

**BAZI *CISTUS SPP.*'LERİN PATOJEN MİKROORGANİZMALAR
ÜZERİNDEKİ ANTİBİYOFİLM ETKİNLİĞİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Cihat BİLECEN

Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Sevgi ULUKÜTÜK

2. Danışman: Prof. Dr. Sevim Feyza ERDOĞMUŞ

Tez No:2022-037

Afyonkarahisar

AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

MEDİKAL BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**BAZI *CISTUS SPP.*'LERİN PATOJEN MİKROORGANİZMALAR
ÜZERİNDEKİ ANTİBİYOFİLM ETKİNLİĞİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Hazırlayan

Cihat BİLECEN

Danışman

Dr. Öğr. Üyesi Sevgi ULUKÜTÜK

2. Danışman

Prof. Dr. Sevim Feyza ERDOĞMUŞ

Tez No:2022-037

BİLİMSEL ETİK BİLDİRİMİ

Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Bilimsel Yayın Etiği İlkeleri ve Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- Atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- Bu tezin herhangi bir bölümünü Afyon Kocatepe Üniversitesi veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı,

beyan ederim.

...../...../.....

İmza

Cihat BİLECEN

ÖZET

BAZI *CISTUS SPP.*'LERİN PATOJEN MİKROORGANİZMALAR ÜZERİNDEKİ ANTİBİYOFİLM ETKİNLİĞİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Ülkemiz üç farklı coğrafi bölgenin kesişme noktasında yer alan jeopolitik konumu ile çok sayıda bitki gen kaynağına ev sahipliği yapmaktadır. Çok eski zamanlardan günümüze beslenme, kozmetik amaçlarının yanında hastalıkları tedavi veya hastalıklardan korunmak amacıyla tıbbi ve aromatik bitkilerin kullanıldığı yapılan arkeoloji çalışmaları ile gün yüzüne çıkmıştır. Enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde antibiyotiklerden yararlanılmaktadır fakat antibiyotiklerin bilinçsiz ve aşırı kullanımları mikroorganizmalarda antibiyotik direnci gelişmesine sebep olmaktadır. Antibiyotik direnci tüm dünyada önemli bir problem haline gelmiştir, bilim insanları sürekli yeni alternatifler keşfetmek durumunda kalmıştır. Bakterilerin antibiyotiklere karşı direnç kazanmalarında biyofilm oluşturma yetenekleri enfeksiyon hastalıklarının tedavisini daha zor hale getirmektedir. Ayrıca sentetik ilaçların yan etkilerinin fazla olması sebebiyle yeni ilaç hammaddesi aranması ve geliştirilmesi amacıyla tıbbi ve aromatik bitkilere olan ilgi giderek artmaktadır. Bu nedenle çok sayıda biyoaktif bileşeni yapısında bulunduran tıbbi ve aromatik bitkilerin antimikrobiyal ve antibiyofilm etkilerinin araştırılması, alternatif antimikrobiyal maddelerin keşfedilmesi oldukça önemli hale gelmiştir. Bu çalışmada, tıbbi öneme sahip bazı *Cistus spp.*'lerinin biyofilm oluşturan patojen bakterilerin üzerine antibiyofilm etkisi ilk kez araştırıldı. Araştırma sonucuna göre çalışmaya dahil edilen biyofilm oluşturan patojen test mikroorganizmalarına karşı *Cistus Salviifolius*, *Cistus Creticus*, *Cistus Laurifolius* bitkilerinin su ekstraktlarının farklı konsantrasyonlarda, farklı miktarda antibiyofilm etkisi gösterdiği görüldü. Bu nedenle, kullanılan bitkilerin tedavi amaçlı yeni ilaçların keşfi için potansiyel bir aday olabileceği düşünüldü. Ayrıca antimikrobiyal bileşiklerin izole edilmesi ve aktivite mekanizmasının belirlenebilmesi adına daha fazla araştırma yapılmasının gerekliliği görüldü.

Anahtar Kelimeler: Antibiyofilm, biyofilm, *Cistus spp.*, patojen mikroorganizmalar

SUMMARY

EVALUATION OF ANTIBIOFILM ACTIVITY OF SOME *CISTUS SPP.* ON PATHOGENIC MICROORGANISMS

Our country is home to many plant gene resources with its geopolitical location at the intersection of three different geographical regions. Medicinal and aromatic plants have been used for nutritional and cosmetic purposes from the beginning of our history, as well as for traditional treatment against diseases. Antibiotics are used in the treatment of infectious diseases, but unconscious and excessive use of antibiotics causes antibiotic resistance in microorganisms. Antibiotic resistance has become an important problem all over the world, scientists have constantly had to explore new alternatives. The ability of bacteria to form biofilms in their resistance to antibiotics makes the treatment of infectious diseases more difficult. In addition, due to the high side effects of synthetic drugs, the interest in medicinal and aromatic plants is increasing in order to search and develop new pharmaceutical raw materials. For this reason, it has become very important to investigate the antimicrobial and antibiofilm effects of medicinal and aromatic plants, which contain many bioactive components, and to discover alternative antimicrobial substances. In this study, the antibiofilm effect of some medically important *Cistus spp.* on biofilm-forming pathogenic bacteria was investigated for the first time. According to the results of the research, it was observed that the water extracts of *Cistus salviifolius*, *Cistus creticus*, and *Cistus laurifolius* plants, in different concentrations, showed different amounts of antibiofilm effects against the biofilm-forming test microorganisms included in the study. For this reason, it was thought that the plants used could be a potential candidate for the discovery of new drugs for therapeutic purposes. In addition, it has been seen that more research is required to isolate antimicrobial compounds and to determine the mechanism of activity.

Keywords: Antibiofilm, biofilm, *Cistus spp.*, pathogenic microorganisms

ÖNSÖZ

Öncelikle ülkemizin ve dünyanın pandemi döneminden geçtiği bu günlerde bu zor ve meşakkatli tez yazma serüvenimi noktalamış olmanın verdiği gurur ve mutlulukla, bana bu serüvende yardımlarını esirgemeyen her tökezlememde elimden tutan, sadece bu tez serüvenimde değil hayatımın her anında yanımda olarak beni dünyanın en mutlu adamı yapan yüksek lisans eğitimimin bana en büyük hediyesi biricik eşim Pelin GEZER BİLECEN' e ve dünyaya gelmesiyle bizi tamamlayarak bize yeni bir amaç veren biricik kızım Doğa Bilge BİLECEN' e ne kadar yetersiz kalacak olsa da tüm kalbimle teşekkür ediyorum.

Bu çalışmamda bana tecrübesi ve bilgi birikimiyle ile yol gösteren saygıdeğer danışman hocam *Dr. Öğr. Üyesi Sevgi ULUKÜTÜK*' e, çalışmamda bana yön gösteren, destek ve emeklerini benden esirgemeyen çok kıymetli ikinci danışmanım *Prof. Dr. Feyza ERDOĞMUŞ* ' a, yüksek lisans eğitimim boyunca bilgileriyle bana ışık tutan ve değerli vakitlerini bana ayıran bölümümün değerli hocaları *Prof. Dr. Cevdet UĞUZ*, *Prof. Dr. Metin ERDOĞAN*, *Prof. Dr. Mine AKBULUT*, *Dr. Öğr. Üyesi Ömer Faruk LENGER*' e teşekkürlerimi sunarım. Medikal Biyoloji ve Genetik yüksek lisans öğrencisi Pelin GEZER BİLECEN' e ve Şuhut Sağlık Hizmetleri MYO *Öğr. Grv. Özlem ERDAL ALTINTAŞ* 'a laboratuvar çalışmalarındaki yardımlarından dolayı en içten teşekkürlerimi sunarım. Tez çalışmamda finansal destek ve katkısı olan Afyon Kocatepe Üniversitesi BAP Koordinasyon Birimine teşekkür ederim.

Ayrıca beni büyütüp bu yaşıma getiren maddi manevi desteklerini benden esirgemeyen sevgili annem Nursel BİLECEN ve değerli babam İbrahim BİLECEN' e sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum. Genetik ve duygusal olarak en yakın akrabalarım olan sevgili kardeşlerim Saniye Nur BİLECEN, Hale BİLECEN ve Hakan BİLECEN' e tüm kalbimle teşekkür ederim.

Cihat BİLECEN

Afyonkarahisar

2022

İÇİNDEKİLER

TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI	HATA! YER İŞARETİ TANIMLANMAMIŞ.
BİLİMSEL ETİK BİLDİRİMİ	İ
ÖZET	İ
SUMMARY	İİ
ÖNSÖZ	İİİ
İÇİNDEKİLER.....	İV
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VII
TABLOLAR DİZİNİ.....	VIII
RESİMLER DİZİNİ.....	IX
1.GİRİŞ.....	1
1.1 Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Kullanım Alanları	1
1.2 Çalışma kapsamında kullanılan bitkiler.....	3
1.2.1 Cistacea	3
1.3 Patojen mikroorganizmalar ve antibiyotik direnci.....	8
1.3.1. Patojen Mikroorganizmalar	8
1.3.2 Bazı Patojen Mikroorganizmalar ve Genel Özellikleri	8
1.3.3 Antibiyotik Direnci	12
1.4 Biyofilmin Yapısı ve Oluşumu.....	13
1.4.1 Mikroorganizmanın Yüzeğe Tutunması:.....	14
1.4.2 Yapışma:	15

1.4.3 Kolonizasyon:	15
1.4.4 Olgun Biyofilm:	16
1.4.5 Kopma:	16
2. MATERYAL VE METOT	18
2.1. Materyal	18
2.1.1.Çalışma Kapsamında Kullanılan Bitki Örneklerinin Hazırlanması.....	18
2.1.2. Çalışmada Kullanılan Patojen Test Mikroorganizmalar	18
2.1.3.Çalışmada kullanılan cihazlar	19
2.1.4.Patojen Test Mikroorganizmalarının Biyofilm Oluşumunun Değerlendirilmesi	19
2.1.5. Kongo Kırmızılı Agar Yöntemi (Kalitatif Yöntem).....	19
2.1.6. Mikrotitrasyon Plağı Yöntemi (Kantitatif Yöntem)	20
2.1.7.Patojen Test Mikroorganizmalarının Ekzopolisakkarit Üretimlerinin İncelenmesi	20
2.1.8.Bitki Ekstrelerinin Antibiyofilm Etkisinin Belirlenmesi.....	21
2.1.9 Biyofilm Oluşumunun Ortadan Kaldırılması	22
3. BULGULAR	23
3.1. Patojen Test Mikroorganizmalarının Biyofilm Oluşumunun Belirlenmesi	23
3.2. Patojen Test Mikroorganizmalarının EPS Üretimini Tespiti.....	25
3.3. Biyofilm Oluşumunun İnhibisyonu	26
3.4. Biyofilm Oluşumunun Ortadan Kaldırılması	33
4. TARTIŞMA.....	40
5.SONUÇ VE ÖNERİLER	42
6.KAYNAKÇA.....	46
7.EKLER	HATA! YER İŞARETİ TANIMLANMAMIŞ.
8.ÖZGEÇMİŞ	HATA! YER İŞARETİ TANIMLANMAMIŞ.

SİMGELER VE KISALTMALAR

BCB	Bitkiler Coğrafyası Bölgesi
Cc-dH ₂ O	<i>Cistus creticus</i> su ekstresi
Cl-dH ₂ O	<i>Cistus laurifolius</i> su ekstresi
Cs-dH ₂ O	<i>Cistus salviifolius</i> su ekstresi
EPS	Ekzopolisakkarit
M.Ö.	Milattan Önce
MBEK	Minimum biyofilm eradikasyon konsantrasyonu
Mg	Miligram
MİK	Minimum İnhibasyon Konsantrasyonları
ml	Mililitre
NB	Nutrient Broth
nm	Nanometre
rpm	Dönme hızı
<i>SPP.</i>	Türleri
Vd	Ve diğerleri
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
µl	Mikrolitre

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1	Biyofilm oluşum basamakları	15
Şekil 3.1	Glikoz standart eğrisi	26
Şekil 3.2	Cl-dH ₂ O Özütünün Biyofilm İnhibisyonu	31
Şekil 3.3	Cs-dH ₂ O Özütünün Biyofilm İnhibisyonu	31
Şekil 3.4	Cc-dH ₂ O Özütünün Biyofilm İnhibisyonu	32
Şekil 3.5	Pozitif kontroller tarafından patojen test mikroorganizmalarının biyofilm inhibisyonu	32
Şekil 3.6	Cl-dH ₂ O Biyofilm Eradikasyonu	37
Şekil 3.7	Cs-dH ₂ O Biyofilm Eradikasyonu	38
Şekil 3.8	Pozitif Kontrol grubu Biyofilm Eradikasyonu	38
Şekil 3.9	CC-dH ₂ O Biyofilm Eradikasyonu	39

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 2.1	Çalışmamızda kullanılan cihazlar	19
Tablo 3.1	Mikroorganizmaların biyofilm oluşturma yetenekleri	24
Tablo 3.2	Patojen test mikroorganizmaların EPS üretimi	25
Tablo 3.3	Bitki ekstraktları patojen bakteriler üzerinde biyofilm oluşumunu inhibe etme absorbans değerleri ve % inhibisyon değerleri	27
Tablo 3.4	Pozitif kontrol biyofilm inhibe etkisi	30
Tablo 3.5	Bitki ekstraktları patojen bakteriler üzerinde biyofilm oluşumunu yok etme absorbans değerleri ve % inhibisyon değerleri	33
Tablo 5.1	Çalışmada elde edilen verilere göre en etkili olduğu düşünülen sonuçlar	42
Tablo 5.2	Çalışma verilerine göre ekstraktların ve farklı konsantrasyonların etkileri	43
Tablo 5.3	Çalışma verilerine göre ekstraktların tüm biyofilm tabakası oluşturan patojenler üzerine etkileri	43

RESİMLER DİZİNİ

Resim 3.1 <i>K. pneumoniae</i> NRRLB 4420 kongo agar yöntemi ile Biyofilm oluşumu	23
Resim 3.2 <i>B. subtilis</i> NRS 744go agar yöntemi ile biyofilm oluşumu	24

1.GİRİŞ

1.1 Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Kullanım Alanları

Tüm canlılar doğa da kendine ait bir düzende denge içindedir. Bitkilerle insanlığın ilişkisi insanlığın var oluşundan itibaren başlamıştır ve doğa da bulunan bütün bitkiler insanlığın kullanımını için uygundur (Gezgin, 2006). İlk çağlardan kalan ve günümüzde keşifleri yapılan arkeolojik bulgulara göre insanlar, beslenmek ve hastalıklarıyla baş edebilmek için ilk olarak bitkilerden yararlanmışlardır (Koçyiğit, 2005). Tıbbi ve aromatik bitkiler geleneksel halk hekimliğinde binlerce yıldır sağlık hizmetlerinin mühim temelleridir. Dünya üzerinde 250 000-500 000 olduğu düşünülen bitki türlerinin ortalama 21 000 türünün tıbbi amaçlı kullanım için uygun olduğu bildirilmektedir (Başaran, 2012). Nüfusun büyük çoğunluğu Dünya Sağlık Örgütü (WHO) kayıtlarına hastalıklardan korunmak veya kurtulmak amacıyla “geleneksel tıp”tan yarar sağlamıştır. Dünya Sağlık Örgütü Bitkisel ilaçları; bitkisel karışımları, olduğu gibi veya farklı bitkilerin karışımları halinde, etkili kısım olarak etiketlenmiş ürünler olarak açıklamaktadır (Ersöz, 2010). M.Ö 5000 yıllarından günümüzde elde edilen kayıtlara göre bitkisel ilaç olarak düşünülebilecek ilk droglar Mezopotamya uygarlığında rastlanmıştır ve 250 adet kadar olduğu bildirilmiştir (Demirezer, 2010). Coğrafyamız da iklim ve ekolojik koşullarda bölgeler arası farklılıklar bulunması, üç farklı Bitki Coğrafya Bölgesi bulundurması, farklı toprak tiplerine sahip olması, farklı yükseltilerde yer yüzü şekilleri bakımından çeşitli ekosistemlere sahip olması, yaşanan buzul döneminden daha az etkilenmiş olmasından kaynaklanmakta olduğu bilinmektedir (Anonim, 2007). Birçok uygarlığın yaşamış olduğu Anadolu’da, farklı birçok bitkinin varlığı ile beslenen kültürel zenginlik günümüze kadar ulaşmıştır. Farklı bitkilerin tedavi edici özellikleri deneyimlenerek fark edilmiş ve daha sonra yeni kuşaklara aktarılan bilgi birikimleri yapılan etnobotanik çalışmalarla ortaya konulmaktadır (Alpınar, 2010). Ülkemizde yapılan çalışmalarda Kayseri yakınlarında Kültepe’de bulunan M.Ö 1974-1719 yıllarına ait kil tabletlerde adı geçen üç bitki dikkat çekmiştir, bu bitkiler kimyon, kişniş ve bir kekik türüdür (Sabuncuo, 2011). M.Ö. 1700-1200 yıllarından Hititlere ait olduğu, 60 adet çivi yazısının bulunduğu Boğazköy metinlerinde iyileştirme amaçlı kullanıldığı düşünülen bazı bitkilerin ismi geçmektedir bu bitkiler haşhaş, defne, Mekke pelesengi, Mersin ağacı, şeytanterisi, kenevir,

köknar, safran, ardiç, itüzümü, kekik, buhur ağacı, fıstık çamı tohumu, diş otu, hardal, beyaz aksırık otu, sütleğen, adamotu, gül, banotu, rezene, teke boynuzu yoncası, sedefotu, ılgın ağacı, söğüt, meyankökü, kamaş, nane, çördükotu/origanum, eğir otu, üzerlik, çöven, dereotu, kimyon, kişniş, sedefotu, sinirliot olarak aktarılmıştır (Ertem, 1987). Adı geçen bitkilerden çoğunluğu günümüze kadar ilaç olarak kullanılmaya devam edilmiştir. Hastalık tedavileri dışında bu bitkiler günümüzde farklı kullanım alanları (fitoterapi, eczacılık, gıda, baharat, kozmetik, boya, ziraat) ile de öne çıkmaktadır. (Hakverdi ve Yiğit, 2017). Bitkisel ilaçların işlenmemiş, işlenmiş ve herbal (şifalı ot) ürünleri olarak üç çeşidi mevcuttur. Farklı bir çok alanda kullanılan bu bitki türleri familyalarına, kullanılan organlarına, içeriğinde bulunan etken maddelerine, tüketimine, kullanımına ve farmakolojik etkilerine göre gruplara ayrılabilir (Gül, 2014). 1930-1940' lı yıllarda sentetik ilaçların üretimindeki artışın yanında 20. yy. başında yaşanan sosyo-politik olaylar, teknolojik gelişmeler de tıbbi aromatik bitkilerin yetiştirilmesi ve kullanımının azalmasına yol açmıştır. 70' li yılların ortalarına doğru bitkisel ilaç kullanım oranı % 5' lerin altına inmiştir. Sonraki süreçte ise yıllar geçtikçe insanların sağlık alanında bilgilerinin artması, sentetik ürünlerin temelini oluşturan kimyasalların olumsuz etkilerinin zamanla ortaya çıkması ve bu etkilerden korunmak istemeleri, doğal ve organik ürünlere olan merak ve buna bağlı taleplerin artışı tıbbi bitkilere olan ilgide artışa sebep olmuştur. Bu yeni gelişmelerin etkisiyle gelişmiş ülkeler bitkilerle tedavi konusunu güncel bir bakış açısı ile tekrar ele almış ve çalışmalara başlamıştır. Bitkisel tedavi uygulamaları, tüm dünyayla beraber ülkemizde de, tedavisi zor veya tedavisi bulunmayan hastalıkların iyileştirilmesinde rolü olduğu düşünölmüş ve bu konuda çalışmalar yapılmaya başlanmıştır. Bazıları kendiliğinden yetişip doğadan toplanabilen tıbbi ve aromatik bitkilerin bazı türlerinin tarımı da diğer ülkeler de olduğu gibi ülkemizde de yapılmaktadır. Ekonomik olarak ülkemizde aktarlarda bu bitkilerin ortalama 200 türünün oluşturduğu bir pazar bulunmaktadır. Ülkemizde kendiliğinden yetişip doğadan temin edilerek ihraç edilen 100 bitki türünün olduğu bilinmektedir. Teknolojik yeni gelişmeler ve alt yapılar ile tıbbi aromatik bitkiler kültüre alınmaya başlanmış, üretimleri desteklenmiş kullanıma sunulmuştur. Zaman içinde gelişen bu alan son yıllarda kozmetik firmalarının ürünlerinin bitki içerikli ürünlere çevirmesi, artan obezite sorununa, zamanla yaş almaya bağlı yaşanan diğer problemler dahil bir

çok konuda tıbbi bitkilerden yararlanılmaya başlanmasıyla daha büyük bir pazar haline gelmiştir. Tıbbi aromatik bitkilerin kullanım alanları arttıkça farklı alanlarda kullanılabilişliği araştırılmaya başlanmış ve önemi de hızla artmaya devam etmektedir (Bayram vd, 2010). Tadlandırma, temizlik maddeleri ve koku verme gibi farklı alanlarda da kullanımı hızla artmıştır.

Geleneksel tıp, şifalı bitkilerin kullanımına dayalı olarak gelişmiş, tıbbi ve aromatik bitkilerin farklı farmakolojik özellikleriyle görevli sekonder metabolitlerin araştırılmasına dönüşmüştür (Ghorbanpour vd. 2017, Ganaie 2021, Fierascu vd. 2021, Ben- Bakrim vd. 2022). Günümüzde yaşanan teknolojik gelişmelerin etkileriyle bitkilerin doğru kullanım alanlarının belirlenmesi, içeriğinde bulunan etken maddelerin öğrenilmesi ve ilaç haline getirilmesi ihtiyaç haline gelmiştir (Şener, 2010).

Günümüzde uzayan insan ömrü etkisi son yıllarda bireylerde görülme sıklığı artmış olan başta kanser, diyabet, viral enfeksiyonlar olmak üzere kardiyovasküler hastalıklar, nörodejeneratif bozukluklar dahil pek çok hastalıktan korunabilmek, tedavilerinde, hastalık süreçleri ve hastalık sonrası takip edilen süreçte bireylerin yaşam kalitesini yükseltmek için bitkisel iyileştirme yöntemleri günümüzde yükselen bir ivme kazanmıştır (Baytop, 1999, Sekeroglu ve Gezici, 2020). Özellikle ülkemiz ve Dünyayı 2020 yılı başından bugüne etkisi altına almış olan Corona virüs salgını sürecinde de tıbbi bitkiler ile viral enfeksiyonların tedavileri konusunda tıbbi bitkilerle yapılan çalışmalar hız kazanmıştır.

1.2 Çalışma kapsamında kullanılan bitkiler

1.2.1 Cistacea

Ladengiller (*Cistaceae*) familyası genellikle Akdeniz iklim kuşağında varlık gösteren maki vejetasyonunda yetişen, yarı çalı veya otsu bitkilerden oluşan bir bitki ailesidir. Bu familya Dünya genelinde dokuz cins ve yaklaşık 200-250 kadar bitki türünden oluşmuştur. En sık karşılaşılan cinsler; *Helianthemum*, *Halimium*, *Fumara*, *Tuberaria* ve *Cistus* cinsleridir (Ustun vd. 2016, Yeşilada vd. 1999). Bu cinslerden önemlilerinden olan *Cistus* (laden) cinsine ait bitki türlerinin kökenleri Güney Avrupa ile Kuzey Afrika'dır. Halk arasında Kaya gülü olarak anılıp, Akdeniz iklim kuşağının kiremitli ve taşlı açık alanlarında karşılaşırlar. Her mevsim yeşil ya da kısmen yeşil olarak

karışımına çıkan laden türleri çok yıllık veya çalimsı formdadır. Dünya’ da yaklaşık 50 farklı türü olduğu bilinen *Cistus* cinsinin boyu 30 ile 100 cm arasında, yapışkan yapraklı, beyaz, pembe ve koyu pembe renkli çiçekleri olan, basit tüylü ve yapışkan yapraklara sahip olan bitkilerdir. (Politeo vd. 2018, Bown 2004, Yeşilada ve Gürbüz. 1999). Pamucak, Tavşancıl, Karahan ve Karağan adlarıyla bilinen ladenin ülkemizin kıyı bölgelerinde, farklı beş türü (*Cistus creticus*, *Cistus parviflorus*, *Cistus salvifolius*, *Cistus monspeliensis* ve *Cistus laurifolius*) kendiliğinden yetişmektedir.

Bitkinin faydalanılan kısımları yaprakları, oleoresin ve uçucu yağdır. Oleoresin maddesinin elde edildiği türler; *Cistus albiflorus*, *Cistus creticus*, *Cistus ladanifer* ve *Cistus maculatus*’ dir. Kokusu ve kalıcılığı ile tanınan parfümlerin üretiminde kullanılan ve balinalardan elde edilen “ambergris” maddesinin bitkilerden sağlanabilen tek muadilidir. Bu maddenin eldesi bitkilerin yapraklı dallarının suda kaynatılması ve dibe çökelti oluşturan oleorezinin toplanması ile sağlanmaktadır. Ticari olarak Fransa ve İspanya’da üretilen cistus uçucu yağı da bu maddeden üretilmektedir (Bown 2004).

Türkiye’de fumigant olarak kullanıldığı belirtilen bitkinin parfümler dışında farklı gıda maddelerinde özellikle unlu mamuller, alkolsüz içecekler, dondurma ve şekerler de aroma verici olarak kullanılırlar (Bown 2004).

Laden türleri ülkemizde geleneksel tedavi yöntemi olarak birçok farklı amaçla kullanıldığı bilinmektedir, *C. laurifolius* türünün infüzyonu (%2) ülkemizin farklı şehirlerinde şeker hastalığında kullanılmaktadır (Baytop 1999, Davis 1988 , TUBİVES 2020). *Cistus* cinsine ait farklı türlerin egzama, pişik, besin alerjilerinin sebep olduğu deri döküntüleri, ağız içi, mide-bağırsak, deri ve tırnak mantarlarında antifungal etkilerinin olduğu geçmişte yapılan farklı çalışmalar ve halk içinde kullanımları ile bilinmektedir. Örneğin; Artvin dolaylarında laden yaprakları dâhili olarak hemoroid tedavisinde (Gürhan ve Ezer, 2004) *C. laurifolius*’un çiçek ve tomurcuklarının dekoksasyonu Afyon çevresinde antiülser olarak (Yeşilada vd, 1999); Eğirdir (Isparta) çevresinde *C. laurifolius* antiromatizmal olarak, meyveleri ise antidiyabetik olarak kullanılmaktadır (Güvenç vd, 2005). Cinsel gücü artırıcı ve cinsel isteksizliği giderici etkilerinin yanında sabun yapımında da kullanılmaktadır. Yan etkilerini göz önünde bulundurulduğunda uzun süreli ve kontrolsüz kullanımlarda uykusuzluğa sebep olması,

baş ağrılarını tetiklediği bildirilmiştir. Solunum yolları şikayetleri için çay olarak kullanıldığında şikayetlerin azaldığı ve öksürüğe iyi geldiği de bildirilmiştir.

Farklı *Cistus* türleri ile yapılan çalışmalar da farklı miktarlarda faydalı fitokimyasal maddeler barındırması nedeniyle güçlü antioksidan, antibakteriyel, antifungal, antiinflamatuvar, antiviral, sitotoksik ve antikanser etkilere sahip olduğunu göstermiştir (Stępień vd, 2018). Ülkemizde kendiliğinden yetişen *C. Creticus* bitkisinin yüksek fenolik ve flavonoid madde içermesi nedeniyle kuvvetli antibakteriyel, antioksidan ve DNA koruyucu özelliklerinin bulunduğu yapılan çalışmaların sonuçlarında bildirilmiştir (Kilic vd, 2019).

Fenolik bileşim ve antimikrobiyal aktivitelerin araştırıldığı bir çalışma da İtalya'nın Sardunya kentinde yetişen farklı *C. creticus L.* alt türleri çalışılmıştır. Çalışmada bitki türlerinin ekstre taze hava kısımları asitleştirilmiş metanol kullanılarak hazırlanmıştır. Ekstre içindeki polifenoller HPLC ile tanımlanarak, antimikrobiyal aktiviteler analizlerle, agar makrodilüsyon yöntemi kullanılarak MİK değerlerine göre belirlenmiştir. Türlerin bazıları farklılıklar gösterse de 52 fenolik bileşik tespit edilmiştir, çalışma sırasında bu türlerden elde edilen ekstrelerin ise antimikrobiyal etkileri arasında kesin bir fark görülmemiş, *Cistus* özütlerine karşı bakterilerin duyarlılıklarını göz önüne alındığında Grampozitif bakterilerin, Gram-negatif bakterilere göre daha duyarlı olduğu sonucuna varılmıştır (Mastino 2018).

Cistus ile yeşil çayın kıyaslandığı çalışmada, bitkilerin ekstraları polifenoller bakımından zengin ve bu fitokimyasallar sayesinde yüksek antibakteriyel, antifungal ve antiinflamatuvar etkilere sahip oldukları belirtilmektedir. Türkiye'de kendiliğinden yetişen *Cistus* türleri olan *C. Creticus L.*, *C. Laurifolius L.*, *C. monspeliensis L.*, *C. parviflorus L.* ve *C. salviifolius L.*'un yapraklarından kurutularak hazırlanan farklı çözücülerle hazırlanmış ekstralarının farklı mikroorganizma türlerine karşı etkileri çalışılmış ve *Cistus* ekstralarının çalışmaya dahil edilen mikroorganizmalardan *P. aeruginosa* ve *C. albicans* dışında incelenen diğer mikroorganizmalara karşı etkilerinin varlığı saptanmıştır (Güvenç vd, 2005). *C. laurifolius* bitkisinin etanol ve etanolün hekzan, kloroform, bütanol, su ekstralarının in vitro biyoaktivitelerinin

araştırıldığı farklı bir çalışmanın sonucunda, çalışmada kullanılan ekstrelerin minimal inhibisyon konsantrasyonu (MİK) 32 µg/mL’de gram negatif *E. coli*, *P. mirabilis*, *K. Pneumoniae* ve *A. Baumannii* bakterilerinin üzerinde güçlü antimikrobiyal aktivite göstererek, hekzan ekstresinin Parainfluenza-3 (PI-3) virüsüne karşı antiviral etki (32–8 µg/mL sitopatojenik etki) gösterdiği sonucuna varılmıştır (Ustun vd, 2016).

Yunanistan’da endemik olan yetişen *C. creticus* L. türünün çalışıldığı farklı bir çalışma da arı polenin serbest radikal süpürme etkinliklerinin saptanması amaçlanmış ve kimyasal bileşimlerinin belirlenmesi hedeflenmiştir. Kimyasal analizlere tabi tutulan özütlerin de quercetin-7-ramnoside (1), quercetin-3- neohesperidoside (2), kaempferol-3-neohesperidoside (3), myricetin-3-neohesperidoside (4), kaempferol-3-glukozit (5) ve quercetin-3-glukozit (6) izole edilmiş ve içerdikleri fenolik ve flavonoid maddeler sayesinde serbest radikal süpürme kapasitelerinde varlığı çalışma sonucunda bildirilmiştir.

Rauwald ve ark. Lyme hastalığına neden olan *Borrelia burgdorferi*’ye karşı *C. creticus* L. bitkisinin anti-Borrelia aktiviteyesahip olup olmadığının saptanması amacıyla bir çalışma gerçekleştirmişlerdir. Çalışmada bitki türünün fitokimyasal olarak bileşiminde var olan manoiloksit (A), 3-asetoksi-manoyloksit (B), 3 - hidroksi-manoyloksit (C), epi - manoyloksitin (D) 2-keto-manoiloksit (E) ve sklareol (F) izole edilmiş ve izole edilen maddelerin etkileri kontrol edilmiştir. Çalışma sonucunda içerdiği etken maddelerin güçlü antibakteriler etkileri olduğu hastalığın tedavisinde kullanımı için güçlü bir aday olduğu görülmüştür (Rebaya vd, 2016).

Antimikrobiyal ve antifungal etkilerinin varlığı bakımından uçucu yağların ve ham ekstraktların incelenmesinden sonra, bitkide bulunan labdan diterpenler (manyol oksit ve 13 pi epi-manoil oksit) ve diterpenoidlerin çalışmaya dahil edilen bakterilerden *Klebsiella pneumonia*, *Staphylococcus aureus* ve *S. epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosae*, *Enterobacter cloaceae*, *Escherichia coli*’ye karşı antibakteriyel etki, *Candida albicans*, *C. glabrata*, *Saccharomyces cerevisiae* mantar suşlarına karşı antifungal etkileri olduğu bildirilmiştir.

Cistus türlerinden *C. salviifolius* L. ve *C. monspeliensis* L. bitkilerinin yeşil yapraklarından ve bitkinin çiçeklerinden edinilmiş ekstrelerin antimikrobiyal aktiviteleri

araştırıldığı farklı bir çalışma ise Tunus'ta gerçekleştirilmiştir. Özütlere, Grampozitif bakteriler olan *L.monocytogenes*, *B.subtilis* ve *S.aureus*, Gram-negatif bakteriler *S. enteric*, *P. aeruginosa* ve *E. coli*, ve patojenik mantarlar (*C.albicans* ve *A. Niger*) üzerinde antibakteriyel ve antifungal etkilerinin varlığı disk difüzyon yöntemi ile tahlil edilmiştir. Çalışma da kullanılan türler arasında diğer türlere göre daha güçlü antibakteriyel etki gösterdiği görülen *C. salviifolius* L. bitkisinin çalışma da standart olarak dahil edilen antibiyotik mikroorganizma gelişimini engellemek için kullanılan gentamisin'le karşılaştırıldığı daha yüksek oranda engelleme potansiyelinin varlığı tespit edilmiştir. *C. albicans* mantarına karşı da yüksek antifungal etkiye sahip olduğu çalışma sonucu açığa çıkmıştır (Rebaya vd, 2016). *C. Salviifolius* L. bitki türünün etanol, bütanol, etil asetat, diklorometan ve su ekstraktlarının Rebaya ve ark. tarafından toplam polifenolik madde içeriğinin belirlenmesi ve antioksidan kapasitesinin ortaya konulması amacıyla yapılan farklı bir çalışmanın sonucunda su özütlerinin yüksek fenolik, flavanoid ve proantosiyanidin içeriğe sahip olduğu görülürken, su ve etanol özütlerinin antioksidan kapasitelerinin en güçlü olduğu bildirilken, çalışmaya dahil edilen tüm ekstraktlarının güçlü antioksidan etkiye sahip olduğu çalışma sonucunda görülmüştür. Yapılan başka bir çalışma da ele alınan Cezayir'de yetişen *C. salviifolius* L. bitkisinin uçucu yağı çalışılmış, test edilen gram pozitif ve gram negatif bakterilerine antimikrobiyal aktivitesinin varlığı çalışma sonucunda bildirilmiştir (Nadjet vd, 2020).

Hiperglisemi tedavisi için umut vaat eden bitki türlerinin var olduğunun tespit edilmesi ile sonuçlanan diğer bir çalışma da *C. salviifolius* L. ve *C. monspeliensis* L. türleri tercih edilmiş ve bitkilerden elde edilen özütlerin antioksidan etkileri, mineral ve fenolik madde içerikleri belirlenerek, diyabet hastalarında hiperglisemi gelişimi ile yakından ilişkili olduğu bilinen α -amilaz ve α -glukosidaz enzimlerinin çalışmasına olumsuz etkileme özelliği olup olmadığını in vitro modeller üzerinde test etmişlerdir. Mineral ve fenolik madde içeriği bakımından bitki türlerinin ikisinin de zengin olduğu görülmüştür. Elde edilen özütlerin, α -glukosidaz enziminin etkinliğini α amilaz enziminin daha fazla inhibe ettiği de çalışma sonucu bildirilmiştir (Sayah vd, 2017).

Salah vd, tarafından *Swiss* cinsi fareler ve *Wistar* cinsi ratlarda gerçekleştirilen farklı bir çalışma da *C. salviifolius L.* ve *C. monspeliensis L.* türlerinin in vivo anti-inflamatuvar ve analjezik aktivitelerinin varlığının saptanması amaçlanmış ve bitkilerin su ekstrelerinin merkezi ve periferal olarak analjezik aktivite gösterdiği ve ayrıca antienflamatuvar özelliğe sahip olduğu bildirilmiştir (Sayah vd, 2017). Bitki türlerinin içerdiği yüksek fenolik, polifenolik ve antioksidan bileşiklerin; güçlü antienflamatuvar yeteneğinde ciddi ölçüde rol oynamış olabileceğini düşünülüğünü bildirmiştir (Sayah vd, 2017). Geçmiş çalışmalarda göz önünde bulundurularak çalışmaya dahil edilen bitki türlerinin antibiyofilm üzerine etkilerinin araştırılmasına karar verilmiştir.

1.3 Patojen mikroorganizmalar ve antibiyotik direnci

1.3.1. Patojen Mikroorganizmalar

Mikroorganizmalar genel olarak tüm canlı yaşamı süresince büyük önem taşırlar. Birçok yararlı mikroorganizma gıda üretimi başta olmak üzere farklı alanlarda fayda sağlarlar. Bunların yanında zararlı başlığı altında net olarak toplanamasa da bazı mikroorganizmaların olumsuz etkilere de sahip olduğu bilinmektedir. Gıda bozulmaları, endüstriyel alanda kayıplar ve canlılarda hastalık oluşturma gibi etkileri vardır. İnsanda, hayvan ve bitkilerde hastalık oluşturan mikroorganizmalara patojen adı verilir. Bu patojen mikroorganizmaların bazıları nadiren hastalığa neden olabilirken kimileri de ileri derece patojenite özelliği göstererek enfeksiyonlara neden olurlar (Levinson ve Javetz, 2008). Bu olumsuz etkileri giderebilmek için antimikrobiyal ajanlara ihtiyaç duyulur.

1.3.2 Bazı Patojen Mikroorganizmalar ve Genel Özellikleri

Esherichia spp. nin genel özellikleri

Çubuk şeklinde gram negatif, katalaz pozitif, spor oluşturmayan, oksidaz negatif, aerobik, *Enterobacteriaceae* familyasına üye, *Esherichia coli* hareketli olan bakterilerdir. Üreme için ihtiyaç duyduğu sıcaklık 37°C' dir. Üreme sıcaklığı genel olarak 7-45°C arası sıcaklık değerleri olarak bildirilmiştir. İnsan ve hayvan bağırsak florasında karşılaşılıp, insan ve hayvanlardan dışkı yoluyla çevreye dağılıp, su ile toprağa ardından bitkisel ve hayvansal gıdalara bulaşmaktadır. Hijyen belirleyici olarak

ulusal ve uluslararası kuruluşlar tarafından belirlenmiş, bu organizmanın gıdalarda varlığı farklı patojen bakterilerin de varlığının belirleyicisi olarak kabul edilmiştir (Madigan ve Martinko, 2006).

Oluşturdukları hastalık ve serolojik değişiklikler göz önünde bulundurularak *E. coli* suşları kendi için dörde ayrılmaktadır. Kaynağı insan olup insan dışkısı ile yayılan bu suşlar; enterotoksijenik *E. coli* (ETEC), enteropatojenik *E. coli* (EPEC), enterohemorajik *E. coli* (EHEC) ve enteroinvasif *E. Coli*'dir (EIEC). Belirlenmiş hijyen kurallarını uygulamayan personel, kanalizasyon yüzünden kontamine olmuş sular aracılığıyla gıdalara bulaşabilmektedirler (Murray ve Holt, 2001).

E. coli 0157:H7 yılda dünyada 250 kişinin ölümüne ve 20.000 gıda enfeksiyonuna neden olduğu bildirilen, kanlı ishale yol açma durumu ile ayrılmış ve bu sebepten dolayı enterohemorajik *E. coli* (EHEC) olarak sınıflandırılmıştır (Kaçar, 2005). Patojen özelliği ile öne çıkmış bu tür özellikle gelişmemiş ve az gelişmiş ülkelerde gıda tüketimi nedenli hastalıklar açısından önemli bir probleme neden olduğu bilinir (Griffin ve Tauxe, 1991).

Bacillus spp. bakterilerin genel özellikleri

Tek başına veya zincir halinde bulunabilen, çubuk şekilli, aerob veya fakültatif anaerob bakterilerden meydana gelen *Bacillus spp.*, Bacillaceae familyasının bir üyesidir (Erol, 2007). Hücre duvarlarında peptidoglikan (Murein, mukopeptid, glikozaminopeptid) isimli bir heteropolimer bulundururan bu bakteriler gram pozitiflerdir. Hücre duvarında teikoik asit, polisakkarit ve bolca protein barındırır. Habitatı farklı toprak tipleri olan cins, sporları sebebiyle canlı yaşamı görülen farklı çevrelerden izole edilebilmektedirler. Geniş yayılıma sahip oldukları toprak dışında, deniz ve tatlı sularda varlık gösterebilirler. Aşırı şartlara maruz kalmasına rağmen büyüebilme kapasitesine sahip olan bazı türleri; uç pH değeri olan, asitli, üre içeren veya yüksek ısı değerinde olan ortamlardan da izole edilebilirler (Murray ve Holt, 2001).

Bacillus subtilis Unisellüler uzantılı olup zincir şeklinde gelişim gösterirler. Seyrek olarak bitki dokusunda pektin ve polisakkarit indirgermesi yaparlar, büyüme özelliği göstermek için ihtiyaç duyduğu belirli şartlar oluşmadan da minimal seviye de olsa bir gelişme gösterebildikleri bilinir. Yaygın ve dayanıklı olan endospirları hızlı gelişir, bitki

ve hayvan kaynaklı gıdaların bozulumunda farklı aşamalarda rol oynayabilirler, aerobik şartlarda asit olmayan gıdalarda gelişim gösterirler (Murray ve Holt, 2001).

Staphylococcus spp. bakterilerin genel özellikleri

Micrococcacea ailesine üye, *Staphylococcus* cinsine ait bakteriler üç boyutlu hücreler olup, gram pozitif, katalaz pozitif, 0,5-1,5 µm çapında düzenli ya da düzensiz kümeler oluştururlar, spor oluşturmayan, fakültatif anaerob mikroorganizmalardır. Katalaz üretimi yapanlar aerobik koşullarda gelişirler. Suşların çoğu 10-45°C arasındaki sıcaklıkta ve 4,2-9,3 arasındaki pH değerlerinde geliştikleri bilinir. Gelişmesi için, organik azot kaynaklarına ve B grubu vitaminlere gereksinim duyar. Suşların çoğu doğal hayvansal proteinleri hidrolize eder (Kıvık vd., 1998). Metabolizması respirasyon ve fermantasyondur. *Staphylococcus* cinsinin gıda zehirlenmelerine neden olup en yaygın tür olan *Staphylococcus aureus* havada, suda, gıdalarda, tozda, toprakta, yağmur sularında ve farklı birçok yerde bulunabilirler. 32 türünün bulunduğu *Staphylococcus* cinsinin, enterotoksin oluşturan birçok türü de vardır (Atabey, 2011). Sıcakkanlı hayvanların mukozal burun florası, derisi, gastrointestinal ve genital sistemleri *S.aureus*'un önemli kaynağı olarak sıralabilir bu kaynakların yanı sıra ciltte yaşanan yaralanma durumlarında vücudun farklı kısımlarında kolonileştiği bilinir (Jay, 1992, Murray ve Holt, 2001).

Enterococcus spp.'nin genel özellikleri

Gram pozitif, fakültatif anaerob bir kok olan *E. faecalis*, 10 ile 45 °C arasında üreme yapabilme yeteneğine sahip olup 60 °C sıcaklığa 30 dakika boyunca hayatta kalmaya devam edebilirler. *Enterokok* türleri genel olarak eleverişsiz ortamlara uyum sağlayabilirler, *E. faecalis*'de eleverişsiz koşullara kolaylıkla adapte olabilirler. Diğer mikroorganizma türlerine göre Sodyum dodesil sülfat, safra tuzları, hiperosmolarite, ısı, etanol, hidrojen peroksit (H₂O₂), asidite ve alkalitenin normal öldürücü düzeylerine daha az hassastır (Flahaut vd. 1996a, Flahaut vd. 1996b, Flahaut vd. 1996c, Siqueira ve Rocas 2004, Sedgley vd. 2006). Ultraviyole ışınına karşı da direnç gösterebilen *E. faecalis*, antibiyotiklere karşı direnç geliştirebilme ile bilinir. (Giard vd. 1996, Hartke vd. 1998). *E. faecalis*'in sorumlusu olduğu enfeksiyonlar *Enterokokların* neden olduğu

enfeksiyonların tamamının %80'nini oluşturur (Ruoff vd. 1990). Yol açtığı enfeksiyonlar arasında üriner yol enfeksiyonları, bakteriyemi, intra abdominal enfeksiyonlar ve endokardit sayılabilir, hastane enfeksiyonları göz önüne alındığında %12'sine sebep olan potansiyel patojenler olduğu ile karşılaşılır (Jones vd. 1997, Lewis ve Zervos 1990, Murray 1990, Schaberg vd. 1991).

Listeria spp.'nin genel özellikleri

Spor oluşturmeyen, aerobik, oksidaz negatif, katalaz pozitif, hareketli olan *Listeria monocytogenes* çubuk şeklindedir. Familyaya ait sekiz tür bulunup, başlıca önemli türleri *L. monocytogenes*, *L. innocua*, *L. ivanovii*, *L. seeligeri*, *L. welshimeri* ve *L. grayi* olarak sıralanabilir (Kimura, 2006). Patojen özelliği ile öne çıktığı bilinen türleri, *L. monocytogenes*, *L. innocua* ve *L. İvanovii*' dir (Ünlütürk vd, 2003; Kimura, 2006). Çevrede, suda, toprakta yaygın olarak karşılaşılması nedeniyle buralardan hayvanlara, hayvan dışkılarından tekrar çevreye bulaş olan *Listeria*, uygun arıtma ve hijyen kurallarına uyulmaması durumunda gıda maddelerinin üretimi, taşınması ve tüketimi sırasında ürünlere kolayca bulaşabilir (Yılmaz, 2008). Son yılların önemli gıda kaynaklı patojenleri arasında görülen *Listeria monocytogenes* insanlarda Listeriosis hastalığına sebep olduğu bilinir. Yenidoğan bebeklerde, bağışıklık hastalarında ve ileri yaşlardaki bulaşlarda ölümle sonuçlanabilen hastalık genel olarak menenjit ve septisemiye benzerdir (Yılmaz, 2008).

Pseudomonas spp. bakterilerin genel özellikleri

Çomak görünümünde bir yapısı olup, hareketli türlerin çoğunlukta olan *Pseudomonas*'ların, hareketli türlerinde hareket monotrik veya lofotrik flagellerle sağlanmaktadır, pigmentleri yeşilimsi mavi renkte, türlerin tümü gramnegatiftir. Yaklaşık 24 saatte katı ortamlarda, türüne göre özel renklerde, konveks, 5 mm çapta, aromatik kokulu koloniler oluştururlar. Literatürde 84 türüne rastlanan *Pseudomonas*'ların, çoğu fluoresan pigment sentezlerler. Bazı türler bu sarımtırak mavimsi yeşil pigmentin yanında diğer renklere ait bazı pigmentleri de sentezleyebilir.

Örneğin *Pseudomonas aeruginosa* çözünebilen ve rengi mavi olan bir pigment daha sentezler (Öner, 1989). Türleri katalaz pozitif olan *Pseudomonas* genusu, bazı türleri de canlılar için patojendir. Hücre duvarları Gram-negatif bakterilerle benzeyen *Pseudomonas* türlerinin, kimyasal kompozisyonunda dikkat çeken farklılıklar olabilmektedir. Çalışmalarda en çok kullanılan türü *Pseudomonas aeruginosa*'dır (Murray ve Holt, 2001). Cinsi oluşturan türlerin büyük bir kısmı kemoorganotrofikken, bazıları fakültatif kemolitotroftur. *Pseudomonas* türünün bir çoğu, amonyum iyonları veya nitrat ile tek karbon ve enerji kaynağı olarak organik bir bileşik içeren mineral besiyerlerinde gelişim gösterebilirler. İçlerinden birkaç tür ek organik faktöre gerek duyarlar. Beslenme özelliği olarak kek bir karbon bileşiği içeren çok basit bir mineral besiyerinde gelişme kapasitesi, *Pseudomonas*'ların temel özelliğidir (Murray ve Holt, 2001). Bakteriosinler; bazı bakterilerin suşları tarafından üretilen, aynı türün diğer suşları üzerinde letal etki gösteren proteinlerdir. *Pseudomonas* suşları sıklıkla bakteriyosin barındırmaktadır. *Pseudomonas* türlerinin çoğunluğu birçok antibakteriyel ajana karşı direnç gösterirler (Murray ve Holt, 2001).

Candida spp.'nin genel özellikleri

Candida genel anlamda bakıldığında enfeksiyonlarının %75'inden sorumlu olduğu düşünülmektedir. *Candida* cinsine ait 200 tür olmasına karşın, insanlarda oral ve vajinal enfeksiyonların sebebi olan *C. albicans* maya tipi bir mantar türüdür (Jenkinson ve Douglas 2002). Özellikle bağışıklığı baskılanan hastalarda sistemik fungal enfeksiyonlar hastalık ve ölümün başlıca nedenleri arasındadırlar, bu hastaların dışında riski olmayan bireylerinde hastanede edindikleri enfeksiyonlar ciddi bir sağlık problemleri oluşturabilirler (Jenkinson ve Douglas 2002).

1.3.3 Antibiyotik Direnci

Antibiyotik; Sentetik veya doğal olarak üretilebilen, mikroorganizmalardan elde edilip organizmaya yerleşmiş olan mikroorganizmanın gelişimini engellemek veya bertaraf

etmek amacıyla kullanılan biyoaktif maddelerdir (Akond vd, 2009). Antimikrobiyal ilaçların geliştirilmesi penisilin keşfinin ardından gerçekleşmiştir. Antibiyotikler kendi arasında farklı sınıflara ayrılırlar; hücre duvarı sentezini inhibe edenler, protein sentezini inhibe edenler, nükleik asit sentezini inhibe eden ilaçlar ve hücre membran bütünlüğünü bozan ilaçlar olarak sınıflandırılırlar (Joseph vd, 2009). Antibiyotik direnci; mikroorganizmanın antimikrobiyal ajanın üretilmesini engelleyici ya da yok edici etkisine karşı geliştirdiği dirençtir (Gülay, 1999). Günümüzde bakterilerin antibiyotiklere karşı direnç geliştirmesi sorun haline gelmiştir, geçmişten günümüze enfeksiyonların tedavisinde kullanılan antibiyotiklerin kullanılması mikroorganizmalar tarafından geliştirilen antibiyotik direncini de ortaya çıkarabildiği bilinmektedir (Bozkurt vd, 2005, Kolar vd, 2002). Bu direnç farklı nedenlerden ortaya çıkabilmektedir, kazanılmış direnç (ekstrensik) ve doğal direnç (intrensik) olarak ikiye ayrılır. Doğal direnç; antibiyotiklere ve bakterilere karşı doğal olarak dirençlidir, bu direnç mekanizmasında ilaç kullanımının rolü bulunmamaktadır, direnç genetik olarak kodlanır. Doğal dirençten farklı olarak kazanılmış direnç düzenleyici ve yapısal genlerde oluşan mutasyonların sonucudur (Gür 2008, Yüce 2001). Kazanılmış dirençte bakteri geçmişte duyarlı olduğu antibiyotiğe karşı genetik yapısında meydana gelen çeşitli değişiklikler nedeniyle duyarlılığını yitirir (Gülay, 1999). Antibiyotiklere karşı bakterilerde ki bu direnç mekanizmalarının varlığının belirlenmesi ile araştırmacılar bilinen antibiyotiklerin yerini alabilecek farklı ürünlerin bulunabilmesi için çalışmaların yapılmasına başlamışlardır.

1.4 Biyofilmin Yapısı ve Oluşumu

Yüzey üzerinde yapışmış mikroorganizmaların kendi ürettikleri polimerik yapıda jelsi bir tabaka içinde toplu bir şekilde yaşamlarına devam ettirdikleri yapıya biyofilm denir. Biyofilmlerin oluşumunda farklı çevresel etkenler etkili olduğu bilinmektedir. Bu çevresel etkenler besin miktarı, bakteri suşu, pH, sıcaklık, yüzey özellikleri olarak sıralanabilirler (Donlan 2002). İçindeki bakterilerin çevre şartlarından etkilenmesini engelleyen korunaklı bir yapı olan biyofilm tabakasının oluşmasında protein ve ekzopolisakkaritten oluşan hücre dışı matriks ve tutunma yüzeyi öne çıkmaktadır. Biyofilmler oluşurken mikroorganizmaların koloni oluşturmasında ve yüzeye

bağlanmasına ekzopolisakkaritler yardımcı görevi görürler. Biyofilm yapısının oluşabilmesi için bu şartların eksiksiz tamamlanması gerekir. Biyofilm yapısı %97 su , %2-5 mikroorganizma, %1-2 polisakkarid, %1-2 protein, %1-2 DNA ve iyonlar içermektedir (Simoes vd. 2010, Szczuka ve Kaznowski 2014).

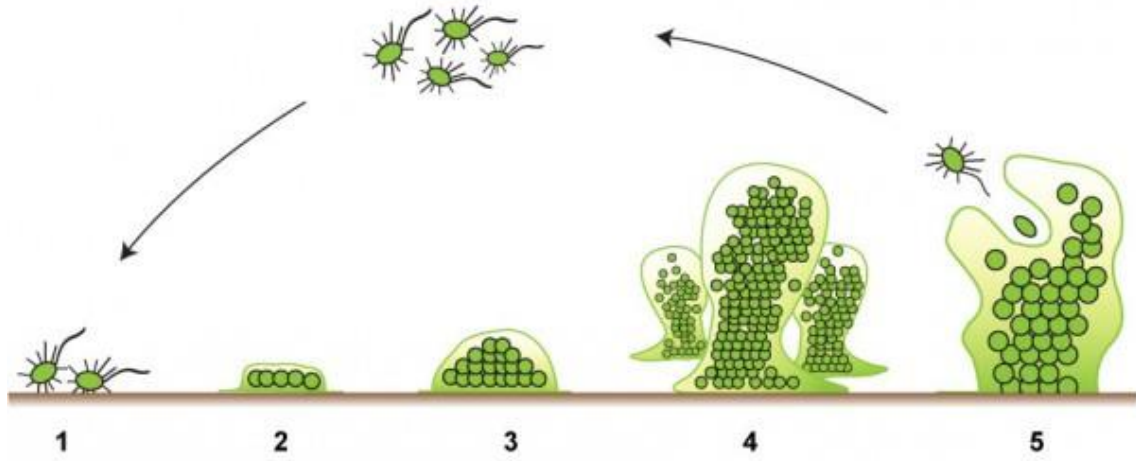
Biyofilm tabakasının içerisinde kısmi olarak yerleşen farklı patojen mikroorganizmalar çeşitli hastalıkların oluşmasında etkili olurlar (Percival vd. 2015). Biyofilm tabakasının içine yerleşmiş bakterilerin tanınması güçleşir. Mevcut yapılmış çalışmalar; biyofilm oluşturma yeteneğine sahip olan bakterilerin, antibiyotiklere karşı planktonik formlarına göre 100-10000 kat daha dirençli olabildiklerini göstermiştir. Biyofilm oluşturmada önce antimikrobiyal ajanlara karşı dirençli olmayan bazı bakterilerin biyofilm tabakası oluşumundan sonra dirençli duruma gelebildikleri yapılan farklı çalışmalarda ortaya koyulmuştur. Bu bakteriler biyofilmden ayrıldıkları durumda yeniden dirençsiz duruma geçtikleri bildirilmiştir (Yüksekdağ ve Baltacı 2013, Szczuka ve Kaznowski 2014). Bu direnç gösterme durumuna etkili olan faktörlerden birinde biyofilm içerisindeki oksijen yoğunluğu olduğu bildirilmiştir. Biyofilmin yüzey kısımlarında oksijen tüketilmesi sebebiyle dip kısımlarda anaerobik bir ortam oluşarak bazı antibiyotiklerin etkinliği azalmakta ve antimikrobiyal direnç gelişebilmesine neden olabildiği açıklanmıştır (Drenkard 2003, Erik 2020).

Biyofilm tabakası art arda seyreden basamakların sonucudur, biyofilm gelişmesinde etkisinin bulunduğu bilinen genlerin hücre fizyolojisindeki görevleri araştırıldığında adezyon, quorum sensing, hücre duvar yapımı, metabolizma, stres cevabı ve plazmide bağlanma olaylarında etkili oldukları anlaşılmıştır. Tabaka içerisindeki mikroorganizmaların antibiyotik direnci geliştirmesinde direnç genlerinin mikroorganizmalar arasında transfer kolaylığının olmasının rolü vardır. (Victoria vd. 2013). Biyofilm oluşumunun beş basamakta gerçekleştiği bildirilmiştir (Post vd. 2004, Akan ve Kınık 2014, Erik 2020).

1.4.1 Mikroorganizmanın Yüzeğe Tutunması:

Biyofilmin oluşması için bakterilerin bir yüzeğe tutunması gerektiği bilinmektedir, tutunmanın sonrasında biyofilmin oluşması için sırayla gerçekleşecek olan genetik

işlemler de başlamış olur. Bu evrede söz konusu bakterinin hareketi veya bakteri yüzeyi ile bakterilerin tutundukları yüzey arasındaki elektrostatik veya fiziksel etkileşimler rol oynadığı bilinmektedir. Bu olayda en büyük rol yüzey proteinlerinin olduğu bilinmektedir (Patti vd, 1994).



Şekil 1.1 Biyofilm oluşum basamakları (İnt. Kyn. 1)

1.4.2 Yapışma:

Tutunma aşamasının başarı ile tamamlanmasından sonra hücre zarındaki proteinlerin uyarılmasının sonucu olarak ekzopolisakkarit yapıda olan bir maddenin sentezi gerçekleşmektedir. Hücrelerin birbirlerine ve yüzeye tutunması bu sayede gerçekleşmiş olur.

1.4.3 Kolonizasyon:

Bölünen bakterilerin mikrokolonileri oluşturdukları evredir. Bu mikrokoloniler biyofilm tabakasının en küçük organizasyon birimidir.

1.4.4 Olgun Biyofilm:

Mikrokoloniler büyüyüp karmaşık bir yapıya dönüşürler bu yapılar da mantar veya kule şekline dönüşürler.

1.4.5 Kopma:

Biyofilm tabakasından koparak ortama dağılan bakteriler, yeni biyofilm oluşturma amacıyla üst kısımlarından kopan hücreler ayrılır.

Biyofilmin yapısının açıklanması için gerçekleştirilen farklı çalışmalarda, biyofilmlerin yalnızca yüzeye yapışık halde, yapı içerisinde mikroorganizmaları bulundurup homojen yapıda olmadığı, birbirlerine yapışmalarında yardımda bulunan, büyüme oranının artmasında etkili ekstraselüler polimerik yapıdan oluşmuş matriks içerisine gömülü halde bulunduğu bildirilmiştir. Bunun yanında gen transkripsiyon faktörleri ile fenotipik değişiklikler gösteren bakterilerin meydana getirdiği biyolojik işlemler oldukları bildirilmiştir (Donlan vd,2002). Organizmaya göre biyofilmin matriksi farklı nitelikler taşıyabilmektedir. Katyonik matrikslerin gram pozitif bakteriler, gram negatif bakterilerin de polianyonik biyofilmleri teşkil ettiği bilinmektedir (Çiftçi vd, 2005. İç ve dış faktörler biyofilm oluşumunda önemli yere sahiptirler. İç etmenler su aktivitesi, antimikrobiyal madde, pH, besin kaynağı, oksijen varlığı ve elektriksel alan olarak sıralanabilir. Dış faktörler ise yüzey maddesi, yüzey alanı, sıvının akış hızı olarak bilinmektedir. (Donlan vd,2002, Douglas, 2003) .

Biyofilm tabakaları antimikrobiyal ajanlara karşı farklı direnç mekanizmaları geliştirebilmekte oldukları bilinmektedir;

a) Konjugasyon, transformasyon ve transdüksiyon aracılığıyla horizontal gen transferi işlemleri için birbirleriyle yakın olan hücreler biyofilm oluşumu için uygun ortamı sağlamaktadır. Antimikrobiyal ajanlara karşı direnç geliştirebilmek amacıyla direnç plazmidlerinin aktarılması ile genetik yapısı farklılaşan hücrelerin direnç oluşumunda etkili olduğu bilinmektedir (Ghigo, 2001).

b) Bu direnç mekanizmalarından biri ekstraselüler matriksdir, biyofilmin içerisine antimikrobiyal ajanların girmesine engel olabilmek için çevresinde fiziksel ve kimyasal bir çerçeve oluşturur (Walters, 2003, Chiang, 2013).

c) Hücreler metabolizma faaliyetlerinin sonucu olarak tabaka dışına asidik atıklar salmaları nedeniyle ortamın pH değerinin değişmesine sebep oldukları bilinmektedir. Bu pH değişikliği antibiyotiklerin bazıları üzerinde antagonistik etki gösterdikleri bildirilmiştir (Sauer vd, 2001).

d) Antibiyotiklere karşı biyofilm oluşturan mikroorganizmaları koruyan başka bir etmende bol miktarda DNA (eDNA) ve beta laktamazlar bulunduran ekstraselüler matrisktir (Mulcahy, 2008)

e) Metabolik olarak aktif olup çoğalan biyofilm yüzeyindeki hücreler ile karşılaştırıldığında biyofilmin içine gömülü halde bulunan hücrelerin besin ve oksijen yetersizliğinden büyümeleri yüzeyde bulunan hücrelere göre yavaş ilerlerlediği bilinmektedir. Sonuç olarak biyofilmin iç kısmında bulunan mikroorganizmaların metabolik faaliyetlerinin en aza inmesiyle uyku durumunda kalarak antibiyotiklere karşı dirençleri arttığı bildirilmiştir (Walters, 2003)

f) Atım pompalarının ekspresyonunda biyofilm oluşumu sırasında da artış görülür bu artış antimikrobiyal ajanlara karşı mikroorganizmanın direnç geliştirmesinde rol oynar (Stewart vd, 2001).

g) Planktonik formların biyofilm oluşturan mikroorganizmalara göre mutasyon meydana gelme olasılığı daha azdır bu nedenle biyofilm oluşturan mikroorganizmaların direnç gösterme artışında bu mutasyona uğrama durumunun kolaylığı ve fazlalığı rol oynar (Driffield vd, 2008).

2. MATERYAL VE METOT

2.1. Materyal

2.1.1.Çalışma Kapsamında Kullanılan Bitki Örneklerinin Hazırlanması

Bu çalışma kapsamında kullanılacak olan *Cistus laurifolius* Afyonkarahisar ili Akdağ/Sandıklı bölgesinden *Cistus creticus* ve *Cistus salviifolius* İstanbul ili Ağva/Şile bölgesinden toplanarak laboratuvara getirildi. Toplanan örnekler Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü öğretim üyesi Prof. Dr. Mustafa KARGIOĞLU tarafından teşhis edildi. Herbaryum kayıt numaraları *C. creticus* L. için AKU-10384, *C. salviifolius* L. için AKU-10385 ve *C. laurifolius* L. için AKU-10400 olarak verildi. Bitkilerin yaprak kısımlarından bitki ekstralarının hazırlanmasında ultrasonik ekstraksiyon yöntemi kullanıldı (Duman vd, 2017). İlk olarak kurutulmuş yaprak örnekleri bir değirmen kullanılarak ince toz haline getirilmek üzere öğütüldü ve toz halindeki her 30 g numune için, 400 ml dH₂O olarak kullanılarak 25-37°C sıcaklıkta ultrasonikasyon ile 1 saat ekstraksiyon işlemi gerçekleştirildi. Protokol sırasında örneklerdeki bileşiklerin sıcaklıktan dolayı bozulmasını önlemek amacıyla sıcaklığın 40°C'nin altında tutulmasına özen gösterildi. *C. laurifolius* L. dH₂O ekstresi (Cl-dH₂O), *C. creticus* L. (Cc-dH₂O), *C. salviifolius* (Cs-dH₂O).Whatman No:1 filtre kâğıdından geçirilerek süzüldü. Daha sonra kullanılan çözücü rotary evaporatör (Heidolph Laborota 4000)'de 40°C'nin altında ve düşük basınçta tamamen uçuruldu. 100 mg/mL konsantrasyonunda stok çözeltiler hazırlandıktan sonra stok çözeltiler 0.22 µm'lik milipor filtreden geçirilerek steril edildi. Stok çözeltiler kullanılıncaya kadar +4 °C'de saklandı.

2.1.2. Çalışmada Kullanılan Patojen Test Mikroorganizmalar

Elde edilen bitki ekstralarının antibiyofilm aktivitesinin belirlenebilmesi için kültür koleksiyonumuzda mevcut olan patojen test mikroorganizmaları kullanıldı: *Listeria monocytogenes* ATCC 1911, *Staphylococcus aureus* ATCC 12600, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Klebsiella pneumoniaea* NRRLB 4420, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 11778, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Streptococcus faecalis*,

Escherichia coli ATCC 35218, *Bacillus subtilis* NRS-744. Ayrıca *Escherichia coli* 1A, *Escherichia coli* 2A, *Bacillus subtilis* 1E, *Bacillus subtilis* 2E, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Escherichia coli* 8A, *Escherichia coli* 7A, izolatları kullanıldı. Pozitif kontrol grubu olarak daha önce başka bir çalışmada (17.KARİYER.91) biyofilm oluşturduğu tespit edilmiş olan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 suşu kullanıldı. *L. monocytogenes* ATCC, *S. aureus* ATCC 25923, *K. pneumoniae* NRRLB 4420, *P. aeruginosa* ATCC 11778, *E. faecalis* ATCC 51289, *E. coli* ATCC 35218, *S. aureus* ATCC 6538, *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *S.aureus* ATCC 12600, *C. albicans* ATCC 10231 .

2.1.3.Çalışmada kullanılan cihazlar

Çalışma için kullanılan cihazlar tablo 2.1' de yer almaktadır.

Tablo 2.1 Çalışmada kullanılan cihazlar

Kullanılan Cihazlar	Marka ve Model
İnkübatör	Nüve FN 055
Otoklav	Nüve NC 90M
Santrifüj	Nüve NF 1200 R
Rotary Evaporator	Heidolph
Elisa	Thermo Scientific Genesys 180

2.1.4.Patojen Test Mikroorganizmalarının Biyofilm Oluşumunun Değerlendirilmesi

Çalışmada kullanılan patojen test bakterilerin biyofilm oluşturma yeteneklerinin belirlenmesinde kongo kırmızılı agar ve mikrotitrasyon plağı yöntemi olmak üzere iki yöntem kullanıldı.

2.1.5. Kongo Kırmızılı Agar Yöntemi (Kalitatif Yöntem)

Yöntem kullanımında ilk olarak besiyeri hazırlandı kongo kırmızılı agar besiyerine çalışmada kullanılacak her patojen mikroorganizma için çizgi ekim yapıldı. Mikroorganizmaların gelişebilmeleri için petriyerler 37°C sıcaklıkta 24 saat boyunca inkübasyona bırakıldı. Biyofilm oluşturma yeteneği var olan mikroorganizmalar

besiyerinde kırmızımsı siyah, pürüzlü, kuru, şeffaf koloniler biyofilm (slime) pozitif, pembemsi kırmızı, düz ve merkezi koyu koloniler, biyofilm negatif olarak değerlendirilmesi yapıldı.

2.1.6. Mikrotitrasyon Plağı Yöntemi (Kantitatif Yöntem)

Nutrient Agar besiyerine çizgi ekim yapılan patojen bakteri 37°C sıcaklıkta 24 saat boyunca inkübe edildi. Agarlı besiyerinde üreyen patojen bakterilerin Nutrient Broth besiyerine ekimleri yapılarak 37°C sıcaklıkta 24 saat süre ile inkübe edildi. İnkübasyonun ardından, 0.5 Mc Farland bulanıklılığına getirilen örneklerden (yaklaşık 1×10^6 cfu/ml) 150 µl alınarak iki tekrarlı olacak şekilde 96 kuyucuklu mikrotitrasyon plağına aktarıldıktan sonra plaklar, 37°C sıcaklıkta 24 saat inkübe edildi. İnkübasyondan sonra, sıvı besiyeri dökülülerek, kuyucuklar distile suyla bir piset yardımı ile 3 kez nazikçe yıkandı ve ters çevrilerek kurutuldu. Daha sonra, kuyucuklara %0.5 (v/v) konsantrasyonda hazırlanan kristal viyole solüsyonundan 150 µl;si dağıtılarak 45 dak. oda sıcaklığında inkübe edildi. İnkübasyon sonrası kuyucuklar tekrar 3 kez distile su ile yıkandı ve kurutma kağıdına ters çevrilerek kurutuldu. Kuyucuklara, 150 µl etanol: asetik asit (95:5) ilave edilip 10 dakika bekletilerek boyanın çözünmesi sağlandı. Bu aşamadan sonra, her kuyucuktan 100 µl alınarak yeni bir mikrotitrasyon plağına aktarıldı. Dalga boyu 570 nm olan filtre ile ELISA okuyucuda okutuldu. Pozitif kontrol olarak biyofilm oluşturduğu bilinen *P. aeruginosa* ATCC 11778, negatif kontrol olarak mikroorganizma içermeyen besiyeri kullanıldı (Kenar vd, 2020). Negatif kontrolün ortalama OD'sinin üzerinde üç standart sapma olarak tanımlanan kritik OD değerine (OD_c) göre, biyofilm üretimi şu şekilde değerlendirilmiştir; biyofilm üretme yeteneği olmayan bakteriler [(-), $OD \leq OD_c$], zayıf biyofilm üreticileri [(+), $OD_c < OD \leq 2 \times OD_c$], orta düzeyde biyofilm üreticileri [(++), $2 \times OD_c < OD \leq 4 \times OD_c$] veya güçlü biyofilm üreticileri [(+++), $OD > 4 \times OD_c$] (Gomes vd, 2019).

2.1.7.Patojen Test Mikroorganizmalarının Ekzopolisakkarit Üretimlerinin İncelenmesi

Marshall ve Rawson 'un geliştirmiş olduğu metoda uygun olarak biyofilm üretebilen patojen bakterilerin ekzopolisakkarit üretimi bakıldı. Bakteriler Nutrient Broth'da 37 °C'de 24 saat inkübe edilip aktif hale getirilmesinin ardından 0.5 Mc Farland bulanıklılığına getirilmiş olan örneklerden (yaklaşık 1×10^6 cfu/ml) eşit miktarda olmasına dikkat edilerek 5 ml'lik NB besiyerine aktarıldı ve 37 °C'de 20 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süresi tamamlanmasının ardından kültürlerden 1 ml alınıp ependorf tüplere aktarıldı. Örnekler su banyosunda 100°C'de 10-15 dk tutulup ardından oda sıcaklığda soğuması için bekletildi. Örneklerle %85'lik Trikloroasetik asit (TCA) %0,17 oranında eklenerek 14 000 rpm'de 20 dk santrifü edildikten sonra elde edilen süpernatant başka ependorf tüpüne alındı ve aynı oranda etanol eklenerek, 14 000 rpm'de 20 dk santrifüj işlemine tabi tutuldu. Süpernatant kısım dökülüp tekrar etanol ilave edildikten sonra 14 000 rpm'de 20 dk santrifüj edildi. Ardından fenol sülfürik asit metodu uygulandı. Bu yöntemde oluşan pelletler 100 µl steril saf suda çözdürüldükten sonra üzerine 50 µl saf fenol ilave edildi. Daha sonra 500 µl sülfürik asit eklenip vorteksleme yapıldı. 37 °C'de 20 dk bekletildikten sonra örneklerden 50 µl alınarak ELISA platelerine aktarıldı. Örneklerin 490 nm dalga boyunda üç paralel olarak okuması yapıldı, sonuçlar glukoz standart eğrisine göre değerlendirildi.

2.1.8.Bitki Ekstrelerinin Antibiyofilm Etkisinin Belirlenmesi

Cl-dH₂O, Cc-dH₂O, Cs-dH₂O özütlerinin biyofilm inhibisyonu etkileri, bir 3-[4, 5-dimetil-2-tiazolil]-2, 5-difenil-2H-tetrazolyum-bromür (MTT) kolorimetrik ile belirlendi. (Kairo vd. 1999, Walencka vd. 2005 ve Teanpaisan vd. 2014). 100 µl iki kat seyreltilmiş her bir özüt konsantrasyonu (50 ila 6,25 µg/mL), 96 kuyucuklu mikrotitre plakalarına ilave edildi. Pozitif kontrol olarak *C. albicans* ATCC 10231 için flucanasol (10 mg/mL), bakteriler için penisilin G (30 mg/mL) kullanıldı. Negatif kontrol olarak boş besiyeri kullanıldı. Her patojen test mikroorganizmasından eşit miktarda (1×10^6 cfu/ml) kuyucuklara eklenip, karıştırıldı ve 37 °C'de 24 saat inkübe edildi. Daha sonra süpernatantlar atılıp ve üç kez PBS ile yıkanmıştır ve 150 µl PBS ve 50 µl MTT (%0.3) eklenip 2 saat 37 °C'de inkübe edildi. MTT solüsyonu oyuklardan çıkarılıp formazan kristallerini çözmek amacıyla oyuklara 150 µl DMSO, 25 µl 0.1 M glisin tamponu (pH 10.2) eklendi ardından oda sıcaklığında 15 dakika inkübe edildi ve optik yoğunluk, 570 nm dalga boyunda mikropilaka spektrofotometresi (Thermo Scientific Multiskan Sky)

ile ölçüm yapıldı. Minimum biyofilm inhibitör konsantrasyonu %50 (MBIC₅₀) ve minimum biyofilm inhibitör konsantrasyonu %90 (MBIC₉₀) tanımlaması yapıldı. Tüm deneyler üç kez tekrarlandı.

Yüzde inhibisyon, her bir konsantrasyon ve bakteri için;

$1 - (\text{Örnek A570} / \text{Kontrol A570}) \times 100$ formülü kullanılarak hesaplandı.

2.1.9 Biyofilm Oluşumunun Ortadan Kaldırılması

Cl-dH₂O, Cc-dH₂O, Cs-dH₂O ekstraktlarının biyofilm oluşumunun ortadan kaldırılması, minimum biyofilm eradikasyon konsantrasyonu (MBEK) testi kullanılarak çalışıldı (Teapaisan vd, 2014). Her patojen test mikroorganizmasının 200 ul'si (106 cfu/ml), 96 kuyucuklu mikrotitre plakasına aşılandı ve 24 saat süreyle 37 °C'de inkübe edildi. Biyofilm oluşumundan sonra, kuyucuklara yapışmayan bakteri hücrelerinin çıkarılması için üç kez PBS ile dikkatlice yıkandı. Daha sonra kuyucuklara 200 µl Cl-dH₂O, Cc-dH₂O, Cs-dH₂O ekstreleri (50 ila 6,25 µg/mL seri olarak iki kat seyreltmeler) ilave edilip ve 24 saat 37 °C'de inkübe edildi.

Daha sonra yapışan bakteriler üç kez PBS ile yıkayıp ve kuyucuklarda kalan mikroorganizmaların sayısı MTT yöntemi ile belirlendi. MBEC değeri, biyofilm üzerinde biyofilm oluşumunun %50 ve %90 oranında inhibisyonunu gösteren konsantrasyonlar olarak tanımlandı. Pozitif kontrol olarak C. albicans ATCC 10231 için flucanazol (10 mg/mL) ve bakteriler için penisilin G (30 mg/mL) kullanıldı. Boş besiyeri, negatif kontrol olarak kullanıldı. Tüm deney aşamaları üç kez tekrarlanıp, yüzde eradikasyonu hesaplamak için aşağıdaki formül kullanıldı.

$1 - (\text{Örnek A570} / \text{Kontrol A570}) \times 100$

3. BULGULAR

3.1. Patojen Test Mikroorganizmalarının Biyofilm Oluşumunun Belirlenmesi

Kongo agar yöntemine göre tüm patojen test mikroorganizmalarının görünümü kırmızı, kırmızımsı, kuru, pürüzlü ve besiyerinde gözlenen şeffaf koloniler biyofilm oluşturma yeteneği pozitif olarak değerlendirildi. Ayrıca, mikrotitre plaka yöntemi kullanılarak teyit edilen patojen test mikroorganizmalarının biyofilm oluşturma yetenekleri ve test sonuçları Tablo 3.1'de gösterilmektedir. *S. aureus* ATCC 25923, *P. aeruginosa* ATCC 11778, *P. aeruginosa* ATCC 11778, *S. aureus* ATCC 6538, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *S. aureus* ATCC 12600, güçlü biyofilm üreticisi olarak değerlendirildi. *L. monocytogenes* ATCC 19115, *K. pneumoniae* NRRLB 4420(Resim 3.1), *E. coli* ATCC 35218, *C. albicans* ATCC 10231 orta düzeyde biyofilm üreticisi olarak değerlendirildi.



Resim.3.1 *K. pneumoniae* NRRLB 4420 kongo agar yöntemi ile biyofilm oluşumu



Resim.3.2 *B. subtilis* NRS 744go agar yöntemi ile biyofilm oluşumu

E. faecalis ATCC 51289, *B. subtilis* NRS 744 (Resim .3.2), *E. coli* ATCC 25922, zayıf biyofilm üreticisi olarak değerlendirildi.

Tablo 3.1 Mikroorganizmaların biyofilm oluşturma yetenekleri

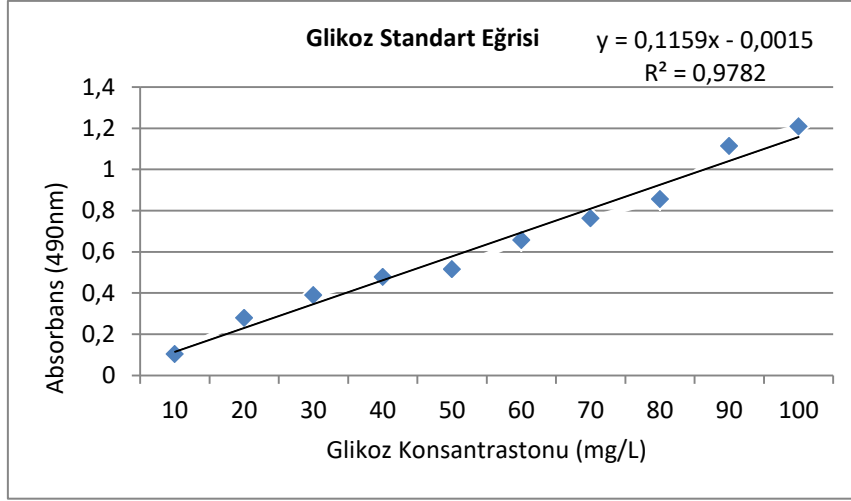
Patojen Test Mikroorganizmaları	Ortalama OD±SD	Biyofilm Oluşumu
<i>L. monocytogenes</i> ATCC 19115	0,745±0,102	++
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	1,350±0,158	+++
<i>K. pneumoniae</i> NRRLB 4420	1,036±0,256	++
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 11778	1,327±0,187	+++
<i>E. faecalis</i> ATCC 51289	0,345±0,098	+
<i>E. coli</i> ATCC 35218	0,964±0,167	++
<i>B. subtilis</i> NRS 744	0,360±0,035	+
<i>S. aureus</i> ATCC 6538	1,415±0,095	+++
<i>E. coli</i> ATCC 25922	0,416±0,012	+
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	1,255±0,110	+++
<i>S. aureus</i> ATCC 12600	1,396±0,178	+++
<i>C. albicans</i> ATCC 10231	0,875±0,045	++

3.2. Patojen Test Mikroorganizmalarının EPS Üretimini Tespiti

Patojen test mikroorganizması tarafından üretilen EPS miktarlarını hesaplamak için 10-100 mg/mL'lik bir glikoz çözeltisi kullanılarak bir glikoz standart eğrisi hazırlandı (Şekil 3.1). Patojen test mikroorganizmaları ile EPS üretimi Tablo 3.2'de gösterildi. En yüksek EPS üretimi *P. aeruginosa* ATCC 27853 ($9,78 \pm 0,67$ mg/L) olarak bulundu ve bunu *P. aeruginosa* ATCC 11778 ($9,15 \pm 0,87$ mg/L) izlemiştir. En düşük EPS üretimi *B. subtilis* NRS 744 ($1,77 \pm 0,78$) olarak belirlendi.

Tablo 3.2 Patojen test mikroorganizmaların EPS üretimi

Patojen Test Mikroorganizmaları	EPS (mg/L)±SD
<i>L. monocytogenes</i> ATCC 19115	6,23±0,45
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	6,98±0,23
<i>K. pneumoniae</i> NRRLB 4420	2,27±0,35
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 11778	9,15±0,87
<i>E. faecalis</i> ATCC 51289	5,45±0,56
<i>E. coli</i> ATCC 35218	2,20±0,25
<i>B. subtilis</i> NRS 744	1,77±0,78
<i>S. aureus</i> ATCC 6538	7,68±1,12
<i>E. coli</i> ATCC 25922	3,69±0,56
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	9,78±0,67
<i>S. aureus</i> ATCC 12600	7,75±0,89
<i>C. albicans</i> ATCC 10231	4,35±,47



Şekil 3.1 Glikoz standart eğrisi

3.3. Biyofilm Oluşumunun İnhibisyonu

Test mikroorganizmalarının oluşturacağı bilinen biyofilm tabakasını inhibe etmesi amacı ile çalışma da test edilen bitki ekstraları %50, %25, %12,5, %6,25 olmak üzere dört farklı konsantrasyon üzerinden çalışma gerçekleştirildi ve elde edilen değerlerle % inhibisyon değerleri hesaplandı tüm değerler tablo 3.3’de verilmektedir. Patojen test mikroorganizmaları için \geq %50 biyofilm oluşumunu engellemek için gereken Cl-dH₂O, Cs-dH₂O, Cc-dH₂O ekstralarının konsantrasyonları Şekil 3.2, Şekil 3.3, Şekil 3.4’te gösterildi. *S. aureus* ATCC 6538’in MBIC50 değerleri 6,25 Cl-dH₂O ekstresi ve 50 µg/ml Cs-dH₂O ekstresi olarak tespit edildi. Ayrıca, MBIC90 biyofilm büyümesinin \geq %90 inhibisyonunu inhibe etmek için gereken 50 µg/ml Cc-dH₂O özütü 50 µg/ml olarak görüldü. *E. coli* ATCC 25922’nin MBIC50 değerleri Cl-dH₂O, Cs-dH₂O ve 25 µg/ml Cc-dH₂O ekstraları için 12,5 µg/ml olarak bulundu. *S. aureus* ATCC 12600’ün MBIC50’si için gerekli Cl-dH₂O, Cc-dH₂O ekstraları 50 µg/ml olarak bulundu. *C. albicans* ATCC 10231’in MBIC50’si, 50 µg/ml Cl-dH₂O olarak belirlendi. Pozitif kontroller tarafından patojen test mikroorganizmalarının biyofilm inhibisyonu Şekil 3,5’te gösterilmektedir.

Tablo 3.3 Bitki ekstreleri patojen bakteriler üzerinde biyofilm oluşumunu inhibe etme absorbands değerleri ve % inhibisyon değerleri

abs	Ortalama	STD	1		İnhibisyon
cl 4	0,3857	0,0043	0,3826	0,3887	2,5200
cl 3	0,3658	0,0319	0,3883	0,3432	7,5500
cl 2	0,3541	0,0407	0,3829	0,3253	10,5100
cl 1	0,3128	0,0106	0,3203	0,3053	20,9500
abs	Ortalama	STD	2		İnhibisyon
cl 4	0,2573	0,0296	0,2363	0,2782	13,5707
cl 3	0,2521	0,0282	0,2321	0,2720	15,3174
cl 2	0,2444	0,0536	0,2823	0,2065	17,9039
cl 1	0,2611	0,0432	0,2916	0,2305	12,2942
abs	Ortalama	STD	3		İnhibisyon
cl 4	0,3286	0,0075	0,3339	0,3233	9,0254
cl 3	0,3072	0,0192	0,3207	0,2936	14,9501
cl 2	0,3001	0,0117	0,2918	0,3083	16,9158
cl 1	0,2616	0,0086	0,2676	0,2555	27,5747
abs	Ortalama	STD	4		İnhibisyon
cl 4	0,3184	0,0115	0,3103	0,3265	2,6001
cl 3	0,3064	0,0046	0,3096	0,3031	6,2710
cl 2	0,2824	0,0021	0,2809	0,2838	14,3203
cl 1	0,2704	0,0028	0,2684	0,2723	17,2835
abs	Ortalama	STD	5		İnhibisyon
cl 4	0,1476	0,0006	0,1471	0,1480	-0,6060
cl 3	0,1384	0,0009	0,1390	0,1377	6,8013
cl 2	0,1228	0,0099	0,1298	0,1158	17,3063
cl 1	0,1077	0,0029	0,1097	0,1056	27,4747
abs	Ortalama	STD	6		İnhibisyon
cl 4	0,7784	0,0157	0,7673	0,7895	49,8450
cl 3	0,4732	0,0354	0,4482	0,4982	59,0373
cl 2	0,3826	0,0122	0,3912	0,3739	66,8801
cl 1	0,3551	0,0062	0,3507	0,3594	69,2607
abs	Ortalama	STD	7		İnhibisyon
cl 4	0,5437	0,0366	0,5178	0,5696	27,2155
cl 3	0,3646	0,0174	0,3523	0,3769	51,1914
cl 2	0,2742	0,0170	0,2862	0,2622	63,2931
cl 1	0,2361	0,0311	0,2581	0,2141	68,3935
abs	Ortalama	STD	8		İnhibisyon

cl 4	0,2616	0,0202	0,2473	0,2758	4,1407
cl 3	0,2335	0,0364	0,2592	0,2077	14,4375
cl 2	0,2240	0,0036	0,2214	0,2265	17,9186
cl 1	0,2033	0,0001	0,2032	0,2034	25,5038
abs	Ortalama	STD	9		İnhibisyon
cl 4	0,3579	0,0002	0,3577	0,3580	13,8213
cl 3	0,2769	0,0141	0,2869	0,2669	33,3253
cl 2	0,2538	0,0091	0,2474	0,2602	38,8875
cl 1	0,1926	0,0026	0,1944	0,1907	53,6238
abs	Ortalama	STD	10		İnhibisyon
cl 4	0,2455	0,0066	0,2502	0,2408	2,1522
cl 3	0,2244	0,0008	0,2249	0,2238	10,5619
cl 2	0,1914	0,0004	0,1911	0,1916	23,7146
cl 1	0,1232	0,0115	0,1150	0,1313	50,8967
abs	Ortalama	STD	1		İnhibisyon
cc 4	0,4868	0,0152	0,4975	0,4760	0,0000
cc 3	0,3808	0,0598	0,4230	0,3385	3,7600
cc 2	0,3557	0,0051	0,3593	0,3521	10,1000
cc 1	0,2705	0,0991	0,3406	0,2004	31,6400
abs	Ortalama	STD	2		İnhibisyon
cc 4	0,2949	0,0037	0,2975	0,2923	1,0000
cc 3	0,2691	0,0038	0,2718	0,2664	9,6069
cc 2	0,2465	0,0410	0,2755	0,2175	17,1985
cc 1	0,2165	0,0156	0,2055	0,2275	27,2750
abs	Ortalama	STD	3		İnhibisyon
cc 4	0,4392	0,0186	0,4260	0,4523	21,5946
cc 3	0,3415	0,0028	0,3395	0,3434	5,4540
cc 2	0,3052	0,0005	0,3048	0,3055	15,5038
cc 1	0,2542	0,0028	0,2561	0,2522	29,6234
abs	Ortalama	STD	4		İnhibisyon
cc 4	0,3243	0,0003	0,3241	0,3245	-0,7923
cc 3	0,3043	0,0028	0,3023	0,3062	7,0000
cc 2	0,2918	0,0024	0,2935	0,2901	11,0000
cc 1	0,2859	0,0043	0,2828	0,2889	12,5420
abs	Ortalama	STD	5		İnhibisyon
cc 4	0,1461	0,0005	0,1457	0,1464	1,6161
cc 3	0,1298	0,0063	0,1253	0,1342	12,5925
cc 2	0,1220	0,0008	0,1225	0,1214	17,8451
cc 1	0,1054	0,0053	0,1091	0,1016	29,0236
abs	Ortalama	STD	6		İnhibisyon
cc 4	0,1522	0,0003	0,1524	0,1520	86,8247
cc 3	0,1421	0,0503	0,1065	0,1777	87,6990
cc 2	0,1267	0,0040	0,1295	0,1238	89,0322
cc 1	0,1047	0,0064	0,1092	0,1002	90,9366
abs	Ortalama	STD	7		İnhibisyon
cc4	0,4763	0,0063	0,4807	0,4718	36,2380

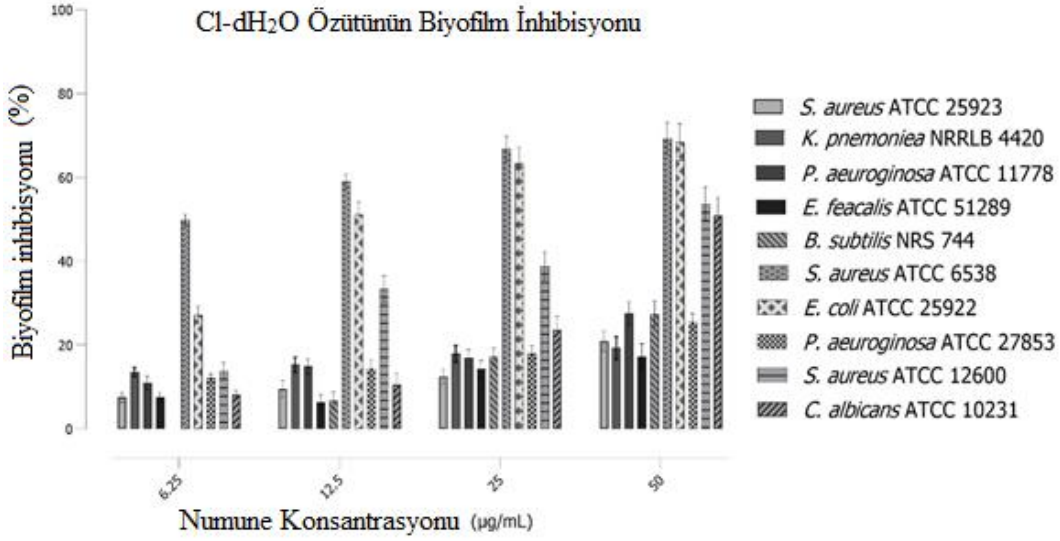
cc 3	0,3276	0,0028	0,3296	0,3256	56,1445
cc 2	0,2639	0,0043	0,2608	0,2669	64,6720
cc 1	0,2279	0,0007	0,2284	0,2274	69,4912
abs	Ortalama	STD	8		İnhibisyon
cc4	0,2724	0,0002	0,2722	0,2725	-0,1832
cc 3	0,2673	0,0036	0,2647	0,2698	2,0520
cc 2	0,2555	0,0061	0,2598	0,2512	7,5851
cc 1	0,2065	0,0016	0,2053	0,2076	24,3312
abs	Ortalama	STD	9		İnhibisyon
cc4	0,3040	0,0051	0,3076	0,3004	26,7999
cc 3	0,2697	0,0139	0,2599	0,2795	35,0589
cc 2	0,2131	0,0031	0,2109	0,2153	48,6876
cc 1	0,1781	0,0102	0,1853	0,1709	57,1153
abs	Ortalama	STD	10		İnhibisyon
cc4	0,2475	0,0031	0,2453	0,2497	1,3551
cc 3	0,2437	0,0193	0,2300	0,2573	2,8696
cc 2	0,2081	0,0014	0,2071	0,2091	17,0585
cc 1	0,2022	0,0105	0,1948	0,2096	19,4101
abs	Ortalama	STD	1		İnhibisyon
cs 4	0,3467	0,0287	0,3670	0,3264	12,3831
cs 3	0,3216	0,0100	0,3145	0,3286	18,7263
cs 2	0,2806	0,0016	0,2817	0,2794	29,0876
cs 1	0,2733	0,0065	0,2779	0,2687	30,9325
abs	Ortalama	STD	2		İnhibisyon
cs 4	0,2816	0,0150	0,2922	0,2710	5,4081
cs 3	0,2599	0,0024	0,2582	0,2616	12,6973
cs 2	0,2338	0,0041	0,2367	0,2309	21,4645
cs 1	0,2155	0,0037	0,2181	0,2129	27,6116
abs	Ortalama	STD	3		İnhibisyon
cs 4	0,3600	0,0018	0,3587	0,3612	-0,3322
cs 3	0,3330	0,0205	0,3185	0,3475	7,8073
cs 2	0,3043	0,0023	0,3026	0,3059	15,7530
cs 1	0,2916	0,0011	0,2908	0,2923	19,2691
abs	Ortalama	STD	4		İnhibisyon
cs 4	0,3137	0,0018	0,3150	0,3124	4,0379
cs 3	0,3057	0,0017	0,3069	0,3045	6,4851
cs 2	0,2935	0,0064	0,2890	0,2980	10,2171
cs 1	0,2549	0,0001	0,2548	0,2549	22,0250
abs	Ortalama	STD	5		İnhibisyon
cs 4	0,1399	0,0050	0,1434	0,1363	5,7912
cs 3	0,1315	0,0004	0,1312	0,1317	11,4478
cs 2	0,1265	0,0038	0,1292	0,1238	14,8148
cs 1	0,1151	0,0032	0,1173	0,1128	22,4915
abs	Ortalama	STD	6		inhibisyon
cs 4	0,8701	0,0387	0,8975	0,8427	24,6797

cs 3	0,7908	0,0056	0,7947	0,7868	31,5443
cs 2	0,6666	0,0371	0,6404	0,6928	42,2957
cs 1	0,5277	0,0009	0,5270	0,5283	54,3195
abs	Ortalama	STD	7		İnhibisyon
cs 4	0,5391	0,0508	0,5750	0,5032	27,8313
cs 3	0,4648	0,0574	0,5054	0,4242	37,7777
cs 2	0,3365	0,0807	0,3935	0,2794	54,9531
cs 1	0,3069	0,0028	0,3049	0,3089	58,9156
abs	Ortalama	STD	8		İnhibisyon
cs 4	0,2705	0,0055	0,2744	0,2666	-0,8794
cs 3	0,2673	0,0035	0,2697	0,2648	2,0520
cs 2	0,2364	0,0001	0,2416	0,2415	13,3748
cs 1	0,2278	0,0050	0,2242	0,2313	16,5262
abs	Ortalama	STD	9		İnhibisyon
cs 4	0,4129	0,0035	0,4104	0,4154	-0,5770
cs 3	0,3749	0,0017	0,3737	0,3761	9,7279
cs 2	0,2988	0,0002	0,2986	0,2989	28,0520
cs 1	0,2555	0,0045	0,2587	0,2523	38,4782
abs	Ortalama	STD	10		İnhibisyon
cs 4	0,2500	0,0043	0,2530	0,2469	-0,3580
cs 3	0,2244	0,0054	0,2206	0,2282	10,5619
cs 2	0,2018	0,0022	0,2033	0,2002	19,5695
cs 1	0,6952	0,7116	0,1920	1,1983	177,0825

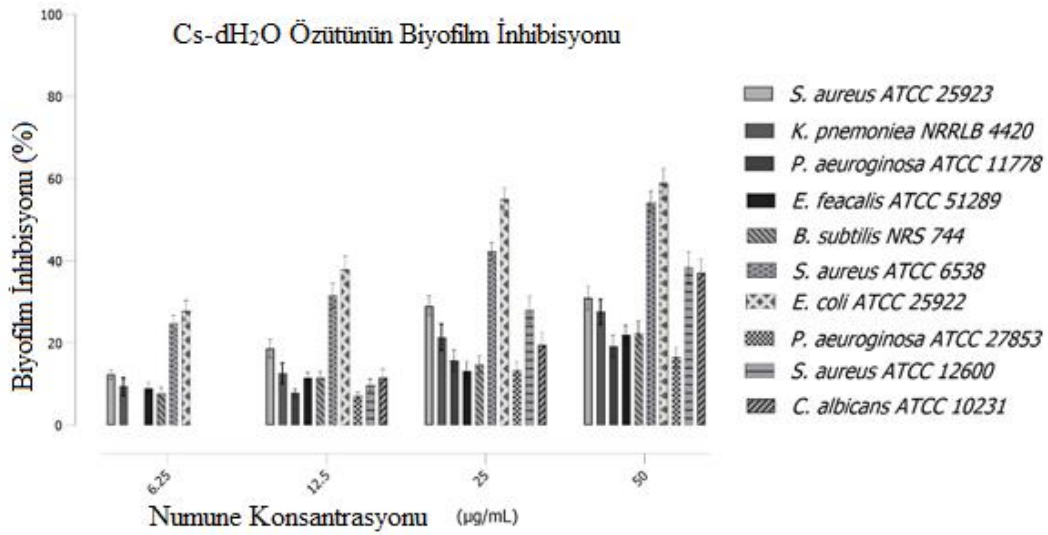
Tablo 3.4 Pozitif kontrol biyofilm inhibe etkisi

Abs	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
%50 konstantrasyon	0,055 1	0,059 3	0,053 6	0,096 1	0,059 3	0,301 4	0,044 8	0,052 3	0,049 5	0,113 1
	0,399 1	0,303 9	0,377 8	0,324 8	0,173 2	0,928 4	0,726 3	0,262 0	0,400 6	0,232 8
%25 konstantrasyon	0,055 2	0,054 3	0,054 3	0,093 0	0,050 4	0,356 5	0,045 5	0,053 3	0,046 0	0,111 9
	0,399 1	0,295 5	0,392 8	0,335 8	0,139 0	0,872 5	0,770 9	0,233 1	0,394 0	0,209 3
%12,5 konstantrasyon	0,054 3	0,058 2	0,051 2	0,089 7	0,050 2	0,354 0	0,045 3	0,054 3	0,046 6	0,158 8
	0,392 4	0,295 1	0,372 7	0,322 1	0,167 2	0,846 8	0,748 4	0,298 1	0,460 9	0,295 7
%6,25 konstantrasyon	0,054 1	0,056 5	0,056 7	0,082 8	0,047 7	0,353 6	0,044 7	0,055 7	0,046 1	0,144 7
	0,392 2	0,296 4	0,301 6	0,325 0	0,114 6	1,972 9	0,742 3	0,298 5	0,405 6	0,265 6
Ortalama	0,223	0,176	0,195	0,204	0,094	0,881	0,395	0,176	0,239	0,216

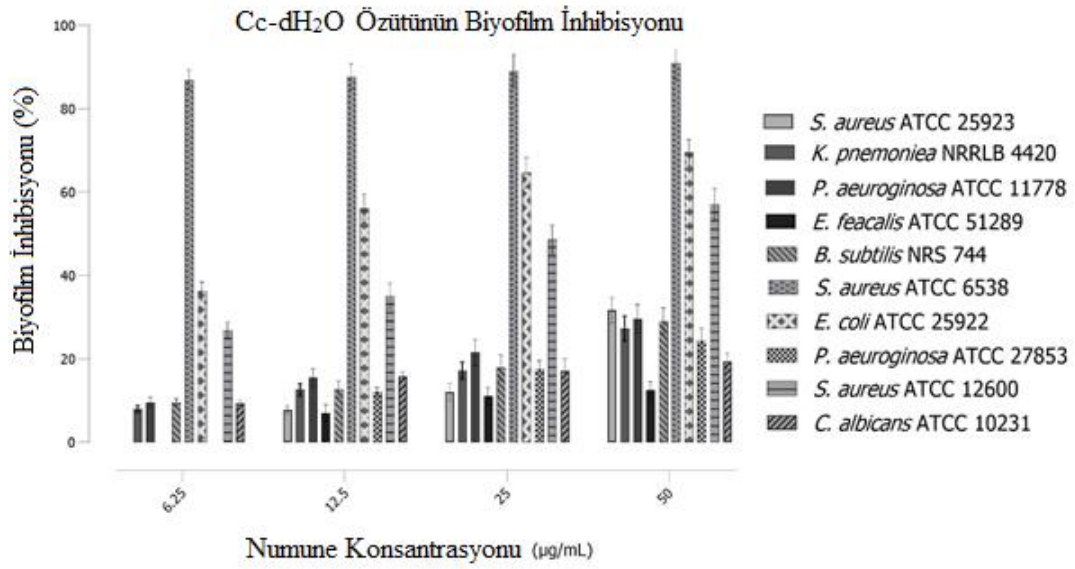
	3	6	6	9	9	8	2	7	8	2
	0,265 5	0,206 1	0,231 6	0,233 7	0,106 1	1,013 8	0,482 6	0,207 2	0,288 1	0,230 6
STD	0,161 9	0,114 5	0,137 5	0,115 1	0,049 5	0,683 4	0,335 4	0,116 2	0,186 7	0,066 0



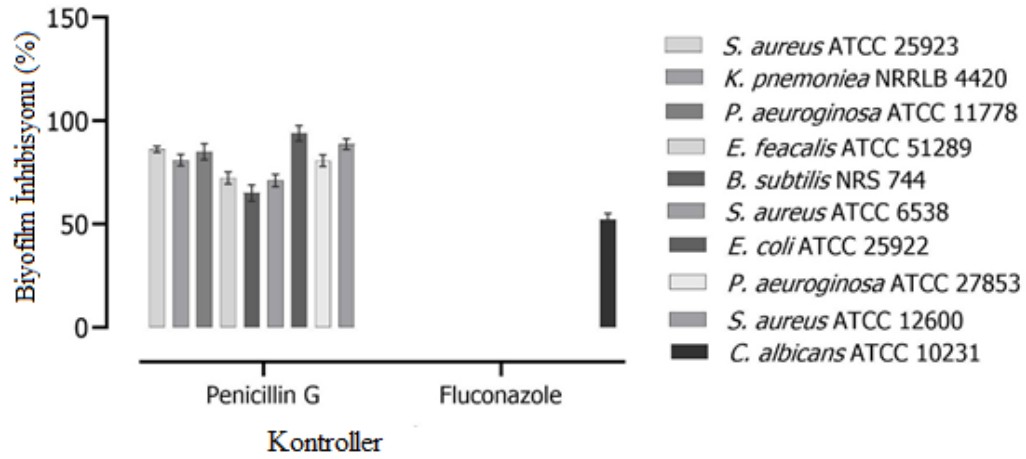
Şekil 3.2 Cl-dH₂O Özütünün Biyofilm İnhibisyonu



Şekil 3.3 Cs-dH₂O Özütünün Biyofilm İnhibisyonu



Şekil 3.4 Cc-dH₂O Özütünün Biyofilm İnhibisyonu



Şekil 3.5 Pozitif kontroller tarafından patojen test mikroorganizmalarının biyofilm inhibisyonu

3.4. Biyofilm Oluşumunun Ortadan Kaldırılması

Çeşitli konsantrasyonlarda Cl-dH₂O, Cc-dH₂O, Cs-dH₂O tarafından patojen test mikroorganizmalarının biyofilm oluşumunun ortadan kaldırılması Şekil 3.6, Şekil 3.7, Şekil 3.8'de gösterilmektedir. Cs-dH₂O ve Cc-dH₂O konsantrasyonları *S. aureus* ATCC 25923'ün \geq %50'lik biyofilm oluşumunu ortadan kaldıracak ekstraktların MBEC50 değerleri sırasıyla 12,5 ve 50 µg/ml olarak bulundu. *K. pneumoniae* NRRLB 4420'nin MBEC50 değerleri için gereken Cs-dH₂O, Cc-dH₂O özütlerinin konsantrasyonları 50 µg/ml idi. *P. aeruginosa* ATCC 11778'in MBEC50 değerleri 25 µg/ml Cs-dH₂O ve 50 µg/ml Cc-dH₂O ekstraktları olarak bulundu. *E. faecalis* ATCC 51289'un MBEC50'si için gerekli olan Cl-dH₂O, Cc-dH₂O ve Cs-dH₂O ekstraktları sırasıyla 25, 12,5 ve 6,25 µg/ml olarak bulundu. *B. subtilis* NRS 744'ün MBEC50 değerleri 50 µg/ml Cc-dH₂O ve 12,5 µg/ml Cs-dH₂O olarak bulundu. *S. aureus* ATCC 6538'in MBEC50'si 6,25 µg/ml Cl-dH₂O, Cs-dH₂O ve 50 µg/ml Cc-dH₂O özütleri olarak belirlendi. *E. coli* ATCC 25922'nin MBEC50 değerleri Cs-dH₂O ve Cc-dH₂O ekstraktlarının 6,25 µg/ml olarak bulundu. *P. aeruginosa* ATCC 27853'ün MBEC50 değerleri, 50 µg/ml Cl-dH₂O, Cc-dH₂O ve 25 µg/ml Cs-dH₂O ekstraktlarıydı. *S. aureus* ATCC 12600'ün MBEC50 değerleri 6,25 µg/ml Cl-dH₂O, Cc-dH₂O, Cs-dH₂O ekstraktları olarak belirlendi. Ayrıca, *S. aureus* ATCC 12600'ün MBEC90 biyofilm büyümesinin eradikasyonunun \geq % 90'ını inhibe etmek için 50 µg/ml Cc-dH₂O özütü gereklidir. *C. albicans* ATCC 10231'in MBEC50'si 50 µg/ml Cs-dH₂O olarak bulunmuştur. Pozitif kontrollerle patojen test mikroorganizmalarının biyofilm eradikasyonu Şekil 3,9'da gösterilmektedir.

Tablo 3.5 Bitki ekstraktları patojen bakteriler üzerinde biyofilm oluşumunu yok etme absorpsiyon değerleri ve % inhibisyon değerleri

abs	Ortalama	STD	1		İnhibisyon
cl 4	0,7909	0,1428	0,8918	0,6899	18,30
cl 3	0,8172	0,0802	0,7605	0,8739	10,20
cl 2	0,6800	0,0546	0,7186	0,6414	24,00
cl 1	0,5871	0,0950	0,6542	0,5199	31,00
abs	Ortalama	STD	2		İnhibisyon
cl 4	0,71	0,0184	0,7273	0,7013	0,08
cl 3	0,67	0,0280	0,6459	0,6855	13,01
cl 2	0,55	0,0351	0,5220	0,5717	24,10
cl 1	0,46	0,0004	0,4573	0,4568	40,20
abs	Ortalama	STD	3		İnhibisyon

cl 4	1,00	0,0222	1,0148	0,9834	0,00
cl 3	0,61	0,0055	0,6180	0,6102	4,10
cl 2	0,45	0,0049	0,4580	0,4511	28,50
cl 1	0,41	0,0233	0,4233	0,3903	34,85
abs	Ortalama	STD	4		İnhibisyon
cl 4	1,3002	0,2613	1,1154	1,4849	17,60
cl 3	0,8295	0,0216	0,8142	0,8447	48,00
cl 2	0,7787	0,0291	0,7581	0,7992	50,70
cl 1	0,6352	0,0577	0,5944	0,6760	60,00
abs	Ortalama	STD	5		İnhibisyon
cl 4	0,8367	0,0356	0,8115	0,8618	0,00
cl 3	0,6133	0,0047	0,6100	0,6166	4,10
cl 2	0,5477	0,0575	0,5070	0,5883	13,60
cl 1	0,3706	0,0091	0,3642	0,3770	42,00
abs	Ortalama	STD	6		İnhibisyon
cl 4	1,7385	0,0105	1,7459	1,7310	51,7
cl 3	1,6500	0,0337	1,6738	1,6261	54,1
cl 2	1,4871	0,0151	1,4764	1,4978	58,3
cl 1	1,3363	0,2282	1,4976	1,1749	62,9
abs	Ortalama	STD	7		İnhibisyon
cl 4	0,6038	0,0013	0,6028	0,6047	32,00
cl 3	0,4778	0,0090	0,4714	0,4841	46,00
cl 2	0,3263	0,0057	0,3223	0,3303	37,08
cl 1	0,2488	0,0116	0,2570	0,2406	71,73
abs	Ortalama	STD	8		İnhibisyon
cl 4	0,7259	0,0037	0,7233	0,7285	4,0190
cl 3	0,6640	0,0151	0,6746	0,6533	12,2041
cl 2	0,5472	0,0073	0,5420	0,5523	27,6477
cl 1	0,3964	0,0025	0,3946	0,3981	47,5869
abs	Ortalama	STD	9		İnhibisyon
cl 4	0,4122	0,0110	0,4044	0,4200	66,9314
cl 3	0,3546	0,0151	0,3652	0,3439	71,5523
cl 2	0,2790	0,0252	0,2611	0,2968	77,6173
cl 1	0,2338	0,0044	0,2307	0,2369	81,2434
abs	Ortalama	STD	10		İnhibisyon
cl 4	0,3124	0,0013	0,3115	0,3133	123,4620
cl 3	0,1914	0,0014	0,1924	0,1904	36,9 **
cl 2	0,1794	0,0054	0,1832	0,1755	28,326**
cl 1	0,1564	0,0012	0,1555	0,1572	11,8741**
abs	Ortalama	STD	1		İnhibisyon
cc 4	0,5528	0,0214	0,5376	0,5679	35,00
cc 3	0,5796	0,0241	0,5625	0,5966	32,00
cc 2	0,4553	0,0209	0,4701	0,4405	46,10
cc 1	0,3637	0,0202	0,3494	0,3779	56,90
abs	Ortalama	STD	2		İnhibisyon

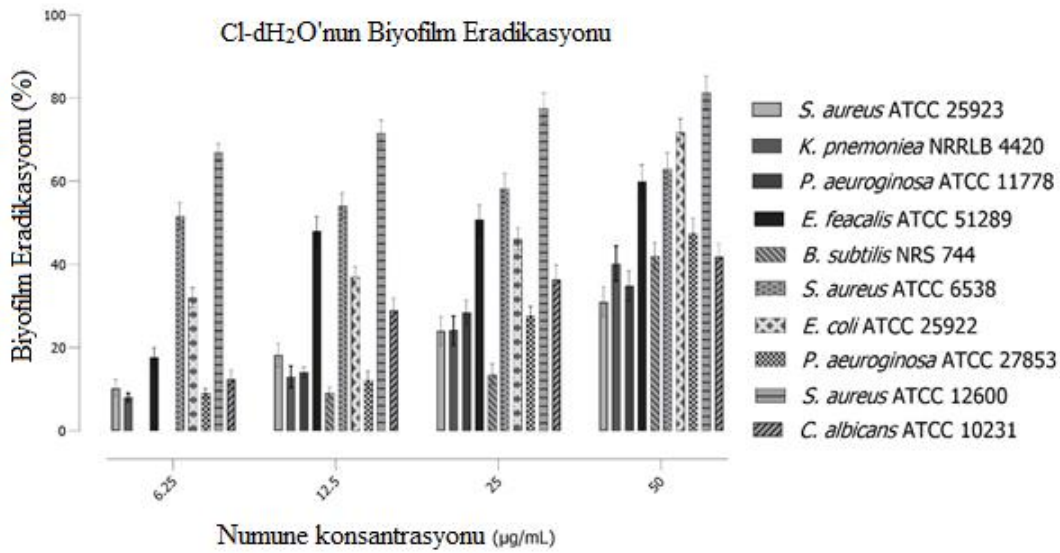
cc 4	0,73	0,0016	0,7262	0,7285	5,12
cc 3	0,64	0,0085	0,6458	0,6338	10,10
cc 2	0,46	0,0566	0,4194	0,4994	40,50
cc 1	0,32	0,0028	0,3205	0,3244	58,90
abs	Ortalama	STD	3		İnhibisyon
cc 4	0,58	0,0996	0,6518	0,5110	7,90
cc 3	0,56	0,0682	0,5082	0,6046	11,80
cc 2	0,45	0,0754	0,5003	0,3936	28,50
cc 1	0,36	0,0515	0,3976	0,3248	57,20
abs	Ortalama	STD	4		İnhibisyon
cc 4	0,5966	0,0771	0,5421	0,6511	37,80
cc 3	0,5638	0,0296	0,5847	0,5428	64,30
cc 2	0,4313	0,0110	0,4391	0,4235	72,70
cc 1	0,4168	0,0102	0,4240	0,4096	73,60
abs	Ortalama	STD	5		İnhibisyon
cc 4	0,5496	0,0130	0,5404	0,5588	13,30
cc 3	0,4621	0,0163	0,4505	0,4736	27,10
cc 2	0,3543	0,0053	0,3580	0,3505	44,10
cc 1	0,3175	0,0168	0,3293	0,3056	49,90
abs	Ortalama	STD	6		İnhibisyon
cc 4	2,3910	0,9506	1,7188	3,0632	33,6
cc 3	2,3481	0,8602	1,7398	2,9563	34,7
cc 2	1,9111	0,0486	1,9455	1,8767	46,9
cc 1	1,8610	0,8825	1,2370	2,4850	48,3
abs	Ortalama	STD	7		İnhibisyon
cc 4	0,4397	0,0131	0,4489	0,4304	50,03
cc 3	0,3486	0,0006	0,3490	0,3481	60,38
cc 2	0,3594	0,0008	0,3588	0,3599	59,15
cc 1	0,2616	0,0068	0,2664	0,2568	70,27
abs	Ortalama	STD	8		İnhibisyon
cc 4	0,6427	0,0079	0,6483	0,6371	15,0204
cc 3	0,6044	0,0011	0,6051	0,6036	20,0846
cc 2	0,5370	0,0079	0,5426	0,5314	28,9960
cc 1	0,3063	0,0033	0,3039	0,3086	59,5001
abs	Ortalama	STD	9		İnhibisyon
cc 4	0,3420	0,0045	0,3388	0,3452	72,5631
cc 3	0,3022	0,0097	0,3090	0,2953	75,7561
cc 2	0,2452	0,0065	0,2406	0,2498	80,3289
cc 1	0,1978	0,0018	0,1991	0,1965	84,1315
abs	Ortalama	STD	10		İnhibisyon
cc 4	0,1358	0,0045	0,1390	0,1326	2,8612
cc 3	0,1310	0,0014	0,1300	0,1320	6,2947
cc 2	0,1225	0,0002	0,1223	0,1226	12,3740
cc 1	0,1117	0,0013	0,1108	0,1126	20,1000

abs	Ortalama	STD	1		İnhibisyon
cs 4	0,4865	0,0061	0,4822	0,4908	42,3304
cs3	0,3874	0,0072	0,3925	0,3823	54,0777
cs 2	0,3350	0,0016	0,3361	0,3338	60,2892
cs 1	0,2036	0,0046	0,2068	0,2003	75,8653
abs	Ortalama	STD	2		İnhibisyon
cs 4	0,4637	0,0046	0,4604	0,4669	39,9507
cs3	0,4560	0,0001	0,4559	0,4560	40,9479
cs 2	0,4343	0,0030	0,4364	0,4322	43,7580
cs 1	0,2455	0,0030	0,2433	0,2476	68,2077
abs	Ortalama	STD	3		İnhibisyon
cs 4	0,5198	0,0131	0,5105	0,5290	17,4002
cs 3	0,4045	0,0028	0,4065	0,4025	35,7222
cs 2	0,3281	0,0042	0,3310	0,3251	47,8627
cs 1	0,2266	0,0049	0,2301	0,2231	63,9917
abs	Ortalama	STD	4		İnhibisyon
cs 4	0,6217	0,0132	0,6310	0,6123	60,5695
cs3	0,3201	0,0099	0,3271	0,3131	79,6981
cs 2	0,2917	0,0051	0,2881	0,2953	81,4993
cs 1	0,2580	0,0062	0,2624	0,2536	83,6367
abs	Ortalama	STD	5		İnhibisyon
cs 4	0,4573	0,0005	0,4576	0,4569	27,8365
cs3	0,3027	0,0025	0,3045	0,3009	52,2329
cs 2	0,2554	0,0199	0,2694	0,2413	59,6970
cs 1	0,2137	0,0022	0,2121	0,2152	66,2774
abs	Ortalama	STD	6		İnhibisyon
cs 4	1,4786	0,0007	1,4791	1,4781	58,8489
cs3	1,3646	0,0088	1,3584	1,3708	62,0216
cs 2	1,1294	0,0171	1,1173	1,1415	68,5675
cs 1	1,1049	0,0028	1,1029	1,1069	69,2493
abs	Ortalama	STD	7		İnhibisyon
cs 4	0,3033	0,0005	0,3029	0,3036	65,5340
cs3	0,2414	0,0002	0,2415	0,2412	72,5681
cs 2	0,2682	0,0018	0,2669	0,2695	69,5227
cs 1	0,2005	0,0039	0,2032	0,1977	77,2159
abs	Ortalama	STD	8		İnhibisyon
cs 4	0,5067	0,0052	0,5030	0,5103	33,0027
cs3	0,4231	0,0011	0,4223	0,4238	44,0565
cs 2	0,3851	0,0047	0,3884	0,3817	49,0810
cs 1	0,2237	0,0013	0,2228	0,2246	70,4217
abs	Ortalama	STD	9		İnhibisyon
cs 4	0,4562	0,0211	0,4711	0,4413	63,4015
cs3	0,3442	0,0367	0,3701	0,3182	72,3866
cs 2	0,2732	0,0017	0,2744	0,2720	78,0826
cs 1	0,2132	0,0091	0,2196	0,2068	82,8961
abs	Ortalama	STD	10		İnhibisyon

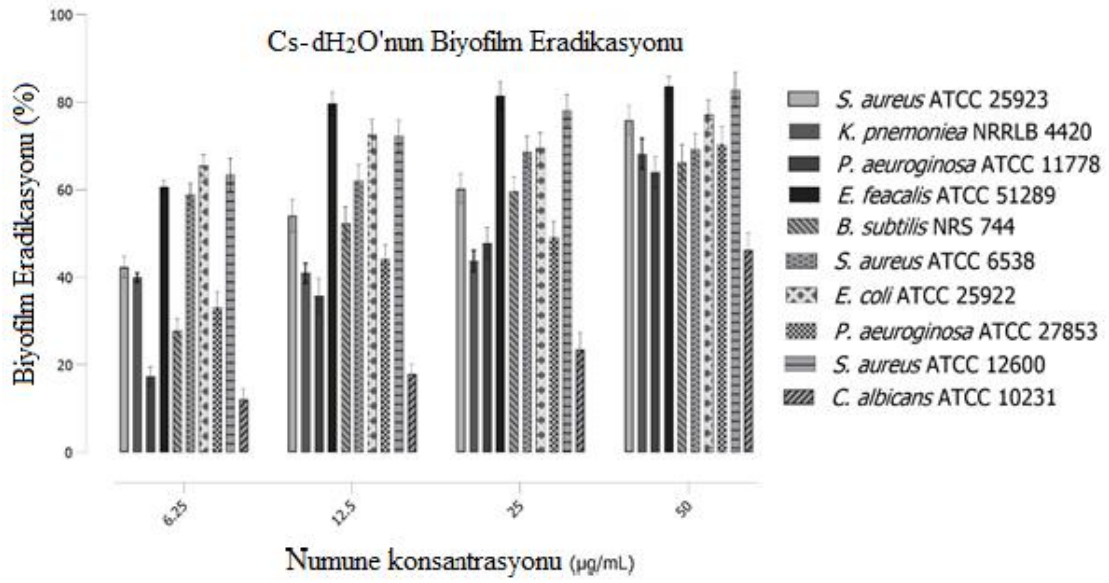
cs 4	0,2057	0,0074	0,2004	0,2109	47,1387
cs3	0,1733	0,0048	0,1699	0,1767	23,9628
cs 2	0,1574	0,0064	0,1528	0,1619	12,5894
cs 1	0,1213	0,0023	0,1229	0,1197	13,2331

Tablo 3.6. Pozitif kontrol biyofilm eradikasyon etkisi

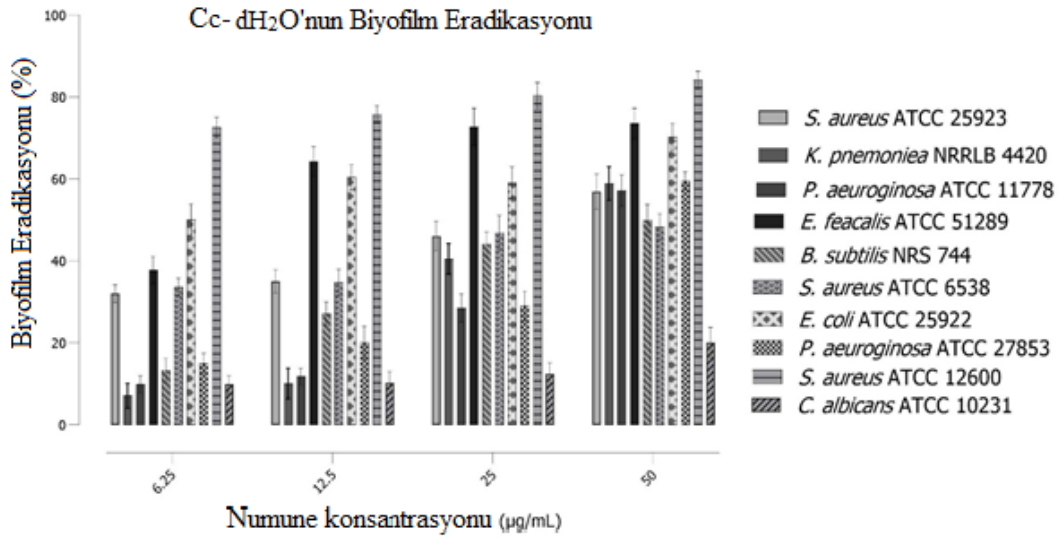
abs	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
%50 konstan trasyon	0,0735	0,1257	0,0744	0,7802	0,0764	2,5399	0,0794	0,0843	0,0958	0,1295
	0,8713	0,7185	0,6425	1,5102	0,6198	3,1825	0,8233	0,7216	1,2961	0,1153
%25 konstan trasyon	0,0764	0,0991	0,0775	0,5212	0,0777	2,2596	0,0720	0,0866	0,0985	0,1353
	0,8266	0,7092	0,6222	1,5109	0,6195	3,5293	1,1473	0,7794	1,2296	0,1210
%12,5 konstan trasyon	0,0788	0,0774	0,0723	0,8134	0,0787	2,5802	0,0737	0,0851	0,0963	0,1268
	0,8090	0,7708	0,6301	1,7122	0,6256	3,7361	0,8145	0,7670	1,2234	0,1345
%6,25 konstan trasyon	0,0793	0,0747	0,0743	1,2267	0,0709	2,5569	0,0773	0,0880	0,0942	0,1257
	0,8674	0,8903	0,6225	1,5733	0,6700	3,9246	0,7349	0,7573	1,2370	0,1885
Ortalama	0,4586	0,4533	0,3498	1,3314	0,3613	3,1995	0,4251	0,4244	0,6627	0,1439
	0,5536	0,5473	0,4192	1,4609	0,4320	3,3543	0,5130	0,5092	0,8043	0,1481
STD	0,3641	0,3651	0,2643	0,2217	0,2766	0,6140	0,3355	0,3228	0,5438	0,0279



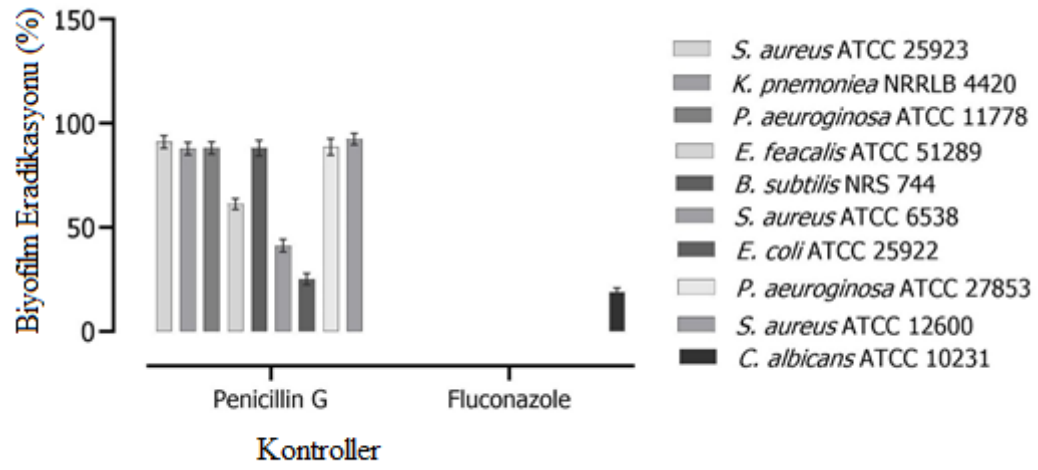
Şekil 3.6 Cl-dH₂O Biyofilm Eradikasyonu



Şekil 3.7 Cs-dH₂O Biyofilm Eradikasyonu



Şekil 3.8 CC-dH₂O Biyofilm Eradikasyonu



Şekil 3.9 Pozitif Kontrol grubu Biyofilm Eradikasyonu

4. TARTIŞMA

Mikroorganizmaların biyofilm oluşturmaları hem enfeksiyonların tedavisini zorlaştırmanın yanında sağlık ve gıda sektörlerinde ciddi ekonomik kayıplara neden olduğu bilinmektedir (Van Haudt ve ark. 2010; Sabir ve ark. 2017). Farklı araştırmalar birçok mikroorganizmanın biyofilm oluşturma yeteneğine sahip olduğunu göstermiştir (Soares Gleise ve ark. 2016; Jarnal ve ark. 2019). Bu çalışmada, kongo kırmızısı agar ve mikrotitre plaka yöntemlerinin sonuçları, test edilen tüm patojen mikroorganizmaların biyofilm oluşturma yeteneğine sahip olduğunu göstermiştir. *S. aureus* ATCC 25923, *P. aeruginosa* ATCC 11778, *P. aeruginosa* ATCC 11778, *S. aureus* ATCC 6538, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *S. aureus* ATCC 12600 güçlü biyofilm üreticisi olarak değerlendirilirken, Croes vd. (2009), farklı klonal soyların klinik *S. aureus* izolatlarının in vitro biyofilm oluşumunun çalışıldığı araştırmada, *S. aureus* izolatlarının belirli koşullar altında güçlü biyofilm oluşumuna sahip olduğunu ortaya koymuşlardır. Farklı bir çalışmada ise Heidari vd. (2018), *Pseudomonas aeruginosa* ve *Staphylococcus spp.*'nin biyofilm oluşumunu ortaya çıkarmışlardır.

Wu vd. (2020), test edilen patojen mikroorganizmaların biyofilm oluşumunu değerlendirmiştir, test edilen patojen mikroorganizmalar, çeşitli antibiyotiklere karşı direnç ve çeşitli seviyelerde biyofilm oluşturma yeteneği gösterdiği kanıtlamışlardır. EPS, mikroorganizmaların kohezyonundan ve biyofilmlerin yüzeylere yapışmasından, mikroorganizmalar arasındaki etkileşimlere izin vermesinden ve hücreler arasında yapıştırıcı görevi görmesinden sorumlu olduğu bilinmektedir (Costa ve ark. 2018).

İnsanlık tarihi boyunca bulaşıcı hastalıkların bitkilerden elde edilen bileşikler ve bitkisel ilaçlarla tedavi edildiği yapılan bir çok çalışmada ortaya koyulmuştur. Yapılan çok sayıda farklı çalışmalar da varılan sonuçlarına göre bu alanda halen yapılması gereken çok sayıda çalışma olduğu görülmektedir. Tıbbi ve aromatik bitkilere olan ilgi günümüzde artmış olsada ülkemizin zengin florasına ait pek çok endemik tür potansiyel taşıyıp çalışılmasına ihtiyaç duyulmaktadır. Mevcut çalışmanın sonuçları, patojen test mikroorganizmalarının biyofilm inhibisyonunun ve biyofilm eradikasyonunun yüzdelерinin artan Cl-dH₂O, Cc-dH₂O, Cs-dH₂O yaprak özütlerine bağlı olarak arttığını

göstermiştir. Cl-dH₂O, Cc-dH₂O, Cs-dH₂O ekstraktlarının en yüksek konsantrasyonu patojen test mikroorganizmalarının MBIC50 ve MBEC50 değerlerine pozitif kontrol olarak etkili olmuştur.

Cistus sp.'nin biyolojik özelliklerini değerlendirmek için çok sayıda çalışma yapılmış olmasına rağmen, *Cistus sp.*'nin patojen mikroorganizmalara karşı antibiyofilm aktivitesi hakkında sınırlı araştırma bulunmaktadır (Zalegh vd. 2021). Hanning et al. (2008), *cistus* çayının ağız boşluğundaki ilk bakteriyel yapışmayı azaltmak için kullanılabileceğini ortaya koymuştur. Bu çalışmanın sonuçlarına göre, emaye plakaların yerleştirilmesinden bir dakika sonra *Cistus* ekstratları ile 10 dakikalık bir durulama yapıldığında 120 dakikalık biyofilmde tespit edilen bakteri miktarı önemli ölçüde azaldığını bildirmişlerdir. Lekbach vd. (2018), yaptıkları çalışma ile *C. ladanifer* özütünün *P. aeruginosa* planktonik hücrelerinin büyümesini ve biyofilm oluşumunu engellediğini göstermişlerdir. Bir başka çalışmada Alvarez Martínez vd. (2021), *C. salviifolius* ekstresinin *S. aureus* izolatlarına karşı daha yüksek antimikrobiyal aktivite sergilediğini ortaya koymuştur. Önceki çalışmalar, bitki özlerinin polifenoller ile antimikrobiyal aktiviteler arasında bir ilişki olduğunu göstermiştir (Zalegh vd. 2021). Daha önceki bir çalışmada, Cl-dH₂O, Cc-dH₂O, Cs-dH₂O yaprak ekstraktlarının patojen test mikroorganizmalarına karşı antibiyofilm aktivitelerinin ekstraktların biyoaktif maddeleri ile ilişkili olduğu öne sürülmüştür.

5.SONUÇ VE ÖNERİLER

Tablo 5.1 Çalışmada elde edilen verilere göre en etikili olduğu düşünülen sonuçlar

Patojenler	% 6,25 konsant rasyon inhibe	% 12,5 konsant rasyon inhibe	% 25 konsant rasyon inhibe	% 50 konsant rasyon inhibe	% 6,25 konsant rasyon eradikasyon	% 12,5 konsant rasyon eradikasyon	% 25 konsant rasyon eradikasyon	% 50 konsant rasyon eradikasyon
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	Cs % 12,38	Cs % 18,72	Cs % 29,08	Cc % 31,64	Cs % 42,33	Cs % 54,07	Cs % 60,28	Cs % 75,86
<i>K. pnemoniea</i> NRRLB 4420	Cl % 13,57	Cl % 15,31	Cs % 21,46	Cs % 27,61	Cs % 39,95	Cs % 40,94	Cs % 43,75	Cs % 68,20
<i>P. aeuroginosa</i> ATCC 11778	Cc % 21,59	Cl % 14,95	Cl % 16,91	Cc % 29,62	Cs % 17,40	Cs % 35,72	Cs % 47,86	Cs % 63,20
<i>E. feacalis</i> ATCC 51289	Cs % 4,03	Cc % 7,0	Cl % 14,32	Cs % 22,02	Cs % 60,56	Cs % 79,69	Cs % 81,49	Cs % 83,63
<i>B. subtilis</i> NRS 744	Cs % 5,79	Cc % 12,59	Cc % 17,84	Cc % 29,02	Cs % 27,83	Cs % 53,23	Cs % 59,69	Cs % 66,27
<i>S. aureus</i> ATCC 6538	Cc % 86,82	Cc % 87,69	Cc % 89,03	Cc % 90,93	Cs % 58,84	Cs % 62,02	Cs % 68,56	Cs % 69,24
<i>E.coli</i> ATCC 25922	Cc % 36,23	Cc % 56,14	Cc % 64,67	Cc % 69,49	Cs % 65,53	Cs % 72,56	Cs % 69,52	Cs % 77,21
<i>P. aeuroginosa</i> ATCC 27853	Cl % 4,14	Cl % 14,43	Cl % 17,91	Cl % 25,50	Cs % 33,0	Cs % 44,05	Cs % 49,08	Cs % 70,42
<i>S. aureus</i> ATCC 12600	Cc % 26,79	Cc % 35,05	Cc % 48,68	Cc % 57,11	Cc % 72,56	Cc % 75,75	Cc % 80,32	Cc % 84,13
<i>C. albicans</i> ATCC 10231	Cl % 2,15	Cl % 10,56	Cl % 23,71	Cl % 50,89	Cs % 47,13	Cs % 23,96	Cl % 23,32	Cs % 13,23

Tablo 5.2 Çalışma verilerine göre ekstrelerin ve farklı konsantrasyonların etkileri

Çıkarımlar
%6,25 konsantrasyonda tüm patojenler arasında inhibe değerleri karşılaştırıldığında cc nin daha yüksek olduğunu gördü
%12,5 konsantrasyonda tüm patojenler arasında inhibe değerleri karşılaştırıldığında cc nin daha yüksek olduğu gördü
%25 konsantrasyonda tüm patojenler arasında inhibe değerleri karşılaştırıldığında cc nin daha yüksek olduğu gördü
%50 konsantrasyonda tüm patojenler arasında inhibe değerleri karşılaştırıldığında cc nin daha yüksek olduğu gördü
%6,25 konsantrasyonda tüm patojenler arasında eradikasyon değerleri karşılaştırıldığında cs nin daha yüksek olduğu gördü
%12,5 konsantrasyonda tüm patojenler arasında eradikasyon değerleri karşılaştırıldığında cs nin daha yüksek olduğu gördü
%25 konsantrasyonda tüm patojenler arasında eradikasyon değerleri karşılaştırıldığında cs nin daha yüksek olduğu gördü
%50 konsantrasyonda tüm patojenler arasında eradikasyon değerleri karşılaştırıldığında cs nin daha yüksek olduğu gördü

Tablo 5.3 Çalışma verilerine göre ekstrelerin tüm biyofilm tabakası oluşturan patojenler üzerine etkileri

Patojenler	İnhibe	Eradikasyon
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	cs su ekstresinin daha etkili olduğu gördü	cs su ekstresinin daha etkili olduğu gördü
<i>K. pneumoniae</i> NRRLB 4420	cs su ekstresinin daha etkili olduğu gördü	cs su ekstresinin daha etkili olduğu gördü
<i>P. aeruginosa</i> ATCC	Cc su ekstresinin daha etkili olduğu gördü	cs su ekstresinin daha etkili olduğu gördü

11778		
<i>E. faecalis</i> ATCC 51289	cs su ekstresinin daha etkili olduğu görüldü	cs su ekstresinin daha etkili olduğu görüldü
<i>B. subtilis</i> NRS 744	cc su ekstresinin daha etkili olduğu görüldü	cs su ekstresinin daha etkili olduğu görüldü
<i>S. aureus</i> ATCC 6538	cc su ekstresinin daha etkili olduğu görüldü	cs su ekstresinin daha etkili olduğu görüldü
<i>E.coli</i> ATCC 25922	cc su ekstresinin daha etkili olduğu görüldü	cs su ekstresinin daha etkili olduğu görüldü
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	cl su ekstresinin daha etkili olduğu görüldü	cs su ekstresinin daha etkili olduğu görüldü
<i>S. aureus</i> ATCC 12600	cc su ekstresinin daha etkili olduğu görüldü	cc su ekstresinin daha etkili olduğu görüldü
<i>C. albicans</i> ATCC 10231	cl su ekstresinin daha etkili olduğu görüldü	cs su ekstresinin daha etkili olduğu görüldü

Bu çalışmadan varılan sonuçlara göre, bu çalışmada incelenen bitki türlerinin *Listeria monocytogenes* ATCC 19115, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Klebsiella pneumoniae* NRRLB 4420, *Enterococcus faecalis* ATCC 51289, *Escherichia coli* ATCC 35218, *Bacillus subtilis*'e karşı değişen derecelerde antibiyofilm aktivitelerine sahip olduğu ortaya çıkmıştır. Ortaya koyulan biyofilm eradikasyon değerlerinin inhibisyon değerlerinin yüzdesi, biyofilm oluşumunun ortadan kaldırılmasında etkili olan değerlerden daha fazla olduğu ortaya koyulmuştur. *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 12600, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 11778, *Candida albicans* ATCC 10231 patojen test mikroorganizmalarına karşı çalışmaya dahil edilen ekstraktlardan Cs-dH₂O, patojen test mikroorganizmasına karşı daha fazla antibiyofilm etkisi gösterdiği sonucuna varılmıştır. Bu nedenle, Cl-dH₂O, Cc-dH₂O, Cs-dH₂O yaprak özleri, özellikle bağışıklık yetersizliği olan hastaları tedavi etmek için ilaç keşfi için potansiyel bir aday olabileceği deneysel çalışmalardan varılan sonuçlara göre

düşünülmektedir. Ayrıca antimikrobiyal bileşikleri izole etmek ve aktivite mekanizmasının belirlenmesi adına daha fazla araştırma yapılmasının gerekliliği görülmüştür.

Genel olarak mikroorganizmaların canlı yaşamı ve tüm yaşam alanları üzerindeki yararlı etkileri ve gereklilikleri göz ardı edilemez bir gerçektir. Yararlı mikroorganizmalar dışında patajenite özelliği göstererek canlı yaşamını olumsuz etkileyen farklı mikroorganizma türleri olduğu da gün geçtikçe gerçekleştirilen yeni çalışmalarca ortaya koyulmaktadır. Özellikle antibiyotikler antimikrobiyal ajan olarak bu patojen bakterilerin tedavilerinde kullanılmaktadır, fakat mikroorganizmalar bu kullanılan ajanlara karşı zaman içinde direnç kazanabilmektedirler. Direnç mekanizmaları geliştirmelerinin yanında antibiyotikler özellikle insan vücudunda kullanımlarından sonra organizmanın metabolik faaliyetlerinde bozulmalara neden olabilmektedirler. Zamanla kazanılan bu direnç tedavi sürecini güçleştirmenin yanında ekonomik kayıplar da ortaya çıkararak hastalık etmenin ortadan kaldırılması sürecinde sorun yaratmaktadır. Bunun yanında zaten direnç geliştirebilme yeteneğine sahip olan patojen mikroorganizmaların biyofilm tabakası ile kendini antimikrobiyal ajanlara karşı yeni bir koruma oluşturması sorunu büyütülmektedir. Tüm bu etmenler göz önüne alındığında yeni antimikrobiyal ajanların geliştirilmesine yönelik yeni kaynak araştırılması çalışmaları cazip hale gelmektedir. Bu fikirden yola çıkılarak bitkilerin bu yeni antimikrobiyal ajan çalışmalarında alternatif kaynak olabileceği fikri son yıllarda yaygınlaşmıştır. Özellikle endemik bitki türlerinden farklı antimikrobiyal etkenler elde edilebileceği fikri oluşmuştur. Söz konusu patojenler ve biyofilm tabakaları ile mücadelede etkili, çevre dostu, ekonomik, doğal, canlı organizma sağlığını tehdit etmeyen bitki kaynaklı yeni antimikrobiyal ajan olarak kullanımı önerilebileceği düşünülmüştür. Coğrafyamız da doğal olarak yetişen bu bitkilerin tespiti ve çalışmaları yapılarak tıp ve endüstride bu tür kullanım alanlarının araştırılması faydalı olacaktır.

6.KAYNAKÇA

- A. E. Hakverdi and N. Yiğit, “Yozgat-Akdağmadeni Yöresinde Bulunan Bazı Tıbbi ve Aromatik Bitkiler,” Bartın Orman Fakültesi Dergisi., vol. 19, no. 2, p. 82-87, 2017.
- Akan, E. ve Kınık, Ö. (2014). Biyofilm oluşum mekanizması ve biyofilmlerin gıda güvenliğine etkisi. Gıda ve Yem Bilimi-Teknolojisi Dergisi, 14: 42-51.
- Akond, M.A., Hassan, S.M.R., Alam, S., Shirin, M., 2009, “Antibiotic resistance of *Escherichia coli* isolated from poultry and poultry environment of Bangladesh”, *American Journal of Environmental Sciences*, 5: 47-52.
- Alpınar, K. 2010. Halk Arasında Kullanılan Tıbbi Bitkilerin Derlenmesi, Bitkilerle Tedavi Sempozyumu 5-6 Haziran 2010 Zeytinburnu/İstanbul Bildiri Kitabı, 19-28.
- Altınok, Ö., Gürpınar, Ö., Eser, Ö. (2018). Bakteriyel biyofilmler. Tıp Fakültesi Klinikleri Dergisi, 1(2), 45- 51.
- Alvarez-Martinez FJ, Rodriguez JC, Borrás-Rocher F, Barrajon-Catalan E and Micol V 2021 The antimicrobial capacity of *Cistus salviifolius* and *Punica granatum* plant extracts against clinical pathogens is related to their polyphenolic composition. *Sci. Rep.* 11 588.
- Anonim, 2007. Ulusal Biyolojik Çeşitlilik Stratejisi ve Eylem Planı 2007.
- Aslam B, Wangi W, Arshad MI, Khurshid M, Muzammil S, Rasool MH, Nisar MA, Alvi RF, Aslam MA and Qamar MU 2018 Antibiotic resistance: a rundown of a global crisis. *Infect. Drug Resist.* 11 1645-1658.
- Atabey, C., “Piyasada satışa sunulan peynirlerden elde edilen jenerik *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus* suşlarının antibiyotik dirençliliklerinin belirlenerek,mastitis kontrol ve tedavi programlarında kullanılan antibiyotiklerle

- ilişkisinin belirlenmesi”, Adnan Menderes Üni. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 25, Aydın (2011).
- Attaguile G, Russo A, Campisi A, Savoca F, Acquaviva R, Ragusa N and Vanella A 2000 Antioxidant activity and protective effect on DNA cleavage of extracts from *Cistus incanus* L. and *Cistus monspeliensis* L. *Cell Biol Toxicol* 16 83-90.
- Barrajon-Catalan E, Fernandez-Arroyo S, Roldan C, Guillen E, Saura D, Segura-Carretero A and Micol V 2011 A systematic study of the polyphenolic composition of aqueous extracts deriving from several *Cistus* genus species:evolutionary relationship. *Phytochem. Anal.* 22 303-312.
- Barros L, Duenas M, Aloes CT, Silvac S, Henriques M, Santos-Buelga C and Ferreira C.F.R.I 2013 Antifungal activity and detailed chemical characterization of *Cistus ladanifer* phenolic extracts. *Ind. Crops Prod.* 41 41-45.
- Başaran, A.A. 2012. Ülkemizdeki Bitkisel İlaçlar ve Ürünlerde Yasal Durum. MİSED, Sayı : 27-28, s: 22-26
- Başer, K.H.C. 1990. Tıbbi Bitki ve Baharatların Dünyada ve Türkiye’deki Ticareti ve Talep Durumu, Tarım Orman ve Köy İşleri Bakanlığı Dergisi, 53; ss18-22.
- Baydar H., Gürel F. 1998. Antalya Doğal Florasında Bal Arısı (*Apis mellifera*)’nın Polen Toplama Aktivitesi, Polen Tercihi ve Farklı Polen Tiplerinin Morfolojik ve Kalite Özellikleri. *Tr. J. Of Agriculture and Forestry*, 22, 475–482.
- Bayram E. Kırıcı S. Tansı S. Yılmaz G. Arabacı O. Kızıl S. Telci İ.2010. Tıbbi Bitkilerin Üretimini Arttırılması olanakları. VI. Türkiye Ziraat Mühendisliği Teknik Kongresi C.1:S.453 -48
- Baytop T. Türkiye’de bitkilerle tedavi – Geçmişte ve bugün, Nobel Tıp Kitabevleri, İlaveli II. Baskı, 1999; İstanbul.
- Beğendik, F. (2003). İnfeksiyon hastalıkları ve klinik mikrobiyolojide biyofilm. *Flora Dergisi*, 8(4), 271-277.
- Benali T, Bouyahya A, Habbadi K, Zengin G, Khabbach A, Achbani H and Hammani K 2020 Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil and

extracts of *Cistus ladaniferus* subsp. *ladanifer* and *Mentha suaveolens* against phytopathogenic bacteria and their ecofriendly management of phytopathogenic bacteria. *Biocatal. Agric. Biotechnol.* 28 101696.

Ben-Bakrim W, Aghraz A, Hriouch F, Larhsini M, Markouk M, Bekkouche K, Costa R, Arrigo S, Cicero N and Dugo G 2022 Phytochemical study and antioxidant activity of the most used medicinal and aromatic plants in Morocco. *J. Essential Oil Res.* 1-12.

Binici, A., 2002. Baharat Değerlendirme Raporu, Orta Anadolu Đhracatçı Birlikleri Genel Sekreterliği, ss.1-37.

Bowler P, Murphy C and Wolcott R 2020 Biofilm exacerbates antibiotic resistance: Is this a current oversight in antimicrobial stewardship. *Antimicrob. Resist. Infect. Control* 9 162.

Bown D. Encyclopedia of herbs and their uses, the herb society of America, 2004;167:16-8, Darling, Kindersley, London.

Bozkurt, H., Güdücüođlu, H., Gülmez, S., Kumru A., İzci, H. Berктаş, M., 2005, “Erişkin yaş grubu idrar kültürlerinden izole edilen *Escherichia coli* suşlarının antimikrobilyallere duyarlılıkları”, *Van Tıp Dergisi*, 12: 232-235.

Catoni R, Gratani L and Varone L 2012 Physiological, morphological and anatomical trait variations ween winter and summer leaves of *Cistus* species. *Flora: Morphology, Distribution, Functional Ecology Plants* 207 442-449.

Cetin H and Yanikoglu A 2006 A study of the larvicidal activity of *Origanum* (Labiatae) species from southwest Turkey. *J Vector Ecol* 31 118-122.

Ceylan, A. 1995. Tıbbi Bitkiler I. E.Ü. Ziraat Fakültesi Yayınları III. Basım No:312. Bornova/İzmir.

Chiang, W.C., Nilsson, M., Jensen, P.Ø., Høiby, N., Nielsen, T.E., Givskov, M., Tolker-Nielsen, T., 2013, “Extracellular DNA shields against aminoglycosides in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms”, *Antimicrob Agents Chemother*, 57(5): 2352–2361.

- Comandini O, Contu M and Rinaldi AC 2006 An overview of *Cistus* ectomycorrhizal fungi. *Mycorrhiza* 16 381-395.
- Coode MJE. Cistaceae. P Davis, Mill R, Tan K, (Ed.). Flora of Turkey and the East Aegean Islands. 1988; 10, Edinburgh University Press. Edinburgh, UK. 61p
- Costa OY, Raaijmakers JM and Kuramae EE 2018 Microbial extracellular polymeric substances: ecological function and impact on soil aggregation. *Front Microbiol* 9 1636.
- Croes S, Deurenberg RH, Boumans MLL, Beisser PS, Neef C and Stobberingh EE 2009 *Staphylococcus aureus* biofilm formation at the physiologic glucose concentration depends on the *S. aureus* lineage. *BMC Microbiol* 9 1-9.
- Çiftçi, İ. H., Çetinkaya, Z., Aktepe, O. C., Arslan, F. ve Altındış, M., 2005, “Klinik örneklerden izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının antibiyotiklere duyarlılıkları”, *Türk Mikrobiyol. Cem. Derg.*, 35: 98 – 102.
- Dagmar, L. 2002. The Role of East and Southeast Europe in the Medicinal and Aromatic Plants Trade, Medicinal Plant Conservation Group, Germany.
- Darwish SF and Asfour HAE 2013 Investigation of biofilm forming ability in staphylococci causing bovine mastitis using phenotypic and genotypic assays. *Sci World J* 378492.
- Davies D 2003 Understanding biofilm resistance to antibacterial agents. *Nat Rev Drug Discov.* 2 114-122.
- Davis P.H. 1988. Flora of Turkey and the East Aegean Islands, Vol. 10. Edinburgh University Press, p. 61–62.
- Davis PH 1965 Flora of Turkey and The East Aegean Islands. Vol. 1, Edinburgh University Press, p. 506-508.
- Demetzos D, Dimas K, Hatziantoniou S, Anastasaki T and Angelopoulou D 2001 Cytotoxic and anti-inflammatory activity of labdane and *cis*-clerodane type diterpenes. *Planta Medica* 67 614-618.

- Demirezer, L.Ö.,2010. Bitkilerin Tıpta Kullanılması Konusundaki Sorumluluklarımız. Bitkilerle Tedavi Sempozyumu 5-6 Haziran 2010 Zeytinburnu/İstanbul Bildiri Kitabı, s: 87- 88.
- Dimas K, Demetzos C, Angelopoulou D, Kolokouris A and Mavromoustakos T 2000 Biological activity of myricetin and its derivatives against human leukemic cell lines in vitro. *Pharmacol. Res.* 42 475-478.
- Donlan, R.M. and Costerton, J.W. (2002). Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clinical Microbiology Review*, 15: 167-193.
- Douglas, L. J., 2003, “Candida biofilms and their role in infection”, *Trends Microbiol.*, 11: 30-36.
- Drenkard, E. (2003). Antimicrobial resistance of *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Microbes and Infection*, 5: 1213-1219.
- Driffield, K., Miller, K., Bostock, J.M., O’Neill, A.J., Chopra, I., 2008, “Increased mutability of *Pseudomonas aeruginosa* in biofilms”, *J. Antimicrob. Chemother.*, 61(5): 1053–1056.
- Ehrhardt C, Hrinčius ER, Kort, V, Mazur I, Droebner K, Poetter A, Dreschers S, Schmolke, M., Planz O and Ludwig S 2007 A polyphenol-rich plant extract, CYSTUS052, exerts anti-influenza virus activity in cell culture without toxic side effects or the tendency to induce viral resistance. *Antivir Res* 76 38-47.
- Erdoğan, S.F., Konak, S. (2020). Bazı antibiyotiklerin biyofilm oluşturan stafilocok izolatları üzerindeki etkilerinin değerlendirilmesi. *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 10(2), 838-845.
- Ersöz, T. 2010. Bitkisel ürünler ve Güvenilirliği. Bitkilerle Tedavi Sempozyumu 5-6 Haziran 2010 Zeytinburnu/İstanbul Bildiri Kitabı, 89-93
- Ertem, H. 1987. Boğazköy Metinlerine Göre Hititler Devri Anadolu’sunun Florası. *Türk Tarih Kurumu Yayınları VII. Dizi-S65a.*

- Fernandes JBC, Zanardo LG, Galvao NN, Carvalho IA, Nero LA and Moreira MAS 2011 *Escherichia coli* from clinical mastitis: serotypes and virulence factors. *J Vet Diagn. Invest.* 23 1146-1152.
- Fierascu RC, Fierascu I, Baroi AM and Ortan A 2021 Selected aspects related to medicinal and aromatic plants as alternative sources of bioactive compounds. *Int. J. Mol. Sci.* 22 1521.
- Flemming HC, Wingender J, Szewwzyk U, Steinberg P, Rice SA and Kjelleberg S. 2016 Biofilms: an emergent form of bacterial life. *Nat Rev Microbiol* 14 563-75.
- Freeman DJ, Falkiner FR and Keane CT 1989 New method for detecting slime production by coagulase negative staphylococci. *J. Clin. Pathol.* 42 872-874.
- Ganaie HA 2021 Review of the active principles of medicinal and aromatic plants and their disease fighting properties. *Medicinal Aromat Plants* 1-36.
- Gezgin, D. 2006. Bitki Mitosları. Sel Yayıncılık.
- Ghigo, J.M., 2001, "Natural conjugative plasmids induce bacterial biofilm development", *Nature*, 412(6845): 442-445.
- Ghorbanpour M, Hadian J, Nikabadi S and Varma A 2017 Importance of medicinal and aromatic plants in human life. *Medicinal Plants Environ Challeng* 1-23.
- Gomes F, Martins N, Ferreira ICFR and Henriques M 2019 Anti-biofilm activity of hydromethanolic plant extracts against *Staphylococcus aureus* isolates from bovine mastitis. *Heliyon* 5(5) e01728.
- Gülay, Z., 1999, "Antimikrobiyal ilaçlara direnç", Temel ve Klinik Mikrobiyoloji, Bölüm 9, Editor, Ustaçelebi Ş, Güneş Kitabevi, Ankara.
- Gür, D., 2008, "Bakterilerde antibiyotiklere karşı direnç", Enfeksiyon hastalıkları ve mikrobiyolojisi, Wilke Topçu A, Söyletir G, Doğanay M (eds), 3. Baskı, İstanbul Nopel Tıp Kitabevi, 243-257.
- Gürhan G., Ezer N. 2004. Halk Arasında Hemoroid Tedavisinde Kullanılan Bitkiler-I. Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi, 24:1, 37-55.

- Güvenç A, Yıldız S, Özkan AM, Erdurak CS, Coşkun M, Yılmaz G, Okuyama T, Okada Y. Antimicrobiological Studies on Turkish Cistus Species. *Pharm Biol.* 2005; 43(2):178–183.
- Hall-Stoodley L, Costerton J and Stoodley P 2004 Bacterial biofilms: from the natural environment to infectious diseases. *Nat Rev Microbiol* 2 95-108.
- Hannig C, Spitzmüller B, Al-Ahmad A and Hannig M 2008 Effects of Cistus-tea on bacterial colonization and enzyme activities of the *in situ* pellicle. *J. Dentistry* 36 540-545.
- Heidari H., Ebrahim-Saraie HS, Mirzaei A, Taji A, Hosseini SR and Motamedifar, M 2018 Characterization of virulence factors, antimicrobial resistance patterns and biofilm formation of *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus spp.* strains isolated from corneal infection. *J. Fr. Ophtalmol.* 41 9823-829.
- Hortaç İstar, E., Eda Alışkan, H.E., Başustaoğlu, A. (2020). Metisiline duyarlı ve dirençli *Staphylococcus aureus* izolatlarının biyofilm oluşturma özelliklerinin konvansiyonel ve moleküler yöntemlerle belirlenmesi. *Mikrobiyoloji Bülteni Dergisi*, 54(2), 223-234.
- İnternet: Biyofilm Nedir?, 2014, http://www.diatek.com.tr/Makale-Yontem/Mikrobiyolojik-Analiz/Biyofilm-Nedir_3317.html
- Jain A and Agarwal A 2009 Biofilm production, a marker of pathogenic potential of colonizing and commensal staphylococci. *J Microbiol Methods* 76 88-92.
- Jamal M, Andleeb S, Jalil F, Imran M, Nawaz MA, Hussain T, Ali M, Rahman S and Das Rajanna C 2019 Isolation, characterization and efficacy of phage MJ2 against biofilm forming multi-drug resistant *Enterobacter cloaca*. *Folia Microbiol* 64 101-111.
- Jasovsky D, Littman J, Zorzet A and Cars O 2016 Antimicrobial resistance a threat to the world's sustainable development. *Upsala J Med Sci* 121 159-64.
- Jay, J.M., “Staphylococcal gastroenteritis, modern food microbiology 4th Ed.”, Chapman and Hall, New York, London, 455-478 (1992).

- Jellin JM, et al. Pharmacist's letter/prescriber's letter natural medicines comprehensive database. 4th ed. Stockton, CA: Therapeutic Research Facility 2002;103-5.
- Joseph, D., Yao, C., Robert, C., Moellering, J.R., 2009, "Antibakteriyel ajanlar", Temel ve Klinik Mikrobiyoloji, Bölüm 70, in Editors, Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Landry ML, Pfaller MA, Çeviri Editörü Başustaoğlu A, cilt 1, 9. Baskı, Atlas Kitapçılık, Ankara.
- Kairo SK, Bedwell J, Tyler PC, Carter A and Corbel MJ 1999 Development of a tetrazolium salt assay for rapid determination of viability of BCG vaccines. *Vaccine* 17 2423-2438.
- Kastamonu Üni., Orman Fakültesi Dergisi, 2011, 11 (1): 52 - 67 Faydaoğlu ve Sürücüoğlu Kastamonu Univ., Journal of Forestry Faculty
- Kaya, F. (2016). Süt İşletmelerinden İzole Edilen Staphylococcus Aureus Suşlarında icaA ve icaD Genleri ve Biyofilm Üretiminin Tespiti. Yüksek Lisans. Necmettin Erbakan Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Konya.
- Kenar B, Erik M, Erdogmus SF, Korcan SE, Köse Z and Durmaz G 2020 The determination of antimicrobial and antibiofilm activities of foodborne lactic acid bacteria against *Enterobacter cloacae* isolates. *Turk J Vet. Animal Sci.* 44 59-68.
- Kendir, G., Güvenç, A. 2010. Etnobotanik ve Türkiye'de Yapılmış Etnobotanik Çalışmalara Genel Bir Bakış. Hacettepe Üniv. Eczacılık Fak. Dergisi, 30(3), 49-80.
- Kılıç, T., Karaca, B., Çöleri, Cihan, A. (2021). Abiyotik yüzeylerde termofilik *Anoxybacillus Rupiensis* DSM 17127t suşunun oluşumu ve polistiren yüzeyler üzerindeki biyofilm yapısının giderimi. Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 23(2), 455-470
- Kilic DD, Siriken B, Erturk O, Tanrikulu G, Gül M, Başkan C. Antibacterial, Antioxidant and DNA Interaction Properties of *Cistus creticus* L. Extracts. *J Int Environ Appl Sci.* 2019; 14(3):110-115.

- Koçyiğit, M. 2005. Yalova Đlinde Etnobotanik Bir Araştırma, Yüksek Lisans Tezi, Đstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Kolar, M., Pantucek, R., Bardon, J., Vagnerova, I., Typovska, H., Valka, I., Doskar, J., 2002, "Occurrence of antibiotic-resistant bacterial strains isolated in poultry", *Vet. Med. Czech*, 47: 52–59.
- Kupeli E and Yesilada E 2007 Flavonoids with anti-inflammatory and antinociceptive activity from *Cistus laurifolius* L. leaves through bioassay-guided procedures. *J. Ethnopharm.* 112 524-530.
- Lahcen SA, et al. Chemical composition, antioxidant, antimicrobial and antifungal activity of Moroccan *Cistus creticus* leaves. *Chem Data Collec* 2020;26:100346.
- Latiff NA, Ong PY, Abd Rashid SNA, Abdullah LC, Mohd-Amin NA and Fauzi NAM 2021. Enhancing recovery of bioactive compounds from *Cosmos caudatus* leaves via ultrasonic extraction. *Sci Rep* 11 17291-17297.
- Lekbach Y, Xu DS, Dong Y, Liu D, Khan MS, Koraichi SI and Yang K 2018 Mitigation of microbiologically influenced corrosion of 304L stainless steel in the presence of *Pseudomonas aeruginosa* by *Cistus ladanifer* leaves extract. *Int Biodeterior Biodegradation* 133 159-169.
- Leone S, Molinaro A, Alfieri F, Cafaro V, Lanzetta R, Donato A and Parrilli M 2006 The biofilm matrix of *Pseudomonas* sp. OX1 grown on phenol is mainly constituted by alginate oligosaccharides. *Carbohydrate Res.* 341 2456-2461.
- Levinson, W., Javetz, E., "Medical Microbiology and Immunology 9nd ed.", Çeviri Editörü, Tuncay Özgünen, 30-31 (2008).
- Lewin, R. 2000. Modern Đnsanın Kökeni, TÜBĐTAK Popüler Bilim Kitapları, Çeviri: N. Özüaydın, 7. basım, TÜBĐTAK, Ankara
- Madigan, M.T.and Martinko, J.M., "Brock Biology of Microorganisms, 11 th Ed.", Prentice Hall International Inc., New Jersey, USA, 923-925,930-938, 906-908 (2006).

- Marshall VM and Rawson HL 1999 Effects of exopolysaccharide producing strains of thermophilic lactic acid bacteria on texture of stirred yoghurt. *Int J Food Sci Technol.* 34 137-143.
- Mastino PM, et al. Interpopulation variability in the essential oil composition of *Cistus creticus* subsp. *eriocephalus* from Sardinia. *Chem Biodivers* 2018b;15(9):e1800151.
- Monzon M, Oteiza C, Leiva J, Lamata M and Amorena B 2002 Biofilm testing of *Staphylococcus epidermidis* clinical isolates: low performance of vancomycin in relation to other antibiotics. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 44 319-324.
- Mulcahy, H., Charron-Mazenod, L., Lewenza, S., 2008, "Extracellular DNA chelates cations and induces antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms", *PLoS Pathog*, 4(11): e1000213.
- Murray, R.G.E., Holt, J. G., "Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, 2nd ed., vol. 5", Springer-Verlag, New York (2001).
- Nadjet M, et al. Study of the chemical composition, antimicrobial activity of the essential oil of *Cistus salviifolius* from Tissemsilt National Park (Algeria) and influence of the drying period in the shade on the yield of this oil. *South Asian J Exp Biol* 2020;9(6):238-44
- Olsen I 2015 Biofilm-specific antibiotic tolerance and resistance. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 34 877–86.
- Orhan Yanıkan, E. (2020). Et Kaynaklı Bakterilerin Biyofilm Oluşturma Yeteneklerinin ve Antibiyofilm Duyarlılıklarının Araştırılması. Doktora Tezi. Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Ankara.
- Özbek, H., 2005. Cinsel ve Jinekolojik Sorunların Tedavisinde Bitkilerin Kullanımı. *Van Tıp Dergisi*: 12 (2):170-174.
- Özhatay, N., Koyuncu, M. 1998. Türkiye'de Doğal Bitkilerin Ticareti, XII. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı 20-22 Mayıs 1998 Özet Kitabı, 5.

- Öztürk, M., Uskun, E., Özdemir, R., Çınar, M., Alptekin, F., Doğan, M. 2005. Isparta İli'nde Halkın Geleneksel Tedavi Tercihi, T K J Medical Ethics, 13, 179-186. *raştırmaları Dergisi*, 17, ss117-137.
- Patti, J.M., Allen, B.L., Mc Gavin, M.J. and Hook, M. (1994). MSCRAMM-mediated adherence of microorganisms to host tissue. *Annual Review of Microbiology*, 48: 585-617.
- Percival, S.L., Suleman, L., Vuotto, C., Donelli, G., (2015). Healthcare-associated infections, medical devices and biofilms: risk, tolerance and control, *Journal of Medical Microbiology*, 64: 323–334.
- Politeo O, et al. Phytochemical composition and antimicrobial activity of essential oils of wild growing *Cistus* species in Croatia. *Nat Prod Commun* 2018;13(6):771-4.
- Post, J.C., Stoodley, P., Hall-Stoodley, L. and Ehrlich, G.D. (2004). The role of biofilms in otolaryngologic infections. *Current Opinion of Otolaryngology Head and Neck Surgery*, 12: 185-190.
- Raza A, Muhammad S, Ghulam S and Atta A 2013 Biofilm producing *Staphylococcus aureus* and bovine mastitis: a review. *Mol. Microbiol. Res.* 3 1-18.
- Rebaya A, et al. Antibacterial and antifungal activities of ethanol extracts of *Halimium halimifolium*, *Cistus salviifolius* and *Cistus monspeliensis*. *Int J Pharm Clin Res* 2016a;8(4):243-7.
- Rebaya A, et al. Total phenolic compounds and antioxidant potential of rokrose (*Cistus salviifolius*) leaves and flowers grown in Tunisia. *Int J Pharmacogn Phytochem Res* 2016b;8:327-31.
- Richardson LA 2017 Understanding and overcoming antibiotic resistance. *PLOS Biol.* 15 1-5.
- Sabir N, Ikram A, Zaman G, Satti L, Gardezi A, Ahmed A and Ahmed P 2017 Bacterial biofilm-based catheter-associated urinary tract infections: Causative pathogens and antibiotic resistance. *Am J Infec Control* 45 1101-1105.

- Sabuncuo, T. 2011. Çivi yazılı belgeler ışığında M.Ö. 2. Bin yıl Anadolu'sunda tarım. Pamukkale Üniv. Sosyal Bilimler Enst. Yüksek lisans Tezi. 154s.
- Sahraoui R, Djellali S, Chakera AN. Morphological, anatomical, secondary metabolites investigation and physicochemical analysis of *Cistus creticus*. *Pharm Commun.* 2013; 3(4):58-63.
- San Keskin, N.O., Kahveci, E.F. (2019). Polietilen ve demir boru sistemlerinde oluşan mikrobiyel biyofilmlerin karakterizasyonu. *Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 31(1), 1-8.
- Sauer, K., Camper, A.K., Ehrlich, G.D., Costerton, J.W., Davies, D.G., 2002, "Pseudomonas aeruginosa displays multiple phenotypes during development as a biofilm", *Bacteriol*, 184(4) : 1140–1154.
- Saxena N, Maheshwari D, Dadhich D and Singh S 2014 Evaluation of congo red agar for detection of biofilm production by various clinical *Candida* Isolates. *J Evol. Med. Dental Sci* 3 2278-4748.
- Sayah K, Chemlal L, Marmouzi M, El-Jemli Y and Cherrah My El Abbes F 2017 In vivo anti-inflammatory and analgesic activities of *Cistus salviifolius* (L.) and *Cistus monspeliensis* (L.) aqueous extracts. *S. Afr. J. Bot.* 113 160-163.
- Shan M, et al. A review on the phytochemistry, pharmacology, pharmacokinetics and toxicology of geniposide, a natural product. *Molecules* 2017;22(10):1689-1718
- Silva VO, Soares LO, Junior AS, Mantovani HC, Chang YF and Moreira MAS 2014 Biofilm formation on biotic and abiotic surfaces in the presence of antimicrobials by *Escherichia coli* isolates from cases of bovine mastitis. *App. Environ. Microbiol.* 80 6136-6145.
- Simoes, M., Simoes, L.C., Vieira, M.J. (2010). A review of current and emergent biofilm control strategies. *LWT-Food Science and Technology*, 43: 573-83.
- Soares Gleise G, Costa Joice F, Melo Flávia BS, Mola R and Balbino Tereza CL 2016 Biofilm production and resistance profile of *Enterobacter* sp. strains isolated

- from pressure ulcers in Petrolina, Pernambuco, Brazil. *J. Bras Patol. Med. Lab.* 52 293-298.
- Stepien A, Aebisher D and Bartusik-Aebisher D 2018 Biological properties of *Cistus* species. *Eur. J. Clin. Exp. Med.* 16 127-132.
- Stewart, P.S., Costerton, J.W., 2001, "Antibiotic resistance of bacteria in biofilms", *Lancet*, 358 (9276): 135–138.
- Szczuka, E. and Kaznowski A. (2014). Antimicrobial activity of tigecycline alone or in combination with rifampin against *Staphylococcus epidermidis* in biofilm. *Folia Microbiologica (Praha)*, 59: 283-288.
- Şekeroğlu N, Gezici S. Koronavirüs Pandemisi ve Türkiye'nin Bazı Şifalı Bitkileri Anadolu Kliniği Tıp Bilimleri Dergisi, Ocak 2020; Cilt 25, Özel Sayı 1
- Şener, B. 2010. Bitkisel İlaçlar ve Bitkisel İlaç Mevzuatı. Bitkilerle Tedavi Sempozyumu, 5-6 Haziran 2010, Zeytinburnu İstanbul, 153-171.
- Teanpaisan R, Senapong S and Puripattavong J 2014 In vitro antimicrobial and antibiofilm activity of *Artocarpus lakoocha* (Moraceae) extract against some oral pathogens. *Tropical J. Pharm.Res.* 13 1149-1155.
- TUBİVES (2020). Türkiye Bitkileri Veri Servisi. Son Güncelleme: 20.04.2020. <http://www.tubives.com/>
- Ustun U, Ozcelik B, Baykal T. Bioactivities of Ethanolic Extract and its Fractions of *Cistus laurifolius* L. (Cistaceae) and *Salvia wiedemannii* Boiss. (Lamiaceae) Species. *Pharmacogn Mag.* 2016: 12(45): 82-85 (Supplement 1).
- Ünal, D., Tayfur, M. (2017). Biyofilm, Güncel Gastroenteroloji Dergisi, 21(2), 108-114.
- V. Gül, "Rize Yöresine Ait Tıbbi ve Aromatik Bitkilere Genel Bir Bakış," Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi., vol. 4, no. 4 97-107, 2014.
- Van Houdt R and Michiels CW 2010 Biofilm formation and the food industry, a focus on the bacterial outer surface. *J. Appl. Microbiol.* 109 17-31.

- Victoria, J., Savage, I.C. and O'Neill, A.J. (2013). Staphylococcus aureus biofilms promote horizontal transfer of antibiotic resistance. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 57(4): 1968-1970.
- Walencka E, Sadowska B, Rozalska S, Hryniewicz W and Rozalska B 2005 Lysostaphin as a potential therapeutic agent for staphylococcal biofilm eradication. *Pol. J. Microbiol.* 54 191-200.
- Walters, M.C., Roe, F., Bugnicourt, A., Franklin, M.J., Stewart, P.S., 2003, "Contributions of antibiotic penetration, oxygen limitation, and low metabolic activity to tolerance of Pseudomonas aeruginosa biofilms to ciprofloxacin and tobramycin", *Antimicrob Agents Chemother*, 47(11): 317–323.
- WHO, 2014. Traditional Medicine Strategy 2014-2023, www.who.int/en/
- Wu X, Al Farraj DA, Rajaselvam J, Alkufeidy RM, Vijayaraghavan, P, Alkubaisi NA, and Alshammari MK 2020 Characterization of biofilm formed by multidrug resistant *Pseudomonas aeruginosa* DC-17 isolated from dental caries. *Saudi J. Biol. Sci.* 27 2955-2960.
- Yaman, F. (2019). Balıklarda Biyofilm Oluşumu ve Kontrolü, İzole Edilen Bakterilerin Moleküler Tanısı. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans, 5-7.
- Yan J and Bassler BL 2019 Surviving as a community: antibiotic tolerance and persistence in bacterial biofilms. *Cell Host Microb.* 26 15-21.
- Yavuz, G., Türetgen, İ. (2018). Nanoteknolojik dezenfektanların heterotrofik biyofilmler üzerine etkisi. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 75(4), 323-332.
- Yesilcimen Akbas, M., Şar, T. (2018). B. Cereus biyofilmlerinin sitrik asit uygulamaları ile kontrolü.
- Yeşilada E, Gürbüz I, Shibata H (1999): Screening of Turkish anti-ulcerogenic folk remedies for anti-Helicobacter pylori activity. *J Ethnopharmacol*, 66: 289–293.

Yüce, A., 2001, “Antimikrobik ilaçlara direnç kazanma mekanizmaları”, *Klinik Dergisi*, 14(2):41-46.

Yüksekdağ, Z.N. ve Baltacı, N. (2013). Staphylococcus aureus türlerinde biyofilm ve biyofilm oluşumundan sorumlu genler. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 43(3): 77-83.

Zalegh I, Akssira M, Bourhia M, Mellouki F, Rhallabi N, Salamatullah AM, Alkaltham MS, Alyahya HK and Mhand RA 2021 A Review on *Cistus* sp. phytochemical and antimicrobial activities. *Plants* 10 1214.