



**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK
LİSANS
TEZİ**

**AROMATERAPİDE KULLANILAN BAZI UÇUCU
YAĞLARIN VE KOMBİNASYONLARININ
ANTI-QUORUM SENSİNG ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

MÜJGAN ÖZFENERCİ

**FARMAKOGNOZİ ANABİLİM DALI
FİTOTERAPİ PROGRAMI**

OCAK 2021



**AROMATERAPİDE KULLANILAN BAZI UÇUCU YAĞLARIN VE
KOMBİNASYONLARININ ANTI-QUORUM SENSİNG ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Müjgan ÖZFENERCİ

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
FARMAKOGNOZİ ANABİLİM DALI
FİTOTERAPİ PROGRAMI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

OCAK 2021

Müjgan ÖZFENERCİ tarafından hazırlanan “AROMATERAPİDE KULLANILAN BAZI UÇUCU YAĞLARIN VE KOMBİNASYONLARININ ANTI-QUORUM SENSİNG ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Gazi Üniversitesi Farmakognozi Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Doç. Dr. Ufuk KOCA ÇALIŞKAN

Farmakognozi Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum

İkinci Danışman: Dr. Öğretim Üyesi Elif Burcu BALI

Tıbbi Laboratuvar Teknikleri Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum

Başkan: Prof. Dr. Ahmet BAŞARAN

Farmakognozi Anabilim Dalı, Başkent Üniversitesi

Bu tezin kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum

Üye: Prof. Dr. Esra AKKOL

Farmakognozi Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum

Üye: Prof. Dr. Özlem BAHADIR ACIKARA

Farmakognozi Anabilim Dalı, Ankara Üniversitesi

Bu tezin kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum

Tez Savunma Tarihi: 07/01/2021

Jüri üyeleri tarafından YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak uygun görülmüş olan bu tez Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu kararı ile onaylanmıştır.

.....

Prof. Dr. Yasemin DÜNDAR

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Müjgan ÖZFENERCİ

07/01/2021

AROMATERAPİDE KULLANILAN BAZI UÇUCU YAĞLARIN VE
KOMBİNASYONLARININ ANTI-QUORUM SENSİNG ETKİLERİNİN

ARAŞTIRILMASI

(Yüksek Lisans Tezi)

Müjgan ÖZFENERCİ

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Ocak 2021

ÖZET

Mikroorganizmalar değişen ortam koşullarına uyumu kolaylaştırmak için hücrelerarası iletişim sistemleri kullanan topluluklardır. Hücrelerarası iletişimi sağlayan bu haberleşme sistemi, oto-indüktörler olarak adlandırılan küçük, doğal üretilen sinyal molekülleri kullanımıyla nüfus yoğunluğuna göre ortaya çıktığı için Quorum (çoğunluk/yeter sayı) Sensing (algılama) (QS) olarak adlandırılmıştır. Mikroorganizmaların bu başarılı işbirliği ve antibiyotiklere karşı geliştirdikleri direnç nedeniyle bakterilerin patojenitesinin bertaraf edilmesine yönelik alternatif yaklaşımlar oldukça önem kazanmıştır. Çalışmamızın hedefi, Aromaterapide en çok kullanılan uçucu yağların ve aromaterapötik amaçla hazırlanan GX ve MX kodlu uçucu yağ kombinasyonlarının antimikrobiyal, anti-biyofilm, anti-QS etkilerini araştırmaktır. Seçilen on bir uçucu yağ ve iki uçucu yağ kombinasyonunun Gram-pozitif ve Gram-negatif bakteriler ile QS için biyosensör suşlar olan *Chromobacterium violaceum* ve *Pseudomonas aeruginosa* PA01 üzerinde etkileri incelenmiştir. Sonuç olarak tez çalışmamız seçilen uçucu yağların ve kombinasyonlarının değişen konsantrasyonlarda antimikrobiyal, anti-QS, anti-biyofilm etkilerinin olduğunu, böylece aromaterapinin bilimsel bir zemine oturduğunu göstermiş, insan sağlığını tehdit eden pek çok faktöre karşı yapılacak yeni çalışmalara ve yeni tedavi yaklaşımlarına ışık tutacağına dair fikir vermiştir.

Bilim Kodu : 1017

Anahtar Kelimeler : Anti-Biofilm Aktivite, Antibiyotik Direnci, Aromaterapi, Uçucu Yağlar, Quorum Sensing

Sayfa Adedi : 114

Danışman : Doç. Dr. Ufuk KOCA ÇALIŞKAN

İkinci Danışman : Dr. Öğr. Üyesi Elif Burcu BALI

RESEARCH ON ANTI-QUORUM SENSING EFFECTS OF SOME ESSENTIAL OILS
AND THEIR COMBINATIONS USED IN AROMATHERAPY

(M. Sc. Thesis)

Müjgan ÖZFENERCİ

GAZİ UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF HEALTH SCIENCES

January 2021

ABSTRACT

Microorganisms are communities that use intercellular communication systems to facilitate adaptation to changing environmental conditions. This communication system, which enables intercellular communication, is called Quorum Sensing (QS) because it arises according to population density using small, naturally produced signal molecules called auto-inductors. Due to this successful cooperation of microorganisms and the resistance they develop against antibiotics, alternative approaches towards the elimination of the pathogenicity of bacteria have gained importance. The aim of our study is to investigate the antimicrobial, anti-biofilm and anti-QS effects of the essential oils most commonly used in aromatherapy and the combinations with codes GX and MX prepared for aromatherapeutic purposes. The effects of eleven essential oils and two essential oils combinations on Gram-positive and Gram-negative bacteria and the biosensor strains for QS, *Chromobacterium violaceum* and *Pseudomonas aeruginosa* PA01 were compared with existing reference substances. As a result, our thesis study has shown that the selected essential oils and their combinations have antimicrobial, anti-QS, anti-biofilm effects in varying concentrations, so that aromatherapy is based on a scientific basis, and gave an idea that it will shed light on new studies and new treatment approaches against many factors that threaten human health.

Science Code : 1017

Key Words : Anti-Biofilm Activity, Antibiotic Resistance, Aromatherapy, Essential Oils, Quorum Sensing

Page Number : 114

Supervisor : Doç. Dr. Ufuk KOCA ÇALIŞKAN

Co-Advisor : Dr. Öğr. Üyesi Elif Burcu BALI

TEŞEKKÜR

Mezunu olduğum Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesinde öğrenim gören, lisans ve yüksek lisans dönemindeki tüm arkadaşlarıma ve hocalarıma öncelikle teşekkürlerimi iletirim.

Yüksek lisansın başında aromaterapiye öncelikli olan ilgimi görüp, danışmanım olarak beni seçen; QS gibi ayrıntılı ve yeni bir konuyu, güvenip bana öneren, tüm çalışmalar süresince ilgi ve bilgisiyle bana yardım eden çok değerli hocam Doç. Dr. Ufuk KOCA ÇALIŞKAN'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İkinci danışmanım olan Dr. Öğretim Üyesi Elif Burcu BALI hocama çalışmanın laboratuvar kısmındaki yardımları ve desteği için ve Aksaray Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Uygulama ve Araştırma Merkezi'ndeki laboratuvarı kullanmamıza izin veren, tüm çalışmada bilgisini ve emeğini esirgemeyen, Dr. Araştırma Görevlisi Demet ERDÖNMEZ'e çok teşekkür ederim.

Ankara Eczacı Odasındaki bir aromaterapi seminerinde “Aromaterapi eczacılara yakışır!” diyerek, beni fitoterapi yüksek lisansı için cesaretlendiren Prof. Dr. Ekrem SEZİK'e minnet duygumla teşekkürlerimi ifade etmek isterim.

Yüksek lisans çalışmalarım sırasında, çocukken onlara yaşattığım öğrencilik dönemi “psikozu”nun öcünü güzelce ve hevesle alan iki oğluma; çeviride yardım eden oğlum Kadir AKAR’a, çalışmamda kullandığım grafik ve tabloların hazırlanmasında bana destek olan oğlum Meriç AKAR’a ve ayrıca redaksiyon ve çizelgelerde bana yardım eden kardeşim Özcan ÖZFENERCİ’ye çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	x
ŞEKİLLERİN LİSTESİ	xi
RESİMLERİN LİSTESİ	xiii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xiv
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Aromaterapi	3
2.1.1. Uçucu yağların kullanımı ve modern aromaterapinin tarihi	3
2.1.2. Aromaterapinin etki mekanizması.....	5
2.2. QS (Yeter Sayı/ Çoğunluğu Algılama)	6
2.2.1. QS'in tarihçesi.....	8
2.2.2. Bakterilerin QS stratejileri.....	10
2.3. Antibiyotik Direnci ve Evrimi	17
2.3.1. Antibiyotik direnci	18
2.3.2. Bakterilerin savunma mekanizmaları.....	20
2.4. Çalışmada Kullanılan Bakteriler	22
2.4.1. <i>Acinetobacter baumannii</i>	22
2.4.2. <i>Escherichia coli</i>	23
2.4.3. <i>Staphylococcus aureus</i>	23
2.4.4. <i>Basillus cereus</i>	24

	Sayfa
2.4.5. <i>Klebsiella oxytoca</i>	24
2.4.6. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	25
2.4.7. <i>Proteus mirabilis</i>	25
2.4.8. <i>Salmonella thypimurium</i>	26
2.4.9. <i>Serratia marcescens</i>	26
2.4.10. <i>Enterococcus faecalis</i>	26
2.4.11. <i>Micrococcus luteus</i>	27
2.4.12. <i>Staphylococcus epidermidis</i>	27
2.4.13. <i>Klebsiella pneumoniae</i>	28
2.5. Uçucu Yağlar ve Özellikleri	28
2.5.1. Uçucu yağların tarihçesi	28
2.5.2. Uçucu yağların özellikleri	28
2.5.3. Uçucu yağların içerikleri	31
2.5.4. Aromaterapötik uçucu yağların etki alanları	33
2.5.5. Uçucu yağlara karşı oluşan potansiyel bakteriyel direnç çalışmaları	34
2.6. Aromaterapötik Uçucu Yağlar ve Kullanım Alanları	35
2.6.1. <i>Cedrus atlantica</i> (Endl.) Manetti ex Carrière	35
2.6.2. <i>Citrus aurantium</i> var. <i>bergamia</i> (Risso & Poit.) Wight & Arn. ex Engl.	35
2.6.3. <i>Citrus limonum</i> (L.) Osbeck	36
2.6.4. <i>Citrus sinensis</i> (L.) Osbeck	37
2.6.5. <i>Eucalyptus globulus</i> Labill.	38
2.6.6. <i>Eugenia caryophyllus</i> Spreng. Bullock & S. Harrison	39
2.6.7. <i>Lavandula angustifolia</i> Mill.	40
2.6.8. <i>Melaleuca alternifolia</i> Maiden & Betcher	41
2.6.9. <i>Mentha piperita</i> L.	42
2.6.10. <i>Rosmarinus officinalis</i> L.	43

	Sayfa
2.6.11. <i>Thymus vulgaris</i> L.	44
3. GEREÇ VE YÖNTEM	45
3.1. Gereç	45
3.1.1. Uçucu yağların temini ve hazırlanması	45
3.1.2. Kullanılan uçucu yağ karışımları ve hazırlanışı	46
3.1.3. Kullanılan çözeltiler ve besi yerlerinin hazırlanışı	46
3.2. Yöntem	48
3.2.1. Uçucu yağ ve kombinasyonlarının antimikrobiyal etkileri	48
3.2.2. Uçucu yağ ve kombinasyonlarının anti-QS aktivitelerinin belirlenmesi	49
3.2.3. Yüzme (Swimming) ve Kayma (Swarming) hareketlerin inhibisyonunun tespiti	50
3.2.4. Anti-biyofilm aktivitenin belirlenmesi	50
4. BULGULAR	53
4.1. Uçucu Yağ ve Kombinasyonlarının Agar Difüzyon Yöntemiyle Antimikrobiyal Aktivitelerinin Belirlenmesi	53
4.2. Uçucu Yağ ve Kombinasyonlarının MİK Değerlerinin Belirlenmesi	58
4.3. Uçucu Yağ ve Kombinasyonlarının Anti-QS Aktivite Sonuçları	62
4.4. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> PA01 Suşunda Kayma (Swarming) ve Yüzme (Swimming) Hareketlerinin İnhibisyonu	65
4.5. Anti-Biyofilm Aktivite Sonuçları	69
5. TARTIŞMA	83
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	89
KAYNAKLAR	91
EKLER	101
EK-1. Bakteriler ve Uçucu Yağların Elde Edildiği Bitkiler	102
EK-2. Uçucu Yağların Özellikleri	108
ÖZGEÇMİŞ	113

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Bakteriler tarafından kullanılan farklı QS sistemleri.....	11
Çizelge 4.1. Uçucu yağ ve karışımlarının Gram-pozitif bakterilere karşı antimikrobiyal aktiviteleri.....	55
Çizelge 4.2. Uçucu yağ ve karışımlarının Gram-negatif bakterilere karşı antimikrobiyal aktiviteler	56
Çizelge 4.3. Gram-pozitif bakterilerde MİK değerleri	60
Çizelge 4.4. Gram-negatif bakterilerde MİK değerleri.....	61
Çizelge 4.5. Uçucu yağ ve karışımlarının <i>C. violaceum</i> 12472 biyosensör suşuna karşı oluşturdıkları zon çapları (mm). Anti QS aktiviteleri	63
Çizelge 4.6. Uçucu yağ ve karışımlarının <i>C. violaceum</i> 12472 suşunun kantitatif viyolasin üretimine karşı % inhibisyon değerleri	65
Çizelge 4.7. Swimming ve Swarming İnhibisyon test sonuçları	67
Çizelge 4.8. Uçucu yağ ve kombinasyonlarının Gram-pozitif bakterilerin biyofilm üretimine karşı % inhibisyon değerleri.....	70
Çizelge 4.9. Uçucu yağ ve kombinasyonlarının Gram-negatif bakterilerin biyofilm üretimine karşı % inhibisyon değerleri.....	76
Çizelge 4.10. Uçucu yağ ve kombinasyonlarının <i>Pseudomonas aeruginosa</i> biyosensör suşunun biyofilm üretimine karşı % inhibisyon değerleri.....	77

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Quorum sensing	7
Şekil 2.2. Quorum sensing	7
Şekil 2.3. <i>Vibrio fischeri</i> 'de QS mekanizması.....	9
Şekil 2.4. Gram-negatif bakterilerde QS sistemleri, modifiye edilmiştir	12
Şekil 2.5. Gram-pozitif bakterilerde QS sistemleri, modifiye edilmiştir.....	14
Şekil 2.6. Antibiyotik direncinin evrimi	18
Şekil 2.7. Terpenlerin temel izopren ünitesi	32
Şekil 2.8. Koku alma sistemi	33
Şekil 4.1. Gram-pozitif bakterilerde MİK değerleri grafiği.....	59
Şekil 4.2. Gram-negatif bakterilerde MİK değerleri grafiği	62
Şekil 4.3. Uçucu yağların ve karışımlarının <i>C. violaceum</i> 12472 biyosensör suşuna karşı oluşturdukları viyolasin inhibisyon zon çapları	64
Şekil 4.4. Uçucu yağ ve karışımlarının <i>C. violaceum</i> 12472 suşunun kantitatif viyolasin üretimine karşı % inhibisyon değerleri.....	65
Şekil 4.5. Uçucu yağ ve karışımlarının <i>Pseudomonas aeruginosa</i> PA01 biyosensör suşunun kayma (swarming) hareketi inhibisyon sonuçları	68
Şekil 4.6. Uçucu yağ ve karışımlarının <i>Pseudomonas aeruginosa</i> PA01 biyosensör suşunun yüzme (swimming) hareketi inhibisyon sonuçları	68
Şekil 4.7. Uçucu yağ ve kombinasyonlarının <i>B. cereus</i> ATCC 6633 suşu üzerinde anti-biyofilm etkisi	71
Şekil 4.8. Uçucu yağ ve kombinasyonlarının <i>S. epidermidis</i> wt suşu üzerinde anti-biyofilm etkisi	71
Şekil 4.9. Uçucu yağ ve kombinasyonlarının <i>S. aureus</i> ATCC 29213 suşu üzerinde anti-biyofilm etkisi	72
Şekil 4.10. Uçucu yağ ve kombinasyonlarının <i>E. faecalis</i> ATCC 29212 suşu üzerinde anti-biyofilm etkisi.....	72
Şekil 4.11. Uçucu yağ ve kombinasyonlarının <i>M. luteus</i> ATCC 7468 suşu üzerinde anti-biyofilm etkisi	73

Şekil	Sayfa
Şekil 4.12. Uçucu yağ ve kombinasyonlarının <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853 suşunun biyofilm üretimine karşı inhibitör etkisi	77
Şekil 4.13. Uçucu yağ ve kombinasyonlarının <i>E. coli</i> ATCC 25922 suşu üzerinde anti-biyofilm etkisi	78
Şekil 4.14. Uçucu yağ ve kombinasyonlarının <i>A. baumannii</i> ATCC 19606 suşu üzerinde anti-biyofilm etkisi	78
Şekil 4.15. Uçucu yağ ve kombinasyonlarının <i>K. pneumoniae</i> ATCC 700603 suşu üzerinde anti-biyofilm etkisi	79
Şekil 4.16. Uçucu yağ ve kombinasyonlarının <i>Salmonella thyphimurium</i> ATCC 14074 suşunun biyofilm üretimine karşı inhibitör etkisi.....	79
Şekil 4.17. Uçucu yağ ve kombinasyonlarının <i>Klebsiella oxytoca</i> ATCC 43165 suşunun biyofilm üretimine karşı inhibitör etkisi	80
Şekil 4.18. Uçucu yağ ve kombinasyonlarının <i>Proteus mirabilis</i> ATCC 7002 suşunun biyofilm üretimine karşı inhibitör etkisi	80
Şekil 4.19. Uçucu yağ ve kombinasyonlarının <i>Serratia marcescens</i> ATCC 27117 suşunun biyofilm üretimine karşı inhibitör etkisi	81

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 3.1. Firmadan satın alınan uçucu yağ örnekleri	45
Resim 4.1. Uçucu yağ ve karışımlarının Gram-pozitif bakterilere karşı antimikrobiyal aktiviteleri	55
Resim 4.2. Uçucu yağ ve karışımlarının Gram-negatif bakterilere karşı antimikrobiyal aktiviteleri	57

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler Açıklamalar

μL	Mikrolitre
α	Alfa
β	Beta
γ	Gama

Kısaltmalar Açıklamalar

AHL	Açıl Homoserine Lakton
AI	Auto Inducer (Aktivatör)
AIP	Auto Inducer Peptide (Aktivatör Peptid)
AMD	Antimikrobiyal Direnç
AQ	Alkil Kinolon
BHI	Brain Heart Infusion (Beyin Kalp İnfüzyonu)
DMSO	Dimetil Sülfoksit
DSF	Dağılabilir (Diffüz) Sinyal Faktörü
E	Epinefrin
EPS	Ekzopolisakkarit
MIK	Minimum İnhibitör Konsantrasyon
NE	Norepinefrin
PQS	Pseudomonas Kinolon Sinyali QS
QS	Quorum Sensing
TTO	Tea Tree Oil (Çay Ağacı Yağı)
UY	Uçucu Yağ

1. GİRİŞ

Toplumsal iş birliği, mikroorganizmalardan çok hücreli canlılara, yaşamın her alanında görülebilir. Bakteriler de bu iş birliğini sentezledikleri sinyal molekülleri sayesinde kurdukları iletişim sistemi ile çıkarlarını yöneterek başarırlar (Khan ve arkadaşları, 2009; Holm ve Vikström 2014). Quorum sensing (QS), bakterilerin bu sinyal molekülleri ile kendi aralarında hücre yoğunlukları hakkında bilgi paylaşımına ve gen ifadesini buna göre düzenlemelerine izin veren bir hücre-hücre iletişim sürecidir. Bu süreç bakterilerin tek başına başaramayacakları biyoluminesans, pigment üretimi, motilite, antibiyotik üretimi, sporulasyon, genetik yeterlilik gelişimi, biyofilm oluşumu, proteolitik enzim üretimi ve virülans faktörleri sekresyonu gibi patojeniteye neden olan işlemleri, kendi aralarındaki senkronizasyonla, kullanılan enerjiyi minimumda tutarak ve en az maliyetle yapmalarını sağlar (Rutherford ve Bassler, 2012).

Toplumda ve hastanelerde son on yılda antibiyotiklerin uygunsuz kullanımı nedeniyle günümüzde sadece tek bir ilaca değil, aynı zamanda birçok ilaca karşı dirençli olan bakteriler hızla yayılmaktadır. Bu durum dirençli bakterilere karşı yeni tedaviler bulma gereksinimini artırmaktadır (Yap ve arkadaşları, 2014). Tıbbi ve aromatik bitkilerden elde edilen uçucu yağlar terpen, aldehit, alkol, ester, fenol, eter ve ketonlar dahil olmak üzere farklı kimyasal sınıflara ait çok çeşitli fitokimyasalları içerirler ve son yıllarda tedavi stratejisi olarak bilim insanlarının ilgi alanına girmiştir (Fleitas-Martínez ve arkadaşları, 2018).

Mikroorganizmaların geliştirdiği QS'in keşfiyle, mikroorganizmalar üzerinde etkili olan, tamamlayıcı tedavide giderek yeri ve değeri artan tıbbi bitkiler ve onların sekonder metabolitleri üzerindeki çalışmalar artmaktadır. Bu çalışmada aromaterapide kullanılan on bir uçucu yağın; *Cedrus atlantica* (Endle), *Citrus aurantium* var. *bergamia* (Risso & Poit.) Wight & Arn. ex Engl, *Citrus limonum* (L.) Burm. f., *Citrus sinensis* L., *Eucalyptus globulus* Labill, *Eugenia caryophyllus* Spreng. Bullock & S. Harrison, *Lavandula angustifolia* Mill., *Melaleuca alternifolia* (Maiden & Betcher), *Mentha piperita* L., *Rosmarinus officinalis* L., *Thymus vulgaris* L. (linalol) ve aromaterapötik amaçla hazırlanan bazı uçucu yağ karışımlarından ağız ve boğaz enfeksiyonları için Gargara (GX) ve tırnak Mantarı tedavisi için hazırlanan (MX)'in antimikrobiyal, anti-biyofilm, anti-QS etkileri araştırılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Aromaterapi

Aromaterapi, adını koku ve tedavi anlamına gelen kelimelerden alır. Kişinin beden ve zihnini iyileştirmenin doğal bir yoludur. Aromaterapi tıbbi ve aromatik bitkilerin çiçek, yaprak, sap, meyve, kök ve reçinelerinden damıtılan uçucu yağları kullanır. Bu uçucu yağlar bitkilerde bulunan salgı bezi, cep, rezervuar, özel hücreler ve hücreler arası boşluklarda bulunurlar. Aromaterapi uçucu yağların solunum, cilt yolu ve nadiren de olsa içilerek kan dolaşımına katılmasını temin eden uygun dozdaki karışımların hazırlandığı ve uygulandığı bir tedavi sanatıdır.

Son yıllarda konvansiyonel ve tamamlayıcı tedavilerin birlikte kullanımındaki artış bu tedavilerden birisi olan ve uçucu yağları terapötik olarak kullanan aromaterapinin de popülerliğini artırmıştır.

2.1.1. Uçucu yağların kullanımı ve modern aromaterapinin tarihi

Uçucu yağların kullanımı yaklaşık 6000 yıllık bir geçmişe sahiptir. Tıbbi ve aromatik bitkiler antik çağlardan beri kendi gücünü ve varlığını farketmek üzere kullanıldığı gibi, bitki ve ağaçları yakarak gökteki tanrılara ulaşmak; yiyeceklere lezzet ve aroma vermek, daha sonra da hastalıklardan korunmak ve tedavi etmek amacıyla kullanılmışlardır. Mısır'da Edfu tapınağında bulunan bir laboratuvarın duvarlarında sayısız parfüm reçetesine rastlanmıştır. Bazı kaynaklarda uçucu yağların, alkol ve damıtma yöntemleri bilinmediği için, değişik çiçeklerin maserasyonunun tapınak rahiplerince büyük bir gizlilik içerisinde üretildiği ve bu uçucu yağların terapötik olarak ve mumyaların uzun süre korunmasında kullanıldığı ifade edilmektedir (Hurton, 1995:12,31; Yentürk ve arkadaşları, 2005:7, 87).

Ortaçağ Avrupa'sında özellikle manastırlarda bulunan bahçelerde yetiştirilen tıbbi ve aromatik bitkilerin kullanımı ile ilgili çalışmaların yapıldığı bilinmektedir. Almanya'da manastır bahçelerinde uçucu yağ taşıyan ve tedavide kullanılan fesleğen, rezene, iris, nane gibi bitkilerin yetiştirilmesi konusunda çıkarılan bir kanunla bu tür bitkiler uzunca bir süre farmasötik amaçla yetiştirilmiştir. 1500 yılında Strazburg'da alkol ve damıtmayla ilgili yapılan tüm çalışmaları içeren, her cins damıtma aparatının çizimi ve çiçeklerden uçucu yağ

elde etme tekniklerini içeren bir kitap yayınlanmış ve bu kitap 16. yy boyunca içeriği genişletilerek birçok kez basılmıştır. 19. yy'da parfüm ve koku alanında yeni gelişmeler yaşanırken, 1830'lardan başlayarak uçucu yağların etken maddeleri üzerinde izolasyon çalışmaları artmıştır. Osmanlı döneminde ise özellikle İstanbul'da yaşamın her alanında uçucu yağlar kullanılmıştır. Aydınlanmak için yakılan mumlarda, mürekkep hokkalarında, misafirin elini yıkaması için verilen ibriklerdeki suda hep kokulu maddeler olmuştur. Özel günlerde buhur suları serpilmiş, gülâbdan denen sanat eseri kaplardan gül suları dökülmüştür (Yentürk ve arkadaşları, 2005:7, 87).

Bitkilerden elde edilen uçucu yağların iyileştirici gücü bilinmekle birlikte "aromaterapi" terimini ilk olarak, Fransız kimyacı Dr. Rene-Maurice Gattefosse kullanmıştır (1881-1951), (Herz, 2009). Parfüm işiyle ilgilenen bir aileden gelen ve kendisi de uçucu yağlar ile çalışan Gattefosse 19. yy başlarında, laboratuvarında yanan elini, masa üstünde duran, içi lavanta yağı ile dolu olan bir kaba su zannederek daldırmıştır. Ağrının azaldığını farkedenden bilim insanı, günde birkaç kez elini lavanta yağına daldırarak, elindeki enflamasyon ve enfeksiyonun hızla azaldığını, hatta yaranın iz bırakmadan iyileştiğini gözlemlemiştir. Gattefosse bu tecrübeyle aromaterapiye adım atmıştır. Tıp doktorlarının vakalarını paylaştığı *Aromaterapie: 'Esansiyel Yağlar-Bitkisel Hormonlar'* adlı eserini Fransa'da 1937'de yayınlamıştır. El yazmaları Jeanne Rose tarafından, İngilizceye çevrilmiş ve Robert Tisserand tarafından 1993'te İngilizce olarak yayınlanmıştır. Gattefosse'nin öğrencisi olan Dr. Jean Valnet (1920-1995) cerrahi asistanı olarak görev yaptığı II. Dünya Savaşı sırasında uçucu yağları yöneticilerin bilgisiyle etkin bir şekilde kullanarak, savaş yaraları ve kangreni tedavi etmek amacıyla, kekik, limon, karanfil, papatya uçucu yağlarını uygulamıştır (Rehman ve Asif-Hanif, 2016). Tedavide etkin sonuçlara rağmen dönemin konvansiyonel tıp savunucuları, Dr. Valnet'in doktorluk ünvanını iptal etmiş, fakat aromaterapi ile tedavi gören ve iyileşen dönemin Sağlık Bakanı ve yetkililerinin çabalarıyla doktorluk ünvanını yeniden alarak aromaterapi ile tedavi ve araştırmalarına devam etmiştir (Ali ve arkadaşları, 2015). Dr. Valnet'in 1964'te yazdığı '*Aromaterapi'de Uygulamalar*' adlı kitabı pek çok vaka içeren referans bir kitap olarak kabul edilmiştir. Fransa'da cerrahi hemşiresi olarak çalışırken aromaterapi ile tanışan Marguerite Maury (1895-1968) ise uçucu yağları klinik kullanımlarına göre "cerrahi, radyoloji, dermatoloji, jinekoloji, genel tıp, psikiyatri, spa tedavileri, fizyoterapi, spor ve kozmetik uygulamalar" olmak üzere sınıflandırmıştır. Maury uçucu yağların cilt üzerindeki etkileri ile ilgili yaptığı çalışmaların yer aldığı kitabını 1961'de yazmış, kitap 3 yıl sonra '*Yaşam ve Gençliğin Sırları*' adıyla İngilizce'ye

çevrildikten sonra uluslararası ödül kazanmıştır. Bu üç önemli aromaterapi öncüsünün yanı sıra Robert Tisserand 1974 yılında ‘Aromaterapi Yağ Şirketi’ni kurmuş, 1977’de yazdığı ‘Aromaterapi Sanatı’ kitabı ilgilenenler için referans kitabı olmuştur. 1988’de Tisserand Enstitüsü’nü kurmuş, 1995’te ‘Uçucu Yağların Güvenliği’ ile ilgili başka bir kitap çıkarmıştır. Price uçucu yağları İngiltere’de günlük kullanılan bir ifade haline getirerek tıp ve hastabakıcı topluluğunun dikkatini çekmeyi başarmıştır. Almanya, Fransa, ABD ve İngiltere’de daha bir çok araştırmacı klinik alandaki çalışmalarıyla takip edilmişlerdir (Ali ve arkadaşları, 2015).

2.1.2. Aromaterapinin etki mekanizması

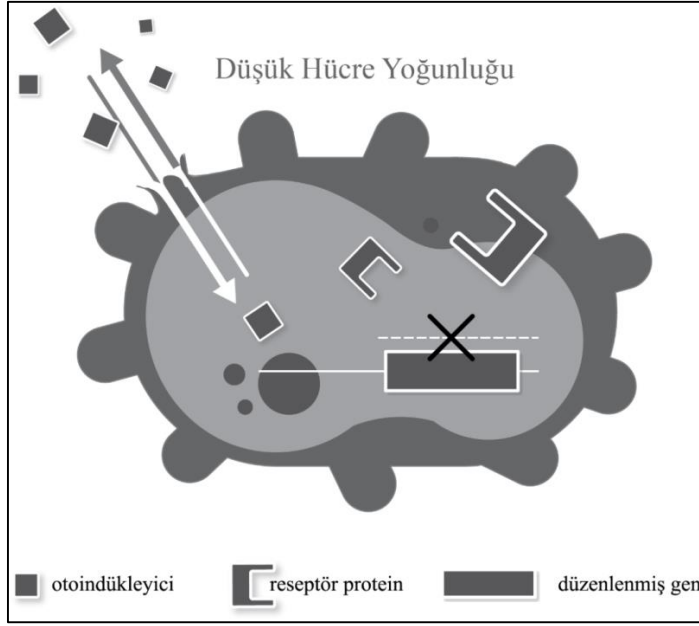
Yapılan çalışmalarla beş duyu içerisinde koku alma duyusunun, hayatta kalma şansını artırmak üzere evrimleştiği ve günümüze dek büyük oranda gelişmiş yapısını koruduğu ifade edilmiştir (Fidan, 2018). Koku bilgileri diğer duylarda olduğunun tersine talamusa uğramadan, kokunun duygusal ve fizyolojik etkilerine aracılık eden limbik alanlara, feromonlara hormonal ve tavırsal tepkiler üretmek üzere iletilir (Fidan, 2018). Diğer duyu sistemlerinden gelen bilgiler serebral kortekse yönlendirilmeden önce talamusta işlenirken, koku duyusu doğrudan limbik sistemin amigdala hipokampal kompleksinde işlenir. Diğer duylar ile koku duyusu arasındaki bu farklılık koku duyusunun bilinçli bir farkındalık olmaksızın organizmanın otomatik davranış şekilleri geliştirmesine sebep olur. Duyguyu yöneten ve duygusal hafıza için kritik olan amigdaladan primer koku korteksini ayıran sadece iki sinaps vardır. Primer koku korteksini hipokampüsten ayıran ise yalnızca üç sinaps vardır ki bunlar bilgi seçimi ve iletimini, kısa ve uzun süreli hafıza işlemlerini ve çeşitli bildirimsel hafıza fonksiyonlarını yönetmekten sorumlu bölgeye anatomik olarak oldukça yakındır. Bu dolaysız bağlantılar kokunun duygusal yoğunluk içeren bir bağlamda deneyimlendiğinde koku ile olay arasındaki bağlantının daha güçlü olmasına ve koku yeniden deneyimlendiğinde yoğun duyguların ortaya çıkmasına sebep olur. Aromaterapi tedavide beynin bu hatırlama özelliğini de kullanır (Fidan, 2018).

Uçucu yağlar çiçek, yaprak, gövde, kabuk, kök, meyve, reçine gibi bitkinin farklı kısımlarından su, buhar ve vakum distilasyonu; çözücü ekstraksiyonu, süper kritik sıvı ekstraksiyonu, mikrodalga, basınç altında ekspresyon, anfloraj ve meyve kabuklarından sıkma gibi farklı yöntemlerle elde edilirler (Edris, 2007). Tıbbi aromatik bitkilerden elde edilen uçucu yağlar vücuda olfaktör sistem yoluyla inhale edilerek, cilt yüzeyinden masaj ya

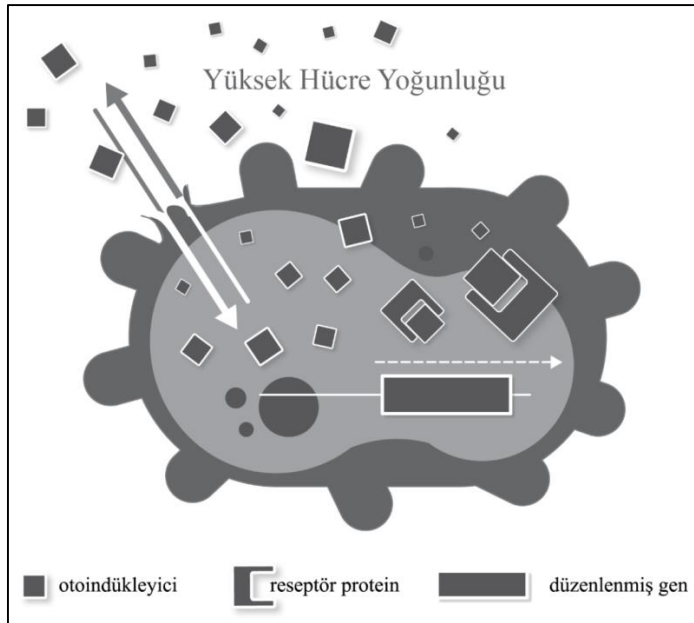
da banyo ile, ağız mukozası ve diğer mukozalar yoluyla uygulanır (Shibamoto ve arkadaşları, 2010).

2.2. QS (Yeter Sayı/ Çoğunluğu Algılama)

Quorum sensing, (QS) bakterilerin hücre yoğunluğuna ve ortama göre davranışlarını kolektif olarak uyarlamak için iletişim molekülleri ile kurdukları moleküler bir mekanizmadır (Remy ve arkadaşları, 2018). QS kullanan bakteri türlerinde her bir hücre, düşük hücre yoğunluğunda bazal miktarda iletişim molekülü salgılar. Bu sinyal molekülleri istekli ve gönüllü iki taraf arasındaki bilgi alışverişidir (Mullard, 2009). Başka bir deyişle bu sistemden yararlanmak için bir iletişim molekülünün hem göndericisi hem de alıcısının sinyalleme özelliğinin olması gerekmektedir. Hücre yoğunluğu arttıkça, hücrelerin birbirinden çok uzak olmaması koşuluyla iletişim molekülü konsantrasyonu da artar (Şekil 2.1 ve Şekil 2.2). Haberleşme molekülleri, konsantrasyonları belli bir eşiği aştığında özel alıcılara bağlanır. Bu da fizyolojik cevabı üretir (Lazdunski ve arkadaşları, 2004). Bağışıklık sistemlerine sahip olan insan ve diğer memelilerin aksine, bitkilerin işgalci patojenlere karşı kendilerini savunmak için bu tür karmaşık bağışıklıklardan yoksun oldukları, dolayısıyla hücrel ve biyokimyasal savunma sistemlerine güvenmek yerine, anti-QS bileşikleri için evrimleşmiş olabilecekleri tahmin edilmektedir (Koh ve arkadaşları, 2013). Bu iletişim sistemi bakterilerin düşük hücre yoğunluğunda maliyetli ve etkisiz olan ancak tüm topluluk için virulans faktörü sentezi, biyofilm oluşumu, proteaz ve siderofor üretimi gibi yüksek hücre yoğunluğunda yararlı hale gelen işlemleri gerçekleştirmesini sağlar (Remy ve arkadaşları, 2018). QS bakterilerin münferit hücreler için imkânsız olan savunma, bağışıklık sistemlerini altetme ve daha yüksek organizmalarda enfeksiyonlar oluşturma görevlerini yerine getirmek için bir topluluk olarak davranmasına izin verir (Holm ve Vikström 2014).



Şekil 2.1. Quorum sensing (Düşük hücre yoğunluğunda)



Şekil 2.2. Quorum sensing (Yüksek hücre yoğunluğunda)

QS'in immun tepkileri en aza indirmek için patojenik bakteri mekanizmasının, yeterli çoğunluk oluşuncaya kadar dokuya zarar veren virulans faktörlerinin üretimini geciktirip, bu suretle konakçının savunma mekanizmasını aşır, enfeksiyon oluşturmaya hazır hale gelmesini sağladığı düşünülmektedir (Deep ve arkadaşları, 2011). QS, birçok bakteri için yaşamsal bir süreçtir, mikroorganizma-mikroorganizma ve konakçı-mikroorganizma etkileşimleri dahil olmak üzere, farklı ortamlarda çeşitli davranışları koordine etmek ve senkronize etmek için mikroorganizmalar QS sinyallerini kullanırlar (Papenfort ve Bassler,

2016). Verilen bir QS sinyali için bir eşik konsantrasyona, yani bir eşik popülasyon yoğunluğuna ulaşıldığında sinyal algılanabilir ve hedef genlerin ekspresyonu düzenlenir (Grandclément ve arkadaşları, 2015).

Yeni genlerin ifadesine neden olan QS'in, mikroorganizmaların gen ekspresyonunu koordine edip, patojenite ve antibiyotik direnci dahil olmak üzere birçok aktiviteyi düzenlediği bilinmektedir (Bouyahya ve arkadaşları, 2017). QS, düzenlenmiş fenotiplerin, adezyon ve biyofilm oluşumu için gerekli olan ekzopolisakkaritlerin, hücre dışı hidrolitik enzimlerin üretimini ve antibiyotik bileşiklerinin üretimini içerir. Bu fenotipler kolonizasyona, besin alımına ve toplu savunmaya yardımcı olurlar. En temel haliyle bir QS sistemi, bir sinyal sentaz proteinini kodlayan bir geni, sinyal sentaz tarafından üretilen bir kimyasal sinyali ve sinyalin yoğunluğuna bağlı olarak sinyali aktifleştirebilen cevap düzenlemeyi kodlayan bir geni içerir (Hmelo, 2017). Genel olarak QS sinyallerini inaktive eden enzimlere Quorum quenching enzimleri adı verilirken, QS yollarını bozan maddelere QS inhibitörleri denir (Grandclément ve arkadaşları, 2015).

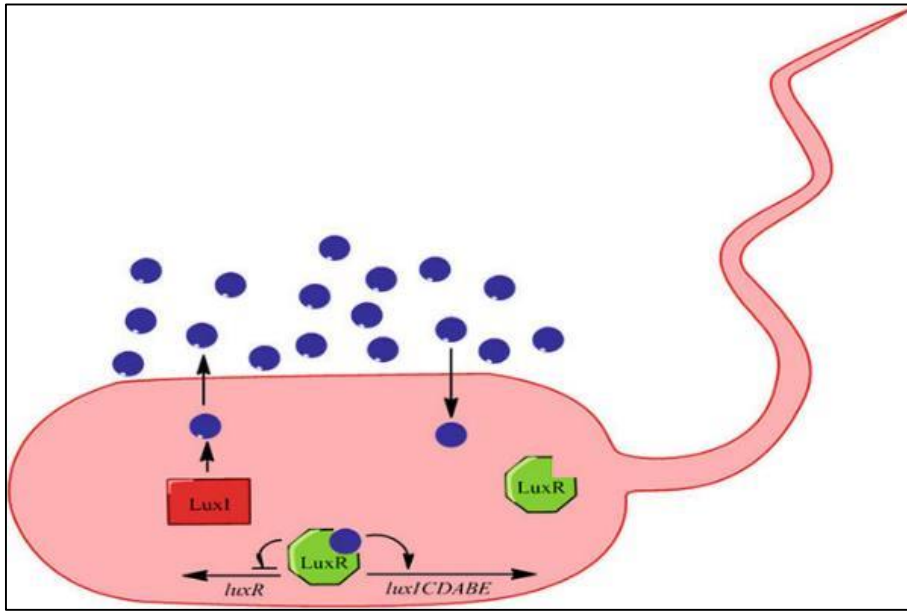
2.2.1. QS'in tarihçesi

Prokaryotlar ve ökaryotlar uzun yıllar boyunca bir arada yaşamışlar ve bu süre zarfında diğer tarafın ürettiği ve serbest bıraktığı sinyallere maruz kalmışlardır. İki krallığın organizmaları, aynı zamanda QS sinyalleri de dahil olmak üzere, çeşitli moleküllerin gen ifadesi ve davranışını, alem içi sinyalleşmeyi bir süreçte etkilemek için algılamayı öğrenmişlerdir (Holm ve Vikström, 2014).

Uzun bir süre bakterilerin her şeyden önce besin bulmayı ve çoğalmayı hedefleyen tek tek hücreler olarak varoldukları sanılıyordu (Bosgelmez, 2013). Bugün ise bireysel değil, canlı kalmak için grup olma özellikleri taşıdıkları bilinmektedir. Mikrobiyologlar kırk yıldan uzun bir süre önce, bakterilerin toplu tavrıyla çevre koşullarını değiştirebildiklerini göstermişlerdir. Gram-negatif bir deniz bakterisi olan ve denizde ışımaya yapan *Vibrio fischeri* sıvı kültürlerde yetiştirilmiş ve bu üretildikleri besi ortamında bakteri sayısının çok fazla olduğu yoğunluklarda bir çeşit ışımaya olan biyoluminesans olayına neden olduğu gösterilmiştir. 1968 yılında bu olayla ilgili ilk açıklamalar, "kültür ortamının bir biyoluminesans inhibitörü içerdiği ve bakterilerin ancak ortamda popülasyon yoğunluğunu artırarak, bu inhibitörü ortamdan uzaklaştırabildikleri" şeklindeydi. 1970'li yıllarda luminesans olayının bir inhibitör maddenin ortamdan

uzaklaştırılması yoluyla değil de, bir aktivatör molekülün (= otoinducer) birikerek artması sonucu meydana geldiği gösterilmiştir. Bu molekül bakteriler tarafından üretilmektedir ve yeterli konsantrasyon düzeyine ulaştığında luminesansı aktive etmektedir. İlgili bakteriler otoinducer maddelerin konsantrasyonunu izleyerek hücre yoğunluğunu algılayabilmektedirler. Bu şekilde hücre yoğunluğunu algılama mekanizmasına “quorum-sensing (QS)” denilmektedir (Poli ve arkadaşları, 2018).

1983’de *V. fischeri*’ye ait QS mekanizması için gerekli olan genlerin analizi ilk kez Engebrech ve ark. tarafından yapılmıştır. Onlar ışık üretim fenomenini ayrıntılı olarak araştırmışlar ve lusiferaz geninin aktivasyonunun bakterilerde üretimden sorumlu olduğunu belirtmişlerdir (Banerjee ve Ray, 2017). Bu çalışma, bugün diğer QS sistemlerine örnek teşkil eden, *V. fischeri*’deki QS mekanizmasının esas modelini ortaya çıkarmıştır (Şekil 3.3).



Şekil 2.3. *Vibrio fischeri*’de QS mekanizması (Mohammad ve Hassan, 2018)

Bunu takip eden yıllarda, AHL (Açıl homoserin lakton)’ye bağlı çalışan QS mekanizmalarının sadece *V. fischeri* ve *Vibrio harveyi* gibi deniz bakterileriyle sınırlı olduğu düşünülmüştür. Ancak Nottingham ve Warwick’te yürütülen antibiyotik senteziyle ilgili araştırmalar, QS mekanizmasının düşünüldüğünden çok daha fazla geniş alana yayıldığını ortaya çıkarmıştır. 1991 ‘de Gambello ve Iglewski insan patojeni *Pseudomonas aeruginosa*’nın da *V. fischeri* benzeri QS mekanizmasını kullandığını keşfetmişlerdir. Ancak burada mekanizma ışık oluşumu için değil önemli bir virülans faktör olan “elastaz”ın üretimini düzenlemek içindir (Poli ve arkadaşları, 2018). *P. aeruginosa* ve *V. harveyi* de

dahil olmak üzere diğer türlerde çeşitli homolog AHL sistemleri keşfedilmiştir. Her organizma, genellikle yağ asidi zincirinin uzunluğu bakımından farklı olan farklı bir AHL molekülü üretir. Genel olarak organizmalar sadece ürettikleri AHL molekülünü tanırlar ve böylece her AHL sistemi türe özgü olarak kabul edilir (Stephens ve Bentley 2020).

2.2.2. Bakterilerin QS stratejileri

Mikroorganizmaların QS davranışlarını doğru şekilde yerine getirebilmeleri için hücre dışı kimyasal bilgileri saptamaları, değerlendirmeleri ve entegre etmeleri ve bu bilgiyi gen ifadesi/ekspresyonu değişikliklerine dönüştürmeleri gerekir. Bunu başarmaları için birkaç otoindükleyiciyi kombine, özel işbirliği ile kullanmaları gerekir. Ayrıca, içsel gürültü nedeniyle (transkript veya protein sayısındaki değişimler nedeniyle), dışsal değişiklikler (sıcaklık, pH, ozmolarite vb.) ya da rekabet içindeki bakterilerin otoindükleyici katkısı sağlamaları veya oto indükleyicileri tüketmeleri durumunda bilgi bozulabilir ve bu özelliklerden her biri için telafi gerekir. Sistem biyolojisi yaklaşımları, yeter sayı algılama içinde bu sorunları aşabilen ortak ağ bağlantısı tasarım ilkeleri ortaya çıkarmıştır. Bakteriyel QS ağ bağlantılarının temelinde yatan ilkelerin daha yüksek organizmalardaki toplu davranış sistemleri için de yaşamsal bir öneme sahip olmaları olasıdır (Papenfort ve Bassler, 2016). Bakteriler bu ağ sayesinde düşük hücre yoğunluklarında tek hücreli organizmalar olarak davranırlarken, nüfus yoğunluklarının bir eşik seviyesine ulaştığını algıladıklarında davranışlarını “çok hücreli” türüne kaydardıkları bilinmektedir. Metabolizma ve diğer aktivitelerini düzenlemek, dahili ve harici stresin farklı durumlarına cevap verebilmek; yaşadıkları ortama uyum sağlamak ve o ortamda başarılı olabilmek için fenotiplerini değiştirmek üzere evrim yoluyla farklı, karmaşık yöntemler geliştirmişlerdir. Bakteriler farklı fenotipler için genleri, özellikle de virulan davranışlarından sorumlu olanları ifade etmelerini sağlayan küçük sinyal molekülleri aracılığıyla iletişim kurmaktadır (Kalia, 2013). QS temel olarak 4 aşamada gerçekleşir: 1- Bakteri hücresi tarafından küçük biyokimyasal sinyal moleküllerinin üretimi; 2- Sinyal moleküllerinin aktif ve pasif olarak çevreye verilmesi; 3- Sinyal moleküllerinin eşik konsantrasyona ulaştığında spesifik reseptörler tarafından tanınması; 4- Gen regülasyonunda oluşan değişiklikler (Sifri, 2008).

Çizelge 2.1. Bakteriler tarafından kullanılan farklı QS sistemleri

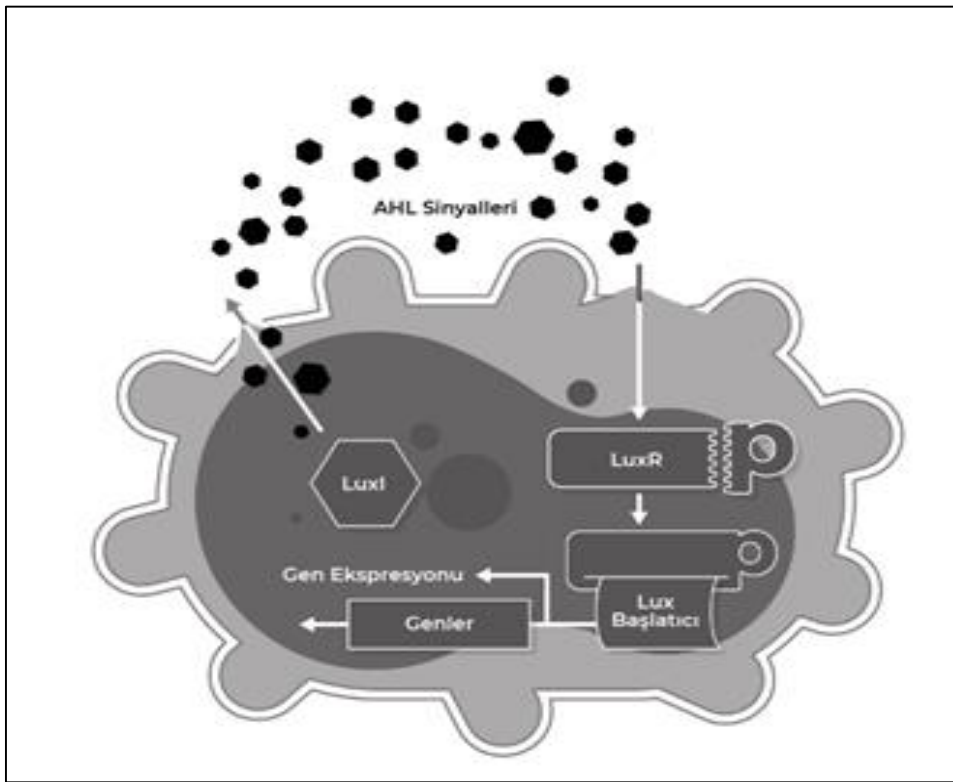
Açıl Homoserin Lakton (AHL).	Gram-negatif bakterilerin sinyal molekülü.	(Papenfort ve Bassler, 2016).
Oligopeptitler.	Gram-pozitif bakterilerin kullandıkları sinyalizasyon yöntemi.	(Papenfort ve Bassler, 2016).
AI-2 (Otoaktivatör-2) (AI-2) sistemleri,	Hem Gram-pozitif, hem de Gram-negatif bakterilerin kullandıkları sinyalizasyon yöntemi.	(Papenfort ve Bassler, 2016).
AI-3 (Otoaktivatör-3) Sistemleri,	Bazı bakterilerde görülen, daha az karakterize edilmiş diğer sinyal molekülleridir. Epinefrin ve norepinefrin sinyalleri kullanılır.	(Gala ve Desai, 2014).
Pseudomonas kinolon sinyali (PQS)	<i>P.aeruginosa</i> tarafından üretilen virülans faktörlerinden birisi piyosiyanın'dır. Bu biyolojik zarlara kolayca nüfuz edebilen ve hava yolu epitel hücrelerinde iyon taşınması, mukus sekresyonunun düzenlenmesine müdahale eden, ayrıca konakçı hücrelerde oksidatif stresi arttıran bir bileşiktir.	(LaSarre ve Federle, 2013).
Dağılabilir (Diffüz) sinyal faktörü (DSF)	Cis-2-doymamış yağ asitleridir. (EPS) ve hücre dışı enzimleri kodlayan genler ve virülans genlerinin ekspresyonu dahil olmak üzere bakteriyel patojenlerde bir dizi biyolojik fonksiyonun düzenlenmesinde rol oynar.	(LaSarre ve Federle, 2013)

AHL tabanlı QS

Bakterilerde hücreden hücreye yapılan haberleşme sistemlerinin en iyi karakterize edilmiş olanı açıl homoserin lakton yoluyla QS'tir. En çok bilinen *P. aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella sp.*, *Enterobacter sp.*, *Acinetobacter* türleri, olmak üzere AHL kullandığı bilinen 70'in üzerinde Gram-negatif bakteri türü vardır (Bouyahya ve arkadaşları, 2017). Gram-negatif bakterilerde bir dış ve bir iç zar içeren hücre zarfı, hücrenin hücre dışı toksik bileşiklere karşı korunmasını sağlayan kompleks yapıda bir makromolekül düzeneği bulunur. Gram-negatif bakterilerin dış membranı seçici bir bariyer olarak onlara fazladan bir koruma tabakası sağlamada çok önemli bir rol oynar. Lipopolisakkarit (LPS) Gram-negatif bakterilerin dış zarının ana bileşenidir. LPS bakterilerin yapısal bütünlüğüne büyük ölçüde katkıda bulunur. Bakteriyel peptidoglikan tabakasını içeren lipopolisakkarit varlığının hidrofobik bileşiklerin sitoplazmaya difüzyonunu kısıtladığı varsayılarak, uçucu yağların Gram-pozitif bakterilere karşı, Gram-negatif bakterilere olduğundan daha etkili olduğu gösterilmiştir (Yap ve arkadaşları, 2014).

Gram-negatif bakteriler tipik olarak, biyoluminesans deniz bakterisi olan *V. fischeri*' deki gibi LuxI/LuxR tipi QS sistemleri kullanır (Rutherford ve Bassler 2012). Küçük boyutu ve lipofilik karakteri nedeniyle AHL hücre zarları boyunca serbestçe yayılır (Sifri, 2008). Yeterince yüksek konsantrasyonda bu moleküller bir transkripsiyon aktivatörü veya R

proteini ile bağlanabilir ve aktive edebilirler ki bu da hedef genlerin ekspresyonunu indükler (De Kievit ve Iglewski, 2000). Yüksek konsantrasyonda taşıma pasif difüzyon yoluyla gerçekleştirilir. AHL konsantrasyonu bir eşiğe ulaştığında (Quorum state) AHL'nin indükleyici molekülleri genellikle transkripsiyonel regülatör olarak bilinen düzenleyici bir protein olan R ile etkileşime girer. (Şekil 2.4) R-AHL kompleksi hedef genlerin promotörüne (Promotör, biyolojide genlerin transkripsiyonunu başlatan, DNA parçasıdır.) bağlanır ve transkripsiyonunu bakteri yoğunluğuna bağlı olarak başlatır (Bouyahya ve arkadaşları, 2017).



Şekil 2.4. Gram-negatif bakterilerde QS sistemleri, modifiye edilmiştir (Ganesh ve Rai, 2018)

Gram-negatif bakteriler üzerinde yapılan çalışmaların en önemli rol modeli *P. aeruginosa*'dır. Bu, minimal besin kaynağı dahil olmak üzere olumsuz çevresel koşullarına adapte olabilen ve hayatta kalabilen; antimikrobiyal tedavilerin ilerlemesine rağmen enfeksiyonları hala %18 ile %61 arasında mortaliteye sahip olan, Gram-negatif bir basildir (Artini ve arkadaşları, 2018).

P. aeruginosa öncelikle kanserli, AIDS veya kistik fibrozis'li hastalarda, yanıkları olan, ayrıca immun sistemi baskılanmış hastalarda inatçı enfeksiyonlara sebep olan, fırsatçı bir insan patojenidir. Kateterler, kalp kapakları ve diş protezleri gibi vücut içi tıbbi cihazlarda

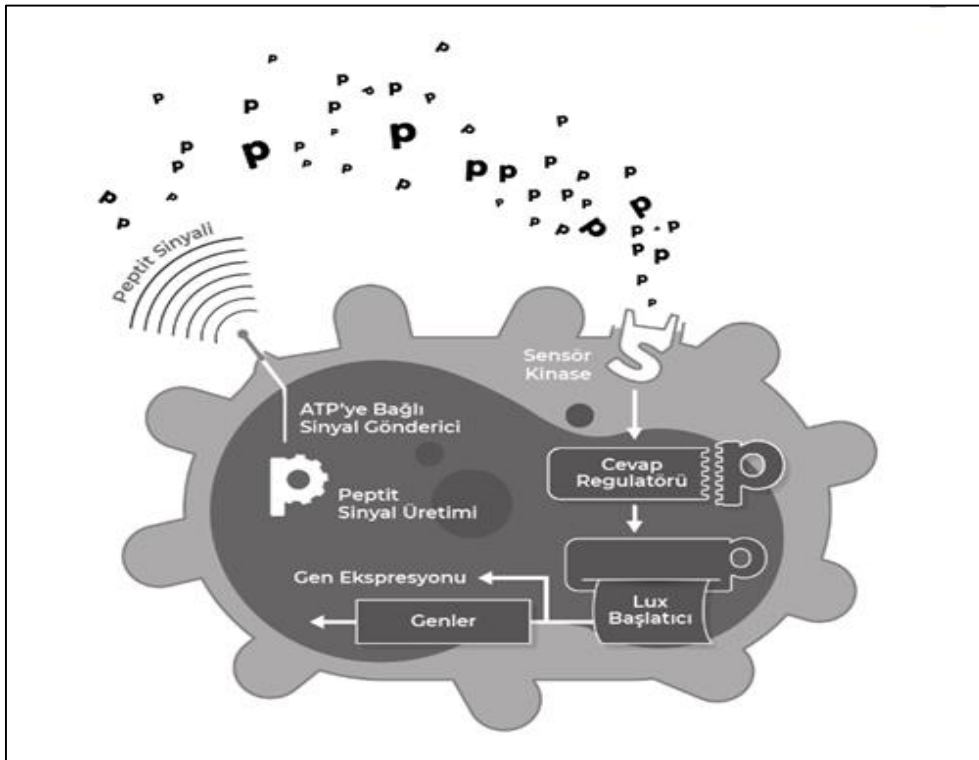
da kolonize olarak biyofilmler oluşturur (De Kievit ve Iglewski, 2000). *P. aeruginosa*'nın başarılı bir fırsatçı patojen olmasının nedenlerinden birisi oldukça geniş yelpazede ürettiği virülans faktörleridir. Bu virülans faktörleri arasında elastaz, alkali proteaz, hemolizin, siyanid, piyosiyenin ve ekzotoksin-A sayılabilir (Bosgelmez, 2013). *P. aeruginosa* düşük zar geçirgenliği ve direnç mekanizmaları nedeniyle doğal olarak birçok antibiyotiğe dirençlidir. Ayrıca modifiye virülans faktörleri ile klinik suşların ortaya çıkması tedaviyi güçleştirmektedir (Ganesh ve Rai, 2016). AHL'ler birçok Gram-negatif bakteride QS sinyal molekülleri olarak kullanılır. AHL aracılı QS sistemleri iki bileşen gerektirir. AHL'lerin oluşumunu katalizleyen bir sinyal üretici (LuxI homologu) ve hedef QS aracılı genlerin transkripsiyonunu düzenlemek için AHL-reseptör kompleksi oluşturan AHL'lere bağlanabilen bir tepki regülatörü (LuxR homologu). Bakteriyel QS, bakteriyel virülansı hafifletmek ve böylece QS sinyallerini parçalayarak veya LuxR homolog protein üzerindeki sinyal moleküllerinin algılanmasını keserek enfeksiyonu kontrol etmek için terapötik hedef olarak kabul edilmiştir (Chang ve arkadaşları, 2014).

Oligopeptit tabanlı QS

Staphylococcus aureus, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis*, gibi birçok Gram-pozitif organizmanın QS sistemlerini kullandığı bilinmektedir. Gram-pozitif bakteriler, LuxI veya LuxR homologlarını barındırmazlar ve bunun yerine autoinducer (AI) moleküller olarak modifiye edilmiş oligopeptitleri kullanırlar. Bu peptid sinyallerinin saptanması hücrenin yüzeyinde veya hücre içinde meydana gelebilir (LaSarre ve Federle, 2013). Gram-pozitif bakteriler peptid sinyallerinin hücre dışı seviyelerini algılayarak sosyal davranışları koordine ederler (Thoendel ve Horswill, 2010).

Peptid sinyalleri ile AHL'ler arasındaki en önemli fark peptitlerin genel olarak hücreye geri yayılmak yerine, hücre yüzeyindeki reseptörlere bağlanmasıdır. Peptid sinyalleri iki bileşenli sensör kinazlar tarafından tespit edilir ve bir dizi fosforilasyon/defosforilasyon reaksiyonu başlatılır. Sonunda fosforile yanıt regülatörü aktive edildiğinde hedef genin transkripsiyonunu etkilemek için DNA'ya bağlanır (Annous ve arkadaşları, 2009). Gram-pozitif bakterilerde QS diğer sistemlere özgü prensiplere dayanır: üretim, saptama ve AI'lere yanıt. Gram-pozitif bakteride AI'ler membrana bağlı iki bileşenli sinyal iletim sistemleri ile algılanan oligopeptit AIP'lerdir. AIP'ler öncü olarak kodlanır, sekans ve yapı bakımından farklıdır (Rutherford ve Bassler, 2012). Bu iki bileşenli algılama sistemini oluşturan

proteinlerden biri hücre zarına yerleşmiş olan bir histidin kinazdır. Diğeri ise histidin kinazın aktif olmasına bağlı olarak çalışan bir transkripsiyon faktörüdür. Salgılanan sinyal molekülü miktarı eşik değere ulaştığı zaman hücre yüzeyindeki alıcı bölgeler ile sinyal molekülü etkileşimi sonucunda histidin kinaz proteinleri aktifleşir. Bu şekilde aktifleşen yüzey proteinleri sistemin ikincil bileşeni olan transkripsiyon faktörü proteini fosforlayarak aktifleştirir (Şekil 2.5) Böylece QS mekanizmasına bağlı davranışların gerçekleşmesi sağlanır (Yılmaz-Yıldiran ve arkadaşları, 2015).



Şekil 2.5. Gram-pozitif bakterilerde QS sistemleri, modifiye edilmiştir (Ganesh ve Rai 2018)

Oto Aktivatör-2 tabanlı QS

Bu sistem hem Gram-negatif bakterilerde hem de Gram-pozitif bakterilerde bulunur. Hibrit sistem de denmektedir. Bazı özellikleri bakımından LuxI/LuxR sistemine, bazı özellikleriyle de oligopeptit sistemine benzerlik göstermektedir. Oto Aktivatör-2 (Autoinducer-2, AI-2) üretimi, *Salmonella typhimurium* veya *Vibrio cholerae* gibi patojenler ve *Hypertermophile acheron*, *Pyrococcus furiosus* dahil olmak üzere (Grandclément ve arkadaşları, 2015). Bu sistemde iki çeşit sinyal molekülü kullanılır. Birincisi Gram-negatif bakterilerde görülen AHL türevleridir. İkinci sinyal molekülü ise furan türevlerinden oluşur. Sinyal molekülleri diğer sistemlerde olduğu gibi belli eşik değere ulaştığı zaman hücreler tarafından algılanır.

Algılama sisteminde her iki sinyal molekülü oligopeptit sistemine benzer şekilde, hücre zarında yer alan iki bileşenli sistemler tarafından algılanır. Bu sistem sinyal moleküllerinin hücre içine alınmayıp, hücre zarından algılanması yönüyle oligopeptit sistemine benzemektedir (Yılmaz-Yıldıran ve arkadaşları, 2015). Furanosil borat diester (AI-2) olarak adlandırılan bu sinyalizasyon molekülü eşik konsantrasyonuna ve hücre yoğunluğuna bağlı olarak türler arası ve türler arasında geçiş yapar (Bouyahya ve arkadaşları, 2017).

Diğer tür spesifik oto aktivatörlerin aksine AI-2'nin bir iletişim sinyali olarak kullanılması konakçının bağırsaklarda bulunanlar gibi karma popülasyonlarda maksimum düzeyde iletişim kurmasına ve gen ekspresyonunda değişimlere yol açmasına olanak veren bir strateji olabilir (Papenfort ve Bassler, 2016).

Oto Aktivatör-3 / epinefrin / norepinefrin tabanlı QS

Konakçıdan türetilen katekolaminler, memelilerde stres tepkilerini kontrol eder. İnsan vücudundaki en önemli katekolaminler arasında dopamin, epinefrin (E) ve norepinefrin (NE) bulunur. Bu konakçı sinyal molekülleri, bağırsak motilitesi, potasyum ve klorür sekresyonu, epitelyal bariyer fonksiyonu ve enflamasyon gibi fonksiyonlara katkıda bulunur. Bağırsaktaki E ve NE'nin birincil kaynakları sırasıyla adrenal medulla ve sempatik adrenerjik nöronlardan oluşur. *Salmonella enterica* ve *E. coli*, bilgiyi membran boyunca iletmek için iki bileşenli sistemler kullanarak katekolaminlere yanıt verir. İki bileşenli sistemler genellikle bir histidin sensör kinazı ve bunların ortak kökenli tepki düzenleyicisi tarafından oluşturulur; bu, genellikle histidin kinaz tarafından fosforilasyon üzerine gen ekspresyonunda değişikliklere neden olan bir transkripsiyon faktörüdür (Jimenez ve Sperandio, 2019). *E. coli*, *Shigella*, *Salmonella*, *Yersinia* ve diğer bazı Gram-negatif bakteriler) Oto Aktivatör-3 (Autoinducer-3, AI-3)/ epinefrin/ norepinefrin sinyalleme sistemine sahiptir (Annous ve arkadaşları, 2009). Son zamanlarda yapılan çalışmalar farklı tür bakterilerin birbirlerinin kimyasal sinyallerini tespit edip, tepki verebildiklerini, intestinal kanaldaki *E. coli*'nin konakçının metabolik durumunu ölçebildiğini göstermiştir (Sifri, 2008).

AI-3 ve insan hormonları epinefrin ve norepinefrin sinyal bileşiklerinin *E. coli* transkriptomu üzerindeki etkisinin incelendiği bir çalışmada LuxS mutasyonunun, esas olarak *E. coli*'nin hem patojenik hem de patojenik olmayan suşlarında merkezi metabolik genleri etkilediği

gözlenmiştir. Çalışmada AI-3 veya epinefrin eklendiğinde, en fazla sayıda gen değişikliği olduğu, AI-3 ve epinefrin ilavesiyle virülans gen ekspresyonundaki artışları doğruladığı gösterilmiştir (Kendall ve arkadaşları, 2007).

İnsan bağırsağı tahminen 500-1000 bakteri türüne ev sahipliği yapar. İnsan bağırsağı ve onun simbiyotörleri arasında karşılıklı olarak yararlı bir ilişki vardır: İnsan bağırsakları yerleşik bakterilere besin sağlar, bakteriler de besinlerin sindiriminde ve besinlerin emiliminde yardımcı olur, biyotin ve K vitamini gibi vitaminler üretir. Bağışıklık sistemi fonksiyonunu düzenler ve patojenik mikroorganizmaların kolonizasyonunu engeller (Curtis ve Sperandio, 2011). Son zamanlarda sağlıklı insan gönüllülerinden alınan anaerobik kültürlü dışkı örneklerinde yapılan çalışmalarla mikrobiyal bağırsak florasının AI-3 ürettiği gösterilmiştir. Bağırsakta bulunan hangi yararlı ve patojen bakterilerin AI-3 ürettiği hakkında daha fazla bilgi edinmek için hastalardan yeni izole edilen suşlar test edildiğinde, *Shigella sp* ve *Salmonella sp*. Sero gruplarından enteropatojenik *E. coli* suşlarının tükenmiş süpernatantlarında AI-3 aktivitesi gözlenmiştir (Reading ve Sperandio, 2006).

AI-3, bakteriyel bölgeler arası sinyalizasyonda kullanılmasının yanı sıra, interkingdom iletişimde de kendine özgü bir role sahiptir. AI-3 ökaryotik hormonlarla epinefrin/norepinefrin ile agonistik bir şekilde çapraz sinyaller gönderir. Gastrointestinal kanalda hem epinefrin hem de norepinefrin bulunur. Norepinefrin, enterik sinir sisteminde bulunan adrenerjik nöronlarda sentezlenir. Epinefrin her ne kadar enterik sinir sisteminde değil, merkezi sinir sisteminde ve adrenal medullada sentezlense de, adrenal medulla tarafından kan dolaşımına salındıktan sonra sistemik bir şekilde bağırsaklara ulaşır. Her iki hormon da bağırsakta düz kas kasılmasını, submukozal kan akışını ve bağırsakta klorür ve potasyum salgısını modüle eder. Sonuç olarak, bu iki hormonun bağırsaktaki seviyesini izleyebilmek bakterilerin konağın metabolik durumunu ölçmesine yardımcı olabilir. AI-3, epinefrin/norepinefrin sinyal kaskadı *Shigella*, *Salmonella*, *Erwinia carotovora*, *Pasteurella multocida*, *Haemophilus influenzae*, *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Chromobacterium violaceum* gibi çeşitli mikroorganizma türlerinde bulunur (Reading ve Sperandio, 2006).

Pseudomonas kinolon sinyali (PQS)

P. aeruginosa'da QS sistemi iki AHL düzenleyicisi (Las ve RhL) ve alkil-4-kinolonlar (AQ'lar) ile AHL aracılı olamayan bir QS sinyal yolundan oluşur. *P. aeruginosa* tarafından

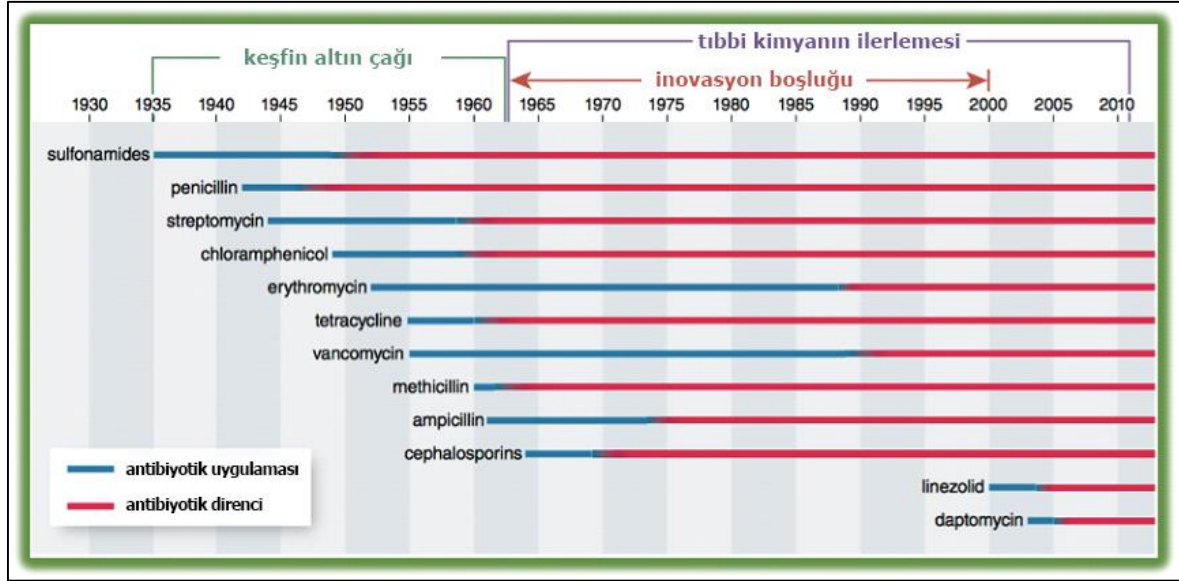
50'den fazla farklı AQ molekülünün üretildiği tespit edilmiştir. Burada sinyalleme molekülü PQS, virülans faktörlerinin üretimini düzenlemek için önemlidir. *P. aeruginosa* tarafından üretilen en önemli virülans faktörlerinden birisi Piyosiyanın'dır. Bu virülans faktörü biyolojik zarlara kolayca nüfuz edebilen ve hava yolu epitel hücrelerinde iyon taşınması, mukus sekresyonunun düzenlenmesine müdahale eden, ayrıca konakçı hücrelerde oksidatif stresi arttıran bir bileşiktir. *P. aeruginosa*'nın kullandığı diğer bir virülans faktörü elastaz'dır. LasB tarafından kodlanan elastaz, tip 2 salgılama sistemi kullanılarak salgılanan bir metaloproteinazdır. Keşfinden bu yana PQS sistemi, piyosiyanın veya elastaz gibi virülans faktörlerinin sentezini ve diğer QS sistemleri ve özellikle RhI sistemi ile ilişkisini nasıl kontrol ettiğini anlamak için kapsamlı bir şekilde incelenmektedir. Bununla birlikte piyosiyanın sentezinin mekanizmasının cevaplandırılması için çalışmalar sürdürülmektedir (García-Reyes ve arkadaşları, 2020).

Dağılabilir sinyal faktörü (DSF)

Dağılabilir sinyal faktörü (Diffüz, DSF), birçok Gram-negatif bakteriyel patojende virülans faktörü üretiminin düzenlenmesinde yer alan, geniş ölçüde korunmuş QS sinyallerinin bir ailesini temsil eder. DSF, yapısal olarak ilk kez bitki bakteriyel patojen *Xanthomonas campestris*'de tanımlanan cis-11-metil-2-dodesenik asit olarak karakterize edilmiş, daha sonra türevleri, *Xanthomonas oryzae* dahil olmak üzere bir dizi bakteriyel organizmada bulunmuştur. DSF ailesi sinyalleri, ekzopolisakkarit (EPS) ve hücre dışı enzimleri kodlayan genler ve biyofilm oluşumu ve motilitesi gibi virülans genlerinin ekspresyonu dahil olmak üzere bakteriyel patojenlerde bir dizi biyolojik fonksiyonun düzenlenmesinde rol oynar (Wang ve arkadaşları, 2020).

2.3. Antibiyotik Direnci ve Evrimi

Modern antibiyotik dönemi, Alexander Fleming'in 1928'de penisilin'i keşfi ile ilişkilendirilmiştir (Davies ve Davies, 2010). Penisilin, İkinci Dünya Savaşı askerlerinin bakteriyel enfeksiyonlarını kontrol etmede başarılı olmakla birlikte kısa bir süre sonra penisilin direnci önemli bir klinik problem haline gelmiştir (Ventola, 2015). Antibiyotik yaygın bir şekilde kullanıldığında ilacı inaktive edebilen dirençli suşlar da yaygınlaşmıştır ve β -laktamazlar ile oluşan direnci önlemek için penisilin kimyasal olarak modifiye edilmek suretiyle sentetik bazı çalışmalar yapılmıştır (Davies ve Davies, 2010).



Şekil 2.6. Antibiyotik direncinin evrimi (Dantas ve Sommer, 2014)

Yeni antibiyotiklerin keşfinin altın çağı olarak kabul edilen 1970'lere kadar olan dönemde, enfeksiyöz hastalıklara bağlı mortalite ve morbiditede önemli bir azalma olmuştur. Bununla birlikte, geçen her on yılda, birden fazla antibiyotiğe karşı koyabilecek bakteriler giderek yaygınlaşmaya başlamış, bu da morbidite, mortalite ve sağlık bakım maliyetlerinde artışa neden olmuştur. Hastalıklarda antibiyotiklerin uygunsuz kullanımı, hayvansal endüstrideki yaygın antibiyotik kullanımı gibi faktörler antibiyotik direncinin ortaya çıkmasına katkıda bulunmuştur. Dünya genelinde artan seyahatler ve hasta hareketi ile, ilaca dirençli organizmaların bir ülkeden diğerine iletilmesi de artmıştır. Antibiyotiklere karşı gözlemlenen geniş çaplı direnç, şu anda ciddi bir halk sağlığı kaygısı oluştururken, tıp uzmanları insanları antibiyotik çağı öncesine dönüş konusunda uarmaya başlamışlardır (Gupta ve Birdi, 2017).

2.3.1. Antibiyotik direnci

Son zamanlarda yapılan yüksek profilli bir raporda, 2050 yılına kadar, antimikrobiyal direnç (AMD) sorununa küresel bir yanıt verilmediği sürece her yıl 10 milyon insanın AMD nedeniyle öleceği tahmin edildiği ifade edilmektedir. Şüphesiz AMD büyük bir klinik ve halk sağlığı sorunudur, ancak morbidite ve mortaliteyi tam olarak ölçmek zordur. AMD tahminleri açıklandığında, bunlara enfeksiyon insidansı, direnç prevalansı ve mortalite ile ilgili belirsizliklerin açık bir şekilde bildirilmesi de eşlik etmelidir. Tahminler her zaman varsayımlar gerektirir, ancak gelecekteki senaryoların güvenilir olmayan çağdaş tahminler kullanarak modellenmesinin yararı da şüphelidir. AMD yükünün mevcut küresel tahminleri

çok bilgilendirici değildir; tercihen düşük, orta ve yüksek gelirli ülkelerden kapsamlı, nüfus tabanlı gözetim verilerine dayanarak AMD kontrol önlemlerini iyileştirebilmek için ayrıntılı, güvenilir verilere ihtiyaç duyulmaktadır (de Kraker ve arkadaşları, 2016).

Antibiyotiklere maruziyetin modern “antibiyotik dönemi” ile sınırlı olduğuna dair yaygın inanın aksine, araştırmalar bu durumun böyle olmadığını ortaya koymuştur. 2011 yılında Mc Master Üniversitesi’nden (Kanada) bir araştırma ekibi, 30 000 yıldan fazla bir süredir Yukon Bölgesi’nde bulunan permafrost çökeltilerde farklı antibiyotik direnç genleri keşfetmiştir. Araştırmacılar vankomisin direncini kodlayan bir operon (genetikte, genlerin dışavurumunun düzenlenmesini denetleyen karmaşık sistemin öğelerinden biridir) mirasını bulmuşlardır. 2012 yılında aynı ekip New Mexico’daki (ABD) bir mağaradan alınan 4 milyon yıllık örneklerin, özellikle daptomisin veya tigesikline direnç sağlayan genleri bularak benzer sonuçlar yayınlamıştır. Ayrıca antibiyotiklere maruz kalmanın aşırı derecede düşük olduğu Amazon’un uzak bölgelerinde asemptomatik insan taşıyıcılarında da birçok ampicilin, tetrasiklin, trimetoprim/sulfametoksazol, streptomisin ve kloramfenikol gibi antibiyotiklere dirençli genler bulunmuştur. Toprak ve suda ayrıca sağlıklı erkeklerin, martıların, et tavuklarının mikrobiyomlarında yapılan metagenomik çalışmalar hiç tanımlanmamış direnç genlerini bulmalarına dair kanıtlar, direnç genleri rezervuarına işaret etmektedir. Antibiyotiklere dirençli genlerin doğal öyküsü, filogenetik yeniden yapılanma ile açığa çıkarılabilir ve bu tür bir analiz, antibiyotik çağından önce doğada çok çeşitli antibiyotiklere direnç sağlayan genlerin uzun süreli mevcudiyetini gösterir (Aminov, 2010).

Cuzco, Peru’dan (MS 980-1170 tarihine ait) Kolombiyalı bir Andean mumyasının bağırsak mikrobiyomu, β -laktam, fosfomisin, kloramfenikol, aminoglikozit, makrolit, kükürt, kinolonlar, tetrasiklin, ve vankomisin direnç genlerine rastlanmıştır. Araştırmalar geleneksel olarak günümüzün klinik rezistansına odaklanmış olsa da, çevresel ve antik rezistomların genişliğini araştırmaya yeni başlamıştır. Direncin zaman içinde nasıl geliştiğini ve mikroorganizmalar arasında nasıl hareket ettiğini anlamak, direnç gelişiminin gelecekteki seyrini tahmin etmede büyük bir değere sahip olacaktır (Perry ve arkadaşları, 2016). 30 yıldır gözlenen dirençli patojenik bakterilerin ortaya çıkışı, bu mevcut rezervuarlardan direnç genlerinin yakın zamanda harekete geçirilmesinin bir sonucudur. Antibiyotiklerin seçici basıncı altında, bir topluluk içinde bulunan dirençli bakteriler, diğer bakterilere seçici bir avantaj sağlayan belirleyicileri aktarabilmektedir. Bakterilerde tanımlanan antibiyotik direnç genlerinin sayısı, doğada mevcut dizinin sadece küçük bir kısmıdır. Artık 20.000’den fazla

antibiyotik direnç geninin ortaya çıkması ve hızla yayılması sadece insanlardaki modern antibiyotik kullanımının artmasıyla değil, aynı zamanda antibiyotik ve antibiyotiklere dirençli genler içeren bir mikrobiyal ekosistemde karmaşık bir etkileşim ile açıklanabilir. Antibiyotik direnci bundan böyle, doğada bulunan ve bakteriyel topluluğa yayılmak ve bakteriyel patojenlere bulaşmak üzere herhangi bir zamanda harekete geçirilebilen genlerin ve/veya gen dizilerinin varlığı olarak kabul edilmelidir.

Son yıllarda yapılan çalışmalar belirli bir bakterideki çoklu ilaç direncinin yanısıra, tüm bakterilerdeki direnç faktörlerinin toplamından oluşan ve “rezistom” adı verilen direnç havuzu kavramına yer vermektedir. Bu havuzdaki bakteriler sadece patojen bakterileri değil patojen olmayan bakterileri de kapsamaktadır. Bu yaklaşım değişikliğinin altında yatan sebep, bakterilerin direnç genlerini horizontal olarak farklı bakteri türlerine aktarabilmeleridir. Rezistomun daha iyi anlaşılmasının, sadece içinde bulunulan zamanda klinik açıdan önem taşıyan direnç mekanizmalarına yönelik değil, gelecekte önem kazanabilecek yeni direnç mekanizmaları hakkında da fikir sağlayarak yeni ilaçların keşif sürecinde önemli faydalar sağlayabileceği umut edilmektedir (Davies ve Davies, 2010).

2.3.2. Bakterilerin savunma mekanizmaları

Bakteriler, bireysel olarak davrandıklarında başaramadıkları işlemleri, bir araya geldiklerinde grubun lehine olacak şekilde yapabilmektedir. Virulans faktörü sentezi, biyofilm oluşumu, proteaz ve siderofor üretimi gibi yüksek hücre yoğunluğunda yararlı hale gelen işlemleri gerçekleştirilmesini sağlayabilirler. Bakterilerin bu anlamda kendilerini korudukları birkaç sistemden bazıları oluşturdıkları biyofilm direnci, efflux pompa sistemi ve beta laktamaz üretimidir (Remy ve arkadaşları, 2018).

Biyofilm direnci

Biyofilm terimi ilk olarak Bill Costerton tarafından 1978 yılında kullanılmıştır. Biyofilmler, proteinler ve ekzopolisakkaritlerden (EPS) oluşan bir polimer kompleksi içinde sarılı olan yüzeyde mikroorganizmaların sinsi toplulukları olarak tanımlanmaktadır (Romero ve arkadaşları, 2016). Biyofilmler, bakterileri birbirine ve yüzeylere bağlayan biyolojik, yapışkan ve koruyucu bir matrikse gömülü yoğun bakteri topluluklarından oluşur (Hmelo, 2017). Bakteriler tarafından biyofilmlerin oluşumu bir yüzeye yapışma ile başlayan çok

aşamalı bir süreçtir. İlgili bakteriler bölünür ve makrokolonilere yol açar. Bu makrokoloniler daha sonra çok sayıda olgun biyofilmler haline gelirler, biyofilmler koruyucu membranlar olarak hareket edebilir ve ortadan kaldırılması zordur (Antunes ve arkadaşları, 2010).

Bulaşıcı hastalıkların büyük bir yüzdesinin biyofilmler oluşturarak çoğalan bakteriyel topluluklara bağlı olduğu bilinmektedir. Biyofilmler insan vücudunda kateterler, protez kalp kapakçıkları ve kalp pilleri, kontakt lens, rahim içi araçlar, böbrek taşı, akciğer dokusu gibi canlı ve cansız birçok yüzeyde oluşabilir. Biyofilmler özellikle bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda ve kalıcı tıbbi araç veya kateteri olan hastalarda ciddi enfeksiyonlara yol açabilmektedir. Biyofilm içerisinde mikroorganizmalar kendi aralarında çok iyi organize olmuşlardır. Biyofilmlere sahip bakterilerin antibiyotiklere karşı planktonik kardeşlerine göre yaklaşık 1000 kat daha fazla dirençli oldukları gözlemlenmiştir (Kalia, 2013).

Bakteriyel efflux (dışa atım) pompası

İlk olarak 1976'da memeli kanser hücrelerinde bulunan P glikoproteininin kanser ilaçlarına karşı dirence neden olduğunun saptanmasıyla gün yüzüne çıkmıştır (Aygül, 2015).

Bakterilerde kazanılmış antibiyotik direncine neden olduğu bilinen mekanizmalardan birisi antibiyotik konsantrasyonunun bakteri hücresi içerisinde yeterli seviyelere ulaşamamasıdır. Bu iki şekilde ortaya çıkabilmektedir. İlk olarak bakteri hücre membranının porin kaybına uğramasıyla geçirgenliği azalmakta ve böylece ilaçlar hücre içine yeterince girememektedir. Diğer mekanizmada ise dışa atım pompalarının aşırı derecede eksprese olması ve böylece etkin bir şekilde içerideki ilacı dışarıya atması söz konusudur. Ökaryotik ve prokaryotik tüm hücre tiplerinde bulunan, hücre membranına yerleşmiş pompa proteinleri olan dışa atım sistemleri, ekzojen ve endojen kaynaklı çeşitli maddelerin hücre dışına atımından sorumludur (Aygül, 2015). Antibiyotiklerin çoğunun hücre zarı boyunca taşındıktan sonra sitoplazmada bakteriler üzerinde inhibitör etkiler uygulamak için etkili bir konsantrasyon elde edilir. Pompalar yüksek oranda korunmuş ve kromozom olarak kodlanmış elemanlardır. Uçucu yağların çoklu ilaç çıkış pompasını engelleme kabiliyeti, çoklu ilaca dirençli organizmalara karşı daha geniş spektrumdaki pompa inhibitör aktivitesindeki potansiyelini ortaya koymaktadır (Yap ve arkadaşları, 2014).

Beta-laktamaz üretimi

Enterobacteriaceae familyası, *Pseudomonas* ve *Acinetobacter* türleri dahil olmak üzere pek çok Gram-negatif bakteri enfeksiyonların önde gelen nedenleri arasındadır. Bu patojenler arasındaki antibiyotik direnci oranı son yıllarda önemli ölçüde artmış ve pandemi ölçeğine ulaşmıştır. β -laktamazlar, Gram-negatif bakterilerin β -laktam antibiyotiklere karşı ana savunmasıdır. Bu enzimler, en yaygın kullanılan antimikrobiyal ajanlar arasında yer alan β -laktam antibiyotiklerini hidrolize eder. β -laktamaz kaynaklı dirençle mücadele için beta-laktam antibiyotiklerin yeniden direncine izin veren küçük β -laktamaz inhibitörlerinin (örn. Klavulanik asit ve tazobaktam) kullanılmasıdır. Bununla birlikte, β -laktamaz grubunun çeşitliliği nedeniyle, bazıları geleneksel β -laktamaz inhibitörlerine direnç gösterir. Bunu akılda tutarak, son yirmi yılda, bu tür suşlara karşı alternatif adjuvanlar olarak β -laktamaz inhibitör peptitler geliştirilmiştir (Silva ve arkadaşları, 2018). İnsanlarda enfeksiyonların en yaygın nedenleri olan Enterobacteriaceae, özellikle *E. coli* ve *K. pneumoniae*, üyeleri arasında β -laktamaz üretiminin hızla artması ciddi bir küresel sorun olarak görülmektedir. Seçici β -laktamların baskısı altında, bakteriler çok sayıda β -laktamaz üretir. β -laktamaz üreten bakterilerin neden olduğu enfeksiyonlar için tedavi seçenekleri sınırlıdır ve bu tür enfeksiyonların tedavisinin çok zor olması tedavinin başarısız olmasına neden olmaktadır (Nepal ve arkadaşları, 2017). β -laktamazlara karşı uçucu yağlar / antibiyotik kombinasyonları üzerine yapılan araştırmalar olsa da oldukça sınırlıdır (Yap ve arkadaşları, 2014).

2.4. Çalışmada Kullanılan Bakteriler

Bu çalışmada laboratuvarımızda bulunan ve hastalıklara en çok neden olan bakteriler kullanılmıştır. Bu bakteriler *Acinetobacter baumannii*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Basillus cereus*, *Klebsiella oxytoca*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella thypimurium*, *Serratia marcescens*, *Enterococcus faecalis*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus epidermidis* ve *Klebsiella pneumoniae* bakterileridir.

2.4.1. *Acinetobacter baumannii*

Moraxellaceae familyasına ait, antimikrobiyal direnç geliştirme ve nozokomiyal salgınlarına neden olma özelliğine sahip, dünya çapında önemli bir Gram-negatif patojendir. Bu

organizma sıklıkla tıbbi cihazlarla, örneğin vasküler kateterler, beyin omurilik sıvısı şöntleri veya Foley kateterleri ile ilişkili enfeksiyonlara neden olur. Biyofilm oluşumu, bu tür enfeksiyonlarda iyi bilinen bir patojenik mekanizmadır (Rodríguez ve arkadaşları, 2008). *Acinetobacter* türleri için 1986 yılında oluşturulan yeni sınıflamada, *A. baumannii*, hastane kaynaklı enfeksiyonlara neden olan korkulan bir patojen haline gelmiştir. Yoğun bakıma yatırılan olgular hızla *A. baumannii* ile kolonize olabildiklerinden, bu mikroorganizma “Gram-negatif MRSA (Metisilin dirençli *S. aureus*)” olarak ifade edilmeye başlanmıştır. *A. baumannii*, birçok antibiyotiğe doğal dirençli olmasının yanı sıra, tüm antibiyotik gruplarına karşı direnç geliştirebilme yeteneğine sahiptir. Bu nedenle de, tedavisi ve kontrolü zor enfeksiyonlara yol açabilmektedir (İlgili fotoğraf Ek.1. Resim 2.1) (Bacakoğlu ve arkadaşları, 2009).

2.4.2. *Escherichia coli*

Enterobacteriaceae familyasında yer alan en önemli türdür. Gram-negatif, kısa çomak şeklinde, 37°C’de pH 7,2’de optimum üreyen, hareketli, %6,5 NaCl içeren ortamda gelişebilen, donma sıcaklığına dirençli, ışınlamaya ve ısısal uygulamalara dirençsiz bir bakteridir (Tosun ve Gönül, 2005). Fakültatif anaerofilik, sporsuz bir bakteri olan *E. coli*’nin bazı suşları peritrik flagelları ile hareketlidir. Enterohemorajik *E. coli* (EHEC) grubunda yer alan *E. coli* O157:H7/H serotipi, insanlarda ciddi ve çoğu kez letal etkili enfeksiyonlara neden olmakta, son yıllarda tüm dünyada gıdalar ile bulaşan patojenler arasında en önemlilerinden birisi olarak kabul edilmektedir (İlgili fotoğraf Ek.1. Resim 2.2) (Sağlam ve arkadaşları, 2016).

2.4.3. *Staphylococcus aureus*

Staphylococcaceae familyasındaki en patojen tür olan *Staphylococcus aureus*, Gram-pozitif, kok şeklinde, hareketsiz, sporsuz, bazı suşları kapsüllü, fakültatif anaerofilik özellikte, uygun ortam koşullarında 7-48 °C arasında üreyebilen bir bakteridir. Etken, insan ve hayvanların deri, üst solunum sistemi, alt ürogenital sistem ve sindirim sistemi mukozalarında kommensal olarak bulunmasının yanı sıra, insan ve hayvanlarda çok çeşitli enfeksiyonlar ve besin zehirlenmelerinden en sık izole edilen patojendir (Sağlam ve arkadaşları, 2016). Etkenler hava, toz, kanalizasyon suları, gıda ve gıda ekipmanlarında da bulunabilmektedir. *S. aureus* intoksikasyonunun görülebilmesi için uygun koşullarda

bulunan *S. aureus* 'un çoğalması ve enterotoksin üretmesi, bu enterotoksinin en az 1 mg'ının gıdalarla vücuda alınması gerekmektedir. İnsanlar taşıyıcı olarak bu bakteriyi diğer insanlara ve gıdalara bulaştırırlar. Benzer şekilde, bakterinin hava, toz, lağım ve sudan kolaylıkla izole edilebilmesi gıdaların kontaminasyonu için çok sayıda kaynağın bulunduğunu göstermektedir (İlgili fotoğraf Ek.1. Resim 2.3) (Sağlam ve arkadaşları, 2016).

2.4.4. *Bacillus cereus*

Bacillaceae familyasına ait *Bacillus cereus*, Gram-pozitif, çomak şeklinde, santral ve subterminal lokalizasyonda elipsoid sporlara sahip, peritrik flagellası ile genellikle hareketli, aerofilik özellikte, kemoorganotrofik bakteridir. Üreme ısısı, 10-45 °C olmakla birlikte, optimal üreme ısısı 37 °C; spor oluşumu için gerekli sıcaklık 1-59 °C olup optimum sıcaklık ise 30 °C'dir (Sağlam ve arkadaşları, 2016). *B. cereus* enterotoksin ve emetik toksin olmak üzere enfeksiyonların patogeneğinde önemli iki farklı toksin oluşturur. İnsanlarda diyare tipi sendroma neden olan, ısıya dayanıklı protein yapıdaki enterotoksin, gıda zehirlenmelerinden sıklıkla izole edilir. Emetik toksin ise kusma tipi sendroma neden olan, peptid yapıda ve ısıya duyarlı bir toksindir. Etkenin toprak kökenli olması nedeniyle tarla ve bahçe ürünlerinde etkene sıklıkla rastlanır. Çiğ sütlere özellikle sağım sırasında bulaşan *B. cereus*, psikrotrof özelliği nedeni ile soğutulmuş olsa dahi çiğ sütte gelişebilir ve ekstraselüler proteolitik enzimler salgılar. Sütün UHT ile sterilizasyonu sırasında sporlu bakteriler ölse dahi, önceden salgılanan bu enzimler imha olmazlar (Sağlam ve arkadaşları, 2016). *B. cereus*'la ilişkili gıda zehirlenmelerine aracı olan gıdalar arasında pişmiş pirinç, makarna, et, kümes hayvanları etleri, sebze yemekleri, patates püresi, çeşitli çorbalar, pudingler, baharat ve soslar sayılabilir. Bunlardan, kızartılmış ya da pişirilmiş pirinç, şehriye, pizza hamuru ve makarnalar genellikle emetik sendroma; mısır ve tahıl içeren gıdalar, patates püresi, sebzeler, kıyma, puding ve çorbalar ise genellikle diyare tipi sendroma neden olan gıdalardır (İlgili fotoğraf Ek.1. Resim 2.4) (Sağlam ve arkadaşları, 2016).

2.4.5. *Klebsiella oxytoca*

Klebsiella türleri Enterobacteriaceae ailesine üye olup, toplum ve hastane kaynaklı enfeksiyonlara neden olurlar. Florada sınırlı sayıda bulunan *Klebsiella* türlerinin kolonizasyonunun hastanede uzun süre kalma, geçirilmiş operasyon öyküsü, damar içi ve

üriner kateter uygulanması ve antibiyotik kullanımıyla ilişkili olduğu bildirilmiştir. Bu bakterilerde dirençten sorumlu en önemli mekanizma geniş spektrumlu beta-laktamaz yapımıdır. Karbapenemler, beta-laktamaz üreten, özellikle çok ilaca dirençli Enterobacteriaceae türlerinde, son seçenek olarak kullanılan önemli bir antibiyotik grubudur. Karbapenemaz üreten izolatlar, ciddi enfeksiyonlara neden olarak hastanede yatış süresini uzatmakta ve mortalite oranlarını artırmaktadır (İlgili fotoğraf Ek.1. Resim 2.5) (Lynch ve arkadaşları, 2013).

2.4.6. *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonadaceae familyasına ait Gram-negatif, çomak şeklinde yumuşak doku, idrar yolu, solunum yolu enfeksiyonları ve bakteriyemi gibi geniş yelpazede hastalıklara yol açmaktadır. Özellikle immun sistemi zayıf hastalarda fırsatçı enfeksiyonlara yol açmaktadırlar. Yoğun bakım üniteleri başta olmak üzere önemli hastane enfeksiyonu etkenleri arasında olan *P. aeruginosa*'ya bağlı enfeksiyonlarda etkin olmayan ampirik tedaviye bağlı olarak morbidite ve mortalite oranları artmaktadır. *P. aeruginosa*'nın çeşme suyu gibi az besleyici ortamlarda üreyebilmesi, birçok deterjan ve antiseptik kimyasal maddelere doğal dirençli olması, bu bakterinin hastane ortamında varlığını sürdürebilmesine neden olmaktadır. Bakterinin; gerek sahip olduğu doğal direnç mekanizmaları, enzimleri, dışa atım pompaları, porin kaybı gerekse tedavi sırasında geliştirdikleri direnç mekanizmaları nedeniyle tedavisinde güçlüklerle karşılaşılabilir (İlgili fotoğraf Ek.1. Resim 2.6) (Sağlam ve arkadaşları, 2016).

2.4.7. *Proteus mirabilis*

Proteeae familyasına ait *Proteus* cinsindeki bakteriler, Gram-negatif, sporsuz, kapsülsüz ve çok hareketli bakteriler olup Enterobacteriaceae familyasının genel özelliklerini gösterirler. Özellikle üriner sistem başta olmak üzere idrar yollarında kronik enfeksiyonların oluşmasına, ayrıca tek başlarına veya başka bakterilerle birlikte hastane enfeksiyonlarına sebep olabildiğinden önemli patojenlerden biridir. Yara enfeksiyonları, organ apseleri, pnömoni ve sepsis olgularından sıklıkla izole edilirler. Özellikle yeni doğanlarda göbek kordonundan kaynaklanan sepsis ve menenjitler yapabilirler. Konakçıdan eradikasyonları güçtür. Hastane dışı idrar yolları enfeksiyonları ise daha çok diyabetli ya da idrar yollarında

anomali bulunan ve üriner taşa sahip olan kişilerde gözlenir (İlgili fotoğraf Ek.1. Resim 2.7) (Mobley ve Belas 1995).

2.4.8. *Salmonella thypimurium*

Enterobacteriaceae familyasından Gram-negatif bir bakteri olan *Salmonella* üyeleri, insanlarda ve hayvanlarda enfeksiyonlara neden olan ana patojenler arasındadır. Gram negatif, fakültatif bir anaerobdur. İnsan *Salmonella* enfeksiyonlarının çoğunun, kontamine olmuş hayvan kaynaklı et ve süt ürünlerinden gelen gıda kaynaklı bulaşma ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (İlgili fotoğraf Ek.1. Resim 2.8) (Torpdahl ve arkadaşları, 2007).

2.4.9. *Serratia marcescens*

Enterobacteriaceae ailesinde sınıflandırılan *Serratia* türleri hareketli, laktozu yavaş fermente eden, hücre dışına DNaz salgılama özellikleri ile *Klebsiella* üyelerinden ayrılan Gram-negatif basillerdir. 1950’li yıllarda zararsız saprofitler olarak tanımlanan *Serratia*, daha sonraları sporadik vakalarda etken olarak tanımlanmış, son 50 yıldır da kesin olarak nozokomiyal enfeksiyonlardan sorumlu fırsatçı bir patojen olarak kabul edilmiştir. Özellikle *S. marcescens* çocuk, yenidoğan ve diğer yoğun bakım üniteleri başta olmak üzere solunum yolu, üriner sistem ve bakteriyemilerden sorumlu olabildiği iyi bilinen; nispeten az görülen bir hastane enfeksiyonu etkeni olarak tanımlanmaktadır (İlgili fotoğraf Ek.1. Resim 2.9) (Atmaca ve arkadaşları, 2018).

2.4.10. *Enterococcus faecalis*

Enterokoklar tekli, ikili veya kısa zincirler oluşturan Gram-pozitif koklardır. Bu mikroorganizmalar insan ve hayvanlarda normal barsak florasının önemli bir kısmını oluştururlar. Enterokoklar hastane içi ve hastane dışı enfeksiyonlara sebep olabilirler. Bu bakteriler kalp kapakçıklarına ve böbrek epitel hücrelerine tutunma yeteneğine sahiptirler. Enterokokların üriner sistem enfeksiyonlarına, bakteriyemi, endokardit, intraabdominal enfeksiyonlara, yumusak doku enfeksiyonlarına ve neonatal sepsise neden oldukları gösterilmiştir. İnsan gastrointestinal sistem normal flora mikroorganizmaları olan enterokoklar’ın ağız boşluğu, safra yolları ve genitoüriner sistemde kolonizasyon gösterdiği bilinmektedir. İmmünsüpressif hastalarda, hastanede uzun süre kalanlarda ve daha önceden

antibiyotik kullanan hastalarda enterokok enfeksiyonlarına eğilim artmaktadır. Enterokokların vankomisin dirençli kökenleri son yıllarda nozokomiyal enfeksiyonlara neden olabilmektedir (İlgili fotoğraf Ek.1. Resim 2.10) (Yıldırım, 2007).

2.4.11. *Micrococcus luteus*

Mikrokoklar, sıklıkla kontaminan mikroorganizmalar olarak düşünülse de, *Micrococcus luteus* immünsüpresif hastalarda kateter ile ilişkili tekrarlayan bakteremilerde etken olarak bildirilen Gram-pozitif bir patojendir (İlgili fotoğraf Ek.1. Resim 2.11) (Eryılmaz ve Gürpınar, 2017).

2.4.12. *Staphylococcus epidermidis*

Daha önce sadece insan derisinde zararsız bir konakçı mikroorganizma olarak görülmesine rağmen, *Staphylococcus epidermidis* günümüzde önemli bir fırsatçı patojen olarak görülmektedir (Otto, 2009). *S. epidermidis* son yıllarda hastane enfeksiyonlarının en önemli nedeni haline gelmiştir. Gram-pozitif olan bakterinin patojenitesi esas olarak kalıcı tıbbi cihazlarda biyofilm oluşturma yeteneğinden kaynaklanmaktadır. *S. epidermidis*, koagülaz negatif stafilokok grubunun en sık izole edilen üyesidir. Bu grup, koagülaz üretememesi nedeniyle teşhis açısından *S. aureus*'tan ayrılır. Daha nadir bulunan koagülaz negatif stafilokoklarla birlikte *S. epidermidis*, insan vücudunun deri ve mukoza zarlarını kolonize eder ve bu habitatın normal bakteri florasının büyük bir bölümünü temsil eder. *S. epidermidis*, son yıllarda nozokomiyal enfeksiyonların en önemli nedeni haline geldiği için büyük ilgi görmüştür. Ciddi derecede dokuya zarar veren toksinlerin eksikliği nedeniyle, *S. epidermidis* enfeksiyonları genellikle subakut veya kroniktir. *S. epidermidis* sıklıkla uyuşturucu bağımlıları ve immün yetmezliği olan (immünosüpresif tedavi altındaki hastalar, AIDS hastaları ve prematüre yenidoğanlarda) hastalarda ana enfektif ajan haline gelir. Tüm bu enfeksiyonlarda insan vücuduna giriş portu genellikle intravasküler kateterdir. *S. epidermidis*'in neden olduğu en önemli enfeksiyon grubu, kalıcı kateterler ve implante edilmiş cihazlar gibi yabancı cisimlerdeki enfeksiyonlardır (İlgili fotoğraf Ek.1. Resim 2.12) (Vuong ve Otto, 2002).

2.4.13. *Klebsiella pneumoniae*

Toprak ve yüzey suları ve tıbbi cihazlar dahil olmak üzere çevrede bulunan Gram negatif, kapsüllenmiş, hareketsiz bir bakteridir. *Klebsiella pneumoniae*, pnömoniler, idrar yolu enfeksiyonları, bakteremiler ve karaciğer apseleri dahil geniş bir enfeksiyon yelpazesine neden olur. *K. pneumoniae* esas olarak bağışıklığı zayıflamış kişilerde ciddi enfeksiyonlara neden olur(İlgili fotoğraf Ek.1. Resim 2.13) (Paczosa ve Mecsas 2016).

2.5. Uçucu Yağlar ve Özellikleri

2.5.1. Uçucu yağların tarihçesi

Antik çağlardan beri aromatik ve şifalı bitkilerin antiseptik özellikleri bilinmektedir. Tıbbın “babası” olarak anılan Hipokrat’ın reçetelerinde parfüm ve tütsülerin bulunduğu; eski Mısır’da bakteriyel büyümeyi durdurmak ve çürümeleri önlemek için büyük ölçüde uçucu yağlara atfedilen bir etkiyle aromatik bitkilerin kullanıldığı ilgili kaynaklardan anlaşılmaktadır. “Uçucu yağ” terimi ilk olarak 16.yüzyılda Paracelsus von Hohenheim tarafından, “bir ilacın en etkili kısmı” olarak kullanılmıştır (Edris, 2007).

Binlerce yıl boyunca aromatik bitki ve reçinelerden, zeytinyağı ve benzeri sabit yağlarla ekstre edilip, bronşit, zatürre, farenjit, diyare, yaralar ve diğer bir çok hastalık dahil olmak üzere, çeşitli insan hastalıklarını iyileştirmek için kullanılmalarına rağmen (Boire, 2013) 20. yy’ın ortalarında farmasötik preparatlarda kullanımları azalarak, uçucu yağların isimleri neredeyse tamamen parfüm, kozmetik ve gıda aromalarında geçmeye başlamıştır (Edris, 2007).

2.5.2. Uçucu yağların özellikleri

Uçucu yağlar, bitkilerden ya da bitkisel droglardan, genellikle su veya subuharı distilasyonu ile elde edilen, oda sıcaklığında sıvı halde olan, bazen de katılaştıran uçucu, kuvvetli kokulu ve yağimsı karışımlardır olarak tanımlanmıştır (Tanker ve Tanker, 1990). Bitkilerde bulunan bu uçucu yağlar, yağ cepleri ve rezervuarlar, glandüler kıllar, özelleşmiş hücreler ve hatta hücrelerarası alanlarda da bulunurlar. Oda sıcaklığında ağzı açık bir kapta kolayca buharlaştıklarından “uçucu yağ”, “eterik yağ”, çoğunlukla hoş kokulu olduklarından ve parfüm yapımında da kullanıldıklarından “esans” olarak adlandırılabilirler. Uçucu yağlar

oda sıcaklığında sıvı halde renksiz görünümündedir, kendilerine özgü karakteristik kokuları ile doymuş ya da doymamış hidrokarbonlar, alkol, aldehitler, esterler, eterler, ketonlar, oksitler, fenoller ve terpenlerin karışımlarından oluşmuştur (Mokhetho ve arkadaşları, 2018).

Teknik olarak uçucu yağlar lipid içeriğine sahip olmadıkları için gerçek yağlar değildir, bunun yerine çeşitli konsantrasyonlarda bileşenleri içeren karmaşık, kokulu, uçucu bileşiklerdir (Yap ve arkadaşları, 2014). Apiaceae (Maydanozgiller), Asteraceae (Papatyagiller), Brassicaceae (Turpgiller), Chenopodiaceae (Sirkengiller), Compositae (Bileşikgiller), Cupressaceae (Servigiller), Iridaceae (Süsengiller), Lamiaceae (Ballıbabagiller), Lauraceae (Defnegiller), Myrtaceae (Mersingiller), Pinaceae (Çamgiller), Poaceae (Buğdaygiller), Rosaceae (Gülgiller), Rutaceae (Sedefotugiller), Zingiberaceae (Zencefilgiller) familyaları uçucu yağ bakımından zengin familyalardır (Mustafa-Evren, 2011). Uçucu yağlar bitki organlarının herhangi birinde, örneğin flos (lavanta çiçeği), çiçek petali (gül), folia (nane yaprağı), fructus (anason meyvası), herba (kekik), cortex (tarçın kabuğu), radix (kediotu), lignum (gayak odunu) gibi organlarda bulunabilirler. Pinaceae ve Cupressaceae gibi familyalarda ise uçucu yağ, reçine ile beraber bulunabilir, bu uçucu yağ-reçine karışımına oleorezin denir. Uçucu yağlar, bitkilerin ait oldukları familyaya bağlı olarak salgı ceplerinde, salgı kanallarında, salgı tüylerinde, salgı kanallarında ya da belirli organda bulunabilirler. Rosaceace familyasında gül petallerinde olduğu gibi epiderma ya da parankima hücrelerinde dağılmış olarak veya Piperaceae'de olduğu gibi modifiye olmuş parankima hücrelerinde olabilirler. Uçucu yağlar, bileşimlerinde hem nitel hem de nicel olarak çok yüksek bir değişkenliğe sahiptir. Bu değişkenlikten sorumlu faktörler iki kategoride gruplandırılabilir: Bitki ile ilgili içsel faktörler (toprak tipi ve iklim) ve (ekstraksiyon yöntemi, vs.) çevre ile ilgili dış faktörlerdir. Uçucu yağ verimini ve bileşimini belirleyen faktörler birbirlerini etkilediği için; mevsimsel değişimler, bitki organı ve bitkinin olgunluk derecesi, coğrafi kökeni ve genetiği gibi faktörleri birbirinden izole etmek zordur (Dhifi ve arkadaşları, 2016).

Sinamaldehit, sitral, karvakrol, öjenol veya timol gibi esas olarak aldehitler veya fenoller içeren uçucu yağların en yüksek antibakteriyel aktivite ile karakterize edildiği, bunu terpen alkoller içeren uçucu yağların izlediği bildirilmiştir. Mirsen, α -tuyon veya geranil asetat gibi ketonlar veya esterler içeren diğer uçucu yağlar daha zayıf aktiviteye sahipken, terpen hidrokarbonlar içeren uçucu yağlar genellikle aktif değildir (Dhifi ve arkadaşları, 2016).

Genellikle, karvakrol, öjenol ve timol gibi yüksek düzeyde fenolik bileşiklerle karakterize edilen uçucu yağlar, önemli antibakteriyel aktivitelere sahiptir. Uçucu yağların kimyasal yapısı antibakteriyel aktiviteleri ile ilgili etki şekillerini etkiler. Karvakrol ve timol gibi fenolik bileşiklerde hidroksil grubunun varlığının önemi doğrulanmıştır. Bununla birlikte, fenolik hidroksil grubunun halka üzerindeki pozisyonunun, antibakteriyel aktivitenin gücünü etkilemediği görülmektedir (Dhifi ve arkadaşları, 2016).

Timol'ün *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* ve *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı etkisi, karvakrolün etkisine benzer görünmektedir. Timol, öjenol ve karvakrol, geniş bir bakteri spektrumuna (*E. coli*, *B. cereus*, *Listeria monocytogenes*, *S. enterica*, *Clostridium jejuni*, *Lactobacillus sake*, *S. aureus* ve *Helicobacter pylori*) karşı antimikrobiyal bir etkiye sahiptir. Bazı alkoller, aldehitler ve ketonlar, monoterpenler (geraniol, linalol, mentol, terpineol, tuyanol, mirsenol, sitronellal, neral, tuyon, kafur, karvon, γ -terpinen, p-simen vb.), fenilpropanlar (sinamaldehit) da güçlü antibakteriyel özelliklere sahiptir: Bu bileşikler arasında karvakrol en aktif olanıdır (Dhifi ve arkadaşları, 2016).

Timol ve karvakrol fenolik yapıda olup, redoks özelliklerine sahiptirler ve bu nedenle serbest radikallerin nötralize edilmesinde ve ayrıca peroksit ayrışmasında önemli bir rol oynarlar. Uçucu yağların antioksidan aktivitesi ayrıca belirli alkoller, eterler, ketonlar, aldehitler ve monoterpenlerden kaynaklanır: linalool, 1,8-sineol, sitronellal, izomenton, menton ve bazı monoterpenler: α -terpinen, β -terpinen ve α -terpinolen. Önemli serbest radikallerin temizleme kapasitesine sahip uçucu yağlar, beyin fonksiyon bozukluğu, kanser, kalp hastalığı ve bağışıklık sisteminin depresyonu gibi bazı hastalıkların önlenmesinde önemli bir rol oynayabilir (Dhifi ve arkadaşları, 2016).

Konvansiyonel olarak kullanılan antimikrobiyal ürünler ve uçucu yağlar arasındaki kombinasyon yeni çalışılmaya başlanmıştır. Tek başına kullanıldığında anlamlı bir inhibitör etki beklenmeyen bazı uçucu yağların, bazı ilaçlar ile birlikte kombine edildiğinde bireysel performanslarını aştığı ve gelişmiş antimikrobiyal aktivite üreten sinerjistik artırıcılar olduğu bulunmuştur. *Pelargonium graveolens* uçucu yağının, *Bacillus cereus*, *B. subtilis*, *E. coli*, ve *S. aureus*'a karşı etkili norfloksazin dozunu azalttığı bildirilmiştir (Yap ve arkadaşları, 2014).

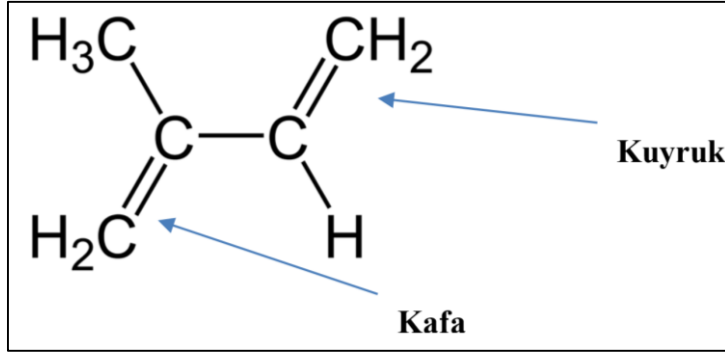
Yine yapılan başka bir çalışmada *Rosmarinus officinalis* uçucu yağı ile ciprofloxacın kombinasyonunun Gram- pozitif bakterilere karşı antagonistik etki oluştururken, Gram-negatif bakterilere karşı uygun bir sinerjik profil sergilediği gösterilmiştir (Yap ve arkadaşları, 2014).

2.5.3. Uçucu yağların içerikleri

Bitki uçucu yağlarının kimyasal bileşenleri türler arasında ve coğrafi konum, çevre ve olgunluk aşamasına göre farklılık gösterir. Bu kimyasal farklılık, çeşitli patojenik mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal aktivitelerdeki farklılıklarla doğrudan ilişkilidir.

Uçucu yağlar, hidrokarbon, alkol, keton, aldehit, eter, ester ve oksit gibi temel yapıların birkaçı veya çok daha fazlasından oluşan karışımlardır. Uçucu yağların içeriğindeki kimyasallar düz zincirli hidrokarbonlar, azot ve kükürt taşıyan bileşikler, aromatik ve terpenik maddeler olmak üzere 4 temel grup altında toplanabilir. İzopren ünitelerinden oluşan terpenler ve oksijenli türevleri uçucu yağların temel bileşenleri oldukları için burada terpenlere yer verilecektir.

Terpenler veya terpenoidler, hücrenin sitoplazması içinde mevalonik asit yolu ile sentezlenen doğal olarak ya siklik ya da açık zincirli bir yapıya sahip hidrokarbonlardır (Swamy ve arkadaşları, 2016). Antik çağlardan beri terpenlerin bazı özellikleri ve biyolojik işlevleri insanlar tarafından bilinmektedir ve bunlar dolaylı olarak baharatların parfüm ve koruyucu olarak kullanılmasıyla anlaşılmıştır (Bouyahya ve arkadaşları, 2017). Terpenler, izopren birimlerinden oluşur ve genellikle kimyasal formül $(C_5H_8)_n$ ile temsil edilir (Şekil 2.2). Terpenler asiklik, monosiklik, bisiklik veya trisiklik olabildikleri gibi kimyasal yapılarına bağlı olarak, monoterpenler $(C_{10}H_{16})$, seskiterpenler $(C_{15}H_{24})$, diterpenler $(C_{20}H_{32})$ ve triterpenler $(C_{30}H_{40})$ gibi gruplara ayrılır (Swamy ve arkadaşları, 2016).



Şekil 2.7. Terpenlerin temel izopren ünitesi (2-metil-1,3 butadien)

Biyoaktif uçucu yağların ana bileşeni (~% 90) monoterpenlerdir. Başlıca bileşiklerin bazıları monoterpen hidrokarbonları (p-simen, limonen, α -pinen ve α -pinpinen), oksijenlenmiş monoterpenleri (kafur, karvakrol, öjenol ve timol), diterpenleri (sembren C, kauren ve kamforen), seskiterpen'i içerir. Hidrokarbonlar (α -karyofillen, germakren-D ve humulen), oksijenlenmiş seskiterpenler (spatulenol, karyofil oksit), monoterpen alkolleri (geraniol, linalol ve nerol), seskiterpen alkol (patçuli), aldehitler (sitril, kuminal), asitler (geranik asit, benzoik asit), ketonlar (asetofenon, benzofenon), laktonlar (bergapten), fenoller (öjenol, timol, karvakrol ve katekol), esterler (borik asetat, etil asetat) ve kumarinlerdir (fumarin, benzofuran) (Swamy ve arkadaşları, 2016).

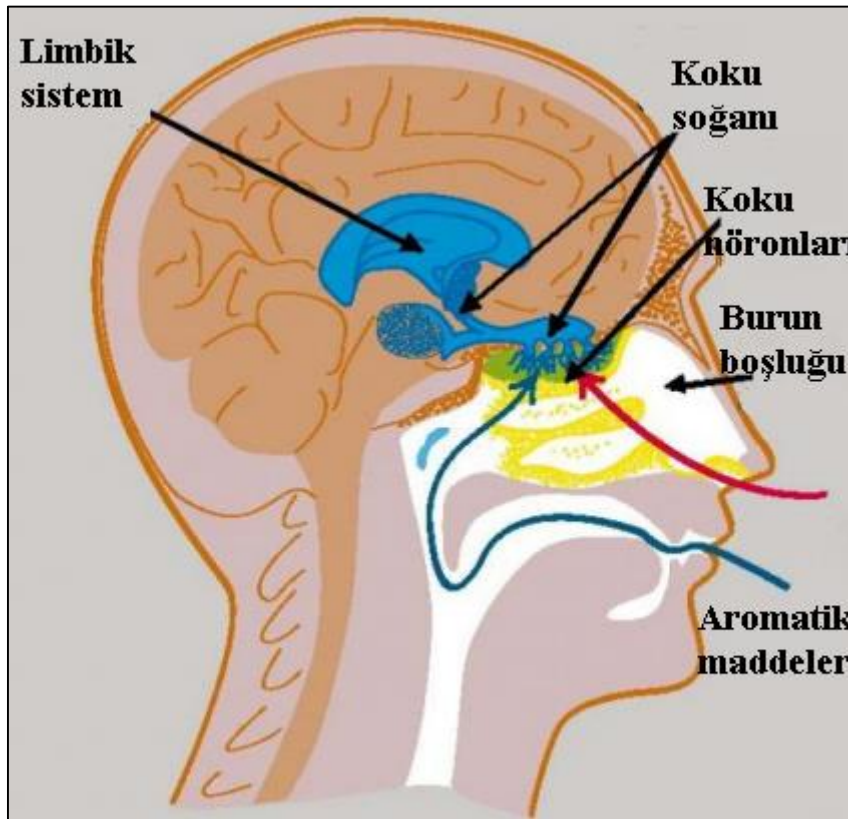
Uçucu yağlardaki terpenler bakteri hücre çeperinin lipid yapısını bozma ve nüfuz etme kabiliyetine sahiptir. Proteinlerin denatüre edilmesine ve sitoplazmik sızıntıya, hücre lizisine ve sonunda hücre ölümüne yol açan hücre zarının tahrip olmasına yol açar ve bu da bozulmadan dolayı meydana gelen pH'daki azalma, DNA transkripsiyonu, protein sentezi ve enzim aktivitesi gibi hücresel işlemlerin kontrolünün kaybolduğu anlamına gelir. Uçucu yağlar sadece hücre zarına nüfuz etmez, aynı zamanda organel ve aynı iyon sızıntı sürecinin geçirgenliğine daha fazla yol açan mitokondri zarına da nüfuz ederler (Fisher ve Phillips, 2008).

Doğada da karşılaşılan mikrobiyal tehditlerin değişkenliği göz önüne alındığında uçucu yağlar tek tek bileşenlerin çoklu bakteriyel hedeflere karşı sağladığı sinerjik etki nedeniyle genellikle geniş bir bakteri aralığını inhibe edebilirler fakat standart klinik kullanımları kolay değildir (Boire, 2013). Uçucu yağlar ticari hale getirilirken GC/MS analizleri ile kemotiplenir. Tutarlı bir uçucu yağ kalitesini sağlamak için Avrupa Farmakopesi, ISO, WHO, Council of Europe gibi analitik monograflar mevcuttur. Omik teknolojilerinin ve sistem biyoloji yaklaşımının kullanımı, günümüzde potansiyel olarak aktif tüm bileşenleri

gözönünde bulundurarak, uçucu yağları incelemek için benzeri görülmemiş bir potansiyele sahip, güçlü bir stratejidir. Bunun için çeşitli kaynaklardan ve özel yazılımlardan elde edilen büyük veritabanları kullanabileceği bildirilmiştir (Buriani ve arkadaşları, 2020).

2.5.4. Aromaterapötik uçucu yağların etki alanları

Uçucu bir bileşiğin farmakolojik olarak etki göstermesi için kan akışına, nazal ve akciğer mukozası yoluyla girmeli veya doğrudan koku alma sinirlerine ve beynin limbik sistemine yayılmalıdır.



Şekil 2.8. Koku alma sistemi (modifiye edilmiştir)

<https://i1.wp.com/lancien.cowblog.fr/images/Cerveau1/odorat.jpg>

Bu yollarla absorbe olan aromatik aktif bileşiklerin seviyesi, sindirim veya enjeksiyon ile alınan bileşiklere göre daha düşüktür. Vücuda alınan uçucu yağlar 20 dk içerisinde kan beyin bariyerini geçer ve aktif dolaşımda bulunur (Herz, 2009). Koku alma sinirleri ile limbik sisteme iletilen sinyaller, beynin serotonin, endorfin gibi hormonları salgılamasına ve dolayısıyla merkezi sinir sisteminin kontrol edilmesini sağlar (Aygül, 2015; Mertas ve arkadaşları, 2015).

Uçucu yağlar günümüzde destekleyici olarak pek çok hastalığın tedavisinde tek başına ya da bazı ilaçlarla oluşturulan kombinasyonlar ile birlikte kullanılırlar. Antibakteriyel, antiviral, antifungal, antioksidan, antidiyabetik, antienflamatuvar, antiprotozoal, antiparazit, sedatif etkilerinin yanı sıra Alzheimer, Parkinson hastalıklarında kullanıldıkları; kardiyovasküler hastalıklarda, hatta vücudun sirkadiyen ritmini düzenlemede etkili oldukları ve hücre kültüründeki sitotoksik etkileri bilinmektedir (Boire, 2013). Bu bileşikler, potansiyel anti-mikrobiyal özellikleriyle tanımlanmış olup, enfeksiyon terapisinde gelecek vadetmektedirler (Gala ve Desai, 2014).

2.5.5. Uçucu yağlara karşı oluşan potansiyel bakteriyel direnç çalışmaları

Antibiyotik direncini ortadan kaldıracak potansiyel terapötik maddeler olarak uçucu yağlara ilgi gittikçe artmaktadır. Son zamanlarda bakterilerin uçucu yağ bileşenlerine karşı direnç kazanma derecesi sistematik ve kapsamlı bir şekilde incelenmeye başlanmıştır (Yap ve arkadaşları, 2014). Terapötik olarak kullanılan uçucu yağlardaki bileşiklerin yapıları karmaşık ve çok bileşenlidir. Bu yapıları ile tek başına izole bileşiklerden daha güçlü etkiler sergiledikleri gösterilmiştir. Günümüzde, ilaçlara karşı direnç gelişimini önlemek veya geciktirmek için karmaşık ilaç karışımlarının kullanılması, önem kazanan bir terapötik stratejidir. Bitkiler bu stratejiyi hayatta kalmak için evriminin çok erken zamanlarında öğrenmiştir (Buriani ve arkadaşları, 2020).

Yapılan sınırlı çalışmalardan birisinde, 1920'lerden beri Avustralya'da kullanılan, tıbbi kullanım onayı almış olan çay ağacı uçucu yağına karşı klinik bir direnç bildirilmemiş olduğu gösterilmiştir. *In vitro* dirençli bir indüksiyon çalışmasında *S. aureus*'un birkaç kuşak boyunca çay ağacı yağına tekrar tekrar maruz kalması durumunda metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA'nın) dirençli alt popülasyonu saptanmıştır. Tersine, çok sayıda antibiyotik dirençli fenotip bakterinin duyarlılığındaki değişiklikleri araştırmak için farklı parametreler kullanan diğer iki çalışmada, çay ağacı yağına karşı direncin ortaya çıktığını gösteren çok az kanıt sağlanmıştır. Kekik ve tarçın uçucu yağlarının 50 kere ardışık maruziyetle bakteri bulaşmasını içeren bir çalışma rapor edilmiştir. Çalışmaya alınan 48 klinik izolat ve 12 referans suştan sadece *Serratia marcescens*, *Morganella morganii* ve kekik ile muamele edilmiş *Proteus mirabilis*, bu uçucu yağa karşı direncini artırmıştır. Tarçın kabuğu yağına direnç gösterilmemiştir. Genel olarak bu çalışmalar uçucu yağların direncinin kendiliğinden çıkışını gösteren sınırlı kanıtlar sağlamaktadır. Uçucu yağların çok bileşenli doğasının uçucu

yağların direncinin ortaya çıkma potansiyelini azaltabileceği düşünülmektedir (Yap ve arkadaşları, 2014).

2.6. Aromaterapötik Uçucu Yağlar ve Kullanım Alanları

Çalışmada kullanılan uçucu yağlar; *Cedrus atlantica* (Endl.) Manetti ex *Carrière* (sedir), *Citrus aurantium* var. *bergamia* (Risso & Poit.) Wight & Arn. ex Engl. (bergamot), *Citrus limonum* (L.) Osbeck (Limon), *Citrus sinensis* (L.) Osbeck (Portakal), *Eucalyptus globulus* Labill. (Okaliptüs), *Eugenia caryophyllus* Spreng. Bullock & S. Harrison (Karanfil), *Lavandula angustifolia* Mill. (Lavanta), *Melaleuca alternifolia* Maiden & Betcher (Çay ağacı), *Mentha piperita* L. (Nane), *Rosmarinus officinalis* L. (Biberiye), *Thymus vulgaris* L. (linalool kemotip) (Kekik).

2.6.1. *Cedrus atlantica* (Endl.) Manetti ex *Carrière* (Sedir)

Pinaceae familyasına ait *Cedrus atlantica* ya da Atlas sediri Kuzey Afrika (Fas, Cezayir) dağlarına ait endemik bir türdür. Hermafrodit bir tür olan sedir'in iğne yaprakları ve talaşından elde edilen uçucu yağ antimikrobiyal, antifungal, rahatlatıcı olup parfümeri ve kozmetikte kullanılır (Rhafour ve arkadaşları, 2014). Bir çalışmada Fas bölgesindeki *C. atlantica*'dan elde edilen uçucu yağın GC-MS analizinde toplam bileşimin %92.40'ını temsil eden 31 bileşiğin varlığı tespit edilmiştir (Derwich ve arkadaşları, 2010).

Çalışmamızda kullanılan sedir uçucu yağı'nın menşei Fas'tır. Sedir ağacı kabuklarından buhar distilasyonu ile elde edilen, taşıyıcı gaz olarak hidrojen kullanılan uçucu yağ berrak sarı renkte odunumsu kokuludur. Kırılma indisi (20°C): 1,5122, yoğunluğu 0,930, polarizasyonu +74.4°. Ana molekülleri β -Himakalen, α -Himakalen, γ -Himakalen'dir (İlgili fotoğraf Ek.1. Resim 2.6.1).

2.6.2. *Citrus aurantium* var. *bergamia* (Risso & Poit.) Wight & Arn. ex Engl. (Bergamot)

Citrus aurantium var. *bergamia*, Rutaceae familyasına ait bir bitkidir. Diğer türlerden mutasyonlar sonucunda oluştuğu ve İtalya'nın Calabria bölgesine ait olduğu tahmin edilmektedir. Bir başka görüşe göre de Antiller, Yunanistan ve Kanarya Adaları kökenli olabilir. Bergamot yöreye ait bir şehir olan Berga'dan türetilmiş gibi gözükmemektedir.

Dünyadaki bergamot üretiminin %90'ından fazlası Calabria bölgesinden geldiği tahmin edilmektedir. Bergamot uçucu yağı, meyvenin kabuklarını rendeleme ve soğuk presleme suretiyle elde edilir. Acı, aromatik bir tada ve karakteristik hoş bir kokuya sahip olan yeşilimsi veya kahverengimsi-sarı bir uçucu yağdır. İtalyan halk tıbbında ağız, cilt, solunum ve idrar yolu enfeksiyonlarında, gonokok ve vajinal enfeksiyonlarında, tonsillit ve boğaz ağrılarının yanı sıra ateş düşürücü ve bazı paraziter hastalıklarda kullanıldığı bilinmektedir (Navarra ve arkadaşları, 2015).

Bergamot uçucu yağının *Campylobacter jejuni*, *E. coli*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus* ve *S. aureus* ve dermatofitlere karşı hem antibakteriyel hem de antifungal aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir. Yapılan çalışmalarla antienflamatuvar, antitümör, analjezik, kardiyovasküler etkileri gösterilmiştir. Aromaterapide anksiyete, depresyon ve kronik ağrı gibi stres bozukluklarının hafif semptomlarında kullanılan bergamot uçucu yağı, inhalasyonla, limbik sistem yoluyla etki ettiği bilinmektedir. Yüksek miktarda limonen, linalool ve linalil asetat gibi doğal fitokimyasalların karışımı olan bu yağ birkaç klinik çalışmada kaygı ve stresi azaltma, antidepresan, ağrı kesici, kan basıncı ve kalp ritmini azaltmada ümit verici sonuçlar verdiği gösterilmiştir (Han ve arkadaşları, 2017).

Uçucu yağın kimyasal yapısında monoterpen ve seskiterpen hidrokarbonlar ve bunların oksijenli türevleri, alifatik aldehytler, alkoller ve esterler bulunmaktadır. Bunlar limonen (%25-53) ve linalool (%2-20), linalil asetat (%15-40) ayrıca uçucu olmayan fraksiyonlar olarak (toplamın %4-7's pigmentleri), balmumu, kumarinler ve psoralen (bergapten veya 5 MOP olarak da bilinen 5-metoksipsoralen gibi) içerir (Navarra ve arkadaşları, 2015).

Çalışmamızda kullanılan bergamot uçucu yağı'nın menşei İtalya'dır. Bergamot meyve perikarpından soğuk sıkım ile elde edilen, taşıyıcı gaz olarak hidrojen kullanılan uçucu yağ berrak, yeşilimsi sarı renkte karakteristik kokuludur. Kırılma indisi (20°C): 1,4670, yoğunluğu 0,879, polarizasyonu 26°. Ana molekülleri limonen, linalool, linalil asetat'tır (İlgili fotoğraf Ek.1. Resim 2.6.2).

2.6.3. *Citrus limonum* (L.) Osbeck (Limon)

Rutaceae familyasının önemli bitkilerinden birisidir. Bu familyada yaklaşık 16 türe rastlanmaktadır. Ağırlıklı olarak subtropikal bölgelerde yetişmektedir. *Citrus* uçucu

yağlarının %85-99'u uçucu ve %1-15 kısmı uçucu olmayan bileşenleri içerir (Fisher ve Phillips, 2008). Uçucu yağın önemli bakteri suşlarına karşı farklı kısımlarının (örneğin, yapraklar, kök, çiçek) antibakteriyel potansiyeli keşfedilmiştir. Narenciye flavonoidlerinin antibakteriyel, antifungal, antidiyabetik, antikanser ve antiviral özellikler içeren geniş bir biyolojik aktivite spektrumuna sahip olduğu gösterilmiştir. Citrus meyve kabuğu, flavonoidlerin zengin bir kaynağıdır. Flavonoidler doğrudan antioksidanlar ve serbest radikallere karşı işlev görürler ve enzimatik aktiviteleri modüle etme ve hücre çoğalmasını önleme kapasitesine sahiptir. Bitkilerde de bakteri, mantar ve virüs gibi istilacı patojenlere karşı savunmada rol oynadıkları düşünülmektedir. Farklı çözücülerle yapılan limon kabuğu ekstraktlarının gerçekleştirilen MİK (Minimum İnhibitör Konsantrasyon) testleri ile *P. aeruginosa*, *S. thypimurium* ve *Micrococcus aureus* enfeksiyonlarında başarılı olduğu gösterilmiştir (Dhanavade ve arkadaşları, 2011).

Çalışmamızda kullanılan limon uçucu yağı'nın menşei İtalya'dır. Limon ağacı perikarpından soğuk sıkım ile elde edilen, taşıyıcı gaz olarak hidrojen kullanılan uçucu yağ berrak, yeşilimsi sarı renkte karakteristik kokuludur. Kırılma indisi (20°C): 1,473, yoğunluğu 0,850, polarizasyonu 62.6°. Ana molekülleri limonen, linalool, linalil asetat'tır (İlgili fotoğraf Ek.1. Resim 2.6.3.).

2.6.4. *Citrus sinensis* (L.) Osbeck (Portakal)

C. sinensis vücudun bağışıklık sistemini güçlendiren güçlü bir doğal antioksidan olan C vitamini kaynağıdır. Geleneksel olarak kabızlık, kramplar, kolik, diyare, bronşit, tüberküloz, öksürük, soğuk algınlığı obezite, menstrüel bozukluklar, hipertansiyon, anksiyete, depresyon ve stres gibi hastalıkları tedavi etmek için kullanılmıştır (Favela-Hernández ve arkadaşları, 2016).

C. sinensis bu bitkiye atfedilen farmakolojik aktivitelere katkıda bulunan zengin bir sekonder metabolit kaynağıdır. Meyvelerde, kabuklarda, yapraklarda, meyve suyunda ve köklerinde farklı kimyasal bileşikler tanımlanmıştır. Rutaceae familyası bitkisi olan portakalda flavonoidler, steroidler, hidroksiaminler, alkanlar ve yağ asitleri, kumarinler, peptitler, karbonhidratlar, karbamatlar ve alkilaminler, karotenoidler bulunur. Uçucu yağdaki en baskın bileşik yaklaşık %94 seviyesinde limonen'dir. Çeşitli çalışmalarla uçucu yağın antibakteriyel, antifungal, antiproliferatif, antioksidan olarak farmakolojik aktiviteleri

gösterilmiştir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda obeziteye karşı olan etkinliği ve yararlarını gösteren çalışmalar yapılmıştır, ayrıca kardiyovasküler sistem üzerine olumlu etkisi, antiosteoporotik etkisi ile ilgili çalışmalar yapılmıştır (Favela-Hernández ve arkadaşları, 2016).

Çalışmamızda kullanılan portakal uçucu yağı'nın menşei Meksika'dır. Portakal meyve perikarpından soğuk sıkım ile elde edilen, taşıyıcı gaz olarak helyum kullanılan uçucu yağ berrak, turuncu sarı renkte karakteristik kokuludur. Kırılma indisi (20°C): 1,470, yoğunluğu 0,844, polarizasyonu (-). Ana molekülleri limonen, mirsen'dir (İlgili fotoğraf Ek.1. Resim 2.6.4).

2.6.5. *Eucalyptus globulus* Labill. (Okalıptüs)

Myrtaceae familyasına ait, 250 feet yüksekliğe ulaşabilen, yaprak dökmeyen, Avustralya'ya özgü bir ağaçtır. 700 tür ile temsil edilen okalıptüs, yağı, sakızı, küspesi, kerestesi tıbbi ve estetik değeri ile dünya üzerinde yetişen uzun, yaprak dökmeyen ve görkemli bir ağaç cinsidir. Uçucu yağ bitkinin odunsu olmayan kısımlarından, özellikle yeşil yapraklarından buhar veya su distilasyonu yoluyla elde edilir. Uçucu yağ terpenoidler, özellikle monoterpenler ve seskiterpenlerin ve çeşitli aromatik fenollerin, oksitlerin, eterlerin, alkollerin, esterlerin, aldehytlerin karışımlarıdır. Bitkilerdeki uçucu yağlarda monoterpenlerin bulunması, özellikle otçul böcek zararlılarına ve patojenik mantarlara karşı bitkiler için önemli bir savunma stratejisi sağlar. Uçucu yağın antifungal, antibakteriyel, sivrisinek kovucu ve antioksidan özelliklere sahip olduğu bildirilmiştir (Batish ve arkadaşları, 2008).

İmmun sistemi uyarıcı, anti-enflamatuar, antioksidan, analjezik ve spazmolitik etkileri de vardır. İnhalasyon yoluyla veya oral yoldan uygulama ile, bronşit, astım ve kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH) gibi hem pürülan hem de pürülan olmayan solunum problemlerine fayda sağlar. İyi bir güvenlik geçmişine sahip uzun bir halk kullanımı geçmişi vardır (Sadlon ve Lamson, 2010). Okalıptüs yapraklarından elde edilen uçucu yağı ve onun ana bileşeni olan 1,8-sineol, *Mycobacterium tuberculosis* ve metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA), virüsler ve mantarlar (*Candida* dahil) dahil olmak üzere birçok bakteriye karşı antimikrobiyal etkiye sahiptir (Batish ve arkadaşları, 2008).

Çalışmamızda kullanılan okaliptüs uçucu yağı'nın menşei İspanya'dır. Yaprak ve dal uçlarının buhar distilasyonu ile elde edilen, taşıyıcı gaz olarak hidrojen kullanılan uçucu yağ berrak, renksiz karakteristik kokuludur. Kırılma indisi (20°C): 1,461, yoğunluğu 0,908, polarizasyonu 0,8°. Ana molekülleri 1,8-sineol, α -pinen'dir (İlgili fotoğraf Ek.1. Resim 2.6.5).

2.6.6. *Eugenia caryophyllus* Spreng. Bullock & S. Harrison (Karanfil)

Karanfil Myrtaceae familyasına ait çok yıllık tropik bir bitkidir. Yaygın olarak tıpta ve kozmetikte uygulanan uçucu yağlar elde etmede kullanılır. Kurutulmuş çiçek tomurcuklarından elde edilen uçucu yağ, ağrıları hafifletmek için topikal uygulama ile kullanılır. Ayrıca koku ve aroma endüstrilerinde kullanılır. *E. caryophyllus* biyolojik aktivitesi patojenik bakteriler, *Herpes simplex* ve hepatit-C virüsleri dahil olmak üzere birçok mikroorganizma ve parazit üzerinde araştırılmıştır (Chaieb ve arkadaşları, 2007). Karanfil uçucu yağının antioksidan, antifungal, antikarsinojenik, anestezik, antiprotazoal olmak üzere çeşitli farmakolojik ve biyolojik aktiviteler gösterdiği bilinmektedir. Bazı çalışmalarda karanfil tomurcuklarından elde edilen uçucu yağın bazı gıda kaynaklı patojenlere karşı antibakteriyel aktivitesi olduğu bildirilmiştir. Yapılan bir çalışmada öjenol'ün *S. aureus*'a karşı yağın konsantrasyonu ve etki zamanına bağlı olarak antibakteriyel aktivite sergilediği gösterilmiştir (Xu ve arkadaşları, 2016).

Son zamanlarda yapılan bir çalışmada *Listeria monocytogenes* suşlarının büyüme oranlarının %1 ve %2 karanfil yağı ile muamele edilmesiyle önemli ölçüde azaldığı bildirilmiştir (Chaieb ve arkadaşları, 2007). Ayrıca meyve uçucu yağının *S. aureus*'a karşı güçlü bir antibakteriyel aktivite gösterdiği tespit edilirken, yapraktan elde edilen yağın da 39 $\mu\text{g/ml}$ 'lik bir MİK ile *B. cereus* 'un büyümesini kuvvetle inhibe ettiği gösterilmiştir (Chaieb ve arkadaşları, 2007). Öjenol ve karvakrol'un onikomikozdan elde edilen mantarlara karşı fungusit aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir. Yine bir başka çalışmada karanfil yağının *A. niger*'in büyümesini engellediği görülmüştür (Chaieb ve arkadaşları, 2007). Antioksidan etkisine dair yapılan çalışmalarda öjenol'ün fotokimyasal reaksiyonlarla güçlü antioksidan aktivite gösterdiği ve farmasötik uygulamalarda kullanılabilir olduğu bildirilmiştir. Yağın antitümör etkisinin de öjenolden kaynaklandığı ve majör antimitojenik bileşik dehidroöjenol'ün kanser hücrelerinin apoptozisini indüklediğine dair çalışmalar yapılmıştır. Anestezik etkisinden dolayı diş hekimliğinde kullanıldığı bilinmektedir (Chaieb ve

arkadaşları, 2007). Metanolün çözücü olarak kullanıldığı bir çalışmada Gram-pozitif ve Gram-negatif bakterilere karşı güçlü bir antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir. (Hemalatha ve arkadaşları, 2016). Yağın temel bileşeni öjenol (2-metoksi-4 allilfenol) dür. Toplam yağ bileşiminin yaklaşık %99'unu içeren karanfil uçucu yağında 23 bileşen tanımlanmıştır. Ana bileşenlerin öjenol (%76.8), bunu izleyen karyofilen (17,4), humulen (%2,1) ve öjenil asetat (1,2) olarak bulunmuştur. (Jirovetz ve arkadaşları, 2006) .

Çalışmamızda kullanılan karanfil uçucu yağı'nın menşei Madagaskar'dır. Karanfil çiçek tomurcuklarından buhar distilasyonu ile elde edilen, taşıyıcı gaz olarak hidrojen kullanılan uçucu yağ berrak, sarı-açık kahverengi renkte karakteristik kokuludur. Kırılma indisi (20°C): 1,5315, yoğunluğu 1,064, polarizasyonu -0,2°. Ana molekülleri öjenol, öjenil asetat, β -karyofilen'dir (İlgili fotoğraf Ek.1. Resim 2.6.6).

2.6.7. *Lavandula angustifolia* Mill. (Lavanta)

Lamiaceae ailesi birçok aromatik bitki içermektedir. Önemli cinslerden birisi yaklaşık 30 tür ve birçok alt türü kapsayan, Güney Avrupa'ya ve Akdeniz'e özgü çok yıllık bir çalı olan *Lavandula*'dır (Smigielski ve arkadaşları, 2009). (Fransa, İspanya, Portekiz, Macaristan, İngiltere, Bulgaristan, Avustralya, Çin ve ABD'de yaygın olarak kullanılmaktadır (Verma ve arkadaşları, 2010). Çeşitli terapötik ve kozmetik amaçlar için yüzyıllar boyu kurutulmuş veya uçucu yağ olarak kullanılmıştır. Uçucu yağ yüksek seviyede linalol ve linalil asetat ile karakterize edilir, düşük kafur içeriği ile parfüm endüstrisi tarafından tercih edilir. Gıda üretiminde aroma olarak bazı içecekler, dondurma, şekerleme, sakız ve unlu mamüller içerisinde kullanılmaktadır (Smigielski ve arkadaşları, 2009). Uçucu yağ esas olarak çiçek ve yeşil kısımlarında yoğunlaşmıştır ancak çiçeklerden elde edilen yağ daha aromatiktir. Geleneksel olarak antibakteriyel, antifungal, düz kas gevşetici, yatıştırıcı, antidepresan ve yanıklarda, böcek ısırıklarında etkili olduğuna inanılmaktadır (Tarakemeh ve arkadaşları, 2012). Bulgaristan, Fransa ve Fas, Küçük Yugoslavya, Macaristan, İtalya, Rusya, İspanya, Romanya, Ukrayna, Türkiye'de yetiştirilmektedir. Lavanta yağı mükemmel aromasıyla bilinir aromaterapi, parfümeri, aroma ve kozmetik endüstrilerinde yaygın olarak kullanılır. Temmuz-Ağustos aylarında toplanan ve taze işlenmiş çiçek başlarından izole edilen uçucu yağın verimi %0,6-1 arasındadır. *L. angustifolia* çiçeklerinden elde edilen uçucu yağ temel olarak linalil asetat, linalol, lavandulol, 1,8- sineol, lavandulil asetat ve kafurdan oluşur. Yağın sedatif, karminatif, anti-depresan ve antienflamatuar özelliklere sahip olduğu

bilinmektedir. *Candida albicans*, *Microsporum canis*, *Aspergillus fumigates*, *Fusarium oxysporum* gibi mikroorganizmalara karşı fungustatik etkiler gösterdiği bildirilmiştir (Jianu ve arkadaşları, 2013).

Çalışmamızda kullanılan lavanta uçucu yağı'nın menşei Fransa'dır. Lavanta çiçeklerinden buhar distilasyonu ile elde edilen, taşıyıcı gaz olarak hidrojen kullanılan uçucu yağ berrak, sarı-açık kahverengi renkte karakteristik kokuludur. Kırılma indisi (20°C): 14620, yoğunluğu 0,882, polarizasyonu -8,5°. Ana molekülleri linalil asetat, linalol, cis- β -osimen'dir (İlgili fotoğraf Ek.1. Resim 2.6.7).

2.6.8. *Melaleuca alternifolia* Maiden & Betche (Çay ağacı)

Melaleuca cinsinden olan *Malaleuca alternifolia* türü Myrtaceae familyasına ait, Avustralya'nın ılık, nemli doğu kıyılarında, 300 metre yükseklikte; yedi metreye kadar boylanabilen, sık bataklık alanlarda yetişen, gövde kabukları katmanlı, kağıtsı dokuda olan bir çalıdır (Carson ve arkadaşları, 2006). "Çay ağacı yağı", "TTO", "Tea Tree Oil", "Melaleuca yağı" veya "Hint defnesi" de dahil olmak üzere pek çok farklı isimlerle bilinen bir yağdır. TTO'daki terpen bileşiklerinin miktarı *Melaleuca* popülasyonuna ve kullanılan kemotipe, iklime, ağacın yaşına, yaprak maserasyonuna ve damıtma süresine bağlı olarak önemli ölçüde değişebilir (Sharifi-Rad ve arkadaşları, 2017). Bitkinin antimikrobiyal aktivitesinin esas kaynağı, bileşenlerden birisi olan terpinen-4-ol olarak bilinir. Bazı araştırmacılar TTO'da terpinen-4-ol ve 1,8-sineol bileşenleri arasındaki optimal denge olması gerektiğini, bunun hem antimikrobiyal, hem de ciltten emilimi gibi özellikler için gerekli olduğunu bildirmişlerdir. Antimikrobiyal aktiviteyi optimize etmek için terpinen-4-ol içeriğinin %30'u aşması, diğer taraftan TTO'nun uzun süre ve/veya yüksek dozda kullanımına bağlı olarak ortaya çıkan cilt ve mukoza tahriş edici etkisinin 1.8-sineol'den kaynaklandığı bilindiğinden, TTO'da bu bileşenin %15'i geçmemesi gerektiği bildirilmiştir (Mertas ve arkadaşları, 2015). Kimyasal bileşimi iyi tanımlanan TTO, terpen hidrokarbonlardan başlıca monoterpenler, seskiterpenler ve bunların ilgili alkollerinden oluşur (Carson ve arkadaşları, 2006). Bir çalışmada, *S. aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *P. aeruginosa*, *Proteus vulgaris*, *Aeromonas hydrophila*, *E. coli*, *Streptococcus pneumoniae*, *B. subtilis*, *K. pneumonia* gibi patojenik bakterilere karşı Et Suyu Seyreltme (buyyon) yöntemi ve Agar Difüzyon yöntemi ile antimikrobiyal aktivite araştırıldığında, TTO'nun kullanılan tüm bakterilere karşı tamamen etkili olduğu sonucuna varılmıştır (Sharifi-Rad ve

arkadaşları, 2017). MRSA'nın kontrolsüz yayılmasından kaynaklanabilecek potansiyel yıkıcı sonuçların önlenmesi için yapılan bir diğer çalışmanın sonucunda ise TTO alternatif topikal dekolonizasyon ajanı olarak önerilmiştir (Brady ve arkadaşları, 2006).

TTO uygulamalarına karşı mantarların duyarlılıkları neredeyse sadece *C. albicans* ile sınırlı olarak bilinirken, yeni verilerle bir dizi maya, dermatofit ve filamentli mantarların da TTO'ya duyarlı olduğu gösterilmiştir (Carson ve arkadaşları, 2006). Bugüne kadar test edilen virüslerin aralığının çok sınırlı olmasına rağmen, TTO'nun zarflı ve zarflanmamış virüslere karşı etkili olduğu gözlenmiştir (Bishop, 1995). Çalışmalar 1,8-sineol veya α -terpineol'ün insanlarda histamin kaynaklı inflamasyonla ilişkili vazodilatasyon ve plazma ekstravazasyonunu modüle ettiğini göstermiştir (Carson ve arkadaşları, 2006). TTO'nun tümör hücreleri üzerindeki etkisinin, plazma membranının lipid yapısının yeniden düzenlenmesinin indüklenmesine aracılık ettiği ileri sürülmüştür. %10 luk topikal TTO/dimetil sülfoksit (DMSO) deri altı melanomlarının büyümesini önemli ölçüde geciktirdiği gösterilmiştir (Pazyar ve arkadaşları, 2013).

Çalışmamızda kullanılan çay ağacı uçucu yağı'nın menşei Zimbabwe'dir. Çay ağacı yaprak ve terminal dalları buhar distilasyonu ile elde edilen, taşıyıcı gaz olarak hidrojen kullanılan uçucu yağ berrak, renksiz, karakteristik kokuludur. Kırılma indisi (20°C): 1,4789, yoğunluğu 0,894, polarizasyonu 9,1°. Ana molekülleri Terpinen-4-ol, γ -terpinen, α -terpinen'dir (İlgili fotoğraf Ek.1. Resim 2.6.8).

2.6.9. *Mentha piperita* L. (Nane)

Mentha piperita, Lamiaceae familyasına ait *M. spicata* ve *M. aquatica* türlerinin bir melezidir. Dünyanın ılıman bölgelerinde özellikle Avrupa, Afrika, Asya, Avustralya ve Kuzey Amerika'da yetişirken, dünyanın tüm bölgelerinde kültürü yapılmaktadır. Çok yıllık, 50-90 cm yüksekliğinde, gövdeleri genellikle morumsu veya menekşe rengindedir, çiçekleri mor ve pempemsidir (Singh ve arkadaşları, 2015). *Mentha* cinslerinin uçucu yağlarında en fazla bulunan bileşikler mentol, menton, metil asetat, limonen, izomenton, mentofuran, 1,8-sineol, d-karvon, linalol, linalil asetat, piperitenon oksit ve pulegon'dur (de Sousa ve arkadaşları, 2015). Geleneksel tıpta nane uçucu yağının antispazmodik, antiseptik, olarak ayrıca kanser, soğuk algınlığında, hazımsızlık, bulantı, boğaz ve diş ağrılarının tedavisinde de kullanıldığı bilinmektedir. *M. piperita* yağının ve farklı solventlerle ekstraksiyonlarının

antibakteriyel aktivitesi, farklı konsantrasyonlarda büyüme inhibisyon bölgelerinin çapını ölçerek değerlendirildiğinde; *S. aureus* ve *S. pyogenes* bakterilerinde sırasıyla 17,2 ve 13,1 mm inhibisyon zonu ile nane yağına karşı hassas olduğu gösterilmiştir. Gentamisin ile karşılaştırıldığında, Gram-pozitif bakterilere karşı, Gram-negatif bakterilere oranla daha güçlü ve belirgin bir inhibisyon gösterdikleri tespit edilmiştir (Singh ve arkadaşları, 2015).

Çalışmamızda kullanılan nane uçucu yağı'nın menşei Hindistan'dır. Çiçekli kısımlarından buhar distilasyonu ile elde edilen, taşıyıcı gaz olarak hidrojen kullanılan uçucu yağ berrak, renksiz, karakteristik kokuludur. Kırılma indisi (20°C): 1,461, yoğunluğu 0,905, polarizasyonu -18,8°. Ana molekülleri Terpinen-4-ol, γ -terpinen, α -terpinen'dir (İlgili fotoğraf Ek.1. Resim 2.6.9).

2.6.10. *Rosmarinus officinalis* L. (Biberiye)

Lamiaceae familyasına ait *Rosmarinus officinalis* (biberiye), yaklaşık 1 m yüksekliğe ulaşan bir çalı, herdem yeşil bir bitkidir. 1-4 cm uzunluğunda ve 2-4 mm genişliğinde, sapsız, lineer-mızrak şeklinde doğrusal, kavisli kenarları, koyu yeşil renkli, çok karakteristik kokusu ile bilinir. *R. officinalis*'ten biyoaktif bileşikler elde etmek için en çok kullanılan ekstraksiyon yöntemleri süperkritik sıvı ekstraksiyonu ile maserasyon, hidrodistillasyondur (Andrade ve arkadaşları, 2018). Su buharı distilasyonu ile elde edilen biberiye uçucu yağı (%2.5'e kadar) renksiz ya da açık sarı renkli, suda çözünmeyen karakteristik kafur aroması ile bilinir. Biberiye uçucu yağının ana bileşenleri kafur (%5,0-21), 1,8-sineol (%15-55), α -pinen (%9,026), borneol (%1,5-5,0), kamfen (%2,5)dir. Geleneksel tıpta, *R. officinalis* yaprakları antibakteriyel aktivitelerine dayanarak, karminatif olarak, ayrıca kaslarda ve eklemlerde analjezik olarak kullanılır. Biberiyenin çiçek ve yapraklarından elde edilen uçucu yağ ve ekstratlar küçük yaraları, cilt döküntülerini, baş ağrısını, dispepsi, dolaşım problemlerini tedavi etmek için kullanılır, aynı zamanda renal kolikte, balgam söktürücü, idrar söktürücü ve antispazmodik olarak da kullanılır. Biberiye sadece yemeklerde, özellikle lezzet katıcı olarak değil, geleneksel tıpta; soğuk algınlığı, romatizma, kas ağrıları ve eklem sorunlarında yaygın olarak kullanılmaktadır. Mutfakta bozulabilen yiyeceklerin raf ömrünü artıran doğal bir antioksidan olarak kullanımını, AB biberiye ekstresini doğal bir antioksidan olarak onaylamıştır (Andrade ve arkadaşları, 2018).

Çalışmamızda kullanılan biberiye uçucu yağı'nın menşei Fas'dır. Dal ve çiçeklerin buhar distilasyonu ile elde edilen, taşıyıcı gaz olarak hidrojen kullanılan uçucu yağ berrak, renksiz, karakteristik kokuludur. Kırılma indisi (20°C): 1,4669, yoğunluğu 0,913, polarizasyonu 4,2°. Ana molekülleri 1,8-sineol, β -Pinen, α -Pinen'dir (İlgili fotoğraf Ek.1. Resim 2.6.10)

2.6.11. *Thymus vulgaris* L. (Kekik)

Thymus vulgaris, Lamiaceae familyasından Avrupa ve Akdeniz'e özgü 15-30 cm boya kadar uzayabilen, herdem yeşil, çok yıllık bir çalıdır. Kekik yaprakları çok küçüktür, genellikle 2,5 ila 5 mm uzunluğundadır ve çeşitlerine bağlı olarak her tür tamamen farklı bir kokuya sahiptir. *T. vulgaris* yaprakları oval biçimdedir. Kekik, pH'ı 5.0 ila 8.0 olan iyi drene edilmiş toprakları tercih eder (Reddy, 2014). Taze yapraklarından ve çiçeklerinden elde edilen uçucu yağlar gıdalarda kullanımına ek olarak ilaç ve kozmetikte katkı maddesi olarak kullanılmaktadır. *T. vulgaris*, terapötik dozaj formlarında diğer türlerden daha fazla kullanılır (Hosseinzadeh ve arkadaşları, 2015). Linalool, borneol, geraniol, timol, karvakrol gibi bir dizi kemotipe sahiptir. Binlerce yıldır halk tarafından bazı enfeksiyonlarda, bronşit, öksürük ve bazı enflamatuvar cilt hastalıklarında, gastrointestinal sistem hastalıklarını tedavi etmede kullanılmıştır (Satyal ve arkadaşları, 2016). Kekik antiseptik, antimikrobiyal ve antioksidan, antienflamatuvar özelliklere sahip bir bitkidir. Kekikteki başlıca bileşenlerden birisi olan timol *Salmonella* ve *Ataphylococcus* bakterilerine karşı kuvvetli bakterisid etkiye sahiptir (Shabnum ve Wagay, 2011).

Çalışmamızda kullanılan kekik uçucu yağı'nın menşei İspanya'dır. Çiçeklerin buhar distilasyonu ile elde edilen, taşıyıcı gaz olarak hidrojen kullanılan uçucu yağ berrak, açık sarı, karakteristik kokuludur. Kırılma indisi (20°C): 1,4695, yoğunluğu 0,886, polarizasyonu -0,3°. Ana molekülleri limonen, linalol, geraniol, geranial'dir (İlgili fotoğraf Ek.1. Resim 2.6.11).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Uçucu yağların temini ve hazırlanması

Bu çalışmada, *Cedrus atlantica*, *Citrus aurantium* var. *bergamia*, *Citrus limonum*, *Citrus sinensis*, *Eucalyptus globulus*, *Eugenia caryophyllus*, *Lavandula angustifolia*, *Melaleuca alternifolia*, *Mentha piperita*, *Rosmarinus officinalis* ve *Thymus vulgaris* olmak üzere aromaterapide kullanılan on bir adet uçucu yağ, satın alınmıştır. Ecocert ve Bio-Cosmebio olmak üzere iki organik sertifikaya sahip olan bu uçucu yağlar batch bazında Gaz Kromatografisi (GCMS) raporları bulunan (Ekler), bitkinin ve uçucu yağın elde edildiği bölge, latince adları, kemotipleri, son kullanım tarihi bilgileri etiket üzerinde yer alan, koyu renkli şişelerde, çocuk kilidi olan kapağa sahip, belirli standartlarda olan uçucu yağlardır. Uçucu yağlar çalışmada tek başına ve aromaterapide kullanılan bazı karışımları halinde kullanılmış, karışımlar GX ve MX olarak kodlanmıştır.



Resim 3.1. Firmadan satın alınan uçucu yağ örnekleri

3.1.2. Kullanılan uçucu yağ karışımları ve hazırlanışı

GX kodlu karışım

<i>Mentha piperita</i>	5 damla,
<i>Melaleuca alternifolia</i>	5 damla,
<i>Lavandula angustifolia</i>	5 damla,
<i>Citrus aurantium</i> var. <i>bergamia</i>	2 damla,
<i>Citrus limonum</i>	4 damla,
<i>Thymus vulgaris</i>	1 damla,
<i>Lavandula angustifolia</i> hidrolatı	100 cc.

Hazırlanışı: *Lavandula angustifolia* hidrolatı içerisine sırasıyla yukarıdaki uçucu yağlar karıştırılıp çalkalanarak gargara formülasyonu hazırlanmıştır,

MX kodlu karışım

<i>Thymus vulgaris</i>	10 cc
<i>Melaleuca alternifolia</i>	10 cc

Hazırlanışı: İki uçucu yağ karıştırılarak tırnak mantarı tedavisinde kullanılan bir formülasyon hazırlanmıştır.

3.1.3. Kullanılan çözeltiler ve besi yerlerinin hazırlanışı

Çözeltiler

%0,1'lik Kristal Viyole Çözeltisi: 0,1 g kristal viyole tartılarak 100 mL'lik cam şişe içerisine konulmuştur. Son hacim distile su ile 100 mL'ye tamamlanmıştır.

%30'luk Asetik Asit Çözeltisi: 100 mL'lik cam şişe içerisine 30 mL asetik asit konularak son hacim distile su ile 100 mL'ye tamamlanmıştır.

%10 Sodyum Dodesil Sülfat (SDS) Çözeltisi: 10 g SDS tartılarak balon joje içerisine konulmuş ve son hacim 100 mL'ye tamamlanmıştır.

Serum Fizyolojik Çözeltisi: 0,9 g sodyum klorür (NaCl) tartılarak, 100 mL'lik cam şişe içerisine konulmuştur. Son hacim distile su ile 100 mL'ye tamamlanmıştır. Ardından otoklavda 121 °C'de 1,5 atm basınçla 15 dk sterilize edilmiştir.

Besiyerleri

Beyin Kalp İnfüzyon Broth: Merck üretici firmanın önerdiği şekilde 37 g besiyeri tartılıp 1 L distile suda çözülerek hazırlanmıştır.

Tryptic Soy Broth: Yaygın aerobik, fakültatif ve anaerobik bakteri ve mantarları da kapsayan çeşitli mikroorganizmaların gelişmesini destekleyecek besleyici bir besiyeridir. İçeriğinde 17 g tripton, 3 g pepton, 5 g NaCl, 2,5 g dipotasyum fosfat (K_2HPO_4) ve 2,5 gr dekstroz olup, bu içerik 1 L distile suda çözülerek hazırlanmıştır.

Luria Bertani Broth: İçeriği 5 g maya ekstraktı, 10 g pepton (kazein), 5 g NaCl şeklinde olup bu içerik 1 L distile suda çözülerek hazırlanmıştır.

Tüm besiyerleri (pH =7.0) otoklavda 1,5 atm basınçta 121°C' de 15 dk sterilize edilmiştir. Katı besiyerleri otoklavdan çıkarıldıktan sonra 45 °C'ye kadar soğutularak steril petri kaplarına 18-22 mL kadar dökülmüştür. Sıvı besiyerleri ise 10 mL'lik steril cam tüplere alınmıştır. Katı besiyerlerinin katılaşması, sıvı besiyerlerinin ise soğuması beklenerek ardından sterilite kontrolünü sağlamak amacıyla bir gece etüvde bekletilmiştir. Tüm besiyerleri +4 °C'lik buzdolabında muhafaza edilmiştir.

Bakteri suşları ve kültür koşulları

Çalışmada on bir adet uçucu yağ ve kombinasyonlarının antimikrobiyal ve antibiyofilm etkilerini belirlemek için sekiz adet Gram-negatif bakteri: *P. aeruginosa* (ATCC 27853), *E. coli* (ATCC 25922), *Acinetobacter baumannii* (ATCC 19606), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 700603), *Klebsiella oxytoca* (ATCC 43165), *Proteus mirabilis* (ATCC 7002), *Salmonella typhimurium* (ATCC 14074), *Serratia marcescens* (ATCC 27117); beş adet Gram-pozitif bakteri: *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Micrococcus luteus* (ATCC 7468), *Bacillus cereus* (ATCC 6633), *Staphylococcus epidermidis* wt ve *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213) kullanılmıştır. Bakteri suşları beyin kalp infüzyon broth ve agar besiyerlerinde 37°C'de 24-48 saat inkübasyona bırakılarak üretilmiştir. İnsan patojeni

bakteriler Aksaray Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Merkezi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda bulunan mikrobiyal kültür koleksiyonundan alınmıştır.

Biyosensör suşlar ve kültür koşulları

Aromaterapötik uçucu yağlar ve kombinasyonlarının anti-QS aktivitelerini tespit etmek amacıyla *Chromobacterium violaceum* ATCC 12472 ve *Pseudomonas aeruginosa* PA01 suşları kullanılmıştır. *C. violaceum* 12472 suşu 30°C'de, *P. aeruginosa* PA01 ise 37°C'de Luria Bertani (LB) broth veya LB agarda 24-48 saat üretilmişlerdir.

3.2. Yöntem

3.2.1. Uçucu yağ ve kombinasyonlarının antimikrobiyal etkileri

Minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK)

Aromaterapötik uçucu yağ ve kombinasyonlarının bakteri gelişiminin inhibisyonuna yol açan minimum inhibitör konsantrasyonun (MİK) belirlenmesi için Zgoda ve arkadaşları (2001)'nin geliştirdiği mikrodilüsyon yöntemi kullanılmıştır. Uçucu yağlar, steril 96 kuyucuklu mikropalakalara % hacim/hacim (v/v) konsantrasyonlarda 100 µL Brain Heart Infusion (BHI) (Beyin Kalp infüzyon) buyyon ile seyreltilmiş ve test edilen bakteriler (10^8 CFU: koloni oluşum birim/mL) her bir kuyucuğa 5 µL mikroorganizma+95 µL BHI olarak ilave edilmiştir. Kuyucuklardaki son hacim 200 µL olarak ayarlanarak 37 °C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Sonrasında yağın mikroorganizmalar üzerindeki büyüme inhibisyonunu belirlemek için mikropalakalar mikropalaka okuyucuda sadece besiyeri içeren kontrole göre 600 nm'de ölçülmüştür. Deneyde pozitif kontrol olarak gentamisin antibiyotiği kullanılmıştır. Deneyler en az iki tekrar yapılmıştır.

Agar kuyucuk difüzyon yöntemi

Antimikrobiyal etki çalışmaları Perez ve arkadaşları (1990)'nın geliştirdiği agar kuyucuk difüzyon yöntemi temel alınarak gerçekleştirilmiştir. Aromaterapötik uçucu yağlar ve kombinasyonlarının antimikrobiyal aktivitelerini belirlemek için kullanılan 13 patojen bakteri, çalışma öncesinde uygun besi ortamında yoğunlukları McFarland No: 0,5 (1×10^8 koloni oluşturan birim (kob)/mL) olacak şekilde ayarlanarak aktifleştirilmiştir.

Aktifleştirilmiş kültürlerden mikropipetle 100'er µl alınarak, BHI besiyerine drigalski spatula ile agar üzerine yayılmıştır. Sonrasında steril delgeçler ile agar içine 6 mm'lik kuyucuklar açılmıştır. Uçucu yağ ve kombinasyonları kuyucuklara 20 µl eklenmiştir. Ardından bakteriler 37°C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Çalışmada pozitif kontrol olarak bakteriler için farklı antibiyotikler: amoksisilin (2µg/ml), siproflaksin (5µg/ml) imipenem (10µg/ml), eritromisin (15µg/ml) ve gentamisin (10µg/ml) kullanılmıştır. Belirtilen inkübasyon sürelerinin sonunda petrilere oluşan inhibisyon zonları cetvel yardımıyla milimetrik olarak ölçülüp, kaydedilmiştir. Çalışmalar en az üç tekrarlı olacak şekilde yapılmıştır.

3.2.2. Uçucu yağ ve kombinasyonlarının anti-QS aktivitelerinin belirlenmesi

Kalitatif yöntem: Agar kuyucuk difüzyon testi

Çalışmada on bir adet uçucu yağ ve kombinasyonlarının anti-quorum sensing (QS) aktivitelerinin belirlenmesi için *Chromobacterium violaceum* ATCC 12472 biyosensör suşu kullanılmıştır. Uçucu yağlar ve kombinasyonları direkt olarak biyosensör suş üzerine uygulanarak, yağların anti-QS etkileri agar kuyucuk difüzyon testi ile saptanmış, mor renkli viyolasin pigmentinin kalitatif inhibisyonu kuyucuk etrafında opak inhibisyon zonları milimetrik cetvelle ölçülerek hesaplanmıştır. Tüm deneyler üç kere tekrarlanmıştır.

Kantitatif yöntem: Viyolasin pigment izolasyonu

Sıvı kültürden viyolasin pigmenti ekstraksiyonu Blosser ve Gray (2000) yöntemine göre yapılmıştır. 15 saatlik *C. violaceum* 12472 suşu 20 mL Luria Bertani besiyerindeki taze kültürden 100 µL alınarak 1 mL Luria Bertani besiyerine inoküle edilmiştir. Kontrol grubundaki tüplere sadece bakteri, test grubunda ise 20µl yağ eklenerek, tüpler 30 °C' de 48 saat çalkalamalı etüvde inkübasyona bırakılmıştır. Sonrasında her bir tüpten 200 µL kültür alınıp 1.5 mL eppendorf tüpe aktarılmıştır. Hücrenin parçalanması için üzerine 200 µL %10 SDS çözeltisi eklenip, tüpler 5 dk boyunca vorteksledikten sonra 5 dk oda sıcaklığında bekletilmiştir. Viyolasin pigmenti izolasyonu için suyla doyurulmuş olan bütanol 900 µL (50 mL n-bütanol + 10 mL distile su) olarak tüpe eklenmiş ve 5 saniye vortekslenmiştir. Daha sonra 10 000 rpm' de 5 dakika boyunca santrifüj edilmiştir. Üstteki faz yeni bir tüpe

aktarılarak 585 nanometrede mikropate spektrofotometrede okunup % viyolasin inhibisyon miktarı aşığıdaki formüle göre tespit edilmiştir.

$$\text{Viyolasin Pigment İnhibisyonu} = (A_{585 \text{ nm(kontrol)}} - A_{585 \text{ nm(test)}} / A_{585 \text{ nm(kontrol)}}) \times 100$$

A: Absorbans, Kontrol: Bakteri, Test: Bakteri + uçucu yağ / kombinasyonları

3.2.3. Yüzme (Swimming) ve Kayma (Swarming) hareketlerin inhibisyonunun tespiti

Aromaterapötik uçucu yağ ve kombinasyonlarının *P. aeruginosa* PA01 suşunun yüzme (swimming) ve kayma (swarming) hareketlerine karşı inhibisyon etkileri Sybiya Vasantha Packiavathy ve arkadaşları (2012) yöntemine göre tespit edilmiştir. Swimming inhibisyon tespiti için, bir gecelik aktif *P. aeruginosa* PA01 (10^8 cfu/mL) kültürden 3 µL alınarak %1.25 konsantrasyonda uçucu yağ içeren swimming agar (%1 tripton, %0.5 NaCl ve %0.3 agar) petrilere nokta ekim yapılmıştır. Swarming inhibisyon tespiti için ise aynı koşullardaki bir gecelik aktif *P. aeruginosa* PA01 kültüründen 5 µL alınarak aynı konsantrasyonda yağ içeren swarming agar (%1 pepton, %0.5 NaCl, %0.5 D-glikoz ve %0.5 agar) petrilere nokta ekim yapılmıştır. Petriler ters çevrilmeden 37°C’de 16 saat inkübasyona bırakılmış ve inkübasyon sonunda koloni çapları milimetrik olarak ölçülmüştür. Kontrol grubu olarak uçucu yağ eklenmeyen besiyerinde üreyen *P. aeruginosa* PA01 kullanılmıştır. % inhibisyon ise kontrol zonu yani pozitif kontroldeki koloni çapı deney grubundaki koloni çapı ile kıyaslanarak elde edilmiştir.

3.2.4. Anti-biyofilm aktivitenin belirlenmesi

Aromaterapötik uçucu yağ ve kombinasyonlarının patojen bakteriler ve *P. aeruginosa* PA01 biyofilm oluşturma yetenekleri üzerindeki inhibisyon etkisi O’Toole ve Kolter (1998) metoduna göre tespit edilmiştir. Kontrol grubu olarak 24 kuyucuklu polistren plaklara sadece bakteri kültürleri (10^8 cfu/mL) ekilmiştir. Kültürler 30°C veya 37°C’de 48 saat üretilmiştir. Sonrasında plaklardan besiyeri alınarak her bir kuyucuk 3 kez 1XPBS tamponu ile yıkanmıştır. Daha sonra bu plakların kuyucukları 65°C’ye ayarlanan etüv’de kurutularak, %1 kristal viyole çözeltisi ile 2 dk süreyle boyanmaları sağlanmıştır. Boya işleminin bitiminde kuyucuklar distile su ile 3 kez yıkanmış ve oda sıcaklığında kurumaya

bırakılmıştır. %30'luk asetik asit çözeltisi ile çözülen kuyucuklardaki kristal viyole çözeltisi 595nm'de spektrofotometre de kontrole karşı ölçülmüştür.

$$\% \text{ Biyofilm inhibisyonu} = (\text{OD}_{585 \text{ nm}}(\text{kontrol}) - \text{OD}_{585 \text{ nm}}(\text{test}) / \text{OD}_{585 \text{ nm}}(\text{kontrol})) \cdot 100$$

OD₅₈₅ Kontrol: Kontrol grubunun optik dansitesi,

OD₅₈₅ Test: Deney grubunun optik dansitesi

4. BULGULAR

Bu çalışmada aromaterapide uygulanan uçucu yağ (UY) ve kombinasyonlarının anti-mikrobiyal, anti-QS ve anti-biyofilm aktiviteleri araştırılmıştır.

4.1. Uçucu Yağ ve Kombinasyonlarının Agar Difüzyon Yöntemiyle Antimikrobiyal Aktivitelerinin Belirlenmesi

Çalışmada, bir firmadan temin edilen belli standartlardaki on bir adet UY ve hazırlanan kombinasyonlarının antimikrobiyal aktivitesi, kullanılan on üç bakteri türü üzerinde agar kuyucuk difüzyon testi ile saptanmıştır. Pozitif kontrol olarak amoksisilin (A 2µg/mL), eritromisin (E:15µg/mL), siprofloksazin (C:5 µg/mL imipenem (I:10 µg/mL) ve gentamisin (G:10µg/mL) antibiyotik diskleri kullanılmıştır.

Anti-mikrobiyal aktivite deneyleri sonucunda UY ve karışımlarının Gram-pozitif bakteriler (*Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Micrococcus luteus*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus epidermidis* ve *Staphylococcus aureus*)’e karşı oluşan inhibisyon zon çapları Çizelge 4.1’de ve Resim 4.1’de, Gram-negatif bakterilere (*Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella typhimurium*, *Serratia marcescens*) karşı oluşturduğu inhibisyon zon çapları ise Çizelge 4.2. ve Resim 4.2’de gösterilmiştir. Çalışmada (-) ile belirtilen kuyucuklarda inhibisyon zonu oluşmamış, üç tekrarlı yapılan deneyin sonuçları “ortalama ± standart hata” olarak ifade edilmiştir.

Çizelge 4.1’deki Gram-pozitif bakterilerle yapılan antibakteriyel aktivite çalışmasında *B. cereus* referans antibiyotik gentamisinle 13,00 mm zon çapı oluştururken, uçucu yağlardan oluşan GX karışımı 13,33 mm, MX karışımı ise 16,67 mm zon çapı oluşturmuştur. Diğer uçucu yağlar ise 6,00-24,00 mm arasında değişen zon çapı oluşturmuşlardır. 15 mm ve üzeri zon çapı oluşturan UY’lar incelendiğinde *E. globulus*, *C. aurantium* var. *bergamia* ve *M. alternifolia*, sırayla 15,00- 15,33-15,67 mm, *C. sinensis* ve *M. piperita* 16,33 mm, *T. vulgaris* 21,33 mm ve *L. angustifolia*’nın 24,00 mm, zon çapı oluşturduğu görülmüştür..

S. epidermidis üzerinde 15,00 mm zon çapı oluşturan referans antibiyotik eritromisin ile UY’lar karşılaştırıldığında en yüksek zon çapını 14,00 mm ile *T. vulgaris* UY’nın

oluşturduğu, diğer UY'ların ise 6,67-14,00 mm arasında zon çapı oluşturduğu tespit edilmiştir.

S. aureus üzerinde 17,00 mm zon çapı oluşturan referans antibiyotik eritromisin ile UY'ların zon çapı karşılaştırıldığında en büyük zon çapı *T. vulgaris* UY'nın ($23,33 \pm 3,06$ mm) oluşturduğu bunu *M. piperita* ($20,00 \pm 2,00$ mm) ve *L. angustifolia* ($19,00 \pm 2,65$) UY'nın oluşturduğu tespit edilmiştir. GX karışımı $17,00 \pm 3,00$ mm ile eritromisin ile aynı zon çapını oluştururken, MX karışımının $23,00 \pm 1,73$ mm zon çapı ile referans antibiyotikten daha yüksek zon çapı oluşturduğu görülmüştür.

E. faecalis üzerinde 10,00 mm zon çapı oluşturan amoksisilin, incelenen UY'lar ile karşılaştırıldığında, en yüksek etkiyi *L. angustifolia* UY $17,00 \pm 2,65$ mm zon çapı ile gösterirken bunu $11,33 \pm 1,15$ mm ile *T. vulgaris* UY izlemiştir. GX karışımı $10,00 \pm 2,00$ mm ile eritromisin ile aynı zon çapını oluştururken, MX karışımı $13,33 \pm 1,15$ mm zon çapı ile *E. faecalis*'in üzerinde referans antibiyotikten daha yüksek zon çapı gösterdiği tespit edilmiştir.

M. luteus bakterisi üzerinde $25,00 \pm 1,00$ mm zon çapı oluşturan referans antibiyotik gentamisin ile UY'lar karşılaştırıldığında 10,00-27,67 mm arasında değişen zon çapları oluşturdukları tespit edilmiştir. *M. luteus*'a karşı GX karışımı $16,00 \pm 1,73$ mm ve MX karışımı $21,00 \pm 4,58$ mm zon çapı oluştururken, en yüksek zon çapını referans antibiyotiğin de üzerinde *T. vulgaris* UY'nın $27,67 \pm 2,52$ mm ile zon çapı oluşturduğu görülmüştür (Çizelge 4.1).

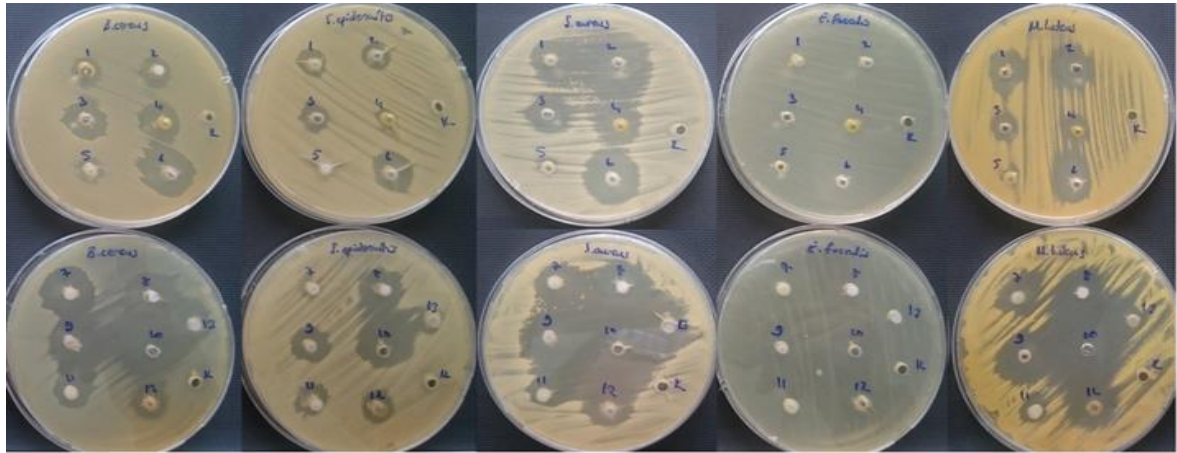
Çizelge 4.1. Uçucu yağ ve karışımlarının Gram-pozitif bakterilere karşı antimikrobiyal aktiviteleri (İnhibisyon zon çapları mm cinsinden verilmiştir)

Uçucu Yağ/Bakteri (Zon Çapı:mm)	<i>B. cereus</i> ATCC 6633	<i>S. epidermidis</i> wt	<i>S. aureus</i> ATCC 29213	<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	<i>M.luteus</i> ATCC 7468
GX	13,33±3,06	11,33±1,15	17,00±3,00	10,00±2,00	16,00±1,73
MX	16,67±4,16	13,67±3,21	23,00±1,73	13,33±1,15	21,00±4,58
<i>C. atlantica</i>	-	-	-	-	-
<i>C. aurantium var. bergamia</i>	15,33±2,31	10,00±2,00	12,67±3,06	8,67±1,15	14,00±3,61
<i>C. limonum</i>	11,00±1,00	10,67±0,58	8,67±3,79	10,00±1,00	10,00±2,00
<i>C. sinensis</i>	16,33±3,21	-	10,67±4,16	-	12,5±3,54
<i>E. caryophyllus</i>	12,00±0,00	11,67±0,58	12,33±1,53	6,67±1,15	15,33±1,53
<i>E. globulus</i>	15,00±1,00	10,67±1,15	13,00±2,65	8,33±1,53	13,00±2,65
<i>L. angustifolia</i>	24,00±4,00	14,00±2,00	19,00±2,65	17,00±2,65	19,67±4,04
<i>M. alternifolia</i>	15,67±0,58	11,33±2,31	18,00±4,00	9,33±2,31	17,33±3,06
<i>M. piperita</i>	16,33±2,52	11,67±2,89	20,00±2,00	-	15,67±0,58
<i>R. officinalis</i>	12,00±0,00	6,67±1,15	16,00±4,00	-	12,67±2,31
<i>T. vulgaris</i>	21,33±4,62	14,00±2,00	23,33±3,06	11,33±1,15	27,67±2,52
Antibiyotikler	13,00±0,21 (G)	15,00±0,70 (E)	17,00±1,67 (E)	10,00±1,05 (A)	25,00±1,00 (G)

G: Gentamisin (10 µg/ml)

E: Eritromisin (15 µg/ml)

A: Amoksisilin (2 µg/ml)



Uçucu yağ ve karışımları her bir kuyucuğa numaralandırılarak konulmuştur. 1:GX, 2:MX, 3: *Eucalyptus globulus*, 4: *Citrus aurantium var. bergamia*, 5: *Cedrus atlantica*, 6: *Lavandula angustifolia*, 7: *Citrus sinensis*, 8: *Mentha piperita*, 9: *Melaleuca alternifolia*, 10: *Thymus vulgaris*, 11: *Citrus limonum*, 12: *Eugenia caryophyllus*, 13: *Rosmarinus officinalis*.

Resim 4.1. Uçucu yağ ve karışımlarının Gram-pozitif bakterilere karşı antimikrobiyal aktiviteleri

Çizelge 4.2. Uçucu yağ ve karışımlarının Gram-negatif bakterilere karşı antimikrobiyal aktiviteleri (İnhibisyon zon çapları mm cinsinden verilmiştir)

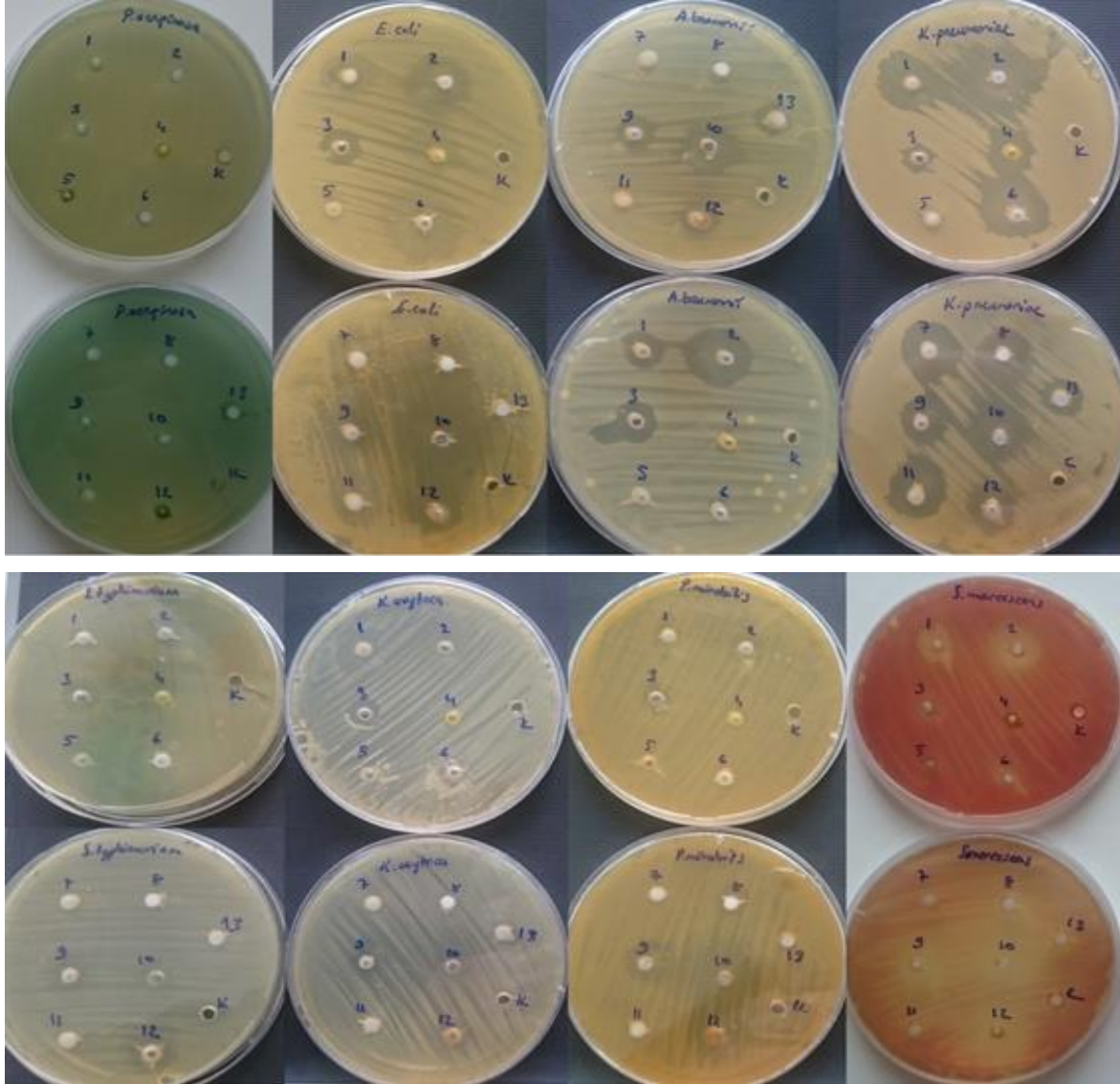
85

Uçucu yağlar (%100 v/v)	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. coli</i>	<i>A. baumannii</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>S. typhimurium</i>	<i>K. oxytoca</i>	<i>P. mirabilis</i>	<i>S. marcescens</i>
GX	-	12,67±1,15	12,67±1,15	15,00±1,00	6,67±1,15	11,67±2,08	7,33±0,58	8,00±2,00
MX	-	17,33±3,06	19,00±1,73	19,33±5,13	10,67±1,15	10,00±2,00	12,33±2,52	10,33±0,58
<i>C. atlantica</i>	-	—	—	—	—	—	—	—
<i>C. aurantum var. bergamia</i>	-	12,00±0,00	—	12,67±1,15	—	—	—	—
<i>C. limonum</i>	-	16,00±1,00	—	13,67±1,53	—	—	—	—
	-	12,00±2,00	—	15,67±1,15	—	—	—	—
<i>E. caryophyllus</i>	-	15,00±1,00	7,33±1,15	14,33±1,53	11,67±0,58	8,67±0,58	7,33±1,15	7,00±1,00
<i>E. globulus</i>	7,00±1,73	13,00±1,00	11,33±1,15	10,67±3,06	10,00±1,00	9,33±1,15	6,33±0,58	5,67±0,58
<i>L. angustifolia</i>	-	16,00±2,00	—	16,67±2,89	—	—	—	6,67±0,58
<i>M. alternifolia</i>	-	15,33±5,03	11,67±2,89	16,00±2,00	8,67±1,53	8,33±1,15	11,00±1,00	11,00±1,00
<i>M. piperita</i>	-	10,67±1,15	—	16,00±3,61	—	6,00±0,00	7,67±0,58	5,67±0,58
<i>R. officinalis</i>	-	12,33±0,58	8,33±2,08	11,00±1,00	—	6,00±0,00	—	—
<i>T. vulgaris</i>	-	20,00±2,00	14,67±1,15	18,33±1,53	8,67±1,15	9,67±1,53	9,67±0,58	10,33±0,58
Antibiyotikler	12,00±0,60 (G)	9,00±1,08 (G)	24,00±1,05 (I)	13,00±0,50 (G)	23,00±0,70 (C)	18,00±0,80 (G)	13,00±0,50 (G)	14,00±0,60 (G)

G: Gentamisin (10 µg/ml)

E: Eritromisin (15 µg/ml)

C: Siprofloksazin (5 µg/ml) I: Imipenem (10 µg/ml)



Uçucu yağ ve karışımları her bir kuyucuğa numaralandırılarak konulmuştur. 1:GX, 2:MX, 3: *Eucalyptus globulus*, 4: *Citrus aurantium* var. *bergamia*, 5: *Cedrus atlantica*, 6: *Lavandula angustifolia*, 7: *Citrus sinensis*, 8: *Mentha piperita*, 9: *Melaleuca alternifolia*, 10: *Thymus vulgaris*, 11: *Citrus limonum*, 12: *Eugenia caryophyllus*, 13: *Rosmarinus officinalis*.

Resim 4.2. Uçucu yağ ve karışımlarının Gram-negatif bakterilere karşı antimikrobiyal aktiviteleri

Çizelge 4.2 ve Resim 4.2’de görüldüğü UY’lar referans antibiyotiklerle karşılaştırmalı olarak incelenmişlerdir. Gentamisin, *P. aeruginosa* üzerinde 12 mm zon çapı oluştururken UY’lardan sadece *E. globulus* aynı bakteri üzerinde $7,00 \pm 1,73$ mm zon çapı oluşturmuş, diğer UY’lar ve karışımlar için etki tespit edilmemiştir.

A. baumannii üzerinde referans antibiyotik imipenem $24,00 \pm 1,05$ mm zon çapı oluştururken UY’lar 7,33-19,00mm aralığında zon çapları oluşturmuşlar, en yüksek zon çapı MX karışımında ($19,00 \pm 1,73$ mm) görülmüştür.

S. thyphimurium için referans antibiyotik siprofloksasin $23,00 \pm 0,70$ mm zon çapı oluştururken UY'lar ve karışımları $6,67 \pm 1,15$ - $11,67 \pm 0,58$ mm aralığında zon çapları oluşturmuşlardır.

K. oxytoca için referans antibiyotik gentamisin $18,00 \pm 0,80$ mm zon çapı oluştururken UY'lar ve karışımları $6,00 \pm 0,00$ - $11,67 \pm 2,08$ mm aralığında zon çapları oluşturmuşlardır.

P. mirabilis üzerinde referans antibiyotik $13,00 \pm 0,50$ mm zon çapı oluştururken UY'lar ve karışımları $6,33 \pm 0,58$ - $12,33 \pm 2,52$ mm aralığında zon çapları oluşturmuşlar, en yüksek zon çapı ise MX karışımında ($12,33 \pm 2,52$ mm) gözlemlenmiştir.

S. marcescens için referans antibiyotik gentamisin $14,00 \pm 0,60$ mm zon çapı oluştururken UY'lar ve karışımları $5,67 \pm 0,58$ - $11,00 \pm 1,00$ mm aralığında zon çapları oluşturmuşlardır.

Kullanılan UY'lar Gram-negatif bakterilerden *E. coli* ve *K. pneumoniae* üzerinde anlamlı etkiler göstermişlerdir (Çizelge 4.2, Resim 4.2). *E. coli* üzerinde referans antibiyotik gentamisin $9,00 \pm 1,08$ mm zon çapı oluştururken UY'lar ve kombinasyonları $6,00 \pm 0,00$ - $20,00 \pm 2,00$ mm aralığında zon çapları oluşturmuşlardır. Sadece *C. atlantica* ($6,00 \pm 0,00$ mm) referans *E. coli*'ye karşı gentamisinden daha düşük zon çapı oluşturmuş, diğer tüm UY ve karışımlar oldukça anlamlı ve referans antibiyotikten daha yüksek etki göstermişler, en yüksek zon çapını *E. coli*'ye karşı sırasıyla MX karışım ($17,33 \pm 3,06$ mm) ve *T. vulgaris* UY ($20,00 \pm 2,00$ mm) oluşturmuştur.

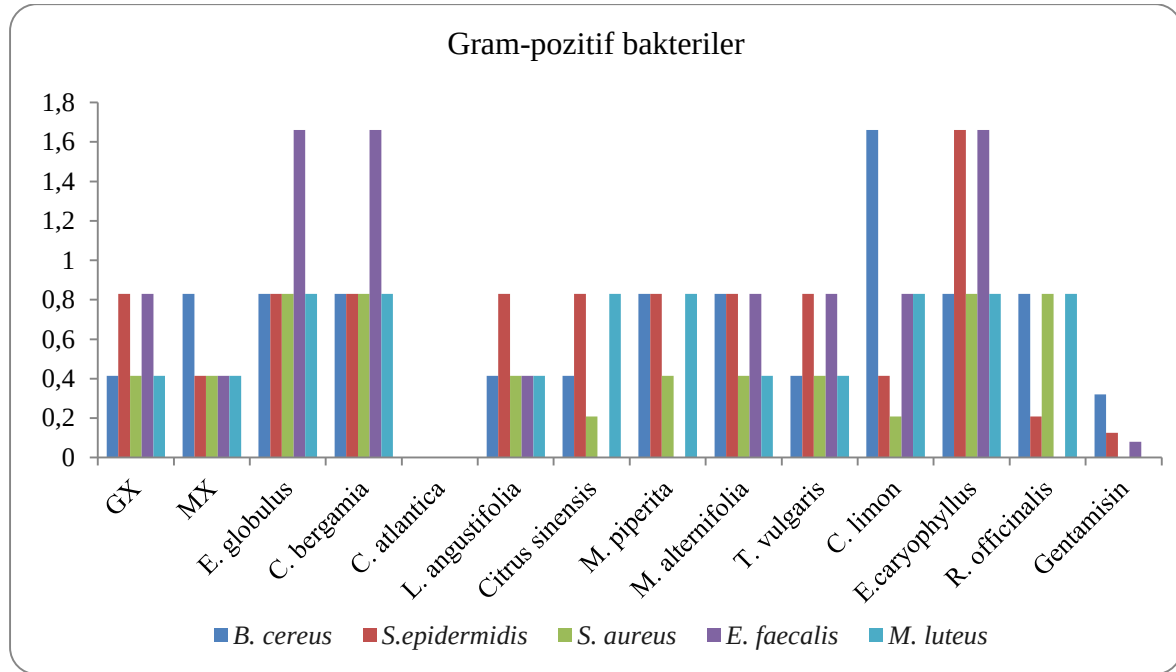
K. pneumoniae Gram-negatif bakterisi üzerinde referans antibiyotik gentamisin $13,00 \pm 0,50$ mm zon çapı oluştururken UY ve karışımları $10,67 \pm 3,06$ - $19,33 \pm 5,13$ mm aralığında zon çapları oluşturmuşlardır. Yine en yüksek zon çapını *K. pneumoniae*'ye karşı birbirine çok yakın olmakla ve referans antibiyotikten anlamlı derecede yüksek olmak üzere birlikte sırasıyla *T. vulgaris* $18,33 \pm 1,53$ mm ve MX karışım $19,33 \pm 5,13$ mm zon oluşturmuşlardır.

4.2. Uçucu Yağ ve Kombinasyonlarının MİK Değerlerinin Belirlenmesi

Çizelge 4.3 ve Şekil 4.1'de görüldüğü gibi, kullanılan uçucu yağ (UY) ve kombinasyonlarının Gram-pozitif bakteriler üzerindeki MİK değerleri Gram-negatif bakterilerden daha anlamlı gözükmemektedir. Çizelge 4.3'de görüldüğü üzere en düşük MİK değeri %0,2075 olarak bulunmuştur. Uçucu yağların (UY) bakteriler üzerinde etkileri ve

MİK değerleri incelendiğinde, *R. officinalis* UY'ın *S. epidermidis*' e karşı %0,2075; *C. sinensis* ve *C. limonum* UY'larının %0,2075 değeri ile *S. aureus* üzerinde etkili olduğu bulunmuştur. *L. angustifolia*, *C. sinensis*, *T. vulgaris* ve *GX* karışımının *B. cereus*'a karşı %0,415 değerinde etkili olduğu; *S. epidermidis* bakterisine karşı MİK değeri sadece *C. limonum* ve *MX* karışımında %0,415 olarak bulunmuştur. *L. angustifolia*, *M. piperita*, *M. alternifolia*, *T. vulgaris*, *GX* ve *MX* karışımının 0,415 MİK değerinde *S. aureus*'a karşı etkili olduğu görülmüştür. *L. angustifolia* ve *MX* karışımının da *E. faecalis* bakterisinde %0,415 MİK değerinde etkili olduğu bulunmuştur. *L. angustifolia*, *M. alternifolia*, ve *T. vulgaris* ile iki UY karışımı *GX* ve *MX*'in *M. luteus* bakterisi üzerinde %0,415 değerinde etkili oldukları gözlenmiştir.

MİK değerlerine genel olarak bakıldığında %0,2075 değeri ile *R. officinalis* UY'nın *S. epidermidis* bakterisi üzerinde, *C. sinensis* ve *C. limonum* UY'nın *S. aureus* üzerinde etkili oldukları, *MX*'in *B. cereus* dışında araştırılan dört bakteri üzerinde %0,415 MİK değerinde etkili olduğu, *GX*'in ise *B. cereus* 'ta etkili olmasının yanında *S. aureus* ve *M. luteus* üzerinde de etkili oldukları görülmüştür. (Çizelge 4.3).



Şekil 4.1. Gram-pozitif bakterilerde MİK değerleri grafiği

Çizelge 4.3. Gram-pozitif bakterilerde MİK değerleri

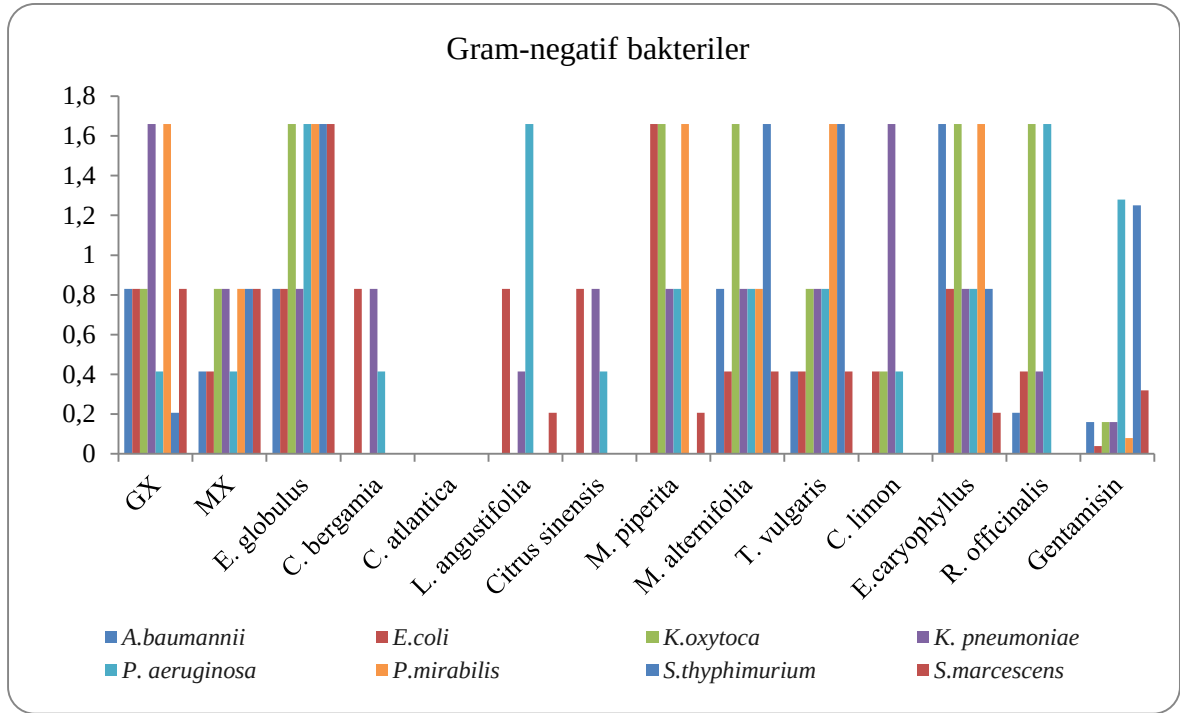
Uçucu Yağlar (% v/v)	Gram-pozitif bakteriler				
	<i>B. cereus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>M. luteus</i>
GX	0.415	0.83	0.415	0.83	0.415
MX	0.83	0.415	0.415	0.415	0.415
<i>C. atlantica</i>	1.66	-	-	-	-
<i>C. aurantium var. bergamia</i>	0.83	0.83	0.83	1.66	0.83
<i>C. limonum</i>	1.66	0.415	0.2075	0.83	0.83
<i>C. sinensis</i>	0.415	0.83	0.2075	-	0.83
<i>E. caryophyllus</i>	0.83	1.66	0.83	1.66	0.83
<i>E. globulus</i>	0.83	0.83	0.83	1.66	0.83
<i>L. angustifolia</i>	0.415	0.83	0.415	0.415	0.415
<i>M. alternifolia</i>	0.83	0.83	0.415	0.83	0.415
<i>M. piperita</i>	0.83	0.83	0.415	-	0.83
<i>R. officinalis</i>	0.83	0.2075	0.83		0.83
<i>T. vulgaris</i>	0.415	0.83	0.415	0.83	0.415
Gentamisin	0.32	0.125	0.0025	0.08	0.0025

Çizelge 4.4'te görüldüğü üzere Gram-negatif bakterilerde de en düşük MİK değeri %0,2075 olarak bulunmuştur. Bu değeri *R. officinalis* UY'ı *A. baumannii* bakterisi üzerinde; *C. atlantica* UY'ı *E. coli* bakterisi üzerinde göstermiş; *M. piperita* ve *E. caryophyllus* UY'ları *S. marcescens* bakterisi üzerinde gösterirken, GX karışımı ise *S. thyphimurium* bakterisi üzerinde aynı MİK değerinde (%0,2075) etkili olmuştur.

Takiben, %0.415 MİK değeri ile etkili olan UY'lar ve etkili oldukları bakteriler ise şunlardır: MX uçucu yağ karışımı *A. baumannii* ve *E. coli* bakterileri üzerinde etkili olmuş; *E. globulus* UY'nın Gram-negatif bakteriler üzerinde MİK değerlerinin daha yüksek olduğu (%0,83-%1,66) tespit edilmiştir. Bu UY sadece *P. aeruginosa* bakterisi üzerinde etkili bulunmuştur (Çizelge 4.4.). *L. angustifolia* UY'ı ise *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* ve *S. marcescens* bakterileri üzerinde etkili olmuştur. Yine *M. alternifolia* UY'ı en düşük MİK değeri ile (%0.415) *E. coli* ve *S. marcescens* üzerinde etkili olurken; *C. limonum* UY *E. coli* ve *K. oxytoca* bakterileri üzerinde en etkili olmuştur. *R. officinalis* UY ise %0,415 değeri ile *E. coli* ve *K. pneumoniae* bakterileri üzerinde en fazla anti-mikrobiyal etki göstermiştir (Çizelge 4.4.). Kullanılan UY'ların Gram-pozitif ve Gram-negatif bakteriler üzerindeki MİK etkinliğine genel olarak bakıldığında UY'ların Gram-pozitif bakterilere karşı yaklaşık %45 daha fazla antimikrobiyal etki gösterdiği tespit edilmiştir.

Çizelge 4.4. Gram-negatif bakterilerde MİK değerleri

Uçucu Yağlar % (v/v)	Gram-negatif bakteriler							
	<i>A. baumannii</i>	<i>E. coli</i>	<i>K. oxytoca</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>P. mirabilis</i>	<i>S. thyphimurium</i>	<i>S. marcescens</i>
GX	0,83	0,83	0,83	1,66	-	1,66	0,2075	0,83
MX	0,415	0,415	0,83	0,83	-	0,83	0,83	0,83
<i>C. atlantica</i>	-	1,66	-	-	-	-	-	-
<i>C. aurantium</i> var. <i>bergamia</i>	-	0,83	-	0,83	-	-	-	-
<i>C. limonum</i>	-	0,415	0,415	1,66	-	-	-	-
<i>C. sinensis</i>	-	0,83	-	0,83	-	-	-	-
<i>E. caryophyllus</i>	1,66	0,83	1,66	0,83	-	1,66	0,83	0,2075
<i>E. globulus</i>	0,83	0,83	1,66	0,83	1,66	1,66	1,66	1,66
<i>L. angustifolia</i>	-	0,83	-	0,415	1,66	-	-	0,2075
<i>M. alternifolia</i>	0,83	0,415	1,66	0,83	-	0,83	1,66	0,415
<i>M. piperita</i>	-	1,66	1,66	0,83	-	1,66	-	0,2075
<i>R. officinalis</i>	0,2075	0,415	1,66	0,415	1,66	-	-	-
<i>T. vulgaris</i>	0,415	0,415	0,83	0,83	-	1,66	1,66	0,415
Gentamisin	0,16	0,04	0,16	0,16	1,28	0,08	1,25	0,32



Şekil 4.2. Gram-negatif bakterilerde MİK değerleri grafiği

4.3. Uçucu Yağ ve Kombinasyonlarının Anti-QS Aktivite Sonuçları

Chromobacterium violaceum suşunun minimum inhibisyon konsantrasyon (MİK) değerleri

Çalışmada on bir adet UY ve kombinasyonlarının anti-QS aktivitelerinin belirlenmesi için *Chromobacterium violaceum* biyosensör suşu kullanılmıştır. Anti-quorum sensing (QS) aktivitenin tespiti için yağların MİK değerlerinin belirlenmesi önemli olup, yağlar üzerinde bakteriyi öldürmeyen sub-MİK dozların denenmesi gerekmektedir. Bu amaçla yağların bakteri üzerinde mikrodilüsyon testi yapılmış, UY'lar ve karışımlarının (GX ve MX) MİK değerleri (% v/v) şu şekilde bulunmuştur: GX, MX, *E. globulus*, *L. angustifolia*, *C. sinensis*, *M. piperita* UY'ları için MİK değerleri aynı olup %1,66'dır. *C. bergamia*, *M. alternifolia*, *E. caryophyllus*, *T. vulgaris* ve *R. officinalis* UY'ları için MİK değeri %0,83 olarak belirlenmiştir.

Kalitatif viyolasin inhibisyonu: Agar kuyucuk difüzyon testi

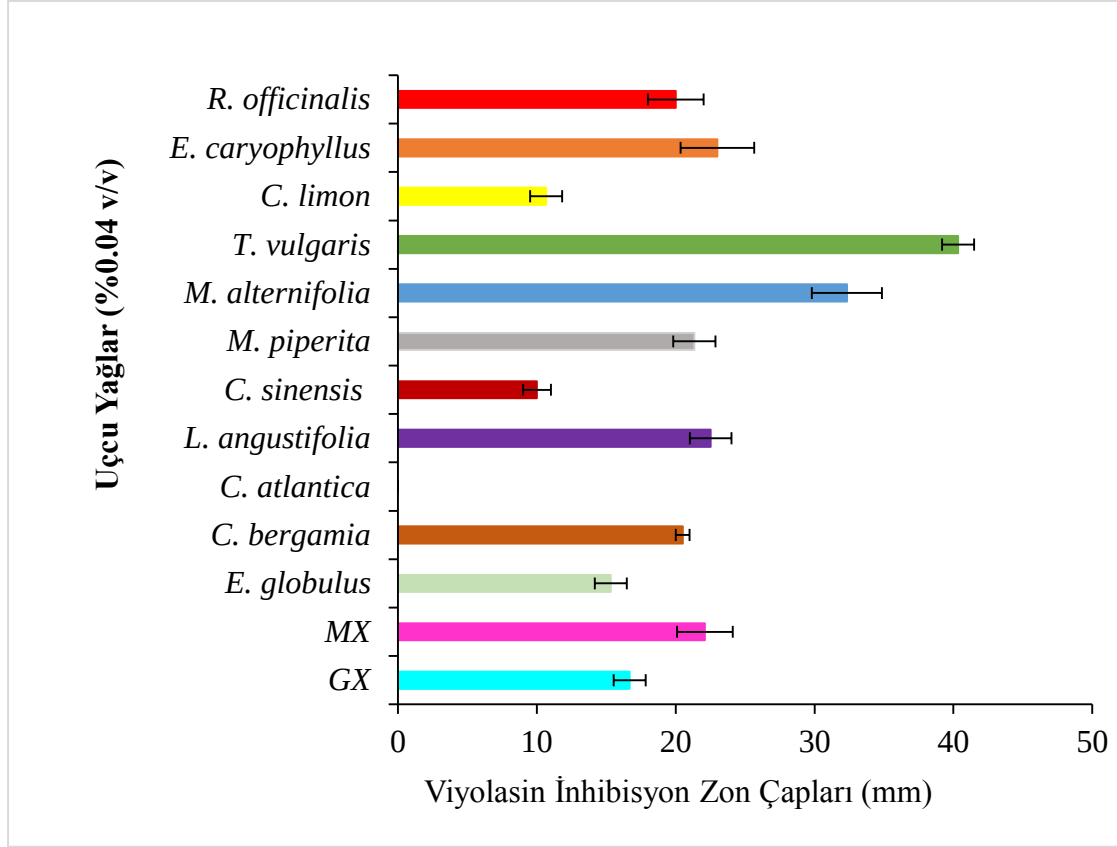
Uçucu yağ (UY) ve kombinasyonlarının biyosensör suş üzerinde sub-MİK dozu %0.4 v/v olarak tespit edilmiştir. Yağların anti-QS etkileri agar kuyucuk difüzyon testi ile saptanmış, mor renkli viyolasin pigmentinin kalitatif inhibisyonu kuyucuk etrafındaki opak inhibisyon

zonları milimetrik cetvelle ölçülerek hesaplanmıştır. Tüm deneyler en az üç defa tekrarlanmış, Çizelge 4.5’de yağların oluşturduğu zon çapları “ortalama $\pm$ standart hata” olarak gösterilmiştir. Çalışmada (-) ile belirtilen kuyucuklarda ise inhibisyon zonu oluşmamıştır.

Anti-QS deney sonuçlarına göre, UY ve karışımlarının Gram-pozitif bakterilere (*E. faecalis*, *M. luteus*, *B. cereus*, *S. epidermidis* ve *S. aureus*) karşı oluşan inhibisyon zon çapları Çizelge 4.5’te, Gram-negatif bakterilere (*P. aeruginosa*, *E. coli*, *A. baumannii*, *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *P. mirabilis*, *S. typhimurium*, *S. marcescens*) karşı oluşturduğu inhibisyon zon çapları ise Çizelge 4.6’da verilmiştir. Çalışmada (-) ile belirtilen kuyucuklarda inhibisyon zonu oluşmamış, üç tekrarlı yapılan deneyin sonuçları “ortalama $\pm$ standart hata” olarak ifade edilmiştir.

Çizelge 4.5. Uçucu yağ ve karışımlarının *C. violaceum* 12472 biyosensör suşuna karşı oluşturdukları zon çapları (mm). Anti QS aktiviteleri

Uçucu yağlar ve karışımları (%0.4 v/v)	Viyolasin İnhibisyon Zonları (mm)
GX	16,67 $\pm$ 1,15
MX	22,00$\pm$2,00
<i>C. atlantica</i>	-
<i>C. aurantium</i> var. <i>bergamia</i>	20,50$\pm$ 0,50
<i>C. limonum</i>	10,67 $\pm$ 1,15
<i>C. sinensis</i>	10,00 $\pm$ 1,00
<i>E. caryophyllus</i>	23,00$\pm$2,65
<i>E. globulus</i>	15,33 $\pm$ 1,15
<i>L. angustifolia</i>	22,5,00$\pm$1,50
<i>M. alternifolia</i>	32,33$\pm$2,52
<i>M. piperita</i>	21,33$\pm$1,53
<i>R. officinalis</i>	20,00$\pm$2,00
<i>T. vulgaris</i>	40,33$\pm$1,15



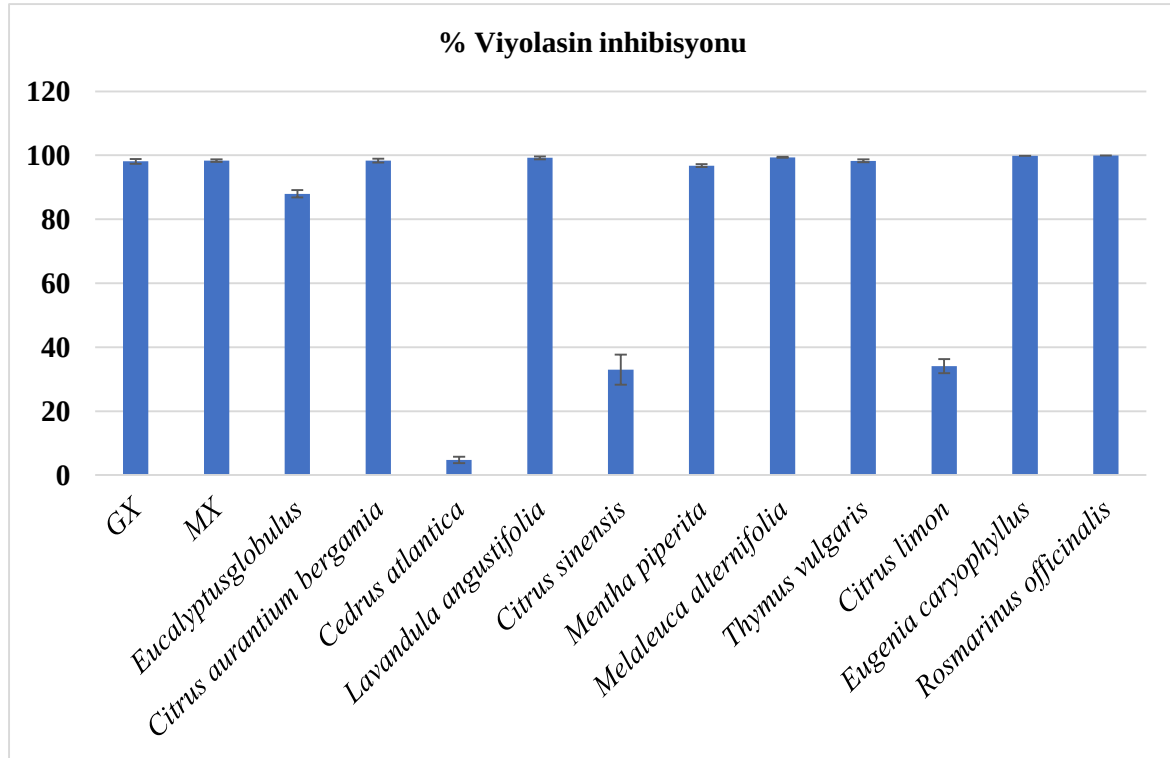
Şekil 4.3. Uçucu yağların ve karışımlarının *C. violaceum* 12472 biyosensör suşuna karşı oluşturdukları viyolasin inhibisyon zon çapları (mm)

Kantitatif Viyolasin İnhibisyonu: Spektrofotometrik Ölçüm ile Yüzde İnhibisyonun Belirlenmesi

Çalışmada uçucu yağ (UY) ve kombinasyonları *C. violaceum* 12472 biyosensör suşu üzerine yine aynı sub-MİK dozda (%0.4 v/v) uygulanmıştır. Elde edilen sonuçlara göre, on üç adet uçucu yağ (UY) tarafından kantitatif olarak spektrofotometrik yöntemle ölçülen viyolasin pigment üretiminin inhibisyonu belirlenmiştir. Buna göre *L. angustifolia* UY %99,20±0,47, *T. vulgaris* UY %99,28±0,47, *M. alternifolia* UY %99,38±0,17, *E. caryophyllus* UY %99,86±0,00, *R. officinalis* UY 99,96±0,02, GX UY karışımı %98,10±0,77, MX UY karışımı %98,34±0,42, *C. aurantium* var. *bergamia* UY %98,37±0,6, *M. piperita* UY %96,77±0,46, *E. globulus* UY %87,96±1,13, *C. limonum* UY %34,10±2,20 ve *C. atlantica* UY %4,78±1,00 oranlarında viyolasin pigment üretimini inhibe ettiği saptanmıştır (Çizelge 4.6.).

Çizelge 4.6. Uçucu yağ ve karışımlarının *C. violaceum* 12472 suşunun kantitatif viyolasin üretimine karşı % inhibisyon değerleri

Uçucu yağlar ve karışımları (%0.4 v/v)	Viyolasin inhibisyonu (%)
GX	98,10±0,77
MX	98,34±0,42
<i>C. atlantica</i>	4,78±1,00
<i>C. aurantium</i> var. <i>bergamia</i>	98,37±0,6
<i>C. limonum</i>	34,10±2,20
<i>C. sinensis</i>	32,99±4,70
<i>E. caryophyllus</i>	99,86±0,00
<i>E. globulus</i>	87,96±1,13
<i>L. angustifolia</i>	99,20±0,47
<i>M. alternifolia</i>	99,38±0,17
<i>M. piperita</i>	96,77±0,46
<i>R. officinalis</i>	99,96±0,02
<i>T. vulgaris</i>	99,28±0,47



Şekil 4.4. Uçucu yağ ve karışımlarının *C. violaceum* 12472 suşunun kantitatif viyolasin üretimine karşı % inhibisyon değerleri

4.4. *Pseudomonas aeruginosa* PA01 Suşunda Kayma (Swarming) ve Yüzme (Swimming) Hareketlerinin İnhibisyonu

Çalışmada uçucu yağ (UY) ve kombinasyonlarının *Pseudomonas aeruginosa* PA01 biyosensör suşundaki etkinliğini test etmek için öncelikle yağların MİK değerleri mikrodilüsyon yöntemiyle belirlenmiştir. Yağların bakteri üzerindeki MİK değerleri sırasıyla şu şekilde tespit edilmiştir. *E. globulus*, *L. angustifolia* ve *R. officinalis* UY'larının

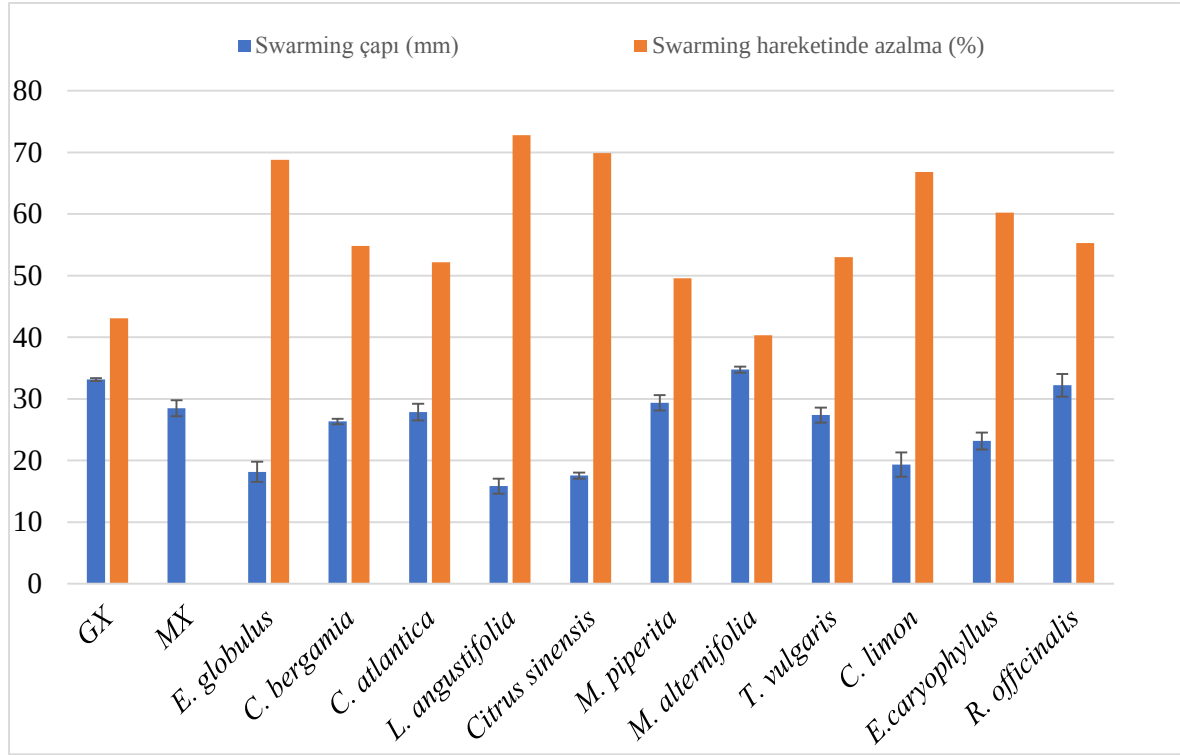
MİK değeri %0,1 (v/v); *M. piperita* ve *M. alternifolia* UY'larının MİK değeri %0,05; GX, MX, *C. bergamia*, *C. atlantica*, *C. sinensis* ve *C. limonum* UY'larının MİK değeri ise %0,03 olarak tespit edilmiştir. Buna göre, *P. aeruginosa* PA01 biyosensör suşu için UY'ların sub-MİK dozu %0.0125v/v sub-MİK olarak belirlenmiştir. Deney yapılırken ölçülen hücre sayıları da Çizelge 4.7'de gösterilmiştir. Belirlenen sub-MİK dozun bakteri hücre canlılığını etkilemediği de görülmüştür.

Kayma (swarming) hareketi inhibisyon testinde sırasıyla *L. angustifolia* UY'nın %72,8, *C. sinensis* UY'nın %70,05, *E. globulus* UY'nın %68,80, *C. limonum* UY'nın %66,79, *E. caryophyllus* UY'nın %60,20, *R. officinalis* UY'nın %55,29, *C. bergamia* UY'nın %54,79, *T. vulgaris* UY'nın %53,00, *C. atlantica* UY'nın %52,15, MX UY karışımının %51,1, *M. piperita* UY'nın %50,09, GX UY karışımının %43,09, *M. alternifolia* UY'nın %40,34 oranlarında bakterinin kayma (swarming) hareketlerini azalttığı tespit edilmiştir (Çizelge 4.7. ve Şekil 4.5.).

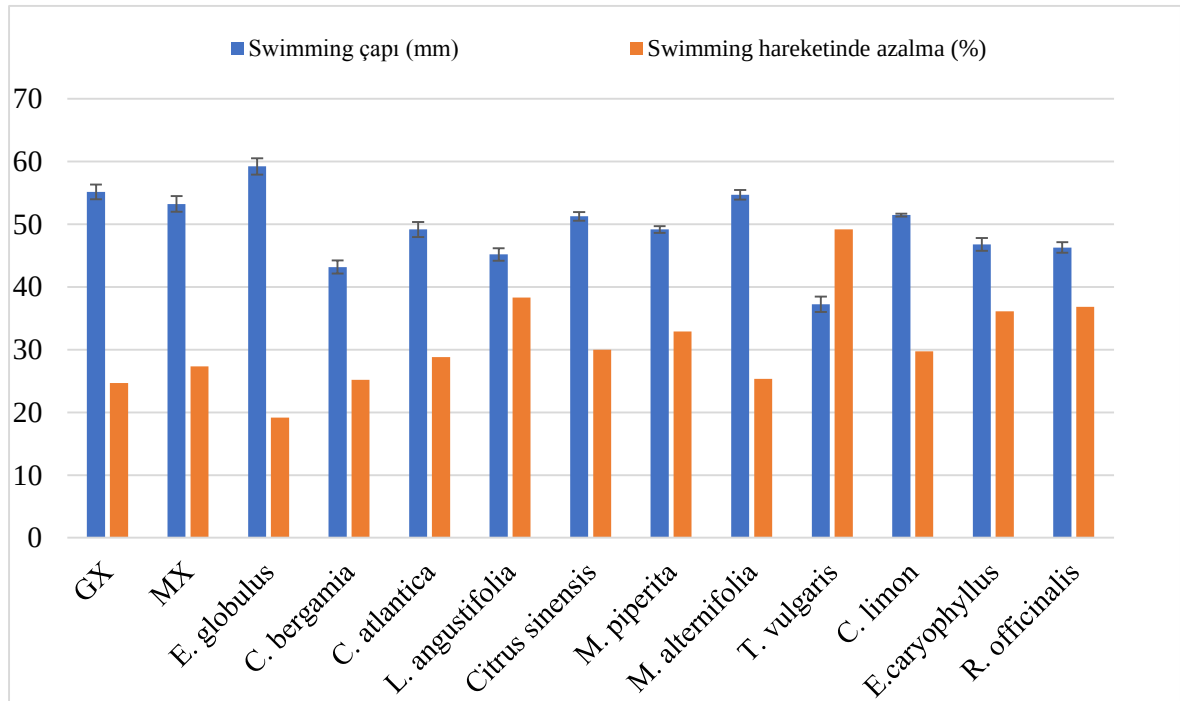
Çalışmada UY ve karışımlarının PA01 biyosensör suşunun yüzme (swimming) hareketi inhibisyon etkinlikleri sırasıyla belirlenmiştir. Buna göre, *T. vulgaris* UY %50,08, *L. angustifolia* UY %38,31, *R. officinalis* UY %36,82, *E. caryophyllus* UY %36,10, *M. piperita* UY %32,88, *C. sinensis* UY %30,01, *C. limonum* UY %30,05, *C. atlantica* UY %28,81, MX UY karışımı %27,32, *M. alternifolia* UY %25,32, *C. bergamia* UY %25,21, GX uçucu yağ karışımı %24,67 ve *E. globulus* UY %20,06 oranlarında bakterinin yüzme (swimming) hareketini azalttığı tespit edilmiştir (Çizelge 4.7. ve Şekil 4.6.).

Çizelge 4.7. Swimming ve Swarming İnhibisyon test sonuçları

Uçucu Yağlar (%0.0125 v/v)	Swarming çapı (mm)	Swarming hareketinde azalma (%)	Hücre Sayısı (Log CFU/ml)	Swimming çapı (mm)	Swimming hareketinde azalma (%)	Hücre Sayısı (Log CFU/ml)
GX	33,15±0,23	43,09	6,28	55,18±1,17	24,67	7,02
MX	28,48±1,30	51,10	6,32	53,24±1,26	27,32	6,98
<i>C. atlantica</i>	27,87±1,35	52,15	6,23	50,07±1,20	28,81	7,12
<i>C. aurantium</i> var. <i>bergamia</i>	26,33±0,45	54,79	6,27	43,18±1,06	25,21	6,86
<i>C. limonum</i>	20,34±1,98	66,79	6,78	51,46±0,25	30,05	7,10
<i>C. sinensis</i>	17,56±0,50	70,05	6,24	51,27±0,69	30,01	6,91
<i>E. caryophyllus</i>	23,18±1,38	60,20	6,18	46,81±1,02	36,10	7,16
<i>E. globulus</i>	18,17±1,65	68,80	6,42	60,02±1,30	20,06	6,97
<i>L. angustifolia</i>	15,84±1,20	72,80	6,28	45,19±10	38,31	6,93
<i>M. alternifolia</i>	34,75±0,50	40,34	6,53	54,71±0,75	25,32	6,97
<i>M. piperita</i>	30,06±1,25	50,09	6,51	50,02±0,55	32,88	6,88
<i>R. officinalis</i>	32,21±1,84	55,29	6,37	46,28±0,84	36,82	7,24
<i>T. vulgaris</i>	27,38±1,23	53,00	6,17	37,23±1,24	50,08	6,89



Şekil 4.5. Uçucu yağ ve karışımlarının *Pseudomonas aeruginosa* PA01 biyosensör şusunun kayma (swarming) hareketi inhibisyon sonuçları



Şekil 4.6. Uçucu yağ ve karışımlarının *Pseudomonas aeruginosa* PA01 biyosensör şusunun yüzme (swimming) hareketi inhibisyon sonuçları

4.5. Anti-Biyofilm Aktivite Sonuçları

Gram-pozitif bakterilerin anti-biyofilm aktiviteleri

Çalışmada kullanılan uçucu yağ (UY) ve kombinasyonlarının Gram pozitif ve Gram negatif insan patojeni bakterilerinin ve quorum sensing (QS) yapan biyosensör suşların (*C. violaceum* 12472 ve *P. aeruginosa* PA01) biyofilm üretimleri üzerine anti-biyofilm aktiviteleri araştırılmıştır. Çizelge 4.5'te görüldüğü gibi çalışmada kullanılan UY'dan *C. atlantica* dışındaki tüm yağlarda biyofilm üretimine karşı farklı yüzde oranları ile inhibisyonlar oluşmuştur. GX, MX, *E. globulus*, *C. bergamia*, *L. angustifolia*, *C. sinensis*, *M. piperita* ve *M. alternifolia* UY'ları *B. cereus* bakterisi üzerinde hiçbir inhibisyon değeri göstermemiştir, diğer taraftan pozitif kontrol olarak kullanılan amoksisilin'e kıyasla *B. cereus* bakterisi için UY'ların antibiyofilm aktiviteleri yüksekten düşüğe doğru *T. vulgaris* UY> *C. limonum* UY> *E. caryophyllus* UY> *R. officinalis* UY olarak tespit edilmiştir. Amoksisilin *S. epidermidis* bakterisinin biyofilm oluşumunu ise %80,04 inhibe etmiş, amoksisiline göre yüksekten düşüğe doğru antimikrobiyal etkinlik sıralaması *T. vulgaris* UY> *C. limonum* UY> *E. caryophyllus* UY> *R. officinalis* UY> GX UY karışımı olarak bulunmuştur. Sıralamaya konulmayan UY'lar daha az antibiyofilm aktive göstermiştir (Çizelge 4.5).

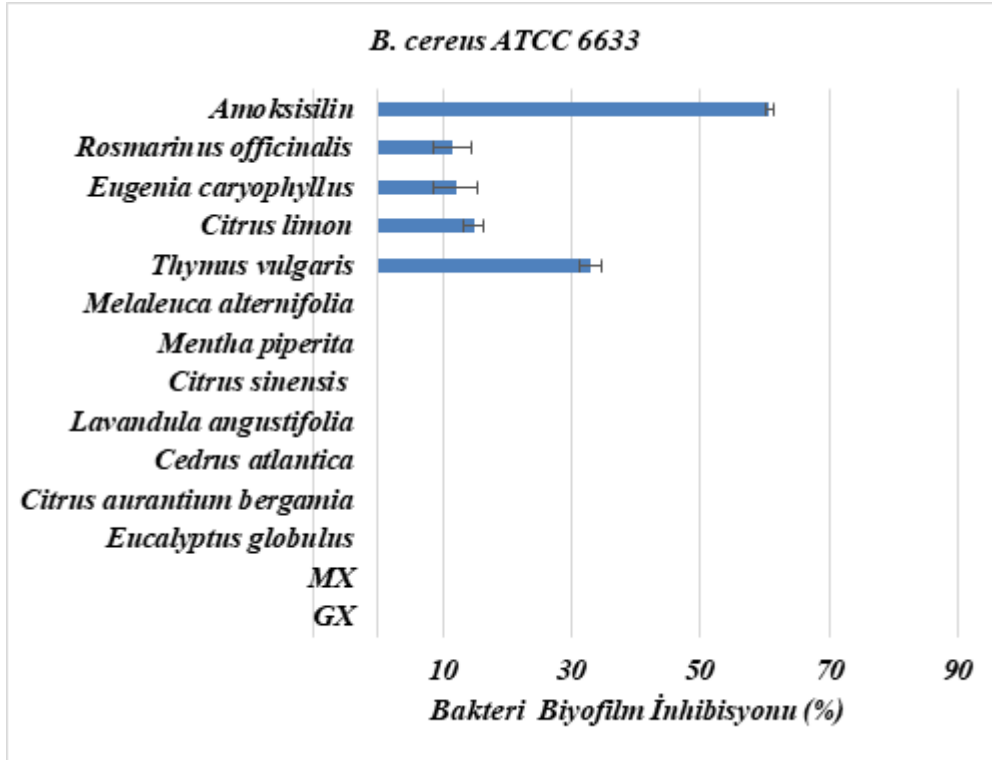
S. aureus bakterisinin biyofilm oluşumunu amoksisilin %67,00 inhibe etmiş, amoksisilin antibiyofilm aktivitesine karşılık sırasıyla yağların antibiyofilm aktiviteleri GX UY > *L. angustifolia* UY> *T. vulgaris* UY> *C. sinensis* UY> *C. bergamia* UY olarak bulunmuştur. Amoksisilin *E. faecalis* bakterisinin biyofilm oluşumunu %66,02 inhibe ederken diğer yağların antibiyofilm etkileri sırasıyla *T. vulgaris* UY> *C. limonum* UY> *M. alternifolia* UY> *L. angustifolia* UY > GX uçucu yağ karışımı olarak tespit edilmiştir. Amoksisilin *M. luteus* bakterisinin biyofilm oluşumunu %77,33 inhibe etmiş, diğer yağların antibiyofilm etkileri sırasıyla GX uçucu yağı > *T. vulgaris* UY> *L. angustifolia* UY> *M. piperita* UY> *C. limonum* UY'ları olarak saptanmıştır. Sıralamaya konulmayan UY'lar daha az antibiyofilm aktive göstermiştir (Çizelge 4.5).

Gram-pozitif bakterilerin UY'ların genel olarak anti-biyofilm aktiviteleri yüksekten düşüğe doğru GX uçucu yağı > *L. angustifolia* UY> *T. vulgaris* UY> *C. limonum* UY'ları olarak tespit edilmiştir. Diğer UY'ların etkinlikleri daha düşük bulunmuştur (Şekil 4.7- Şekil 4.11).

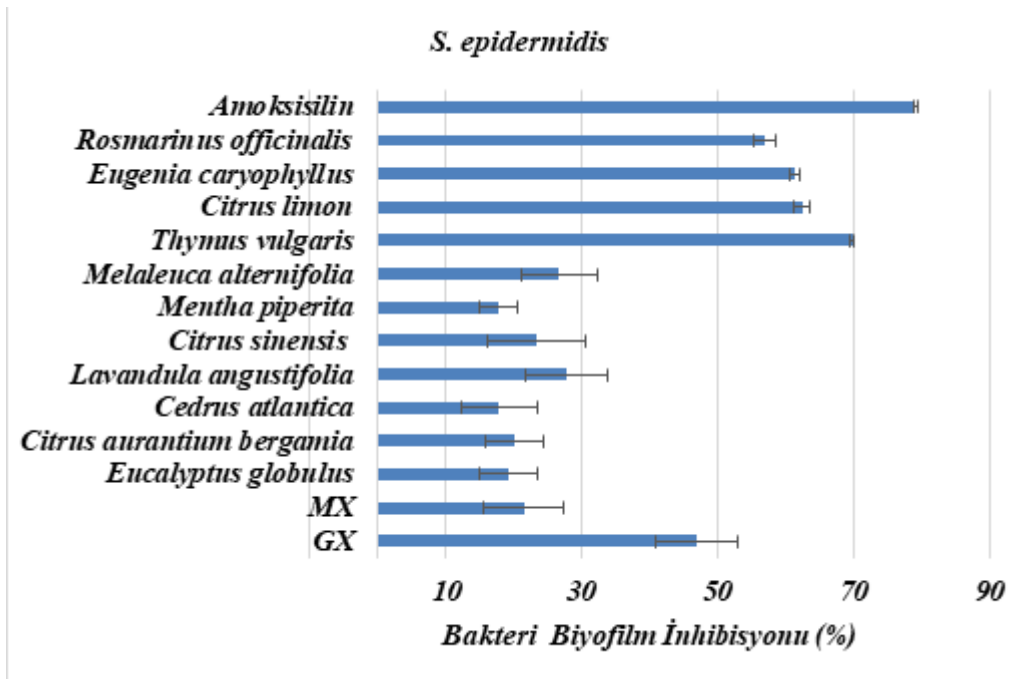
Çizelge 4.8. Uçucu yağ ve kombinasyonlarının Gram-pozitif bakterilerin biyofilm üretimine karşı % inhibisyon değerleri

70

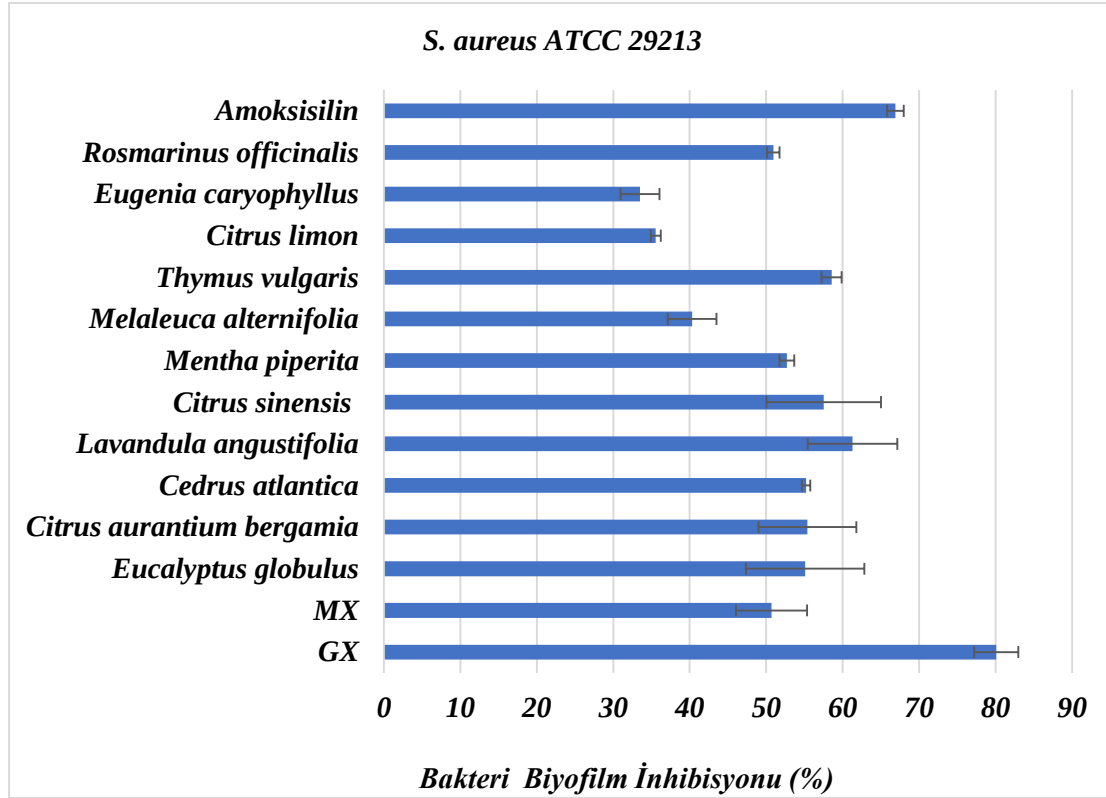
Uçucu Yağ /Bakteri Biyofilm İnhibisyonu (%0,1 v/v)	<i>B. cereus</i> ATCC 6633	<i>S. epidermitis</i> wt	<i>S. aureus</i> ATCC 29213	<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	<i>M. luteus</i> ATCC 7468
GX	-	46,84±6,04	80,09±3,00	26,64±0,31	78,00±4,07
MX	-	21,40±5,06	50,70±0,50	24,34±4,12	31,23±5,42
<i>C. atlantica</i>	-	17,83±5,62	55,22±0,55	21,11±0,70	10,44±2,80
<i>C. aurantium var. bergamia</i>	-	20,03±4,25	55,38±6,41	20,01±1,77	53,37±0,70
<i>C. limonum</i>	15,04±1,60	62,36±1,21	35,56±0,65	48,34±1,26	57,52±0,50
<i>C. sinensis</i>	-	23,40±7,22	57,53±7,48	12,73±2,05	51,48±1,45
<i>E. caryophyllus</i>	12,08±3,44	61,24±0,72	33,50±2,57	11,50±1,60	57,37±0,42
<i>E. globulus</i>	-	20,28±4,28	55,11±7,74	24,60±4,20	31,70±1,33
<i>L. angustifolia</i>	-	27,72±5,07	61,30±5,84	35,58±3,30	64,72±2,04
<i>M. alternifolia</i>	-	26,62±5,57	40,32±3,18	36,08±1,01	30,23±1,00
<i>M. piperita</i>	-	18,00±2,80	52,70±1,00	20,47±2,15	57,55±0,52
<i>R. officinalis</i>	11,50±2,06	56,83±1,54	51,03±0,80	2,67±0,04	53,22±0,56
<i>T. vulgaris</i>	33,11±1,70	70,74±0,07	58,55±1,30	50,37±2,00	65,36±0,53
Amoksisilin	60,76±0,72	80,04±0,32	67,00±1,09	66,02±0,75	77,33±0,31



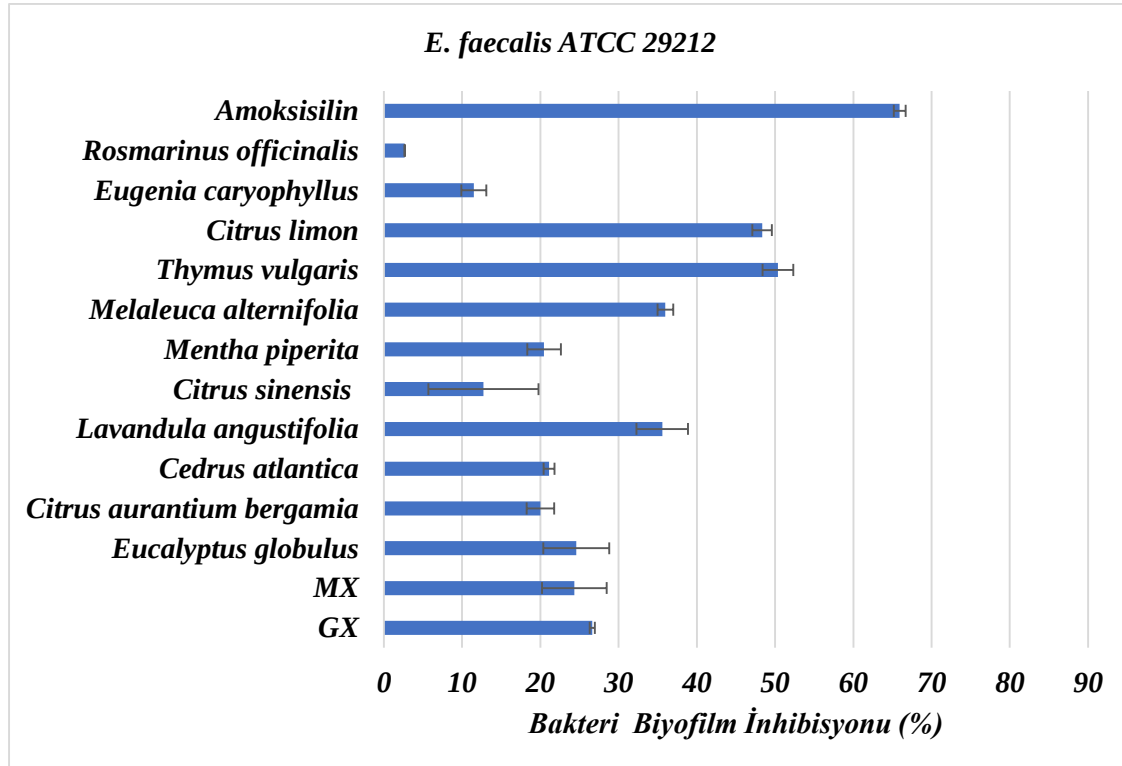
Şekil 4.7. Uçucu yağ ve kombinasyonlarının *B. cereus* ATCC 6633 suşu üzerinde anti-biyofilm etkisi



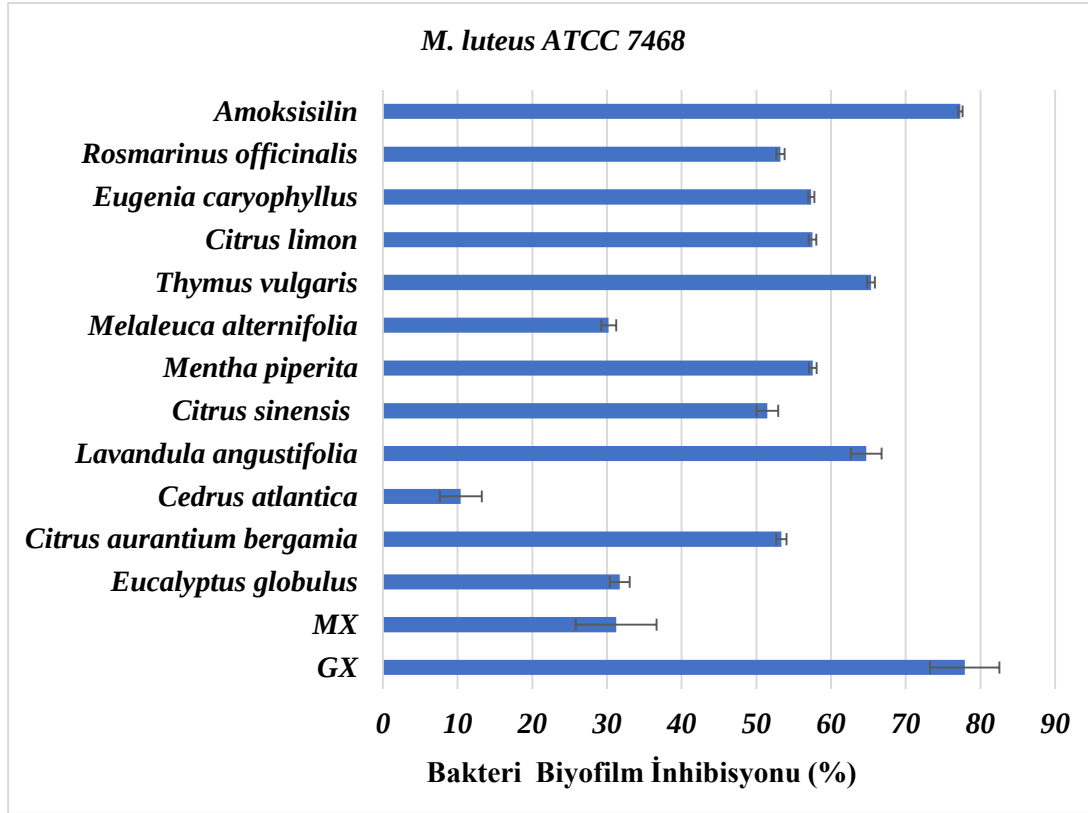
Şekil 4.8. Uçucu yağ ve kombinasyonlarının *S. epidermidis* wt suşu üzerinde anti-biyofilm etkisi



Şekil 4.9. Uçucu yağ ve kombinasyonlarının *S. aureus* ATCC 29213 suşu üzerinde anti-biyofilm etkisi



Şekil 4.10. Uçucu yağ ve kombinasyonlarının *E. faecalis* ATCC 29212 suşu üzerinde anti-biyofilm etkisi



Şekil 4.11. Uçucu yağ ve kombinasyonlarının *M. luteus* ATCC 7468 suşu üzerinde anti-biyofilm etkisi

Gram-negatif bakterilerin anti-biyofilm aktiviteleri

Gram negatif *E. coli* bakterisinin biyofilm oluşumunu, çalışmada kullanılan *E. globulus*, *C. bergamia*, *C. atlantica*, *L. angustifolia*, *C. sinensis*, *M. piperita*, *M. alternifolia* UY'larının inhibe etmediği belirlenmiştir. Aynı şekilde *R. officinalis* UY da *S. typhimurium* bakterisinin biyofilm oluşumuna karşı inhibisyon göstermemiştir. Bunların dışında kalan tüm UY'lar bakterilerin biyofilm oluşumunu farklı oranda inhibe etmiştir (Çizelge 4.9).

Gram-negatif bakterilerin biyofilm oluşumuna karşı UY'ların inhibisyon yüzdeleri şöyledir: Amoksisilin *P. aeruginosa* bakterisinin biyofilm oluşumunu %80,25 oranda inhibe etmiş, en yüksek anti-biyofilm aktivitenin GX uçucu yağ karışımında (%75,08) olduğu saptanmıştır. Sonrasında sırasıyla *T. vulgaris* UY> *C. limonum* UY>*E. caryophyllus*>*R. officinalis* UY'ları olduğu belirlenmiştir. Amoksisilin *E. coli* bakterisinin biyofilm oluşumunu %60,87 oranda inhibe etmiş, sırasıyla GX uçucu yağı>*T. vulgaris* UY>*R. officinalis* UY>*C. limonum* UY> *E. caryophyllus* UY'larının etkili olduğu belirlenmiştir. Sıralamada olmayan diğer UY'ların etkinliği daha az bulunmuştur (Çizelge 4.9).

Amoksisilin'in anti-biyofilm etkinliğine göre sonuçlar değerlendirilecek olursa, antibiyotik *A. baumannii* bakterisinin biyofilm oluşumunu %75,85 inhibe etmiş, sonrasında sırasıyla GX uçucu yağı> *R. officinalis* UY>*T. vulgaris* UY>*L. angustifolia* UY> *E. globulus* UY'ları olduğu belirlenmiştir. Antibiyotiğin anti-biyofilm aktivitesi *K. pneumoniae* bakterisi için %71,42 olup, sonrasında sırasıyla GX uçucu yağı> *C. limonum* UY>*T. vulgaris* UY> *E. caryophyllus* UY> *L. angustifolia* UY'ları olarak saptanmıştır. Sıralamaya alınmayan UY'ların anti-biyofilm aktiviteleri daha düşük bulunmuştur (Çizelge 4.9).

S. thyphimurium bakterisinin biyofilm oluşumunu amoksisilin %75,26, sonrasında sırasıyla GX uçucu yağı> *E. caryophyllus* UY> *C. sinensis* UY> MX UY> *M. piperita* UY'ları inhibe etmiştir; *K. oxytoca* bakterisinin biyofilm oluşumunu amoksisilin %63,85 inhibe ederken, sonrasında sırasıyla GX uçucu yağı> *E. caryophyllus* UY> *E. globulus* UY>*R. officinalis* UY>*M. alternifolia* UY'ları inhibe etmiş; *P. mirabilis* bakterisinin biyofilm oluşumunu amoksisilin %74,64 inhibe ederken, sonrasında sırasıyla GX uçucu yağı >*L. angustifolia* UY>MX karışımı ve *M. alternifolia* UY> *E. globulus* UY'ları inhibe etmiş; *S. marcescens* bakterisinin biyofilm oluşumunu amoksisilin %68,07 inhibe ederken, sonrasında sırasıyla MX UY> GX UY> *E. caryophyllus* UY> *T. vulgaris* UY> *L. angustifolia* UY'ları anti-biyofilm inhibisyonu göstermişlerdir. Sıralamaya alınmayan UY'ların biyofilm inhibisyon etkinlikleri daha düşük bulunmuştur (Çizelge 4.9 ve Şekil 4.12-Şekil 4.19).

Gram-negatif bakterilerde genel olarak UY'ların anti-biyofilm aktiviteleri değerlendirildiğinde yüksek inhibisyon değerinden düşüğe doğru sırasıyla; GX uçucu yağ karışımı> *E. caryophyllus* UY> *T. vulgaris* UY> *R. officinalis* UY> *L. angustifolia* UY> *C. limonum* UY'ları olarak belirlenmiştir. Diğer UY'ların etkinlikleri daha az bulunmuştur (Çizelge 4.9).

Gram-negatif bakterilerin biyofilm oluşumunun inhibisyonu, sahip oldukları ekzopolisakkarit tabakadan dolayı daha zor olsa da, GX karışımı içerisindeki UY'ların sinerjik etki yaratan kombinasyonunun en yüksek biyofilm inhibisyon değeri göstermiş olması dikkat çekici bulunmuştur.

Pseudomonas aeruginosa PA01 biyosensör suşunun anti-biyofilm aktivitesi

P. aeruginosa PA01 biyosensör suşunun biyofilm oluşumu quorum sensing mekanizması ile kontrol edilmekte olup, biyosensör suşun biyofilm üretimine karşı % inhibisyon değerleri için UY'lar %0,0125 sub-MİK dozda kullanılmıştır. En iyi anti-biyofilm aktivite gösteren UY'lar sırasıyla şöyledir. *C. sinensis* UY>*E. globulus* > *C. limonum* >*L. angustifolia* >*T. vulgaris* > GX > MX > *E. caryophyllus* >*M. alternifolia* >*C. atlantica* >*M. piperita* >*R. officinalis* > *C. bergamia* (Çizelge 4.10).

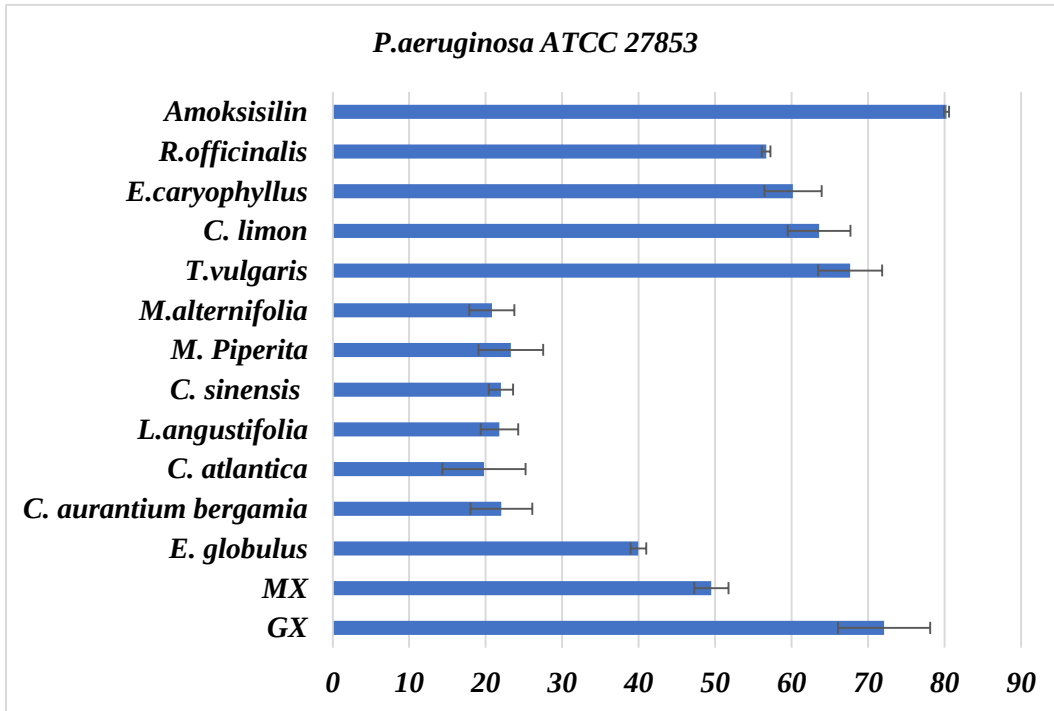
Çizelge 4.9. Uçucu yağ ve kombinasyonlarının Gram-negatif bakterilerin biyofilm üretimine karşı % inhibisyon değerleri

76

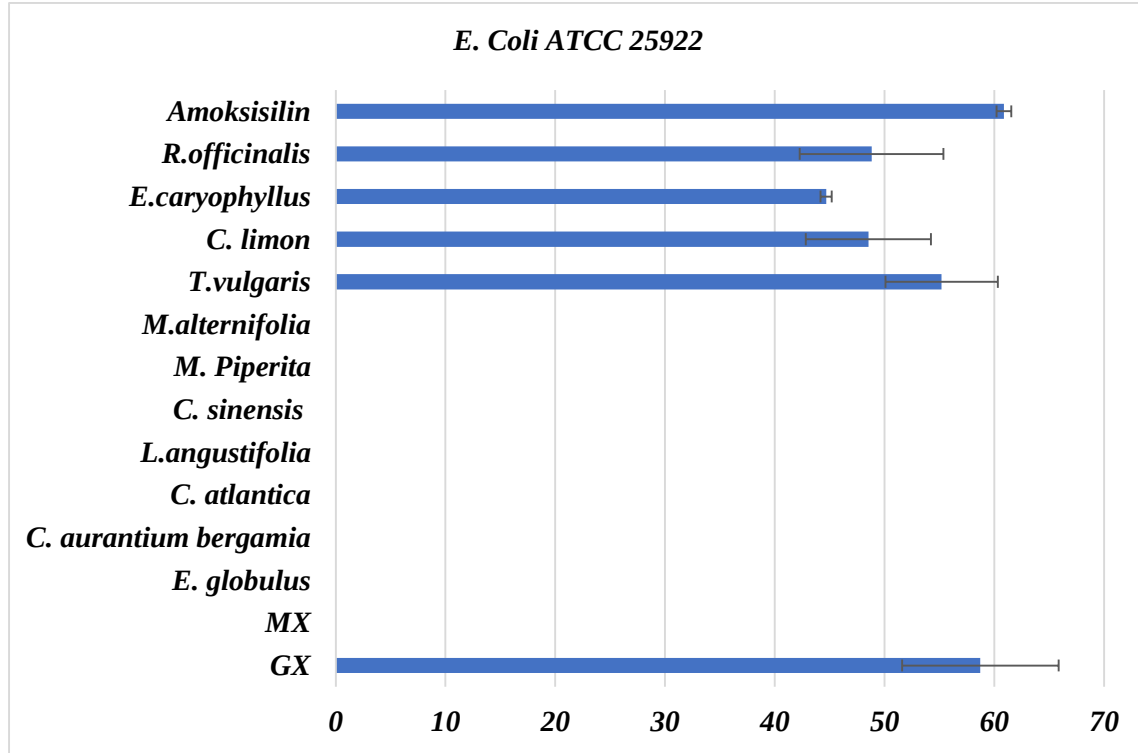
Uçucu Yağ /Bakteri Biyofilm İn. (%0,1 v/v)	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>A. baumannii</i> ATCC 19606	<i>K. pneumoniae</i> ATCC 700603	<i>S. thyphimurium</i> ATCC 14074	<i>K. oxytoca</i> ATCC 43165	<i>P. mirabilis</i> ATCC 7002	<i>S. marcescens</i> ATCC 2711
GX	75,08±4,03	58,73±7,12	61,38±5,35	50,36±9,30	47,25±1,30	63,07±1,15	66,64±4,16	57,37±4,00
MX	50,51±2,24	-	25,08±0,61	15,68±4,10	18,20±6,03	23,08±2,80	55,66±9,11	57,78±2,43
<i>C. atlantica</i>	20,78±5,45	-	22,25±0,30	16,20±0,50	11,28±0,30	15,73±5,45	15,11±0,80	11,60±0,33
<i>C. aurantium var. bergamia</i>	22,05±4,05	-	22,26±0,30	16,22±0,56	11,25±0,28	4,36±0,20	21,54±2,11	8,00±0,80
<i>C. limonum</i>	63,60±2,10	48,53±5,71	10,50±0,26	54,45±0,60	1,60±0,03	25,54±1,45	27,17±0,04	18,53±0,91
<i>C. sinensis</i>	22,00±1,60	-	23,30±3,20	23,57±8,70	40,02±0,02	6,64±0,40	20,50±1,30	17,17±5,14
<i>E. caryophyllus</i>	60,17±3,75	44,68±0,52	18,35±0,06	43,17±1,00	46,12±0,50	36,80±1,82	35,75±0,78	40,76±0,70
<i>E. globulus</i>	41,00±1,02	-	30,32±5,21	15,28±1,60	16,58±3,72	35,13±7,40	51,00±2,00	22,08±4,02
<i>L. angustifolia</i>	21,80±2,44	-	33,00±7,04	40,00±6,18	4,70±1,04	30,73±7,40	63,24±6,40	23,55±1,60
<i>M. alternifolia</i>	20,80±3,00	-	28,02±7,06	20,03±6,15	11,32±0,66	33,00±1,50	55,66±2,60	38,41±1,11
<i>M. piperita</i>	23,28±4,22	-	23,00±0,65	16,44±0,56	17,83±4,02	28,40±2,42	51,61±1,22	30,34±2,43
<i>R. officinalis</i>	56,68±0,57	50,02±6,54	45,68±1,45	26,63±1,17	-	33,25±1,44	15,86±0,52	20,80±0,50
<i>T. vulgaris</i>	67,67±2,20	55,20±5,11	40,00±1,00	47,04±1,18	3,82±0,04	41,08±1,71	41,17±0,33	40,25±1,30
<i>Amoksisilin</i>	80,25±0,32	60,87±0,67	75,85±0,10	71,42±0,20	75,26±0,08	63,85±0,80	74,64±0,30	68,07±0,31

Çizelge 4.10. Uçucu yağ ve kombinasyonlarının *Pseudomonas aeruginosa* biyosensör suşunun biyofilm üretimine karşı % inhibisyon değerleri

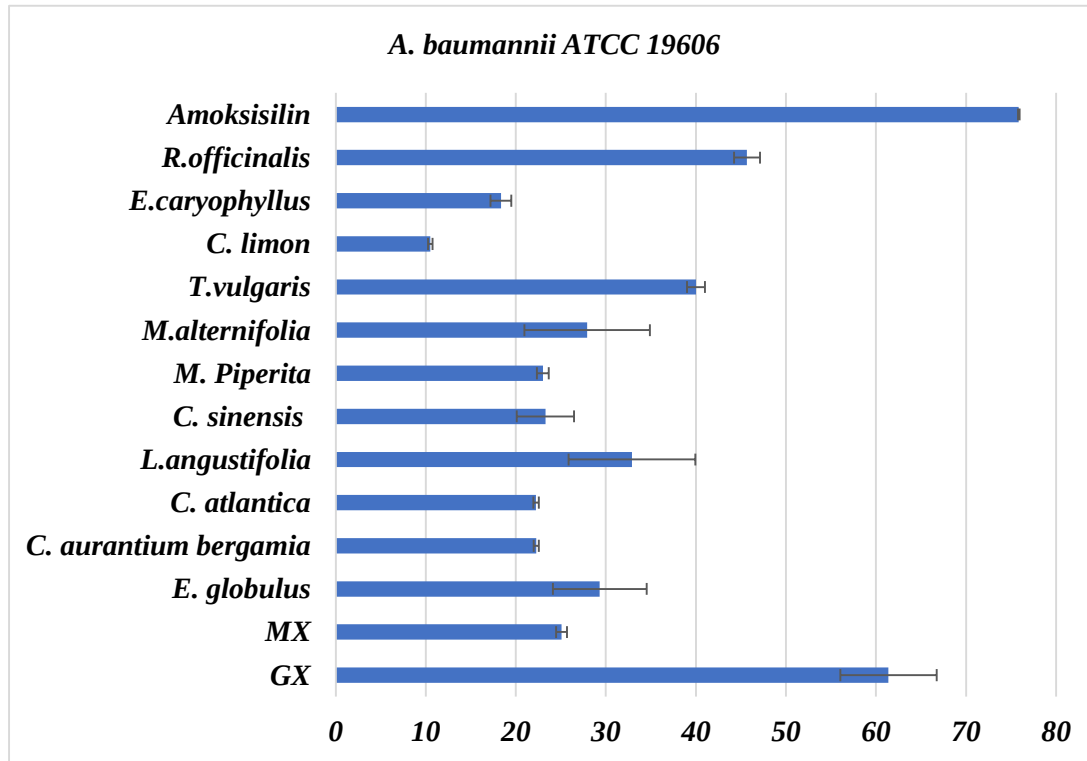
Uçucu Yağlar (Sub-MİK: %0.0125 v/v)	Biyofilm İnhibisyonu (%)
GX	61,08±0,03
MX	60,52±0,10
<i>C. atlantica</i>	55,76±0,10
<i>C. aurantium</i> var. <i>bergamia</i>	38,11±0,01
<i>C. limonum</i>	73,30±0,10
<i>C. sinensis</i>	77,36±0,02
<i>E. caryophyllus</i>	60,36±0,01
<i>E. globulus</i>	74,20±0,07
<i>L. angustifolia</i>	65,50±0,04
<i>M. alternifolia</i>	58,10±0,03
<i>M. piperita</i>	46,70±0,01
<i>R. officinalis</i>	45,31±0,02
<i>T. vulgaris</i>	63,40±0,06



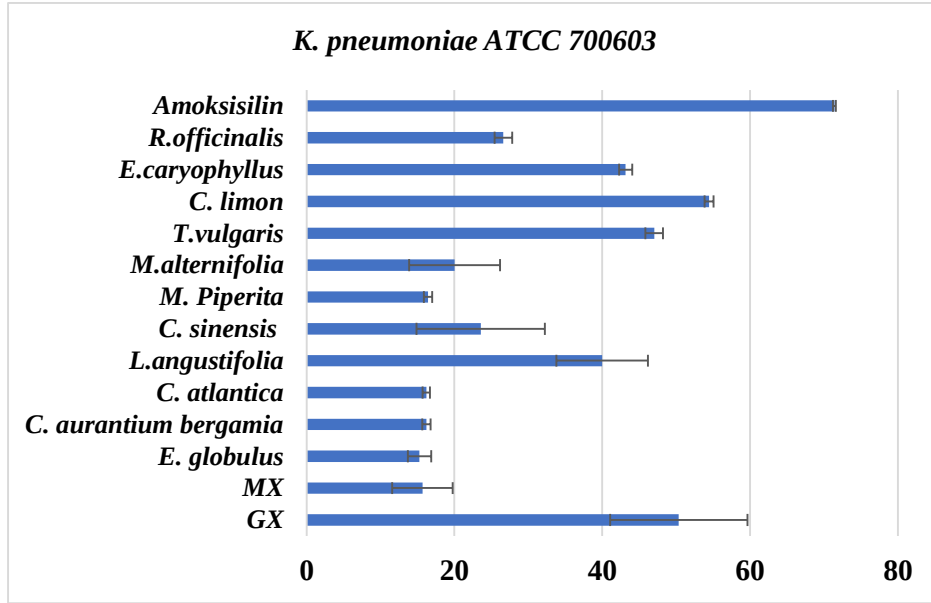
Şekil 4.12. Uçucu yağ ve kombinasyonlarının *P. aeruginosa* ATCC 27853 suşunun biyofilm üretimine karşı inhibitör etkisi



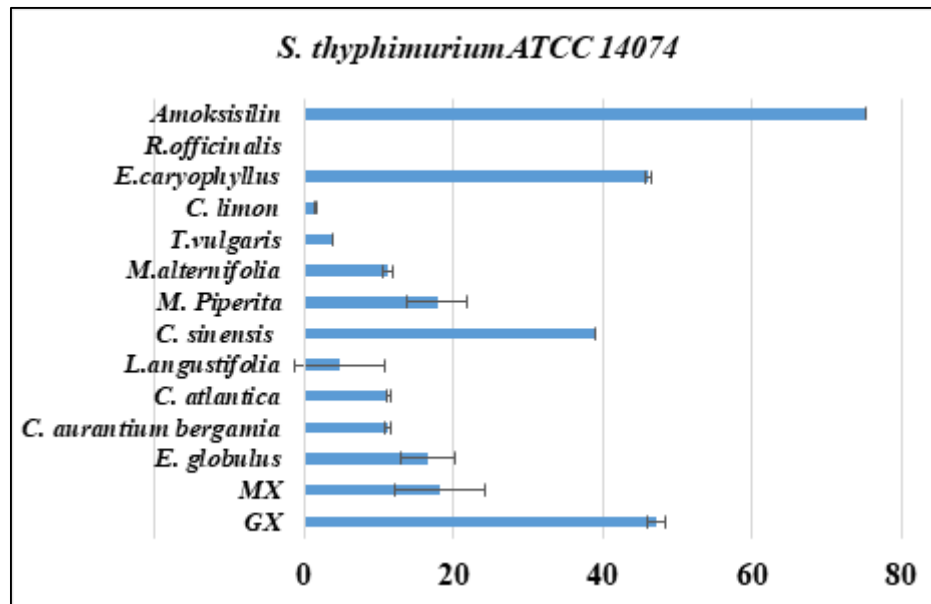
Şekil 4.13. Uçucu yağ ve kombinasyonlarının *E. coli* ATCC 25922 suşu üzerinde anti-biyofilm etkisi



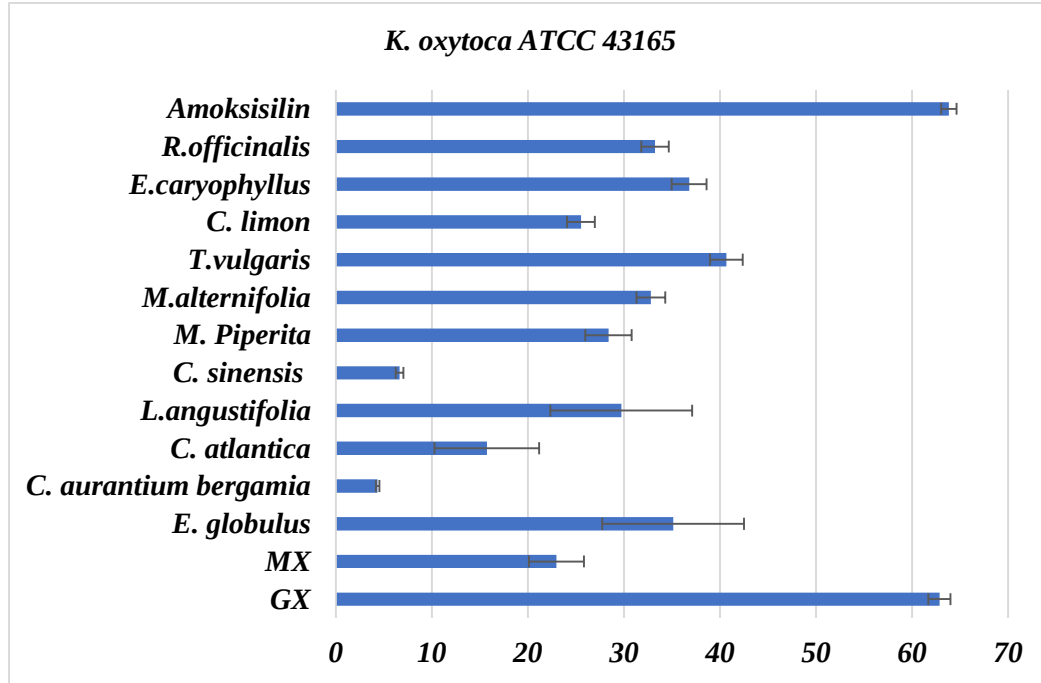
Şekil 4.14. Uçucu yağ ve kombinasyonlarının *A. baumannii* ATCC 19606 suşu üzerinde anti-biyofilm etkisi



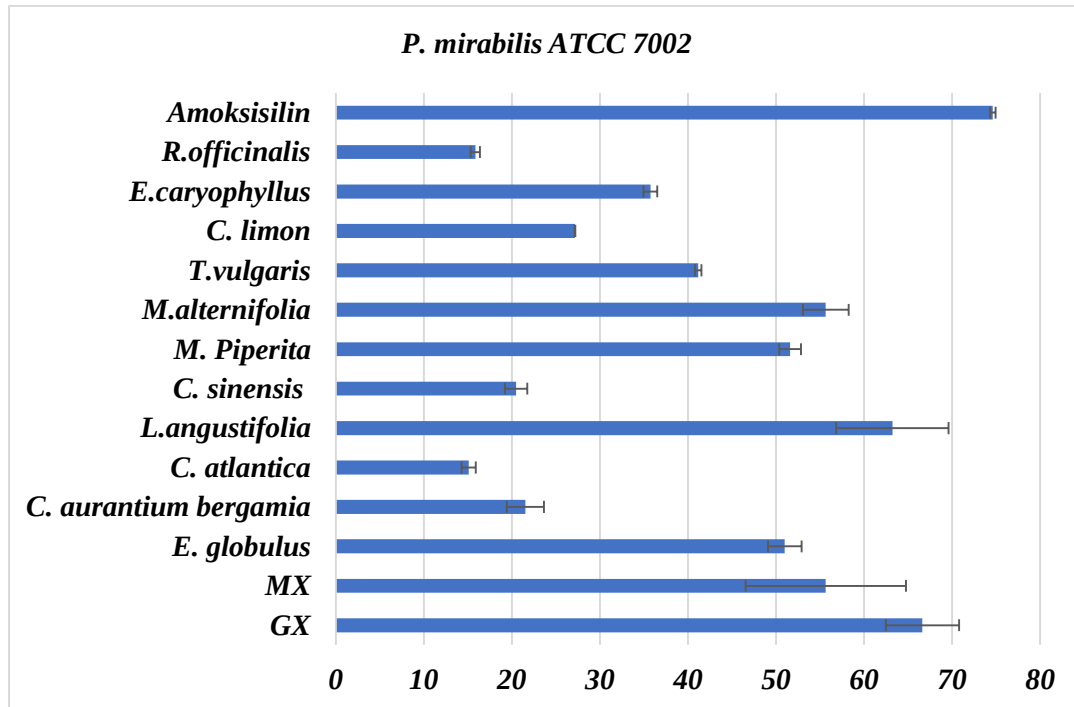
Şekil 4.15. Uçucu yağ ve kombinasyonlarının *K. pneumoniae* ATCC 700603 suşu üzerinde anti-biyofilm etkisi



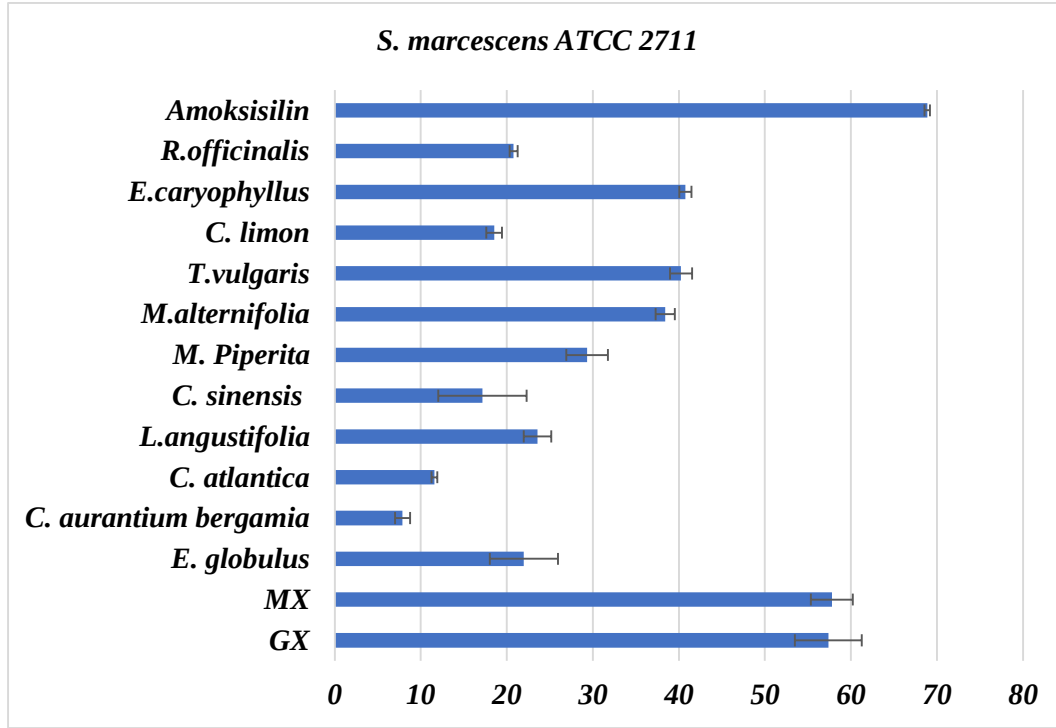
Şekil 4.16. Uçucu yağ ve kombinasyonlarının *Salmonella thyphimurium* ATCC 14074 suşunun biyofilm üretimine karşı inhibitör etkisi



Şekil 4.17. Uçucu yağ ve kombinasyonlarının *Klebsiella oxytoca* ATCC 43165 suşunun biyofilm üretimine karşı inhibitör etkisi



Şekil 4.18. Uçucu yağ ve kombinasyonlarının *Proteus mirabilis* ATCC 7002 suşunun biyofilm üretimine karşı inhibitör etkisi



Şekil 4.19. Uçucu yağ ve kombinasyonlarının *Serratia marcescens* ATCC 27117 suşunun biyofilm üretimine karşı inhibitör etkisi

5. TARTIŞMA

Aromatik bitkiler, onlardan elde edilen uçucu yağ (UY) ve karışımları, geleneksel tıpta, kozmetikte ve yiyeceklerin korunmasında uzun yıllardır kullanılmaktadır. Ayrıca, diğer konvansiyonel tıbbi preparatlarla birlikte, farmasötik ürünlerin geliştirilmesine katkıda bulunan bitkisel ilaçların temelini oluşturmaktadır. Uçucu yağların antimikrobiyal, antioksidan, analjezik, anksiyolitik, antienflamatuvar, antispazmodik ve anesteziye etkilere sahip olduğu yapılan *in vitro* ve *in vivo* deneylerle anlaşılmıştır. Son zamanlarda yapılan *in vitro* deneylerde bazı insan kanser hücreleri üzerinde sitotoksik etkilere sahip oldukları da gösterilmiştir (Buriani ve arkadaşları, 2020).

UY'ların kimyasal bileşiminin değişkenliği ve standardize edilmemiş bitkisel ürünlerin kullanımının sıklıkla farklı etkilere yol açtığı yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. Bitkisel ilaçlardaki ana moleküllerin veya total karışımlarının tek, izole edilmiş bileşiklerden daha güçlü etkileri olduğu gösterilmiştir (Buriani ve arkadaşları, 2020). Saflaştırılmış preparatlara karşı bütün bitki ekstraktlarının aktivitesini değerlendiren bazı çalışmalarda karışımın aşamalı fraksiyonlanması ve saflaştırılmasıyla gücünün azaldığı gösterilmiştir. Örneğin izole edilen bir molekül olan D-limonen'in pek çok kanser türüne karşı ümit verici bir antitümöröl molekül olarak kabul edildiği ispatlanmasına rağmen, klinikte o kadar etkili olmadığı belirlenmiştir (Buriani ve arkadaşları, 2020).

Çalışmamızda on bir adet UY: *Cedrus atlantica*, *Citrus aurantium* var. *bergamia*, *Citrus limonum*, *Citrus sinensis*, *Eucalyptus globulus*, *Eugenia caryophyllus*, *Lavandula angustifolia*, *Melaleuca alternifolia*, *Mentha piperita*, *Rosmarinus officinalis*, *Thymus vulgaris* (linalool kemotipi), gargara formülasyonu olan GX (*M. piperita*, *M. alternifolia*, *L. angustifolia*, *C. aurantium* var. *bergamia*, *C. limonum*, *T. vulgaris* ve tırnak mantarı tedavisinde kullanılan MX (*T. vulgaris*, *M. alternifolia*) kodlu UY karışımlarının antimikrobiyal aktivitesi, beş Gram-pozitif bakteriye (*Enterococcus faecalis*, *Micrococcus luteus*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus epidermidis* ve *Staphylococcus aureus*) ve sekiz Gram-negatif bakteri (*Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella typhimurium*, *Serratia marcescens*) karşı olmak üzere on üç bakteri suşu kullanılarak incelenmiştir. Pozitif kontrol için amoksisilin, siprofloksazin, imipenem, eritromisin ve gentamisin antibiyotik diskleri kullanılmış ve etkinlikleri araştırılmıştır.

Aromaterapi alanında kullanılan uçucu yağlar için ön çalışma niteliğinde olan çalışmamız, uzun yıllardır terapötik amaçla kullanılan UY'ların tek başına ve karışımlarının etkilerinin hangi mekanizma ile hangi bakteriler üzerinde gösterdiklerine ışık tutacak bilimsel bir başlangıç olarak tasarlanmıştır.

Uçucu yağlarla ilgili olarak, bu konuda yapılmış çalışmalardan birisinde ticari olarak temin edilen üç UY, okaliptüs (*E. globulus* Labill.), çay ağacı (*M. alternifolia* Cheel.) ve kekik (*T. vulgaris* L.), *S. aureus* ATCC 6538'e karşı aktiviteleri açısından incelendiğinde MİK değerleri okaliptüs UY için %12,5, çay ağacı UY için %6,25 ve kekik UY için % 0,02 olarak bulunmuştur (Brozyna, 2020). Çalışmamızda ise okaliptüs UY'ı *S. aureus*'a karşı %0,83, çay ağacı UY'ı için %0,415 ve kekik UY'ı için %0,415 değerleri bulunmuştur. Önceki çalışma ile bizim çalışmamızın sonuçları arasındaki farklar, *S. aureus* suşlarının farklı olması, UY'ların farklı bölgelerden seçilmiş olmaları ya da kemotipleri ayrı olan uçucu yağlar kullanılmış olması ile ilgili olduğunu düşündürmüştür.

Tarçın, karanfil, yenibahar, kekik ve biberiye UY'larının *Salmonella typhi*, *Staphylococcus aureus* ve *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı güçlü antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir. Test edilen UYlar arasında karanfil yağı en etkili bulunmuştur. Bu yağların antimikrobiyal etkisi karvakrol, timol, sinnamaldehit, öjenol ve p-simen gibi ana bileşiklerin oluşumu ile ilişkilendirilmiştir. Tıbbi aromatik bitkilerden elde edilen karvakrol, öjenol ve timol'ün *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Listeria monocytogenes* ve *Vibrio vulnificus* gibi gıda kaynaklı patojenleri etkili bir şekilde inhibe ettiği de gösterilmiştir (Swamy ve arkadaşları, 2016). Çalışmamızda da *Staphylococcus aureus* ve *Pseudomonas aeruginosa* bakterilerine karşı, karanfil, kekik ve biberiye UY'larının benzer etkilerde olduğu görülmüştür.

Çalışmamızda farklı UY'ların Gram-pozitif bakteriler üzerindeki antimikrobiyal etkilerinin, Gram-negatif bakteriler üzerindeki etkiden yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Gram-pozitif bakteriler üzerinde kullanılan lavanta, kekik, portakal, nane UY'ları ve MX karışımı, pozitif kontrolü sağlayan antibiyotiklere göre oldukça etkili olmuştur. Bu etkilerin linalol, linalil asetat, karvakrol, neral, mentol ve menton'a bağlı olan etkiler olduğu düşünülmüştür.

Gram-negatif bakterilerle yapılan çalışmamızda ise pozitif kontrol antibiyotikleri ile kıyaslandığında kekik, lavanta, çay ağacı yağı, limon UY ve MX karışımının etkili olduğu

görülmüştür. Bu etkilerin de linalol, linalil asetat, karvakrol, terpinen-4-ol ve limonen'e bağlı etkiler olduğu düşünülmüştür.

Kullanılan UY ve karışımları Gram-pozitif bakteriler üzerinde MİK açısından değerlendirildiğinde yüksek etkinlik gösterirken, Gram-negatif bakteriler üzerinde daha düşük etki gözlenmiştir. Daha önce yapılmış farklı bir çalışmada sandal ağacı ve vetiver UY'ları Gram-pozitif bakterilere karşı daha yüksek inhibitör aktivite sergiledikleri halde Gram-negatif bakteriyel suşları inhibe etmedikleri gösterilmiştir (Swamy ve arkadaşları, 2016). Gram-negatif bakterilerin dış zarını oluşturan lipopolisakkaritlerin bunun sebebi olduğu düşünülse de istisnai durumlar vardır. *R. officinalis* UY'nın Gram-pozitif bakterilere karşı siprofloksazin ile kombinasyonu antagonistik bir profil oluştururken, Gram-negatif bakterilere karşı sinerjik bir profil sergilediği gösterilmiştir (Yap ve arkadaşları, 2014).

Çalışmamızda da *L. angustifolia*, *T. vulgaris*, *C. sinensis*, *M. piperita* UY'ları ve MX karışımı, Gram-pozitif bakteriler üzerinde kullanılan ve pozitif kontrolü sağlayan antibiyotiklere göre oldukça etkili olmuştur. Seskiterpenlerin çoğunlukta olduğu *C. atlantica* UY'nın ise çalışılan Gram-pozitif bakteriler üzerindeki belirgin antibakteriyel göstermediği farkedilmiştir. Bu da monoterpen yapısındaki UY'ların antibakteriyel etkilerinin daha yüksek olabileceğini düşündürmüştür. Gram-negatif bakterilerle yapılan çalışmamızda ise *T. vulgaris*, *C. sinensis*, *E. caryophyllus*, *M. alternifolia* UY'ları ve MX karışımının *E. coli* bakterisi için etkili olduğu görülmüştür. Diğer bakteriler üzerindeki etkilerin pozitif kontrol amacıyla kullanan antibiyotikler ile karşılaştırıldığında daha düşük olduğu görülmüştür.

Farklı çalışmalarla bitkisel yağların karanfil, tarçın, nane, lavanta, biberiye, gül, sardunya gibi anti-QS aktiviteleri gösterilmiştir (Pellegrini ve arkadaşları, 2014). Yapılan bir çalışmada mentol'ün çeşitli Gram-negatif patojenlerin QS sistemlerine müdahale etme kabiliyeti değerlendirilmiş, geniş spektrumlu anti-QS aktivitesini ifade eden viyolasin, virulans faktörlerinin ve biyofilm oluşumunun AHL'ye bağlı üretimini azalttığı gösterilmiştir (Husain ve arkadaşları, 2015). Çalışmamızda *C. violaceum* biyosensör suşuna karşı kullanılan UY'ların en etkililerinin *T. vulgaris*, *M. alternifolia*, *E. caryophyllus*, *L. angustifolia* UY'ları ve MX karışımı olduğu; *M. piperita* UY'nın etkisinin ise daha az olduğu görülmüştür.

Başka bir çalışmada UY'larla QS sinyallerinin üzerine çalışmalar yapılmış, gül, sardunya, lavanta ve biberiye yağlarının en güçlü QS inhibitörü olduğu gösterilmiş, okaliptus ve narenciye yağlarının onlar kadar etkili olmadıkları görülmüştür (Jaramillo-Colorado ve arkadaşları, 2012).

Dört UY, tarçın, lavanta, karanfil, nane'nin QS aktivitesi araştırılmış karanfil yağının minimum inhibitör konsantrasyonda hem *C. violaceum*, hem de *P. aeruginosa*'ya karşı en çok umut veren anti QS aktivitesi olan UY olduğu gösterilmiştir (Husain ve arkadaşları, 2015). Çalışmamızda ise *C. aurantium* var. *bergamia* dışındaki turuncgil UY'ları ve okaliptus UY'nın anti-QS aktivitesi diğer UY'lara göre düşük bulunmuştur.

Çay ağacı yağı ile yapılan bir çalışmada, biberiye, propolis, arı poleni, nar ve resveratrol özleri QS aktiviteleri için değerlendirildiğinde tüm bu numunelerin düşük konsantrasyonlarda bile viyolasin üretiminde önemli bir düşüş gösterdikleri test edilmiştir. Bu sonuçlar çay ağacı UY'ı ve biberiye UY'nın en yüksek anti-QS aktiviteye sahip olduğunu ortaya koymuştur (Chung ve Toh, 2014). Çalışmamızda çay ağacı ve kekik UY'larının etkileri oldukça yüksek görünürken, biberiye UY'nın etkisi daha düşük tespit edilmiştir. Bu farkların kullanılan UY'ların türlerine ve kimyasal yapılarına göre değişebileceği düşünülmüştür.

Çalışmamızda portakal, limon ve biberiye'nin kullanılan gentamisin' e göre bazı Gram-pozitif bakteriler üzerinde %0,2075 ile en etkin MİK'e sahip olan UY'lar olduğu görülürken, bu etkinin limonen, 1.8 sineol ve alfa-pinen moleküllerinden kaynaklandığı düşünülmüştür.

Gentamisin kontrolü ile yapılan çalışmamızda lavanta, kekik, çay ağacı yağları ile MX ve GX karışımlarının, diğer uçucu yağlara nazaran farklı bakteriler üzerinde en etkin MİK değerine sahip UY'lar oldukları görülmüştür. Bu etkilerin de yine linalol, linalil asetat, karvakrol, terpinen-4-ol ile ilgili olduğu düşünülmüştür.

Gentamisin'e kıyasla lavanta, nane, karanfil, biberiye UY'ları ile GX karışımının bazı Gram-negatif bakteriler üzerinde %0,2075 ile en etkin MİK'e sahip olan UY'lar olduğu görülmüş, bu etkinin linalol, linalil asetat, mentol, menton, öjenol ve 1.8 sineol ile ilgili olduğu düşünülmüştür.

Çalışmamızda *C. atlantica* dışındaki tüm yağların anlamlı anti-QS etkisi görülmüştür. Bu durum sedir UY'ındaki seskiterpenlerin ve majör maddeler β -himakalen, α - himakalen, γ -himakalen'nin *C. violaceum* üzerinde güçlü anti-QS aktivitesi göstermediği, monoterpenlerin anti-QS aktivite konusunda daha başarılı olduklarını düşündürmüştür.

Uçucu yağların antibiyofilm aktiviteleriyle ilgili yapılan bir çalışmada *M. alternifolia* yapraklarından elde edilen çay ağacı uçucu yağının hücre dışı matrikse verilen hasar ile metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA) da dahil olmak üzere biyofilmi ortadan kaldırdığı ve daha sonra biyofilmin yüzeyden uzaklaştırılmasını sağladığı belirlenmiştir. Diğer çalışmalarda çay ağacı UY'nın bakterilerin katı alt tabakaya bağlanmasından sorumlu olan yapışma faktörlerini bozduğu ve biyofilm oluşumunu inhibe ettiği saptanmıştır (Chung ve Toh, 2014). Çalışmamızda genel olarak Gram-pozitif bakteriler için kullanılan pozitif kontrol antibiyotiği amoksisiline göre en yüksek biyofilm inhibisyonuna neden olan GX kodlu UY karışımı olmuştur. Karışım olmayan ve tek başına değerlendirildiğinde yüksek antibiyofilm aktivite gösteren UY'lar etkinlik sırasıyla kekik, karanfil, biberiye ve limon UY'ları olmuştur.

Gram-negatif bakterilerde biyofilm inhibisyon sonuçlarına bakıldığında, GX kodlu uçucu yağ karışımı en fazla sayıda bakteri üzerinde ve pozitif kontrole göre anlamlı olabilecek değerlerde % inhibisyonlar gösterdiği anlaşılmıştır. Karışım olmayan ve tek başına değerlendirildiğinde yüksek antibiyofilm aktivite gösteren UY'lar *T. vulgaris*, *E. caryophyllus*, *R. officinalis* ve *C. limonum* UY'ları olmuştur. Bu durum GX karışımındaki (*L. angustifolia* hidrolatı içerisine eklenen *M. piperita*, *M. alternifolia*, *L. angustifolia*, *C. aurantium* var. *bergamia*, *C. limonum* ve *T. vulgaris*) UY'ların birbirlerinin etkilerini potansiyalize edebileceklerini ve oluşan sinerji ile yüksek etkinlik gösterebileceklerini düşündürmüştür. Yapılan çalışmalar bunu doğrular niteliktedir (Bassolé ve arkadaşları, 2010). Öjenol / linalol ve öjenol / mentol kombinasyonlarında *L. monocytogenes*, *E. aerogenes*, *E. coli* ve *P. aeruginosa*'nın büyüme inhibisyonu üzerindeki sinerjik etkilerine işaret etmişlerdir.

Çalışmamızda bakterilerin doğal tavırlarından olan yüzme ve kayma hareketlerini (swimming, swarming) engelleyen ama bakterilerin yaşamda kalmalarını sağlayan UY dozları da araştırılmıştır. *P. aeruginosa* suşu kullanılarak yapılan çalışmamızda yüzme (swimming) hareketlerinde azalmaya neden olan UY'lar kekik, lavanta, biberiye ve karanfil

UY'ları olmuştur. Aynı suş ile yapılan çalışmada ise kayma (swarming) hareketlerinde azalmaya neden olan UY'lar lavanta, portakal, okaliptüs ve limon UY'ları olmuştur.

Bakterilerin yaşamına son veren uygulamalar her zaman onların yaşamda kalma mücadelelerini kazanmalarına neden olmuştur. Uçucu yağların çok bileşenli yapıları, bakterileri öldürmeden ama üremek için kullandıkları quorum sensing mekanizmasını bozarak etki göstermekte olduğundan bu konuda yapılan çalışmaların geliştirilmesi gerekir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Geleneksel olarak yüzyıllardır kullanılan UY'ların, bugüne değin kullanılıyor olmaları, çok bileşenli doğaları ile onlara karşı henüz bir direnç gelişmemesi ve etkilerini günümüzde halen sürdürüyor olmaları yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. Modern tıp, patojenlerin ve kanser hücrelerinin tek bileşenli ilaçlara karşı ne kadar hızlı direnç geliştirebileceğini öğrenmiştir. İlaçlara direnç gelişimini engellemek veya geciktirmek için karmaşık ilaç kombinasyonlarının uygulanması günümüzde önem kazanan bir terapötik stratejidir (Bruani ve arkadaşları, 2020).

UY'ların içeriklerinde bulunan bir ya da iki ana bileşenin etkisine kıyasla daha büyük antibakteriyel etki gösterebilecekleri yapılan çalışmalarla anlaşılmıştır. Ayrıca ana bileşenlerin işlevinin, sinerjik etkinin güçlendirilmesine yardımcı olan diğer küçük moleküller tarafından düzenlendiği de ileri sürülmüştür. Uçucu bir yağda çok çeşitli kimyasal bileşik gruplarının bulunduğunu düşünürsek, antibakteriyel aktivitelerin belirli bir mekanizma veya bileşene atfedilemeyeceği düşünülmektedir ve dolayısıyla bir hücrede potansiyel etkinin ortaya çıkmasına neden olan birkaç hedef olabilir. Bu nedenle bazı uçucu yağların bileşenleri arasında sinerji kavramının var olup olmadığı araştırılması gereken önemli konulardan birisidir (Yap ve arkadaşları, 2014).

UY'larda bulunan farklı yapılardaki bileşenlerin, farklı dozlardaki karışımları bitkilerin savunma mekanizması olarak kullandıkları bir strateji ise, bu stratejiyi doğrudan UY'lar ve onların karışımları ile veya UY'larla birlikte kullanılacak antibiyotiklerin karışımı ile değerlendirmek de yeni strateji olarak görüldüğünden, yapılacak çalışmalar bu yönde geliştirilmelidir.

Çalışmamızın bu konuda yapılan diğer çalışmalardan farkı aromaterapide kullandığımız UY'dan on bir tanesi ve bunların MX ve GX kodlu karışımlarının etkilerini on üç farklı Gram-pozitif ve Gram-negatif bakteriler üzerinde araştırmaktır. Tek başına ya da birkaç UY ile tek ya da birkaç bakteri üzerinde antimikrobiyal çalışmalar yapılmış olsa da, daha kapsamlı olan çalışmamız, özellikle aromaterapide kullanılan UY'ların antimikrobiyal, anti-biyofilm ve anti-QS olarak etkinliklerini ve aromaterapinin bilimsel bir zemine oturduğunu göstermiştir.

Gelecek yıllarda UY'lardaki tüm moleküler grupların eşzamanlı tespitine izin veren omik teknolojilerini kullanmak, aynı zamanda biyoinformatik ile çok sayıda analitik veriyi toplamak, sınıflandırmak, ilgili ağa bağlamak ve görüntülemek için farklı yazılım araçları kullanmak, UYlar'ın çok bileşenli yapılarını sistem biyolojisi, moleküler ağlar ile son derece birbirine bağlı yollar içindeki dinamik etkileşimlerindeki analizini yapmak mümkün olabilecektir. Bu nedenle omik tekniklerinin uygulanması, UY'ların ve bunların çoklu biyolojik hedeflerinin farmakolojik değerlendirmesi için gereklidir (Bruani ve arkadaşları, 2020).

Çalışmamızda kullanılan GX kodlu karışımın içindeki uçucu yağların minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) ve anti-biyofilm etkinliği diğer uçucu yağlara göre yüksek bulunmuştur. Bu etkilerin UY karışımında bulunan mentol, menton, linalol, linalil asetat, terpinen-4-ol, neral, limonen ve karvakrol moleküllerinden ve onların sinerjik etkilerinden kaynaklandığı düşünülmüştür. GX karışımı uzun süredir ağız ve boğazdaki rahatsızlıklar için gargara olarak kullanılmakta ve sonuçların etkili olduğu gözlenmekteydi. Bu çalışma ile bunun nedenleri daha iyi anlaşılmıştır. GX karışımının dış plaklarında oluşan biyofilmlerin yok edilmesinde kullanılacağı, ağızda oluşacak bakteriyel, viral ve fungal enfeksiyonlara karşı inhibisyon etkisinin olabileceği düşünülmüştür.

Sonuç olarak çalışmamızdan elde edilen değerlere bakıldığında aromaterapide tüm dünyada antimikrobiyal olarak en çok kullanılan uçucu yağlardan *M. alternifolia* UY'na alternatif olabilecek yerli bitkilerimizden, kekik ve lavanta'nın uygun kemotipleri seçilmek üzere, antimikrobiyal ve anti-QS aktivite çalışmalarının yapılmasının uygun olabileceği görülmüştür. Bu yağlarla karışım halinde kullanılacak olan GX ve MX gibi terapötik kombinasyonların Gram-pozitif ve Gram-negatif bakteriler üzerindeki etkileri konusunda araştırmaların derinleştirilmesi; UY'da bulunan aktiviteden sorumlu terpenlerin insan sağlığını tehdit eden antibiyotik direnci gibi sorunlara karşı yapılacak yeni çalışmaların ve yeni tedavi yaklaşımlarına ışık tutacağı da düşünülmelidir.

KAYNAKLAR

- Ali, B., Al-Wabel, N. A., Shams, S., Ahamad, A., Khan, S. A., and Anwar, F. (2015). Essential oils used in aromatherapy A systemic review. In *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 5(8), 601-611.
- Aminov, R. I. (2010). A brief history of the antibiotic era: Lessons learned and challenges for the future. *Frontiers in Microbiology*, 1(134), 134.
- Andrade, J. M., Faustino, C., Garcia, C., Ladeiras, D., Reis, C. P., and Rijo, P. (2018). *Rosmarinus officinalis* L.: An update review of its phytochemistry and biological activity. In *Future Science*, 1, 4(4).
- Annous, B. A., Fratafico, P. M., and Smith, J. L. (2009). Scientific status summary: Quorum sensing in biofilms: Why bacteria behave the way they do. In *Journal of Food Science*, 74(1), 24-37.
- Antunes, L. C. M., Ferreira, R. B. R., Buckner, M. M. C., and Finlay, B. B. (2010). Quorum sensing in bacterial virulence. In *Microbiology*, 156 (8), 2271-82.
- Artini, M., Patsilnakos, A., Papa, R., Boović, M., Sabatino, M., Garzoli, S., Vrenna, G., Tilotta, M., Pepi, F., Ragno, R., and Selan, L. (2018). Antimicrobial and antibiofilm activity and machine learning classification analysis of essential oils from different mediterranean plants against *Pseudomonas aeruginosa*. *Molecules*, 23(2), 482.
- Atmaca, S., Özekinci, T., Yakut, S., Akpolat, N. ve Gül, K. (2018). *Serratia* türlerinin identifikasyonu, klinik dağılımı, antibiyotik duyarlılığı. *Ankem Dergisi*, 32(2), 62-71.
- Aygül, A. (2015). Antibiyotik Direncinde Dışa Atım Sistemlerinin ve Dirençle Mücadelede Dışa Atım Pompa İnhibitörlerinin Önemi. In *Mikrobiyoloji Bulteni*, 49 (2), 278-291.
- Bacakoğlu, F., Korkmaz-Ekren, P., Taşbakan, M. S., Başarık, B., Pullukçu, H., Aydemir, S., Gürgün, A., ve Başoğlu, O. K. (2009). Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* infection in respiratory intensive care unit. In *Journal of chemotherapy*, 43(4), 575-85.
- Banerjee, G., and Ray, A. K. (2017). Quorum-sensing network-associated gene regulation in Gram-positive bacteria. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica*, 64(4), 439-453.
- Bassolé, I.H., Lamien-Meda, A., Bayala, B., Tirogo, S., Franz, C., Novak, J., Nebié, R.C. and Dicko, M.H. (2010). Composition and antimicrobial activities of *Lippia multiflora* Moldenke, *Mentha x piperita* L. and *Ocimum basilicum* L. essential oils and their major monoterpene alcohols alone and in combination. *Molecules*, 3;15(11), 7825-7839.
- Batish, D. R., Singh, H. P., Kohli, R. K., and Kaur, S. (2008). Eucalyptus essential oil as a natural pesticide. *Forest Ecology and Management*, 256(12), 2166-2174.
- Bishop, C.D. (1995). Antiviral activity of the essential oil of *Melaleuca alternifolia*. (maiden and betche) cheel (tea tree) against tobacco mosaic virus. *Journal of Essential Oil Research*, 7(6), 641-644.

- Blosser, RS, Gray, KM. (2000). Extraction of violacein from *Chromobacterium violaceum* provides a new quantitative bioassay for N-acyl homoserine lactone autoinducers. *Journal Microbiol Methods*, 40(1), 47-55.
- Boire, N. A. (2013). Essential oils and future antibiotics: new weapons against emerging 'superbugs'? *Journal of Ancient Diseases and Preventive Remedies*, 1(2), 105.
- Bosgelmez T. G. (2013). Disruption of Bacterial cell-to-cell communication (Quorum Sensing): A Promising Novel Way to Combat Bacteria-Mediated Diseases. *Journal of Marmara University Institute of Health Sciences*, 3(3), 1.
- Bouyahya, A., Dakka, N., Et-Touys, A., Abrini, J., and Bakri, Y. (2017). Medicinal plant products targeting quorum sensing for combating bacterial infections. In *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 10(8), 729-743.
- Brady, A., Loughlin, R., Gilpin, D., Kearney, P. and Tunney, M. (2006). In vitro activity of tea-tree oil against clinical skin isolates of meticillin-resistant and-sensitive *Staphylococcus aureus* and coagulase negative staphylococci growing planktonically and as biofilms. *Journal of Medical Microbiology*, 55(10), 1375-1380.
- Brozyna, M. (2020, October) *Antimicrobial activity of thyme, tea tree and eucalyptus essential oils against Staphylococcus aureus biofilm*. Conference. 4th Wroclaw. Scientific Meeting, 18.
- Buriani, A., Fortinguerra, S., Sorrenti, V., Caudullo, G., and Carrara, M. (2020). Essential oil phytocomplex activity, a review with a focus on multivariate analysis for a network pharmacology-informed phylogenomic approach. In *Molecules*, 25(8), 16
- Carson, C. F., Hammer, K. A., and Riley, T. V. (2006). *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil: A review of antimicrobial and other medicinal properties. In *Clinical Microbiology Reviews*, 19(1), 50-62.
- Chaieb, K., Hajlaoui, H., Zmantar, T., Kahla-Nakbi, A. Ben, Rouabhia, M., Mahdouani, K., and Bakhrouf, A. (2007). The chemical composition and biological activity of clove essential oil, *Eugenia caryophyllata* (*Syzigium aromaticum* L. Myrtaceae): A short review. In *Phytotherapy Research*, 21(6), 501–506).
- Chang, C. Y., Krishnan, T., Wang, H., Chen, Y., Yin, W. F., Chong, Y. M., Tan, L. Y., Chong, T. M., and Chan, K. G. (2014). Non-antibiotic quorum sensing inhibitors acting against N-acyl homoserine lactone synthase as druggable target. *Scientific Reports*, 4, 7245.
- Chung, P. Y., & Toh, Y. S. (2014). Anti-biofilm agents: recent breakthrough against multi-drug resistant *Staphylococcus aureus*. *Pathogens and Disease*, 70(3), 231-239.
- Curtis, M. M., and Sperandio, V. (2011). A complex relationship: The interaction among symbiotic microbes, invading pathogens, and their mammalian host. In *Mucosal Immunology*.
- Dantas, G., and Sommer, M. O. A. (2014). How to fight back against antibiotic resistance. *American Scientist*, 4(2), 133-8.

- Davies, J., and Davies, D. (2010). Origins and Evolution of Antibiotic Resistance. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 74(3), 417-33.
- De Kievit, T. R., and Iglewski, B. H. (2000). Bacterial quorum sensing in pathogenic relationships. In *Infection and Immunity*, 68(9), 4839-49.
- de Kraker, M. E. A., Stewardson, A. J., and Harbarth, S. (2016). Will 10 Million People Die a Year due to Antimicrobial Resistance by 2050? *PLoS Medicine*, 13(11).
- de Sousa Barros, A., de Moraes, S. M., Ferreira, P. A. T., Vieira, Í. G. P., Craveiro, A. A., dos Santos Fontenelle, R. O., de Menezes, J. E. S. A., da Silva, F. W. F., and de Sousa, H. A. (2015). Chemical composition and functional properties of essential oils from *Mentha* species. *Industrial Crops and Products*, 76, 557-564.
- Deep, A., Chaudhary, U., and Gupta, V. (2011). Quorum sensing and bacterial pathogenicity: From molecules to disease. *Journal of Laboratory Physicians*, 3(1), 4.
- Derwich, E., Benziane, Z., and Boukir, A. (2010). Chemical composition and in vitro antibacterial activity of the essential oil of *Cedrus atlantica*. *International Journal of Agriculture and Biology*, 12, 381-385.
- Dhanavade, M. J., Jalkute, C. B., Ghosh, J. S., and Sonawane, K. D. (2011). Study antimicrobial activity of lemon (*Citrus lemon* L.) peel extract. *British Journal of pharmacology and Toxicology*, 2(3), 119-122.
- Dhifi, W., Bellili, S., Jazi, S., Bahloul, N., and Mnif, W. (2016). Essential Oils' Chemical Characterization and Investigation of Some Biological Activities, *A Critical Review. Medicines*, 3(4), 25.
- Edris, A. E. (2007). Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: A review. In *Phytotherapy Research*, 21(4), 308-323.).
- Eryılmaz, M. and Gürpınar, S. (2017). Investigation of the antibacterial efficacy of some commonly used antiseptics in hospitals against biofilm forming and non-biofilm forming *Staphylococcus Epidermidis* Strains. *Journal Of Faculty Of Pharmacy Of Ankara University*, 41 (1).
- Favela-Hernández, J. M. J., González-Santiago, O., Ramírez-Cabrera, M. A., Esquivel-Ferriño, P. C., and Camacho-Corona, M. D. R. (2016). Chemistry and pharmacology of *Citrus sinensis*. *Molecules*, 21(2), 247.
- Fidan, R.Ü. (2018). Koku duyusunun diğer duyulardan farkı ve farklılığın evrimsel perspektifle değerlendirilmesi. *Uludağ Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Sosyal Bilimler Dergisi*, 19(35), 743-756.
- Fisher, K., and Phillips, C. (2008). Potential antimicrobial uses of essential oils in food: is citrus the answer? *Trends in Food Science and Technology*, 19(3), 156-164.

- Fleitas-Martínez, O., Rigueiras, P. O., Pires, Á. da S., Porto, W. F., Silva, O. N., de la Fuente-Nunez, C., and Franco, O. L. (2018). Interference With Quorum-Sensing Signal Biosynthesis as a Promising Therapeutic Strategy Against Multidrug-Resistant Pathogens. In *Frontiers in cellular and Infection Microbiology*, 8(444).
- Gala, V., and Desai, K. (2014). Plant based quorum sensing inhibitors of pseudomonas aeruginosa. In *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 6(8).
- Ganesh, P. S., and Rai, R. V. (2016). Inhibition of quorum-sensing-controlled virulence factors of *Pseudomonas aeruginosa* by *Murraya koenigii* essential oil: A study in a *Caenorhabditis elegans* infectious model. *Journal of Medical Microbiology*, 65, (1528).
- Ganesh, P. S., and Rai, V. R. (2018). Alternative strategies to regulate quorum sensing and biofilm formation of pathogenic pseudomonas by quorum sensing inhibitors of diverse origins. In *Biotechnological Applications of Quorum Sensing Inhibitors*, 8(1).
- García-Reyes, S., Soberón-Chávez, G., and Cocotl-Yanez, M. (2020). The third quorum-sensing system of *Pseudomonas aeruginosa*: *Pseudomonas* quinolone signal and the enigmatic PqsE protein. In *Journal of Medical Microbiology*, 69(1).
- Grandclément, C., Tannières, M., Moréra, S., Dessaux, Y., and Faure, D. (2015). Quorum quenching: Role in nature and applied developments. In *FEMS Microbiology Reviews*, 40(1), 86-116.
- Gupta, P. D., and Birdi, T. J. (2017). Development of botanicals to combat antibiotic resistance. In *Journal of Ayurveda and Integrative Medicine*, 8(4), 266-275.
- Han, X., Gibson, J., Eggett, D. L., and Parker, T. L. (2017). Bergamot (*Citrus bergamia*) essential oil inhalation improves positive feelings in the waiting room of a mental health treatment center: A pilot study. *Phytotherapy Research*, 31(5), 812-816.
- Hemalatha, R., Nivetha, P., Mohanapriya, C., Sharmila, G., Muthukumaran, C., and Gopinath, M. (2016). Phytochemical composition, GC-MS analysis, in vitro antioxidant and antibacterial potential of clove flower bud (*Eugenia caryophyllus*) methanolic extract. *Journal of Food Science and Technology*, 53(2), 1189-1198.
- Herz, R. S. (2009). Aromatherapy facts and fictions: A scientific analysis of olfactory effects on mood, physiology and behavior. In *International Journal of Neuroscience*, 119(2), 263-290.
- Hmelo, L. R. (2017). Quorum Sensing in Marine Microbial Environments. *Annual Review of Marine Science*, 9(1), 257-281.
- Holm, A., and Vikström, E. (2014). Quorum sensing communication between bacteria and human cells: Signals, targets, and functions. In *Frontiers in Plant Science*, 5, 309.
- Hosseinzadeh, S., Jafarikukhdan, A., Hosseini, A. and Armand, R. (2015) The Application of Medicinal Plants in Traditional and Modern Medicine: A Review of *Thymus vulgaris*. *International Journal of Clinical Medicine*, 6, 635-642.
- Hurton, A. (1995). *Parfümün Erotizmi*. İstanbul: Kabalcı Yayınevi, 12-31.

- Husain, F.M., Ahmad, I., Khan, M.S., Ahmad, E., Tahseen, Q., Khan, M.S. and Alshabib, N.A. (2015). Sub-MICs of *Mentha piperita* essential oil and menthol inhibits AHL mediated quorum sensing and biofilm of Gram-negative bacteria. *Front Microbiol*, 13(6),420.
- İnternet: URL: <https://i1.wp.com/lancien.cowblog.fr/images/Cerveau1/odorat.jpg>, adresinden 18 Kasım 2020'de alınmıştır.
- Jaramillo-Colorado, B., Olivero-Verbel, J., Stashenko, E.E., Wagner-Döbler, I. and Kunze, B. (2012). Anti-quorum sensing activity of essential oils from Colombian plants. *Nat Prod Res*, 26(12), 1075-1086.
- Jianu, C., Pop, G., Gruia, A.T. and Horhat, F.G. 2013. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils of lavender (*Lavandula angustifolia*) and lavandin (*Lavandula x intermedia*) grown in Western Romania. *International Journal of Agriculture and Biology*, 15(4), 772-776.
- Jimenez, A. G., and Sperandio, V. (2019). Quorum Sensing and the Gut Microbiome. In *Quorum Sensing: Molecular Mechanism and Biotechnological Application*, 151-169.
- Jirovetz, L., Buchbauer, G., Stoilova, I., Stoyanova, A., Krastanov, A., and Schmidt, E. (2006). Chemical composition and antioxidant properties of clove leaf essential oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(17), 6303-6307.
- Kalia, V. C. (2013). Quorum sensing inhibitors: An overview. In *Biotechnology Advances*, 31(2) 224-245.
- Kendall, M. M., Rasko, D. A., and Sperandio, V. (2007). Global effects of the cell-to-cell signaling molecules autoinducer-2, autoinducer-3, and epinephrine in a luxS mutant of enterohemorrhagic *Escherichia coli*. *Infection and Immunity*, 75(10), 4875–4884.
- Kerekes, E. B., Deák, É., Takó, M., Tserennadmid, R., Petkovits, T., Vágvölgyi, C., and Krisch, J. (2013). Anti-biofilm forming and anti-quorum sensing activity of selected essential oils and their main components on food-related micro-organisms. *Journal of Applied Microbiology*, 115(4), 933-42.
- Khan, M.S., Zahin, M., Hasan, S., Husain, F.M. and Ahmad, I. (2009). Inhibition of quorum sensing regulated bacterial functions by plant essential oils with special reference to clove oil. *Lett Appl Microbiol*, 49(3), 354-360.
- Koh, C. L., Sam, C. K., Yin, W. F., Tan, L. Y., Krishnan, T., Chong, Y. M., and Chan, K. G. (2013). Plant-derived natural products as sources of anti-quorum sensing compounds. In *Sensors (Switzerland)* 13(5), 6217–6228.
- LaSarre, B., and Federle, M. J. (2013). Exploiting Quorum Sensing To Confuse Bacterial Pathogens. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 77(1), 73-111.
- Lazdunski, A. M., Ventre, I., and Sturgis, J. N. (2004). Regulatory circuits and communication in gram-negative bacteria. In *Nature Reviews Microbiology*, 2, 581-592.

- Lynch, J. P., Clark, N. M., and Zhanel, G. G. (2013). Evolution of antimicrobial resistance among Enterobacteriaceae (focus on extended spectrum β -lactamases and carbapenemases). *Expert Opinion on Pharmacotherapy*, 14(2), 199-210.
- Mertas, A., Garbusińska, A., Szliszka, E., Jureczko, A., Kowalska, M., and Król, W. (2015). The influence of tea tree oil (*Melaleuca alternifolia*) on fluconazole activity against fluconazole-resistant candida albicans strains. *BioMed Research International*, 9.
- Mobley, H. L., and Belas, R. (1995). Swarming and pathogenicity of *Proteus mirabilis* in the urinary tract. *Trends in Microbiology*, 3(7), 280-284.
- Mohammad, T., and Hassan, M. I. (2018). Modern approaches in synthetic biology: Genome editing, quorum sensing, and microbiome engineering. In *Synthetic Biology: Omics Tools and Their Applications*, 9(10), 978-981.
- Mokhetho, K. C., Sandasi, M., Ahmad, A., Kamatou, G. P., and Viljoen, A. M. (2018). Identification of potential anti-quorum sensing compounds in essential oils: a gas chromatography-based metabolomics approach. *Journal of Essential Oil Research*, 30(6), 399-408.
- Mullard, A. (2009). Microbiology: Tinker, bacteria, eukaryote, spy. *Nature*, (459), 159-161.
- Mustafa-Evren, B. T. (2011). Uçucu Yağların Antimikrobiyel Özellikleri. *Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi*, 9(3), 28-40.
- Navarra, M., Mannucci, C., Delbò, M., and Calapai, G. (2015). Citrus bergamia essential oil: from basic research to clinical application. *Frontiers in Pharmacology*, 6, 36.
- Nepal, K., Pant, N. D., Neupane, B., Belbase, A., Baidhya, R., Shrestha, R. K., Lekhak, B., Bhatta, D. R., and Jha, B. (2017). Extended spectrum beta-lactamase and metallo beta-lactamase production among *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolated from different clinical samples in a tertiary care hospital in Kathmandu, Nepal. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 16(62).
- O'Toole, G.A. and Kolter, R. (1998). Initiation of biofilm formation in *Pseudomonas fluorescens* WCS365 proceeds via multiple, convergent signalling pathways: A genetic analysis. *Mol Microbiol*, 28(3), 449-61.
- Otto, M. (2009). *Staphylococcus epidermidis*--the 'accidental' pathogen. *Nat Rev Microbiol*, 7(8), 555-567.
- Packiavathy, I.A.S.V., Agilandeswari, P., Musthafa, K.S., Pandian, S.K. and Ravi, A.V. (2012) Antibiofilm and Quorum Sensing Inhibitory Potential of *Cuminum cyminum* and Its Secondary Metabolite Methyl Eugenol Against Gram-Negative Bacterial Pathogens, *Food Res Int*, 45, 85-92.
- Paczosa, M. K., and Mecsas, J. (2016). *Klebsiella pneumoniae*: going on the offense with a strong defense. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 80(3), 629-661.
- Papenfort, K., and Bassler, B. L. (2016). Quorum sensing signal-response systems in Gram-negative bacteria. In *Nature Reviews Microbiology*, 14(9), 576-88.

- Pazyar, N., Reza, Y., Nooshin, B., and Afshin K., (2013). A review of applications of tea tree oil in dermatology. *International Journal of Dermatology*, 52(7), 784-790.
- Pellegrini, M.C., Alvarez, M.V., Ponce, A.G., Cugnata, N.M., De Piano, F.G. and Fuselli, S.R. (2014) Anti-quorumsensing and antimicrobial activity of aromatic species from South America. *Journal of Essential Oil Research*, 26:6, 458-465.
- Perez C., Pauli M., and Bazerque P. (1990). An antibiotic assay by the agar-well diffusion method, *Acta Biologicae et Medicine Experimentalis*, 15, 113-115.
- Perry, J., Waglechner, N., and Wright, G. (2016). The prehistory of antibiotic resistance. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 1, 6(6).
- Poli, J. P., Guinoiseau, E., De Rocca Serra, D., Sutour, S., Paoli, M., Tomi, F., Quilichini, Y., Berti, L., and Lorenzi, V. (2018). Anti-quorum sensing activity of 12 essential oils on *chromobacterium violaceum* and specific action of cis-cis-p-menthenolide from corsican mentha suaveolens ssp. Insularis. *Molecules*, 23(9), 2125.
- Reading, N. C., and Sperandio, V. (2006). Quorum sensing: The many languages of bacteria. In *FEMS Microbiology Letters*, 254(1), 1-11.
- Reddy, V. P. (2014). Review on *Thymus vulgaris* Traditional Uses and Pharmacological Properties. *Medicinal and Aromatic Plants*, 3, 164.
- Rehman, R., and Asif-Hanif, M. (2016). Biosynthetic Factories of Essential Oils: The Aromatic Plants. *Natural Products Chemistry and Research*, 4(4), 2329-6836.
- Remy, B., Mion, S., Plener, L., Elias, M., Chabrière, E., and Daudé, D. (2018). Interference in bacterial quorum sensing: A biopharmaceutical perspective. In *Frontiers in Pharmacology*, (9)203.
- Rhafouri, R., Strani, B., Zair, T., Ghanmi, M., Aafi, A., El Omari, M., and Bentayeb, A. (2014). Chemical composition, antibacterial and antifungal activities of the *Cedrus atlantica* (Endl.) Manettiex Carrière seeds essential oil. *Mediterranean Journal of Chemistry*, 3(5), 1034-1043.
- Rodríguez-Baño, J., Martí, S., Soto, S., Fernández-Cuenca, F., Cisneros, J. M., Pachón, J., Pascual, A., Martínez-Martínez, L., Mcqueary, C., Actis, L. A., and Vila, J. (2008). Biofilm formation in *Acinetobacter baumannii*: Associated features and clinical implications. *Clinical Microbiology and Infection*, 14(3), 276-8.
- Romero, C. M., Vivacqua, C. G., Abdulhamid, M. B., Baigori, M. D., Slanis, A. C., de Allori, M. C. G., and Tereschuk, M. L. (2016). Biofilm inhibition activity of traditional medicinal plants from Northwestern Argentina against native pathogen and environmental microorganisms. *Revista Da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 49(6), 703-712.
- Rutherford, S. T., and Bassler, B. L. (2012). Bacterial quorum sensing: Its role in virulence and possibilities for its control. In *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 2 (11), 012427.

- Sadlon, A.E. and Lamson, D.W. (2010) Immune-modifying and antimicrobial effects of eucalyptus oil and simple inhalation devices. *Alternative Medicine Review*, 15, 33-47.
- Sağlam, D., Şeker, E., Kocatepe, A., Sağlık, Ü., Enstitüsü, B., Dalı, M. A., Türkiye, A. , Üniversitesi, A. K., Fakültesi, V., Kelimeler, A., Epidemiyoloji, Kaynaklı, G., Hastalık, B., İntoksikasyon, G. K., and Patojen, B. (2016). Gıda Kaynaklı Bakteriyel Patojenler. *Kocatepe Veterinary Journal Kocatepe*, 9(2), 105 -113.
- Satyal, P., Murray, B. L., McFeeters, R. L., and Setzer, W. N. (2016). Essential oil characterization of *Thymus vulgaris* from various geographical locations. *Foods*, 5(4), 70.
- Shabnum, S., and Wagay, M. (2011). Essential oil composition of *Thymus Vulgaris* L. and their uses. *Journal Res Develop*, 11(2011).
- Sharifi-Rad, J., Salehi, B., Varoni, E. M., Sharopov, F., Yousaf, Z., Ayatollahi, S. A., Kobarfard, F., Sharifi-Rad, M., Afdjei, M. H., Sharifi-Rad, M., and Iriti, M. (2017). Plants of the *Melaleuca* Genus as Antimicrobial Agents: From Farm to Pharmacy. In *Phytotherapy Research*, 31(10), 1475-1494.
- Shibamoto, K., Mochizuki, M., and Kusuvara, M. (2010). Aroma therapy in anti-aging medicine. *Anti-Aging Medicine*, 7(6), 55-59.
- Sifri, C. D. (2008). Healthcare Epidemiology: Quorum Sensing: Bacteria Talk Sense. *Clinical Infectious Diseases*, 47(8), 1070-1076.
- Silva, O. N., Franco, O. L., and Porto, W. F. (2018). β -Lactamase inhibitor peptides as the new strategies to overcome bacterial resistance. *Drugs of Today*, 54(12), 737-746.
- Singh, R., Shushni, M. A. M., and Belkheir, A. (2015). Antibacterial and antioxidant activities of *Mentha piperita* L. *Arabian Journal of Chemistry*, 8, 322-328 .
- Smigielski, K., Raj, A., Krosowiak, K., and Gruska, R. (2009). Chemical Composition of the Essential Oil of *Lavandula angustifolia* Cultivated in Poland. *Journal of Essential Oil-Bearing Plants*, 12(3), 338-347.
- Stephens, K., and Bentley, W. E. (2020). Synthetic Biology for Manipulating Quorum Sensing in Microbial Consortia. In *Trends in Microbiology*, 28(8), 633-643.
- Swamy, M. K., Akhtar, M. S., and Sinniah, U. R. (2016). Antimicrobial properties of plant essential oils against human pathogens and their mode of action: An updated review. In *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 1-21.
- Tanker, M. ve Tanker, N. (1990). *Farmakognozi*. Cilt:2. Ankara:Ankara Üniversitesi Basım Evi, 546.
- Tarakemeh, A., Rowshan, V., and Najafian, S. (2012). Essential Oil Content and Composition of *Lavandula Angustifolia* Mill. as Affected by Drying Method and Extraction Time. *Analytical Chemistry Letters*, 2(4), 244-249.
- Thoendel, M., and Horswill, A. R. (2010). Biosynthesis of peptide signals in gram-positive bacteria. In *Advances in applied microbiology*, (71), 91-112.

- Tosun, H., ve Gönül, Ş. A. (2005). The effect of acid adaptation conditions on heat resistance of *Escherichia coli* O157: H7. *Polish Journal of Microbiology*, 54(4), 295-9.
- Ventola, C. L. (2015). The Antibiotic resistance: part 1: causes and threats. *P and T: A Peer Reviewed Journal for Formulary Management*, 40(4), 277-83.
- Verma, R. S., Rahman, L. U., Chanotiya, C. S., Verma, R. K., Chauhan, A., Yadav, A., and Yadav, A. K. (2010). Essential oil composition of *Lavandula angustifolia* Mill. cultivated in the mid hills of Uttarakhand, India. *Journal of the Serbian Chemical Society*, 75(3), 343-348.
- Vuong, C., and Otto, M. (2002). *Staphylococcus epidermidis* infections. In *Microbes and Infection*, 4(4), 481-9.
- Wang, H., Liao, L., Chen, S., and Zhang, L. H. (2020). A quorum quenching bacterial isolate contains multiple substrate-inducible genes conferring degradation of diffusible signal factor. *Applied and Environmental Microbiology*, 86(7), 2930-19.
- Xu, J.G., Liu, T., Hu, Q.P., and Cao, X.M. (2016). Chemical composition, antibacterial properties and mechanism of action of essential oil from clove buds against *Staphylococcus aureus*. *Molecules*, 21(9), 1194.
- Yap, P. S. X., Yiap, B. C., Ping, H. C., and Lim, S. H. E. (2014). Essential oils, a new horizon in combating bacterial antibiotic resistance. *The Open Microbiology Journal*, (8), 6-14.
- Yentürk, A., Bakır, A., Tez, Z., Yentürk, N., Başer, H., Kırimer, N. ve Kürkçüoğlu M. (2005). *Kutsal dumandan, sihirli damlaya: parfüm*. İstanbul: YKB Yayınları, 7-87.
- Yıldırım, M. (2007). Enterokoklar ve Enterokoklarla gelişen infeksiyonlar. *Düzce Tıp Fakültesi Dergisi*, 9(2), 46–52.
- Yılmaz-Yıldıran, H., Karahan, A. G., ve Başyigit-Kılıç, G. (2015). Quorum sensing mechanism in lactic acid bacteria. *Turkish Bulletin of Hygiene and Experimental Biology*, 72(1), 79-90.
- Zgoda, J. and Porter, J. A. (2001). convenient microdilution method for screening natural products against bacteria and fungi. *Pharm Biology*, 39(3), 221-225.

EKLER

EK-1. Bakteriler ve Uçucu Yağların Elde Edildiği Bitkiler



Resim 2.1. *Acinetobacter baumannii* www.shutterstock.com



Resim 2.2. *Escherichia coli* www.shutterstock.com

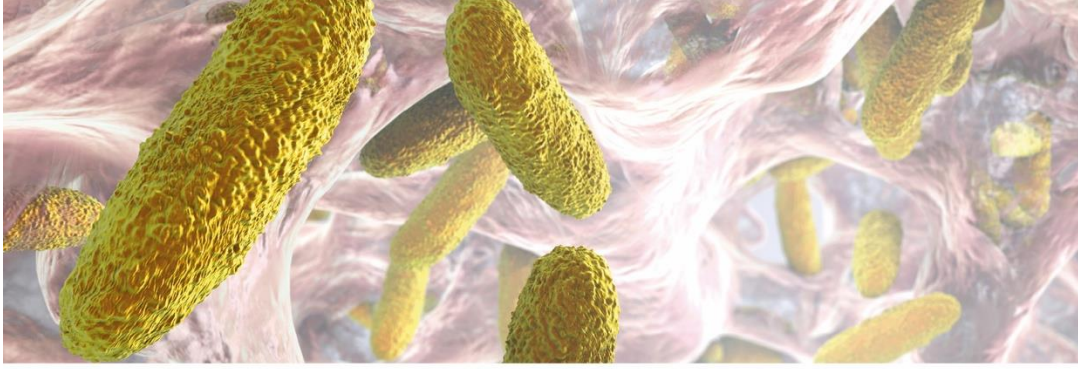


Resim 2.3. *Staphylococcus aureus* www.shutterstock.com

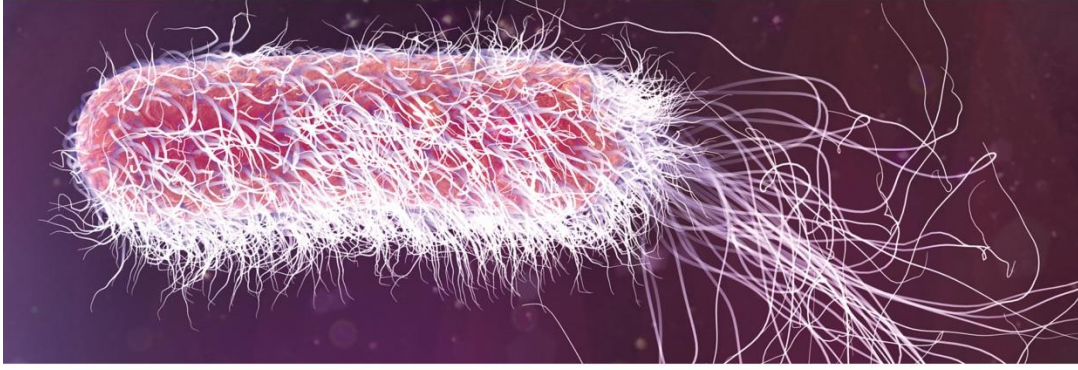


Resim 2.4. *Bacillus cereus* www.shutterstock.com

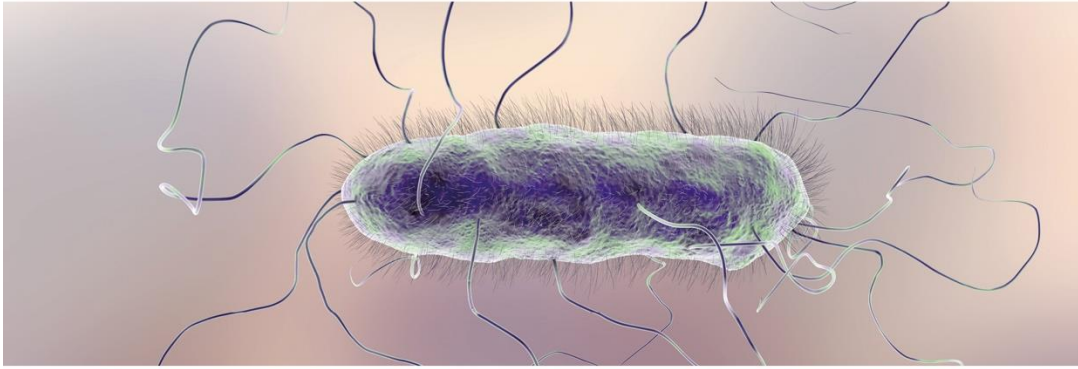
EK-1. (devam) Bakteriler ve Uçucu Yağların Elde Edildiği Bitkiler



Resim 2.5. *Klebsiella oxytoca* www.shutterstock.com



Resim 2.6. *Pseudomonas aeruginosa* www.shutterstock.com



Resim 2.7. *Proteus mirabilis* www.shutterstock.com

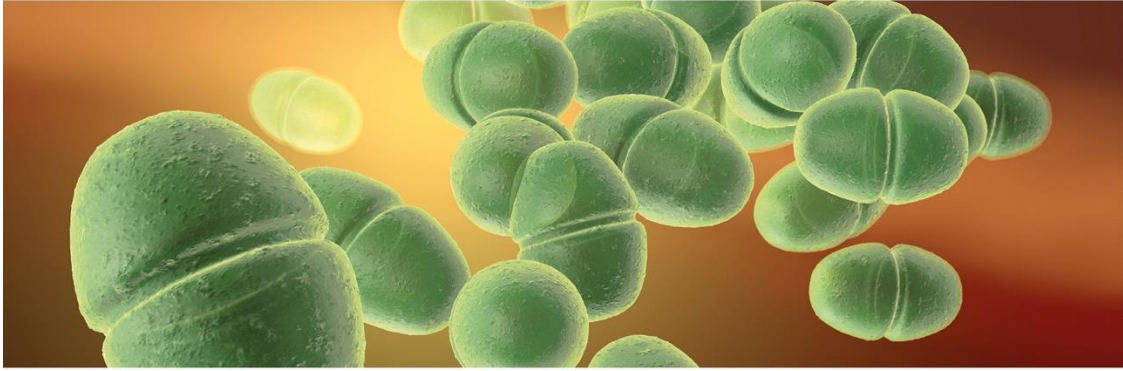


Resim 2.8. *Salmonella thypimurium* www.shutterstock.com

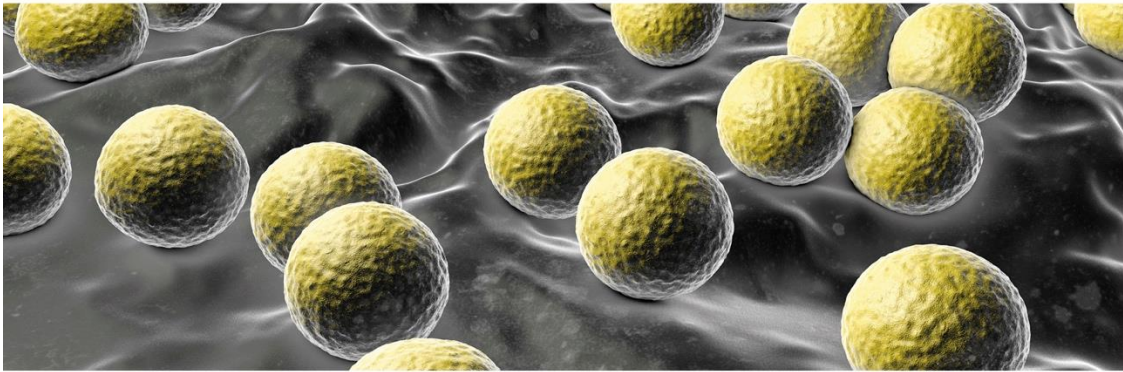
EK-1. (devam) Bakteriler ve Uçucu Yağların Elde Edildiği Bitkiler



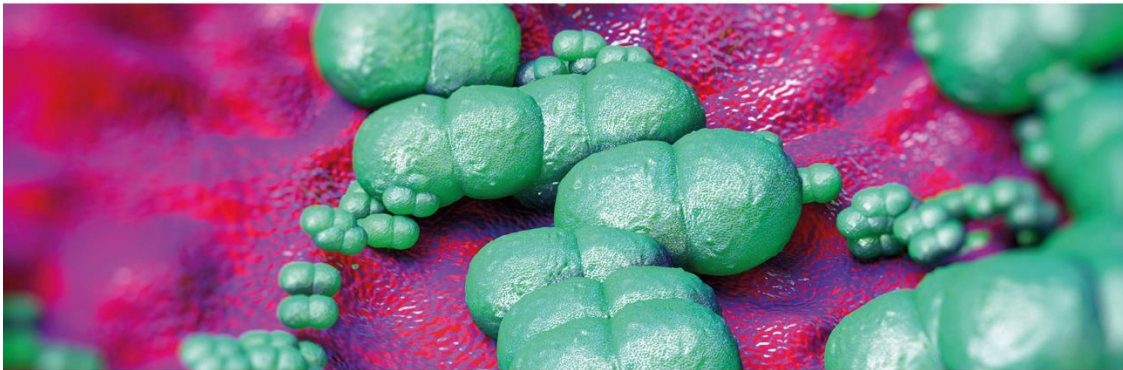
Resim 2.9. *Serratia marcescens* www.shutterstock.com



Resim 2.10. *Enterococcus faecalis* www.shutterstock.com



Resim 2.11. *Micrococcus luteus* www.shutterstock.com



Resim 2.12. *Staphylococcus epidermidis* www.shutterstock.com

EK-1. (devam) Bakteriler ve Uçucu Yağların Elde Edildiği Bitkiler



Resim 2.13. *Klebsiella pneumoniae* www.shutterstock.com



Resim 2.6.1. *Cedrus atlantica* www.shutterstock.com



Resim 2.6.2. *Citrus aurantium bergamiae* (*Bergamut*) www.shutterstock.com



Resim 2.6.3. *Citrus limon* www.shutterstock.com

EK-1. (devam) Bakteriler ve Uçucu Yağların Elde Edildiği Bitkiler



Resim 2.6.4. *Citrus sinensis* L. www.shutterstock.com



Resim 2.6.5. *Eucalyptus globulus* Labii. www.shutterstock.com



Resim 2.6.6. *Eugenia caryophyllus* www.shutterstock.com



Resim 2.6.7. *Lavandula angustifolia* www.shutterstock.com

EK-1. (devam) Bakteriler ve Uçucu Yağların Elde Edildiği Bitkiler



Resim 2.6.8. *Melaleuca alternifolia* www.shutterstock.com



Resim 2.6.9. *Mentha piperita* www.shutterstock.com



Resim 2.6.10. *Rosmarinus officinalis* www.shutterstock.com



Resim 2.6.11. *Thymus vulgaris* www.shutterstock.com

EK-2. Uçucu Yağların Özellikleri

OKALİPTÜS UÇUCU YAĞI	
Latince adı	<i>Eucalyptus globulus</i>
Familiya	Myrtaceae
Yağın elde edildiği kısım ve yöntemi	Yaprak ve dallarının buharla distilasyonu
Ana moleküller	1,8-sineol, α -pinen
Menşei	İspanya
Kalite	Organik (Ecocert SAS F32600 sertifikalı)
Doku/Renk/Koku	Uçucu sıvı/ renksiz / karakteristik
Kırılma indisi	(20 ° C): 1.461
Yoğunluk	(20 ° C): 0.908
Polarizasyon	(20 ° C): 0.8 °
Taşıyıcı gaz	Hidrojen

BERGAMOT UÇUCU YAĞI	
Latince adı	<i>Citrus aurantium</i> var. <i>bergamia</i>
Familiya	Rutaceae
Yağın elde edildiği kısım ve yöntemi	Taze perikarp soğuk sıkım
Ana moleküller	Limonen, linalol, linalil asetat
Menşei	İtalya
Kalite ve sertifika	Organik (Ecocert SAS F32600) sertifikalı
Doku/Renk/Koku	Berrak ve uçucu sıvı/ yeşil sarı/ karakteristik
Kırılma indisi	20 C° 1,4670
Yoğunluk	(20 C°) 0,879
Polarizasyon	26°
Taşıyıcı gaz	Hidrojen

EK.2. (devam) Uçucu Yağların Özellikleri

SEDİR UÇUCU YAĞI	
Latince adı	<i>Cedrus atlantica</i>
Familiya	Pinaceae
Yağın elde edildiği kısım ve yöntemi	Sedir ağacı kabuğu, buhar distilasyonu
Ana moleküller	β -Himakalen, α -Himakalen, γ -Himakalen
Menşei	Fas
Kalite	Organik (Ecocert SAS F32600 sertifikalı)
Doku/Renk/Koku	Berrak uçucu sıvı / sarı / odunsu
Kırılma indisi	(20°C) : 1,5122
Yoğunluk	(20°C) : 0,930
Polarizasyon	(20°C) : +74.4°
Taşıyıcı gaz	Hidrojen

LAVANTA UÇUCU YAĞI	
Latince adı	<i>Lavandula angustifolia</i>
Familiya	Lamiaceae
Yağın elde edildiği kısım ve yöntemi	Çiçeklerin buhar distilasyonu
Ana moleküller	Linalil asetat, linalol, cis- β -osimen
Menşei	Fransa
Kalite	Organik (Ecocert SAS F32600 sertifikalı)
Doku/Renk/Koku	Berrak , uçucu sıvı / açık sarı / karakteristik
Kırılma indisi	(20 ° C): 1.4620
Yoğunluk	(20 ° C): 0.882
Polarizasyon	(20 ° C): -8.5 °
Taşıyıcı gaz	Hidrojen

EK.2. (devam) Uçucu Yağların Özellikleri

TATLI PORTAKAL UÇUCU YAĞI	
Latince adı	<i>Citrus sinensis L.</i>
Familiya	Rutaceae
Yağın elde edildiği kısım ve yöntemi	Perikarp soğuk sıkım
Ana moleküller	Limonen, mirsen
Menşei	Meksika
Kalite	Organik (Ecocert SAS F32600 sertifikalı)
Doku/reng/Koku	Berrak uçucu sıvı / turuncu-sarı / karakteristik
Kırılma indisi	(20 ° C): 1.470
Yoğunluk	(20 ° C °): 0.844
Polarizasyon	-
Taşıyıcı gaz	Helyum

NANE UÇUCU YAĞI	
Latince adı	<i>Mentha piperita</i> (Peppermint)
Familiya	Lamiaceae
Yağın elde edildiği kısım ve yöntemi	Çiçekli kısımların buhar distilasyonu
Ana moleküller	Mentol, menton
Menşei	Hindistan
Kalite	Organik (Ecocert SAS F32600 sertifikalı)
Doku/Renk/Koku	Berrak uçucu sıvı / renksiz / karakteristik
Kırılma indisi	(20 ° C): 1.461
Yoğunluk	(20 ° C): 0.905
Polarizasyon	(20 ° C): -18.8 °
Taşıyıcı gaz	Hidrojen
β-Caryophyllene	1 ve 3,5

EK.2. (devam) Uçucu Yağların Özellikleri

ÇAY AĞACI YAĞI (TEA TREE UÇUCU YAĞI)	
Latince adı	<i>Melaleuca alternifolia</i>
Familiya	Myrtaceae
Yağın elde edildiği kısım ve yöntemi	Yaprak ve terminal dalların buharla distilasyonu
Ana moleküller	Terpinen-4-ol, γ -terpinen, α -terpinen
Menşei	Zimbabve
Kalite	Organik (Ecocert SAS F32600 sertifikalı)
Doku/Renk/Koku	Berrak uçucu sıvı / Renksiz / karakteristik
Kırılma indisi	(20 ° C): 1.4789
Yoğunluk	(20 ° C): 0.894
Polarizasyon	(20 ° C): 9.1 °
Taşıyıcı gaz	Hidrojen

KEKİK UÇUCU YAĞI	
Latince adı	<i>Thymus vulgaris</i>
Familiya	Lamiaceae
Yağın elde edildiği kısım ve yöntemi	Çiçeklerin buhar distilasyonu
Ana moleküller	Limonen, linalol, geraniol, geranial.
Menşei	İspanya
Kalite	Organik (Ecocert SAS F32600 sertifikalı)
Doku/Renk/Koku	Berrak uçucu sıvı / açık sarı / karakteristik
Kırılma indisi	(20 ° C): 1.4695
Yoğunluk	(20 ° C): 0.886
Polarizasyon	(20 ° C): -0.3 °
Taşıyıcı gaz	Hidrojen

EK.2. (devam) Uçucu Yağların Özellikleri

KARANFİL UÇUCU YAĞI	
Latince adı	<i>Eugenia caryophyllus</i> (Clove)
Familiya	Myrtaceae
Yağın elde edildiği kısım ve yöntemi	Çiçek tomurcuklarının buhar distilasyonu
Ana moleküller	Öjenol, öjenil asetat, β -karyofilen
Menşei	Madagaskar
Kalite	Organik (Ecocert SAS F32600 sertifikalı)
Doku/Renk/Koku	Berrak, uçucu sıvı / sarı-açık kahverengi / karakteristik
Kırılma indisi	(20 ° C): 1.5315
Yoğunluk	(20 ° C): 1.064
Polarizasyon	(20 ° C): -0,2 °
Taşıyıcı gaz	Hidrojen

BİBERİYE UÇUCU YAĞI	
Latince adı	<i>Rosmarinus officinalis</i>
Familiya	Lamiaceae
Yağın elde edildiği kısım ve yöntemi	Dal ve çiçeklerin buhar distilasyonu
Ana moleküller	1,8-sineol, β -Pinen, α -Pinen
Menşei	Fas
Kalite	Organik (Ecocert SAS F32600 sertifikalı)
Doku/Renk/Koku	Berrak, uçucu sıvı / Renksiz / Karakteristik
Kırılma indisi	(20 ° C): 1.4669
Yoğunluk	(20 ° C): 0.913
Polarizasyon	(20 ° C): 4.2 °
Taşıyıcı gaz	Hidrojen

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : ÖZFENERCİ, Müjgan
 Uyuğu : T.C.
 Doğum tarihi ve yeri : 01.03.1959 Manisa
 Telefon : 0 (312) 229 43 84
 Faks : 0 (312) 230 53 16
 e-mail : 1.mujgan@gmail.com



Eğitim Derecesi	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Yüksek Lisans	Gazi Üniversitesi/Farmakognozi Anabilim Dalı	Devam ediyor
Lisans	Gazi Üniversitesi / Eczacılık Fakültesi	1981
Lise	Manisa Lisesi	1976

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
1984 -Devam ediyor	Akar Eczanesi	Eczane Sahibi

Yabancı Dil

İngilizce

Yayınlar

1. Koca-Çalışkan, U., Bali, E.B., Erdönmez, D. ve Özfenerci, M. (2019-4-26 Nisan). *Quorum sensing inhibition activity of volatile oils applied in aromatherapy*. MESMAP-5 Kapadokya.
2. Bali, E.B., Erdönmez, D., Koca-Çalışkan, U. . ve Özfenerci, M. (2019-24-27 Nisan). *Aromaterapötik yağ ve karışımların Quorum sensing'deki rolü*. GETAT- 2. Uluslararası Geleneksel ve Tamamlayıcı Tıp Kongresi İstanbul.
3. Özfenerci, M. ve Koca-Çalışkan, U. (2018-9-12 Nisan). *Çay ağacı yağı ve aromaterapideki yeri*. 23. BİHAT-2018, Bitkisel ilaç hammaddeleri toplantısı, Poster Sunumu, Antalya.
4. Ozfenerci, M. ve Koca-Caliskan, U. (2018). Tea tree oil and its use in aromatherapy. *Cupmap*, (1), 2.

Diğer katılımlar

1. Florame Firmasının uçucu yağlar ve aromaterapi ile ilgili Ankara eğitimlerinin 2 yıllık kısmına katılım.
2. www.agaclar.net adlı sitede bitki veritabanı girişi için destek.

Sertifikalar

Ankara Eczacı Odası MİEP- 1991

Ankara Eczacı Odası MİEP- 1992 (İlk ve İkincil yardım eğitimi)

Ankara Eczacı Odası MİEP- 1994 (Klinik Eczacılık)

Ankara Eczacı Odası MİEP- 1997 (Ağrı ve Tedavisi)

Ankara Eczacı Odası MİEP- 2018 (4. Aromaterapi Eğitimi)

Proje

Doğa için çal projesi. Küresel iklim değişikliği gibi hepimizi ilgilendiren doğa ile ilgili sorunlara dikkat çekmek üzere hazırlanmış bu projenin bir kaç bölümüne solo olarak katkılar...

Hobiler

Türk müziği ve özellikle türkülerimiz. Farklı korolarda ve en son Mülkiyeliler Birliği Halk Müziği Topluluğunda bağlama ve cura çalarak gruba eşlik etme. Amatör olarak tanbur ile Klasik Türk Müziği eserlerini icra etmek



GAZİLİ OLMAK AYRICALIKTIR..

