

T.C.
GEBZE YÜKSEK TEKNOLOJİ ENSTİTÜSÜ
MÜHENDİSLİK VE FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

CUSCUTA MONOGYNA, HEDERA HELIX,
VİTEX AGNUS CASTUS BİTKİLERİNİN
METHANOL EKSTRAKTLARININ
ANTİBAKTERİYEL VE ANTİFUNGAL
ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Valentina SARAJAKOVA
YÜKSEKLİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

GEBZE

2004

T.C.
GEBZE YÜKSEK TEKNOLOJİ ENSTİTÜSÜ
MÜHENDİSLİK VE FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

CUSCUTA MONOGYNA, HEDERA HELIX,
VITEX AGNUS CASTUS BİTKİLERİNİN
METHANOL EKSTRAKTLARININ
ANTİBAKTERİYEL VE ANTİFUNGAL
ÖZELLİKLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Valentina SARAJAKOVA
YÜKSEKLİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. İ.Yavuz SEZEN

GEBZE
2004

ÖZET

Bu çalışmada *Hedera helix*, *Vitex agnus castus* ve *Cuscuta monogyna* bitkilerinin metanol ekstraktlarının antibakteriel ve antifungal özelliği araştırıldı. *Hedera helix*'in yaprak ekstraktından hazırlanan preparatlar bronşit, zatürreden ileri gelen öksürük ve astım tedavisinde kullanıldığı bilinmektedir. *Vitex agnus castus* bitkisinin hipnotik ve menstruasyon arttırıcı, kadın hastalıklarında, süt salgısını engelleyici, seksüel hormon salgılanmasını artırıcı özelliği vardır. Çalışmada kullanılan bitkisel ekstraktlarımızın farklı konsantrasyonları elde etmek için solvent olarak metanol kullanılmıştır.

Gram pozitif bakterilerden *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Enterococcus fecalis*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus* ve gram negatif bakterilerden *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Salmonella enteridis* türleri, mayalardan *Candida utilis*, *Candida albicans* türleri ve *Penicillium sp. purpurogenum*, *Aspergillus terricola*, *Trichothecium roseum*, *Aspergillus sp.*, *Alternaria alternata*, *Ulocladium sp.atrum*, *Aspergillus sp.flavus*, *Aspergillus niger* ATCC 16404, *Cladosporium sp.*, *Penicillium sp.verrucosum* var. *cyclopium* fungus türleri üzerinde invitro ortamda farklı bitkisel ekstraktın çeşitli konsantrasyonlarda denemeleri yapıldı

Hedera helix bitkisinin metanol ekstrakt'ının denemelerinde *S.aureus* bakteride 1/16 konsantrasyona kadar bir bakteriyel üreme görülmemiş diğer konsantrasyonlarda görülmüştür.

Cuscuta monogyna'ın ve *Vitex agnus castus*'un ekstraktların denemesinde *S.aureus*, *P.aeruginosa* ATCC 9027 ve *E.fecalis* türlerinde 1/256 konsantrasyonuna kadar herhangi bir bakteriyel üreme görülmedi. *Cuscuta monogyna* metanol ekstrakt'ın deney sonuçlarına göre *C.albicans* 1/64 konsantrasyona ve *E.coli* 1/32 konsantrasyona kadar üreme göstermedi. *Vitex agnus castus*'un deneme sonuçlarında ise *E.coli*'de 1/256 ve *C.albicans*'ta ise 1/16'ya kadar olan konsantrasyonlarda üreme gözlenmedi.

Kullanılan farklı bitki ekstraktının funguslar üzerinde yapılan denemelerinde herhangi bir etkili sonuca raslanmamıştır.

Araştırma sonuçlarımıza göre üç farklı bitki ekstraktının denemelerde bazı insan patojeni bakteriler üzerinde etkili sonuçlar verdiği ortaya konulmuştur. Bu çalışmanın biraz daha derinlik kazanabilmesi için farklı bakteri ve fungus türlerinin de denenmesi ve kullanılan ekstraktların fraksiyonlarının ortaya konulması dşnlmelidir.

SUMMARY

In this study, the anti bacterial and antifungal features of the methanol extracts from the *Hedera helix*, *Vitex agnus castus* and *Cuscuta monogyna* plants have been investigated. It is known that the preparations of the extracts of leaves from the *Hedera helix* are used for the treatment of bronchitis, coughing caused by pneumonia and asthma. The *Vitex agnus castus* plant has an attribute to increase the hypnotic and menstruation, to prevent lactation in gynaecological diseases, to increase secretion of sexual hormones.

Various in vitro experiments with different vegetal extracts in various concentrations have been performed on gram positive bacteria such as *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Enterococcus fecalis*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus* and gram negative bacteria such as *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Salmonella enteridis* types, on ferments such as *Candida utilis*, *Candida albicans* types and fungus types such as *Penicillium sp. purpurogenum*, *Aspergillus terricola*, *Trichothecium roseum*, *Aspergillus sp.*, *Alternaria alternata*, *Ulocladium sp. atrum*, *Aspergillus sp. flavus*, *Aspergillus niger* ATCC 16404, *Cladosporium sp.*, *Penicillium sp. verrucosum* var. *cyclopium*.

During the experiments on the methanol extract of *Hedera helix* plant, up to 1/16 concentration no bacterial propagation has been observed in *S. aureus* bacteria but in other concentrations bacterial propagation occurred.

During the experiments on the extracts of *Cuscuta monogyna* and *Vitex agnus castus* plants, up to 1/216 concentration no bacterial propagation has been observed in *S. aureus*, *P. aeruginosa* ATCC 9027 and *E. fecalis* types. At the end of the *Cuscuta monogyna* methanol extract, no propagation of *C. albicans* up to 1/64 concentration and no propagation of *E. coli* up to 1/32 concentration occurred. However at the end of the experiments with *Vitex agnus castus* no *E. coli* propagation up to 1/256 concentration and no *C. albicans* propagation up to 1/16 concentration has been observed.

No effective results of different plant extracts which were used have been recorded after the experiments on the fungi.

According to the results of our researches, three different plant extracts have effective results on some human pathogenic bacteria. In order to have a better result, experiments on other different bacteria and fungi types should be performed and suggesting the fractions of extracts that had been used should be considered

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tez çalışmamda yardımcı olan, yön gösteren, her türlü maddi ve manevi desteğini esirgemeyen danışman hocam Sayın Prof. Dr. I.Yavuz SEZEN'e teşekkür eder ve saygılarımı sunuyorum. Yrd.Doç.Dr. Aziz TANRISEVEN'e çalışmalarında yardımcı olduğu için çok teşekkür ederim. Çalışmada emeği geçen ve her zaman yardımcı olan araştırma görevlisi İsa KARAMAN'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım. İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesinin Doç. Dr. Zayre ERTURAN'a funguslar ile ilgili bilgi toplanmama yardım ettiği için çok teşekkür ediyorum. Türkiye'ye getirip bu imkanı sağlayan Türk Dünyası Araştırma Vakfına, Vakıf Başkanı Sayın Prof. Dr. Turan YAZGAN hocama teşekkürümü borç biliyorum. Çalışmalarında bana emeği geçen Mikrobiyoloji Laboratuvarında çalışan araştırma görevlilerine ayrı ayrı teşekkür ederim. Tez çalışmalarında yardımcı olan arkadaşım Elvan ASARKAYA teşekkürlerimi sunar işlerinde başarılar dilerim. Çalışmamda emeği geçen arkadaşlarıma teşekkür eder çalışmalarında başarılar dilerim. Sevgili anneme ve kardeşime her zaman maddi ve manevi desteği için teşekkür eder, sağlık ve mutluluk dilerim.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	IV
SUMMARY	VI
TEŞEKKÜRLER	VIII
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	IX
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	XI
ŞEKİLLER DİZİNİ	XII
TABLolar DİZİNİ	XVI
1. GİRİŞ	1
2. KONU İLGİLİ YAYINLAR VE ÇALIŞMALAR	3
2.1. Genel Bilgiler	4
2.1.1. Cuscuta monogyna	4
2.1.2. Hedera helix	5
2.1.3. Vitex agnus castus	8
2.2. Çalışmalarda Kullanılan Bakteriler	9
2.2.1. Staphylococcus	9
2.2.2. Proteus	11
2.2.3. Bacillus	12
2.2.4. Pseudomonas	13
2.2.5. Enterococcus	14
2.2.6. Escherichia	15
2.2.7. Candida	16
2.2.8. Salmonella	17
2.2.9. Streptococcus	18
2.3. Çalışmalarda Kullanılan Funguslar	21
2.3.1. Penicillium	21
2.3.2. Aspergillus	23
2.3.3. Trichothecium	23
2.3.4. Ulocladium	24
2.3.5. Cladosporium	25
2.3.6. Alternaria	26

3. MATERYAL VE METOD	28
3.1 Materyal	28
3.1.1. Extractlar	28
3.1.2. Mikroorganizmalar	28
3.1.3. Besiyerleri	29
3.1.4. Kimyasallar	29
3.1.5. Kullanılan Cihazlar	29
3.2. Metod	30
3.2.1.Extractlar'ın Elde Edilmesi	30
3.2.2. McF'Ayarlama	30
3.2.3. Bakteriler ve Bakteriler İçin Besiyerinin Hazırlanışı	31
3.2.4. Funguslar ve Funguslar İçin Besiyerinin Hazırlanışı	31
3.2.5. Dilüsyonların (Makro ve Mikro Dilüsyon) Hazırlanışı	31
4. BULGULAR	35
4.1. Bakteriler Üzerinde Yapılan Deneylerinin Sonuçları	35
4.2. Funguslar Üzerinde Yapılan Deneylerinin Sonuçları	50
5. TARTIŞMALAR	59
6. SONUÇLAR	62
KAYNAKLAR	64
ÖZGEÇMİŞ	69

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

SSSS -	Staphylococcol Scolded Skin Syndrome
PA –	Pseudomonas Agar
SS Agar -	Salmonella Shigella agar
EPEC -	Enteropatojenik tipler
EIEC -	Enteroinvaziv tipler
ETEC -	Enterotoksijenik tipler
LT -	Labil toksin
cAMP –	Siklik Adenozin Monofosfat
cGMP –	Siklik Guanozin Monofosfat
EHEC -	Enterohemorajik tipler
EMB -	Eosin Methylene Blue
BS -	Bismuth sulfite agar
ASO -	Anti-streptolizin O testi
GMS -	Gomori metanamin gümüş
PAS -	Periyodik Asit Schiff
AIDS –	Acquired Immunodeficiency Syndrome
HIV –	Human Immunodeficiency Virus
BHI -	Brain Heart Infusion
MIC –	Minimal Inhibition Concentration
PDA -	Patates Dekstroza Agar
McF –	Macfarland (bulanıklık standardı)
NA -	Nutrient Agar
ATCC –	American Tissue Culture Collection

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.1 <i>Cuscuta monogyna</i>	7
2.2 <i>Hedera helix</i>	7
2.3 <i>Vitex agnus castus</i>	7
3.1 Dilüye etme (Seyreltme) işlemi	32
4.1 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027 metanol'a karşı 1/1-1/16 konsantrasyonlarında oluşturduğu zonların görünüşü	37
4.2 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027 metanol'a karşı 1/32-1/256 konsantrasyonlarında oluşturduğu zonların görünüşü	37
4.3 <i>Bacillus cereus</i> metanol'a karşı 1/1-1/16 konsantrasyonlarında oluşturduğu zonların görünüşü	37
4.4 <i>Bacillus cereus</i> metanol'a karşı 1/32-1/256 konsantrasyonlarında oluşturduğu zonların görünüşü	37
4.5 <i>Proteus vulgaris</i> antibiyotiğe (azitromisin) karşı 1/1-1/16 konsantrasyonlarında oluşturduğu zonların görünüşü	38
4.6 <i>Proteus vulgaris</i> antibiyotiğe (azitromisin) karşı 1/32-1/256 konsantrasyonlarında oluşturduğu zonların görünüşü	38
4.7 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027 antibiyotiğe (azitromisin) karşı 1/1-1/16 konsantrasyonlarında oluşturduğu zonların görünüşü	39
4.8 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027 antibiyotiğe (azitromisin) karşı 1/32-1/256 konsantrasyonlarında oluşturduğu zonların görünüşü	39
4.9 <i>Escherichia coli</i> antibiyotiğe (azitromisin) karşı 1/1-1/16 konsantrasyonlarında oluşturduğu zonların görünüşü	39
4.10 <i>Escherichia coli</i> antibiyotiğe (azitromisin) karşı 1/32-1/256 konsantrasyonlarında oluşturduğu zonların görünüşü	39
4.11 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27859 antibiyotiğe (azitromisin) karşı 1/1 - 1/16 konsantrasyonlarında oluşturduğu zonların görünüşü	40
4.12 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27859 antibiyotiğe (azitromisin) karşı 1/32 - 1/256 konsantrasyonlarında oluşturduğu zonların görünüşü	40

4.13	<i>Streptococcus pyogenes</i> antibiyotiğe (azitromisin) karşı 1/1-1/16 konsantrasyonlarında oluşturduğu zonların görünüşü	40
4.14	<i>Streptococcus pyogenes</i> antibiyotiğe (azitromisin) karşı 1/32-1/256 konsantrasyonlarında oluşturduğu zonların görünüşü	40
4.15	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Hedera helix</i> bitkisinin ekstraktına karşı 1/1-1/16 konsantrasyonlarında oluşturduğu zonların görünüşü	41
4.16	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Hedera helix</i> bitkisinin ekstraktına karşı 1/32-1/256 konsantrasyonlarında oluşturduğu zonların görünüşü	41
4.17	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Cuscuta monogyna</i> bitkisinin ekstraktına karşı 1/1-1/16 konsantrasyonlarında oluşturduğu zonların görünüşü	43
4.18	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Cuscuta monogyna</i> bitkisinin ekstraktına karşı 1/32-1/256 konsantrasyonlarında oluşturduğu zonların görünüşü	43
4.19	<i>Candida utilis</i> , <i>Cuscuta monogyna</i> bitkisinin ekstraktına karşı 1/1-1/16 konsantrasyonlarında oluşturduğu zonların görünüşü	43
4.20	<i>Candida utilis</i> , <i>Cuscuta monogyna</i> bitkisinin ekstraktına karşı 1/32-1/256 konsantrasyonlarında oluşturduğu zonların görünüşü	43
4.21	<i>Streptococcus pyogenes</i> , <i>Cuscuta monogyna</i> bitkisinin ekstraktına karşı 1/1-1/16 konsantrasyonlarında oluşturduğu zonların görünüşü	43
4.22	<i>Streptococcus pyogenes</i> , <i>Cuscuta monogyna</i> bitkisinin ekstraktına karşı 1/32-1/256 konsantrasyonlarında oluşturduğu zonların görünüşü	43
4.23	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27859, <i>Vitex agnus castus</i> bitkisinin ekstraktına karşı 1/1-1/16 konsantrasyonlarında oluşturduğu zonların görünüşü	45
4.24	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27859, <i>Vitex agnus castus</i> bitkisinin ekstraktına karşı 1/32-1/256 konsantrasyonlarında oluşturduğu zonların görünüşü	45
4.25	<i>Proteus vulgaris</i> , <i>Vitex agnus castus</i> bitkisinin ekstraktına karşı 1/1-1/16 konsantrasyonlarında oluşturduğu zonların görünüşü	45
4.26	<i>Proteus vulgaris</i> <i>Vitex agnus castus</i> bitkisinin ekstraktına karşı 1/32-1/256 konsantrasyonlarında oluşturduğu zonların görünüşü	45

4.27	<i>Bacillus subtilis</i> , <i>Vitex agnus castus</i> bitkisinin ekstraktına karşı 1/1-1/16 konsantrasyonlarında oluşturduğu zonların görünüşü	45
4.28	<i>Bacillus subtilis</i> <i>Vitex agnus castus</i> bitkisinin ekstraktına karşı 1/32-1/256 konsantrasyonlarında oluşturduğu zonların görünüşü	45
4.29	<i>Cladosporium sp.</i> , antifungala (siklopiroksolamin) karşı 1/1-1/16 konsantrasyonlarında oluşturduğu zonların petri kabının arka kısmından görünüşü	53
4.30	<i>Cladosporium sp.</i> , antifungala (siklopiroksolamin) karşı 1/1-1/16 konsantrasyonlarında oluşturduğu zonların petri kabın ön kısmından görünüşü	53
4.31	<i>Ulocladium sp.atrum</i> , antifungala (siklopiroksolamin) karşı 1/1-1/16 konsantrasyonlarında oluşturduğu zonların petri kabının arka kısmından görünüşü	53
4.32	<i>Ulocladium sp.atrum</i> , antifungala (siklopiroksolamin) karşı 1/1-1/16 konsantrasyonlarında oluşturduğu zonların petri kabın ön kısmından görünüşü	53
4.33	<i>Aspergillus sp. flavus</i> , antifungala (siklopiroksolamin) karşı 1/1-1/16 konsantrasyonlarında oluşturduğu zonların petri kabının arka kısmından görünüşü	54
4.34	<i>Aspergillus sp. flavus</i> , antifungala (siklopiroksolamin) karşı 1/1-1/16 konsantrasyonlarında oluşturduğu zonların petri kabın ön kısmından görünüşü	54
4.35	<i>Penicillium sp. purpurogenum</i> , antifungala (siklopiroksolamin) karşı 1/1-1/16 konsantrasyonlarında oluşturduğu zonların petri kabının arka kısmından görünüşü	54
4.36	<i>Penicillium sp. purpurogenum</i> , antifungala (siklopiroksolamin) karşı 1/1-1/16 konsantrasyonlarında oluşturduğu zonların petri kabın ön kısmından görünüşü	54
4.37	<i>Penicillium sp. purpurogenum</i> , antifungala (siklopiroksolamin) karşı 1/32-1/256 konsantrasyonlarında oluşturduğu zonların petri kabın arka kısmından görünüşü	55
4.38	<i>Penicillium sp. purpurogenum</i> , antifungala (siklopiroksolamin) karşı	

1/32-1/256 konsantrasyonlarında oluşturduğu zonların petri kabın ön kısmından görünüşü	55
4.39 <i>Ulocladium sp.atrum</i> , <i>Hedera helix</i> bitkisinin ekstraktına karşı 1/1-1/16 konsantrasyonlarında oluşturduğu zonların petri kabın arka kısmından görünüşü	56
4.40 <i>Ulocladium sp.atrum</i> , <i>Hedera helix</i> bitkisinin ekstraktına karşı 1/1-1/16 konsantrasyonlarında oluşturduğu zonların petri kabın ön kısmından görünüşü	56
4.41 <i>Ulocladium sp.atrum</i> , <i>Vitex agnus castus</i> bitkisinin ekstraktına karşı 1/1-1/16 konsantrasyonlarında oluşturduğu zonların petri kabın arka kısmından görünüşü	58
4.42 <i>Ulocladium sp.atrum</i> , <i>Vitex agnus castus</i> bitkisinin ekstraktına karşı 1/1-1/16 konsantrasyonlarında oluşturduğu zonların petri kabın ön kısmından görünüşü	58

TABLOLAR DİZİNİ

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
3.1 Madde konsantrasyonlarına göre bir diskte bulunan madde miktarı (μg)	33
4.1 Methanol'un minimal inhibisyon zonlarının ölçümleri (mm)	36
4.2 Antibiyotiğin (azitromisin) minimal inhibisyon zonlarının ölçümleri (mm)	38
4.3 <i>Hedera helix</i> bitkisinin methanol ekstrakt'ının minimal inhibisyon zonlarının ölçümleri (mm)	41
4.4 <i>Cuscuta monogyna</i> bitkisinin methanol ekstrakt'ının minimal inhibisyon zonlarının ölçümleri (mm)	42
4.5 <i>Vitex agnus castus</i> bitkinin methanol ekstrakt'ının minimal inhibisyon zonlarının ölçümleri (mm)	44
4.6 Methanol'un MIC değerleri	46
4.7 Antibiyotiğin (azitromisin) MIC değerleri	47
4.8 <i>Hedera helix</i> bitkisinin methanol ekstrakt'ının MIC değerleri	48
4.9 <i>Cuscuta monogyna</i> bitkisinin methanol ekstrakt'ının MIC değerleri	49
4.10 <i>Vitex agnus castus</i> bitkisinin methanol ekstrakt'ının MIC değerleri	50
4.11 Funguslarda methanol'un minimal inhibisyon zonlarının ölçümleri (mm)	51
4.12 Funguslarda antifungal'ın (siklopiroksolamin) minimal inhibisyon zonlarının ölçümleri (mm)	52
4.13 Funguslarda <i>Hedera helix</i> bitkisinin methanol ekstraktının minimal inhibisyon zonlarının ölçümleri (mm)	56
4.14 Funguslarda <i>Cuscuta monogyna</i> bitkisinin methanol ekstaktının minimal inhibisyon zonlarının ölçümleri (mm)	57
4.15 Funguslarda <i>Vitex agnus castus</i> bitkisinin methanol ekstraktının minimal inhibisyon zonlarının ölçümleri (mm)	58

1. GİRİŞ

Tarihin ilk çağlarından günümüze kadar insanlar bitkilerden gıda ve şifa aramışlardır. Beslenmelerinin yanında önemli hastalıklarını da şifalı bitkilerle tedavi edebilmişlerdir. Ancak her bitkinin düşünüldüğü kadar yararlı olmadığı ya da yararlı etkilerinin yanında organizma için az ya da çok zararlı olabilen başka etkilerinin de olduğu görülmüştür (Dökmeci, 1994).

Dünya sağlık teşkilatı (WHO)'nin 91 ülkenin farmokopelerine ve tıbbi bitkileri üzerine yapılmış olan bazı yayınlarına dayanarak hazırladığı bir araştırmaya göre, tedavi amacıyla kullanılan tıbbi bitkilerin toplam miktarı 20.000 civarındadır (Kalaycioğlu ve Öner, 1994).

Türkiye florasının önemli bir özelliği, oldukça zengin bir yapıya sahip olmasıdır. Türkiye'de 9000'e yakın bitki türü doğal olarak yetişmesine rağmen bunlardan yeterince yararlanılmadığı düşünülmektedir. Kimyasal içerikleri üzerindeki çalışmalar ise çok yavaş yürümektedir (Davis, 1972).

Tüm dünya ülkelerinde olduğu gibi, Türkiye'de de tıbbi açıdan önemli olan bitkiler, yüzyıllardan beri halk arasında hastalıkların tedavisi amacıyla kullanılmaktadır.

Eski Yunan hekimler, *Vitex agnus castus*'u bazı uterus rahatsızlıklarında kullanmışlardır. Bunun kanıtları, Hippocrates'ın çalışmalarındaki kapsamlı referanslarda bulunabilir (M.Ö. 4. yy.). Hippocrates *Vitex agnus castus*'u, "kanın akışını durdurmak" ve "plasentanın geçişini kolaylaştırmak" için de kullanmıştır (<http://www.biomeks.com/agnucaston1.htm#>). Dioscurides de *Vitex agnus castus*'un tedavideki avantajlarını anlatmıştır. Bitkiyi ve tohumlarını kaynatarak elde ettiği suyu oturma banyosu olarak uterus inflamasyon ve hastalıklarının tedavisinde kullanmıştır. Lonicerus ve Matthioles bitkinin meyve ve yapraklarının, emenagog ve galaktogog olarak kullanılmasını önermişlerdir. 19. yüzyılda ve 20. yüzyılın başında doktorlar, *Vitex agnus castus*'u unutmuşlar; yalnızca homeopati uzmanları bu bitkiyi kullanmayı sürdürmüşlerdir. *Vitex agnus castus* günümüzde yeniden dikkat çekmeye

başlamıştır. Farmakolojik ve klinik çalışma sonuçları etkileyicidir.

Hedera helix bitkisi çok eski çağlardan insan tarafından çok farklı amaçlarla kullanılmış. Eski Mısırda Osiris'in kutsal ağacı olarak belirtiliyor. Eski Yunanistan'da ve Roma'da şairlerin sembolü olarak kullanılmış. Orta Asya'da maden paralar üzerinde *Hedera helix*'in baskısını yapmışlardır, çünkü *Hedera helix*'in ölmezlik anlamına geldiğine inanılmaktadır.

Aynı zamanda çok eski zamanlardan itibaren bu bitkiye şifalı bitki olarak kullanılmaya başlanmıştır. İbn-i Sînâ (Batı dünyasında "Avicenna" adıyla tanınır (979-1037)) tarafından; *Hedera helix*'in iç sürdürme, bitki suyunun istenmeyen kılarn yok edilmesi ve bitleri yok etme özelliğinin olduğu ifade edilmiştir. Taze yapraklar şarapla kaynatıldıktan sonra yara tedavisinde kullanıldığı ve taze yaprakların ise yanmış yara tedavisinde kullanıldığı bilinmektedir. Orta çağların Ermeni hekim ve bilim adamı Amirdovlat Amansiasi (1478-1482) kendi kitabında şifalı bitki olarak bilgi verilmiştir. Alman ve Bulgar halkı *Hedera helix* hakkında pek çok hastalıkların tedavisinde kullanmışlardır (Zuzuk et al, 2002).

Uzak geçmişten günümüze kadar bu bitkiler yeniden bilim adamlarının ilgilerini artırmıştır. Bu alandaki araştırmaların amacı bu bitkilerin kimyasal özelliklerini öğrenmek veya bunlardan elde edilen kimyasal maddelerden yeni bir madde sentezlemektir. Bu tezin araştırma amacı *Cuscuta monogyna*, *Hedera helix* ve *Vitex agnus castus* bitkilerinin metanol ekstraktlarının anibakteriyel ve antifungal özelliklerinin olup olmadığını tespit etmektir.

2. KONU İLGİLİ YAYINLAR VE ÇALIŞMALAR

Literatür bilgilerine göre, bu bitkiler içinde olan kimyasallar geniş bir şekilde araştırılmıştır (Bedir ve ark., 1999; Kuruüzüm-uz ve ark., 2003; Li et al, 2002; Hirobe et al, 1997). Fakat bu maddeler nerede kullanılır ve hangi özellikleri taşır bu gibi çalışmalara daha az rastlanmaktadır.

Hedera helix'ın bitkisinin yapraklarından izole edilen saponinler funguslara, parazitlere, yumuşakçalara ve leishmanialara karşı etkiye sahiptir (Timon-David et al, 1980; Julien et al, 1985).

Anadolu halk tıbbında *Vitex agnus-castus* bitkisi diüretik ve antifungal olarak kullanılmakta, aynı zamanında mide ağrısına ve erken doğumu önlemeye karşı da kullanıldığı bilinmektedir (Baytop, 1984; Honda et al, 1996).

1949 yılında A. J. Calabrese isimli bir araştırmacı *Hedera helix* içinde olan saponinin çok yüksek derecede antibakteriyel özelliğe sahip olduğunu belirlemiştir. Hederin 4 µg/ml konsantrasyonunda *Staphylococcus aureus* ve *Streptococcus pneumoniae* bakterilerinin üremesine engel olmaktadır. Kuduz virüsü enjekte edilen tavşanlara *Hedera helix* bitkisinin ekstraktı verildiğinde, tavşanlar hasta olmadıkları gözlemlenmiştir. (Zuzuk et al., 2002). C. Margineary (1978), P. Timon-David et al. (1981), G. Balansard et al. (1980) hederinin antimikrobiyal özelliklerini araştırmışlardır. *Hedera helix*'ten izole edilen hederin ve hederosaponin *Candida albicans*, *Microsporum canis*, *Epidermophyton fluccosum*'a karşı antimikrobiyal özellik göstermektedir. Fakat en etkili olarak hederin bulunmuştur (*C. albicans* ve *Microsporum lanosum* için MIC değeri 50 µg/ml). Laboratuar şartlarında beyaz fareler üzerinde yapılan deney sonuçlarına göre *Hedera helix*'ten elde edilen ekstraktlarla *C. albicans* ile enfekte olan farelerin iyileştikleri gözlemlenmiştir.

Yapılan bu çalışmada yukarıda özellikleri belirtilen *Hedera helix*, *Vitex agnus castus* ve *Cuscuta monogyna*'ın antibakteriyel ve antifungal etkileri araştırılmıştır. Böylece Türkiye'de doğal olarak yetişen ve tıbbi özellikleri olan bitkileri tespit etmek, yapılan ve yapılacak olan çalışmalara katkıda bulunmak amaçlanmıştır.

2.1. Genel Bilgiler

2.1.1. *Cuscuta monogyna*

Bu çalışmada kullanılan *Cuscuta monogyna* bitkisinin sistematığı aşağıdaki gibidir.

Bölüm	: Spermatophyta
Alt Bölüm	: Dicotyledoneae
Alt Sınıf	: Asteridae
Ordo	: Solanales
Familya	: Cuscutaceae
Genus	: Cuscuta
Tür	: Cuscuta monogyna

Küsküt, asalak ve tek yıllık bir bitkidir. Asmaya sarılarak onun gelişmesine engel olur ve onu kurutur. Parazit olan yabancı ota, halk tarafından verem otu, şeytan saçı, kızıl ot gibi isimler verilir.

Bağ küskütünün gövdesi 1-3 mm. kalınlıkta, koyu kahverengi ve sert olmasıyla diğer küsküt türlerinden ayrılır.

Toprağa kendiliğinden dökülen küsküt tohumları uygun toprak nemi ve sıcaklık bulunca çimlenir. Sonradan asmanın gövde renginde 10-15 cm boyunda çimlenme dalı uzatarak, ucunda bir kıvrılma ile asmaya sarılır. Dallarında bulunan tarak dişi gibi çıkıntıları ile tutunarak ve bitkinin öz suyunu emer, büyümeye başlar ve toprakla olan bağlantısını sona erdirir.

Küskütün ikinci bir çoğalma şekli, tutunmasına yarayan tarak gibi çıkıntılı kısımlarından kopan parçacıkların asma üzerine düşerek tutunup gelişmesi ile olur. Bitki üzerinde tutunup gelişmiş küskütün ipliksi dallarında çok sık top şeklinde çiçek açar. Çiçekler kümeler şeklinde olup renkleri pembe, menekşe ve bazen de sarı renklidir ve temmuz'dan eylül ayına kadar görülürler. Her bir top yüzlerce tohum taşır. Tohumların bir kısmı olgunlaşır toprağa düşer ve hemen çimlenir. Bir kısmı da toprak yüzeyine yakın kısımda kalır ve 5-15 yıl durgun bir halde çimlenme gücünü

kaybetmeden durur. Yozgat ve Şanlıurfa yöresindeki üzüm bağları toprak yüzünde geliştiğinden, küsküt topraktan kolayca asmaya ulaşır.

Tohumla çoğaldığı gibi saç ve sarılıcı dallarının parçaları ile de çoğalır. Toprağa düşen tohumlar ilkbaharda hava koşullarına göre çimlenir, asmayı yakalayıp tutunur, topraktan ilişkisini kestikten sonra asma üzerinde ortaklaşa yaşar, daldan dala uzanır. Bitkiden bitkiye geçer, bitkinin gövdesinden ihtiyaç duyduğu maddeleri çekerek bitkiyi zayıflatır ve sonuç olarak bitkinin kurumasına neden olur.

2.1.2. *Hedera helix*

Bu çalışmada kullanılan *Hedera helix* bitkisinin sistematigi aşağıdaki gibidir.

Bölüm	: Spermatophyta
Alt Bölüm	: Dicotyledoneae
Alt Sınıf	: Rosidae
Ordo	: Araliales
Familya	: Araliaceae
Genus	: Hedera
Tür	: Hedera helix

Yerel adı: Adi Orman Sarmaşığı, Duvar Sarmaşığı, Kara Yaprak, Orman Sarmaşığı.

Avrupa'dan, Kafkaslara kadar olan kesimde ülkemizde de meşe-kayın ormanlarında doğal olarak bulunur. Ayrıca, süs bitkisi olarak da yetiştirilir.

Tırmanıcı bir bitkidir. Boyu 30 metreyi aşar. Silindir biçimli odunsu gövdesi üzerinde geliştirdiği ek kökler yardımıyla ağaca tutunur ve tırmanır. Ağacın tepesine ulaşan odunsu gövde, bu sefer yatay olarak uzamaya devam eder veya aşağıya doğru sarkar. Büyümesinin belli bir aşamasından sonra ağaç için tehlikeli olmaya başlar, gövde kalınlaştıkça tehlike ağacın ölümüne kadar uzanabilir.

Her mevsim yeşil yapraklar gövde üzerinde sarmal dizilişlidir. İki tür yaprak geliştirir. Çiçek veren ve güneş gören, dik durumlu sürgünler üzerindeki yaprakların

kenarları tam, uçları sivri, oval biçimlidir. Buna karşılık çiçek vermeyen, ek kökler yardımıyla yattıkları yere tutunan, gölgede kalan dalların yaprakları ise 3-5 lopludur. Lob uçları sivri ve üçgen biçimlidir. Loplu yaprakların taban kısmı kalp şeklindedir. Her iki yaprakta tüysüz ve derimsidir. Yaprakların üst yüzü koyu, alt yüzü açık yeşildir. Pek belirgin olmayan sarımsı- beyaz çiçekleri. Eylül- ekim ayında açar. Çiçek yapıları şemsiye biçimindedir. Olgun meyveleri siyahımsı mor renkli, küremsi ve ufaktır (Mataracı, 2002).

2-3 meyve tanesi yenildiği zaman çocuklarda zehirlenmeye yol açabilir. Sindirim bozuklukları, deride solgunluk, baş dönmesi, eksitasyon gibi başlangıçta görülen belirtiler, daha ağır zehirlenmelerde yerini solunum güçlüğü ile seyreden komaya terk eder. Ölüm asfeksi sonucu şekillenir.

Hedera helix'in gövde kısmında bulunan saponosidler meyvelerindekinden daha az toksiktir. Güçlü vazokonstrüktör ve antispazmodik etkileri vardır. Boğmaca tedavisinde kullanılmaktadır (Dökmeci, 1994).

Yapraklarında %5 kadar oranda Triterpensaponin'ler bulunur. Yapılan araştırmalarda Saponin karışımında Hederacosid B ve C ile α -Hederin bulunduğu saptanmıştır (Kaya, 1998).

Yaprak ekstraktından bronşit, zaturrenden ileri gelen öksürük ve astım tedavisinde kullanılan preparatlar hazırlanmaktadır (Örneğin, Prospan). Diğer taraftan α -Hederin ödem çözücü etkiye sahiptir (Zeybek, N. ve Zeybek, U., 1994).

Taze bitkinin müshil, adet getirici, kurt düşürücü, terletici ve kusturucu etkilei varsa da kullanılması oldukça tehlikelidir. Taze yaprakları çibaneleri olgunlaştırır. Zehirli etkilerinden dolayı sadece haricen kullanılır.



Şekil 2.1. Cuscuta monogyna



Şekil 2.2. Hedera helix



Şekil 2.3. Vitex agnus castus

Kozmetikte hafif temizleyici madde özelliğine sahiptir. Bu nedenle makyaj temizleme ürünlerinde kullanılır. Yenileyici olarak yorgun, yıpranmış kuru ciltler ve göz çevresi kırısklıklarını giderme ürünlerinde, yıpranmış, hassas, permalı veya boyalı saçlar için şampuanlarda kullanılır.

2.1.3. *Vitex agnus castus*

Bu çalışmada kullanılan *Vitex agnus castus* bitkisinin sistematığı aşağıdaki gibidir.

Bölüm	: Spermatophyta
Alt Bölüm	: Dicotyledoneae
Alt Sınıf	: Asteridae
Ordo	: Solanales
Familya	: Verbenaceae
Genus	: <i>Vitex</i>
Tür	: <i>Vitex agnus castus</i>

Yerel adı: Hayıt, Acı Hayıt, Ayıd, Rahip Biberi, İffet çalısı

Hayıt el şeklinde yaprakları olan, yaz aylarında morumsu çiçekler açan, çalı görünüşünde 1-3 metre yüksekliğinde bir ağaçcıktır. Yarım cm' lik küre şeklinde, acımsı meyveleri vardır. Rengi iyice koyulaşan meyveler, ekim-kasım döneminde toplanır ve gölgede kurutulur. Akdeniz çevresi ülkelerinde, Fransa, İtalya, Yugoslavya, Yunanistan, Suriye, Lübnan ve Türkiye' de Akdeniz ile Ege bölgelerinde yaygın olarak yetişir.

Dağınık tepeli, gevşek yapılıdır. Sürgünleri dört köşeli, gri tüylüdür. Yapağı uzun saplıdır ve 5-7 yaprakçıktan oluşur. Yapraklar el biçiminde, yaprak sapının ucundan dağılmıştır. Mızrak şeklindeki her bir yaprakçığın ucu sivri, tam kenarlı ya da kaba dişlidir. Yaprakçıkların üst yüzü yeşil, alt yüzü gri-yeşil renkli ve beyaz tüylüdür.

Mayıs, haziran aylarında açan çiçekleri, mavimsi veya mor (nadiren beyaz) renklidir. Çiçek yapıları başak şeklindedir ve bunlar da birleşerek daha büyük ve uzun (10-15cm) mürekkep salkımları (başakları) oluşturur (Mataracı, 2002).

Yapılan araştırmalara göre meyve ve tohumları; % 4-6 oranında eterli uçucu yağlar (1-8 *Cineole*, *p-cymene*, β -*caryophyllene*, *terpineol*, *citronellol*, *castine*, *pinene*, *linalool*, *limoneen*, *ledol*, *y-cadinene*, *camphene*, *sabinene*), Alkaloit (*Vitacin*), %1 oranında flavonoidler (*Casticin*, *isovitexin*, *kaempferol*, *quercetin*, *orientin*, *isoorientin*, *penduletin*, *luteolin-7-glucoside*, *quercetagenin*, *isorhamnetin*), %1-3 oranında yağ asitleri (*palmitik asit*, *linoleik asit*, *linolenik asit*, *eykosa-pentanik asit*, *oleik asit*, *sterik asit*), iridoid-glikozitler (% 0,3-1,1 *aucubin* ve % 0,5 *Agnuside*), steroidler (*progesteron*, *testosteron*, *17- α -hydroxy-progesteron*, *androstenedione*), vitaminler (*folik asit*, *thiamine*, *pyridoxine*, *riboflavin*, *cholecalciferol*, *tocopherols*, *tocotrienols*), tanen ve rezin içerir.

Hipnotik ve mensturasyon arttırıcı, kadın hastalıklarında, süt salgısını önleyici , seksüel hormon salgılanmasını arttırıcı etkilere sahiptir. Ayrıca çok yeni bilgilere göre böceklerde deri değiştirme hormon etkisi gösteren steroidal maddelerden ecdysone bulunduğu kayıtlı ise de bunu kuşkulu karşılayanlar da vardır (Zeybek, N. ve Zeybek, U., 1994).

2.2. Çalışmalarda Kullanılan Bakteriler

2.2.1. Staphylococcus

Staphylococcus genusu Micrococcaceae familyasının içinde bulunmaktadır.1880 yılında Ogston hastadan aldığı cerahati boyayarak, üzüm salkımına benzeyen koklar görmüş bunlara (staphyle = üzüm salkımı) görünümlerinden dolayı stafilokok ismini vermiştir. Rosenbach ise 1884 yılında, hastalardan alınan örneklerden, besiyerlerinde stafilokokları izole etmiştir. Stafilokoklar normal olarak, insanın derisinde ve müköz membranlarında bulunurlar (Kılıçturgay, 1994).

Stafilokoklar düzensiz, üzüm salkımı şeklinde kümeler oluşturan gram (+) hareketsiz, sporsuz 0.8-1.0 mikrometre çapında kok yapısında bakterilerdir. Bazı

türler normal florada bulunabildiği gibi bazıları çok ciddi infeksiyonlarda yol açabilir. Bütün stafilokoklar katalaz enzimi yaparlarki bu enzim H_2O_2 'yi O_2 ve H_2O ya parçalar.

Stafilokokların virulansında en önemli faktörler arasında hücre dışı enzimler ve toksinler yer alır.

Hücre dışı enzimler arasında koagülaz enzimi plazmada pıhtılaşmaya neden olur. Oluşan fibrin bakteriyi fagozitozdan korur ve invazyon yeteneğini artırır. Koagüloz testi patojen türlerin ayrımında bir kriterdir.

Penisilin pratikte kullanılmaya başlandığında stafilokokların %90'ından fazlası duyarlılık göstermesine rağmen bugün penisilinaz (Beta laktamaz) oluşturmaları nedeniyle birçok stafilokok penisiline direnç kazanmış durumdadır. Bu enzim plazmide bağlı olarak bakteriden - bakteriye aktarılmaktadır.

Diğer stafilokokal enzimler arasında hiyalorinidaz, fibrinolizin, lipazlar, nukleaz yer alır.

Stafilokoksal ekzotoksinler arasında alfa, beta, gamma ve delta toksinler yer alır. Bu toksinler hemolitik aktivitenin yanı sıra, hücre membranına etkiliyerek nekroza neden olurlar. Beta toksin spingomiyelinaz aktivitesi gösterir. Tüm toksinler *S.aureus* tarafından salgılanır. Protein yapısındadırlar ve ısıya duyarlıdırlar.

Eksfoliatif toksin A ve B olarak iki üniteden oluşur ve özellikle yeni doğanda ve bebeklerde haşlanmış deri sendromu (staphylococcol scolded skin syndrome - SSSS) nedenidir. Stafilokokkal toksiklerden olan şok sendrom toksini hastalarda ateş, hipotansiyon, ve desquamasyona neden olur ve tüm sistemi etkiler.

Stafilokoklar tarafından salgılanan beş antijenik (A-E) yönden farklı enterotoksin mevcuttur. Isıya $100^{\circ}C$ de 30' dayanıklı olan bu toksin besin zehirlenmelerinden sorumludur.

Lökosidin, polimorfonükleer hücrelerin parçalanmasına neden olur ve fagositozu önler (Temel ve Klinik Mikrobiyoloji; 1995).

S. aureus suşları optimum 30-37 °C lerde ürerler. Gelişme sınırları 6-46°C arasındadır. Toksin oluşturmaları için gerekli minimum ve maksimum sıcaklık dereceleri 10-48 °C arasındadır. Optimum olarak pH' yı 7.0-7.5 olarak eder *S. aureus* pH 4.0-9.3 sınırları arasında da gelişmesini sürdürür. Yüksek tuz konsantrasyonuna dirençli olan bakteriler % 10 tuz içerikli ortamlarda rahatlıkla gelişebilirler, hatta % 20 tuzlu ortamlara tolerans gösteren suşları bulunmaktadır. Tuzdan başka; tellurit, cıva klorür, sodyum azid gibi kimyasal maddelere ve neomisin, polimiksin gibi bazı antibiyotiklere de dirençlidirler.

S. aureus doğal olarak en fazla burun ve boğaz boşluğunu örten mukoz dokuda yer alır. Buradan pek çok yere yayılır. Deride, en çok da ellerde, kollarda ve yüzde bulunur. İnsan ve hayvanların dışkılarında, apseli yaralarda, sivilce ve çıbanlarda yoğun olarak bulunmaktadır. Boğaz kültürlerinde ortamın dominant florası arasında *S. aureus* da vardır ve buradan izole edilen suşların % 20' sinin enterotoksin oluşturduğu belirlenmiştir.

Stafilokoklar basit besiyerlerinde üreseler de kanlı besiyerinde daha iyi çoğalır ve kolonilerinin etrafında tam hemoliz meydana getirir. 37 °C de ve pH 7.4 de iyi ürer. Jelöz besiyerinde ürer ve yuvarlak kenarlı mat, kabarık, parlak yüzeyli, S tipinde ve 1 - 2 mm çapında koloniler yapar. *Staphylococcus aureus* altın sarısı renginde pigment oluşturur (Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları, 2000).

2.2.2. *Proteus*

Proteus cinsinde gram negatif, hareketli, aerob bakteriler yer alır; bunlardan yalnız birkaç tür insanı enfekte eder. *Proteus* türleri besiyerinde jelöz üzerinde çok çabuk yayılmasıyla ve jelatini kısa sürede parçalamasıyla diğer bakterilerden ayrılır. Laktozu fermente etmez. H₂S oluşturur, üreyi hidrolize eder (Kılıçturgay, 1994). *Proteus vulgaris*, normal olarak insan barsağında bulunur, fakat vücudun çeşitli yerlerinde enfeksiyon yapabilir. Bu enfeksiyonların tedavisi önemli sorundur, çünkü proteus bakterileri antibiyotiklerin çoğuna dirençlidir. *Proteus* enfeksiyonlarının tedavisi için en etkili antibiyotikler, kanamisin ve nitrofurantoin'dir (Ang,1990).

2.2.3. **Bacillus**

Gram (+), sporlu, büyük basillerdir. Zorunlu aerob ve fakültatif anaerobdurlar. Doğada çok yaygın olarak bulunan bakterilerdir.

Çok heterojen bir türdür. Hücre yapısı, beslenme ve metabolik özellikleri, üreme ısıları, üreme ortamlarının pH değeri ve salgıladıkları enzimler açısından farklılık gösterirler. 40 dan fazla tür vardır. İnsan için en önemli olanı *B. anthracis*'dir. *B.cereus*'da hastalık oluşturabilir. Diğerleri kontaminan kabul edilen bakterilerdir. Ancak nadirde olsa fırsatçı patojen olarak ciddi enfeksiyon nedeni olabilecekleri bildirilmiştir. Bazı türleri bitki ve insekt patojenidir, termofil türleri ise 55°C den fazla ısılarda üreme özelliğine sahiptir. Türün birçok cinsi; alkol, antibiyotik, vitamin, enzim, ve bazı solventlerin sentezinde kullanılır. Bu nedenle endüstriyel olarak önemli bakterilerdir.

Spor oluşturmaları önemli özelliklerindendir. Sporları ısıya dirençlidir. Doğada yaygın olarak bulunmalarını sağlar. Sporları hücreden geniş, aynı kalınlıkta, terminal veya subterminal yerleşimi olabilir. Bu özelliklerinden taksonomik ayrımlarında yararlanır (Kılıçturgay, 1994).

Bu çalışmada *Bacillus* genusundan iki tür kullanıldı: *Bacillus subtilis* ve *Bacillus cereus*. Bu iki tür bakteriler üzerinde aşağıda kısa bilgiler verilmiştir.

Bacillus subtilis

Kirpikli bir basil olduğu için hareketli, sporları oval ve subterminaldir. Kapsülsüz, gram pozitif, aerop, oda sıcaklığı ve genel besiyerinde rahatlıkla üreyebilen, R tipi koloniler yapan saprofit yani doğada yaygın olarak bulunan bir basildir.

Saprofit bir bakteri olmakla beraber doku içine veya göz içine bulaşarak enfeksiyonlara ve bazı besin zehirlenmelerine neden olabilir.

Bacillus cereus

Toprak, su, sütte ve doğada yaygın olarak bulunan, hareketli, kapsülsüz, sporları terminal veya subterminal olan, gram pozitif, aerob bir basildir. Oda sıcaklığında üreyebilme özelliği gösterir. Saprofit bir bakteri olmasına rağmen gıda zehirlenmelerine ve fırsatçı patojen olarak abseler, göz içi enfeksiyonlar, osteomyelit, endokardit ve üriner enfeksiyonlar gibi çeşitli enfeksiyonların etkeni olabilir (Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları, 2000).

2.2.4. Pseudomonas

Nonfermentatif basiller içinde insanda en sık olarak hastalık oluşturan bakteridir. Konakçı direncinin bozulması halinde kolaylıkla hastalık oluşturlar. Antibiyotiklere karşı oldukça dirençli bakterilerdir.

0.6-2 µm boyutlarında gram negatif basillerdir. Tek tek, çift veya kısazincirler halinde bulunabilirler. Polar flagellaları ile hareketlidirler. Bakterinin çevresinde ekstrasellüler, polisakkarid yapıda bir “slime layer” tabaka bulunur. Klinik örneklerden izole edilen suşlarda, bakterinin konak hücreye tutunmasında yardımcı olan pilileri bulunur. Fermentasyon yapmaz. Glikozu okside edebilir. Oksidaz pozitifdir.

Somatik O antijenlerine göre gruplandırılırlar. Buna göre 17 tipe ayrılırlar. Bu sınıflama genellikle epidemiyolojik amaçlıdır. Ayrıcı faj ve pyosiyanın tiplendirmesi de bu nedenle kullanılabilir.

Pseudomonas üremek için 80’den fazla organik maddeyi kullanan bir bakteridir. Enterik bakterilerin izolasyonunda kullanılan besiyerlerinde üreyebildiği gibi, alkali yapıdaki vibrio izolasyon besiyerlerinde de üreyebilir. Sadece glikoz veya asetat gibi tek bir karbon kaynağı içeren besiyerlerinde üreyebilen nadir patojen bakterilerdendir. Kanlı besiyerinde, 1-5 çapında yassı, yüzeyi buzlu cam görünümünde, kenarları ondulan yapıda koloniler oluşturur. Genellikle β hemoliz meydana getirirler. 2 tür pigment oluşturlar. 1. Pyocyanin: Phenazine yapısındadır. Koloniye mavi-yeşil bir renk verir. Kloroform ve suda erime özelliğine sahiptir. Phenazine, kırmızıdan, siyaha kadar değişen farklı renklerde pigment oluşturabilir (Pyorubin, Pyomelanin gibi). 2. Fluorescein: Pyoverdin yapısındadır. Soluk sarı yeşil

bir pigmenttir. Kanlı besiyerinde iyi görülmez. Magnezyum ve fosfatla zenginleştirilmiş özel besiyerlerinde meydana gelir. Örneğin, Pseudomonasları P agarda ultraviole ışıktaki iyi gözlenir.

20-24°C arasında üreyebilirler. Bazı türlerin 42°C de üremeleri diğer pseudomonas türlerinden ayırımında yardımcı olur.

Pseudomonalar, kimyasal dezenfektanlara diğer vejetatif bakterilere oranla daha dirençlidir. Biraz nem olduğu takdirde farklı yerlerde yaşamını sürdürebilirler (örneğin, respiratör, su kapları, banyo, küvet gibi). Quarterner amonyum bileşiği ve hexachlorophene içeren dezenfektanların içinden izole edilebilirler. Fenol ve glutaraldehitli dezenfektanlardan etkilenirler.

Antibiyotiklere, kimyasal ve fiziksel ajanlara direnç plazmidler aracılığı ile olur. Örneğin, karbenisilin, kloramfenikol, tetrasiklin, sulfonamid, aminoglikozidler gibi antibiyotiklere, borat, kromat, cıva iyonları, tellurit, ultraviole ışınlarına direnç gibi (Kılıçturgay, 1994).

2.2.5. Enterococcus

Lancefield'in d grubundaki bu gram pozitif, hareketsiz streptokoklar, karakteristik bir grup olup genellikle diplokok şeklinde bulunurlar, ısıya dirençlidirler, hemen daima mannitolü ve ender olarak rafinozu parçalarlar. Safra bulunan ortamda üreyebilirler ve suşların çoğu kanlı jelozda hemoliz yapmaz.

Enterokoklar insanda birçok enfeksiyonda bulunmaktadır. Bunlardan dış sellülit, trismus, farinjit, otitis media, mastoid, meninjit, peritonit, sepsis ve endokardit sayılabilir.

Enterokoklar penisiline oldukça dirençli olabilirler, ancak streptomisin de birlikte kullanılırsa penisiline çok daha hassas olurlar (Ang, 1990).

2.2.6. Escherichia

E.coli, mikrobiyoloji laboratuvarlarında en sık izole edilen bakterilerdendir. İnsan ve sıcak kanlı hayvanlarda doğumu takiben 1-2 saat veya gün içinde su ve gıdalar ile alınarak ince barsakların son kısmı ve kalın barsak mukozasına tutunurlar. Bir *E. coli* suşu yerleştikten sonra aylar veya yıllarca normal florada kalır ve zararlı mikroorganizmaların kolonizasyonuna mani olur, ancak enterik enfeksiyonlar ve antibiyotik kullanımı ile kolaylıkla ortamdan kaybolurlar. Geçici olarak yerleşen *E.coli*'ler ise, ancak birkaç gün veya hafta kalabilir. *E. coli* normal floranın temel elemanı olmakla beraber bazen, bazı suşları ile intestinal patojen olarak karşımıza çıkabilir. Ayrıca ekstraintestinal enfeksiyonların başta gelen nedenleri arasında yer alır. İntestinal enfeksiyonlarında rol oynayan başlıca faktörler; fimbrial adhesinleri, enterotoksin yapımı ve kapsül yapısıdır. Ayrıca kolisin ve hemolizinin de rolü vardır.

Bakteri çoğunlukla hareketlidir (%95), glikozdan gaz oluşturur, laktozu fermente eder (%95), indol pozitif, sitrat negatiftir. IMViC reaksiyonu (++--)dır.

EMB besiyerinde; küçük koyu renkli ve metalik refle veren, SS besiyerinde ise; pembe renkli koloniler oluşturur.

Bakterinin O, H, K antijenleri vardır. Bunların farklı kombinasyonları ile yüzlerce değişik serotip ortaya çıkabilir. Ancak, bunların sadece sınırlı sayıdaki kısmı klinik öneme sahiptir (Kılıçturgay, 1994).

E.coli normal barsak florasında bulunmakla birlikte, ishal yapabilir. Bunu çeşitli yollarla yapar. Bu açıdan *E.coli* değişik tiplere ayrılmaktadır:

1. Enteropatojenik tipler (EPEC): Daha çok süt çocuklarında ishal yapar. Antibiyotiklere karşı oldukça dirençli suşlar içerir;

2. Enteroinvaziv tipler (EIEC): Epitel hücrelerini etkileyerek dizanteri benzeri hastalık oluşturur. Ateş, karın ağrısı, kanlı ve mukuslu ishal yapar;

3. Enterotoksijenik tipler (ETEC): İnvazyon yapmadan eksotoksinleri aracılığıyla ishal yapar. Turist ishal etkenidir. Enterotoksinler iki çeşittir: Bazı *E.coli* türleri tarafından ısıya duyarlı ve plasmide bağlı labil toksin (LT) yapılır. Koleraya

benzer etki gösterir. A ve B alt birimi vardır. B taşıyıcı rol oynar, A ise toksijenik etkiden sorumludur. Epitel hücrelerine giren subünit A, adenil siklazı aktive ederek, cAMP (Siklik Adenozin Monofosfat) miktarını artırır. Sonuçta, barsak hücresi sıvı ve elektrolit kaybına uğrar; bazı E.coli'lerin toksinleri ise cGMP (Siklik Guanozin Monofosfat) üzerinden benzer mekanizma ile ishal yapar. Her iki komponenti içeren koliler vardır. Plasmidler aracılığıyla diğer bakterilere geçiş olabilir;

4. Enterohemorajik tipler (EHEC): Sitotoksinleri (verotoksin) aracılığıyla hemorajik kolit yapar. Ciddi karın ağrısı ve kanlı ishal görülür. Ateş az veya yoktur. 5 yaşın altındaki çocuklarda görülme sıklığı fazladır (Temel ve Klinik Mikrobiyoloji; 1995).

2.2.7. Candida

Fırsatçı petojen funguslar arasında candida türleri ve bunlar arasında da *Candida albicans*, en sık hastalık nedeni olanlardır. Maya benzeri morfolojide olan bu mantarlar boğaz, üst solunum yolları, gastrointestinal kanal ve vajenin normal florasının üyesidirler. Herhangi bir nedenle bulundukları bölgedeki miktarları artarsa veya florasız bölgelere ulaşırlarsa hastalık oluşturabilirler. Son yıllarda gelişen tedavi teknikleri (organ nakli ve kanser tedavisinde uygulanan immünosupresyon ve sitostatikler, invazif girişimler, yoğun intravenöz besleme vs.) candidaların önemini arttırmıştır. Hastalık etkeni candida türleri arasında en sık görülenler olan *C. albicans*'dan başka *C. krusei*, *C.parapsilosis*, *C.tropicalis*, *C.pseudotropicalis*, *C. glabrata*, *C. stellatoidea* ve *C. guilliermondii* başlıcalarıdır. *C. albicans* dışındakiler toprakta yaşarlar ve nadiren florada bulunabilirler.

C. albicans maya benzeri, 2-3 x 4-6 µm boyutlarında, oval, tomurcuklanan (maya fazı), gram (+) bir fungustur. Zengin besiyerlerinde ve insan vücudunda tomurcuklar (blastospor) uzayarak hifa benzeri (pseudohypha) oluşumlar yapar. Bu yalancı hifların uç uca eklenmesiyle septalı hifa (miçelyal faz) görünümü oluşur. Sabouraud dekstroza agarda oda ısısında yapılan kültürlerinde, yumuşak, krem rengi koloniler yapar. Genç kültürlerde agar yüzeyindeki görünümünde pürüzlü olup besiyerinin içine doğru uzanan blastosporlar vejetatif miçel görünümü verirler ve psödohifalarda kalın duvarlı yuvarlak ara ve uç klamidosporeler oluşur. Bu klamidospor oluşumu en iyi corn meal agarda görülür ve *C. albicans*'ı diğer candida

türlerinden ayırmada önemlidir. *C. albicans* glukoz ve maltozu hem asit hem de gaz oluşturarak fermente eder, sukrozdan asit oluşturur. Fakat laktoza etki etmez. 24 saatlik kültürlerden alınan örneklerin 2-3 saat süreyle, içinde serum bulunan tüplerde 37°C’de bekletilmesiyle oluşan “germ tüp”, *C. albicans* ve *C. stellatoidea* dışındaki candida türlerinde görülmez (Coşgun ve Ulaş, 1999).

Absorbe serumlarla yapılan aglütinasyon testleri *C. albicans* suşlarının A ve B olmak üzere 2 ayrı antijenik yapıda olduğunu göstermiştir. A serotipi *C. tropicalis* ile, B serotipi *C. stellatoidea* ile antijenik olarak identiktir. Serolojik testlerde ve deri testlerinde candida kültür ekstraktlarının bu antijenlerin karışımı olduğu belirlenmiştir.

2.2.8. Salmonella

İnsanlar ve besi hayvanlarının mutlak patojenidir. Bunun dışında kuşlardan, sürüngenlere ve insektlere kadar uzanan, geniş bir konak yerleşimi vardır. 3 grupta sınıflandırılabilirler.

1. İnsanda enfeksiyon oluşturan serotipler: *S. typhi*, *S. paratyphi* A, B,C ve *S. sendai*’nin insan dışında bilinen konağı yoktur.

2. İnsan dışında enfeksiyon oluşturan serotipler: *S. pullorum* ve *S. gallinarum* kanatlılarda, *S. dublin* sığırdan, *S. choleraesuis* domuzda enfeksiyon yapar. Bazen insanda da hastalık oluşturabilirler.

3. Konak spektrumlu geniş olanlar: *S. typhimurium*, *S. enteritidis* gibi serotipler insan ve değişik hayvanlarda enfeksiyon yaparlar. Çoğunluğu bu gruba dahildir. Bir kısmı asemptomatik taşıyıcı bazıları ise ciddi olgular şeklindedir.

Glikozdan genellikle gaz oluşturmazlar (*S. typhi* hariçtir). Laktoz negatiftirler (%98). H₂S meydana getirirler (*S. typhi* hafif H₂S oluşturur, *S. paratyphi* A %10 oranında H₂S meydana getirir). Sitrat pozitifler. Lizin ve ornitin dekarboksilaz reaksiyonları pozitifdir. *S. gallinarum* ve *S. pullorum* dışındakiler hareketlidirler.

Laktoz içeren besiyerinde (örneğin: EMB) laktoz (-) oluşları nedeniyle renksiz ve şeffaf koloniler, SS besiyerinde ise, H₂S oluşumu nedeniyle ortası siyah renkli,

kenarları şeffaf koloniler oluştururlar. Salmonellalarda Laktoz (+) lik nadir olmakla beraber, bu tür suşları elde edebilmek için değişik besiyerleri kullanılabilir (örneğin: Bismuth sulfite agar (BS), burada ortası siyah renkli olan yeşil koloniler oluşturur.)

Salmonellaların antijenik yapıları oldukça karışıktır. Çok sayıdaki O ve H antijenlerinin değişik kombinasyonları ile oluşan 2000 den fazla serovarı mevcuttur. Bu serovarlar Kauffman ve White tarafından klasifiye edilmiştir ve bu isimle anılır. O antijenleri, A, B, C,... diye isimlendirilir değişik faktörlerden oluşur ve grup adını belirler. H antijenleri ise 1 faz 2 antijenleri olmak üzere 2 gruptur ve serovarları belirler (Kılıçturgay, 1994).

Serolojik ve biyokimyasal özelliklerine göre Ewing sınıflaması ile 3 tipe ayrılırlar:

Ewing Sınıflaması

1. *Salmonella typhi*

2. *Salmonella choleraesuis*

3. *Salmonella enteritidis*

Salmonellalar, şigellaya göre safra tuzlarına direnç gösterdiğinden, bu ortamlarda seçici olarak ürer. Malaşit yeşil, lityum klorür, tetratyonat, brillant yeşili ve selenit tuzlarına da direnç gösterir. Bu maddeler seçici besiyerlerinde kullanılırlar. Klorlama ve pastörizasyona duyarlıdır. 55°C’de 1 saatte, 60°C’de ise 15-20 dakikada ölürler. Soğukta aylarca canlı kalabilir (Temel ve Klinik Mikrobiyoloji; 1995).

2.2.9. Streptococcus

Streptokoklar 1877 yılında Billroth ve Ehrlich tarafından keşfedildiklerinden bu yana hem çok sayıda enfeksiyona neden olmaları, hem de akut hastalık tablosu ortadan kalktıktan sonra meydana getirdikleri Romatizmal Ateş ve Akut Glomerülonefrit gibi komplikasyonlar nedeniyle önemli patojenler olarak kabul edilmişlerdir.

Streptokokları sınıflandırmak için; yaptıkları hastalıklar, antijenik benzerlikleri, fizyolojik özellikleri ve hemolizini göz önüne alınmıştır. 1930’lu yıllara kadar streptokokların sınıflandırılmaları yapmış oldukları klinik tabloya ve izole edildikleri yerlere göre yapıyor idi. Sherman tarafından ileri sürülen sınıflandırmada

streptokoklar dört gruba ayrılır.

1. Piyojenik streptokoklar
2. Viridans streptokoklar
3. Laktik streptokoklar
4. Enterokoklar

Streptokoklar üremeleri sırasında önemli miktardaki toksin ve enzimlerini üredikleri ortama salgılamaktadırlar. Bunlar arasında eritrositleri lize eden hemolizinler bulunmaktadır. Bu özelliklerine göre de streptokoklar sınıflandırılmışlardır.

1. Alfa Hemolitik Streptokoklar: Streptokok kolonilerinin etrafında eritrositlerin hemoliz dereceleri ile ilgili olarak yeşil-kahverengi bir zon meydana gelir (Alfa-hemoliz).

2. Beta Hemolitik Streptokoklar: Streptokok kolonilerinin etrafında eritrositlerin tam hemolizine bağlı olarak berrak renksiz bir zon meydana gelir (Beta-hemoliz).

3. Gama Hemolitik Streptokoklar: Streptokok kolonilerinin agar besiyerinde bulunan eritrositler üzerine hemolitik etkileri yoktur.

1933 yılında Rebecca Lancefield streptokokları tanımlamak için serolojik tabana dayanan bir sınıflandırma yaptı. Bu sınıflandırma, streptokokların hücre duvarlarından ekstrakte edilen (C substans) diye bilinen grup spesifik antijenlerin tavşanlara verilmesi ile elde edilen anti-serumların streptokoklarla karşılaştırılması sonucu oluşan antijen-antikor birleşmesi esasına dayanıyor idi. Böylece streptokoklar A dan O ya kadar çeşitli serolojik gruplara ayrılmıştır.

Bu çalışmalarda kullanılan *Streptococcus pyogenes* A grubu Streptokoklar içindedir. A grubu Streptokoklar, bakteriyel farinjit, impetigo, piodermi, kızıl gibi akut hastalıklara neden olabildikleri gibi, Akut Glomerulonefrit ve Romatizmal Ateş gibi süpüratif özellikleri olmayan post streptokoksik hastalıklarında nedeni olurlar. Gram-pozitif hareketsiz koklardır. Çoğunlukla uzun eksenine dikey olarak bir yüzey

üzerinde çoğaldıklarından zincirler geliştirirler. Doğada geniş olarak yayılmışlardır.

A grubu streptokoklar 0.5-1.0 μm çapında çoğu kez yuvarlak koklardır. Sıvı besiyerlerinde üretildikleri zaman uzun zincirler, klinik nümunelerden yapılan preparatlarda ise kısa zincirler veya çiftler halinde görünürler. Kanlı besiyerlerinde kolay ürerler. Besiyerinde yüksek oranda glikoz var ise üremeleri inhibe olur. 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda 1-2 mm çapında yarı saydam grimsi koloniler ve bu kolonilerin etrafında geniş bir Beta-hemoliz halkası görülür. Taze hazırlanmış besiyerlerinde kapsüllü A grubu streptokoklar, mukoid koloniler halinde, yüzeyleri kurumuş besiyerlerinde ise buruşuk (mat görünümlü) koloniler halinde görünürler. Mat koloniler mukoid kolonilerin hyalüronik asit yapısında olan kapsüllerinin dehidrate olmasından meydana gelmişlerdir. Kapsülsüz olan A grubu streptokok kolonileri parlak ve küçük görünürler (Kılıçturgay, 1994).

Grup A streptokoklar hücre duvarında gruba özgül karbonhidrat içerirler. Bunu oluşturan peptidoglikan tabakasındaki N-asetil glukozamin ve ramnoz olur. Tipe özgül antijeniteyide M proteini oluşturur ki bu protein virulan streptokokların en önemli antijenidir. Ayrıca T, R ve F proteinlerinde tarif edilmiştir.

Kapsül grup A streptokokları fagositozdan korur. M proteinide fagositozu engeller. F proteini bakterinin farinks ve epitel yüzeyine tutunmasını ve yapışmasını sağlar. Lipoteichoic asit'te adherens'de rol alır. Pirojenik ekzotoksin olan eritrojenik toksin ise ateş oluşumuna, gecikmiş tip aşırı duyarlılığın artmasına, sitotoksik etkiye, T-lenfositlerinde mitojenik etkiye, B-lenfosit fonksiyonlarının baskılanmasına ve kızıl hastalığında döküntüye neden olur.

Grup A streptokokların oluşturduğu streptolizinler S ve O diye iki şekilde gruplandırılır. Streptolizin S oksijene dayanıklı antijenik olmayan, lökositleri, trombositleri ve eritrositleri eriten, bir ekzoenzimdir. Streptolizin O reversibl olarak oksijen ile inaktive olur. Antijenik özellik taşır ve oluşan antikorlar Anti-streptolizin O (ASO) testi ile saptanır.

Streptokoklar patojenitede rol oynayan ayrıca streptokinaz, DNase ve hiyolurinidaz gibi enzimleride mevcuttur (Temel ve Klinik Mikrobiyoloji; 1995).

2.3. Çalışmalarda Kullanılan Funguslar

2.3.1. *Penicillium*

Penicillium türleri çevrede yaygın olarak bulunan küf mantarları olup en sık görülen laboratuvar kontaminanlarıdır. *Penicillium* ve buna benzer bir küf mantarının hasta örneğinden izole edilmesi yeterli olmayıp enfeksiyonun bu mantarlara bağlı olduğu, ancak doku örneklerinde mantarın varlığının gösterilmesi ile mümkündür.

Penicillium cinsinde sadece *P. marneffei* insan ve hayvanlarda primer patojen olarak bilinen ve termal dimorfizm gösteren tek bir tür olup coğrafi olarak Uzak Doğu'nun çeşitli bölgelerinde bulunur.

İlk kez 1959 yılında sıçandan izole edilmiştir. 1990 yılına kadar insanlarda 30 kadar olgu rapor edilmiştir. Olguların tamamı Uzak Doğu'da ya da bu bölgelere seyahat eden kişiler de gelişmiştir. Enfekte hastalarda ateş, belirgin kilo kaybı, anemi, yaygın papüler deri lezyonları, lenfadenopati, hepatomegali en bilgin bulgular olup tedavi edilmediği takdirde prognoz öldürücüdür. Endemik bölgelerde yaşayan ya da buralara seyahat eden kişilerde gelişen non-spesifik ateş ve papüler deri lezyonları hastalığı akla getirmeli ve kötü prognozlu olduğu için mümkün olduğunca hızlı tedaviye başlanmalıdır. Özellikle deri lezyonlarından yapılan biyopsilerin GMS (Gomori metanamin gümüş) ve PAS (Periyodik Asit Schiff) Yöntemleri ile boyanarak bölmeli maya benzeri hücrelerin histopatolojik olarak gösterilmesi, ayrıca balgam veya aspirasyon örneklerinden de deri biyopsi örneklerinden Sabouraud- dekstro- agar ekim yaparak 25°C ve 37°C'de termal dimorfizmin belirlenmesi tanı koydurucudur. Amfoterisin B seçilecek olan ilaçtır. Mantarın flusitozine de duyarlı olarak görülmesi nedeniyle kombine tedavi olabilir (Ustaçelebi, 1999).

P. marneffei dışındaki *Penicillium spp.* çoğu kontaminant olarak kabul edilir fakat özellikle vücut direnci kırılmış konaklarda enfeksiyona neden olabilir. Özellikle AIDS hastalarında *P. marneffei* patojeniktir ve endemik bölgelerde kanda bulunması HIV marker olarak kabul edilir. enfeksiyöz potansiyellerine ek olarak *Penicillium spp.*'lerin mikotoksin ürettiği bilinir (Pitt et al, 2000).

Penicillium cinsinin çok çeşitli türleri bulunur. En yaygın olarak bulunanlar: *P. chrysogenum*, *P. citrinum*, *P. janthinellum*, *P. marneffe* ve *P. purpurogenum*. Koloni morfolojisi ve mikroskopik özelliklerine göre türler birbirinden ayrılırlar (de Hoog ve Guarro et al, 2000).

Penicillium spp. insanlarda bazen enfeksiyona neden olup penicillosis olarak bilinen hastalıkla sonuçlanabilir. Keratitli, endoftalmıtlı, otomikozisli, nekrotizan ozofajitli, pnömonili, endokarditli, peritonitli ve uriner sistem enfeksiyonlu hastalardan *Penicillium* izole edilir. Çoğu *Penicillium* enfeksiyonuna immunosuprese konaklarda karşılaşılır. Korneal enfeksiyonlar genellikle travma sonrası oluşur (Deshpande and Koppikar, 1999). Enfeksiyöz potansiyeline ek olarak *P. verrucosum* mikotoksin ve nefrotoksik, karsinojenik olan okratoksin A üretir. Toksin yapımı genelde soğuk iklimlerde tahıl tanecikleri üzerindeyken olur (Pitt et al, 2000).

P. marneffe dışındaki diğer *Penicillium* kolonileri hızlı ürer., tek sıra halinde, filamentöz ve kadifemsi, yün görünümlü veya pamuksu dokuya sahiptir. Başlangıçta koloniler beyazdır fakat zamanla mavi-yeşil, gri-yeşil, zeytini gri, sarı veya pembemsi olurlar. Besiyerinin diğer tarafları genelde soluk sarımsıdır (Larone,1995).

P. marneffe dışındaki diğer türlerin septalı hiyalinli hifleri (1,5-5 µm çapında), bölmesiz veya dallanmış konidyoforları, metulae, fialidleri ve konidyaları görülür. Metulae konidyoforlar üzerinde oluşan ikincil dallardır. Metulae mantara şekilli fialidleri taşır. Konidyoforların ucunda fialidlerin sıralaması çok tipiktir. Bunlar penicilli olarak da bilinen fırça benzeri kümeler oluşturur. Sporlar (2,5-5µm çapında) fialidlerin ucunda yuvarlak, tek hücreli ve bölmesiz zincirler olarak görünür (St-Cermain, 1996).

P. marneffe küf halindeyken mikroskopik olarak diğer türlere benzer. Diğer taraftan maya halindeyken yuvarlaktan sosis şekilli (3-5 µm) ortadan bölünerek çoğalan hücrelere benzemek için uzar.

P. marneffe'nin BHI gibi zenginleştirilmiş bir ortamda kültürü yapılarak ve 35°C 'de inkübe edilerek artrosporumun maya benzeri şeklini oluşturması kolayca indüklenebilir ve bir hafta içinde maya benzeri oluşumlar ortadan ikiye bölünerek hifli artrosporları oluştururlar.

Enfekte dokulardaki makrofajlarda intraselluler maya benzeri artrospor hücreleri görülür.

Bugüne kadar penicillosis marneffeii tedavisinde amfoterisin B, oral itrakonazol ve oral flukonazol kullanıldı (Cheng et al, 1998). HIV pozitif hastalarda oral itrakonazolun *P. marneffeii*'ye karşı profilaktik olarak kullanımı etkili bulundu (Rimek et al, 1999).

2.3.2. Aspergillus

Aspergillus türleri , Sabouraud Dekstroz Agar ve diğer bakteriyolojik besiyerlerinde kolayca ürerler. İlk izolasyonu için ortamlara antibiyotikler (penisilin, streptomisin ve kloramfenikol) katılabilir. Ancak, cyclohexamid'e duyarlıdırlar. Katı ortamlarda, görülebilecek kadar büyüklükte kolonilere 24-30 saat içinde rastlanabilir. Bazı türler daha geç bir üreme gösterirler (Arda, 1997).

Aspergillus türlerinin sporları havada ve toprakta bol miktarda bulunur. *Aspergillus* türlerinin çok sayıda enzimlere sahip olmaları nedeniyle, organik madde ve rutubetin bulunduğu her yerde bunları çok fazla miktarda rastlanmaktadır. Bir çok enzim preparasyonları, bu mantarlar kullanılarak yapılmaktadır. Ayrıca bunlardan organik asitler, antibiyotikler, alkol elde edilebilmektedir. *Aspergillus* türlerinin böyle faydalı faaliyetleri olmakla beraber, zararlı faaliyetleri de vardır. *A. fumigatus*, *A. flavus*, *A. niger* ve diğer bazı türler insana Aspergillosis hastalığının neden oluyor. Hayvanlarda da bu türler aspergillosise sebep olurlar. Bu hastalık en çok kuş ciğerlerinde görülmekle beraber, at, koyun, sığır gibi hayvanlarda da rastlanır (Öner, 1980).

2.3.3. Trichothecium

Trichothecium çürümüş bitkilerde ve toprakta yaygın olarak bulunan filamentoz mitosporik mantardır. Çoğunlukla kontaminant olarak kabul edilirler. *Trichothecium* elmalarda pembe renkli çürüğe neden olur ve ete benzer (dolgun) mantar parazitidir. *Trichothecium*'a ait insan ve hayvan hastalıkları rapor edilmemiştir.

Trichothecium kolonileri hızlı ürer. 25°C’de patates dekstroz agar’da koloniler tek sıra, granüller ve tozludur. Başlangıçta beyazken, zamanla soluk pembe/ seftalı rengine dönüşür. Alt tarafı soluktur. *Trichothecium* 37°C’de üremez (Larone,1995).

Septalı hiyalinli hifler, konidyoforlar ve konidyalar görülür. Konidyoforlar uzun ve dallanmamıştır. Bunlar konidyaları oluştururlar. Sporlar (8-10x12-18 µm) iki hücreli, pürtüksüz, az kalın duvarlı, hiyalinli ve acık renkli ve armut veya çomak seklindedir. Bunların konidyoforlarla ilişki noktası açıkça kesiktir. Sporlar yanyana sıralanır ve uzayan kümeler oluşturur. Bunlar üstüste biner ve konidyoforların ucunda zigzag paterni oluştururlar. Yeni konidya üretilir ve zigzag şeklindeki kolonun dibine eklenir (St-Germain and Summerbell, 1996; Sutton et al,1998).

2.3.4 Ulocladium

Ulocladium toprakta ve çürümüş bitkilerde sık rastlanan küf mantardır. Doğada çok yaygın olarak bulunur ve kağıt, tekstil ürünleri, tahtadan izole edilebilir. *Ulocladium*’un çoğu kez kontaminant olduğu kabul edilir. İnsanlarda çok nadir hastalığa neden olur.

Ulocladium cinsinin iki aktif türü vardır; *U. chartarum* , *U. botrytis*. Konidyoforlar ve konidyumlarının morfolojik özellikleri iki türün ayırımına ve tanımına neden olur.

Ulocladium spp. subkutan (derialtı) enfeksiyonlarına neden olabilir.

Ulocladium kolonileri orta dereceli hızda ürer. 25°C’de ve patates dekstroz agar’da yün yumağı-pamuksu koloniler oluşturur. Önden ve alttan rengi zeytini yeşilden siyaha kadar değişebilir (Larone, 1995; St-Germain and Summerbell, 1996).

Septalı kahverengi hifler, kahverengi konidyoforlu ve sporlar görülür. Konidyoforlar bölmesiz ve ya dallanmış, pürtüksüz, çoğunlukla dik açı yapmıştır (sporları oluşturduğu noktada bükülür, zigzag görünümünde)ve sporları oluşturur. Konidyumlar (13-30 x 6-19 µm) kahverengi-siyah, yuvarlak-oval şekilli, pürüzsüz veya pürüzlü ve verrukoz olabilir. Çoğunlukla yumurta şeklinde ve tepesine göre daha da bir tabana sahiptir. Bu konidyumlar tipik olarak muriformdur, enine ve uzunlamasına septaları bulunur. Bunlar tektir (*U. botrytis*) veya kısa zincirler

(*U. chartarum*) oluşturabilir. Zincirler oluştuğu zaman ikincil konidyum oluşum noktasında konidyumda tubuler, kısa çıkıntı oluşur (Sutton et al, 1998; de Hoog ve Guarro et al, 2000).

Soluk pigmentli elipsoit yapı gözlenebilir.

Ulocladium çoğunlukla dik açı yapmış konidyoforları ve konidya ucunda gaga benzeri ince yapısının olmamasıyla *Alternaria*'dan ayrılır. Muriform konidyum oluşturması ile *Bipolaris*, *Curvularia* ve *Drechslera*'dan ayrılır. *Stemphylium*'den ise dik açı yapmış ve yapışık konidyoforları ile ayrılır.

Çok sinirli veri mevcut. Amfoterisin B, Ketokonazol ve İtrakonazol'un MIC'leri *U. botrytis*'de *U. chartarum*'a göre daha düşük olduğu kabul edilir. Her iki tür için de flusitozin ve Flukonazolun MIC'leri çok yüksektir (Pujol et al, 2000).

2.3.5. Cladosporium

Cladosporium havada ve çürümüş organik materyallerde yaygın olarak bulunan ve sıklıkla yiyeceklerden kontaminant olarak izole edilen dematiyoz (pigmentli) küftür. Bazı türleri tropikal ve subtropikal bölgelerde predominanttır (de Hoog ve Haase et al, 2000; Dixon and Polak-Wyss, 1991). Aynı zamanda bazı *Cladosporium spp* balıklardan izole edilmiş ve enfeksiyonlar arasındaki bağlantı araştırılmış (Bocklisch and Otto, 2000).

Cladosporium cinsinin 30'un üzerinde türü bulunur. *C. elatum*, *C. herbarum*, *C. sphaerospermum* ve *C. cladosporioides* en yaygınlarıdır.

Cladosporium spp deri enfeksiyonlarına, keratite, onikomikozis, sinüzite ve pulmoner enfeksiyonlara neden olan ajanlardır (Pritchard and Muir, 1987).

25°C'de patates dekstroza agar'da *Cladosporium* kolonilerinin üreme hızı yavaştır ve dokusu kadifemsi/tozludur. Diğer dematiyoz mantarlar gibi basından rengi zeytini yeşil- siyah, sonunda ise siyahtır. Çoğu *Cladosporium spp*. 35°C'nin üstündeki sıcaklıklarda üremez.

Cladosporium spp septalı kahverengi hifler, dik ve pigmentli konidyoforlar ve konidya üretir.

C. cladosporioides ve *C. sphaerospermum*'um konidyoforları dik acı yapmazken, *C. herbarum*'unkiler bükülmüş görünümüne sahiptir. Ayrıca *C. herbarum* konidyoforları terminaldir ve interkalar şişlikleri bulunur. *Cladosporium spp.* kolonleri genellikle eliptik/silendirik şekilli, soluk/ koyu kahverenkli ve koyu hifaları vardır. Hazır olarak dizartikule olan dallı zincirler oluştururlar. Konidyanın duvarı pürüzsüz ve çoğunlukla kenarları dikenlidir. *C. cladosporioides* tek hücreli spor oluşturur. Diğer taraftan *C. herbarum*'unki 2-4 hücrelidir. *C. sphaerospermum* ramokonidya olarak da bilinen uzayan ve koruyucu septalı hifler üretir.

Infekte doku örneklerinde kahverenkli hifler görülebilir (Collier et al,1998).

2.3.6. Alternaria

Alternaria çoğunlukla bitki, toprak, yiyecek ve ev içindeki ortamdan izole edilen kozmopolit mantardır. Melanin benzeri pigment üretmesi başlıca özelliklerinden biridir.

Bugün için *Alternaria*'nın yaklaşık 50 türü biliniyor. Bunlar arasında insanlarda enfeksiyona neden olanlardan en sık izole edilen *A. alternata*'dır. Bazı otoriteler *A. alternata*'nın kompleksten ziyade çeşitli heterojen ve basit türlerin temsilcisi olduğunu ileri sürer. *A. chartarum*, *A. dianthicola*, *A. geophila*, *A. infectoria*, *A. stemphyloides* ve *A. teunissima* enfeksiyonlarından izole edilirken bazı *Alternaria* türlerinin tanımlanamayan etkileri olduğu rapor edilmiş.

Fırsatçı patojen olan *Alternaria spp.* özellikle immunosupresif hastalardan çıkar (kemikiliği transplantlı hastalar gibi). Feohifomikoza neden olan ajanlardan biridir. Onikomikoz, sinüzit, ülserle deri enfeksiyonları ve keratite ilaveten viseral enfeksiyon ve osteomyelitte de neden olduğu rapor edilmiş (Anaissie et al, 1989; Garau et al, 1977). *Alternaria* immunokomptanlarda paranasal sinüslerde kolonize olarak kronik hipertrofik sinüzite yol açabilir. Bu kolonizasyon vücut direnci kırılmış hastalarda invaziv hastalık gelişimiyle sonlanabilir. *Alternaria* türleri kosmopolit ve doğada yaygın bulunduğundan beridir, ziraat işçilerinde otitis medyaya neden olabilen ajandır ve aynı zamanda laboratuvar kontaminantı olarak kabul edilir. Bundan dolayı saf kültür üretmek için dikkatli olunması gerekir.

Alternaria spp. hızlı ürer ve 25°C 'de 7 gün patetes glikoz agar'da inkubasyonu takiben koloni çapı 3 cm'den 9 cm'e kadar değişebilir. Koloni yün yumağı şeklinde tek sıra ve zamanla grimsi, kısa aeryal hifle kaplanır. Başlangıçta grimsi beyazımsı olan yüzey zamanla koyulaşır ve açık renkli sınırlı yeşilimsi siyaha veya zeytini kahverengiye dönüşür. Alt tarafta ise pigment oluşumuna göre tipik olarak kahverenginden siyaha kadar değişebilir (Collier et al,1998).

Alternaria spp. septalı, kahverengi hiflere sahiptir. Aynı zamanda konidyoforlar da kahverenkli ve septalıdır, bazen de zigzag görünümü oluştururlar. Konidyoforlar üzerinde enine ve uzunlamasına septaları olan geniş , dallanmış veya bölmesiz sporlar (7-10 x 23-34 µm) gelişir. Bu sporlar tek veya akropedal zincirler şeklinde izlenebilir ve germ tüpleri üretebilir. Bunlar oval şeklinde, koyu pigmentli, muriform, pürüzsüz veya pürtüklüdür. Konidyanın ucu tepesine doğru incelerken, konidyoforun yanına doğru yuvarlaklaşır. Bu, konidyaya tipik gaga veya çomak şeklini verir (Larone, 1995).

H&E 'le boyanmış enfekte doku parçalarında koyu renkli filamentoz hiper görülür. Eğer pigment belli değilse, melanie spesifik olan Fontana-Masson gümüş boyası uygulanabilir (Collier et al,1998).

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Materyal

3.1.1. Ekstraktlar

Bu çalışmada *Hedera helix*, *Vitex agnus castus* ve *Cuscuta monogyna* bitkilerinin metanol ekstraktları kullanıldı.

3.1.2. Mikroorganizmalar

Çalışmada kullanılan mikroorganizma suşları Gebze Yüksek Teknoloji Enstitüsü Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Mikrobiyoloji Laboratuvarı Kültür Koleksiyonundan alınmıştır. Araştırmada kullanılan bakteri ve fungus türleri standart türleridir.

Bakteriler:

Staphylococcus aureus ATCC 29213	Enterococcus faecalis ATCC 29122
Proteus vulgaris KUEN 1329	Escherichia coli
Bacillus subtilis ATCC 6633	Candida albicans ATCC 1213
Bacillus cereus DMS 4312	Candida utilis KUEN 1031
Pseudomonas aeruginosa ATCC 9027	Salmonella enteridis ATCC 14076
Pseudomonas aeruginosa ATCC 27859	Streptococcus pyogenes ATCC 13076

Funguslar:

<i>Alternaria alternata</i>	<i>Trichothecium roseum</i>
<i>Aspergillus terricola</i>	<i>Ulocladium sp.atrum</i>
<i>Aspergillus sp.flavus</i>	<i>Cladosporium sp.</i>
<i>Aspergillus niger</i> ATCC 16404	<i>Penicillium sp. purpurogenum</i>
<i>Aspergillus sp.</i>	<i>Penicillium sp.verrucosum</i> var. <i>Cyclopium</i>

3.1.3. Besiyerleri

1. Nutrient Agar
2. Patates Dekstroza Agar (PDA)
3. Nutrient Broth

3.1.4. Kimyasallar

1. Methanol
2. Distile su
3. Azitromisin (azalid grubu antibiyotik)
4. Siklopiroksolamin (antifungal)

3.1.5. Kullanılan Cihazlar

- | | |
|----------------------|--|
| 1. Etüv | 6. Magnetik karıştırıcı |
| 2. Otoklav | 7. Mantolu ısıtıcılar (zaman ve sıcaklık ayarlamalı) |
| 3. Rotary evaporator | 8. Klavenger aparatı |
| 4. Soxhlet extractor | 9. Blander (parçalayıcı) |
| 5. Vortex | |

3.2. Metod

3.2.1.Extractlar'ın Elde Edilmesi

Bu çalışma için 3 tane bitkinin ekstraktları hazırlandı. *Hedera helix* bitkisinin ekstraktı yapraklardan hazırlandı. *Vitex agnus castus* ve *Cuscuta monogyna*'nın ekstraktlarının elde edilmesinde bitkilerin gövdesi ve çiçekleri kullanıldı.

Ekstrakt hazırlanmadan önce bitkilerin kısımları gölgede kurutulmuştur. Kurutulma işleminden sonra blandır (parçalayıcı) da iyice parçalanır (yaklaşık 2 mm çapında parçalar haline getirilir). Kurutulmuş ve toz haline getirilmiş bitki parçaları (500g. ağırlıkta) Soxhlet cihazda 1:1 oranında methanol kullanılarak 72 saat süre ile ve çözücünün kaynama nokta sıcaklığına yakın bir sıcaklıkta ekstrakte edildi (Lin et al 1999). Soxhlet cihazında elde edilen ekstraktlar Rotary evaporator'da ve solventin kaynama noktası sıcaklığında solvent ortamdan ayrıştırıldı ve sonuçta bitkiye ait olan kısım elde edildi (Karaman ve ark., 2003).

Hedera helix'in ekstraktı siyah renkte (sıvı halinde koyu yeşil), *Cuscuta monogyna*'ın ekstraktı kahverengi ve *Vitex agnus castus*'un ekstraktı ise siyaha yakın, sıvı halinde kahverengi olarak elde edilmiştir.

3.2.2. McF'Ayarlama

Mikrobiyolojik çalışmalarda kullanılan bakteri suşlarının (saf kültür) katı besiyerine pasajı yapıp, etüvde 18 saatlik inkubasyonundan sonra, sıvı besiyerine inokule edilir. İnokulasyondan sonra bakterilerin çoğalması ile besiyerinde belli bir bulanıklık oluşur. Bu bulanıklığın tonu farklı olabilir. Bulanıklığın tonu sıvı besiyerindeki bakteri sayasına göre değişir. Bu bulanıklığı anlamak için McF (McFarland) standartları kullanılır. McF standartları tıbbi malzeme satan firmalarda hazır olarak satılır veya laboratuvarlarda hazırlanabilir. McF bulanık standartlarına göre 0.5 McF, 1 McF ve 10 McF ayrılır. Bu çalışmalarda bakteri süspansiyonu 0.5 McF'a göre ayarlanmıştır.Bu şekilde hazırlanmış bakteri süspansiyonu yaklaşık 1 ml 10^8 (KOE/ml) bakteri içerir (Stesyuk et al,1999).

3.2.3. Bakteriler ve Bakteriler İçin Besiyerinin Hazırlanışı

Bakteriler için yaygın olarak kullanılan Nutrient Agar'dır. Nutrient Agar otoklavda 121 C° sıcaklıkta 15 dakika bekletilerek sterilize edildi. 50-60 C°'de sıvı halde steril plastik petri kabına 20 ml konuldu ve 1 gece oda sıcaklığında bekletildi.

Kullanılan bakteriler mutlaka saf ve standart olmalıdır. Stoktan alınan 12 farklı standart bakteri türü ilk önce Nutrient agara ekildi. Sonra ekilmiş olan bakteriler etüvde 37 C°'de 1 gecelik (18 saat) inkubasyona bırakıldı. Bir gecelik inkubasyondan sonra her bir farklı bakteri türünden platin öze ile alınıp, içlerinde 5 ml Nutrient broth bulunan tüplere inokulasyonu yapıldı ve 1 gece etüvde 37 C°'de inkube edildi. Bir gecelik inkubasyondan sonra bakteriler deneyler de kullanılmak üzere hazır hale getirildi.

3.2.4. Funguslar ve Funguslar İçin Besiyerinin Hazırlanışı

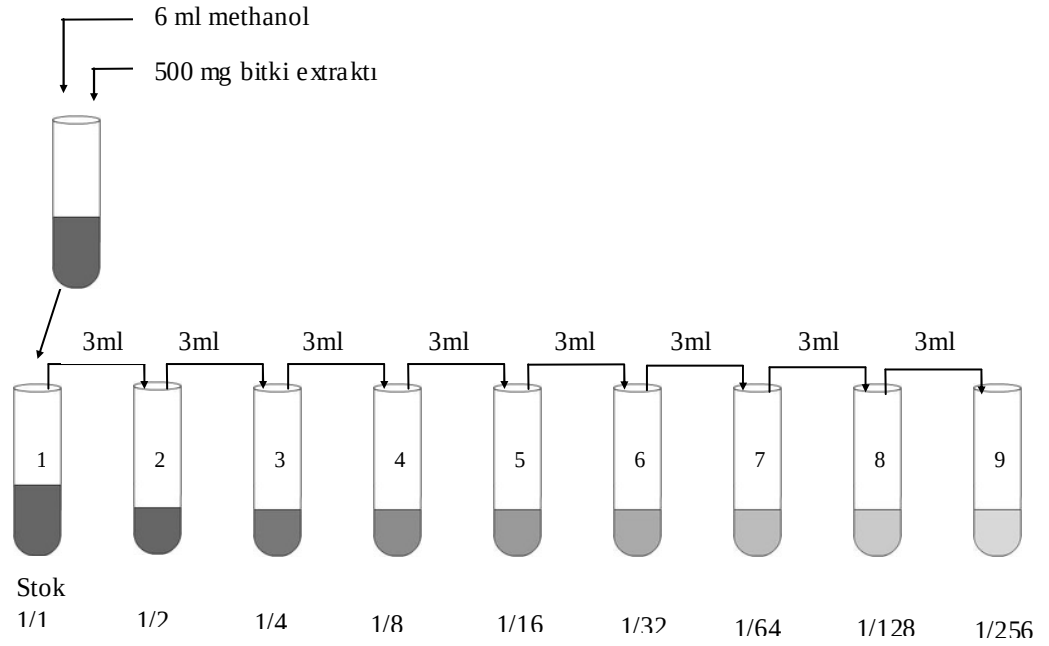
Funguslar için Patates Dekstroz Agar kullanıldı.

Deneylerde kullanılmak üzere 12 farklı fungus türü veya farklı suş derin dondurucudan alındıktan sonra saf olduklarından emin olmak için PDA'ya iğne öze ile ekimi yapıldı. Fungusların ekili olduğu petriler oda sıcaklığında 4 günlük inkubasyona bırakıldı ve deneylerde kullanma hazır halle getirildi.

3.2.5. Dilüsyonların (Makro ve Mikro Dilüsyon) Hazırlanışı

Aşağıdaki şekilde birinci tüpte 6 ml, ikinciden itibaren dokuzuncuya kadar 3 ml methanol bulunmaktadır. Birinci tüpe 500 mg bitki ekstraktı (katı halinde) koyulmuş. Maddenin çözünüşünden sonra birinci tüpten Pasteur pipet ile 3 ml madde diğerine aktarılarak seri dilüsyon yapıldı. Bu işlem *Hedera helix* , *Cuscuta monogyna* ve *Vitex agnus castus*'un bitki ekstraktları için makro dilüsyon ayrı ayrı hazırlandı.

Methanol için makro dilüsyon sıvı olduğu için birinci tüpe 6 ml methanol koyduktan sonra ikinci tüpten itibaren dokuzuncuya kadar her tüpe 3 ml steril su koyuruz. Birinci tüpten 3 ml alınıp sırasıyla diğer maddelerde olduğu gibi seri dilüsyon gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.1. Dilüye etme (Seyreltme) işlemi

Antibiyotik için birinci tüpe 6 ml steril su ve 500 mg azitromisin konuldu. İkinciden dokuzuncuya kadar sadece 3 ml steril su koyuldu ve bu hazırlıktan sonra Pasteur pipet ile 3 ml alınıp sırasıyla seri dilüsyon yapıldı.

Funguslar için bitki ekstraktları ve methanol'un makro dilüsyonları aynı şekilde hazırlanmıştır. Antifungal ilacın dilüsyonu sıvı halde olduğu için şu şekilde hazırlanmış: birinci tüpe 6 ml antifungal konuldu, ikinci tüpten itibaren dokuzuncuya kadar 3ml steril su konulduktan sonra birinci tüpten başlayarak Pasteur pipet ile 3 ml alınıp seri dilüsyon yapıldı.

Dilüsyonu bitirdikten sonra bir diskin içerisinde olan madde miktarı hesaplandı.

Örnek:

$$X = n \cdot \frac{a \cdot b}{C} \qquad X = \frac{1}{1} \cdot \frac{20 \mu\text{l} \cdot 500.000 \mu\text{g}}{6000 \mu\text{l}}$$

x – bir diskte madde miktarı,

a – bir diske tüpten konulduğu madde miktarı, (20 µl)

b – stoğa konulan madde miktarı (500.000 µg)

c – çözücünün miktarı (6000 µl)

n= 1/1, 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64, 1/128, 1/256

Tablo 3.1. Madde konsantrasyonlarına göre bir diskte bulunan madde miktarı (µg).

Maddeler	Madde konsantrasyonları								
	1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256
Hedera helix ekstraktı,	1666	833	416	208	104	52	26	13	6.5
Cuscuta monogyna ekstraktı,	1666	833	416	208	104	52	26	13	6.5
Vitex agnus castus ekstraktı,	1666	833	416	208	104	52	26	13	6.5
Antibiyotik	1666	833	416	208	104	52	26	13	6.5
Antifungal	200	100	50	25	12.5	6.25	3.1	1.5	0.7

Minimal İnhibe-edici Konsantrasyon (MİK)

Çalışmalarda plastik mikropleytler kullanıldı. Her plastik mikrotüp kutu birbirine dikey ve yatay 96 sayıda çukur (mikrotüp) içerir. 96 çukur (mikrotüp) içeren bir plastik kutuda 12 dikey ve 8 yatay çukur bulunur. 12 dikey çukurda, 12 farklı bakteriler ve bir maddenin 8 farklı dilüsyonları (256, 128, 64, 32, 16, 8, 4, 2 miktarlarında) yapılarak bakterilerin duyarlılığı kontrol edildi. Her dikey sıra (1, 2, 3 ve diğerleri) kontrol edilen her bir bakteriyi temsil eder. Her yatay sıranın solundaki harfler (A, B, C ve diğerleri) her bir çukur içinde bulunan maddenin farklı konsantrasyonu içerir.

Aseptik koşullarda mikrotüp kutusu, bakterilerin költürü özgün yuvarlak çukurlara sırasıyla 20-200 µl sıvı çekme kapasitesine sahip mikropipet yardımıyla 5 µl halinde koyulur ve her bir yatay sıradaki kuyucuklara maddenin farklı konsantrasyonundan 100 µl madde koyularak hazırlanır. Bu işlemi bitirdikten sonra önceden hazırlanmış steril N.Broth'tan 96 çukurun her birine 95 µl katılır. Broth her çukura katıldıktan sonra, mikrotüp kutusu bir plastik kapak ile iyice kapatılır. Böylece inkubasyon sırasında kurumaya engel olunur.

Butün kutular 18 saat 37 C° etüve yerleştirildi. Bir gecelik inkübasyondan sonra sonuçları görebilmek için mikropleylerdeki her bir kuyucuktan ayrı ayrı olarak petri kutusundaki NA besiyerlerine, aseptik koşullarda iğne metodunu kullanarak ekim yapıldı. Ekilmiş petri kablari 37 C° 18 saat inkübe edildikten sonra nokta ekimin yapıldığı yerlerde üremenin olup olmadığı kontrol edilir ve sonuçlar istenilen şekilde tablo halinde hazırlanır.

4. BULGULAR

4.1. Bakteriler Üzerinde Yapılan Deneylerinin Sonuçları

Deney sırasında bakteriler üzerinde bitki metanol ekstraktların antibiyotik özelliklerinin incelenmesi için aynı zamanında antibiyotik ve bitkilerin ekstraktları metanol'lu olduğu için metanol de kontrol olarak denendi. 12 tür bakterilerden her bir bakteri türü NA'ya ekildi. Ekimden sonra 3 tane bitki ekstraktı, antibiyotik ve metanol için her birine bakteri ekili iki petri kabı kullanıldı. Bir petri kabına 5 diğerine 4 tane steril disk yerleştirildi (Şekil 4.1 ve 4.2). Diskler yerleştirildikten sonra diskler üzerine dilüsyon yönteminde hazırlanmış olan bitki ekstraktların, antibiyotiğin ve metanol'un 9 farklı konsantrasyondan 20 µl koyuldu.

Antifungal özelliklerinin incelenmesinde 3 tane bitki ekstraktı, kontrol olarak metanol, antifungal ilaç (siklopiroksolamin) denendi. Her bir fungus suşu için 10 adet, PDA besiyeri kullanıldı. Fungusların üremesi bakterilerden farklıdır ve sonuçları iyi görebilmek için fungusların ekim ve disk yerleşim metotları farklıdır. İlk önce katı besiyeri üzerine diskler yerleştirildi sonra dilüsyon yönteminde hazırlanmış olan bitki ekstraktların metanol'un, antibiyotiğin ve antifungal'ın 9 farklı konsantrasyonundan 20 µl disklerin üzerine koyuldu. Maddeler koyduktan sonra her petri kabının tam ortasında tek çizgi metot ile ekim yapıldı ve inkübasyona bırakıldı.

Üç tane bitki ekstraktlarının antibakteriyel özelliklerinin olup olmadığını araştırmasında 12 bakteri üzerinde yapılan deneylerinin sonuçları tablolarda görülmektedir. Metanol'a karşı *P. vulgaris* ve *C. utilis* dışında duyarlılık görülmedi. *P. vulgaris* zon ölçümleri 10 mm ve *C. utilis* 6 mm gösterildi (Stesyuk et al 1999) göre bu iki tür bakteri metanol'a duyarsızlar.

Tablo 4.1. Methanol'un minimal inhibisyon zonlarının ölçümleri (mm)

Bakteri türleri		Dilüsyonlar								
		1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256
Staphylococcus aureus	Zon c a p l a r (mm)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Proteus vulgaris		10	-	-	-	-	-	-	-	-
Bacillus subtilis		-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pseudomonas aeruginosa ATCC 9027		-	-	-	-	-	-	-	-	-
Enterococcus faecalis		-	-	-	-	-	-	-	-	-
Candida utilis		6	-	-	-	-	-	-	-	-
Escherichia coli		-	-	-	-	-	-	-	-	-
Candida albicans		-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bacillus cereus		-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pseudomonas aeruginosa ATCC 27859		-	-	-	-	-	-	-	-	-
Salmonella enteridis		-	-	-	-	-	-	-	-	-
Streptococcus pyogenes		-	-	-	-	-	-	-	-	-

- zon oluşmadı (maddeye duyarsız)

Aynı bakteriler üzerinde de antibiyotiğin denemeleri yapıldı. Antibiyotik geniş spektrumlu olduğu için çoğu bakterilerde farklı derecede etkisi ortaya çıktı. Bu sonuçlar aşağıdaki tabloda verilmiştir.

En duyarlı *E. coli* bütün konsantrasyonlarda zon oluşturdu. *P. aeruginosa* ATCC 9027, *B. cereus*, *St. pyogenes* 1/64 konsantrasyona kadar zon oluşturdu, onlar da duyarlıdır. *P. vulgaris* ve *E. faecalis* 1/32 konsantrasyona kadar duyarlılığını gösterdi. *P. aeruginosa* ATCC 27659 en son 1/8 konsantrasyona kadar duyarlılığını gösterdi. *S. aureus* 1/4 ve *B. subtilis* 1/2 konsantrasyonda antibiyotiğe duyarlılığını gösterildi. *C. utilis* , *C. albicans* ve *S. enteridis* denemede kullanılan antibiyotiğe duyarsızlardır.



Sekil 4.1. *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 methanol'a karşı 1/1-1/16 konsantrasyonlarında oluşturduğu zonların görünüşü



Sekil 4.2. *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 methanol'a karşı 1/32-1/256 konsantrasyonlarında oluşturduğu zonların görünüşü



Sekil 4.3. *Bacillus cereus* methanol'a karşı 1/1-1/16 konsantrasyonlarında oluşturduğu zonların görünüşü



Sekil 4.4. *Bacillus cereus* methanol'a karşı 1/32-1/256 konsantrasyonlarında oluşturduğu zonların görünüşü

Tablo 4.2. Antibiyotiğin (azitromisin) minimal inhibisyon zonlarının ölçümleri (mm)

Bakteri türleri		Dilüsyonlar								
		1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256
Staphylococcus aureus	Zon çapları (mm)	14	8	6	-	-	-	-	-	-
Proteus vulgaris		12	10	6	6	4	2	-	-	-
Bacillus subtilis		4	2	-	-	-	-	-	-	-
Pseudomonas aeruginosa ATCC 9027		14	14	12	12	10	8	8	-	-
Enterococcus faecalis		8	6	4	4	4	4	-	-	-
Candida utilis		-	-	-	-	-	-	-	-	-
Escherichia coli		26	26	24	20	16	16	14	12	10
Candida albicans		-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bacillus cereus		14	12	12	8	6	4	4	-	-
Pseudomonas aeruginosa ATCC 27859		12	12	10	10	-	-	-	-	-
Salmonella enteridis		-	-	-	-	-	-	-	-	-
Streptococcus pyogenes		14	12	10	8	6	4	2	-	-

- zon oluşmadı (maddeye duyarsız)

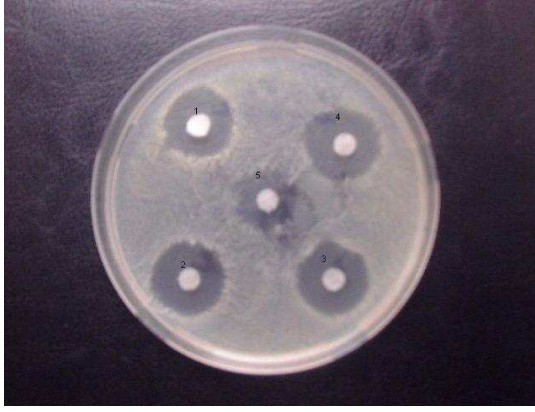


Sekil 4.5. *Proteus vulgaris* antibiyotiğe (azitromisin) karşı 1/1-1/16 konsantrasyonlarında oluşturduğu zonların görünüşü



Sekil 4.6 *Proteus vulgaris* antibiyotiğe (azitromisin) karşı 1/32-1/256 konsantrasyonlarında oluşturduğu zonların görünüşü

Proteus vulgaris 1/1-1/32 konsantrasyonlarda zon oluşturken, 1/64, 1/128, 1/256 konsantrasyonlarında zon oluşturmadı.

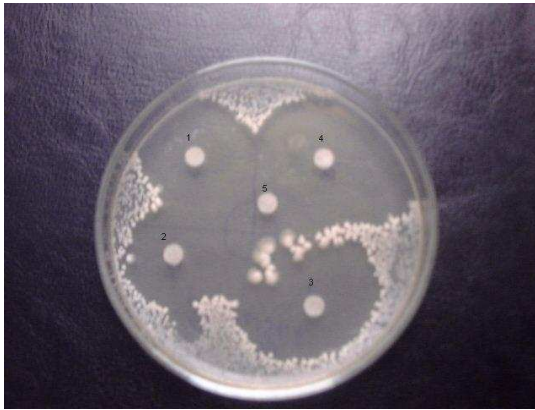


Sekil 4.7. *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 antibiyotiğe (azitromisin) karşı 1/1-1/16 konsantrasyonlarında oluşturduğu zonların görünüşü

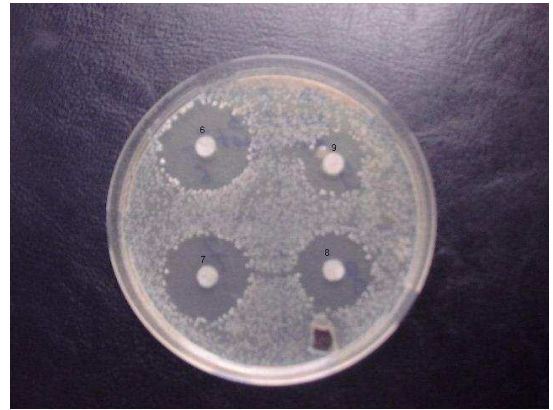


Sekil 4.8. *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 antibiyotiğe (azitromisin) karşı 1/32-1/256 konsantrasyonlarında oluşturduğu zonların görünüşü

Pseudomonas aeruginosa ATCC 9027 1/1-1/64 konsantrasyonlar arasında zon oluşturdu.

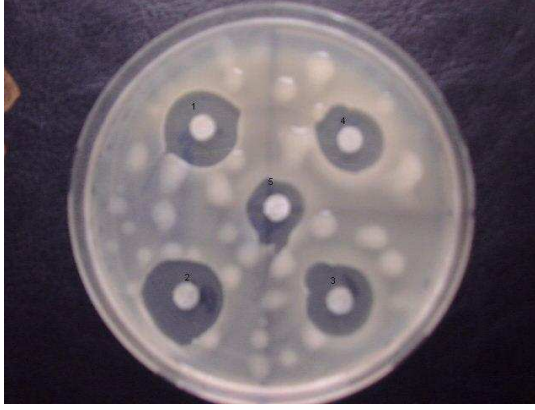


Sekil 4.9. *Escherichia coli* antibiyotiğe (azitromisin) karşı 1/1-1/16 konsantrasyonlarında oluşturduğu zonların görünüşü.



Sekil 4.10. *Escherichia coli* antibiyotiğe (azitromisin) karşı 1/32-1/256 konsantrasyonlarında oluşturduğu zonların görünüşü.

Escherichia coli 1/1-1/256 konsantrasyonlar arasında etkili zonlar oluşturdu.



Sekil 4.11. *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27859 antibiyotiğe (azitromisin) karşı 1/1 - 1/16 konsantrasyonlarında oluşturduğu zonların görünüşü



Sekil 4.12. *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27859 antibiyotiğe (azitromisin) karşı 1/32 - 1/256 konsantrasyonlarında oluşturduğu zonların görünüşü



Sekil 4.13. *Streptococcus pyogenes* antibiyotiğe (azitromisin) karşı 1/1-1/16 konsantrasyonlarında oluşturduğu zonların görünüşü.



Sekil 4.14. *Streptococcus pyogenes* antibiyotiğe (azitromisin) karşı 1/32-1/256 konsantrasyonlarında oluşturduğu zonların görünüşü.

Streptococcus pyogenes 1/1-1/64 konsantrasyonlar arasında zonları oluşturdu, 1/128 ve 1/256 konsantrasyonlarda zon oluşturmadı.

Hedera helix bitki ekstraktlarının ortaya çıkan deney sonuçları tablo 4.3. görülmektedir. 6 tür bakteri bütün konsantrasyonlarda farklı derecede duyarlılığını gösterilmiştir. Duyarlı olan bakteri türleri bunlardır: *S. aureus*, *P. aeruginosa* ATCC 9027, *E. fecalis*, *C. utilis*, *E. coli*, *C. albicans*. Deney sonuçları okuduğunuz zamanda bir ilginç şey ortaya çıktı. Madde bakımından yoğun olan konsantrasyonda zon ölçümleri yoğun olmayan konsantrasyonlara göre daha küçüktür. Bu olay *E. fecalis*, *C. utilis* bakterilerde rastlandı. 1/1, 1/2 konsantrasyonda madde miktarı yoğun oldu için diffüzyon problemi olduğu anlaşılmaktadır. *C. utilis* ve *C. albicans* antibiyotiğe

karşı duyarsız, ama *Hedera helix*'in ekstraktlarına karşı duyarlılığını göstermiş. Ve kalan 6 tür bakteri: *P. vulgaris*, *B. subtilis*, *B. cereus*, *P. aeruginosa* ATCC 27859, *S. enteridis* ve *St. pyogenes* duyarsızlardır.

Tablo 4.3. *Hedera helix* bitkisinin metanol ekstrakt'ının minimal inhibisyon zonlarının ölçümleri (mm)

Bakteri türleri		Dilüsyonlar								
		1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256
Staphylococcus aureus	Zon çapları (mm)	8	8	4	4	4	8	8	8	8
Proteus vulgaris		-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bacillus subtilis		-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pseudomonas aeruginosa ATCC 9027		6	6	6	6	4	6	2	2	2
Enterococcus faecalis		2	2	2	2	2	8	6	6	6
Candida utilis		6	8	10	10	10	10	10	8	8
Escherichia coli		10	8	6	6	4	6	6	6	6
Candida albicans		4	4	8	8	8	8	6	6	6
Bacillus cereus		-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pseudomonas aeruginosa ATCC 27859		-	-	-	-	-	-	-	-	-
Salmonella enteridis		-	-	-	-	-	-	-	-	-
Streptococcus pyogenes		-	-	-	-	-	-	-	-	-

- zon oluşmadı (maddeye duyarsız)



Sekil 4.15. *Staphylococcus aureus*, *Hedera helix* bitkisinin ekstraktına karşı 1/1-1/16 konsantrasyonlarında oluşturduğu zonların görünüşü.



Sekil 4.16. *Staphylococcus aureus*, *Hedera helix* bitkisinin ekstraktına karşı 1/32-1/256 konsantrasyonlarında oluşturduğu zonların görünüşü.

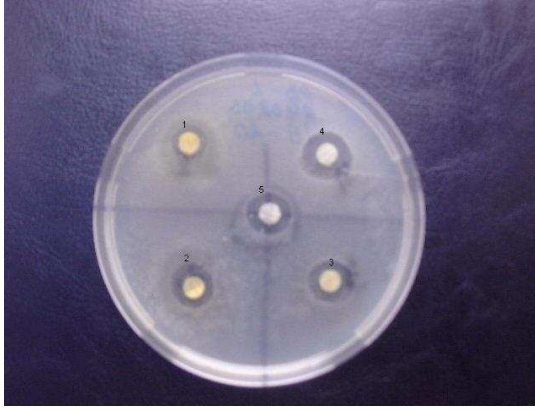
Staphylococcus aureus 1/1-1/256 kadar bütün konsantrasyonlarında etki zonları oluşturdu. 1/4, 1/8, 1/16 konsantrasyonda zon çapı 4 mm büyüklüğünde ve 1/32, 1/64, 1/128, 1/256 konsantrasyonda etki zonlarının büyüklüğü 8 mmdır.

Cuscuta monogyna bitkinin metanol ekstrakt'ın deney sonuçları tablo 4.4. içindedir. Zon ölçümleri okurken *Hedera helix*'ın ekstraktların deney sonuçlarında da aynı olaya rastlandı. Maddenin diffüzyon probleminin olduğu gerçeği ortaya çıktı. *S. aureus*, *P. aeruginosa* ATCC 9027, *E. fecalis*, *C. utilis*, *E. coli*, 1/1-1/256 konsantrasyon aralığında duyarlıdır. *P. vulgaris* ve *C. albicans* 1/1, 1/2, 1/4, 1/8, 1/16 konsantrasyonda duyarsız olduğu gözlemlendi (Diffüzyon problem olmasa duyarlı olması gerekmektedir) ve 1/32 konsantrasyondan itibaren duyarlıdır. *P. aeruginosa* ATCC 27859 1/1 konsantrasyonda duyarlı , diğerlerde duyarsızdır. *B.subtilis*, *B.cereus*, *S. enteridis*, *St. pyogenes* bütün konsantrasyonda duyarsız oldukları anlaşılmıştır.

Tablo 4.4. *Cuscuta monogyna* bitkisinin metanol ekstrakt'ının minimal inhibisyon zonlarının ölçümleri (mm)

Bakteri türleri		Dilüsyonlar								
		1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256
Staphylococcus aureus	Zon çapları (mm)	4	6	6	6	4	6	4	2	6
Proteus vulgaris		-	-	-	-	-	8	8	8	8
Bacillus subtilis		-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pseudomonas aeruginosa ATCC 9027		4	4	4	4	4	6	6	6	6
Enterococcus fecalis		4	4	4	4	4	4	6	6	6
Candida utilis		10	10	12	12	6	10	10	10	10
Escherichia coli		8	6	6	6	4	4	4	4	4
Candida albicans		-	-	-	-	-	6	6	6	-
Bacillus cereus		-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pseudomonas aeruginosa ATCC 27859		8	-	-	-	-	-	-	-	-
Salmonella enteridis		-	-	-	-	-	-	-	-	-
Streptococcus pyogenes		-	-	-	-	-	-	-	-	-

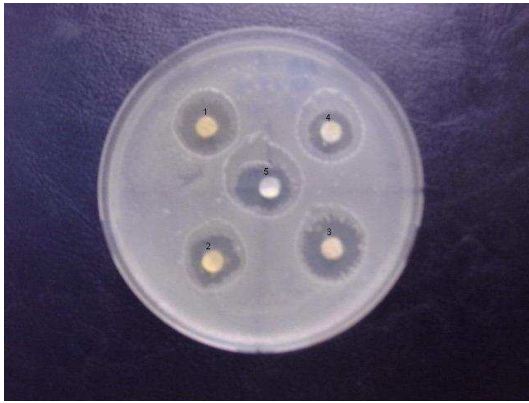
- zon oluşmadı (maddeye duyarsız)



Sekil 4.17. *Staphylococcus aureus*, *Cuscuta monogyna* bitkisinin ekstraktına karşı 1/1-1/16 konsantrasyonlarında oluşturduğu zonların görünüşü.



Sekil 4.18. *Staphylococcus aureus*, *Cuscuta monogyna* bitkisinin ekstraktına karşı 1/32-1/256 konsantrasyonlarında oluşturduğu zonların görünüşü.



Sekil 4.19. *Candida utilis*, *Cuscuta monogyna* bitkisinin ekstraktına karşı 1/1-1/16 konsantrasyonlarında oluşturduğu zonların görünüşü.



Sekil 4.20. *Candida utilis*, *Cuscuta monogyna* bitkisinin ekstraktına karşı 1/32-1/256 konsantrasyonlarında oluşturduğu zonların görünüşü.



Sekil 4.21. *Streptococcus pyogenes*, *Cuscuta monogyna* bitkisinin ekstraktına karşı 1/1-1/16 konsantrasyonlarında oluşturduğu zonların görünüşü.



Sekil 4.22. *Streptococcus pyogenes*, *Cuscuta monogyna* bitkisinin ekstraktına karşı 1/32-1/256 konsantrasyonlarında oluşturduğu zonların görünüşü.

Vitex agnus castus bitkinin 12 tür üzerinde antibakteriyel özelliklerin araştırmasında ortaya çıkan deney sonuçları aşağıdaki tablodadır. *P. vulgaris*, *C. utilis*, *E. coli*, *S. enteridis* bütün konsantrasyonlarda duyarlılar. *P. aeruginosa* ATCC 27859 1/1, 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, konsantrasyonlarda maddenin diffüzyon problemi olduğu için sonuç okunamadı, fakat düşük konsantrasyonlarda duyarlı ve dolayısıyla yukarıda gösterilen yüksek konsantrasyonlarda da duyarlı olduğunu kabul edebiliriz. *B. subtilis* 1/16, ve *B. cereus* 1/2 konsantrasyona kadar duyarlılar. Denemede kullanılan bitki ekstraktlarına karşı *E. fecalis*, *P. aeruginosa* ATCC 9027, *St. pyogenes* duyarsızlardır. Bitki ekstraktının antibiyotik sonuçları ile karşılaştırıldığında *C. utilis*, *C. albicans* ve *S. enteridis* bitki ekstraktlarına duyarlı, ama antibiyotiğe duyarsız oldukları gözlemlenmektedir.

Tablo 4.5. *Vitex agnus castus* bitkinin metanol ekstrakt'ının minimal inhibisyon zonlarının ölçümleri (mm)

Bakteri türleri		Dilüsyonlar								
		1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256
Staphylococcus aureus	Zon çapları (mm)	8	8	8	-	-	-	-	-	-
Proteus vulgaris		10	10	10	10	4	4	4	4	4
Bacillus subtilis		12	12	14	14	12	-	-	-	-
Pseudomonas aeruginosa ATCC 9027		-	-	-	-	-	-	-	-	-
Enterococcus fecalis		-	-	-	-	-	-	-	-	-
Candida utilis		10	6	4	4	4	6	6	6	6
Escherichia coli		4	6	8	6	4	6	8	6	6
Candida albicans		10	10	6	6	4	-	-	-	-
Bacillus cereus		12	6	-	-	-	-	-	-	-
Pseudomonas aeruginosa ATCC 27859		-	-	-	-	-	6	6	6	6
Salmonella enteridis		12	10	10	8	8	10	8	8	8
Streptococcus pyogenes		-	-	-	-	-	-	-	-	-

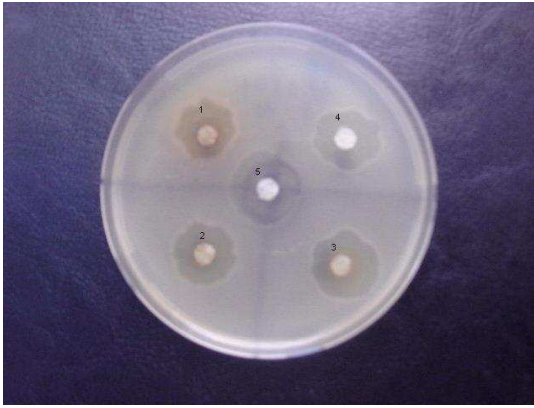
- zon oluşmadı (maddeye duyarsız)



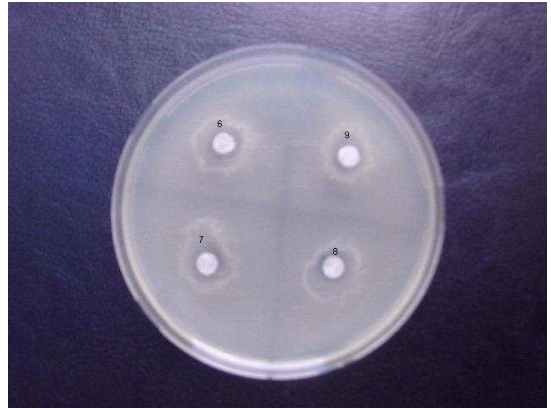
Sekil 4.23. *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27859, *Vitex agnus castus* bitkisinin ekstraktına karşı 1/1-1/16 konsantrasyonlarında oluşturduğu zonların görünüşü.



Sekil 4.24. *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27859, *Vitex agnus castus* bitkisinin ekstraktına karşı 1/32-1/256 konsantrasyonlarında oluşturduğu zonların görünüşü.



Sekil 4.25. *Proteus vulgaris*, *Vitex agnus castus* bitkisinin ekstraktına karşı 1/1-1/16 konsantrasyonlarında oluşturduğu zonların görünüşü.



Sekil 4.26. *Proteus vulgaris* *Vitex agnus castus* bitkisinin ekstraktına karşı 1/32-1/256 konsantrasyonlarında oluşturduğu zonların görünüşü.



Sekil 4.27. *Bacillus subtilis*, *Vitex agnus castus* bitkisinin ekstraktına karşı 1/1-1/16 konsantrasyonlarında oluşturduğu zonların görünüşü.



Sekil 4.28. *Bacillus subtilis* *Vitex agnus castus* bitkisinin ekstraktına karşı 1/32-1/256 konsantrasyonlarında oluşturduğu zonların görünüşü.

Tablo 4.6. Methanol'un MIC değerleri

Bakteri türleri	Dilüsyonlar							
	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256
Staphylococcus aureus	+	+	+	+	+	+	+	+
Proteus vulgaris	+	+	+	+	+	+	+	+
Bacillus subtilis	+	+	+	+	+	+	+	+
Pseudomonas aeruginosa ATCC 9027	+	+	+	+	+	+	+	+
Enterococcus faecalis	+	+	+	+	+	+	+	+
Candida utilis	+	+	+	+	+	+	+	+
Escherichia coli	+	+	+	+	+	+	+	+
Candida albicans	+	+	+	+	+	+	+	+
Bacillus cereus	+	+	+	+	+	+	+	+
Pseudomonas aeruginosa ATCC 27859	+	+	+	+	+	+	+	+
Salmonella enteridis	+	+	+	+	+	+	+	+
Streptococcus pyogenes	+	+	+	+	+	+	+	+

+ üreme var

- üreme yok

Tablo 4.7.Antibiyotiğin (azitromisin) MIC değerleri

Bakteri türleri	Dilüsyonlar							
	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256
Staphylococcus aureus	-	-	-	-	-	-	-	-
Proteus vulgaris	+	+	+	+	+	+	+	+
Bacillus subtilis	+	+	+	+	+	+	+	+
Pseudomonas aeruginosa ATCC 9027	-	-	+	+	+	+	+	+
Enterococcus faecalis	-	-	-	+	+	+	+	+
Candida utilis	+	+	+	+	+	+	+	+
Escherichia coli	+	+	+	+	+	+	+	+
Candida albicans	+	+	+	+	+	+	+	+
Bacillus cereus	+	+	+	+	+	+	+	+
Pseudomonas aeruginosa ATCC 27859	-	-	+	+	+	+	+	+
Salmonella enteridis	+	+	+	+	+	+	+	+
Streptococcus pyogenes	-	+	+	+	+	+	+	+

+ üreme var

- üreme yok

Tablo 4.8. *Hedera helix* bitkisinin metanol ekstrakt'ının MIC değerleri

Bakteri türleri	Dilüsyonlar							
	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	-	+	+	+	+
<i>Proteus vulgaris</i>	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Bacillus subtilis</i>	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Enterococcus faecalis</i>	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Candida utilis</i>	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Escherichia coli</i>	-	+	+	+	+	+	+	+
<i>Candida albicans</i>	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Bacillus cereus</i>	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27859	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Salmonella enteridis</i>	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Streptococcus pyogenes</i>	+	+	+	+	+	+	+	+

+ üreme var

- üreme yok

Tablo 4.9. *Cuscuta monogyna* bitkisinin metanol ekstrakt'ının MIC değerleri

Bakteri türleri	Dilüsyonlar							
	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Proteus vulgaris</i>	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Bacillus subtilis</i>	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Enterococcus faecalis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Candida utilis</i>	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-	-	+	+	+
<i>Candida albicans</i>	-	-	-	-	-	-	+	+
<i>Bacillus cereus</i>	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27859	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Salmonella enteridis</i>	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Streptococcus pyogenes</i>	+	+	+	+	+	+	+	+

+ üreme var

- üreme yok

Tablo 4.10. *Vitex agnus castus* bitkisinin metanol ekstrakt'ının MIC değerleri

Bakteri t�rleri	Dil�syonlar							
	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Proteus vulgaris</i>	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Bacillus subtilis</i>	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Enterococcus faecalis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Candida utilis</i>	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Candida albicans</i>	-	-	-	-	+	+	+	+
<i>Bacillus cereus</i>	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27859	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Salmonella enteridis</i>	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>Streptococcus pyogenes</i>	+	+	+	+	+	+	+	+

+ üreme var

- Üreme yok

4.2. Funguslar  zerinde Yapılan Deneylerinin Sonuçları

Bu çalışmaların ikinci önemli kısmı 3 tane bitki ekstraktlarının funguslar üzerinde denenmesidir ve bu deneylerde metanol'un ve antifungal ilacın kontrol olarak denemesi yapıldı. Metanol'un funguslara karşı veya onların üremesine hiç etkili olmadı. (Tablo 4.11.)

Tablo 4.11. Funguslarda metanol'un minimal inhibisyon zonlarının ölçümleri (mm)

Fungus türleri	Dilüsyonlar								
	1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256
<i>Penicillium sp. purpurogenum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Aspergillus terricola</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Trichothecium roseum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Aspergillus sp.</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Alternaria alternata</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Ulocladium sp.atrum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Aspergillus sp. flavus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Aspergillus niger</i> ATCC 16404	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Cladosporium sp.</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Penicillium sp. verrucosum var. cyclopium</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-

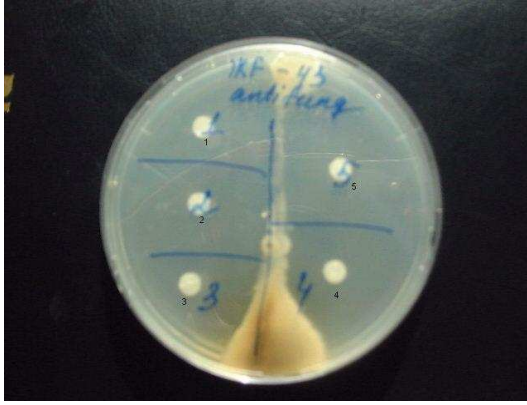
- zon oluşmadı (maddeye duyarsız)

Antifungalın denemesinde çok iyi sonuçlar ortaya çıktı. Sonuçları tablo 4.12. ve şekillerde 4.29.-4.38. verilmiştir. Fungusların birçoğu deneyde kullandığımız antifungal ilaca karşı duyarlı oldukları tespit edilmiştir. En duyarlı *Ulocladium sp.atrum* 1/256 konsantrasyona kadar duyarlılar (Şekil 4.31.,4.32.). *Aspergillus niger* ATCC 16404 1/64 konsantrasyona kadar duyarlıdır. *Aspergillus sp. flavus* 1/32 konsantrasyona kadar duyarlı (Şekil 4.33., 4.34.). *Aspergillus terricola*, *Trichothecium roseum*, *Alternaria alternata*, *Cladosporium sp.* (Şekil 4.29., 4.30.), ve *Penicillium sp. verrucosum var. cyclopium* 1/16 konsantrasyona kadar duyarlıdır. *Aspergillus sp* sadece 1/4 konsantrasyona kadar duyarlı. *Penicillium sp. purpurogenum* denemede kullanılan antifungala karşı duyarsızdır (şekil 4.35-4.38.). Şekilde 4.35. 1/1-1/16 konsantrasyonda zon oluşmadığını görüyoruz, buna karşılık antifungalın etkisi düşük derecede görüyoruz 1/1, 1/2 ve 1/4 yoğun olan konsantrasyonda üreme hızını yavaşlattı ve 1/32-1/256 konsantrasyonda antifungalın etkisi gözlemlenmedi (Şekil 4.38).

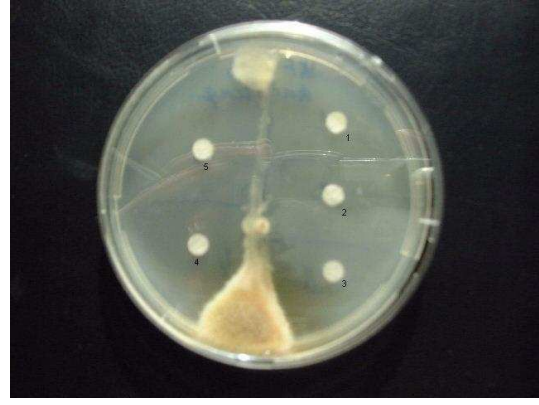
Tablo 4.12. Funguslarda Antifungal'ın (siklopiroksolamin) minimal inhibisyon zonlarının ölçümleri (mm)

Fungus türleri		Dilüsyonlar								
		1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256
Penicillium sp. purpurogenum	Zon çapları (mm)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Aspergillus terricola		50	40	30	20	20	-	-	-	-
Trichothecium roseum		34	30	28	24	24	-	-	-	-
Aspergillus sp.		28	28	18	-	-	-	-	-	-
Alternaria alternata		38	38	34	12	10	-	-	-	-
Ulocladium sp. atrum		30	30	30	30	30	24	24	20	20
Aspergillus sp. flavus		28	26	24	10	16	10	-	-	-
Aspergillus niger ATCC 16404		32	32	32	22	22	14	12	-	-
Cladosporium sp.		40	36	32	26	30	-	-	-	-
Penicillium sp. verrucosum var. cyclopium		40	36	28	24	10	-	-	-	-

- zon oluşmadı (maddeye duyarsız)



Şekil 4.29. *Cladosporium* sp., antifungala (siklopiroksolamin) karşı 1/1-1/16 konsantrasyonlarında oluşturduğu zonların petri kabının arka kısmından görünüşü.



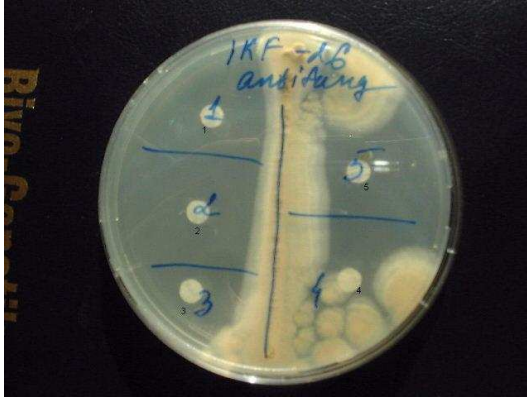
Şekil 4.30. *Cladosporium* sp., antifungala (siklopiroksolamin) karşı 1/1-1/16 konsantrasyonlarında oluşturduğu zonların petri kabın ön kısmından görünüşü.



Şekil 4.31. *Ulocladium* sp.atrum, antifungala (siklopiroksolamin) karşı 1/1-1/16 konsantrasyonlarında oluşturduğu zonların petri kabının arka kısmından görünüşü.



Şekil 4.32. *Ulocladium* sp.atrum, antifungala (siklopiroksolamin) karşı 1/1-1/16 konsantrasyonlarında oluşturduğu zonların petri kabın ön kısmından görünüşü.



Şekil 4.33. *Aspergillus sp. flavus*, antifungala (siklopiroksolamin) karşı 1/1-1/16 konsantrasyonlarında oluşturduğu zonların petri kabının arka kısmından görünüşü.



Şekil 4.34. *Aspergillus sp. flavus*, antifungala (siklopiroksolamin) karşı 1/1-1/16 konsantrasyonlarında oluşturduğu zonların petri kabın ön kısmından görünüşü.



Şekil 4.35. *Penicillium sp. purpurogenum*, antifungala (siklopiroksolamin) karşı 1/1-1/16 konsantrasyonlarında oluşturduğu zonların petri kabının arka kısmından görünüşü.



Şekil 4. 36. *Penicillium sp. purpurogenum*, antifungala (siklopiroksolamin) karşı 1/1-1/16 konsantrasyonlarında oluşturduğu zonların petri kabın ön kısmından görünüşü.



Şekil 4. 37. *Penicillium sp. purpurogenum*, antifungala (siklopiroksolamin) karşı 1/32-1/256 konsantrasyonlarında oluşturduğu zonların petri kabın arka kısmından görünüşü.



Şekil 4.38. *Penicillium sp. purpurogenum*, antifungala (siklopiroksolamin) karşı 1/32-1/256 konsantrasyonlarında oluşturduğu zonların petri kabın ön kısmından görünüşü.

Hedera helix'ın metanol ekstraktının funguslar üzerinde etkisiz olduğu tespit edildi (Tablo 4.13. ve şekil 4.39, 4.40).

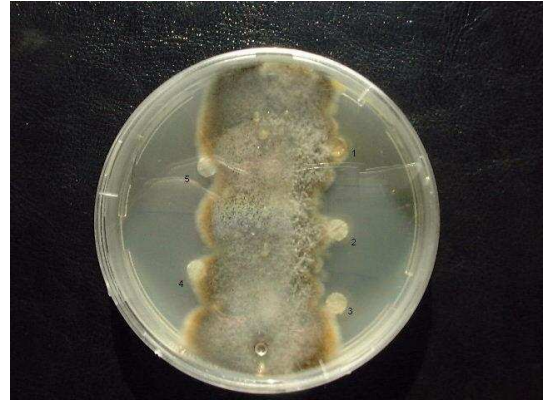
Tablo 4.13. Funguslarda *Hedera helix* bitkisinin metanol ekstraktının minimal inhibisyon zonlarının ölçümleri (mm)

Fungus türleri		Dilüsyonlar								
		1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256
Penicillium sp. purpurogenum	Zon çapları (mm)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Aspergillus terricola		-	-	-	-	-	-	-	-	-
Trichothecium roseum		-	-	-	-	-	-	-	-	-
Aspergillus sp.		-	-	-	-	-	-	-	-	-
Alternaria alternata		-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ulocladium sp.atrum		-	-	-	-	-	-	-	-	-
Aspergillus sp. flavus		-	-	-	-	-	-	-	-	-
Aspergillus niger ATCC 16404		-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cladosporium sp.		-	-	-	-	-	-	-	-	-
Penicillium sp.verrucosum var. cyclopium		-	-	-	-	-	-	-	-	-

- zon oluşmadı (maddeye duyarsız)



Sekil 4.39. *Ulocladium sp.atrum*, *Hedera helix* bitkisinin ekstraktına karşı 1/1-1/16 konsantrasyonlarında oluşturduğu zonların petri kabın arka kısmından görünüşü.



Sekil 4.40. *Ulocladium sp.atrum*, *Hedera helix* bitkisinin ekstraktına karşı 1/1-1/16 konsantrasyonlarında oluşturduğu zonların petri kabın ön kısmından görünüşü.

Cuscuta monogyna bitkinin metanol ekstrakt'ın funguslar üzerinde etkisiz olduğu tespit edildi. Sonuçları tablo 4.14 verilmektedir.

Tablo 4.14. Funguslarda *Cuscuta monogyna* bitkisinin metanol ekstaktının minimal inhibisyon zonlarının ölçümleri (mm)

Fungus türleri		Dilüsyonlar								
		1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256
Penicillium sp. purpurogenum	Zon çapları (mm)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Aspergillus terricola		-	-	-	-	-	-	-	-	-
Trichothecium roseum		-	-	-	-	-	-	-	-	-
Aspergillus sp.		-	-	-	-	-	-	-	-	-
Alternaria alternata		-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ulocladium sp.atrum		-	-	-	-	-	-	-	-	-
Aspergillus sp. flavus		-	-	-	-	-	-	-	-	-
Aspergillus niger ATCC 16404		-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cladosporium sp.		-	-	-	-	-	-	-	-	-
Penicillium sp.verrucosum var. cyclopium		-	-	-	-	-	-	-	-	-

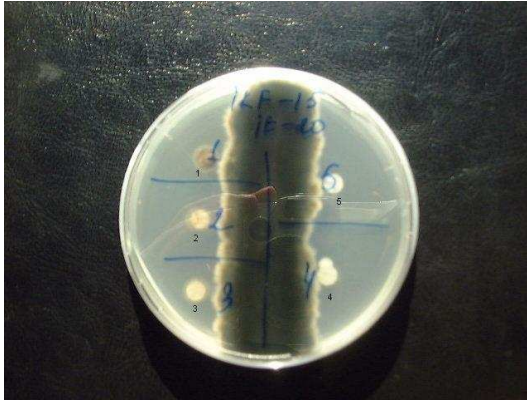
- zon oluşmadı (maddeye duyarsız)

Vitex agnus castus methanol ekstraktının funguslar üzerinde etkisiz olduğu tespit edildi (Tablo 4.15 ve şekil 4.41, 4.42).

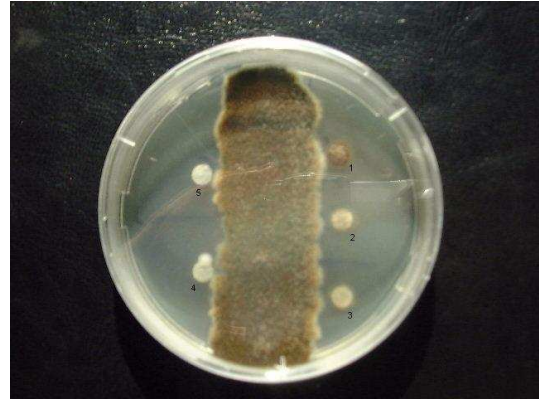
Tablo 4.15. Funguslarda *Vitex agnus castus* bitkisinin methanol ekstraktının minimal inhibisyon zonlarının ölçümleri (mm)

Fungus türleri		Dilüsyonlar								
		1/1	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256
Penicillium sp. purpurogenum	Zon çapları (mm)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Aspergillus terricola		-	-	-	-	-	-	-	-	-
Trichothecium roseum		-	-	-	-	-	-	-	-	-
Aspergillus sp.		-	-	-	-	-	-	-	-	-
Alternaria alternata		-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ulocladium sp. atrum		-	-	-	-	-	-	-	-	-
Aspergillus sp. flavus		-	-	-	-	-	-	-	-	-
Aspergillus niger ATCC 16404		-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cladosporium sp.		-	-	-	-	-	-	-	-	-
Penicillium sp. verrucosum var. cyclopium		-	-	-	-	-	-	-	-	-

- zon oluşmadı (maddeye duyarsız)



Sekil 4. 41. *Ulocladium sp. atrum*, *Vitex agnus castus* bitkisinin ekstraktına karşı 1/1-1/16 konsantrasyonlarında oluşturduğu zonların petri kabın arka kısmından görünüşü.



Sekil 4.42. *Ulocladium sp. atrum*, *Vitex agnus castus* bitkisinin ekstraktına karşı 1/1-1/16 konsantrasyonlarında oluşturduğu zonların petri kabın ön kısmından görünüşü..

5. TARTIŞMALAR

Literatür bilgilerine göre *Hedera helix* bitkisi'nin antifungal (Timon-David et al, 1980; Julien et al, 1985). ve antibakteriyel (Zuzuk et al, 2002) özelliği vardır. *Vitex agnus castus* bitkisinin antifungal özelliğinin olduğu literatürlerde görülmektedir (Baytop, 1984; Honda et al, 1996). Fakat *Cuscuta monogyna* bu üç bitki arasında en az araştırılmış bir bitkidir ve bu bitkinin özellikleri hakkında çok fazla bilgiye rastlanmamıştır.

Bizim çalışmalarımız ise bu üç bitkinin yaprak, gövde ve çiçekleri alınıp metanol ile ekstrakte edildikten sonra invitro ortamda bazı gram (+) pozitif, gram (-) negatif ve bazı funguslar üzerinde antifungal ve antibakteriyel özelliğinin olup olmadığını araştırıldı.

Kontrol amacı ile hazırlamış olduğumuz metanol'un farklı konsantrasyonlarının denemesinde bakterilerin ürediği görülmüştür. Methanol kontrolü yapmamızın nedeni bakteriler üzerindeki olan etkisinin ekstraktan mı yoksa metanol'den mi olup olmadığını anlamak içindir. Antibiyotik ve antifungal'ın denemesinin amacı denemelerde alınan sonuçları karşılaştırmak içindir.

Hedera helix'ın denemelerinde alınan sonuçlara göre *S. aureus* 1/16 konsantrasyona kadar etkisinin olduğu görüldü. A.J.Calabrese'e göre *Hedera helix* içinde olan saponin çok yüksek derecede antibakteriyel özellikleri sahiptir. Hederin 4 µg/ml konsantrasyonunda *Staphylococcus aureus* ve *Streptococcus pneumoniae* bakterilerinin büyümesine engel olmaktadır (Zuzuk et al, 2002). Fakat bizim çalışmamızda kullandığımız bitki metanol ekstrakt saf halinde olmadığı için 104 µg/ml konsantrasyonda *Staphylococcus aureus* bakterisinin büyümesine engel olduğu görülmüştür.

Cuscuta monogyna bitkisinin metanol ekstrakt'ının denemesinde *S. aureus*, *P.aeruginosa* ATCC 9027, *E. fecalis* türleri üzerinde 1/256 konsantrasyonuna kadar hiç bir üreme görülmedi. *C. albicans*'ta 1/64 ve *E .coli*'de 1/32 konsantrasyona kadar hiç bir bakteriyel üreme görülmediği gözlemlendi. Diğer bakterilere karşı bu ekstrakt'ın antibakteriyel özelliğinin olmadığı gösterildi.

Vitex agnus castus bitkisinin metanol ekstrakt'ının antibakteriyel özelliğinin araştırmasında ortaya çıkan sonuçlara göre *S. aureus*, *P. aeruginosa* ATCC 9027, *E. fecalis*, *E. coli* 1/256 konsantrasyonuna kadar herhangi bakteriyel üreme gözlenmedi. *C. albicans*'ta 1/16 konsantrasyona kadar üreme görülmedi. Diğer bakterilere karşı etkili olmadığı tespit edildi.

Bu üç bitkinin metanol ekstrakt'ının funguslara karşı 1/1'den ve 1/256 konsantrasyona kadar hiç etkili olmadığı ortaya konulmuştur.

Şahin ve ark. araştırmacılarının yaptığı deney sonucunda *Satureja hortensis*'in metanol ekstraktı farklı bakteriler üzerinde 300 µg madde içeren disklerde yapılan denemelerde *B. subtilis* 8-12 mm, *E. coli* 6-8 mm zon oluşturduğu ortaya konulmuştur. Bu çalışmada *B. cereus*, *P. vulgaris*, *P. aeruginosa* *S. aureus* *St. pyogenes*, bakterilerinde *Satureja hortensis* bitkisinin etkisi görünmemiştir. Bu bitkinin metanol ekstrakt'ının funguslar üzerinde denemesinde *C.albicans*, *A. alternata*, *A. flavus* ve *Penicillium* türler arasında sadece *C.albicans*'ta 7-9 mm zon oluşturduğu gözlenmiştir. Bu çalışmada MIC değerleri *B. subtilis*'ta 31.25-125 µg/ml, *E.coli*'de 250-500 µg/ml ve *C.albicans*' ta 125 250 µg/ml sonuçlarına ulaşılmıştır (Şahin ve ark., 2003).

Juniperus oxycedrus bitkisinin metanol ekstrakt'ının bakteriler üzerinde yapılan denemelerde disklerle 300 µg madde konulmuştur. Denemelerin ortaya çıkan sonucunda *B. cereus* 13 mm, *B.subtilis* 9-17 mm, *E.coli* 9 mm, *P. aeruginosa* 10-15 mm, *S. aureus* 8-11 mm çapında zon oluşturduğu gözlemlendi. *St. pyogenes*'te bu bitkinin ekstrakt'ının etkisi olmadığı ortaya çıktı. *Juniperus oxycedrus* bitkisi metanol ekstrakt'ının funguslar üzerinde yapılan denemesinde *C.albicans*, *A. alternata*, *A. flavus* ve *Penicillium* türler arasında sadece *C.albicans*'ta 7-15 mm zon oluşturduğu gözlenmiştir. Bu deneylerde MIC değerleri *B.cereus* 250 µg/ml, *B.subtilis*'ta 31.25 µg/ml, *E.coli*'de 250 µg/ml, *P. aeruginosa* 125 µg/ml, *S. aureus* 250µg/ml ve *C.albicans*' ta 31.25 µg/ml sonuçlarına ulaşılmıştır (Karaman ve ark., 2003).

Bizim yaptığımız deney sonuçlarına göre, bir diskte 300 µg *Hedera helix* bitki ekstraktı bulunduğunda *S. aureus* 4 mm, *P. aeruginosa* ATCC 9027 6 mm, *E. fecalis* 2 mm, *C. utilis* 10 mm, *E.coli* 6 mm, *C. albicans* 8 mm zon oluşturmaktadır. *Cuscuta*

monogyna bitkisi metanol ekstrakt'ının denemesinde diskte 300 µg madde konsantrasyonunda *S. aureus* 6 mm, *P. aeruginosa* ATCC 9027 4 mm, *E. fecalis* 4 mm, *C. utilis* 12 mm, *E.coli* 6 mmlik zon oluşturmaktadır. *Vitex agnus castus* bitkisi metanol ekstrakt'ının denemesinde *P. vulgaris* 10 mm, *B. subtilis* 14 mm, *C. utilis* 4 mm, *E.coli* 7 mm, *C. albicans* 6 mm, *S. enteridis* 9 mm zon oluşur. *Hedera helix*, *Cuscuta monogyna* ve *Vitex agnus castus* bitkilerinin metanol ekstraktları Gram negatif bakterilere karşı Gram pozitif bakterilere göre daha etkili olduğu ortaya çıkmıştır.

Bu sonuçlara göre, *Hedera helix*, *Cuscuta monogyna* ve *Vitex agnus castus* bitkilerinin metanol ekstraktlarının denemelerde kullanılan mikroorganizmalara karşı bu alanda yapılan çalışmalarda kullanılan bitkilere göre oldukça etkili olduğu gözlemlenmiştir.

6. SONUÇLAR

Hedera helix, *Cuscuta monogyna* ve *Vitex agnus castus* bitkilerinin metanol ekstraktlarının antibakteriyel ve antifungal özelliklerinin olup olmadığı çalışma esasını teşkil etmektedir. Bunun için gram pozitif bakterilerden *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Enterococcus faecalis*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, ve gram negatif olan *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Salmonella enteridis*, *Candida utilis*, *Candida albicans* bakteri türleri ve *Penicillium sp. purpurogenum*, *Aspergillus terricola*, *Trichothecium roseum*, *Aspergillus sp.*, *Alternaria alternata*, *Ulocladium sp. atrum*, *Aspergillus sp. flavus*, *Aspergillus niger* ATCC 16404, *Cladosporium sp.*, *Penicillium sp. verrucosum* var. *cyclopium* fungus türleri üzerinde denemeler yapıldı. Denemelerden ortaya çıkan sonuçlar bulgular bölümünde verilmiştir.

Hedera helix bitkisinin metanol ekstraktının antibakteriyel özelliğinin araştırılmasında 12 tane farklı bakteri türü kullanıldı. Bu türler üzerinde yapılan denemelerden ortaya çıkan sonuçlara göre ekstraktın etkisi sadece *S.aureus* 1/16 konsantrasyona kadar olduğu belirlendi. Diğer bakteri türlerinin üzerinde etkisinin olmadığı anlaşılmıştır.

Cuscuta monogyna bitkisinin metanol ekstraktının denemesinde *Hedera helix*'ın ekstraktına göre daha etkili olduğunu gösterdi. *S.aureus*, *Ps.aeruginosa* ATCC 9027, *E.faecalis* türleri üzerinde 1/256 konsantrasyonuna kadar hiç bir üreme görülmedi. *C.albicans*'ta 1/64 ve *E.coli*'de 1/32 konsantrasyona kadar hiç bir bakteriyel üreme görülmediği gözlemlendi. Diğer bakterilere karşı bu ekstraktın antibakteriyel özelliğinin olmadığı gösterildi.

Vitex agnus castus için durum *Cuscuta monogyna*'dan farklı değildir. Yaklaşık olarak aynı sonuçlar elde edildi. *Vitex agnus castus* bitkisinin metanol ekstraktının antibakteriyel özelliğinin araştırılmasında ortaya çıkan sonuçlara göre *S. aureus*, *Ps. aeruginosa* ATCC 9027, *E. faecalis*, *E. coli* 1/256 konsantrasyonuna kadar herhangi bakteriyel üreme gözlenmedi. *C. albicans*'ta 1/16 konsantrasyona kadar üreme görülmedi. Diğer bakterilere karşı etkili olmadığı ortaya konulmuştur.

Bu üç bitkinin metanol ekstrakt'ının funguslara karşı 1/1'den ve 1/256'ya kadar olan konsantrasyonlarda yapılan denemelerde hiçbir etkisinin olmadığı, antifungal kontrolünde ortaya konulmuştur.

Bu çalışmadan ortaya çıkan sonuca göre *Hedera helix* bitkisinin metanol ekstrakt'ının antibakteriyel özelliği sadece *S. aureus* üzerinde gözlemlendi. *Cuscuta monogyna* ve *Vitex agnus castus* bitkilerinin metanol ekstrakt'ının antibakteriyel etkisi aynı tür bakterilere karşı *Hedera helix*'in ekstraktına göre daha fazla etkilerinin olduğu gözlemlendi. Denemelerin neticesinde elde edilen sonuçlara dayanarak bu üç ekstrakt'ın genel olarak antibakteriyel özelliğinin olduğu tesbit edildi. Bu çalışmada kullanılan fungus türleri üzerinde deneylerde alınan sonuçlara göre *Hedera helix*, *Cuscuta monogyna* ve *Vitex agnus castus* bitkilerinin metanol ekstraktlarının antifungal özelliğinin olmadığı ortaya konuldu.

KAYNAKLAR

1. ANAİSSİE, E. J., BODEY, G. P., and RINALDI, M. G., Emerging fungal pathogens, *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 8: 323-330, 1989.
2. ANG, Ö., Ağız Mikrobiyolojisi. İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Tıp Kitabevi, 126, 1990.
3. ARDA, M., Özel Mikrobiyoloji. Epidemiyoloji, Bakteriyel ve Mikotik enfeksiyonlar, Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara Medisan Yayınevi, 324-326, 1997.
4. BALANSARD, G., TİMÖN-DAVİD, P., JULİEN, J. etc., Douvicidal and antifungal activities of α -hederin extracted from *Hedera helix* L. Leaves. *J. Planta Med.*, Vol. 39(3): 234-238, 1980.
5. BAYTOP, T., Therapy with Medicinal Plants (Past and Present). İstanbul University Publications, İstanbul, 252, 1984.
6. BEDİR, E., KIRMIZİPEKMEZ, H., STİCHER, O., ÇALIŞ, İ., Triterpene saponins from the fruits of *Hedera helix*, *J. Phytochemistry*, 53, 905, 1999.
7. BEŞE, M. Mikrobiyolojide kullanılan antibiyotik duyarlılık ve deneme yöntemleri. İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kardeşler basımevi, 1989
8. BOCKLİSCH, H. and OTTO, B., Mycotic diseases in fish. *Mycoses*, 43: 76-78, 2000.
9. CHENG, N.C., WONG, W. W., FUNG, C. P. and LIU, C. Y., Unusual pulmonary manifestations of disseminated *Penicillium marneffe* infection in three AIDS patients, *Med Mycol.*, 36: 429-432, 1998.
10. COLLIER, L., BALOWS, A. and SUSSMAN, M., Topley & wilson's Microbiology and Microbial Infections, 9th ed, vol. 4, Arnold, London, Sydney, Auckland, New York, 1998.
11. COŞGUN, A. ve ULAŞ, M. M., Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları, 278, 1999.

12. DAVIS, P.H., Flora of Turkey and the East Aegean Islands, Vol. 4. Edinburgh Univ. Pres, 1972.
13. De HOOG, G. S., GUARRO, J., GENE, J. and FIGUERAS M. J., Atlas of Clinical Fungi, 2nd ed, vol.1. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht, The Netherlands, 2000.
14. De HOOG, G. S., QUEIROZ-TELLES, F., HAASE, G., FERNANDEZ-ZEPPENFELDT, G., ANGELIS, D.A., A. van den ENDE, MATOS, T., PELTROCHE-LLACSAHUANGA, H., PIZZIRANI-KLEINER, A. A., RAINER, J., RICHARD-YEGRES, N., VICENTE, V. and YEGRES, F., Black fungi: clinical and pathogenic approaches, *Med Mycol*, 38: 243-250, 2000.
15. DEL POETA, M., SCHELL, W. A. and PERFECT, J. R., In vitro antifungal activity of pneumocandin L-743, 872 against a variety of clinically important molds, *Antimicrob. Agents Chemother*, 41: 1835-1836, 1997.
16. DESHPANDE, S. D., and KOPPIKAR, A study of mycotic keratitis in Mumbai, *Indian J. Pathol Microbiol.*, 42: 81-87, 1999.
17. DIAZ, M., PUENTE, R. and TREVINO, M. A., Response of long-running *Alternaria alternata* infection to fluconazole, *Lancet.*, 336: 513, 1990.
18. DIXON, D.M. and POLAK-WYSS, A., The medically important dematiaceous fungi and their identification, *Mycoses*, 34: 1-18, 1991.
19. DÖKMECİ, İ., Toksikoloji. Akut Zehirlenmelerde Tanı ve Tedavi. 2. baskı. Trakya Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Farmakolojik Anabilim Dalı, Nobel Tıp Kıtavleri, 421, 458, 1994.
20. GARAU, J., DIAMOND, R. D., LAGROTTERIA, L. B., and KABINS, S. A., *Alternaria osteomyelitis* [letter], *Ann. Intern. Med.*, 86: 747-748, 1977.
21. Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları ; Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü, 2000.
22. HIROBE, C., QIAO, Z-S., TAKEYA, K., ITOKAWA, H, Cytotoxic flavonoids from *Vitex agnus castus*. *J. Phytochemistry*, vol 46(3): 521, 1997.

23. HONDA, G., YEŞİLADA, E., TABATA, M., SEZİK, E., FUJİTA, T., TAKEDA, Y., TAKAİSHİ, Y., TANAKA, T, Traditional medicine in Turkey VI. Folk medicine in West Anatolia: Afyon, Kütahya, Denizli, Muğla, Aydın provinces. Journal of Ethnopharmacology 53, 75-87, 1996.
24. JULIEN, J., GASQUET, M., MAILLARD, C., TIMON-DAVID, P., Extracts of the ivy plant, *Hedera helix* and their anthelmintic activity on liver flukes, J. Planta Med, 3, 205, 1985.
25. *Juniperus Oxycedrus*'un kuru Gövdesinden Elde Edilen Extract'ın Antibakteriyel Özelliğinin Araştırılması./ İsa Karaman, Yüksek Lisans tezi. Gebze. 1997
26. KALAYCIOĞLU, A., ÖNER, C., Bazı Bitki ekstraktlarının antimutajenik etkilerinin Ames- Salmonella test Sistemi ile Araştırılması, Tr. J. Botany, 18, 117-122, 1994.
27. KARAMAN, I., ŞAHİN, F., GÜLLÜCE, M., ÖĞÜTÇÜ, H., ŞENGÜL, M. ve ADIGÜZEL, A., Antimicrobial activity of aqueous and methanol extracts of *Juniperus oxycedrus* L. J. Ethnopharmacology, 85, 232, 2003.
28. KAYA, S., PİRİNÇİ, İ., TRAŞ, B., BİLGİLİ, A., BAYDAN, E., AKAR, F., DOĞAN, A., Veteriner Hekimliğinde Toksikoloji, Medisan yayınevi, Tıbbi Alet, İlaç, Kimyasal mad., Gıda Sanayi İç ve Dış Ticaret Ltd.Şti., 191, 1998.
29. KILIÇTURGAY, K., Klinik Mikrobiyoloji, Bursa Güneş ve Nobel Tıp Kitabevleri, 1994.
30. KURUÜZÜM-UZ, A., STRÖCH, K., DEMİREZER, L.Ö., ZEECK, A., Glucosides from *Vitex agnus-castus*. J. Phytochemistry, 63, 959-964, 2003.
31. LARONE, D. H., Medically Important Fungi – A Guide to Identification, 3rd ed. ASM Pres, Washington, D.C., 1995.
32. Lİ, S.-H., ZHANG, H.-J., QIU, S.-H., NIU, X.-M., SANTARSİERO, B.D., MESECAR, A.D., FONG, H.H.S., FARNSWORTH, N.R., SUN, H.-D., Vitexlactam A, a novel labdane diterpene lactam from the fruits of *Vitex agnus-castus*. J. Tetrahedron Letters, 43, 5131, 2002.

33. LİN, J., OPOKU, A.R., GEHEEB-KELLER, M., HUTCHINGS, A.D., TERBLANCHE, S.E., JAGER, A.K., van STADEN, J., Preliminary screening of some traditional Zulu medicinal plants for anti-inflammatory and anti-microbial activities, *J. Of Ethnopharmacology*, 68, 267-274, 1999.
34. MAJESTER-SAVORNİN, B., ELÍAS, R., DÍAZ-LANZA, A. M., BALANSARD, G., GASQUET, M., DELMAS, F., Saponins of the ivy plant, *Hedera helix*, and their leishmanicidal activity. *J. Planta Med.*, 57(3): 260-262, 1991.
35. MARGINEANY, C., CUCU, V., The saponins of *Hedera helix* with antibacterial activity, *J. Pharmazie*, 33(9): 609-610, 1978.
36. MATARACI. T. Ağaçlar. Marmara bölgesi doğal egzotik ağaç ve çalıları. Türkiye Erozyonla Mücadele Ağaçlandırma ve Doğal Varlıkları Koruma Vakfı Yayınları No: 39, 170, 354, 2002.
37. ÖNER, M., Mikoloji, Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Kitaplar Serisi №53, 117, 1980.
38. PITT, J. L., BASILICO, J.C., ABARCA, M.L. and LOPEZ, C., Mycotoxins and toxigenic fungi, *J. Med Mycol.*, 38: 41-46, 2000.
39. PRITCHARD, R.C. and MUIR, D.B., Black fungi: a survey of dematiaceous hyphomycetes from clinical specimens identified over a five year period in a reference laboratory, *Pathology*, 19: 281-284, 1987.
40. PUJOL, I. C., AGUILAR, J., GENE, J. and GUARRO, J., In vitro antifungal susceptibility of *Alternaria* spp. and *Ulocladium* spp., *J. Antimicrob Chemother.* 46: 337-338, 2000.
41. RIMEK, D., ZIMMERMANN, T., HARTMANN M., PRARIYACHATIGUL, C. and KAPPE, R., Disseminated *Penicillium marneffei* infection in an HIV- positive female from Thailand in Germany, *Mycoses*, 42: 25-28, 1999.
42. ŞAHİN, F., KARAMAN, İ., GÜLLÜCE, M., ÖĞÜTÇÜ, H., ŞENGÜL, M., ADIGÜZEL, A., ÖZTÜRK, S., KOTAN, R. 2003. Evaluation of antimicrobial activities of *Satureja hortensis* L. *J. Ethnopharmacology*, 87, 61-65, 2003.
43. SEÇMEN Ö., Tohumlu Bitkiler sistematigi. Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Kitaplar serisi No: 116, 1986.

44. STESYUK, O. Y., RESHED'KO, G. K., RYABKOVA E. L., Siprofloksasin i norfloksasin: opredelenie chuvstvitelnosti disko-diffuzionnm metodom. J. Klinicheskaya mikrobiologiya ve antimikrobnaya himioterapiya, 1(1):92-100, 1999.
45. ST-GERMAIN, G. and SUMMERBELL, R., Identifying Filamentous Fungi – A Clinical Laboratory Handbook, Ist ed. Star Publishing Company, Belmont, California, 1996.
46. SUTTON, D. A., FOTHERGILL A.W. and RINALDI M.G., Guide to Clinically Significant Fungi, Ist ed. Williams & Wilkins, Baltimore, 1998.
47. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Ders Notlar 1994-1995. Hacettepe.Taş Kitapçılık Ltd. Şti,17-18, 20-21,59-60, 1995.
48. TİMÖN-DAVİD, P., JULIEN, J., GASQUET, M., etc. Recherche d'une activite antifongique de plusieurs principes actifs: Extraits du Lierre grimpant: Hedera helix L. J. Ann pharm. Franc, 38(6): 545-547, 1980.
49. USTAÇELEBİ, Ş., Temel ve Klinik Mikrobiyoloji, Hacettepe Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, 1108-1109, 1999.
50. ZEYBEK, N., ve ZEYBEK, U., Farmasötik botanik, Kapalı Tohumlu Bitkiler (Angiospermae) Sistematiği ve önemli Maddeleri, Ege Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi Yayınları No:2, 268, 361,1994.
51. ZUZUK, B.M., KUSİK, R.V., ZUZUK, L.İ, Plyush v'yushiysya. Hedera helix L., J. Provizor, 11-12, 25-30, 2002.
53. <http://www.biomeks.com/agnucaston1.htm#>

ÖZGEÇMİŞ

2 ocak 1977 tarihinde Rusya Federasyonuna bağı Hakas Özerk cumhuriyetinin başkenti Abakan şehrinde doğmuştur. 1 Eylül 1984 yılında KATANOV ismindeki 11 senelik Hakas Devlet düz lisesinde lise eğitimini tamamlamıştır. 25 Mayıs 1994'te aynı liseden mezun olmuştur. Aynı yılda Hakas Devlet Üniversitesi, Biyoloji ve Kimya Fakültesinin öğretmenlik Bölümü kazanmıştır. Mezun olduktan sonra aynı Üniversitede Psikoloji ve Pedagoji fakültesinde Araştırma görevlisi olarak çalışmaya başlamıştır. Ekim 2000 tarihinde Gebze Yüksek Teknoloji Enstitüsü Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Yüksek Lisans Sınavını kazanmıştır. Aynı üniversitede Yüksek Lisans eğitimine devam etmektedir.