve çinko nanoparçacık ile karıştırılmasının *Proteus mirabilis* üzerine seri seyreltme etkisi 36
5. TARTIŞMA VE SONUÇ 41
KAYNAKLAR 45
ÖZGEÇMİŞ 56

SİMGELER DİZİNİ

dk	Dakika
gr	Gram
pH	Hidrojen Gücü
µL	Mikrolitre
mg	Miligram
mL	Mililitre
nm	Nanometre
°C	Santigrat Derece
%	Yüzde

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1 Ekinezya bitkisinin kurutulmuş hali 24
Şekil 3.2 *Echinacea* sp. bitkisinin kurutulduktan öğütülmüş hali toz (2 gr) 25
Şekil 3.3 *Echinacea* sp.'nin su ve ethanol ekstraktı 26
Şekil 4.1 *Proteus mirabilis*'in Nutrient agarda görünümü 30
Şekil 4.2 Mikroskop altındaki *Proteus mirabilis* bakterilerin görünümü 30
Şekil 4.3 *Proteus mirabilis* için yapılan biyokimyasal testler 31
Şekil 4.4 Seri seyreltme antibiyotiklerinin *Proteus mirabilis* üzerindeki etkisi 33
Şekil 4.5 *Ekinezya* bitki ekstraktlarının çapa göre seri seyreltme etkisi 34
Şekil 4.6 Seri seyreltme çinko nanoparçacığının *Proteus mirabilis* üzerindeki etkisi 35
Şekil 4.7 Eritromisin ve Tetrasiklin'in çinko nano ile seri seyreltilmesinin *Proteus mirabilis* üzerindeki çapa göre etkileri 38
Şekil 4.8 Eritromisin'in bitki ekstraktları (su, etanol) ile seri seyreltilmesinin *Proteus mirabilis* üzerinde çapa göre etkileri 39
Şekil 4.9 Tetrasiklinin bitki ekstraktları (su, etanol) ile seri seyreltilmesinin *Proteus mirabilis* üzerinde çapa göre etkileri 40

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1 Bu çalışmada kullanılan antibiyotik diskler (CLSI 2020) 16
Çizelge 4.1 İnsanların kulak sürüntüsü, yaraları ve idrar yolu enfeksiyonundan izole edilen *Proteus mirabilis* sayısı 29
Çizelge 4.2 *Proteus mirabilis* için yapılan biyokimyasal testler 31
Çizelge 4.3 *Proteus mirabilis*'in antibiyotik duyarlılık paternleri 32
Çizelge 4.4 Seri seyreltme antibiyotiklerinin *Proteus mirabilis* üzerindeki etkisi 33
Çizelge 4.5 Ekinezya'nın seri seyreltme bitki ekstraktlarının *Proteus mirabilis* üzerine etkisi 34
Çizelge 4.6 Seri seyreltme çinko nanoparçacığının *Proteus mirabilis* üzerindeki etkisi 35
Çizelge 4.7 Seri seyreltme karışımlarının *Proteus mirabilis* üzerindeki çapa göre etkisi 37
Çizelge 4.8 %25 antibiyotiğin ve %75 sulu, alkollü ve nano özütün *Proteus mirabilis* üzerindeki etkisi 37
Çizelge 4.9 %50 su, alkol ve nano özü ile %50 antibiyotik karışımlarının *Proteus mirabilis* üzerindeki etkisi 38
Çizelge 4.10 %25 su, alkol ve nano özü ile %75 antibiyotik karışımlarının *Proteus mirabilis* üzerindeki etkisi 39

1. GİRİŞ

Dünyadaki en ağır sağlık sorunlarından biri bakteriyel enfeksiyonlardır (Sedláková *et al.* 2014). Araştırmanın odağını, özellikle bağırsak sistemini etkileyen, sürekli gelişim içinde oldukları için çok karmaşık olan ve bakterilerde olduğu gibi sadece bağırsakta değil, tüm vücutta enfeksiyonlara neden olan *Proteus mirabilis,* oluşturmaktadır. Kulağa ve yaralara bulaşan ve idrar yolu enfeksiyonuna neden olan *Proteus mirabilis,* kamçı aracılığla hareket eden Enterobacteriaceae familyasına ait, fakültatif olarak anaerobik bir basil olan Gram-negatif bir bakteridir (Chen *et al*. 2012). İnsan vücudu, doğası gereği birçok bakteriyel hastalığa maruz kalmaktadır. Bakterilerin neden olabileceği en önemli enfeksiyonlardan bazıları da *Proteus mirabilis* bakterilerinin neden olduğu enfeksiyonlardır. *P. mirabilis*, gıda zehirlenmesine, solunum ve yara enfeksiyonlarına, bakteriyemiye ve diğer enfeksiyonlara neden olabilmektedir (Habibi *et al*. 2018).

Kontrolsüz antibiyotik kullanımı bu bakterilerin birçok antibiyotiğe karşı dirençli hâle gelmesine neden olmuştur. Bu nedenle, bakterilerin tedavisinde onlara direnç kazandırabilecek veya onlarda genetik mutasyona neden olabilecek riskli tedavilerin uygulanması sınırlandırılmalıdır. Buna alternatif olarak ise, daha etkili ve ucuz olması için şifalı bitkiler veya nanopartiküllerin kullanımı ya da antibiyotiklerle karıştırılması gibi başka tedavi yöntemleri bulunmalıdır. Daha önce yapılan birkaç çalışmaya göre, bu bakteriler başta penisilinler, sefalosporinler ve monobaktamlar olmak üzere birçok antibiyotiğe karşı dirençlidir (Nakama *et al*. 2016).

Dünya Sağlık Örgütü'ne (DSÖ) göre şifalı bitkiler, bir çok ilacın en iyi kaynağı durumundadır ve dünya nüfusunun %80'i bitkisel ilaçlara güvenmektedir. Bu şifalı bitkiler arasında yer alan *Echinacea purpurea* (L.) Moench, Asteraceae familyasında yer alan Kuzey Amerika'nın doğusuna özgü çok yıllık bir bitkidir (Thomse *et al*. 2018). Güvenli olarak bilinen bu bitki, esas olarak hava ile kurutulmuş ekstraktlarının veya köklerinin su veya alkol ekstraktı yoluyla kullanılmaktadır (Chiou *et al*. 2017, Du *et al*. 2017).

Nanopartiküller, bakterilerin büyümesine karşı iyi bir mücadele gösteren son keşiflerdir. Nanoteknoloji, çok çeşitli teknolojik ve biyoteknolojik gelişmeleri destekleme potansiyeli ile en hızlı gelişen teknolojilerden biridir (Senica *et al.* 2019). En umut verici metalik nanomalzemelerden birinin, stabilitesi ve insanları koruması nedeniyle çinko oksit (ZnO) olduğu tespit edilmiştir (Sultan *et al*. 2014, Bhardwaj *et al*. 2020).

Bu çalışmanın amacı, bitkiler ve antibiyotikler arasında veya nanopartiküller ve antibiyotikler arasında kullanılan karışımlar aracılığıyla, *Proteus mirabilis* üzerinde etkili terapötik alternatifler bulmak ve aynı zamanda onların inhibe edilişi veya ortadan kaldırılmasının tespitidir.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1 *Proteus mirabilis*

Proteus mirabilis, ilk kez 1885 yılında Hauser tarafından çürümüş etten izole edilen Enterobacteriaceae familyasının gram negatif, hareketli, fakültatif anaerobik bir basilidir. Topraktan, durgun sudan, memeli bağırsaklarından ve bunun sonucunda kanalizasyondan izole edilebilmektedir (Chen *et al*. 2012). *P. mirabilis* dimorfik olup bağışıklık sisteminden kaçabilir ve iki farklı morfolojide görülmektedir. Adını, takipçilerini "sonsuz geçiş hediyesi" ile atlatmak için kutsanmış olan Homer'in Odyssey'inde geçen Proteus'tan almıştır. Bu organizma, klinik ortamlarda, özellikle uzun süreli kateterizasyondan şikayetçi olan bireylerde bulunmakta olup, çoğunlukla bir idrar yolları hastalığıdır. *P. mirabilis* tarafından insan üriner sistemine girmek, kolonize olmak için üreaz ve taş oluşumu, fimbria ve diğer adezinler, demir ve çinko alımı, proteazlar ve hemolizin gibi toksinler, gözenek oluşturma özelliği, biyofilm oluşumu ve patogenez kontrolü dâhil olmak üzere çeşitli virülans faktörleri kullanmaktadır (Schaffer *et al*. 2016).

P. mirabilis, insanlar ve hayvanlar için dünya çapında büyük bir tehlike olmakla beraber beyaz etler (kümes hayvanları) dâhil olmak üzere çeşitli gıda maddelerinde bulunabilir (Lei *et al*. 2014). Bu bakteri, mevcut durumda çok sayıda suşa karşı dirençlidir ve bu durum büyük bir gıda güvenliği endişesi anlamına gelmektedir (Lei *et al*. 2016). Gıda kaynaklı enfeksiyonların sebep olduğu salgınları, *Proteus* bakteri grubuna bağlı zehirlenmeleri ve gıda kaynaklı gribal enfeksiyonları, kontrol programlarına ve önleyici tedbirlere neden olan proteinlerdeki artışları önlemek için birkaç gıda kaynaklı ürünün ortaya çıkarılması gerekmektedir (Ram *et al*. 2019).

Proteus'un esas olarak kümes hayvanlarından elde edilen ürünler ile bulaştığı düşünülmektedir (Firildak *et al*. 2015). Güvenli ve temiz görünseler bile, *Proteus* suşları bu hayvanların dışkılarında ve vücutlarında (tüyler, pençeler ve gagalar) bulunabilir. *Proteus* türleri, kuşların yaşadığı bölgede kafeslere, kümeslere, yem ve su kaplarına, samanlara, bitkilere ve toprağa yapışabilmektedir. Ayrıca *Proteus*, yumurta kabuklarını

kümes hayvanlarının dışkılarından veya yumurtaların bırakıldığı alandan enfekte edebilmektedir (Jambalang *et al*. 2017).

2.2 *Proteus* Türlerinin Neden Olduğu En Yaygın Enfeksiyonlar

2.2.1 Yara

Yumuşak vücut sistemlerinin kohezyonu bozulduğunda bir yara oluşmakta (Borena *et al*. 2015) ve çeşitli faktörlerin etkileşimi, yara enfeksiyonunun büyümesinde rol oynamaktadır. Konağın koruyucu tabakası olan cilt kırıldığında tabakanın koruyucu işlevleri bozulmakta, yaraya birkaç hücre tipi indüklenmekte ve bir konak tepkisini tetiklemektedir (Borena *et al*. 2015). Vücudun steril dokuları içinde herhangi bir yerde bir veya daha fazla mikroorganizma türünün aktif istilası ve yayılması, irin gelişmesine neden olmakta ve bu yara enfeksiyonu olarak bilinmektedir (Adamus-Bialek *et al*. 2013). Uzun süreli bakım servislerinde ve kliniklerde *Proteus* bulunabilmektedir (Schaffer and Pearson 2015). Özellikle karmaşık yaralarda, kateterizasyonu veya altta yatan başka hastalıkları olan kişilerde, ayrıca bağışıklığı baskılanmış kişilerde tedavisi zor olan ciddi klinik enfeksiyonlara da neden olmaktadır (Ahn *et al*. 2017).

2.2.2 Orta kulak iltihabı

Pseudomonas aeruginosa, Proteus mirabilis ve diğer bakteri türleri sıklıkla majör kulak enfeksiyonlarının bir komplikasyonu olan Otitis media ile ilişkilidir (Mittal *et al*. 2015).

Antibiyotiklerin yaygın olarak kullanılması, özellikle gram negatif bakterilerde antibiyotik direncinin ortaya çıkmasına ve antibiyotik direnç genlerinin gelişmesine katkıda bulunmakta ve bu durum tıpta en önemli sorunlardan biri olarak kabul edilmektedir. *Proteus mirabilis* bakteriyemisi üzerinde epidemiyolojik bir etkiye sahip olan geniş spektrumlu laktamazların (GSBL'ler) gelişmesinin neden olduğu geniş spektrumlu sefalosporinlere direnç gibi *Proteus mirabilis'*te de antimikrobiyal direnç artmaktadır (Sohn *et al*. 2011).

2.2.3 İdrar yolu enfeksiyonu (İYE)

Üreaz, ürolitiyazis için gereklidir, çünkü ürenin hidrolizinde amonyak salınımına yardımcı olmaktadır. Bu durum da idrar pH'ını yükselterek kalsiyum ve magnezyum bileşiklerinin çökelmesine ve idrar taşlarının oluşumuna neden olmaktadır (Armbruster and Mobley 2012). *Proteus mirabilis* kateter kolonizasyonunda pH değişimi esastır, çünkü bakteri yapışmasını ve biyofilm oluşumunu kolaylaştırmaktadır (Schaffer *et al*. 2016). Yapılan araştırmalar, hemolisinin, bakterinin potansiyel ürovirülansına katkıda bulunan *P. mirabilis* ile indüklenen İYE'de kritik bir rol oynadığını göstermektedir. *P. mirabilis* virülans özellikleri ve İYE patogenezinde yer alan mekanizmaları, *P. mirabilis* virülans genlerinin spektrumunu ve *P. mirabilis* izolatları arasındaki prevalansını sınıflandırmak için çeşitli çalışmalarda incelenmiştir (Abbas *et al*. 2015). *P. mirabilis* patogenezi ve antibiyotik duyarlılığı hakkında daha fazla bilgi edinmek amacıyla virülans gen belirteçlerini tanımak için insan İYE'sinde yer alan *Proteus mirabilis* izolatları karakterize edilmiştir (Abbas *et al*. 2015).

2.3 Antibiyotik Direnci

Proteus mirabilis'in, sefalosporin ve β-laktam/β-laktamaz inhibitörlerine karşı duyarlılığı olmuştur. Ancak 1990'larda β-laktamaz dirençli bakteriler, β-laktamaz edinmiştir (Chanal *et al*. 2000). Plazmid olarak taşınan β-laktamazlar (ESBL) ve AmpC β-laktamazlar, hemen hemen tüm penisilinlere ve sefalosporinlere direnç ürettiğinden ve çeşitli Enterobacteriaceae türleri arasında kolayca yayılabileceği için, β-laktamazların en ciddileri olduğu söylenebilir (Bush and Jacoby 2010). Bazı araştırmalar, AmpC β-laktamaz üreten GSBL ve *P. mirabilis* izolatlarının klonal yayılmaya yol açabileceğini ve hastane içi, bölgesel ve kıtasal salgınlar oluşturabileceğini göstermiştir (Nakano *et al*. 2012). Yetersiz ampirik tedaviye bağlı GSBL üreten *P. mirabilis* (Endimiani *et al*. 2005) olan hastalarda tedavi başarısızlığı ve klinik ölümler daha olasıdır. Karbapenemaz üreten Enterobacteriaceae'nin (CPE) oluşumu ve yayılımı, yeni tedavi seçeneklerinin, özellikle KPC (*Klebsiella pneumoniae* karbapenemaz) eksprese eden genleri ve karbapenemaz NDM (Yeni Delhi Metallo-β-

laktamaz) kodlamasını taşıyan izolatların, eklenmesiyle engellenmiştir (Nordmann *et al*. 2011).

Antibiyotik direnci, antibiyotiklerin keşfine kadar uzanan ve uzun süredir devam eden bir sorundur. Antibiyotikler, mantar ve bakterilerin kendilerini diğer bakterilere karşı savunmak için oluşturdukları doğal maddelerdir. Bakteriler intihara meyilli olmamakla beraber, antibiyotikleri üreten ilk canlılardır ve bu şekilde, kendilerini nasıl savunacaklarını da öğrenmişlerdir (Lozniewski *et al*. 2010). Antibiyotik direnci küresel bir sorundur (Chanda and Rakholiya 2011). Bakterilerin antibiyotiklere karşı direnci arttıkça, bilimsel araştırmalarda antimikrobiyal bitki ürünleri, ilgi görmeye başlamıştır. Doğal antimikrobiyal bileşikler sadece gıdaların korunmasında değil, aynı zamanda insan hastalıklarının ve bitkilerdeki mikrobiyal kökenlerin kontrolünde de önemlidir. (Choi *et al*. 2010).

2.4 Antibiyotik

Antibiyotik, Yunanca da "hayata karşı" anlamına gelen antibiyozis kelimesinden türetilmiştir. Antibiyotiklerin bir zamanlar diğer mikroorganizmalara karşı zehirli olan bir bakteri tarafından üretilen kimyasal moleküller olduğu düşünülmektedir (Russell, 2004). Bu yaklaşımın sonucu olarak bir antibiyotik, başlangıçta bir mikrop (Denyer *et al*. 2004) veya biyolojik kökenli (Schlegel 2003) üretilen ve diğer bakterileri düşük miktarlarda inhibe edebilecek veya öldürebilecek bir kimyasal olarak tanımlanmıştır (Russell 2004). Bununla birlikte, günümüzde bu terim, kısmen veya tamamen sentetik tekniklerle oluşturulan antimikrobiyalleri kapsayacak şekilde genişletilmiştir. Bazı ilaçlar mikropları tamamen öldürebilirken diğerleri mikropların çoğalmalarını durdurabilir. Bakteriyostatik ajanlar, mikropları öldürenlerdir, bakterisidal ajanlar ise bakteri üremesini baskılamaktadır (Walsh 2003). Antibiyotikler her zaman antibakteriyel olmasına rağmen, antibiyotik bileşikleri savaştıkları mikroorganizmalara göre antibakteriyel, antifungal veya antiviral olarak sınıflandırılmaktadır (Brooks *et al*. 2004, Russell 2004).

Penisilin, Eylül 1928'de İngiliz bir bakteriyolog, merhum Sir Alexander Fleming tarafından keşfedilmiştir. Penisilin yanlışlıkla, notatum adı verilen ve toprakta yaşayan bir mantardan alınmış ve ilk olarak 1929'da Aminov (2010) tanımlamıştır. İnsanlar üzerindeki klinik çalışmalar ise 1940'ta başlamıştır (Schlegel 2003, Russell 2004).

2.5 *Echinacea purpurea* (L.) Moench

Ekinezya, koni çiçeği, kırmızı ayçiçeği ve rudbeckia gibi çiçekli bitkileri içeren Asteraceae familyasının bir üyesidir. *Echinacea purpurea*, *Echinacea angustifolia*, *Echinacea pallida*, *Echinacea atrorubens*, *Echinacea laevigata*, *Echinacea paradoxa*, *Echinacea sanguinea*, *Echinacea simulate* ve *Echinacea tennesseensis*, ekinezya türlerinden bazılarıdır. *E. angustifolia* (siyah sampson) ve *E. pallida*'dan (soluk mor koni çiçeği) sonra, mor koni çiçeği olarak da bilinen *E. purpurea* en yaygın olanıdır. Bu tür, üzerinde iyi çalışılmış ve tedavi amaçlı olarak kullanılan en yaygın türdür (Kembuan *et al*. 2020).

Artık çok çeşitli bitkilerin geleneksel etnomedikal uygulamaları hastalıkların önlenmesi için etkili bir yöntem olarak kullanılmaktadırlar (Nadaf *et al.* 2019). Bitki bazlı ilaçlar, artık reçeteli pazarın yaklaşık %30'unu ve kritik ilaçların (birinci basamakta kullanılan ilaçlar) %11'ini oluşturmaktadır (Sousa *et al*. 2018).

Echinacea purpurea (L.) Moench, Asteraceae familyasından Doğu Kuzey Amerika'ya özgü çok yıllık bir bitkidir (Thomsen *et al*. 2018). Bu bitki türü, güvenli bir bitkisel ilaç olarak kabul edilmekte olup, çoğunlukla kurutulmuş kısımlarının, köklerinin veya etanolik ekstraktları yoluyla ilaç tedavisi için kullanılmaktadır (Chiou *et al*. 2017, Du *et al*. 2017). *E. purpurea*, yılan ısırıkları ve yara enfeksiyonlarının yanı sıra, anti-inflamatuar, antioksidan ve antitümör özellikleri de dahil olmak üzere bir dizi hastalık için iyi bilinen ve yaygın olarak kullanılan bir tıbbi bitkidir (Pires *et al*. 2016, Aarland *et al*. 2017).

Bu bitki, standart hazırlama solüsyonları (sıvı formlar) veya kapsüller (kurutulmuş *E. purpurea* içeren) içinde infüzyon veya tentür olarak mevcuttur (Hudson 2012, Senica *et al.* 2019). Yapılan araştırmalara göre, alkamitler, polisakkaritler, lipoproteinler, betain, seskiterpenler, poliasetilen, saponinler ve fenolik bileşikler (ekinakozit ve diğer kafeik asit türevleri ve şikorik asit), *E. purpurea*'da bulunan en popüler fitokimyasallardır (Sultan *et al*. 2014, Aarland *et al*. 2017, Senica *et al*. 2019).

Bu biyoaktif bileşik grupların, açıklanan biyolojik özelliklerden sorumlu olduğu tespit edilmiştir. Bu bitki türlerinin, çoklu aktiviteleri, köklerde daha fazla alkamide sahip olması ve yaprakların daha fazla flavonoid içermesi, bitkinin hangi bölümünün kullanıldığına bağlı olarak, çeşitli bileşiklerin tıbbi faydalarına katkıda bulunabileceğini düşündürmektedir (Manayi *et al*. 2015). *E. purpurea* toprak üstü kısımlarının, biyoaktif özellikleri üzerine yapılan araştırmaların çoğu bu durumu ifade etmektedir (Khalaf *et al*. 2019).

2.6 Ekinezya'nın Fitokimyasal Çeşitliliğinin Çeşitli Tedavi Etkilerindeki Önemi

Kafeik, ferulik asit, kaftarik asit, hindiba asidi ve klorojenik asit, *E. purpurea*'nın havada bulunan kısmında, önemli fotolik bileşikler olan polisakkaritler ve glikoproteinler halinde yaygın olarak bulunmaktadır (Kembuan *et al*. 2020). Hindiba çiçekleri ve kökleri etanolik ekstraktları bakımından zengindir (Waidyanatha *et al*. 2020) ve çiçeklerinin sulu ekstraktları bol miktarda kaftarik asit içerir (Senica *et al*. 2019). *E. purpurea* gibi türler yüksek seviyelerde seskiterpen ve monoterpen hidrokarbonlara sahiptir (Sharifi-Rad *et al*. 2018). Germacrene D, borneol, bornyl asetat, pentadeca-8z-en-2-one, naftalin, karyofillen oksit, cedrol phellandrene, -cadinol ve caryophyllene, ekinezya esansiyel yağlarında bulunmaktadır (Nyalambisa *et al*. 2017). *E. purpurea*'nın kökleri esas olarak phellandrene içerirken, çiçekleri, yaprakları ve gövdesi mirsen içermektedir (Sharifi Rad *et al*. 2018). Preklinik ve klinik çalışmalarda, farklı türlere ve bitki kısımlarına dayalı olarak, çeşitli ekinezya preparatları değerlendirilmiştir.

2.7 Biyolojik Özellikler

2.7.1 Ekinezya'nın immünomodülatör etkileri

Ekinezya organizmalarından elde edilen birkaç damıtılmış bileşiğin (örneğin, glikoproteinler, çözünür polisakkaritler, kafeik asit türevleri, fenolik bileşikler ve alkamitler), çalışmalarda immünomodülatör yollara neden olduğu gösterilmiştir (Kour and Bani 2011, Boonen *et al*. 2012, Rondanelli *et al*. 2018). *E. purpurea*, splenik doğal öldürücü (NK) hücre aktivitesini ve splenosit proliferasyonunu geri yükleyerek ve ayrıca CD4 ve CD8 T lenfositlerinin ve interlökin-6 (IL-6), interlökin-10 (IL-10) ve interlökin-17 (IL-17) gibi sitokinlerin kan seviyelerini iyileştirerek immünosupresif etkilere sahip olmuştur (Park *et al.* 2018). Kandaki interlökin-2 (IL-2), IL-6 ve tümör nekroz faktörünün (TNF) *E. purpurea* esansiyel yağı tarafından inhibe edildiği bildirilmiştir (Yu *et al.* 2013). *E. purpurea*'nın sulu ve alkollü ekstraktlarında bulunan glikoproteinler, polisakkaritler, kafeik asit bileşikleri, alkamitler ve seskiterpenlerin hem adaptif hem de doğuştan gelen bağışıklığı düzenleyici ve bağışıklık hücrelerini etkileyerek immünomodülatör işlevi olduğu görülmüştür (Tisoncik *et al.* 2012). Akut miyokard enfarktüsünde (AMI) akut nöronal hasar, akut karaciğer hasarı, akut böbrek hasarı, nöropatik ağrı, anksiyete, depresyon, interstisyel sistit, otoimmün ensefalomiyelit, hiperglisemi, ateroskleroz, kardiyomiyopati, damar iltihabı, bağırsak iltihabı, karaciğer enfarktüsü ve hiperglisemi CB2R'nin aktivasyonu gibi durumlarda da güçlü anti-inflamatuar, immünomodülatör ve organoprotektif özellikler göstermiştir.

2.7.2 Antimikrobiyal etkinlik

Ekinezya, üst solunum yolu enfeksiyonlarının tedavisinde ve önlenmesinde kullanılan tıbbi bir bitkidir. Son zamanlarda ise alkamitler ve kafeik asit türevlerinin biyosentezini etkileyen bakteriyel endofitlerin varlığı araştırılmaktadır (Maggini *et al.* 2017). Tekrarlayan bademcik iltihabı olan pediyatrik hastalarda, Ekinezya ve azitromisin kombinasyonunun, tek başına azitromisinden daha başarılı olduğu görülmüştür (Abdel-Naby *et al.* 2020).

Ayrıca, klinik bir çalışmada, *E. purpurea*'nın bir kombinasyonunun, kronik obstrüktif akciğer hastalığı alevlenmelerinin tekrarlayan bir nedeni olan üst solunum yolu enfeksiyonlarının, neden olduğu alevlenme semptomlarını hafiflettiği de ortaya koyulmuştur (Isbaniah *et al.* 2011).

Rady vd. (2018) göre *E. purpurea* özü, *Staphylococcus aureus* büyümesini engellemiş fakat buradaki sonuçlarda bir farklılık gözlenmiştir. Araştırma, Ni ile karıştırıldığında bu özün etkisini gösterdiğini belirtmiştir. Yani, FeO (OH)-NW bakteri *Pseudomonas aeruginosa* ve *Staphylococcus aureus*'da çok iyi bir etkiye sahiptir (Askari *et al.* 2020). Başka bir çalışma da, bu bitkinin özünün, küfe karşı etkili olduğu görülmüştür (Sabouri *et al.* 2012). Diğer benzer araştırmalar bu özün, mantar *Candida* spp. *ve Saccharomyces cerevisiae'*ye (Binns *et al.* 2000) karşı etkili olduğunu belirtmektedir ve gram-pozitif bakteriler, özellikle de ekstrakt için savunmasızdır. *Enterococcus faecalis* ve *Listeria monocytogenes* ise bunlar içinde en hassas olanlarıdır (Hudson *et al.* 2012).

2.8 Çinko Oksit Nanopartiküllerin Antimikrobiyal Aktivitesi

ZnO malzemelerinin antimikrobiyal etki mekanizmaları, (a) Zn^{2+} iyon salınımının benzersiz fiziksel özellikleri, (b) adsorpsiyon, (c) ROS üretimi (Sirelkhatim 2015), (d) enerji metabolizması inhibisyonunun mikroorganizmalarındaki hücre içi tepkiler, (e) lipid peroksidasyonu ve hücre zarı hasarı, (f) bozulmuş DNA replikasyonu ve DNA yıkımı (Cheeseman *et al.* 2020) maddelerine göre spesifik etkileşimlerle birlikte açıklanmaktadır. Metabolik süreçlere müdahale ve enzimatik sistemlerin bozulması nedeniyle, ZnO NP'leri/yardımcıları tarafından üretilen Zn_2+ iyonları bakterilerde antibiyotik tepkisine neden olmaktadır (Buy *et al.* 2018). UV ve görünür ışık ışıması altında fotokatalizörler olarak şarj etme-yükleme etkileşimi ve ROS üretimi yoluyla biyombran partikül adsorpsiyonu ZnO NP'lerin/yardımcılarının diğer işlevleridir (da Silva *et al.* 2019). Negatif yüklü hücre duvarları veya mikroorganizmaların biyomembranları, ZnO NP'lerin/yardımcılarının pozitif yüklü yüzeyleri ile etkileşime girmektedir (Hajipour *et al.* 2012). Wang vd. (2019) ve Chen vd. (2019), ZnO NP'lerin hücresel toksisitesi üzerine yaptıkları son çalışmalarında, ZnO NP'lerin farklı hücre tiplerinde hücresel toksisiteye neden olduğu, bu maddelerin konsantrasyonuna ve maruz

kalma sürelerine bağlı olarak değişiklik gösterdiği ve 95 çalışmanın 31'inde NP'lerin ZnO'nun neden olduğu hücresel toksisite ile ilişkili olduğu bulunmuştur.

Araştırmacılar, bazen NPs ZnO genetik mutasyonlarına da neden olabilecek bu toksisitenin izlerini yayınlamışlardır (Akbaba and Turkez 2018, Anagisawa *et al*. 2018, Wang *et al*. 2019). Denemelerden 95'inin 22'sinde bu NPs ZnO bileşiklerine maruz kalmanın bir sonucu olarak belirli bir gende gen mutasyonu meydana geldiği tespit edilmiştir. ZnO NP'lerin pulmoner toksisiteye sahip olduğu araştırmacılar tarafından keşfedilmiştir. Wang vd. (2018), He vd. (2017), Liang vd. (2017), Zhang vd. (2017) ve Bai vd. (2017) dâhil olmak üzere çeşitli araştırmacılar, A549 akciğer epitel hücrelerine karşı ZnO NP'lerin pulmoner toksisitesini tanımlamıştır. Toplam 95 deneyden 20'sinin ZnO NP'lerin neden olduğu pulmoner toksisite ile bağlantılı olduğu belirlenmiştir.

Sinir sistemi, ZnO NP'lerden zarar görmektedir. Song vd. (2019) yakın zamanda astrositlerde ZnO NP'lerin toksisitesi üzerine bir çalışma yayınlamışlardır. Toplam 95 çalışmadan 9'unun ZnO NP'lerin neden olduğu nörotoksisite ile bağlantılı olduğu saptanmıştır.

ZnO NP'ler iltihaplanmaya da neden olabilmektedir. THP-1 hücre hatlarında ZnO NP'lerin neden olduğu inflamasyon ve mitokondriyal disfonksiyon yakın zamanda Safar vd. (2019) tarafından kaydedilmiştir. Makrofaj hücre dizilerinde ZnO NP'lerin neden olduğu iltihaplanma da Uski vd. (2017) tarafından belgelenmiştir. Toplam 95 çalışmadan 13'ünün ZnO NP'lerin neden olduğu inflamasyonla bağlantılı olduğu görülmüştür.

Patojenik mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal aktivite, ZnO NP'ler/MP'ler antibiyotikler ve anti-inflamatuar ajanlar gibi ilaçlarla birleştirilerek incelenmiştir (Abo-Shama *et al*. 2021). Endodontik sargılar (klindamisin ve triamsinolon) tarihsel olarak antibiyotikler, antienflamatuar ilaçlar veya doğal ürünler (Eftekhar *et al*. 2013); cilt tahrişi, küçük yanıklar veya yaralar (aloe vera) için tıbbi cihazlar veya sağlık bakım ürünleri içeren ZnO NP'lerin/MP'lerin farmasötik formülasyonlarından yapılmıştır.

ZnO NP'lerin bu antibiyotiklerle birlikte sinerjistik ve antagonistik tepkileri, büyüme inhibisyonu olmayan *E. coli, S. aureus* ve *S. enterica* maddelerine karşı 1.25 mg MIC seviyelerinde tek başına ZnO NP'ler ile karşılaştırılmıştır. ZnO NP'lerde (10 mg) mikroorganizmalara karşı spesifik antibiyotikler ile sinerjik antimikrobiyal yanıtlar görülmüştür. Bu antibiyotikler, azitromisin, oksasilin, sefotaksim, sefuroksim, fosfomisin, kloramfenikol ve *E. coli'*ye karşı oksitetrasiklin, azitromisin, sefotaksim, sefuroksim, fosfomisin, kloramfenikol ve oksitetrasiklindir. ZnO NP'ler (10 mg) azitromisin, gentamisin, sefotaksim, neomisin, ampisilin/sulbaktam, kloramfenikol ve oksitetrasiklin ile kombine edildiğinde *Salmonella* türlerine karşı antimikrobiyal tepkiler antagonistiktir. Bu arada, Aeromonas türlerine karşı sefaleksin ile sıkıştırılmış ZnO kristallerinin ZnO nanohibritleri kullanılarak 1 mg/mL'lik bir MIC seviyesi kaydedilmiştir (Al-Hisnawi *et al*. 2016).

2.9 Antibiyotikli Sinerjik Nanopartiküller

Birçok ilaca dirençli patojenik bakteri suşunun yakın zamanda ortaya çıkmasıyla birlikte, mevcut antibiyotiklerin çoğu bu patojenlere karşı etkisiz kalmıştır. Hem medikal tıpta hem de veterinerlik tıbbında bakteri direnci, ek sağlık sorunlarına katkıda bulunabilecek antibiyotik etkinliğindeki azalmayı ifade etmektedir (Farhan *et al*. 2019). Azitromisin, gentamisin, oksalisin, sefuroksim, fosfomisin, kloramfenikol ve oksitosin ve sinerjistik ZnO NP'leri *Bukuru* ve *Candida albicans E. coli, S. aureus, Salmonella enterica* subsp'ye karşı gösterilmiştir (Abo-Shama *et al*. 2021). *E. coli, S. aureus* ve *S. enterica* subsp'ye karşı 1.25 mg MIC'de tek başına ZnO NP'leri ile karşılaştırıldığında, büyüme inhibisyonu göstermeyen *C. albicans* dışında sinerjistik ve antagonistik tepkiler gözlenmiştir. Farzana vd. (2017), siprofloksasinli ZnO NP'lerin, yalnızca ZnO NP'ler için 0,08 ve 0,05 mg/mL'ye kıyasla, *E. coli* ve *K. pneumonia*'ya karşı 0,2-1 mg/mL MIC'ye sahip olduğunu ortaya koymuştur. Bir *K. pneumonia* suşu haricinde, imipenemlenmiş ZnO NP'ler hiçbir büyüme inhibisyonu göstermemiş ve antibakteriyel aktiviteyi azaltmıştır. Seftriakson, seftriaks ve gentamisin ile global ZnO NP'leri (15.3–37 nm) *E. coli, K. pneumoniae, S. aureus, E. faecalis, P. aeruginosa* ve *Shigella flexneri*'nin büyümesini engellemiştir (Ashajyothi *et al*. 2016).

Antibiyotiklerin klinik pratikteki etkisinin aksine, antibiyotiklerin nanopartiküllerle birleştirilmesinin antibiyotik etkinliğini arttırmada daha etkili olması, bakteri direncini azaltması, daha kısa tedavi süreleri ve daha düşük antibiyotik dozaj gereksinimleri bu kombinasyonun faydaları arasındadır (Hwang *et al*. 2012).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

Bu çalışmada, Irak Salah al-Din şehrinde bulunan Samarra Devlet Hastanesine yatırılan hastalardan (kulak sürüntüsü, yara ve idrar yolu enfeksiyonu) Nisan 2021 ortasından Haziran 2021 ortasına kadar toplam 200 örnek toplanmıştır. Araştırmanın ilk kısmı, *Proteus mirabilis*'i farklı örneklerden izole etme girişimini içermektedir. Bu nedenle üç bölgeden (Irak Salah al-Din Vilayeti Samarra Devlet Hastanesi, Balad Devlet Hastanesi ve Aldujail Sağlık Merkezi) farklı yaşlardaki hastaların kulak sürüntülerinden, yaralarından ve idrar yolu enfeksiyonlarından oluşan 200 numune daha toplanmıştır. Çalışma, Samarra Üniversitesi, Tıbbi Laboratuvar Bilimleri Araştırma Konseyi Kurulu tarafından onaylanmıştır.

3.1 Kültür Besiyerleri

Mikroorganizmaları korumak, üreyen organizmaları serum veya kanla zenginleştirerek yetiştirmek için kullanılan temel kültür besiyerleridir ve ayrıca biyokimyasal veya serolojik testlerden önce saflık kontrolü için kullanılmaktadır. Örnekleri aldıktan sonra, kan agarı, McConkey agar, besin agarı dâhil bakteriler ortamda yetiştirilmiştir. Bakterilerin gelişimi için;

3.1.1 Kanlı agar

Kanlı agar, kanla takviye edilmiş çoklu besinlerle zenginleştirilmiş bir besiyeridir. Kanlı Agar, genel bir büyüme ortamı olarak kullanılabilecek bir bazal besiyeri olarak kullanılmaktadır.

Katı kanlı agarın hazırlanmasında 40 g agar 1000 mL saf su içinde eritilmektedir. Otoklavla sterilize edilip, 45°C'ye kadar soğuduktan sonra içerisine %5 insan kanı eklenir. İnsan kanı iyice karıştırıldıktan sonra steril kaplara dökülür ve katılaşmaya bırakılmıştır (Tiwari *et al.* 2009).

3.1.2 McConkey agar

Dışkı, idrar, gıda maddeleri, atık su ve sağlıksal öneme sahip diğer malzemelerden laktozu fermente eden ve laktozu fermente etmeyen Gram negatif enterik basiller arasında kusursuz bir ayrım sağlayan nispeten seçici bir besiyeridir. Bu besiyeri, steril olmayan farmasötik ürünlerde *E. coli* tespiti için uyumlu USP/EP/JP yöntemine göre hazırlanmaktadır.

MacConkey agarın 51,5 g tozu 1 litre saf veya deiyonize suda çözülmüş ve tamamen eriyene kadar sık sık sallayarak 1 dk boyunca kaynatılmıştır. 121°C'de 15 dk boyunca otoklav ile sterilize edilmiştir (Govan and Deretic 1996).

3.1.3 Besi ortamı

Mikroorganizmaların rutin kültivasyonunda yararlı olan birkaç seçici olmayan besiyerinden biridir. 1 litre saf suya 28 g besleyici agar tozu koyulmuş ve tüm malzemeleri, tamamen çözmek için karışım ısıtılarak karıştırılmıştır. Çözünmüş karışım 121 °C'de 15 dk otoklavlanmıştır (Macfaddin 2000). Hazırlanan besi yerleri ketozun fermente olmayan izolasyonlarının ortaya çıktığı 37 °C'lik bir sıcaklıkta 24 saat boyunca bekletilmiştir.

3.2 Antibiyotik diskler

Bir bakteri üzerinde herhangi bir test yaparken, farklı konsantrasyonlarda tabletler şeklinde bir dizi antibiyotik kullanıldığında ve bakterilerin implante edildiği agarın merkezine yerleştirildiğinde, antibiyotiklerin etkinliğini ve ciddiyetini bilmek gerekmektedir. Bakteriler üzerinde neden olduğu etkilerin çaplarını ölçerek bu bakterilerin bu antibiyotiklere karşı direncini ve dolayısıyla bu bakterileri öldüren veya yayılmasını sınırlayan antibiyotiklerin türünü ve bakterilere etki eden antibiyotiklerin konsantrasyonu belirlenebilir. Bu araştırmada 11 antibiyotik kullanılmış ve bu

antibiyotiklerden en çok ve en az etkili olanı belirlenmiştir. Bu antibiyotikler Çizelge 3.1'de gösterilmektedir.

Çizelge 3.1 Bu çalışmada kullanılan antibiyotik diskler (CLSI 2020)

Antibiyotik	İçerik (µg)	Kısaltma	İnhibisyon Çapları			Menşei
			S	I	R	
Amikasin	30	AK	≥17	15-16	≤14	Biyoanaliz-Turkiye
Siprofloksasin	5	CIP	≥25	19-24	≤18	
Amoksisilin-Clavulanicac	30	AMC	≥18	14-17	≤13	
Levofloksasin	5	LEV	≥22	15-21	≤14	
Sefaksim	5	CFM	≥19	15-17	≤14	
Tetrasiklin	30	TE	≥19	16-18	≤15	
Sefalotin	30	F	≥18	16-19	≤15	
Meropenem	10	MEM	≥20	16-19	≤15	
İmipenem	10	IMP	≥22	19-21	≤18	
Gentamisin	10	CN	≥15	13-14	≤12	
Nitrofurantoin	30	KF	≥17	15-16	≤14	

3.3 Çözeltiler

Bu yöntem, bir tür *P. mirabilis* bakterisinin belirtilerinden biri olan üreleri tespit etmek için kullanılmıştır (McFadden 2000). Bu bakteriler Matthews ve Lancaster (2011) bağlı olarak bir gram boya için negatiftir. Bu testte, hacim 100 mL distile suya ulaşana kadar 10 mL kademeli olaraka distile suda çözülerek 20 gr üre eklenmiş ve milipor filtre 0,22 µm ile sterilize edilmiştir.

3.4 Reaktiflerin Hazırlanması

Bu araştırmada kullanılan bakterilerin varlığını veya yokluğunu anlamak için aşağıdaki testler kullanılmıştır:

3.4.1 Oksidaz reaktifi

Herhangi bir bakteriyi tanımlamak için kullanılan testler, belirli bir bakteri türünün varlığının göstergesidir ve bu bakterilerin varlığını veya yokluğunu gösteren özel kimyasal reaksiyonlara sahip bakteriler olabileceğinden birçok kimyasal testler

yapılmalıdır. Bu araştırmada bakterilerin varlığını tespit etmek için yapılan testler aşağıda yer almaktadır. Tetra-p-parafenilen diaminin 0,1 mg, dihidroklorürün 10 mL distile suda çözülmesiyle ve koyu renkli bir kapta saklanarak doğrudan hazırlanmıştır (Brown and Smith 2017).

3.4.2 Hidrojen peroksit

Katalaz testi için olup reaktif kullanıma hazırlanmıştır. Bakterilerin katalaz enzimi üretme kabiliyetini tespit etmek için H_2O_2'nin %3'ü karanlık bir kapta saklanmıştır (Brown and Smith 2017).

3.4.3 Voges-proskauer reaktifleri (barritt reaktifi)

Asetil-metil karbinol üretimini saptamak için kullanılmıştır. Aşağıdaki gibi iki çözeltiden oluşmaktadır:

1. 5 gr α-neftol 100 mL %99 etanol içinde çözülür, daha sonra ışıktan uzakta karanlık bir kapta saklanır.
2. 40 g KOH, 100 mL distile su içinde çözülmüştür (Brown and Smith 2017).

3.4.4 Kovac reaktifi

5 mg P-Dimetil amino Benz aldehitin (DMAB) 75 mL izoamil alkol içinde çözülmesiyle hazırlanmıştır. Daha sonra bu karışıma yavaş yavaş 25 mL konsantre HCL ilave edilmiştir. İndol üretimini tespit etmek için kullanılmıştır (Brown and Smith 2017).

3.4.5 Metil kırmızı reaktifi

Metil kırmızısı ve Voges-Proskauer testi, bakteri türlerinin biyokimyasal tanımlamasında kullanılan iki farklı test arasında yer almaktadır. Bu testler başlangıçta

Voges, Proskauer ve daha sonra Clark ve Lubs tarafından coli-aerojen grubunun üyeleri arasında ayrım yapmak için gerçekleştirilmiştir. Her iki test de karbonhidrat metabolizmasının spesifik yıkım ürünlerinin saptanmasına dayanmaktadır.

Enterobacteriaceae'nin tüm üyeleriglikoz fermenterleridir. MR-VP Broth'ta 18-24 saatlik inkübasyondan sonra fermantasyon, asidik metabolik yan ürünler üretir. Bu nedenle başlangıçta tüm enterikler test edilirse pozitif MR reaksiyonu verecektir.

Hazırlanışı: 1 litre saf suya 17 g MRVP eklenip iyice karıştırılır. Sonra kaselerin içine konularak otoklav yapılır. 121°C'de 15 dk sterilize edilir. Metil kırmızısı reaktifi, 0.1 g metil kırmızısının 300 mL %95 etanol içinde çözülmesiyle hazırlanmıştır. Daha sonra hacim distile su ile 500 mL'ye tamamlanmıştır. Tam glikoz hidrolizini saptamak için kullanılmıştır (Brown and Smith 2017).

3.4.6 Gram boyama

Gram boyama tekniği, mikrobiyolojide sık kullanılan bir boyama yöntemi olup mikroorganizmaların sınıflandırılmasında ve tanımlanmasında kullanılmaktadır. Gram boyama ile bakteriler "gram pozitif" (gram olumlu) ve "gram negatif" (gram olumsuz) olarak ikiye ayrılmaktadır.

Tek bir nütrient agar kolonisinin gece boyunca büyütülen izolatının bir kısmı steril kıvrım vasıtasıyla bir damla distile su ile temiz bir lam üzerine alınmış, yayılmış, simir kurutulmaya bırakılmış ve ocak üzerinde ışıltı geçirilerek sabitlenmiş, daha sonra gram boyama gerçekleştirilmiştir (Forbes *et al*. 2007). Hücrelerin rengi, şekli ve agregasyonu incelenmiştir.

3.4.7 Kültür besiyerilerinin hazırlanması

Kanlı agar

Kanlı agar, kanla takviye edilerek, kanlı agarın hazırlanması için genellikle bir bazal besiyeri olarak gelen, çoklu besinlerle sağlanan zenginleştirilmiş bir besiyeridir. Kanlı agar, genel bir büyüme ortamı olarak kullanılabilecek bir bazal besiyeri olarak gelir.

Kanlı agar, belirli besin maddelerine ihtiyaç duyan ve besin agar gibi genel besiyerlerinde çok fazla gelişmeyen ve zor gelişen bakterilerin yetiştirilmesi için kusursuz bir besiyeridir. Kanlı agar ortamı hazırlamak için otoklavlanmış bazal besiyerine yaklaşık %5 defibrine memeli kanı (insan, koyun veya at) eklenmektedir.

Katı kanlı agarın ortasından 40 g işlenmiş 1000 mL saf su içinde eritilir ve aletle sterilize edilir ve 45°C'ye soğuduktan sonra %5 oranında eklenir. İnsan kanı iyice karıştırılır ve ardından steril kaplara dökülür ve sertleşmeye bırakılır (Tiwari *et al*. 2009).

Muller Hinton agarı

Mueller Hinton agarı, CLSI onaylı standardında açıklandığı gibi kağıt diske emdirilmiş antimikrobiyal ajanların bir agar jeli aracılığıyla difüzyonu için önerilmektedir. Bakterilerin antibiyotiklere duyarlılığını tespit etmek için bu besleyiciyi kullanılmaktadır. 1 litre distile suda 38 g askıya alınır, tamamen çözmek için kaynatılır ve 121°C'de 15 dk otoklavlayarak sterilize edilir (Jorgensen *et al*. 2015).

Beyin Kalp İnfüzyonu

BHI densinin merkezinden 18,5 alınarak üzerine 250 mL distile su konulmuş, BHI tozu eriyene kadar solüsyonu döndüren manyetik ısıtma cihazı üzerine ısıtma yapılmadan konulmuştur. Solüsyon 500 mL cam tüp ile süzülmüştür. Hava için, yani 7,5 gr BHI 250 mL su eritilip 20 dk su banyosunda bekletildikten sonra çıkarılarak ilk solüsyon ile karıştırılmıştır.

Metil Kırmızısı ve Voges-Proskaue

MRVP 1 litre saf suya 17 g olarak eklenmiş ve iyice karıştırılmıştır. Sterilizasyon amacıtla kaplara aktarılmış ve bir kez dah karıştırıldıktan sonra 121°C'de 15 dk boyunca otoklavda sterilize edilmiştir (Jorgensen *et al*. 2015).

Besi ortamı

Mikroorganizmaların rutin kültivasyonunda yararlı olan birkaç seçici olmayan besiyerinden biridir. 1 litre saf suya 28 g besleyici agar tozu koyulur. Tüm malzemeleri tamamen çözmek için karıştırırken karışım ısıtılır. Çözünmüş karışım 121 °C 15 dk otoklavlanır (Jorgensen *et al*. 2015).

MacConkey Agarı

MacConkey 51,5 g tozu 1 litre saf veya deiyonize suya dökülür. İyice karıştırılarak sık sık sallayarak tamamen eriyene kadar 1 dk kaynatılır. Otoklavı 121°C'de 15 dk sterilize edilir (Jorgensen *et al*. 2015).

3.4.8 İzole bakteriler

Gram negatif mikroorganizmalar ve antibiyotik direnç profilleri, retrospektif olarak incelenmiştir. Steril kaba alınan orta akım örnekleri % 5 koyun kanlı agar ve MacConkey Blue agar besiyerlerine kantitatif olarak eklenip, 37 °C'de 18-24 saat aerop koşullarda inkübe edilmiştir. Morfolojik ve mikroskobik tanımlama temiz bir slayt üzerine bir damla normal tuz ile koloniden alınanlar yayılmış, ısı ile sabitlenmiş, gram boyama ile boyanmış ve ışık mikroskobu altında gözlemlenmiştir (Cappuccino and Welsh 2018).

3.4.9 Biyokimyasal testler

Bu araştırmada kullanılan bakterilerin varlığını veya yokluğunu anlamak için aşağıdaki testler kullanılmıştır:

İndol testi

Bu test, döngü ile bakteri üremesi olan peptonlu su besiyerinin aşılanmasıyla gerçekleştirilmiş ve 24-48 saat süreyle 37 °C'de aşılanmıştır. İndol testi, 6-8 damla Kovacs reaktifi (amil alkol içinde p-dimetil amino Benzaldehit) eklenerek yapılmıştır. Pozitif reaksiyon, sıvı besiyerinin tepesinde kırmızı renkli bir halkanın oluşmasıyla karakterize edilmiştir (Brown and Smith 2017).

Metil – kırmızı testi

MR-VP sıvı besiyerinin tüpleri, seçili bakteri kolonileri ile aşılanmış ve 37 °C'de 24-48 saat süreyle inkübe edilmiştir. Daha sonra buna beş damla metil kırmızısı reaktifi ilave edilmiştir. Kırmızı rengin ortaya çıkması ve gözlemlenmesi, pozitif bir sonuç ve glikozun tam hidrolizi anlamına gelmektedir (Brown and Smith 2017).

Vogues –proskauer testi:

MR-VP sıvı besiyerinin tüpleri seçilen bakteri kolonileri ile aşılanmış ve 37 °C'de 24-48 saat inkübe edilmiştir. Sonuç daha sonra 0,6 mL alfa neftol (reaktif A) ve 0,2 mL %40 KOH solüsyonu (reaktif B) eklenerek okunmuştur. 15 dk sonra kırmızı renk görünümü asetoin veya Asetil-metil-karbinol üreten glikozun kısmi hidrolizi nedeniyle pozitif bir sonuç anlamına gelmektedir (Brown and Smith 2017).

Sitrat kullanım testi

Simmons sitrat alaylarının otoklav ile sterilizasyonundan sonra bakteri kolonileri inoküle edilmiş ve 24-48 saat 37 °C'de inkübe edilmiştir. Besiyerinin renginin yeşilden maviye değişmesi, organizmaların sitratı tek karbon kaynağı olarak kullanabildiklerini göstermiştir (Cappuccino and Welsh 2018).

Üreaz testi

Bu test, üre besiyerinin bakteri üremesi ile aşılanmasıyla gerçekleştirilmiştir. Tüpler 24-48 saat 37 °C'de inkübe edilmiştir. Besiyerinin pembe renk değişimi olumlu bir sonuç göstermiştir (Cappuccino and Welsh 2018).

Motilite testi

Bu test, yarı katı besiyeri içeren tüpün test edilen bakterilerle bıçaklama yöntemiyle aşılanmasıyla yapılmış ve 37 °C'de 24-48 saat inkübe edilmiştir. Büyümenin bıçak hattından yayılması, olumlu bir sonucun göstergesi olmuştur (Tille 2014).

Katalaz testi

Katalaz, hidrojen peroksitten oksijen salınımını katalize eden bir enzimdir. Nutrient agar besiyeri seçilen bakteri kolonileri ile kaplanmış ve 37 °C'de 24 saat inkübe edilmiş, ardından elde edilen üreme tahta çubukla aktarılmış ve temiz bir lamın yüzeyine konulmuş, %3'lük H_2O_2 damlası eklenmiştir. Gaz kabarcıklarının oluşumu pozitif bir sonuç göstermektedir (Cappuccino and Welsh 2018).

H- Oksidaz testi: Bu test, bakterilerdeki elektron donörleri ve bir redoks boyası (tetrametil-ρ-fenilendiamin dihidroklorür) arasındaki elektronların taşınmasını katalize edecek belirli bakteriyel oksidaz enziminin varlığına bağlıdır, boya koyu mor bir renge indirgenmiştir.

Bir filtre kağıdı şeridi, yeni yapılmış reaktif ile biraz ıslatılmış ve test edilecek koloni, steril bir tahta çubukla alınmış ve filtre kağıdının üzerine bulaştırılmıştır. 5-10 saniye içinde ortaya çıkan yoğun koyu mor bir renkle pozitif bir sonuç belirtilmiştir (Cappuccino and Welsh 2018).

3.4.10 Vitek 2 kompakt sistemi

VITEK 2 COMPACT'ta hazır kasetler kullanılmaktadır. İlk olarak cihaz hazırlanır, onaylanır ve çalıştırılmaktadır. Ardından kaset ilk odaya bakteri ile yerleştirilir ve dolum odasının kapısı kapatılır. Kabarcıklardan kurtulmak için hava cihazdan çekilir ve daha sonra cihaz yüksek basınca neden olan havayı pompalayarak tekrar döndürülür. Bakteri içeren solüsyonun paketleme odasındaki kıl sistemine yükselmesine neden olur ve delme işlemi ile nemlendirilir. Bu nedenle etkileşim süreci başlar ve ardından paketleme odasına kıl sisteminin yerleştirilmesinden sonra kaset yükleme bölmesine aktarılır ve delme işlemi yapılır. Kaset girişinden sonra yükleme odasına aktarılır. Kaset barkodu okunur ve ardından kaset uçları kesilir. Böylece hiçbir şey kalmaz. Kontaminasyon daha sonra okunabilir Depolama odasına aktarılır ve daha sonra Depolama odasındaki yerine geri döner. Tüm testler tamamlandıktan ve veriler alındıktan sonra kaset atık bölmesine alınır ve laboratuvar prosedürlerinde kullanılan güvenlik yöntemlerine göre imha edilir.

Bu cihaz, izolatları olağan yollarla teşhis ettikten sonra doğrulamak için kullanılmıştır. Bir tanı kiti cihazı aracılığıyla çoğu bakteri türünü teşhis etmek için kullanılmaktadır. Tanı kiti, 24 saatlik bakteri süspansiyonu ile aşılanmış ve 24 saat inkübe edilmiş 47 adet kuyucuk içermekte ve cihaz, bakteri üremesi sonucu oluşan renk değişikliklerini kaydetmektedir.

3.4.11 Antibiyotik duyarlılık testi

Tüm bakteri izolatları, modifiye disk difüzyon yöntemi Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü CLSI 2020 ile duyarlılık testine tabi tutulmuştur. Antibiyotik direnci, CLSI 2020 tarafından önerilen kılavuzlara göre Çizelge 3.1'de listelenen 11 antibiyotik diski kullanılarak belirlenmiştir.

Bu testte kullanılacak inokülümler, kanlı agar plağı üzerinde büyütülen izole koloniler 5 ml nutrient sıvı besiyeri eklenerek 37 ºC'de 18 saat inkübe edilmiş ve süspansiyon

sulandırılarak 0,5 McFarland standart tüpleri ile karşılaştırılmıştır. Seyreltilmiş süspansiyondan Muller Hinton agar plakaları üzerine bir üreme sürüntüsü alınmış ve besiyerinin tüm yüzeyi birkaç kez kaplanmıştır.

Her plakaya bir çift steril pens ile antibiyotik diskleri uygulanmıştır. Diskler, plakanın kenarından yaklaşık 15 mm uzakta, 15 cm'lik bir plaka üzerine yerleştirilmiştir. Besiyeri ile eşit temas sağlamak için her disk hafifçe bastırılmıştır. Plakalar, 18-24 saat süreyle 37 °C'de bir inkübatöre yerleştirilmiştir. Her bölgenin çapı (disk çapı dâhil) bir cetvelle ölçülmüş ve mm olarak kaydedilmiştir. Sonuçlar daha sonra CLSI'ya göre yorumlanmıştır (Wayne 2020).

3.4.12 Bitki temini

İncelenen bitkiler Samarra'daki bitki dükkanlarından satın alınmış ve türler (Dr. Omar Khalil Jassim /Bitki Sınıflandırması/Araştırma ve Geliştirme Kurumu/İlaç Endüstrisi Genel Şirketi) tarafından teşhis edilmiştir. Daha sonra laboratuvara aktarılarak, bitki modellerinin içi sıkışmış toz ve kirlerden temizlenmiş ve büyük levhalar üzerinde gölgeye koyarak çürümeyi önlemek için laboratuvar sıcaklığında sürekli çevirerek kurutulmuştur (Şekil 3.1). Daha sonra elektrikli değirmende iyice öğütülmüş, steril ortamda ve bitki özlerinin hazırlanması başlayana kadar nemsiz koşullarda ağzı kapalı şekilde bekletilmiştir.



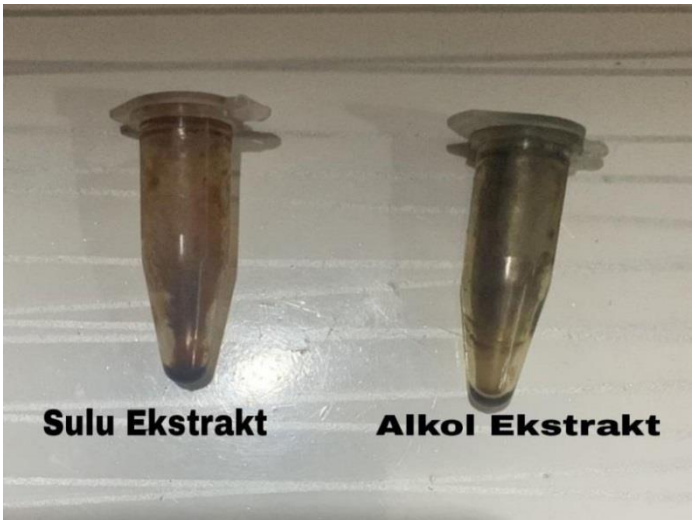
Şekil 3.1 Ekinezya bitkisinin kurutulmuş hali

3.4.13 Ekinezya bitkisinin ekstraktının çıkarılması

Ekstraksiyon Mythili ve Ravindhran (2012)'de kullanılan yönteme göre gerçekleştirilmiştir. Çözücü olarak etanol (100 mL) ve su (100 mL) ayrı ayrı uygulanırken ekstraktları eldesinde soğuk süzme işlemi kullanılmıştır. Toz haline getirilmiş bitki (**Ekinezya) (10 gr)** materyali tartılmış ve ardından 72 saat mutlak etanol (100 mL) ve su (100 mL) içinde ayrı ayrı ıslatılmıştır. Malzemenin filtrelenmesiyle, ekstraktlar çıkarılmıştır. Aynı işlem tekrarlandıktan sonra ekstraktlar çıkarılmıştır. Ekstraktlar, kullanılan çözücülerin kaynama noktalarının altındaki sıcaklıklarda (etanol için 78°C ve su için 100°C) bir su banyosunda karıştırılmış ve konsantre edilmiştir. Yoğunlaştırılmış özler, çözücülerin daha fazla buharlaşmasına izin vermek için desikatörde tutulmuştur. Ekstraktlar daha sonra tartılmış ve verim ölçülmüştür (Şekil 3.2).



Şekil 3.2 *Echinacea* sp. bitkisinin kurutulduktan öğütülmüş hali toz (2 gr)



Şekil 3.3 *Echinacea* sp.'nin su ve ethanol ekstraktı

3.4.14 Antimikrobiyal aktivite için tarama yapılması

Etanol ve sıcak sulu ekinezya ekstraktları, antibiyotikler ve çinko nano, agar boşluğu difüzyon yöntemi ile antimikrobiyal aktivitenin değerlendirilmesi için kullanılmıştır (Ahmad and Beg 2001). Bu yöntemde, her bir mikrobun saf izolatı, 37°C'de agar besiyeri plakaları üzerinde alt kültür haline getirilmiştir. 24 saat her bir mikroorganizmadan birer tabak alınmış ve en az dört koloniye steril bir halka ile dokunulmuş ve aseptik koşullar altında normal tuza (%0,85) aktarılmıştır. Her bir mikrobiyal süspansiyonun yoğunluğu 106 cfu/mL'ye eşit olacak şekilde ayarlanmış (0,5 McFarland standardı ile standardize edilmiştir) ve agar boşluğu difüzyon tahlilini gerçekleştirmek için aşı maddesi olarak kullanılmaktadır. Her test organizmasından yüz mikrolitre (100 µl) aşı maddesi, 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 yapılmış ve her boşluğun alt kısmı biraz spesifik erimiş agar besiyeri ile kapatılmıştır. Kurutulmuş ekstraktlar, biyoanaliz için %20 dimetilsülfoksit (DMSO) içinde yeniden oluşturulmuştur (Rajasekaran *et al*. 2008). Her bir ekstrakt ve antibiyotikten 100 µL'lik bir hacim, her test organizması için aşılanmış agar plakalarının boşluklarına (üç kopya halinde) doğrudan aktarılmıştır. Plakaların, ekstraktın agar içine difüzyonu için 1 saat beklenmiş ve 24 saat boyunca 37°C'de inkübe edilmiştir (Rio *et al*. 1980). Steril DMSO (%20), negatif kontrol ve ciplox (bakteriler

için) olarak işlev gerçekleştirmiştir. Ekstraktı içeren boşluğu çevreleyen bir inhibisyon bölgesi ile gösterilen antimikrobiyal aktivite, inhibisyon bölgesi 8 mm ve 40'tan büyükse kaydedilmiştir. Deneyler üç aşama halinde gerçekleştirilmiş ve ± standart sapma ile inhibisyon bölgelerinin çapının ortalama değerleri hesaplanmıştır.

3.4.15 Minimum inhibitör konsantrasyonunun belirlenmesi (MIC)

Her test organizması için MIC, değişikliğe uğramış, agar boşluğu difüzyon yöntemi izlenerek belirlenmiştir. Her bir ekstrakt ve antibiyotiğin iki kat seri seyreltilmesi, önce kurutulmuş ekstraktın (400 mg/mL) DMSO (Etanol ekstraktı ve Çinko Nano) ve steril saf su (sulu ekstraktlar ve antibiyotikler) içinde sulandırılarak ve ardından azalan konsantrasyon aralığı elde etmek için hazırlanmıştır. 400 mg/mL ila 12,5 mg/mL (bitki özleri) ve 100 mg/mL ila 3,12 mg/mL (antibiyotikler ve Çinko Nano) arasındadır. Her seyreltmeden 100 µL hacim, halihazırda tohumlanan agar plakalarındaki boşluklara (üç aşama halinde) yerleştirilmiştir. Tüm test plakaları aerobik olarak 24 saat süreyle 37°C'de inkübe edilmiş ve inhibisyon bölgeleri için gözlem yapılmıştır. Mikrobun büyümesini tamamen engelleyen test ekstraktının en düşük konsantrasyonu olarak alınan ve net bir inhibisyon bölgesi (>8 mm) ile gösterilen MIC, her test organizması için kaydedilmiştir (Okeke *et al*. 2001).

3.4.16 Antibiyotik, ekstraktlar ve nanopartiküller kombinasyonlarının hazırlanması

Sulu ve alkollü ekstraktlardan ve nanopartiküllerden üç tip yüzde (% 25, 50 ve 75) oluşacak ve bunlar normal antibiyotiklerle zıt yüzdelerde birleştirilecektir (İsmail *et al*. 2013). Aşağıdaki gibi her bir kombinasyondan ayrı ayrı 1 mL yapmak için (Eritromisin ve Tetrasiklin):

1- 0,25 mL (antibiyotik): 0,75 mL (ekstrakt) ve nanopartiküller,

2- 0,50 mL (antibiyotik): 0,50 mL (ekstrakt) ve nanopartiküller,

3- 0,75 mL (antibiyotik): 0,25 mL (ekstrakt) ve nanopartiküllerdir.

Sulu ekstraktların konsantrasyonu 500 mg/mL iken alkollü ekstraktların konsantrasyonu 250 mg/mL'dir. Bu konsantrasyonlar, inhibisyon bölgeleri arasında herhangi bir etkileşimi önlemek, ayrıca antibiyotiklerle karıştırıldıklarında daha düşük konsantrasyonların antimikrobiyal etkisini araştırmak için maksimum konsantrasyon olan 1000'den düşürülmüştür. Silindir plaka yönteminde bir antimikrobiyal olarak işlev görmesi için her bir kombinasyonun 60 µl'si katılaştırılmış agar silindirlerine (boşluklara) yerleştirilmiştir. Tüm ortam plakaları daha sonra inkübe edilecektir, boşlukların çevresinde ortaya çıkan tüm inhibisyon bölgeleri bölge okuyucu aparat ile ölçülmüştür. Daha önceki işlem, çoklu-ilaç dirençli *Proteus mirabilis'e* karşı bitki ektraktlarının tüm türleriyle tekrarlanmıştır.

3.5 İstatistiksel Analiz

Bu çalışmada, sonuçlardan elde edilen verilerin ortalaması Khi-kare testi kullanılarak SPSS Paket Programı ile F-testine göre kontrol edilmiştir ($P < 0,05$). Ortaya çıkan önemli farklılıklar Game-Howell Nonparametric Post-Hoc çoklu karşılaştırma testi ile %5 hata sınırı esasına göre yapılmıştır.

4. BULGULAR

4.1 *Proteus mirabilis* İzolasyonu

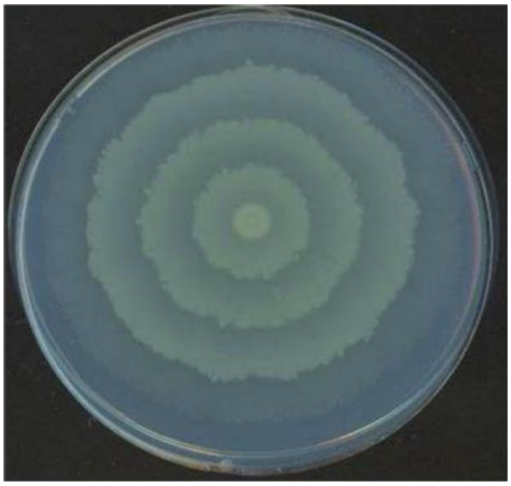
Bu sürüntülerde görülen türün çoğu Enterobacteriaceae familyası olduğu için, numunelerde hem gram negatif bakteri hem de gram pozitif bakteri bulunmuş ve dağılım şu şekilde olmuştur: Gram negatif 135 ve gram pozitif 65 numune ve Enterobacteriaceae familyasına ait 100 numuneden sadece 80 tanesi proteus olmuş ve 50 *Proteus mirabilis* numunesinden sadece (10 tanesi kulak 15 yara örneği ve 25 idrar örneği) sürüntüsünden alınmıştır. Farklı yerlerden, farklı zamanlarda, farklı toplama yöntemleri ile toplanan örneklerin sonuçları Çizelge 4.1'de gösterilmektedir.

Çizelge 4.1 İnsanların kulak sürüntüsü, yaraları ve idrar yolu enfeksiyonundan izole edilen *Proteus mirabilis* sayısı

Türler	Numune Sayısı	Sonuç
Kulak	50	10
Yaralar	60	15
İdrar	90	25
Toplam	200	50

4.1.1 Kültürel özellikler

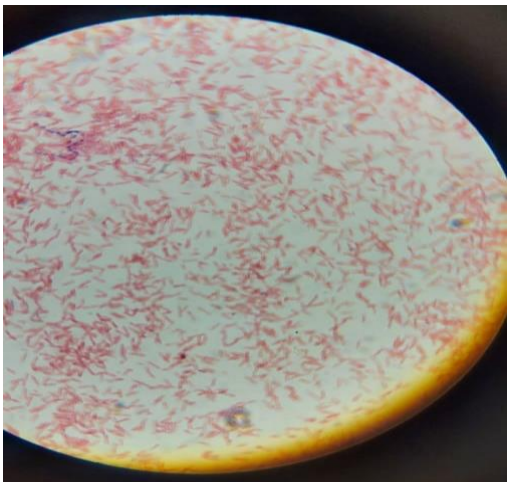
Nutritient agar üzerindeki *Proteus mirabilis*, eş merkezli dairelerden oluşan ince bir film tabakası (küme) oluşturmak için ardışık dalgalar halinde plaka olarak ortaya çıkmıştır. Hücreye bağlı hemolitik faktörün üretimine bağlı olan *Proteus mirabilis* suşları, nütrient agar üzerinde sadece sıvı besiyeri kültürlerinde gösterilmiştir. Ardışık dalgalarda küme büyümesi olan koloniler + MacConkey'in agar renksiz laktozu fermente etmeyen kolonilerinde balık kokusu olmaktadır. Küme bu besiyerinde engellenmektedir. Şekil 4.1'de gösterildiği gibi fenil etil alkol içeren kanlı agarda küme oluşumu da engellenebilir.



Şekil 4.1 *Proteus mirabilis*'in Nutrient agarda görünümü

4.1.2 Mikroskobik görünüm

Proteus mirabilis gram boyama kullanılarak ışık mikroskobunda gram negatif bakteriler, çubuk şeklinde, hareketli olarak ortaya çıkmıştır (Şekil 4.2).



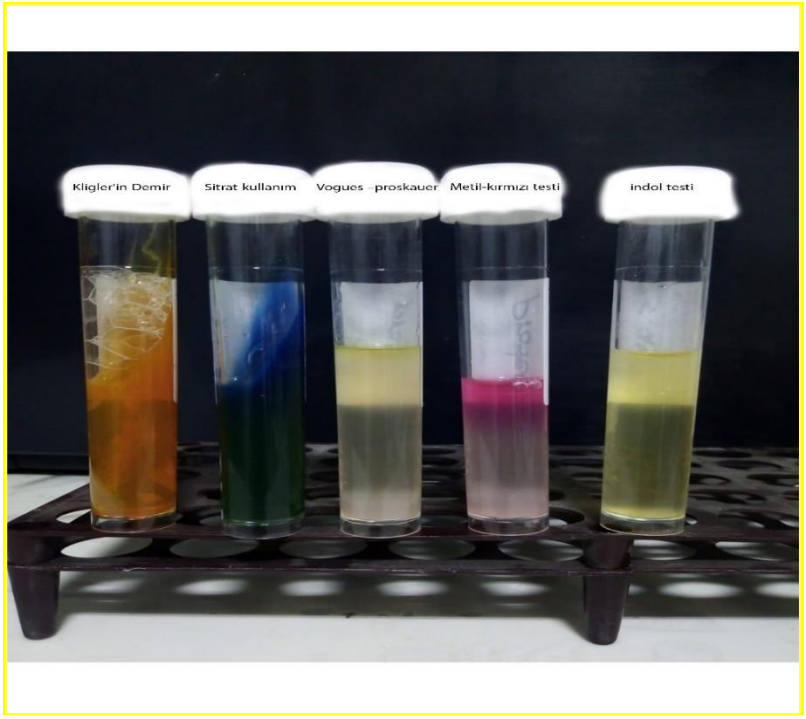
Şekil 4.2 Mikroskop altındaki *Proteus mirabilis* bakterilerin görünümü

4.1.3 Biyokimyasal inceleme

Proteus *mirabilis* için yapılan geleneksel biyokimyasal testleri Çizelge 4.2'de verilmiştir. Bu testlere ait uygulamada ve Şekil 4.3'te gösterilmiştir.

Çizelge 4.2 *Proteus mirabilis* için yapılan biyokimyasal testler

No	Test	Sonuç	Bilgi
1	Indol testi	-	
2	Metil-kırmızı testi	+	Kırmızı renk ve glikozun tam hidrolizi
3	Sitrat kullanım testi	+	Besiyerinin renginin yeşilden maviye dönmesi
4	Üreaz testi	+	Üreaz agarda besiyerinin pembe renk değişimi. Bu bakterileri Enterobacteriaceae ailesinin geri kalanından ayıran en önemli testlerden biridir.
5	Motilite testi	+	Büyümenin bıçaklanma çizgisinden yayılması
6	Katalaz testi	+	Bu test pozitif olmuştur çünkü bu bakteriler H_2O_2'yi H_2O'ya yok eden Katalaz enzimini sunar ve bu gaz kabarcıkları gibi görünür.
7	Oksidaz testi	-	
8	Gram boyama	-	
9	H_2S	+	Besiyerinin kararması
10	Glikozdan Gaz	+	*Proteus mirabilis* gaz üreticisidir
11	Fenilalanin deaminaz	+	amin grubunu amino asit fenilalanin'den uzaklaştırır ve sonunda fenil piruvik asit ve amonyak üretir.



Şekil 4.3 *Proteus mirabilis* için yapılan biyokimyasal testler

4.1.4 *Proteus mirabilis*'in antibiyotik duyarlılık paternleri

Antibiyotik duyarlılık testi, modifikasyona uğramış disk difüzyon yöntemi kullanılarak çalışılmıştır. *Proteus mirabilis* bakterisi, Amoxicillin-Clavulanic Ac, Tetracycline, Sephalothin'e % 100 dirençlidir. Nitrofurantoin ve Azitromisin'e karşı bakteri direnci %90 oranındadır Sefaksim direnci ise % 60 oranındadır (Nerurkar *et al*. 2012). Bulgular, Çizelge 4.3'te ve çapları Şekil 4.4'te gösterildiği gibi Meropenem Imipenem için % 100, Amikasin için % 90 ve Levofloksasin için % 60 oranında antibiyotik duyarlılığı ortaya çıkmıştır.

Çizelge 4.3 *Proteus mirabilis*'in antibiyotik duyarlılık paternleri

Antibiyotikler	**İçerik (µg)**	**Kısaltma**	***Proteus mirabilis***		***Korelasyon***	
			%Duyarlılık	%Çap	**İçerik (µg)** %Duyarlılık	**İçerik (µg)** -%Çap
Amikasin	30	AK	%85	%15		
Siprofloksasin	5	CIP	%40	%60		
Amoksisilin-	30	AMC	%10	%90		
Klavulanik	5	LEV	%6	%40		
Levofloksasin	5	CFM	%40	%60		
Sefiksim	30	TE	%10	%90	-0,285	0,438
Tetrasiklin	30	F	%0	%100	(p=0,369)	(p=0,154)
Sefalotin	10	MEM	%100	%0		
Meropenem	10	IMP	%100	%0		
İmipenem	10	CN	%40	%60		
Antibiyotik	30	KF	%15	%85		
Nitrofurantoin	10	ARTH	%20	%80		

Korelasyon testi sonucuna göre içerik ile duyarlılık ve çap arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmamaktadır ($p>0,05$). Kullanılabilirliğe bağlı olarak farklı konsantrasyonlar kullanılmıştır.

4.1.5 Kullanılan antibiyotikler *Proteus mirabilis* üzerindeki etkisi

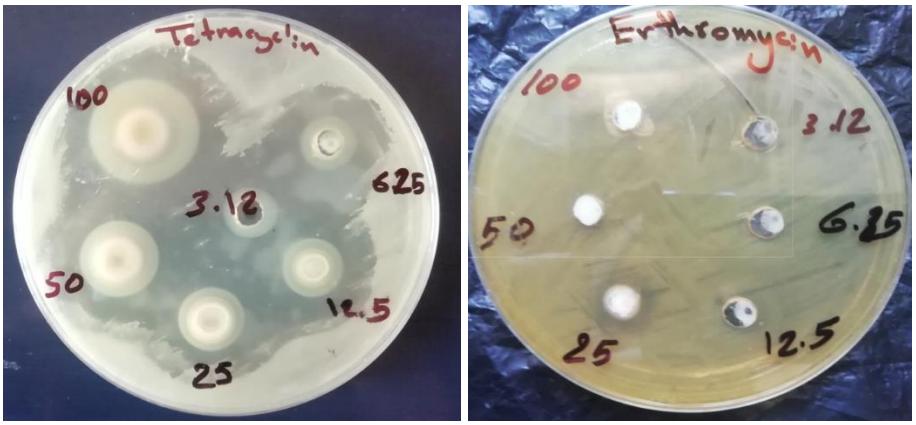
Duyarlılık antibiyotik testi yapıldıktan sonra, % 100 ve % 85 oranlarında bakterilere karşı dirençli oldukları için Tetrasiklin ve Ertromisin seçilmiştir (Çizelge 4.4).

Tetrasiklin en az konsantrasyonla kullanılan en iyi antibiyotik (20/3.12), Erthromisin en yüksek konsantrasyona sahip en düşük inhibisyon oranı (100/15), şeklinde olmuştur. Bu, meydana gelen darbenin çapının konsantrasyon ölçümüdür (Şekil 4.4).

Çizelge 4.4 Seri seyreltme antibiyotiklerinin *Proteus mirabilis* üzerindeki etkisi

Antibiyotik Konsantrasyonu mg/mL	**100**	**50**	**25**	**12.5**	**6.25**	**3.12**	0	**Korelasyon**
Tetrasiklin	48	32	30	26	24	20	20	0,991(p=0,000)
Erthromisin	15	13	12	11	11	10	10	0,982(p=0,000)

Antibiyotik Konsantrasyonu mg/mL ile Tetrasiklin arasında pozitif yönlü ve çok güçlü bir ilişki bulunmaktadır (p<0,05). Antibiyotik Konsantrasyonu mg/mL ile Erthromisin arasında pozitif yönlü ve çok güçlü bir ilişki bulunmaktadır (p<0,05). Buna göre antibiyotik konsantrasyonu arttıkça tetrasiklin ve erthromisin de artmaktadır.



Şekil 4.4 Seri seyreltme antibiyotiklerinin *Proteus mirabilis* üzerindeki etkisi

4.1.6 Ekinezya bitkisinin seri seyreltme ekstraktlarının *Proteus mirabilis* üzerine etkisi

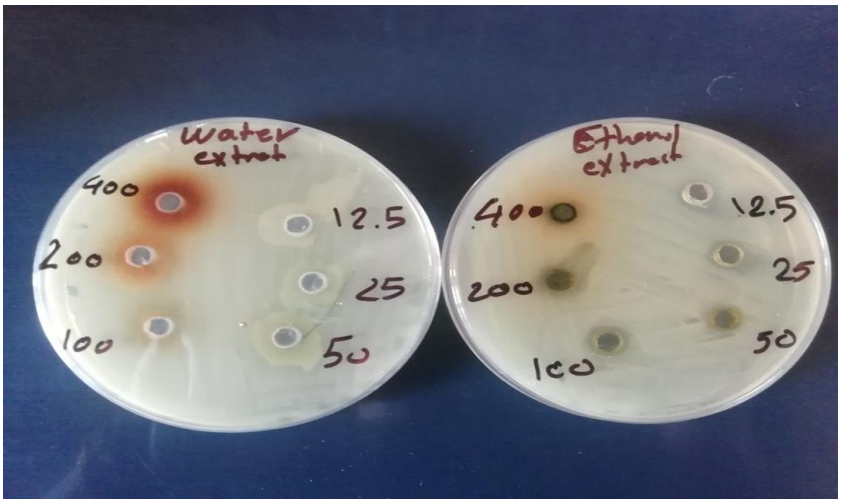
Bitkiden ekstraksiyon işleminden sonra bitki özünü çıkarmak için Mythili and Ravindhran (2012) yöntemi kullanılmıştır. Bitkiden ekstraksiyon işleminden sonra konsantrasyon ve ölçümler olarak 12.5, 25, 50, 100, 200, 400 mg/mL elde edilmiştir (Çizelge 4.5). *Proteus mirabilis* üzerinde test yapıldıktan sonra, en yüksek etki 400

mg/mL ağırlıkta elde edilmiş ve sulu bitki ekstraktında 50 mg/mL konsantrasyonda daha az konsantrasyon elde edilmiş ve sonuçlar çap olarak bulunmuştur (Şekil 4.5). Etanol ekstresi kullanılarak yapılan diğer testten sonra en yüksek etki 400 mg/mL ağırlıkta, en düşük etki 12,5 mg/mL konsantrasyonda elde edilmiş ve sonuç çap olarak bulunmuştur. Mohammed ve Omer (2015)'e göre, 100, 50 ve 25 mg/mL'de *A. indica*'nın (neem) alkollü ekstraktı, *Escherichia coli, Klebsiella. pnömoni, Proteus mirabilis, Stafilococ aureus, Pseudomonas aeruginosa* ve *Enterococcus faecalis* bakterilerine karşı bakterilere karşı mükemmel bir inhibisyon etkisi verilmektedir ve Çizelge 4.5 ile Şekil 4.5'te elde edilen çaplar görülmektedir.

Çizelge 4.5 Ekinezya'nın seri seyreltme bitki ekstraktlarının *Proteus mirabilis* üzerine etkisi

Ekstrakt konsatrasyonu mg/mL		**400**	**200**	**100**	**50**	**25**	**12.5**	**Korelasyon**
Ekinezya	Su	10	8	6	6	0	0	0,971(p=0,001)
	Etanol	11	10	9	8	8	6	0,986(p=0,000)

Ekstrakt konsatrasyonu mg/mL ile su arasında pozitif yönlü ve çok güçlü bir ilişki bulunmaktadır ($p<0,05$). Ekstrakt konsatrasyonu mg/mL ile etanol arasında pozitif yönlü ve çok güçlü bir ilişki bulunmaktadır ($p<0,05$). Buna göre ekstrakt konsatrasyonu artttkça su ve etanol de artmaktadır.



Şekil 4.5 *Ekinezya* bitki ekstraktlarının çapa göre seri seyreltme etkisi

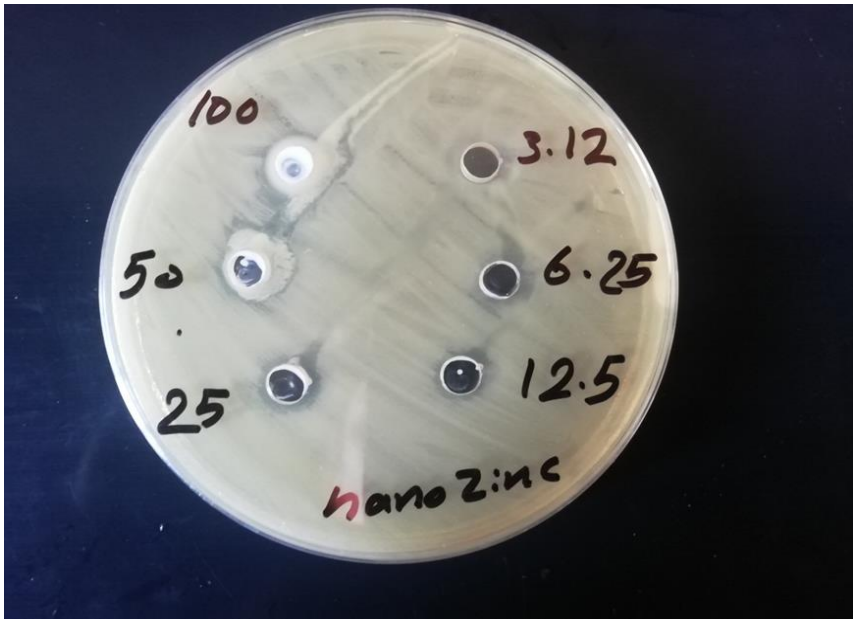
4.1.7 Seri seyreltme çinko nanoparçacığının *Proteus mirabilis* üzerindeki etkisi

Çinko Nanopartikül 3,12, 6,25, 12,5, 25, 50, 100 mg/mL konsantrasyonları kullandıktan sonra, etki % 0 olmuştur (Çizelge 4.6). 3,12, 6,25, 12,5 mg/mLl konsantrasyonuna 25, 50, 100 mg/mL konsantrasyonu kullanıldığında Çizelge 4.5'te ve çap için Şekil 4.6'te gösterildiği gibi etkiler (%11, %12, %13) olmuştur. Shakerimoghaddam *et al*. (2017) tarafından yapılan benzer bir çalışmada, nano ölçekli çinkonun etkinliği biyofilm oluşumunu engelleyebilmektedir. Yüksek biyofilm oluşumuna sahip izolatların yaklaşık % 20'sinde, ılımlıların % 14'ünde ve zayıfların % 16'sında tamamen önlenmiştir.

Çizelge 4.6 Seri seyreltme çinko nanoparçacığının *Proteus mirabilis* üzerindeki etkisi

Nanopartikül konsantrasyonu mg/mL	**100**	**50**	**25**	**12.5**	**6.25**	**3.12**	**Korelasyon**
Çinko	13	12	11	0	0	0	0,941(p=0,005)

Nanopartikül konsantrasyonu mg/mL ile Çinko arasında pozitif yönlü ve çok güçlü bir ilişki bulunmaktadır (p<0,05).



Şekil 4.6 Seri seyreltme çinko nanoparçacığının *Proteus mirabilis* üzerindeki etkisi

4.1.8 Antibiyotiklerin bitki ekstraktlarının ve çinko nanoparçacık ile karıştırılmasının *Proteus mirabilis* üzerine seri seyreltme etkisi

Farklı oranlarda antibiyotikler, çinko nanopartiküller ve bitki özleri karışımı kullanılmıştır. % 25'i Eritromisin ve % 75'i (su ekstraktı, Etanol ekstraktı, Nano çinko) kullanımı sonucu sırasıyla çap olarak %0, 11, 14'tür. Oranlar, hepsinin % 50'si ile % 50 Eritromisin olarak değiştirilmiş ve sonuç olarak sırasıyla %0, %12, %13 olmuştur. Daha sonra oranlar, % 25'e % 75 Eritromisin olarak değiştirilmiş ve sonuçlar çap olarak sırasıyla %0, %14, %12 olmuştur. Sonuçlar Çizelge 4.7, 4.8, 4.9, 4.10 Şekil 4.7 ve 4.8,4.9'de çap olarak verilmiştir.

Aynı karışım % 25 tetrasiklin ile tüm su ekstraktı, etanol ekstraktı, nano çinko %75'i olacak şekilde kullanılmış ve sonuçlar sırasıyla %16, %11, %11 olmuştur. Oranlar, hepsinin %50'si ile %50 Tetrasiklin olarak değiştirilmiş ve sonuç olarak sırasıyla %15, %16, %13 olmuştur. Daha sonra oranlar, %25'e %75 tetrasiklin olarak değiştirilmiş ve sonuçlar çap olarak sırasıyla %17, %18, %14 olmuştur. Sonuçlar Çizelge 4.7, 4.8, 4.9, 4.10 Şekil 4.7, 4.8 , 4.9'da çap olarak verilmiştir. Oysaki ZnO NP'ler için antibiyotik etkisi, yalnızca *Escherichia coli*'ye karşı ampisilin/sulbaktam antibiyotik içeren antibiyotiğe kıyasla önemli ölçüde azaltılmıştır.

Çalışmamız, başlangıç konsantrasyonunda (Tetrasiklin %75 %25), nano çinkodan önemli ölçüde daha iyi bir sonuç elde ederek tetrasiklin antibiyotikli bitki sulu ekstraktının daha etkili olduğunu kanıtlamıştır. Nano-çinko, bazı seviyelerde daha etkilidir ve yakın bir etki yaratır veya bazı antibiyotik ürünlerinden ve bitki sulu ekstraktının antibiyotiklerle birleştirilmesinden daha etkili olabilir. Nano-çinko, ilaçlardan üstündür. Bitki sulu ekstraktının etkisi büyük ölçüde değişmese de tetrasiklin, antibiyotik ve nano çinko karışımından önemli ölçüde daha yüksek bir etkiye sahiptir. Antibiyotik karıştırma veya tek başına antikor ile ilgili daha iyi sonuçlar almak için oranları birbirine yakınlaştırmıştır.

Çizelge 4.7 Seri seyreltme karışımlarının *Proteus mirabilis* üzerindeki çapa göre etkisi

Antibiyotikler	**%25 antibiyotik +%75 diğerleri**			**%50 antibiyotik +%50 diğerleri**			**75% antibiyotik +%25 diğerleri**		
Eritromisin	S.E	E.E	N.Ç	S.E	E.E	N.Ç	S.E	E.E	N.Ç
	0	11	14	0	12	13	0	14	12
Tetrasiklin	S.E	E.E	N.Ç	S.E	E.E	N.Ç	S.E	E.E	N.Ç
	16	11	11	15	16	13	17	18	14

* S.E: Sulu Ekstrakt; E.E: Etanol Ekstratı; N.Ç: Nano Çinko.

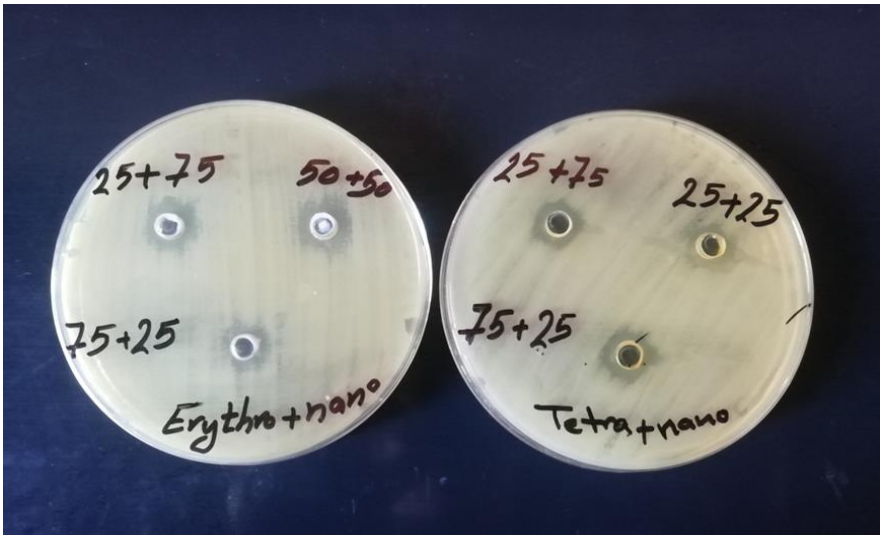
Üç muhteviyat için ayrı ayrı crosstab ve ki-kare (pearson, likelihood ya da Fischers-veri dağılımına göre). Burada analiz Ki-kare yöntemi ile yapılmıştır ve %95 güven düzeyinde çalışılmıştır.

Çizelge 4.8 %25 antibiyotiğin ve %75 sulu, alkollü ve nano özütün *Proteus mirabilis* üzerindeki etkisi

		%25 antibiyotik +%75 diğerleri						Ki-kare	p
		Sulu Ekstrakt		Etanol Ekstratı		Nano Çinko			
		n	%	n	%	n	%		
Antibiyotikler	Eritromisin	0	0,0	11	44,0	14	56,0	14,286	,001*
	Tetrasiklin	16	42,1	11	28,9	11	28,9		

*p<0,05

Antibiyotikler ile karışımlar arasında anlamlı bir ilişki bulunmaktadır (p<0,05). Eritromisin için Nano Çinko olanların oranı %56,0 iken Tetrasiklin için Sulu Ekstrakt olanların oranı %42,1'dir.



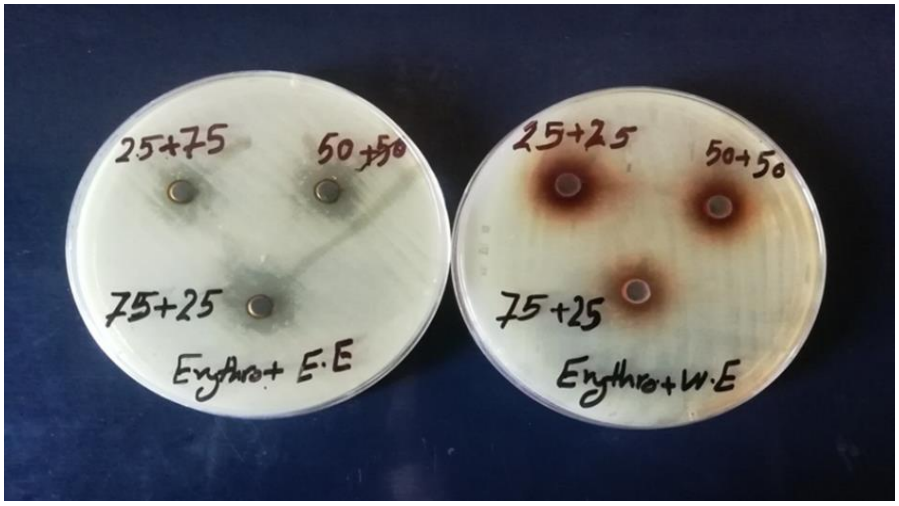
Şekil 4.7 Eritromisin ve Tetrasiklin'in çinko nano ile seri seyreltilmesinin *Proteus mirabilis* üzerinde çapa göre etkileri

Çizelge 4.9 %50 su, alkol ve nano özü ile %50 antibiyotik karışımlarının *Proteus mirabilis* üzerindeki etkisi

		%50 antibiyotik +%50 diğerleri						Ki-kare	p
		Sulu Ekstrakt		Etanol Ekstratı		Nano Çinko			
		n	%	n	%	n	%		
Antibiyotikler	Eritromisin	0	0,0	12	48,0	13	52,0	11,188	,004*
	Tetrasiklin	15	34,1	16	36,4	13	29,5		

*p<0,05

Antibiyotikler ile karışımlar arasında anlamlı bir ilişki bulunmaktadır (p<0,05). Eritromisin için Nano Çinko olanların oranı %52,0 iken Tetrasiklin için Etanol Ekstratı olanların oranı %36,4'tür.



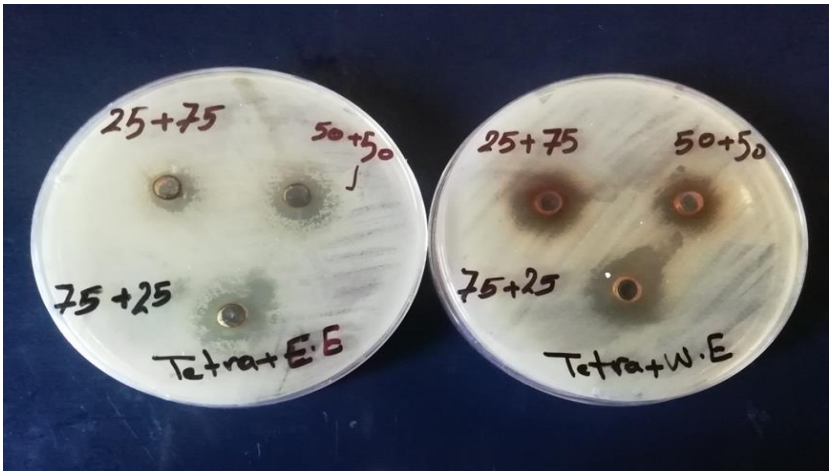
Şekil 4.8 Eritromisin'in bitki ekstraktları (su, etanol) ile seri seyreltilmesinin *Proteus mirabilis* üzerinde çapa göre etkileri

Çizelge 4.10 %25 su, alkol ve nano özü ile %75 antibiyotik karışımlarının *Proteus mirabilis* üzerindeki etkisi

		75% antibiyotik +%25 diğerleri						Ki-kare	p
		Sulu Ekstrakt		Etanol Ekstratı		Nano Çinko			
		n	%	n	%	n	%		
Antibiyotikler	Eritromisin	0	0,0	14	53,8	12	46,2	11,701	,003*
	Tetrasiklin	17	34,7	18	36,7	14	28,6		

*p<0,05

Antibiyotikler ile karışımlar arasında anlamlı bir ilişki bulunmaktadır (p<0,05). Eritromisin için Etanol Ekstratı olanların oranı %53,8 iken Tetrasiklin için Etanol Ekstratı olanların oranı %36,7'dir.



Şekil 4.9 Tetrasiklinin bitki ekstraktları (su, etanol) ile seri seyreltilmesinin *Proteus mirabilis* üzerinde çapa göre etkileri

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışma, patojenlerin neden olduğu hastalık riskini azaltmaya yardımcı olacak modern terapötik alternatifler bulmayı amaçlamaktadır. Bu amaçla, antibiyotikler, şifalı bitkiler ve nanomalzemeler gibi çeşitli bileşenlerin farklı oranlarda ve kombinasyonlarda karışımları yapılmıştır. Tedavilerde kullanılan yüksek konsantrasyondaki kimyasalların kullanım riskini ve yan etkilerini azaltmak ve ayrıca patojenik biyoloji üzerinde iyi bir etkiye neden olacak alternatifler bulmak gibi hedeflere odaklanılmıştır.

Proteus mirabilis örneklerinden (50) sadece 10 tanesi kulak sürüntüsünden elde edilmiştir. Daha önce yapılan araştırmalarda, (Motayo *et al*. 2012) kulak enfeksiyonu için bulunmuş ve Mordi and Momoh (2008) yaralardan alınan 15 örnekle ilgili bir yaklaşım olduğunu belirtmişlerdir. İzole örneklerin sayısı, kulaktaki enfeksiyon sayısının tespiti, tez çalışmamızın bir artısı olarak ortaya çıkmaktadır.Bunun yanı sıra, idrar yolu enfeksiyonundan 25 nemüne alınmış ve bu oran Al-Jumaily and Zgaer (2016) 'den farklılık göstermiştir.

Proteus mirabilis gram boyama kullanılarak ışık mikroskobunda gram negatif bakteriler, çubuk şeklinde, hareketli olarak ortaya çıkmıştır, *Proteus mirabilis* izolatlarının biyokimyasal incelemesi, Indol testinin pozitif reaksiyonuna giren suşların, sıvı besiyerinin tepesinde kırmızı renk halkasının oluşumu ile karakterize olduğunu göstermiştir (Brown and Smith 2017). Metil-kırmızı testi pozitif olmuş ve kırmızı renk ve glikozun tam hidrolizi gözlenmiştir (Brown and Smith 2017). Vogues –Proskauer testi, asetoin veya Asetil-metil-karbinol üreten glikozun kısmi hidrolizi nedeniyle 15 dk sonra kırmızı renk görünümünde pozitif olmuştur (Brown and Smith 2017). Sitrat kullanım testi pozitif olmuş, besiyerinin renginin yeşilden maviye değişmesi organizmaların sitratı tek karbon kaynağı olarak kullanabildiğini göstermiştir (Cappuccino and Welsh 2018). Üreaz testi, besiyeri renginin pembeye dönmesi sebebiyle pozitif olmuştur (Cappuccino and Welsh 2018). Motilite testi pozitif olmuş ve büyümenin bıçaklanma çizgisinin dışına yayıldığını göstermiştir (Tille 2014). Katalaz testi pozitif olmuş ve gaz kabarcıklarının oluştuğunu göstermiştir (Cappuccino and

Welsh 2018). Bu nedenle 5-10 saniye içinde ortaya çıkan yoğun koyu mor renk ile belirtilen test oksidaz testi pozitif olmuştur (Cappuccino and Welsh 2018).

Değişikliğe uğramış disk difüzyon yöntemi kullanılarak, antibiyotik duyarlılık testi yapılmıştır. *Proteus* mirabilis bakterileri Amoxicillin-Clavulanic Ac, Tetracycline, Sephalothin'e karşı %100 dirençlidir. Nitrofurantoin ve Azitromisine karşı bakteri direnci ise % 90'dır. Emad vd. (2020), bakterilerin bir grup antibiyotiğe karşı dirençli olduğu konusunda hemfikirdir. Gentamisin ve siprofloksasine karşı direnç %70 oranındadır. Çalışma sonuçları Emad vd. (2020)'ın çalışması ile benzer sonuçları ortaya koymuştur. Çok çeşitli bitkilerin geleneksel etnomedikal uygulamaları artık hastalıkların önlenmesinde etkili bir yöntem olarak kullanılmaktadır (Nadaf *et al*. 2019). Bu bitkinin seçilmesinin nedeni, bir grup patojenik bakteri üzerinde belirgin bir etkiye sahip olmasıdır (Rady *et al*. 2018). *E. purpurea* ekstraktı, *Staphylococcus aureus*'un büyümesini engellemiş, ancak sonuçlarda bir fark bulunmaktadır. Ayrıca bir araştırmada karıştırıldığında FeO(OH)-NW, araştırmada kullanılan malzeme nedeniyle *Pseudomonas aeruginosa* ve *Staphylococcus aureus* bakterileri üzerinde çok iyi bir etkiye sahip olduğu bulunmuştur (Askari *et al.* 2020). Benzer biçimde, Mohammed ve Omer (2015)'e göre, 100, 50 ve 25 mg/mL'de *A. indica* , *Escherichia coli*, *Klebsiella*'nın alkollü ekstraktı, pnömoni, *Proteus mirabilis, Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa* ve *Enterococcus faecalis* bakterileri üzerinde bitkinin etkisi olduğu görülmüştür.

Çinko, iyi konsantrasyonda olmadığı için, en iyi inhibisyon sonucu 100/12'lik bir konsantrasyonda gerçekleşmiş ve inhibisyon oranı 3,12 konsantrasyonunda 0'dır. Shakerimoghaddam vd. (2017) yaptığı benzer bir çalışmada, Nano ölçekli çinkonun etkinliği biyofilm oluşumunu engelleyebilmektedir. Biyofilm oluşumu yüksek izolatların yaklaşık % 20'sinde, orta düzeydekilerde %14'ünde ve zayıf olanlarında ise %16'sında tamamen önlenmiştir.

Farklı oranlarda antibiyotikler, çinko nanopartiküller ve bitki özleri karışımı kullanılmıştır. % 25'i Eritromisin ve % 75'i (su ekstraktı, Etanol ekstraktı, Nano çinko) kullanımı sonucu sırasıyla çap olarak %0, 11, 14'tür. Oranlar, hepsinin % 50'si ile % 50

Eritromisin olarak değiştirilmiş ve sonuç olarak sırasıyla %0, %12, %13 olmuştur. Daha sonra oranlar, % 25'e % 75 Eritromisin olarak değiştirilmiş ve sonuçlar çap olarak sırasıyla %0, %14, %12 olmuştur.

Tüm su ekstraktının % 75'i ile % 25 tetrasiklin kullanımı sonucu tetrasiklin ile aynı karışım, etanol ekstraktı, nano çinko sırasıyla, %16, %11, %11 şeklinde kullanılmıştır. Oranlar hepsinin %50'si ile %50 tetrasiklin olarak değiştirilmiş ve sonuç sırasıyla %15, %16, %13 olmuştur, daha sonra oranlar ise su ekstraktı, Etanol ekstraktı, Nano çinko %25'i ile %75 tetrasiklin olarak değiştirilmiş ve sonuç sırasıyla %14, %17, %18 olmuştur. Araştırma sonuçları Abo-Shama vd. (2021) bulduğu sonuçlardan farklıdır. Yaptıkları çalışmada, ZnONP'ler ile karıştırılan antibiyotiklerin *E. coli* üzerinde önemli ölçüde artan bir etkiye sahip olduğunu bulmuşlardır. Antibiyotiklerle (azithromycin, oxacillin, cefotaxime, cerebellum, fospha ve oxytetracycline) karşılaştırıldığında, ZnONP'ler için antibiyotik etkisi, antibiyotiğe kıyasla yalnızca ampisilin/sulbaktam antibiyotik ile *Escherichia coli*'ye karşı önemli ölçüde azaltılmıştır.

Proteus türlerine karşı en etkili karışımlar, bitki için %75 Su özütü (Ekinezya), %25 tetrasiklin (16 etkisi ile) alkollü bitki özünün yanı sıra tek başına. 12.5 konsantrasyonunda 6 etkili Proteus ile en yüksek direnç Amoksisilin (%10) için kaydedilmiştir.

Bu bakterilerin Tetrasiklin'e karşı verdikleri güçlü dirence rağmen, bitkinin bitkisel hidroenotik özü ile karıştırıldıktan sonra en iyi etkiyi vermiştir. Bu nedenle bu çalışmanın, antibiyotiklerin güçlendirilmesinin mümkün olduğunu ortaya çıkardığını söylenebilir. Hem vücut için etkilerini artırmaya ve toksisitelerini azaltmaya yardımcı olan bitkisel maddeler içeren kimyasallar, hem de bitkinin alkol özü için kullanılan diğer maddelere göre daha iyi bir etki sağlamıştır. Böylece vücut için daha kullanışlı olabilir. Bitkinin alkol ekstraktının kullanılan diğer maddelere göre daha iyi bir etki sağladığından vücut için daha fazla kullanılabilir. Büyük üretim süreçlerine giren antibiyotiklerde, kimyasal dozların hacmi azaltılabilir ve içlerindeki bitkisel materyallerin oranları yükseltilebilir. Çünkü bu bitkiler kolayca yetiştirilebilmekte ve bu bileşenler bitkilerin doğal içeriğinde bulunmaktadır. Bu nedenle hem ulaşılabilir, hem

kolay elde edilebilir, hem de fiyatı nispeten daha düşük olabilir. Bu araştırmada elde edilen veriler olumlu sonuç vermiş ve gelecekte diğer bitkisel maddeler, antibiyotikler ve hatta nanomalzemeler kullanılarak geliştirilebilmesine dair ipuçları sunmuştur. Ancak hammaddelerin hala deneme sürecinde olduğu ve bu nedenle antibiyotiklerle bitkisel karışımların olabileceği bilinmektedir. Hastalığı veya patojeni etkileyen doğru ve etkili karışımın bulunmasıyla, bir kaç yan etkinin tedavisi sağlanabilir. Bu çalışmanın en önemli nedenlerinden biri bakterilerin sürekli gelişim göstermesidir. Bakterilerin sebep olduğu hastalıkların tedavisi için doğru bir karışım bulunmalı, çünkü insanların yaşamı için ölümcül bir risk oluşturmaktadır. Şuan için tabii ki karışımların bakterilere karşı çok güçlü bir etkisi olmamıştır. Fakat en önemlisi bakterilerin antibiyotik direncinin artması nedeniyle, bu yöntemi kullanarak kimyasalların yan etkilerinin azaltılmasının yanı sıra bakterilerin direnç riskini azaltmak için terapötik alternatifler aramaya devam edilmesi önerilmektedir. Bu yöntemi kullanarak, bitkiler, antibiyotikler ve hatta nanopartiküller maddeleri veya maddelerin konsantrasyonunu değiştirerek elde edilen karışımların ne kadar değişiklik yaptığı bilinmektedir. Bu yüzden belki gelecekte daha sağlıklı ve daha etkili karışımlar elde edilebilir.

KAYNAKLAR

Aarland, R.C., Bañuelos-Hernández, A.E., Fragoso-Serrano, M., Del Carmen Sierra-Palacios, E., Díaz de León-Sánchez, F., Pérez-Flores, L.J., Rivera-Cabrera, F. and Mendoza-Espinoza, J.A. 2017. Studies on phytochemical, antioxidant, anti-inflammatory, hypoglycaemic and antiproliferative activities of Echinacea purpurea and echinacea angustifolia extracts. Pharm. Biol., 55: 649–656.

Abbas, K.F., Al Khafaji, J.K. and Al-Shukri, M.S. 2015. Molecular detection of some virulence genes in Proteus mirabilis *Proteus mirabilis* isolated from hillaprovince. International Journal of Research Studies in Biosciences, 3: 85–89.

Abo-Shama, U., El-Gendy, H., Mousa, W.S., Hamouda, R.A., Yousuf, W.E., Hetta, H.F. and Abdeen, E.E. 2021. Synergistic and antagonistic effects of metal nanoparticles in combination with antibiotics against some reference strains of pathogenic microorganisms. Infect Drug Resist., 13: 351–362.

Adamus-Bialek, W., Zajac, E., Parniewski, P. and Kaca, W. 2013. Comparison of antibiotic resistance patterns in collections of Escherichia coli and Proteus mirabilis*Proteus mirabilis* uropathogenic strains. Mol. Biol. Rep., 40: 3429–3435.

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

Ahn, J.Y., Ann, H.W., Jeon, Y., Ahn, M.Y., Oh, D.H., Kim, Y.C., Kim, E.J., Song, J.E., Jung, I.Y. and Kim, M.H. 2017. The impact of production of extended-spectrum beta-lactamases on the 28-day mortality rate of patients with Proteus mirabilis*Proteus mirabilis* bacteremia in Korea. BMC Infect. Dis., 17: 1-10.

Akbaba, G.B. and Turkez, H. 2018. Investigation of the genotoxicity of alumi- € num oxide, b-tricalcium phosphate, and zinc oxide nanoparticles in vitro. Int J Toxicol., 37: 216–222.

Al-Hisnawi, M.S. and Jabor, M.A. 2016. Preparation of nanohybrid compound from the drugs (naproxen and cephalexin) with zinc oxide and studying biological activities against Aeromonas bacteria. J. Contemp. Med. Sci., 1: 16–19.

Al-Jumaily, E. and Zgaer, S.H. 2016. Multidrug resistant proteus mirabilis*Proteus mirabilis* isolated from urinary tract infection from different hospitals in Baghdad City. Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci., 5(9): 390-399.

Aminov, R. I. 2010. A brief history of the antibiotic era: Lessons learned and challenges for the future. Front Microbiol., 1(134): 1-7.

Anagisawa, H., Seki, Y., Yogosawa, S., Takumi, S., Shimizu, H. and Suka, M. 2018. Potential role of mitochondrial damage and S9 mixture including metabolic enzymes in ZnO nanoparticles-induced oxidative stress and genotoxicity in Chinese hamster lung (CHL/IU) cells. Mutat Res., 834: 25–34.

Armbruster, C.E. and Mobley, H.L.T. 2012. Merging mythology and morphology: The multifaceted lifestyle of Proteus mirabilis*Proteus mirabilis*. Nature Reviews Microbiology, 10(11): 743–754.

Ashajyothi, C., Harish, K.H., Dubey, N. and Chandrakanth, R.K. 2016. Antibiofilm activity of biogenic copper and zinc oxide nanoparticlesantimicrobials collegiate against multiple drug resistant bacteria: A nanoscale approach. J. Nanostruct. Chem., 6: 329–341.

Askari, H., Ghaedi, M., Naghiha, R. and Salehi, A. 2020. In vitro antibacterial and antifungal studies of pulicaria undulate and echinacea purpurea extracts in combination with nanowires (Ni:FeO(OH)) and Nanoparticles (NiS). Jundishapur Journal of Natural Pharmceutical Products, 15: 643-58.

Bhardwaj, A., Sharma, G. and Gupta, S. 2020. Nanotechnology applications and synthesis of graphene as nanomaterial for nanoelectronics, In: Nanomaterials and Environmental Biotechnology. Bhushan, I., Singh, V. and Tripathi, D. (eds), Springer, pp. 251–269, Cham, Switzerland.

Binns, S., Purgina, B., Bergeron, C., Smith, M., Ball, L., Baum, B. and Arnason, J. 2000. Light-mediated antifungal activity of *echinacea* extracts eastern cereal and oilseed research centre, agriculture and agri-food Canada, Ottawa, Canada Planta Med., 66(3): 241-244.

Boonen, G., Bronselaer, A., Nielandt, G., Veryser, L., Tre, G.D. and Spiegeleer, B.D. 2012. Alkylamides from Echinacea are a new class of cannabinomimetics. Cannabinoid type 2 receptor-dependent and -independent immunomodulatory effects, J. Biol. Chem., 281(20): 14192–14206.

Borena, B.M., Martens, A., Broeckx, S.Y., Meyer, E., Chiers, K., Duchateau, L. and Spaas, J.H. 2015. Regenerative Skin wound healing in mammals: State-of-the-art on growth factor and stem cellbased treatments. Cell. Physiol. Biochem., 36: 1–23.

Brooks, G. F., Butel J. S. and Morse S. A. 2004. Jawetz, Melnick and Adelberg‟s Medical Microbiology, 23rd Edition. McGraw Hill Companies, Singapore.

Bush, K. and Jacoby, G.A. 2010. Updated functional classification of β-lactamases. Antimicrob Agents Chemother, 54: 969–976.

Chanal, C., Bonnet, R., De Champs, C., Sirot D., Labia, R. and Sirot, J. 2000. Prevalence of β-lactamases among 1,072 clinical strains of Proteus mirabilis*Proteus mirabilis*: A 2-year survey in a French hospital. Antimicrob Agents Chemother, 44: 1930–1935.

Chanda, S. and Rakholiya, K. 2011. Combination therapy: Synergism between natural plant extracts and antibiotics against infectious diseases. In: Science Against Microbial Pathogens: Communicating Current Research and Technological Advances. Mendez-Vilas, A. (eds), Formatex Research Center, pp. 520-529, Badajoz.

Cheeseman, S., Christofferson, A.J., Kariuki, R., Cozzolino, D., Daeneke, T., Crawford, R.J., Truong, V.K., Chapman, J. and Elbourne, A. 2020. Antimicrobial metal nanomaterials: from passive to stimuli-activated applications. Adv. Sci., 7(10): 1902913.

Chen, C.Y., Chen, Y.H., Lu, P.L., Lin, W.R., Chen, T.C. and Lin, C.Y. 2012. Proteus mirabilis*Proteus mirabilis* urinary tract infection and bacteremia: Risk factors, clinical presentation, and outcomes. J Microbiol Immunol Infect., 45: 228–236.

Chen, P., Wang, H., He, M., Chen, B., Yang, B. and Hu, B. 2019. Size-dependent cytotoxicity study of ZnO nanoparticles in HepG2 cells. Ecotoxicol Environm Saf., 171: 337–346.

Chiou, S.Y., Sung, J.M., Huang, P.W. and Lin, S.D. 2017. Antioxidant, antidiabetic, and antihypertensive properties of Echinacea purpurea flower extract and caffeic acid derivatives using in vitro models. J. Med. Food, 20: 171–179.

Choi, H.S. 2010. Antioxidative activity. In: Citrus Essential Oils: Flavor and Fragrance. Sawamura, M. (eds), John Wiley & Sons, Inc, pp. 231-243, New Jersey.

Da Silva, B.L., Abuçafy, M.P., Berbel Manaia, E., Oshiro Junior, J.A., Chiari-Andréo, B.G., Pietro, R.C.R. and Chiavacci, L.A. 2019. Relationship between structure and antimicrobial activity of zinc oxide nanoparticles: An overview. Int. J. Nanomed., 14: 9395–9410.

Denyer, S. P., Hodges N. A. and German S. P. 2004. Introduction to pharmaceutical microbiology. In: Hugo and Russell‟s Pharmaceutical Microbiology. Denyer, S.P., Hodges, N.A. and German, S.P. (eds.), 7th Ed. Blackwell Science, pp. 3-8. UK.

Du, Y., Wang, Z., Wang, L., Gao, M., Wang, L., Gan, C. and Yang, C. 2017. Simultaneous determination of seven phenolic acids in rat plasma using UHPLC-ESI-MS/MS after oral administration of Echinacea purpurea extract. Molecules, 22: 1494.

Eftekhar, B., Moghimipour, E., Jahandideh, P.P., Jalali, S. and Mahmoudian, M. 2013. Analgesic effect of odontopaste and a compound intracanal medicament between root canal therapy appointments. Jundishapur J. Nat. Pharm. Prod., 8: 169–174.

Emad, I., Al-Batayneh, H.Kh., Majed, M., Fatina, M., Dahadhah, W., Al Zoubi, S.M., Aljabali, A.A. and Alzoubi, K.H. 2020. Assessment of pathogenic potential, virulent genes profile, and antibiotic susceptibility of proteus mirabilis*Proteus mirabilis* from urinary tract infection. International Journal of Microbiology, 2020(2020). doi:10.1155/2020/1231807

Endimiani, A., Luzzaro, F., Brigante, G., Perilli, M., Lombardi, G., Amicosante G., Rossolini, G.M. and Toniolo, A. 2005. Proteus mirabilis*Proteus mirabilis* bloodstream infections: risk factors and treatment outcome related to the expression of extended-spectrum β-lactamases. Antimicrob Agents Chemother, 49: 2598–2605.

Farhan, S.M., Ibrahim, R.A., Mahran, KM., Hetta, H.F. and El-Baky, R.M.A. 2019. Antimicrobial resistance pattern and molecular genetic distribution of metallo-β-lactamases producing Pseudomonas aeruginosa isolated from hospitals in Minia, Egypt. Infect Drug Resist., 12: 2125. doi:10.2147/IDR.S198373

Farzana, R., Iqra, P., Shafaq, F., Sumaira, S., Zkia, K., Hunaiza, T. and Husna, M. 2017. Antimicrobial Behavior of Zinc Oxide Nanoparticles and β-Lactam Antibiotics against Pathogenic Bacteria. Arch. Clin. Microbiol., 8: 57.

Firildak, G., Asan, A. and Goren, E. 2015. Chicken carcasses bacterial concentration at poultry slaughtering facilities. Asian J. Biol. Sci., 8: 16–29. doi:10.3923/ajbs.2015.16.29

Forbes, B.A., Sahm, D.F. and Weissfeld, A.S. 2007. Diagnostic microbiology. 12th ed. Mosby, U.S.A.

Govan, J.R. and Deretic, V. 1996. Microbial Pathogenesis in Cystic Fibrosis: Mucoid Pseudomonas aeruginosa and Burkholderia cepacia. Microbiological Reviews, 60: 539-574.

Habibi, M., Karam, M.R.A. and Bouzari, S. 2018. Construction and evaluation of the immune protection of a recombinant divalent protein composed of the MrpA from MR/P fimbriae and flagellin of Proteus mirabilis*Proteus mirabilis* strain against urinary tract infection. Microb Pathog., 117: 348–355.

Hajipour, M.J., Fromm, K.M., Akbar Ashkarran, A., de Aberasturi, D.J., Larramendi, I.R.D., Rojo, T., Serpooshan, V., Parak, W.J. and Mahmoudi, M. 2012. Antibacterial properties of nanoparticles. Trends Biotechnol., 30: 499-511.

Hudson, J.B. 2012. Applications of the phytomedicine Echinacea purpurea (Purple Coneflower) in infectious diseases. J. Biomed. Biotechnol, cilt sayfa

Hwang, I.S., Hwang, J.H., Choi, H., Kim, K.J. and Lee, D.G. 2012. Synergistic effects between silver nanoparticles and antibiotics and the mechanisms involved. J Med Microbiol, 61(12): 1719-1726. doi:10.10 99/jmm.0.047100-0

Isbaniah, F., Wiyono, W.H., Yunus, F., Setiawati, A., Totzke, U. and Verbruggen, M.A. 2011. Echinacea purpurea along with zinc, selenium and vitamin C to alleviate exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease: Results from a randomized controlled trial. J. Clin. Pharm. Ther., 36: 568–576.

Jorgensen, J.H., Pfaller, M.A., Carroll, K.C., Funke, G., Landry, M.L., Richter, S.S and Warnock., D.W. (2015) Manual of Clinical Microbiology, 11th Edition. ASM Press.

Kembuan, G., Lie W. and Tumimomor, A. 2020. Potential usage of immune modulating supplements of the Echinacea genus for COVID-19 infection. Int. J. Med. Rev. Case Rep., 4: 1.

Khalaf, A.A., Hussein, S., Tohamy, A.F., Marouf, S., Yassa, H.D., Zaki, A.R. and Bishayee, A. 2019. Protective effect ofEchinacea purpurea (Immulant) against cisplatin-induced immunotoxicity in rats. DARU J. Pharm. Sci., 27: 233-241.

Kour, K. and Bani, S. 2011. Augmentation of immune response by chicoric acid through the modulation of CD28/CTLA-4 and Th1 pathway in chronically stressed mice. Neuropharmacology, 60(6): 852–860.

Lei, C.W., Zhang, A.Y., Liu, B.H., Wang, H.N., Guan, Z. Bin, Xu, C.W., Xia, Q.Q., Cheng, H. and Zhang, D.D. 2014. Molecular characteristics of salmonella genomic island 1 in Proteus mirabilis*Proteus mirabilis* isolates from poultry farms in China. Antimicrob. Agents Chemother, 58: 7570–7572. doi:10.1128/AAC.03992-14.

Lei, C.W., Zhang, A.Y., Wang, H.N., Liu, B.H., Yang, L.Q. and Yang, Y.Q. 2016. Characterisation of SXT/R391 integrative and conjugative elements in Proteus mirabilis*Proteus mirabilis* isolates from food producing animals in China. Antimicrob. Agents Chemother, 60: 1935–1938. doi:10.1128/AAC.02852-15

Liang, X., Zhang, D., Liu, W., Yan, Y., Zhou, F., Wu, W. and Yan, Z. 2017. Reactive oxygen species trigger NF-jB-mediated NLRP3 inflammasome activation induced by zinc oxide nanoparticles in A549 cells. Toxicol Ind Health, 33: 737–745.

Lozniewski, A., Rabaud, C. and Nancy. 2010. Bacterial antibiotic resistance. Web sitesi. http://nosobase.chu-yon.fr/recommandations/cclin_arlin/cclinSudEst/2010_ ResistanceAntibiotiques_CClinSE.pdf Erişim Tarihi: 02.01.2022.

MacFaddin, J.F. 2000. Biochemical tests for identification of medical bacteria. 3rd ed. Williams and Wilkins, Philadelphia.

Maggini, V., de Leo, M., Mengoni, A., Gallo, E.R., Miceli, E., Reidel, R.V.B., Biffi, S., Pistelli, L., Fani, R., Firenzuoli, F. and Bogani, P. 2017. Plant-endophytes interaction influences the secondary metabolism in Echinacea purpurea (L.) Moench: An in vitro model. Sci. Rep., 7. doi: 10.1038/s41598-017-17110-w.

Manayi, A., Vazirian, M. and Saeidnia, S. 2015. Echinacea purpurea: Pharmacology, phytochemistry and analysis methods. Pharmacogn. Rev., 9: 63–72.

Matthews, J. and Lancaster, W. 2011. Urinary tract infections in the elderly population. Am J Geriatr Pharmacother, 9: 286–309.

Mittal, R., Lisi, C.H.V., Gerring, R., Mittal, J., Mathee, K., Narasimhan, G., Azad, K.R., Yao, Q.i., Grati, M., Yan, D., Eshraghi, A.A., Angeli, S.I., Telischi, F.F. and Liu, X. 2015. Current concepts in the pathogenesis and treatment of chronic suppurative otitis media. J. Med. Microbiol., 64(Pt10): 1103.

Mohammed, H.A. and Omer, A.F.A. 2015. Antibacterial activity of Azadirachta indica (Neem) leaf extract against bacterial pathogens in Sudan. Am J Res Commun., 3(5): 246–51.

Mordi, R.M. and Momoh, M. I. 2008. Incidence of Proteus species in wound infections and their sensitivity pattern in the University of Benin Teaching Hospital. African Journal of Biotechnology, 8(5): 725-730.

Mythili, T. and Ravindhran, R. 2012. Phytpchemical screening and antimicobial activity of sesbania sesban (L.) merr. Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research, 5(4): 18-23.

Nadaf, M., Joharchi, M.R. and Amiri, M.S. 2019. Ethnomedicinal uses of plants for the treatment of nervous disorders at the herbal markets of Bojnord, North Khorasan Province, Iran. Avicenna J. Phytomed, 9: 153–163.

Nakama, R., Shingaki, A., Miyazato, H., Higa, R., Nagamoto, C., Hamamoto, K., Ueda, S.H., Hachiman, T., Touma.Y., Miyagi, K., Kawahara, R., Toyosato, T. and Hirai, I. 2016. Current status of extended spectrum β-lactamase-producing Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae and Proteus mirabilis*Proteus mirabilis* in Okinawa prefecture, Japan. J. Infect. Chemother, 22: 281–286. doi: 10.1016/j.jiac.01.008

Nakano, R., Nakano, A., Abe, M., Inoue, M. and Okamoto, R. 2012. Regional outbreak of CTX-M-2 β-lactamase-producing Proteus mirabilis *Proteus mirabilis* in Japan. J Med Microbiol., 61: 1727–1735.

Nerurkar, A., Solanky, P. and Naik, S.S. 2012. Bacterial pathogens in urinary tract infection and antibiotic susceptibility pattern. J. Pharm. Biomed. Sci., 21: 1-3.

Nordmann, P., Naas, T. and Poirel, L. 2011. Global spread of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. Emerg Infect Dis, 17: 1791–1798.

Nyalambisa, M., Oyemitan, I.A., R. Matewu, Oyedeji, O.O., Oluwafemi, O.S., Songca, S.P., Nkeh-Chungag, B.N. and Oyedeji, A.O. 2017. Volatile constituents and biological activities of the leaf and root of Echinacea species from South Africa, Saudi Pharmaceut. J., 25(3): 381–386.

Okeke, M.I., Iroegbu, C.U., Eze, E.N., Okoli, A.S. and Esimone, C.O. 2001. Evaluation of extracts of the roots of Landolphia owerrience for antibacterial activity. J Ethnopharmacol, 78(2-3): 119-27.

Park, S., Lee, M.S., Jung, S., Lee, S., Kwon, O., Kreuter, M.H., Moccetti, T.P., Min, P., Ho Yun, S. and Kim, Y. 2018. Echinacea purpurea protects against restraint stress-induced immunosuppression in BALB/c mice. J. Med. Food, 21(3): 261-268.

Pires, C., Martins, N., Carvalho, A.M., Barros, L. and Ferreira, I.C.F.R. 2016. Phytopharmacologic preparations as predictors of plant bioactivity: A particular approach to Echinacea purpurea (L.) Moench antioxidant properties. Nutrition, 32: 834–839.

Rady, M., Aboul-Enein, A. and Ibrahim, M. 2018. Active compounds and biological activity of in vitro cultures of some Echinacea purpurea varieties. Bulletin of the National Research Centre, 42(20): 1-12.

Rajasekaran, C., Meignanam, E., Vijayakumar, V., Kalaivani, T., Ramya, S., Premkumar, N., Siva, R. and Jayakumararaj, R. 2008. Investigation on antibacterial activities of leaf extracts of Azadirachta indica A. Juss (Meliaceae) a traditional medicinal plant of India. Ethnabotanical Leaflets., 12: 1213-7.

Ram, P., Rao, V., Rao, S., Subramanyam, K.V. and Srinivas, K. 2019. Prevalence and virulence gene profiles of Proteus mirabilis*Proteus mirabilis* isolated from animal, human and water samples in Krishna District, Andhra Pradesh, India. Pharma Innov. J., 8: 19–23.

Rondanelli, M.J., Miccono, .A., Lamburghini, S., Avanzato, I., Riva, A., Allegrini, P., Faliva, A.M., Peroni, G., Nichetti, M. and Perna, S. 2018. Self-care for common colds: the pivotal role of vitamin D, vitamin C, zinc, and echinacea in three main immune interactive clusters (physical barriers, innate and adaptive immunity) involved during an episode of common colds-practical advice on dosages and on the time to take these nutrients/botanicals in order to prevent or treat common colds. Evid Based Compl. Alternat. Med., 2018.

Russell, A. D. 2004. Types of antibiotics and synthetic antimicrobial agents. In: Hugo and Russell‟s pharmaceutical microbiology. Denyer S. P., Hodges N. A. and German S. P. (eds.) 7th Ed. Blackwell Science, pp. 152-186, UK.

Sabouri, Z., Barzegar, M., Sahari, MA., Naghdi Badi, H. 2012. Antioxidant and Antimicrobial Potential of Echinacea purpurea Extract and it's Effect on Extension of Cake Shelf Life. Journal of Medicinal Plants, 11(43): 28-40.

Safar, R., Doumandji, Z., Saidou, T., Ferrari, L., Nahle, S., Rihn, B.H. and Joubert, O. 2019. Cytotoxicity and global transcriptional responses induced by zinc oxide nanoparticles NM 110 in PMA-differentiated THP-1 cells. Toxicol Lett., 308: 65–73.

Schaffer, J.N. and Pearson, M.M. 2015. Proteus mirabilis *Proteus mirabilis* and urinary tract ınfections. Microbiol. Spectr., 3.

Schaffer, J.N., Norsworthy, A.N., Sun, T.T. and Pearson, M.M. 2016. Proteus mirabilis*Proteus mirabilis* fimbriae-and urease-dependent clusters assemble in an extracellular niche to initiate bladder stone formation. Proceedings of the National Academy of Sciences, 113(16): 4494–4499.

Schlegel, H. G. 2003. General microbiology, 7th Ed. Cambridge University Press, Cambridge.

Senica, M., Mlinsek, G., Veberic, R. and Mikulic-Petkovsek, M. 2019. Which plant part of purple coneflower (Echinacea purpurea (L.) Moench) should be used for tea and which for tincture? J. Med. Food, 22: 102–108.

Shakerimoghaddam, A., Ghaemi, E.A. and Jamalli, A. 2017. Zinc oxide nanoparticle reduced biofilm formation and antigen 43 expressions in uropathogenic Escherichiacoli. Iran J. Basic Med. Sci., 20(4): 451–456. doi:10.22038/IJBMS.2017.8589

Sharifi Rad, M., Mnayer, D., Morais Braga, M.F.B., Carneiro, J.N.P., Bezerra, C.F., Coutinho, H.D.M., Salehi, B., Martorell, M., Soltani Nejad, A., Uribe, Y.A.H., Yousaf, Z., Iriti, M. and Sharifi Rad, J. 2018. Echinacea plants as antioxidant and antibacterial agents: from traditional medicine to biotechnological applications. Phytother Res., 32(9): 1653–1663.

Sirelkhatim, A., Mahmud, S., Seeni, A., Kaus, N.H.M., Ann, L.C., Bakhori, S.K.M., Hasan, H. and Mohamad, D. 2015. Review on zinc oxide nanoparticles: Antibacterial activity and toxicity mechanism. Nano-Microlett., 7: 219–242.

Sohn, K.M., Kang, C.I., Joo, E.J., Ha, Y.E., Chung, D.R., Peck, K.R., Lee, N.Y. and Song, J.H. 2011. Epidemiology of ciprofloxacin resistance and its relationship to

extended-spectrum βlactamase production in Proteus mirabilis*Proteus mirabilis* bacteremia. The Korean J. Int. Med., 26(1): 89-93.

Sousa, S.G., Oliveira, L.A., Magalhaes, D.D.A., de Brito, T.V., Batista, J.A., Pereira, C.M.C., de Souza Costa, M., Mazulo, J.C.R., de Carvalho Filgueiras, M., Vasconselos, D.F.P., Silva, D.A., Barros, F.C.N., Sombra, V.G., Freitas, A.L.P., Feitosa, A. and Barbosa, L.D. 2018. Chemical structure and anti-inflammatory effect of polysaccharide extracted from Morinda citrifolia Linn (Noni). Carbohydr. Polym., 197: 515–523.

Sultan, M.T., Buttxs, M.S., Qayyum, M.M.N. and Suleria, H.A.R. 2014. Immunity: Plants as effective mediators. Crit. Rev. Food Sci. Nutr., 54: 1298–1308.

Thomsen, M.O., Christensen, L.P. and Grevsen, K. 2018. Harvest strategies for optimization of the content of bioactive alkamides and caffeic acid derivatives in aerial parts and in roots of Echinacea purpurea. J. Agric. Food Chem., 66: 11630–11639.

Tille, P.M. 2014. Bailey & scott's diagnostic microbiology. 13th ed. Mosby, Inc., An affiliate of Elsevier Inc., China.

Tisoncik J.R., Korth M.J., Simmons C.P., Farrar J., Martin T.R. and Katze M.G. 2012. Into the eye of the cytokine storm. Microbiol. Microbiol. Mol. Biol. Rev., 76(1): 16–32.

Waidyanatha, S., Pierfelice, J., Cristy, T., Mutlu, E., Burback .B., Rider, C.V. and Ryan, K. 2020. A strategy for test article selection and phytochemical characterization of Echinacea purpurea extract for safety testing. Food Chem. Toxicol., 137: 111-125.

Walsh, C. 2003. Antibiotics: Actions, origins, resistance, 1st Ed. ASM Press, p.345, Washington, DC.

Wang, B., Zhang, J., Chen, C., Xu, G., Qin, X., Hong, Y., Bose, D.D., Qiu, F. and Zou, Z. 2018. The size of zinc oxide nanoparticles controls its toxicity through impairing autophagic flux in A549 lung epithelial cells. Toxicol Lett., 285: 51-59.

Wang, M., Wang, J., Liu, Y., Wang, J., Nie, Y., Si, B., Liu, Y., Wang, X., Chen, S. and Hei, T.K. 2019. Subcellular targets of zinc oxide nanoparticles during the aging process. Role of cross-talk between mitochondrial dysfunction and endoplasmic reticulum stress in the genotoxic response. Toxicol Sci., 171: 159–171.

Yu, D., Yuan, Y., Jiang, L., Tai, Y., Yang, X., Hu, F. and Xie, Z. 2013. Anti-inflammatory effects of essential oil in Echinacea purpurea L, Pak. J. Pharm. Sci., 26(2): 403–408.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı ve Soyadı : Musaab Mohammed AL-SAMMARRAİE

Eğitim

Yüksek Lisans	Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı	2019-Halen
Lisans	University of Samarra pathological analysis	2014/2018

İş Deneyimi

Yıl	**Kurum**	**Görev**
-	-	-

Akademik Aktiviteler

1. -