

YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BAZI *Tanacetum* L. TÜRLERİNDE
ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTE VE
MİNİMUM İNHİBİTÖR KONSANTRASYON (MİK)
TAYİNİ

Biyolog Lale ÖZCAN

FBE Biyoloji Anabilim Dalında
Hazırlanan

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Nezhun GÖREN (Y.T.Ü.)
İkinci Tez Danışmanı: Prof. Dr. Adile ÇEVİKBAŞ (M.Ü.)

İSTANBUL, 2006

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
SİMGE LİSTESİ	iv
KISALTMA LİSTESİ	v
ŞEKİL LİSTESİ	vi
ÇİZELGE LİSTESİ	vii
ÖNSÖZ	viii
ÖZET	ix
ABSTRACT	x
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1 <i>Compositae</i> Familyası	2
2.1.1 <i>Tanacetum</i> L. Türlerinin Botanik Özellikleri	2
2.1.2 <i>Tanacetum</i> L. Türlerinin Halk Arasında Kullanımı ve Biyolojik Etkileri	8
2.2 Çalışmada Kullanılan Mikroorganizmalar ve Özellikleri	9
2.2.1 Gram Pozitif Bakteriler	9
2.2.2 Gram Negatif Bakteriler	10
2.2.3 Mayalar	11
3. DENEYSEL ÇALIŞMA	13
3.1 Materyal	13
3.1.1 Kullanılan Bitki Materyali	13
3.1.2 Test Edilen Mikroorganizmalar	14
3.1.3 Kullanılan Besiyerleri ve Çözeltiler	15
3.1.4 Tamponlar	15
3.1.5 Kullanılan Çözücüler	15
3.1.6 Kullanılan Cihazlar	15
3.1.7 Kullanılan Antimikrobikler	16
3.1.8 Mc Farland 0.5 ve 1.0 Standart Bulanıklık Çözeltilerinin Hazırlanması	16
3.2 Yöntemler	17
3.2.1 Bitki Ekstrelerinin Hazırlanması	17
3.2.2 Besiyerlerinin Hazırlanması	17
3.2.3 İnokulumun Hazırlanması	17
3.2.4 Antimikrobiklerin Stok Çözeltilerinin Hazırlanması	18
3.2.5 Agar Oluk Difüzyon Yöntemi	18
3.2.6 Minimum İnhibisyon Konsantrasyon (MİK) Tayini	19
3.2.6.1 Antibakteriyel Aktivitenin Araştırılması	19
3.2.6.2 Antifungal Aktivitenin Araştırılması	21

3.2.6.2.1	MOPS (0.165 M, pH 7.0) Hazırlanması	21
3.2.6.2.2	RPMI-1640 Besiyerinin Hazırlanması	21
3.2.6.2.3	Maya Süspansiyonunun Hazırlanması.....	21
3.2.6.2.4	Mayalarda Minimum İnhibisyon Konsantrasyon (MİK) Tayini	21
4.	BULGULAR.....	25
4.1	Antibakteriyel Aktivite Bulguları	25
4.1	Antifungal Aktivite Bulguları	28
5.	TARTIŞMA.....	42
6.	SONUÇ.....	46
KAYNAKLAR.....		48
ÖZGEÇMİŞ.....		52

SİMGE LİSTESİ

°C	Celsius Derece
cm	Santimetre
l	Litre
µg	Mikrogram
mg	Miligram
µl	Mikrolitre
ml	Mililitre
mm	Milimetre
rpm	Devir/dakika

KISALTMA LİSTESİ

ATCC	American Type Culture Collection
DS	Distile Su
DMSO	Dimetil Sülfoksit
EA	Etilasetat
EMB	Eosin Methylene Blue
F	Flukonazol
FTS	Fizyolojik Tuzlu Su (% 0.9 NaCl)
Kob	Koloni Oluşturan Birim
KUEN	The Center of Culture Collection of Microorganisms, Department Microbiology, Istanbul University
M	Meropenem
MHA	Mueller Hinton Agar
MHB	Mueller Hinton Broth
MOPS	(3[N-Morpholino] Propan Sulfonik Asit
MeOH	Metanol
MIK	Minimum İnhibitör Konsantrasyon
NCCLS	National Committe for Clinical Laboratory Standards
RPMI-1640	Roswell Park Memorial Institute
SDA	Sabouroud Dekstroz Agar
SDB	Sabouroud Dekstroz Broth

Şekil 2.1 <i>Tanacetum argenteum</i> ssp. <i>canum</i> var. <i>canum</i> ve <i>T. argenteum</i> ssp. <i>flabellifolium</i> ..	3
Şekil 2.2 <i>T. argyrophyllum</i> var. <i>argyrophyllum</i>	4
Şekil 2.3 <i>T. balsamita</i> ssp. <i>balsamitoides</i>	5
Şekil 2.4 <i>T. chiliophyllum</i> var. <i>chiliophyllum</i> ve <i>T. chiliophyllum</i> var. <i>monocephalum</i>	6
Şekil 2.5 <i>T. chiliophyllum</i> var. <i>oligocephalum</i>	6
Şekil 2.6 <i>T. kotschy</i>	7
Şekil 3.1 Bakterilerin MİK dilüsyon şeması.....	21
Şekil 3.2 Mayalar'ın MİK dilüsyon şeması.....	24
Şekil 3.3 Flukonazol'un MİK dilüsyon şeması.. ..	25
Şekil 4.1 <i>Tanacetum</i> L.bitki ekstrelerinin <i>S. epidermidis</i> ATCC 12228 kökenine karşı inhibisyon zon değerleri.....	30
Şekil 4.2 <i>T. balsamita</i> ssp. <i>balsamitoides</i> ekstrelerinin <i>S. epidermidis</i> ATCC 12228 kökenine karşı inhibisyon zon değerleri.....	33
Şekil 4.3 <i>T. chiliophyllum</i> ekstrelerinin <i>S. aureus</i> ATCC 6538 kökenine karşı gösterdiği inhibisyon zon değerleri.....	35

ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

Tablo 3.1 Test Edilen Mikroorganizmalar.....	15
Tablo 4.1 <i>T. argenteum</i> ssp. <i>argenteum</i> var. <i>canum</i> 'un antibakteriyel aktivitesi	30
Tablo 4.2 <i>T. argenteum</i> ssp. <i>flabellifolium</i> 'un antibakteriyel aktivitesi.....	31
Tablo 4.3 <i>T. argyrophllum</i> var. <i>argyrophllum</i> antibakteriyel aktivitesi	33
Tablo 4.4 <i>T. balsamita</i> ssp. <i>balsamitoides</i> 'in antibakteriyel aktivitesi	34
Tablo 4.5 <i>T. chiliophyllum</i> var. <i>chiliophyllum</i> 'un antibakteriyel aktivitesi	36
Tablo 4.6 <i>T. chiliophyllum</i> var. <i>monocephalum</i> 'un antibakteriyel aktivitesi	37
Tablo 4.7 <i>T. chiliophyllum</i> var. <i>oligocephalum</i> 'un antibakteriyel aktivitesi.....	38
Tablo 4.8 <i>T. corymbosum</i> ssp. <i>cinereum</i> 'un antibakteriyel aktivitesi	39
Tablo 4.9 <i>T. kotschy</i> 'nin antibakteriyel aktivitesi	40
Tablo 4.10 <i>Tanacetum</i> L. türlerinin antifungal aktivitesi aktivitesi	41

ÖNSÖZ

Bu tezin gerçekleştirilmesi sırasında, değerli fikirleri ve öğretileriyle bana her zaman yol gösteren danışman hocam Prof. Dr. Nezhun Gören'e; bilgisi ve tecrübesiyle desteğini esirgemeyen ikinci tez danışmanım; Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Adile Çevikbaş'a teşekkür eder, saygılarımı sunarım.

Tez çalışmamda, Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Mikrobiyoloji Bölümü'nde değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Ümran Soyoğul'a yol gösterici fikirlerinden dolayı ve deney aşamasında bilgisi ve emeğiyle yardımlarını esirgemeyen araştırma görevlisi Burçak Gürbüz Akarsu'ya, uzman biyolog Koray Derici'ye teşekkürlerimi sunarım.

Bitki materyalinin tanımlanmasında her zaman bilgisini ve tecrübesini esirgemeyen İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi'nden değerli hocam Prof. Dr. Abdülkerim Alpınar'a ve bitki materyalinin öğütülmesi işlemini gerçekleştiren teknisyen Recep Karaca'ya çok teşekkür ederim.

Tezimi yazarken karşılaştığım güçlükleri, bilgisayar konusundaki bilgi birikimiyle aşmama yardımcı olan, Yıldız Teknik Üniversitesi Biyoloji Bölüm sekreteri Çiğdem Metin'e; arkadaşlarım biyolog Ezgi Kılıç ve biyolog Mehtap Aydemir'e, beni her zaman destekleyen aileme sonsuz teşekkür eder ve minnettarlıklarımı sunarım.

1. GİRİŞ

Modern bilimlerin gelişmesiyle birlikte biyoloji, kimya, farmakoloji, toksikoloji gibi disiplinlerin kombine çalışmasıyla, halk ilacı olarak kullanılan birçok bitkinin, yapısında bulunan doğal bileşiklerin, fitokimyasal yapıları aydınlatılmakta ve biyolojik aktiviteleri saptanabilmektedir (Baykal, 1997; Dülger, 1999; Tadeğ, 2005). Ayrıca tedavi alanında son yıllarda bitkilere olan ilginin artmasıyla alternatif tedavi arayışları, infeksiyon etkenlerine karşı antimikrobiyal etki gösteren bitki ekstrelerinin destek tedavi olarak kullanımının yaygınlaşması, bitkilerin daha fazla araştırılmasına neden olmuştur (Nakipoğlu, 1992). Dünya sağlık teşkilatı (WHO) verilerine göre 91 ülkede, tedavi amacıyla kullanılan tıbbi bitkilerin sayısı 20 000 civarındadır. Tıp alanında tedavi amacıyla, antibiyotiklerin uzun süreli kullanımının, mikroorganizmaların direnç kazanmasına sebep olduğu bilinmektedir. Bu yüzden, özellikle yan etkisi daha az olan doğal bileşiklerin antimikrobiyal etkilerinin bilinmesi önem kazanmaktadır. Dünyada olduğu gibi ülkemizde de tıbbi bitkilerin mikrobiyolojik, farmakolojik, toksikolojik etkilerinin araştırılması konusunda araştırmalar hız kazanmıştır (Baykal, 1997).

Dünyada ve ülkemizde geniş yayılım gösteren *Compositae* familyasına ait bazı *Tanacetum* L. türleri halk arasında ilaç olarak, bazıları da ticari alanda insektisit, antimigren, tatlandırıcı ve parfüm maddesi olarak kullanılmaktadır (Casida, 1980; Awang, 1991). *Tanacetum* L. türleri ile yapılan çalışmalarda biyoaktif özellikler gösteren pek çok bileşik saptanmıştır (Picman, 1986; Gören, 1990; 1993a; 1994). Bitkilerden izole edilen bileşiklerin antimigren, antiülser, antimikrobiyal, antispasmodik, antiallergen, anthelmintik, anti-enflamatuar, antikoagülan, antifibrinolitik, karminatif, sitotoksik, insektisit, pestisit etkilerinin olduğu saptanmıştır (Scheerer, 1984; Thomas, 1989; Thiery, 1992; Asimgil, 1993; British Herbal Pharmacopoeia, 1996; Kalodera, 1997; Bruneton, 1999; Urzúa, 2001; Juteau, 2003). Bazı *Tanacetum* L. türlerinin bu etkilerinden dolayı tarımda üretimi yapılmaktadır (Güven, 1991).

Çalışmamızda, ülkemizin çeşitli bölgelerinden toplanan *Tanacetum* L. cinsine ait 9 türün etilasetat (EA) ve metanol (MeOH) ekstreleri, maserasyon yöntemiyle hazırlanmış ve 12 farklı mikroorganizma kökenine karşı antimikrobiyal aktiviteleri araştırılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 *Compositae* Familyası

Compositae (*Asteraceae*) familyası, yaklaşık 1509 cins ve 20.000 türle, dünyada en fazla türü olan familyadır. *Compositae* familyası, yurdumuzda iki alt familya altında toplanır; *Asteroideae* (*Tubuliflorae*) ve *Cichorioidae* (*Liguliflorae*) olarak sıralanır. *Tanacetum* cinsi *Asteroideae* alt familyasına girmektedir (Brummit, 1992).

Compositae familyasının Türkiye’de doğal olarak yetişen 130 cins ve 1130 türü bulunmaktadır (Grierson, 1975).

Dünyada ve Anadolu’da geniş yayılım gösteren *Compositae* familyasına ait birçok türün farmakolojik aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Bu familyadaki bitkiler, diterpenler ve flavanoidlerin yanı sıra ağırlıklı olarak; antibakteriyel, antifungal, anthelmintik, anti-enflamatuar, insektisit, antitümör gibi pek çok biyolojik aktiviteye sahip seskiterpen lakton sekonder metabolitlerini içermektedirler (Picman, 1986; Shing, 2002; Ertürk, 2003).

2.1.1 *Tanacetum* L. Türlerinin Botanik Özellikleri

Compositae familyasına ait *Tanacetum* cinsi yeryüzünde kuzey yarım kürede yayılış göstermekte olup, birçok türü bilinmektedir [1]. Bu cins ülkemizde 45 tür ile doğal yayılış göstermektedir. Doğu Anadolu başta olmak üzere, İç ve Güney Anadolu’da oldukça yaygındır. Tür altı düzeydekileri de göz önüne alındığında bu sayı 60’a yükselir ve bunların 18 tanesi endemiktir (Grierson, 1975).

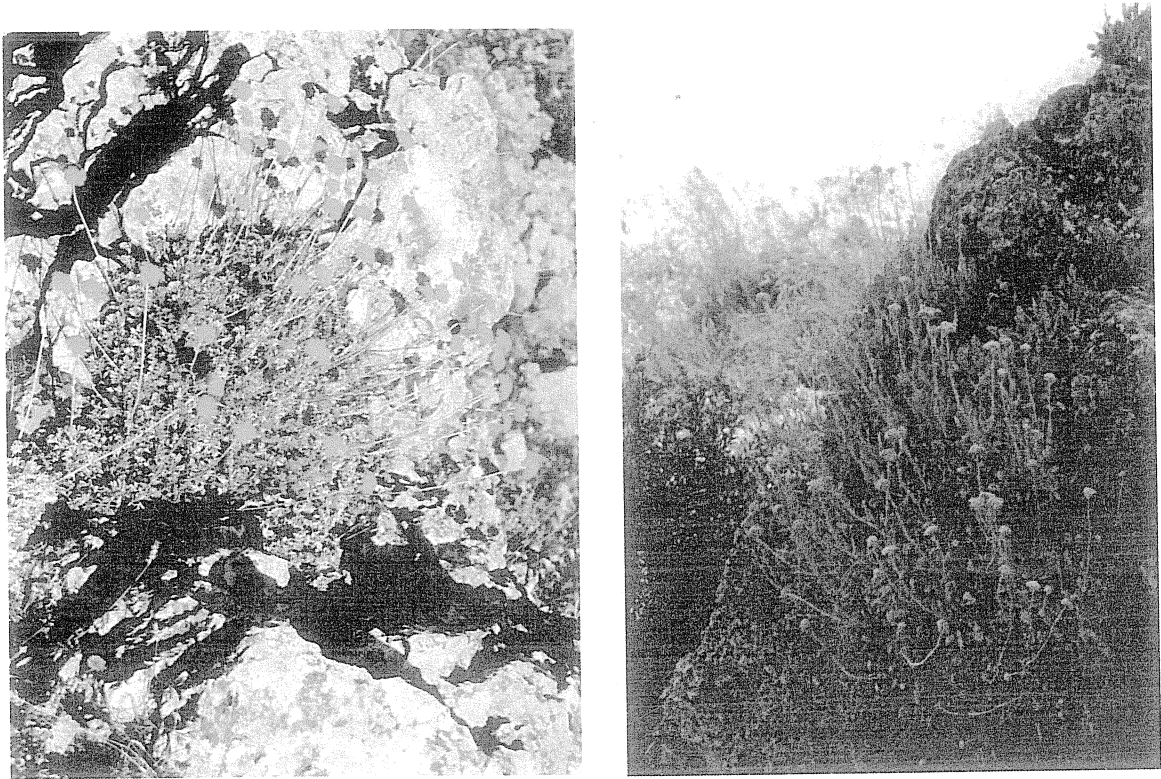
Türkiye’de yetişen *Tanacetum* L. türlerinin morfolojik özellikleri şöyledir:

Tanacetum cinsi bitkiler, kısa-orta veya yüksek otsu bitkilerdir. Genellikle rizomlu, bazen yarı çalılımsıdır. Tüy örtüsü seyrekten, yoğun pubescent veya tomentos’a kadar değişken şekillerde, tüyler ikiye çatallanmış veya basit tüylerle karışık veya bazen çıplaktır. Gövdeler dik veya yükseltici, genellikle yapraklanmış ve dallanmış, bazen skapus şeklindedir. Yaprakların bütünü dişli, pinnatifit veya 1-3 pinnatisekt; birincil segmentler genellikle birbirinden az çok uzak (bitkinin genç hali dışında), bu segmentler bazen bitişik veya birbirine çok yakın ve bu olgun yapraklar tam görünümündedir. Kapitulum heterogam veya homogam, tek veya daha sıklıkla seyrek veya yoğun korimbus halindedir. İnvolukrum yarı küremsi veya çan şeklinde; involukrumu oluşturan brakteler inbrikat, 3-4 sıralı, lanseolat veya oblong, genellikle kenarları ve tepesi zarsıdır. Çiçek tablası düz ve çıplaktır. Ligulalar (dilsî çiçekler)

genellikle üst tarafta beyaz, sarı veya pembe dil şeklinde az çok belirgin genişlemiş veya involukrumdan az çok uzun 3-loplu ligula, dişi çiçekler bazen eksiktir. Kapitulumun ortasında yer alan çiçekler, tepede 5-loplu ve sarıdır. Akenler silindir veya az silindirik veya az çok çomak şeklinde, 5-10 boyuna yollu, çoğu kez salgı tüylü veya çıplaktır. Korona kısa veya eksik, genellikle kaba dişli veya loplulu, bazen tek taraflı ve sadece arkadaki yüzde bulunur (Grierson, 1975).

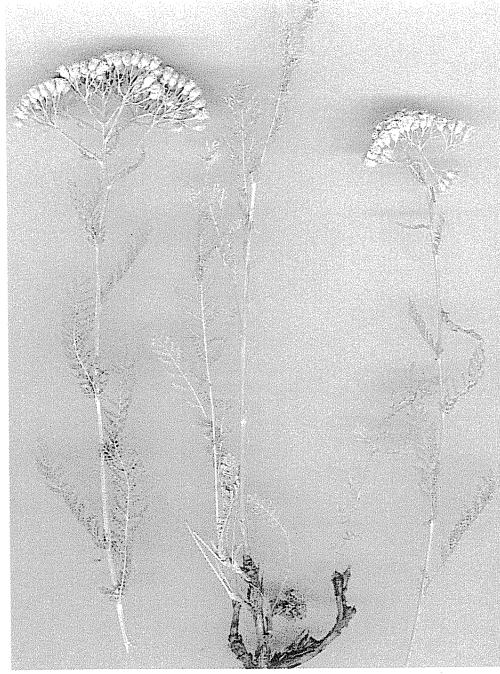
Türkiye’de yetişen *T. argenteum* L. türü kökten itibaren gövdeli, rizomlu, odunsu bir türdür. Gövdesi 20-30 cm, kapitulum 10-80 adet, involukrum 3-4 mm eninde, hermafrodit çiçeklere sahiptir, dişi çiçekleri yoktur. Kayalık yamaçlarda, 990-2500 m’de yetişir. Ülkemizde endemik bir takson olan *T. argenteum* (Lam.) Willd. ssp. *flabellifolium* (Boiss. et Heldr.) Grierson (ISTE 72385b) bitkisinin yaprakları tam, flabelliform ve çiçekli gövdeleri 20 cm’den kısadır (Şekil 2.1) (Grierson, 1975).

T. argenteum (Lam.) Willd. ssp. *canum* (C. Koch) Grierson var. *canum* (ISTE 72385a) türü de endemiktir. Yaprakları 5-9 segmentli olup, çiçekli gövdeleri 15-30 cm’dir (Şekil 2.1).



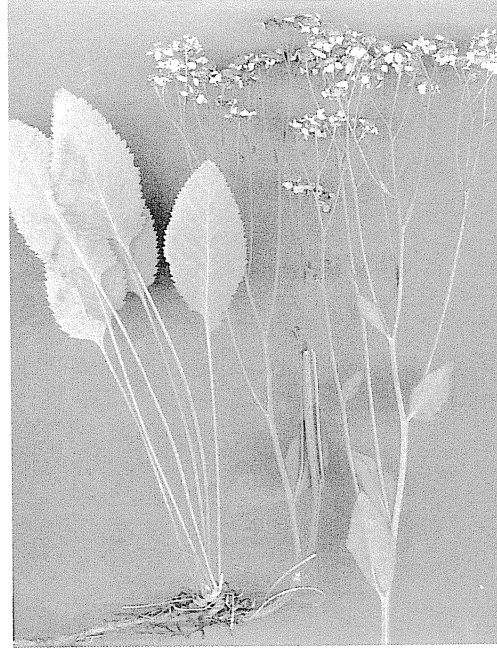
Şekil 2.1 *T. argenteum* ssp. *canum* var. *canum* ve *T. argenteum* ssp. *flabellifolium* (Fotoğraf: Nezhun Gören)

Tanacetum argyrophyllum (C. Koch) Tvel. var. *argyrophyllum* involukrumu 3-4 mm çapında, gövdesi 25-40 cm uzunluğunda olan ve 1100- 2100 m’de yetişen bir türdür (Şekil 2.2). Türkiye’de Kuzey Doğu Anadolu bölgesinde, dünyada Ermenistan, Azerbaycan ve Kuzey İran’da yetişir.



Şekil 2.2 *T. argyrophyllum* (C. Koch) Tvel. var. *argyrophyllum* (Fotoğraf: Nasip Demirkuş, www.yyu.edu.tr)

Tanacetum balsamita L. rizomlu bir türdür. Gövdesi 35-80 cm, dalları kısa yumuşak tüylerle kaplı; bazal yaprakları tek, ovat-eliptik; yaprak sapları 8-15 cm’dir. Kapitulum sayısı 30-100 kadardır. İnvolukrum 5-8 mm genişliğinde, brakteleri lanseolat veya oblongtur. Kapitulumun çevresinde yer alan ligulalar 12-15 tane olabildiği gibi hiç olmayabilir. Kapitulumun ortasında yer alan tüpsü çiçekler sarı renktedir. Akenler silindirik, 5-7 boyuna yollu; koronası tam veya çok küçük dişlidir. *T. balsamita* L. ssp. *balsamitoides* (Schultz Bip.) Grierson (ISTE 79241a) 1100-2050 m’de, nemli toprakta yetişen çok yıllık, otsu bir bitkidir (Şekil 2.3). Türkiye dağılımı Orta Anadolu ve Doğu Anadolu Bölgesi iken, genel dağılımı alanı Avrupa, Kafkasya, Kuzey İran, Orta Asya’dır (Grierson, 1975).

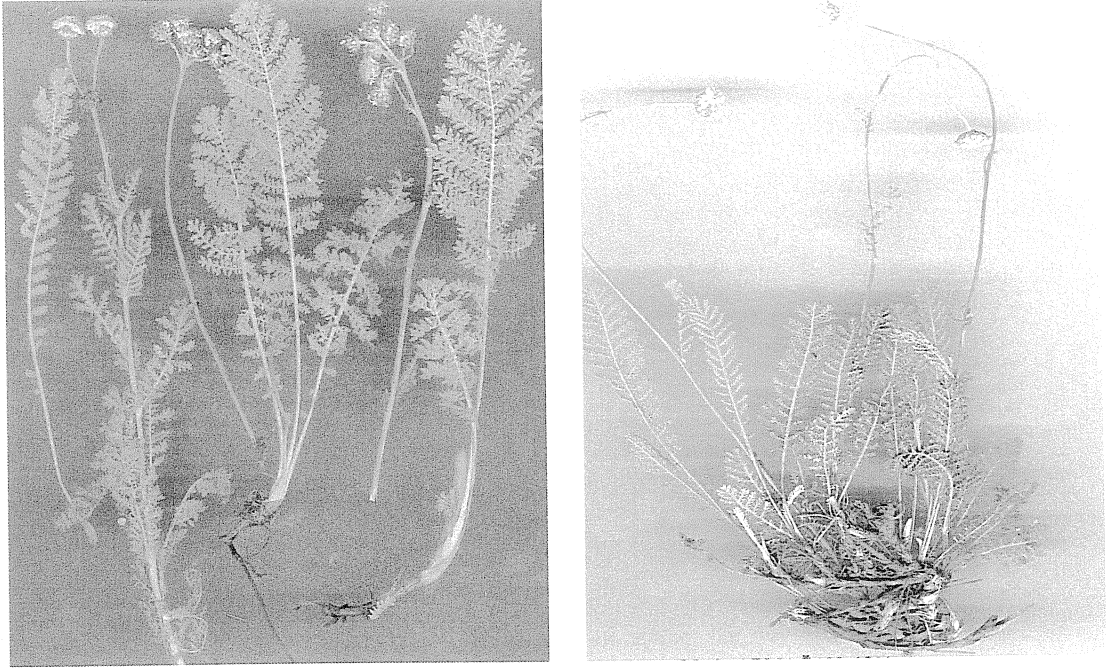


Şekil 2.3 *T. balsamita* ssp. *balsamitoides* (Fotoğraf: Nasip Demirkuş)

T. chiliophyllum (Fisch. et Mey.) Schultz Bip., rizomlu, odunsu bir türdür. Gövdesi 25-35 cm, çok yıllık, otsu yaprakları grimsi kısa yumuşak tüylere sahiptir. Bazal yaprakları 2-3 pinnatisektir. Kapitulum 7-10 kadar korimbosa sahiptir. İnvolukrumu 3-7 mm genişliğinde, brakteleri ovattan lineer oblanseolattır. Kapitulum çevresindeki dilsî çiçekler 10-12 tane tepede 3 loplü sarı renkte; kapitulûmun orta bölgesindeki tüpsü çiçekler 2 mm'dir. Akenler 2-4 mm, 4-5 boyuna yolludur. Bu tür, volkanik kaya yamaçlarında, sarp kayalıklarda ve çıplak taşlı yamaçlarda, 1670-3200 m'de yetişir (Grierson, 1975).

Alt tür olan *T. chiliophyllum* (Fisch. et Mey.) Schultz Bip. var. *chiliophyllum* (ISTE 79273b) türünün kapitulum sayısı 5-12 adet; yaprakları 3-5 cm eninde, involukrumu 5-7 mm, ligulaları 2-3 mm kadardır (Şekil 2.4). 1670-3050 m'de yetişir. *T. chiliophyllum* var. *chiliophyllum* türünün genel dağılımı Doğu Kafkasya, Azerbaycan, Ermenistan, Kuzey Irak, İran-Turan; Türkiye'de ise Doğu Anadolu Bölgesi'dir (Grierson, 1975).

Tanacetum chiliophyllum (Fisch. et Mey.) Schultz Bip. var. *monocephalum* Grierson (ISTE 79255b) çok yıllık, otsu bir türdür. Kapitulumu genellikle tek olmakla birlikte birden fazla da olabilir. Ligulaları kısa ve 2-4 mm kadardır (Şekil 2.4). Bu *Tanacetum* L. türü, volkanik kaya yamaçları, kireçtaşı uçurum ve çıplak yamaçlarda, 1750-2250 m'de yetişir. Kuzey Batı İran'da ve Türkiye'de Güney Doğu Anadolu Bölgesi'nde dağılım gösterir (Grierson, 1975).



Şekil 2.4 *T. chiliophyllum* var. *chiliophyllum* ve *T. chiliophyllum* var. *monocephalum*
(Fotoğraf: Nasip Demirkuş)

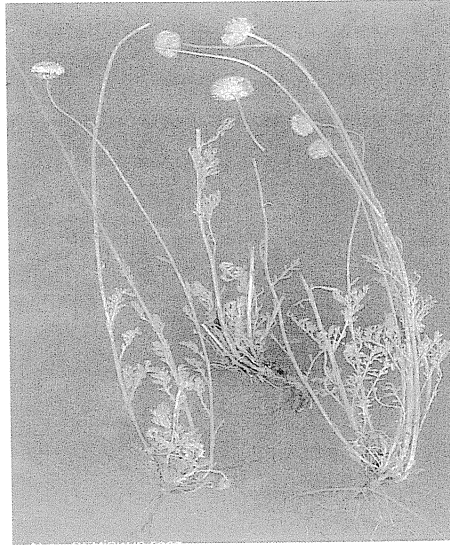
T. chiliophyllum (Fisch. et Mey.) Schultz Bip var. *oligocephalum* (DC.) Sosn. (ISTE 64356), involukrumu 10 - 13 mm, ligulaları 4 -5 mm, kapitulum sayısı 10 (25), yaprak lobları genellikle oblong ve obtus'tur. Ermenistan ve Türkiye'de yetişir (Şekil 2.5).



Şekil 2.5 *T. chiliophyllum* var. *oligocephalum* (Fotoğraf: Kaan Polatoğlu)

T. corymbosum (L.) Schultz Bip. türü ise, 30–50 cm boyunda, kapitulum sayısı 10–16, involukrumu ise 6–8 mm eninde olur. Kapitulum çevresindeki dilsî çiçekler 10–15 adet, orta kısmındaki çiçekleri ise 2 mm kadardır. Akenleri 2–5 mm ve esmerimsidir. Ormanlık ve çalılık alanlarda, özellikle kireçtaşı alanlarda, 400-2000 m’de yetişir. Antimikrobiyal aktivitesini araştırdığımız alt türü *T. corymbosum* (L.) Schultz Bip. ssp. *cinereum* (Gris.) Hayek (ISTE 72704), yapraklarının alt yüzeyinde yumuşak, grimsi tüylere sahiptir. (Grierson, 1975).

T. kotschy (Boiss.) Grierson (ISTE 72708) kökten itibaren çok gövdeli (8-10), rizomlu, çok yıllık odunsu bir bitkidir (Şekil 2.6). Kapitulumu tek çiçek sapı üzerinde kurulu, involukrumu 0.8-1.3 cm eninde, kapitulum çevresindeki dilsî çiçekler 12–20 adet; ortasındaki tüpsü çiçekler 2.5-3.5 mm enindedir. Kayalık kireçtaşı yamaçlarda, kireçtaşı çatlaklarında ve çalılıklarda, 1450-3580 m’de yetişir. Genel dağılımı Kuzey Batı İran, K. Irak; Türkiye’de ise Güney Doğu Anadolu, Kuzey Doğu Anadolu, Güney Anadolu ’dur (Grierson, 1975).



Şekil 2.6 *T. kotschy* (Fotoğraf: Nasip Demirkuş)

2.1.2 *Tanacetum* L. Türlerinin Halk Arasında Kullanımı ve Biyolojik Etkileri

Tanacetum L. türleri, halk ilacı olarak farklı amaçlarla kullanılmaktadır. Halk ilacı olarak en yaygın kullanılan *T. parthenium* L. ve *T. vulgare* L. türleridir.

“Gümüş düğme” adıyla bilinen *T. parthenium* türünün yapraklarının halk arasında migren, astım ve romatizmaya karşı kullanıldığı; ayrıca ateş düşürücü, ağrı giderici, kuvvet verici olarak, kulak çınlaması ve baş dönmesine karşı; doğumlarda karşılaşılan güçlüklerde kullanıldığı bildirilmiştir (Baytop, 1984; Newall, 1996; British Herbal Pharmacopoeia, 1996).

Halk arasında “solucanotu” olarak bilinen *T. vulgare*, adet düzenleyici olarak, karın ağrılarını ve romatizma ağrılarını giderici, iştah açıcı, kuvvet verici olarak, bağırsak kurtlarına ve uyuza karşı, sinir yatıştırıcı olarak ve bitki böceklerini uzaklaştırmada kullanılmaktadır. Bitkinin toksik olmasından dolayı suda ya da alkolde infüzyonu yapılarak kullanılmaktadır (Baytop, 1984).

Halk arasında “pireotu” olarak adlandırılan *T. coccineum* (Willd.) Grierson ssp. *chamaemelifolium* (Somm. et Lev.) Grierson türü de barsak parazitlerine karşı ve böcek öldürücü olarak kullanılmaktadır (Baytop, 1984).

“Oltuotu, pirekapan” olarak bilinen *T. coccineum* bit, pire, kene gibi vücut parazitlerine, sivilcelere, kaşıntılı deri hastalıklarına karşı ve ayrıca haşere öldürücü olarak kullanılmaktadır (Asımgil, 1993).

T. cinerariaefolium (Trev.) Schultz Bip., “dalmaçya pire otu” olarak bilinmekte ve vücut bitini kontrol altında tutmak için kullanılmaktadır (Güven, 1991).

“Yavşan” adıyla bilinen *T. argyrophyllum* (C. Koch.) Tvel. var. *argyrophyllum* (C. Koch.) bitkisinin herbası yakılıp, külü vücuda sürülerek uyuza karşı kullanılmaktadır (Baytop, 1991).

Halk arasındaki adı “marsuvan otu” olan *T. balsamita* türünün çiçekli dalları halk arasında idrar arttırıcı olarak, midevi rahatsızlıklara karşı ve safra kesesi taşlarını düşürücü olarak, infüzyon halinde kullanılmaktadır (Baytop, 1984).

Farmasötik özellikleri üzerinde en fazla araştırma yapılan türler yine *T. parthenium* ve *T. vulgare*’dir. *T. parthenium*’un içerdiği parthenolid isimli seskiterpen laktonun antimigren, anti-enflammatuar, antitümör, anti-ülser özellikler gösterdiği bildirilmiş olup (Palevitch, 1997; Ross, 1999; Zhang, 2004; Tournier, 1999), bu bitkinin ekstreleri piyasada ticari olarak satılmaktadır. Parthenolid’in anti-mikrotubular ve anti-üretken etkisi sonucu kanserli hücrelerin büyümesini belirgin olarak inhibe ettiği görülmüştür (Miglietta, 2004).

T. vulgare türünün, uçucu yağında bulunan çok zehirli β -tuyon bileşiği nedeniyle dahili ve harici kullanımı oldukça sakıncalıdır. *T. vulgare*'nin antimikrobiyal, antihelmintik, anti-enflammatuar, antispasmodik, antiülser, antiallerjen, insektisit, antimigren etkiye sahip olduğu bildirilmiştir (D'Amelio, 1999; Newall, 1996; Poucher, 1974; Scheerer, 1984; Thiery, 1994).

2.2 Çalışmada Kullanılan Mikroorganizmaların Genel Özellikleri

2.2.1 Gram Pozitif Bakteriler

Staphylococcus aureus; yaklaşık 1 μ m çapında oval şekilli, üzüm salkımına benzeyen kümeler yapan hareketsiz, sporsuz kapsülsüz, sarı pigmentli koloni üreten gram pozitif koklardır. Basit besiyerlerinde optimum 37°C'de ürerler. Fakültatif anaeropturlar. Koagülaz ve mannitol pozitifdir. Başta glikoz olmak üzere birçok karbonhidratı parçalar ve son ürün olarak laktik asit oluştururlar. (Bilgehan, 1992;Çotuk, 2003).

S. aureus'un etkili olduğu hastalıklar 3 grupta incelenebilir:

İnvaziv enfeksiyonlar; genellikle iltihap oluşumuyla seyreden lokal enfeksiyonlardır.

Toksikozlar; enterotoksinle kontamine besinlerin yenmesiyle oluşan besin zehirlenmeleridir.

Karışık formlar; dermatitis exfoliativa (Ritta hastalığı), "stafilokoksik haşlanmış deri sendromu", eksfoliatin üreten stafilokoklarca oluşturulur (Kayser, 2002).

S. aureus'un birinci yerleşim yeri, deri ve mukozalardır. Hastane enfeksiyonlarının en sık izole edilen bakterilerinden biridir. Çeşitli antibiyotiklere karşı direnç geliştirmesi, hastane enfeksiyonlarında sık rastlanmasının nedenidir. En önemli koruyucu önlem ellerin yıkanmasıdır (Bilgehan, 1992).

Staphylococcus epidermidis; hareketsiz, kapsülsüz, gram pozitif koklardır. Koagülaz ve mannitol negatiftir. Deri ve mukoza normal florasında bulunurlar. Fırsatçı patojendirler. Bağışıklık sistemi zayıflamış kişilerde tek başına ya da diğer bakterilerle birlikte çeşitli enfeksiyonları oluşturabilirler. Bu bakteriler de hastane enfeksiyonlarına neden olmaktadır (Kayser, 2002). Yumuşak doku, yara enfeksiyonları, pnömoni, merkezi sinir sistemi enfeksiyonları, artrit, yapay protez ve kateter kullanımı sonrası septisemi gibi enfeksiyonlarda etken olarak bulunurlar (Bilgehan, 1992).

2.2.2 Gram Negatif Bakteriler

Escherichia coli; çomak şekilli, sporsuz, EMB (Eozin Metilen Blue) agarda petrol yeşili koloniler yapan gram negatif çomaklardır. 37°C’de aerop ve fakültatif anaerop olarak üreyebilirler. Katalaz pozitif, oksidaz negatif reaksiyon verirler. O somatik antijenleri, ısıya dayanıklı lipopolisakkarit yapısındadır. H antijenleri kirpik antijenlerdir ve protein yapısındadır. K antijenleri ise kapsül antijeni olup, polisakkarit yapısındadır. Laktozu fermente etme özellikleri vardır. Doğal yaşama ortamı insan ve hayvan barsaklarıdır [4]. Bu nedenle, su ve besinlerdeki fekal kirlenmenin göstergesidirler. İdrar yolu enfeksiyonları, sepsis ve yara enfeksiyonları, safra kesesi enfeksiyonlarından sorumludurlar (Bilgehan, 1992; Kayser, 2002).

Pseudomonas aeruginosa; 2-4 µm uzunluğunda bir veya daha fazla sayıda kirpiğe sahip, çomak şekilli, aerop, sporsuz, kapsülsüz, gram negatif bakterilerdir. Hücre duvarının yapısındaki dış membran, pek çok antibiyotiğe karşı direnç sağlar. Katı besiyerinde üreyen koloniler, genellikle metalik parlak renktedir. Uygun koşullarda sarımsı yeşil floressein ve mavi-yeşil piyosiyanın olmak üzere iki tip pigment oluştururlar. Nemli ortamlarda kolay üreyebilmeleri nedeniyle bronşit, sepsis, yanık, yara enfeksiyonları, idrar yolu enfeksiyonları gibi enfeksiyonlara neden olurlar (Bilgehan, 1992; Çotuk, 2003).

Proteus mirabilis; gram negatif, kokobasil veya daha büyük basil görünümlü, peritrik kirpikleri ile hareketli, sporsuz, kapsülsüz, EMB ve ENDO agarda üreyen bakterilerdir. İnsan barsak florasında ve kirli sularda bulunurlar. Laktoza etki etmezler. İdrar yolu enfeksiyonu, yeni doğanlarda göbek kordonu enfeksiyonundan sorumludurlar (Bilgehan, 1992; Kayser 2002).

Klebsiella pneumoniae; 1-2 µm uzunluğunda, gram negatif, hareketsiz, sporsuz, kapsüllü, basit besiyerinde kolay üreyebilen basillerdir. Optimal üreme ısısı 37°C’dir. Laktozu fermente etme özelliği vardır. O ve K antijenine sahiptirler. “Pneumosin” adı verilen bakteriyosin salgırlar. İnsanlarda pnömoni, menenjit, sinüzit, idrar yolu enfeksiyonları gibi hastalıklarda etkendirler (Bilgehan, 1992; Çotuk, 2003).

2.2.3 Mayalar

Kandida'lar *Deuteromycota*'da *Blastomycetes* sınıfının *Cryptococcales* takımında *Cryptococcaceae* familyasından olan küre şeklinde, söbemsi, silindirik olabilen, 2-8 x 3-15 µm boyutlarında mikroorganizmalardır; yalancı misel oluştururlar ve tomurcuklanarak çoğalırlar (Yücel, 1999).

İmmün sistemin zayıfladığı durumlarda hafif veya ağır sistemik infeksiyonlara neden olabilirler. Sıklıkla mukozalara tutunurken, deri ve iç organlara nadiren de olsa tutunurlar (Yücel, 2000).

AIDS, hamilelik, diyabet, yaşlılık, yoğun antibiyotik kullanımı, normal bakteri florasının baskılanmasına yol açarak kandida infeksiyonlarına neden olmaktadır [2].

Kandida'lar insan ve hayvanlarda normal florada kommensal olarak bulunurlar, bu nedenle iç kaynaklı infeksiyon (endojen infeksiyon) olarak kabul edilirler. Kan dolaşımı ile ilgili hastane kaynaklı infeksiyonların başında bakterilerden sonra mantarlar gelmektedir (Kayser, 2002).

Candida infeksiyonlarının % 90'ı *C. albicans* tarafından oluşturulur. *C. albicans* 5 – 7 µm çapında, gram pozitif, oval mayalar olarak görülür. SDA besiyerinde 48 -72 saat inkübasyon sonrasında beyaz veya krem renginde, S tipi koloniler oluştururlar (Kayser, 2002).

Mısır unlu jelozda *C. albicans*'ın 4 şekil oluşturarak geliştiği görülür: 1) Yalancı misel 2) Blastosporlar 3) Klamidosporlar 4) Nadir olarak gerçek misel oluştururlar (Yücel, 2000).

Mısır unlu jeloz gibi besince fakir bir ortam, maya hücrelerinin iyi yedek besin depolayan klamidospor oluşturmaya yol açar. Klamidosporlar *C. albicans*'ın en belirgin özelliğidir ve diğer *Candida* türleri tarafından nadiren meydana getirilir (Zer, 2002).

Fungeminin en yaygın etkeni olan *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. krusei* ve *C. glabrata* gibi maya türlerinin slime yapımı mayaların virulansında etkili olmaktadır (Branchini, 1994; Martone, 1998).

C. guilliermondii, yalancı hifleri kısa ve az sayıda olup, SDA besiyerinde düz, sarımsı beyaz koloniler şeklinde ürer [3].

C. glabrata, dimorfik özellik göstermeyen, başlangıçta patojen olmadığı düşünülse de, immünsupresif kişilerde infeksiyon yaptıkları saptanmış olan bir maya türüdür [2].

C. tropicalis, fırsatçı patojen özellik göstermektedir. *C. tropicalis*'in bazı kökenleri, özellikle ilk ayrıldıkları sırada klamidosporlar yaparlar. Klamidosporları gözyaşı damlası şeklindedir (Yücel, 2000).

C. kefir olarak da adlandırılan *C. pseudotropicalis*, mısır unlu – Tween 80'li agarda 25°C'de 72 saat inkübasyonun sonrasında, çevresinde blastosporlar bulunan, birbirine paralel uzanan yalancı hifler oluştururlar. SDA'da kremi, düz, sarı koloniler şeklinde ürerler (Yücel, 2002).

C. krusei, siklohekzimid içeren besiyerlerinde üreyerek, beyaz, düz veya loblu koloniler oluşturur (Yücel, 2000; Kayser, 2002).

3. DENEYSEL ÇALIŞMA

3.1 MATERYAL

3.1.1 Kullanılan Bitki Materyali

Çalışmamızda, Türkiye'nin farklı bölgelerinden toplanan dokuz *Tanacetum* L. türü kullanılmıştır. Prof. Dr. Nezhun Gören tarafından toplanan *Tanacetum* L. bitkileri İstanbul Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Botanik Anabilim Dalı'nda Prof. Dr. Kerim Alpınar tarafından teşhis edilmiştir.

Tanacetum argenteum (Lam.) Willd., ssp. *canum* (C. Koch) Grierson var. *canum* (ISTE 72385a), Adana (C5), Adana-Gülektepe'de, 1996 yılında Haziran ayında toplanmıştır. Bitkinin kök ve gövde kısımlarının EA ve MeOH ekstraktları ile çalışılmıştır.

T. argenteum (Lam.) Willd., ssp. *flabellifolium* (Boiss. Et Heldr.) Grierson (ISTE 72385b), İçel (C4), İçel-Ermenek'te 1996 yılının Haziran ayında toplanmıştır. Gövde ve çiçek kısımlarının EA ve MeOH ekstraktları çalışılmıştır.

T. argyrophyllum (C. Koch) Tvetz. var. *argyrophyllum* (ISTE 79255a), Van (A9), Güzeldere Çuh Gediği'nde 2000 yılında Haziran ayında toplanmıştır. Kök, gövde ve çiçek kısımlarının EA ve MeOH ekstraktları çalışılmıştır.

T. balsamita L. ssp. *balsamitoides* (Schultz Bip.) Grierson (ISTE 79241a), Van (A9), Güzeldere, Çuh Gediği'nde 2000 yılı Haziran ayında toplanmıştır. Gövde ve çiçek kısımları birlikte olmak üzere, kök kısmının EA ve MeOH ekstraktları bu çalışmada kullanılmıştır.

T. chiliophyllum (Fisch. et Mey.) Schultz Bip. var. *chiliophyllum* Grierson (ISTE 79273b), Van (A9), Güzeldere Geçidi'nde, 2000 yılında, Haziran-Temmuz ayında toplanmıştır. Kök, gövde ve çiçek kısımlarının EA ve MeOH ekstraktları çalışılmıştır.

T. chiliophyllum (Fisch. et Mey.) Schultz Bip var. *monocephalum* Grierson (ISTE 79255b), Van (A9), 2000 yılında, Haziran-Temmuz ayında; Güzeldere Geçidi'nde Başkale'ye 36 km mesafede toplanmıştır. Kök, gövde ve çiçek kısımlarının EA ve MeOH ekstraktları çalışılmıştır.

T. chiliophyllum (Fisch. et Mey.) Schultz Bip var. *oligocephalum* (ISTE 64356) Sivas-Divriği'den 1992 yılında Haziran-Temmuz ayında toplanmıştır. Kök ve gövde kısımlarının EA ve MeOH ekstraktları çalışılmıştır.

T. corymbosum ssp. *cinereum* (ISTE 72704), Kırklareli (A1), Hayek- Sergen yolu ayrımından 2-3 km sonraki bölgede, 1996 yılının Haziran-Temmuz ayında toplanmıştır. Gövde ve çiçek kısımlarının EA ve MeOH ekstraktları çalışılmıştır.

T. kotschy (Boiss.) Grierson (ISTE 72708), 1996 yılında Haziran - Temmuz ayında, Van'ın Başkale ilçesinden Hoşap' a giden yolun 34. km'de toplanmıştır. Kök, gövde ve çiçek kısımlarının EA ve MeOH ekstraktları çalışılmıştır.

3.1.2 Test Mikroorganizmalar

Çalışmada kullanılan standart mikroorganizma kökenleri Marmara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarı Kültür Koleksiyonu'ndan sağlanmıştır. Koleksiyondaki kültürler ATCC (American Type Culture Collection) ve KUEN (The Center of Culture Collection of Microorganisms, Department Microbiology, Istanbul University) saf kültürlerinden oluşmaktadır. Test mikroorganizmalar Tablo 3.1'de gösterilmiştir.

Tablo 3.1 Test Edilen Mikroorganizmalar

Bakteriler	Mayalar
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	<i>Candida albicans</i> ATCC 10231
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	<i>Candida glabrata</i> ATCC 90030
<i>Escherichia coli</i> ATCC 11229	<i>Candida guilliermondii</i> KUEN 998
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 1539	<i>Candida tropicalis</i> KUEN 1021
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 14153	<i>Candida pseudotropicalis</i> (kefyr) KUEN 1012
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 4352	<i>Candida krusei</i> ATCC 6258

3.1.3 Kullanılan Besiyerleri ve Çözeltiler

- Mannitol (Fluka)
- Mueller Hinton Agar (Oxoid)
- Mueller Hinton Broth (Merck)
- Mc Conkey Agar (Merck)
- Eosin Methylene Blue (Difco)
- Saboroud Dekstroz Agar (Merck)
- Saboroud Dekstroz Broth (Merck)
- Fizyolojik Tuzlu Su (% 0.9 NaCl)

3.1.4 Tamponlar

- RPMI-1640 (Sigma)
- MOPS (Sigma)

3.1.5 Kullanılan Çözücüler

- Etil Asetat (Teknik)
- Metanol (Teknik)
- DMSO (Dimetil Sülfoksit)
- DS (Distile Su)

3.1.6 Kullanılan Cihazlar

Yapılan ekstraksiyon işlemleri ve aktivite deneyleri sırasında kullanılan cihazlar:

- Etüv (25°C) (Nüve EN 500)
- Etüv (37°C) (Nüve EN 500)
- Dijital terazi (Mettler Toledo)
- Santrifüj (Nüve NF 815)
- Otoklav (Nüve OT 4060)
- Evaporatör (Buchi)

- Distilasyon aleti
- Girdap Karıştırıcı (Heidolph Polymax 1040)
- Vorteks (Fete Mini Fuge F.D 4)
- Su banyosu (Nüve ST 402)
- pH metre (Mettler Toledo)
- Kuru hava sterilizatörü (Elektro-Mag)

3.1.7 Kullanılan Antimikrobikler

- Meropenem (Astra Zeneca İlaç A.Ş)
- Flukonazol (Mustafa Nevzat İlaç A.Ş)

3.1.8 Mc Farland 0.5 ve 1.0 Standart Bulanıklık Çözeltilerinin Hazırlanması

İnokulum yoğunluğunun standardizasyon işleminde, Mc Farland 0.5 ($1-2 \times 10^8$ kob/ml) ve 1.0 (3×10^8 kob/ml) standardına eşdeğer bir Baryum Sülfat (BaSO_4) bulanıklık standardı laboratuarda hazırlanarak kullanılmıştır.

0.35 ml %1 Baryum Klorür'e (BaCl_2) 9.35 ml %1 Sülfürik Asit (H_2SO_4) ilave edilerek, Baryum Sülfat (BaSO_4) Mc Farland 0.5 standart bulanıklığı elde edilmiştir.

1.0 Mc Farland standart bulanıklığı ise; 0.1 ml %1 BaCl_2 'e 9.9 ml %1 H_2SO_4 ilave edilerek hazırlanmıştır (Çetin, 1973; Bilgehan, 1992).

3.2 YÖNTEMLER

3.2.1 Bitki Ekstrelerinin Hazırlanması

Çalışmamızda, *Compositae* familyasına ait dokuz *Tanacetum* L. türünün çeşitli kısımlarının EA ve MeOH ekstraktları maserasyon yöntemiyle hazırlanmıştır. Gölgede kurutulmuş olan bitkiler toz haline getirildikten sonra tartılmış ve ekstraksiyon şişelerine konulmuştur. Toz haline getirilmiş olan bitki 48-72 saat, sırasıyla EA ve MeOH ile masere edilmiştir. Karışım kaba filtre kağıdından geçirilerek huni yardımıyla süzölmüş ve süzöntü evaporatörde yoğunlaştırılıp, çözücü uçurulmuştur. Tüm ekstraktlar deneylerde kullanılmak üzere +4°C'de saklanmıştır.

3.2.2 Besiyerinin Hazırlanması

Çalışmamızda kullanılan mikroorganizmaların üretilmesinde kullanılan besiyerleri 3.1.3' te verilmiştir. Toz besiyerlerinin distile su içinde çözönməsi sağlanarak, steril balonlara konularak, otoklavda 121°C'de 15 dakika steril edilmiştir. Agar besiyerleri 45°C'ye kadar soğutulduktan sonra steril şartlarda 9 cm çapındaki cam petrilere 6 mm kalınlığında dökölmüştür. Petri kutularına dökölen agar besiyeri, katılaştıktan sonra sterilite kontrolü için 37 °C'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Kontrolü yapılan petriler çalışmada kullanılmıştır.

3.2.3 İnokulumun Hazırlanması

İnokulum hazırlanmasında, NCCLS prosedüründe önerilen yöntem kullanılmıştır. Kültür kolleksiyonundan alınan bakterilerin MHA besiyerine pasajı yapılmış ve 37 °C'de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda ilk pasajdan sıvı MHB besiyerine ikinci bir pasaj alınmıştır. İnkübasyon sonrasında hazırlanmış olan taze bakteri süspansiyonu 2000 rpm'de 10 dakika çevrilerek, iki kez fizyolojik tuzlu su (% 0.9 NaCl) ile yıkanmıştır. Daha sonra Mc Farland 0.5 standart bulanıklığına göre ayarlanmıştır (NCCLS, 1999; 2003).

Maya süspansiyonları da aynı yöntemle ilk olarak SDA besiyerine, daha sonra SDB besiyerine pasaj alınmıştır. Maya süspansiyonları da iki kez fizyolojik tuzlu su (% 0.9 NaCl) ile yıkanmıştır. Daha sonra Mc Farland 1.0 standart bulanıklığına göre ayarlanmıştır (NCCLS, 1999; 2003).

3.2.4 Antimikrobiklerin Stok Çözeltilerinin Hazırlanması

Çalışmamızda kullanılan antibiyotiklerden Meropenem (potens: 997 µg/ml), Astra Zeneca İlaç Sanayi ve Ticaret Limited Şirketi; Flukonazol (potens: 100.13µg/ml), Mustafa Nevzat İlaç Sanayi A.Ş. tarafından temin edilmiştir. Antimikrobiklerin stok çözeltileri aşağıdaki formüle göre hazırlanmıştır (Anasissie, 1991; Mikami, 1992; Sheehan, 1993):

$$\text{İstenilen ilaç ağırlığı} = \frac{\text{İstenen Konsantrasyon (µg/ml)} \times \text{Çözücü Hacmi (ml)}}{\text{İlacın Potensi (µg/mg)}}$$

Meropenem (1000 µg/ml stok çözeltisi) yukarıdaki formüle göre tartılarak, 10 ml distile su içinde çözülmesi sağlanmış, daha sonra distile su ile 1/10 oranında sulandırılarak 0.45 µm por çaplı membran filtreden geçirilerek steril edilmiştir. Böylece stok Meropenem çözeltisinin son konsantrasyonu 100 µg/ml olmuştur.

Flukonazol (10.000 µg/ml stok çözeltisi) aynı formüle göre tartılarak, 5 ml dimetil sülfoksit (DMSO) içinde çözülmüş ve 10.000 µg/ml'lik stok Flukonazol çözeltisi hazırlanmıştır. Stok çözelti, steril DMSO ile 1/10 sulandırıldıktan sonra 0.45 µm por çaplı membran filtreden geçirilerek steril edilmiştir. Böylece son konsantrasyon 1000 µg/ml olmuştur.

3.2.5 Agar Oluk Difüzyon Yöntemi

Antimikrobiyal aktivite tayininde agar oluk difüzyon yöntemi uygulanmıştır. 3.2.1'de anlatıldığı şekilde hazırlanan ekstreler, steril orta boy tüplerde hassas terazi kullanılarak, 200 mg tartılmıştır.

Çalışma esnasında ekstreye, elde edildiği çözücünden 2 ml konularak vortekslenip çözünmesi sağlanmıştır. Çözünmenin yeterli olmadığı durumlarda, su banyosu 45°C'ye kadar ısıtılarak, ekstrenin çözünmesi sağlanmıştır. Sonuçta 100 mg/ml'lik konsantrasyonda çözelti elde edilmiştir.

Mc Farland 0.5 ($1-2 \times 10^8$ kob/ml) standart bulanıklığına ayarlanan bakteri süspansiyonlarının, MHA besiyerlerine steril standart eküvyon çubukları ile ekimi yapılmıştır.

Aynı şartlarda Mc Farland 1.0 standart bulanıklığına (3×10^8 kob/ml) göre hazırlanan maya süspansiyonları da SDA besiyerine steril eküvyon çubukları ile ekilmiştir. Ekimler, inokulumun hazırlanmasının ardından 15 dakika içerisinde yapılmıştır (NCCLS, 1999).

Ekim yapılan petrilere steril oluk açıcı ile 6 mm çapında oluklar açılmıştır. Aseptik şartlarda otomatik pipet ile oluklara stok çözeltiden (100 mg/ml) 100 µl konulmuş, böylece ekstrelerin oluktaki son konsantrasyonları 10 mg olmuştur.

Kontrol grubu olarak Meropenem (100 µg/ml), Flukonazol (1000 µg/ml), EA, MeOH, DS, DMSO açılan oluklara 100 µl konularak aynı şekilde test edilmiştir. Bakteriler 37°C'de 24 saat, mayalar ise 35°C'de 18-24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Inkübasyon süresinin sonunda petrillerdeki inhibisyon zonları mm cinsinden ölçülmüştür (NCCLS, 1999).

3.2.6 Minimum İnhibitör Konsantrasyon (MİK) Tayini

3.2.6.1 Antibakteriyel Etkinin Araştırılması

Agar oluk difüzyon yöntemi ile antimikrobiyal aktivite gösteren ekstreler çalışmaya alınmıştır. İnhibisyon zonu veren ekstrelerin minimum inhibitör konsantrasyon tayini için tüp dilüsyon yöntemi kullanılmıştır. Test edilen bakterilerin üremesini durduran en düşük konsantrasyon Minimum İnhibitör Konsantrasyon (MİK) değeri olarak kabul edilmiştir (NCCLS, 2003).

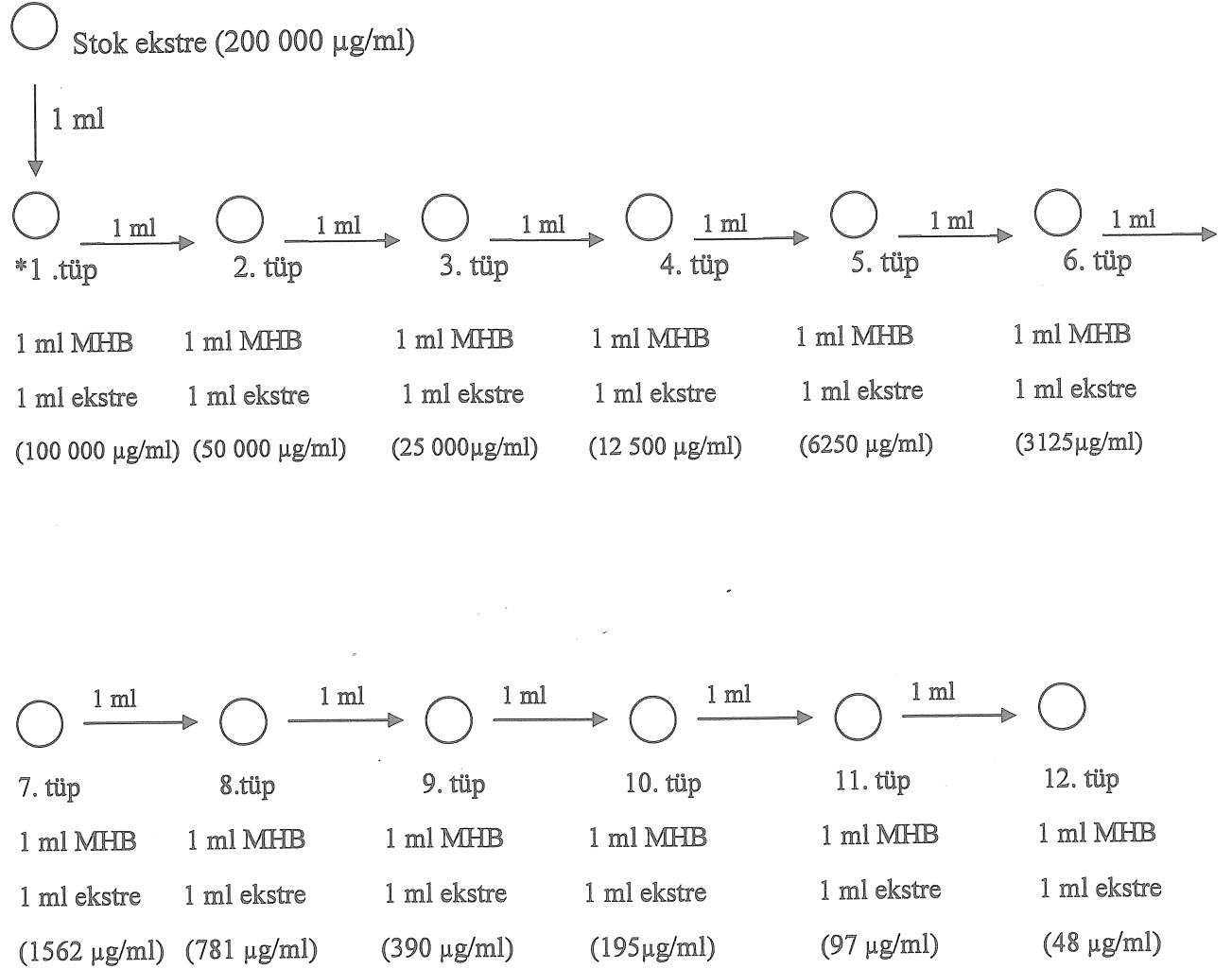
İnhibisyon zonu veren ekstreler 200 mg tartılarak 1 ml uygun çözücüleri içerisinde çözülerek stok çözeltileri hazırlanmıştır. Mc Farland 0.5 standart bulanıklığına ($1-2 \times 10^8$ kob/ml) ayarlanmış olan bakteri süspansiyonları steril fizyolojik tuzlu su (% 0.9 NaCl) ile 1/10 sulandırıldıktan sonra 1×10^7 kob/ml süspansiyonu elde edilmiştir.

İçinde 1ml sıvı MHB bulunan steril tüplere, hazırlanan stok çözeltiden (200 mg/ml) ilk tüpe 1 ml konulmuştur. 1. tüp iyice karıştırıldıktan sonra içine 1 ml örnek alınarak 2. tüpe konulmuştur. Böylece tüm ekstreler 12. tüpe kadar dilüe edilmiştir (Şekil 3.1).

Daha sonra hazırlanan bakteri süspansiyonundan her bir tüpe 50µl (5×10^5 kob/ml) konulmuştur. Bitki ekstrelerinin son konsantrasyonları; 1. tüpte 100 000 µg/ml - 12. tüpte 48 µg/ml olmuştur.

Çözücü kontrolleri ve Meropenem de (512 - 31.25 µg/ml) aynı şekilde denenmiştir. Ayrıca bir tüp besiyeri, negatif kontrol tüpü olarak; bir tüp de mikroorganizma pozitif kontrol tüpü olarak test edilmiştir.

Deney sonunda bakteriler 37 °C'de 18-24 saat inkübe edilmiş, inkübasyon süresi sonunda her tüpte üreme olup olmadığı, kontrol üreme tüpleri ile karşılaştırılmış ve çıplak gözle görülen, üremenin tamamen inhibe olduğu en düşük konsantrasyon tüpü minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değeri olarak kabul edilmiştir (NCCLS, 1999).



Şekil 3.1 Bakteriler için MİK dilüsyon şeması

* : 1-12 tüpe 50 µl (5×10^5) bakteri süspansiyonu konulmuştur

3.2.6.2 Antifungal Aktivitenin Araştırılması

3.2.6.2.1 MOPS (0.165 M pH 7.0) Tamponunun Hazırlanması

3.453 g MOPS tartılarak, 100 ml distile su eklenmiş ve 10 N NaOH ile pH 7.0'a ayarlanmıştır. Tampon daha sonra 0.45 µm'lik por çapındaki steril membran filtreden geçirilerek steril edilmiştir (Sheehan, 1993).

3.2.6.2.2 RPMI -1640 Besiyerinin Hazırlanması

İnhibisyon zonu veren MeOH ve EA ekstralarının tüp dilüsyon yöntemiyle MİK tayininde RPMI-1640 besiyeri kullanılmıştır. NCCLS, çeşitli karşılaştırmalı çalışmalar sonucunda MOPS ile tamponlanmış RPMI-1640 besiyerinin MİK tayininde en uyumlu sonuçları verdiğini saptamıştır (Rex, 1993).

1 litre için 10.4 g RPMI-1640 (Sigma), 900 ml distile su eklendikten sonra, girdap karıştırıcıda 15 dakika süreyle oda ısısında karıştırılarak çözünmesi sağlanmıştır. Çözünme tamamlanınca besiyerinin 0.165 M MOPS tamponu ile pH 7.0 olarak ayarlanmıştır. Daha sonra 0.45 µm'lik por çapındaki steril membran filtre kullanılarak steril edildikten sonra steril 100 ml'lik şişelerde +4 °C'de kullanılıncaya kadar saklanmıştır.

3.2.6.2.3 Maya Süspansiyonunun Hazırlanması

5 ml steril fizyolojik tuzlu su çözeltisine taze üretilmiş SDA besiyerindeki kültürden 1 mm'lik 5 koloni alınıp, daha sonra RPMI-1640 besiyeri ile 1/100 oranında seyreltilerek maya konsantrasyonu $10^4 - 5.10^4$ kob/ml elde edilmiştir Maya süspansiyonu son olarak steril FTS ile 1/20 sulandırılarak 5×10^2 kob/ml koloni standardı ayarlanmıştır (NCCLS, 1999).

3.2.6.2.4 Mayalarda Minimum İnhibitör Konsantrasyon (MİK) Tayini

Candida kökenlerine karşı antifungal aktivite gösteren *Tanacetum* L. türlerinden inhibisyon zonu veren ekstralar 200 mg tartılarak, 1 ml uygun çözücülerile stok çözeltileri hazırlanmıştır.

Hazırlanan 12 dilüsyon tüpüne; stok çözeltinin tüplere dağılım oranları ve RPMI-1640 besiyerinin miktarları şekil 3.2'de dilüsyon şemasında görülmektedir.

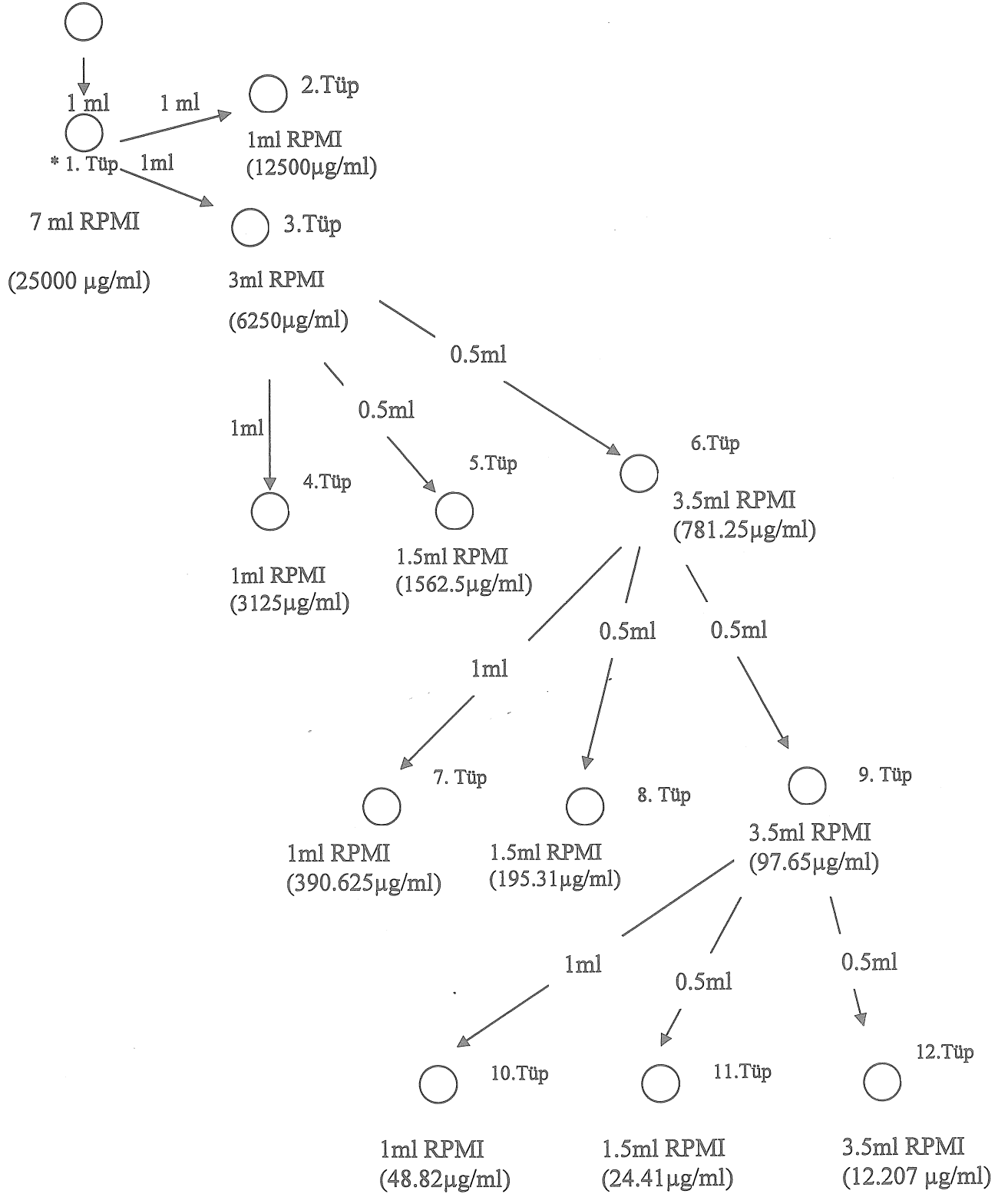
Her dilüsyon tüpüne son konsantrasyonları, 5×10^2 kob/ml olarak hazırlanan maya süspansiyonlarından 0.9 ml konulmuştur. Ekstre konsantrasyonları ise 25000 – 12.207 µg/ml aralığında olmuştur.

Çözücü kontrolleri ve Flukonazol (5120 – 0.3125 µg/ml) aynı şekilde denenmiştir. Flukonazol'e ait MİK dilüsyon şeması şekil 3.3'de görülmektedir.

Her test edilen mikroorganizma için ayrıca bir besiyeri tüpü negatif kontrol olarak, bir tüp de pozitif kontrol üreme tüpü olarak test edilmiştir.

Deney sonunda maya kökenleri 35°C'de 18-24 saat inkübe edildikten sonra her tüpteki üreme, kontrol üreme tüpleri ile karşılaştırılmış ve çıplak gözle görülen, üremenin tamamen inhibe olduğu en düşük konsantrasyon minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değeri olarak kabul edilmiştir (NCCLS, 1999; NCCLS, 2003).

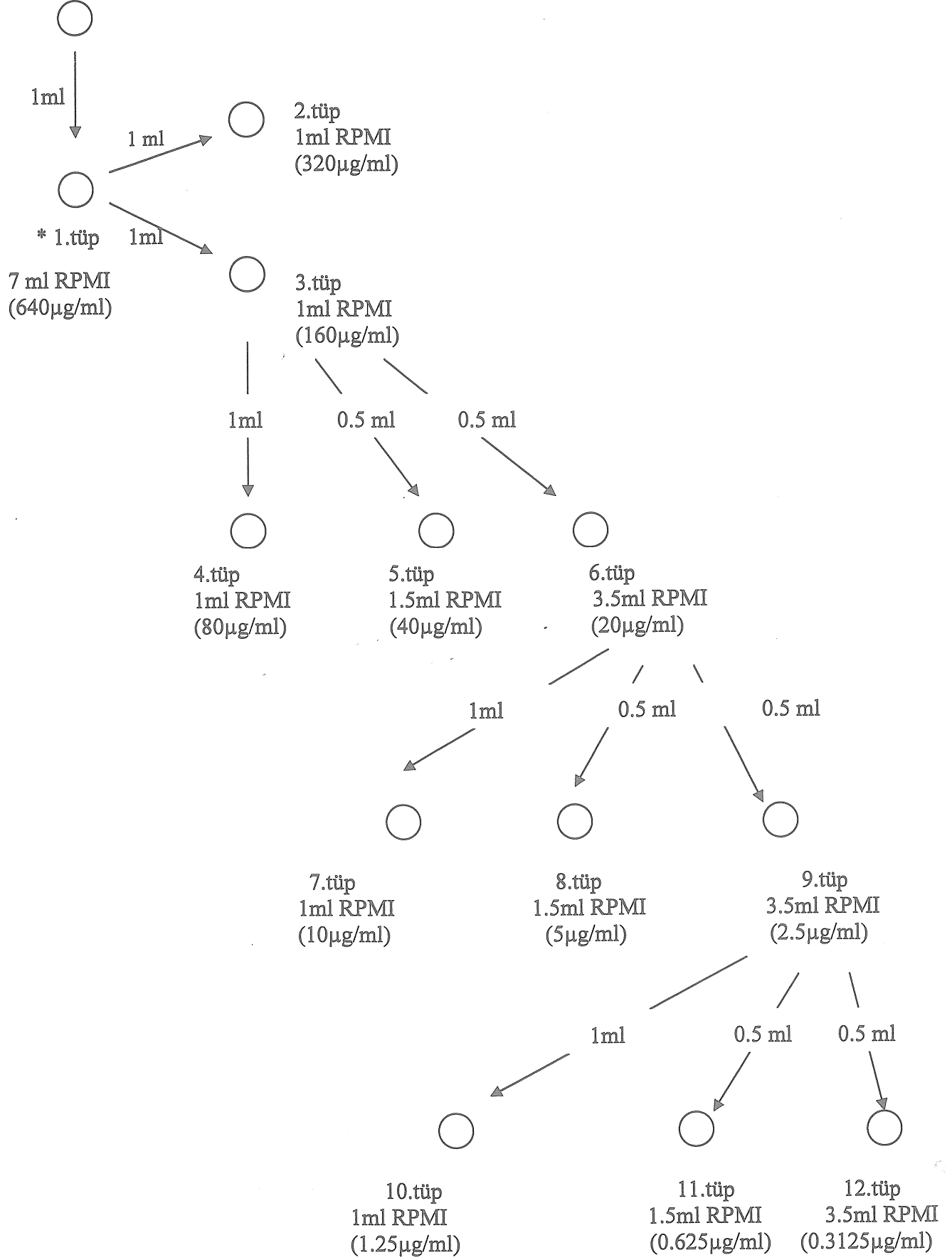
Stok Ekstre Çözeltisi (200 mg/ml)



Şekil 3.2 Mayaların MİK dilüsyon şeması

*1-12 tüpe 0.9 ml maya süspansiyonu ($5 \cdot 10^{-2}$ kob/ml) konulmuştur

Stok Flukonazol Çözeltisi (5120 $\mu\text{g/ml}$)



Şekil 3.3 Flukonazol'un MİK dilüsyon şeması

*1-12 tüpe 0.9 ml maya süspansiyonu ($5 \cdot 10^{-2}$ kob/ml) konulmuştur

4. BULGULAR

4.1 Antibakteriyel Aktivite Bulguları

3.2.5. ve 3.2.6 'da anlatıldığı gibi, NCCLS standartlarına uygun şekilde yapılan agar oluk difüzyon ve minimum inhibitör konsantrasyon deneylerinde, *Tanacetum* L. türlerinden elde edilen EA ve MeOH ekstralarının değişen ölçülerde antimikrobiyal aktivite gösterdiği saptanmıştır.

1) *T. argenteum* ssp. *canum* var. *canum* türünün kök MeOH ekstresinin *S. aureus* ATCC 6538 (Zon çapı, 7 mm; MİK 6250 µg/ml), *S. epidermidis* ATCC 12228 (Zon çapı, 10 mm, MİK 1562 µg/ml), *P. aeruginosa* ATCC 1539 (Zon çapı, 7 mm; MİK, 12500 µg/ml) bakteri kökenlerine karşı antibakteriyel aktivite gösterirken; test edilen diğer bakteri kökenlerine karşı antibakteriyel aktivite göstermediği saptanmıştır.

Aynı *Tanacetum* L. türünün kök EA, gövde EA ve MeOH ekstraları ise çalışmamızda kullanılan bakteri kökenlerine karşı antibakteriyel aktivite göstermemiştir (Tablo 4.1).

Şekil 4.1 A'da *S. epidermidis* ATCC 12228 kökenine karşı kök MeOH ekstresinin verdiği inhibisyon zonu görülmektedir.

2) *T. argenteum* ssp. *flabellifolium* türünün gövde EA ve çiçek MeOH ekstresi *S. aureus* ATCC 6538 (Zon çapı, sırasıyla 4-4 mm, MİK 3125-3125 µg/ml) kökenine; gövde EA ve MeOH ekstraları *S. epidermidis* ATCC 12228 (Zon çapı, sırasıyla 5-5 mm; MİK, 6250-6250 µg/ml) kökenine karşı antibakteriyel aktivite gösterirken; test edilen diğer bakteri kökenlerine ise etkili olmamıştır (Tablo 4.2). Şekil 4.1 D'de *T. argenteum* ssp. *flabellifolium* gövde EA ekstresinin *S. epidermidis* kökenine gösterdiği inhibisyon zonu görülmektedir.

Bu alt türün çiçek kısmının EA ekstresi ise; test edilen bakteri kökenlerine karşı antibakteriyel aktivite göstermemiştir.

3) *T. argyrophyllum* var. *argyrophyllum* kök EA ve MeOH ekstresi *S. aureus* ATCC 6538 (Zon çapı, sırasıyla 3-3 mm; MİK, sırasıyla 3125-12500 µg/ml) kökenine; kök MeOH ekstresi *P. aeruginosa* ATCC 1539 (Zon çapı, 13 mm; MİK, 6250 µg/ml) kökenine karşı antibakteriyel aktivite göstermiştir. Çalışmamızdaki diğer standart bakteri kökenlerine karşı ise aktivite saptanmamıştır.

Gövde EA ve MeOH ekstresi *S. aureus* ATCC 6538 (Zon çapı, sırasıyla 3-4 mm; MİK, 6250-3125 µg/ml) kökenine karşı antibakteriyel aktivite göstermiş ve test edilen diğer bakterilere karşı aktivite göstermemiştir.

Çiçek EA ve MeOH ekstreleri *S. aureus* ATCC 6538 (Zon çapı, sırasıyla 10-10 mm; MİK, 3125-3125 µg/ml), *S. epidermidis* ATCC 12228 (Zon çapı, sırasıyla 8-6 mm; MİK, 3125-6250 µg/ml), *K. pneumoniae* ATCC 4352 (Zon çapı, 3 mm; MİK, 12500 µg/ml), bakteri kökenlerine karşı antibakteriyel aktivite göstermiştir (Tablo 4.5). Aynı bitki ekstreleri, test edilen diğer bakterilere ise antibakteriyel etki göstermemiştir.

Şekil 4.3 A ve B'de *T. chiliophyllum* var. *heimerlei* çiçek EA ve MeOH ekstrelerinin inhibisyon zonları görülmektedir.

4) *T. balsamita* ssp. *balsamitoides* kök EA ve MeOH ekstresi, *S. aureus* ATCC 6538 (Zon çapı, sırasıyla 3 -10 mm; MİK, 3125-6250 µg/ml) ve *S. epidermidis* ATCC 12228 (Zon çapı, sırasıyla 3-6 mm; MİK, 3125-3125 µg/ml) kökenlerine, ayrıca MeOH ekstresi *P. aeruginosa* ATCC 1539 (Zon çapı, 3 mm; MİK, 25000 µg/ml) standart kökenine karşı antibakteriyel aktivite göstermiştir.

T. balsamita ssp. *balsamitoides* türünün gövde ve çiçek kısımları birlikte çalışılmıştır. Bu kombine bitki kısmının EA ekstresi *S. aureus* ATCC 6538 (Zon çapı, 15 mm; MİK, 1562 µg/ml), *S. epidermidis* ATCC 12228 (Zon çapı, 10 mm; MİK, 3125 µg/ml), *P. aeruginosa* ATCC 1539 (Zon çapı, 3 mm; MİK, 12500 µg/ml) *E. Coli* ATCC 11229 (Zon çapı, 2 mm; MİK, 12500 µg/ml) ve *K. pneumoniae* ATCC 4352 (Zon çapı, 2 mm; MİK, 12500 µg/ml) kökenlerine karşı antibakteriyel aktivite gösterirken; çalışmamızdaki diğer bakteri kökenlerine karşı aktivite göstermemiştir.

Gövde+çiçek MeOH ekstresinin *S. aureus* ATCC 6538 (Zon çapı, 4 mm; MİK, 12500 µg/ml), *S. epidermidis* ATCC 12228 (Zon çapı, 6 mm; MİK, 6250 µg/ml), *P. aeruginosa* ATCC 1539 (Zon çapı, 4 mm; MİK, 12500 µg/ml) bakteri kökenlerine karşı antibakteriyel aktivite gösterdiği; test edilen diğer bakterilere karşı antibakteriyel aktivite göstermediği saptanmıştır (Tablo 4.4).

Şekil 4.2'de *T. balsamita* ssp. *balsamitoides* gövde + çiçek ve kök kısımlarının EA ve MeOH ekstrelerinin *S. aureus* ATCC 6538 kökenine karşı oluşturduğu inhibisyon zon değerleri görülmektedir.

5) *T. chiliophyllum* var. *chiliophyllum* bitkisinin kök, gövde ve çiçek ekstreleri antibakteriyel aktivite göstermiştir.

Kök EA ekstresinin *S. aureus* ATCC 6538 (Zon çapı, 6 mm; MİK, 6250 µg/ml) kökenine; gövde EA ekstresinin *S. aureus* ATCC 6538 (Zon çapı, 10 mm; MİK, 6250 µg/ml) ve *S. epidermidis* ATCC 12228 (Zon çapı, 10 mm; MİK, 3125 µg/ml) kökenine; gövde MeOH ekstresinin *S. epidermidis* ATCC 12228 (Zon çapı, 6 mm; MİK, 3125 µg/ml) ve *P. aeruginosa* ATCC 1539 (Zon çapı, 8 mm; MİK, 25000 µg/ml) kökenlerine karşı antibakteriyel aktivite gösterdiği; test edilen diğer bakteri kökenlerine ise antibakteriyel aktivite göstermediği saptanmıştır (Şekil 4.3 C, Şekil 4.3 D).

Çiçek MeOH ekstresinde *S. aureus* ATCC 6538 (Zon çapı, 9 mm; MİK, 3125 µg/ml) ve *S. epidermidis* ATCC 12228 (Zon çapı, 3 mm; MİK, 3125 µg/ml) kökenine karşı antibakteriyel etki saptanmıştır (Şekil 4.1 B).

Kök MeOH ve çiçek EA ekstreleri ise; test edilen bakterilere karşı antimikrobiyal aktivite göstermemiştir. *T. chiliophyllum* var. *chiliophyllum*'e ait antibakteriyel aktivite sonuçları Tablo 4.4'te verilmiştir.

6) *T. chiliophyllum* var. *monocephalum* türünün çiçek EA ekstresinin *S. aureus* ATCC 6538 (Zon çapı, 4 mm; MİK, 3125 µg/ml), *S. epidermidis* ATCC 12228 (Zon çapı, 8 mm; MİK, 1562 µg/ml), *P. aeruginosa* ATCC 1539 (Zon çapı, 10 mm; MİK, 12500 µg/ml) bakteri kökenlerine karşı antibakteriyel aktivite gösterdiği, çalışmadaki diğer bakteri kökenlerine karşı aktivite göstermediği saptanmıştır (Tablo 4.6).

T. chiliophyllum var. *monocephalum* kök ve gövde EA ve MeOH ekstreleri test edilen bakteri kökenlerinin hiçbirine antibakteriyel aktivite göstermemiştir.

7) *T. chiliophyllum* var. *oligocephalum* gövde EA ve MeOH ekstresi test edilen bakterilere karşı antimikrobiyal aktivite göstermemiştir. Buna karşın aynı bitkinin kök EA ekstresi çalışmamızda kullandığımız bakteri kökenlerinden yalnız *P. aeruginosa* ATCC 1539 (Zon çapı, 7 mm; MİK, 3125 µg/ml) kökenine karşı antibakteriyel aktivite göstermiştir (Tablo 4.7).

8) *T. corymbosum* ssp. *cinereum* gövde MeOH ekstresinin *S. aureus* ATCC 6538 (Zon çapı, 4 mm; MİK, 1562 µg/ml) ve *S. epidermidis* ATCC 12228 (Zon çapı, 7 mm; MİK, 1562 µg/ml) kökenine; çiçek EA ekstresinin *S. aureus* ATCC 6538 (Zon çapı, 14 mm; MİK, 1562 µg/ml), *S. epidermidis* ATCC 12228 (Zon çapı, 6 mm; MİK, 6250 µg/ml), *K. pneumoniae*

ATCC 4352 (Zon çapı, 3 mm; MİK, 12500 µg/ml) kökenlerine karşı antibakteriyel aktivite gösterdiği; her iki ekstrenin çalışmadaki diğer bakteri kökenlerine ise antibakteriyel aktivite göstermediği saptanmıştır (Tablo 4.8).

T. corymbosum ssp. *cinereum* gövde EA ve çiçek MeOH ekstreleri, test edilen bakteri kökenlerine karşı antibakteriyel aktivite göstermemiştir.

9) *T. kotschy* gövde EA ekstresi *S. aureus* ATCC 6538 (Zon çapı, 9 mm; MİK, 6250 µg/ml) ve *S. epidermidis* ATCC 12228 (Zon çapı, 7 mm; MİK, 12500 µg/ml) kökenine karşı antibakteriyel aktivite göstermiştir (Tablo 4.9) *T. kotschy* gövde EA ekstresinin, *S. epidermidis* ATCC 12228 kökenine karşı gösterdiği inhibisyon zonu şekil 4.1 C'de görülmektedir.

T. kotschy türünün kök, gövde kısımlarının EA ve MeOH ekstreleri ile çiçek MeOH ekstresi deneyde kullanılan bakteri kökenlerine karşı antibakteriyel aktivite göstermemiştir.

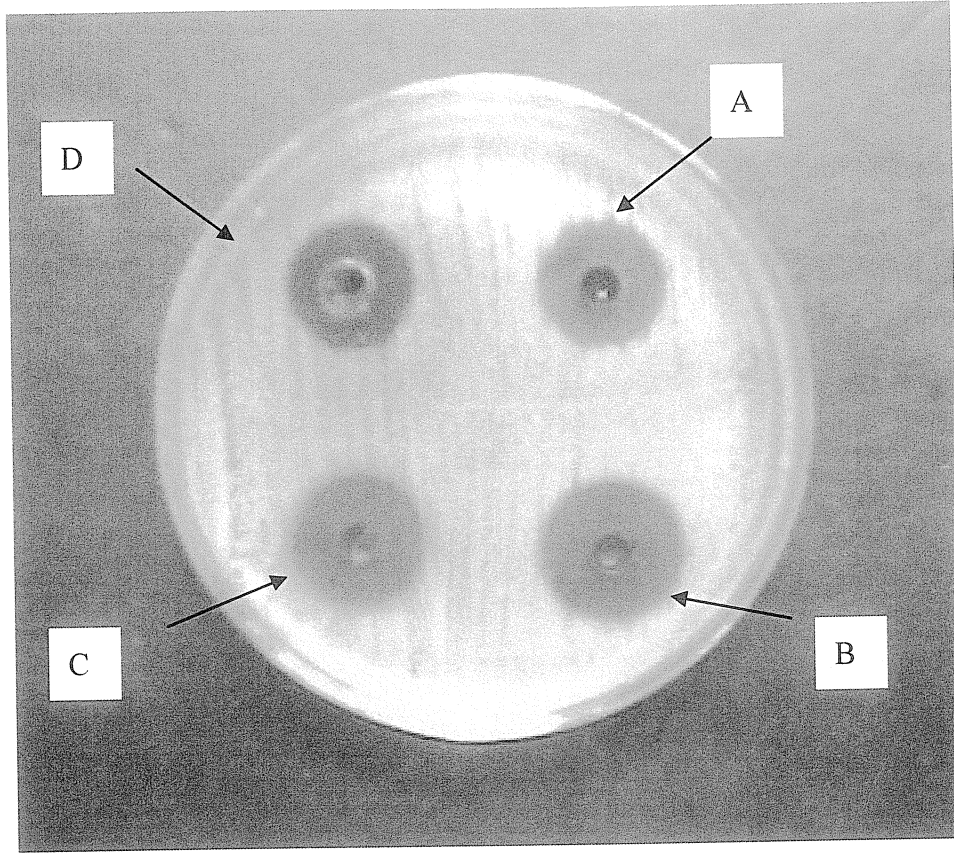
4.2 Antifungal Aktivite Bulguları

1) *T. balsamita* ssp. *balsamitoides* gövde EA ekstresi *C. guilliermondii* KUEN 998 (Zon çapı 4 mm; MİK, >25000 µg/ml) kökenine karşı antifungal aktivite gösterirken; test edilen diğer maya kökenlerine karşı etkili olmamıştır (Tablo 4.10).

2) *T. kotschy* gövde EA ekstresinin *C. tropicalis* KUEN 1021 (Zon çapı 6 mm; MİK > 25000 µg/ml) ve *C. glabrata* ATCC 90030 (Zon çapı sırasıyla, 4-4 mm; MİK, >25000 - >25000 µg/ml) kökenlerine karşı antifungal aktivite gösterdiği saptanmıştır. Tablo 4.10'da *T. kotschy*' e ait antifungal aktivite sonuçları görülmektedir.

T. balsamita ssp. *balsamitoides* ve *T. kotschy* türlerinin MeOH ekstreleri, test edilen *Candida* kökenlerine karşı antifungal etki göstermemiştir.

3) Çalışmamızda tüm *Tanacetum* L. türlerinin EA ve MeOH ekstreleri *C. albicans* ATCC 10231, *C. krusei* ATCC 6258, *C. pseudotropicalis* KUEN 1012 standart maya kökenlerine karşı antifungal aktivite göstermemiştir.



Şekil 4.1 *Tanacetum* L. bitki ekstraktlarının *S. epidermidis* ATCC 12228 kökenine karşı inhibisyon zon değerleri

A : *T. argenteum* ssp. *argenteum* var. *canum* kök MeOH ekstresi,

B : *T. chiliophyllum* var. *chiliophyllum* gövde EA ekstresi,

C : *T. kotschy* gövde EA ekstresi,

D : *T. argenteum* ssp. *flabellifolium* gövde EA ekstresi.

Tablo 4.1 *T. argenteum* ssp. *argenteum* var. *canum* bitkisinin EA ve MeOH ekstrelerinin antibakteriyel aktivitesi

Bakteriler	Kök				Gövde				Çiçek				Meropenem	
	Zon Çapı (mm)		MİK (µg/ml)		Zon Çapı (mm)		MİK (µg/ml)		Zon Çapı (mm)		MİK (µg/ml)		Zon Çapı (mm)	MİK (µg/ml)
	EA ekst.	MeOH ekst.	EA ekst.	MeOH ekst.	EA ekst.	MeOH ekst.	EA ekst.	MeOH ekst.	EA ekst.	MeOH ekst.	EA ekst.	MeOH ekst.	EA ekst.	MeOH ekst.
<i>S. aureus</i> ATCC 6538	—	7	—	—	—	—	—	—	*	*	*	*	32	<0.125
<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	—	10	—	—	—	—	—	—	*	*	*	*	34	0.25
<i>P.aeruginosa</i> ATCC	—	7	—	—	—	—	—	—	*	*	*	*	24	0.25
<i>E. coli</i> ATCC 11229	—	—	—	—	—	—	—	—	*	*	*	*	27	0.25
<i>P. mirabilis</i> ATCC 14153	—	—	—	—	—	—	—	—	*	*	*	*	24	0.125
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 4352	—	—	—	—	—	—	—	—	*	*	*	*	24	0.125

MİK : Minimum İnhibitör Konsantrasyon

— : İnhibisyon zonu yok

ekst. : ekstre, * : Test edilmedi

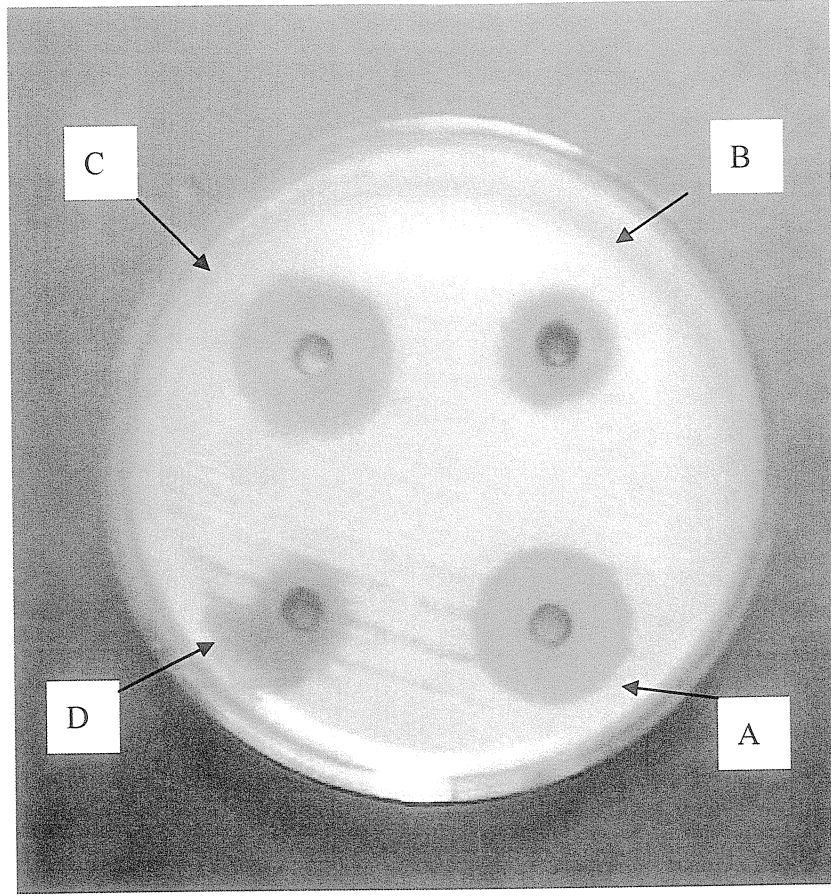
Tablo 4. 2. *T. argenteum* ssp. *flabellifolium* bitkisinin EA ve MeOH ekstrelerinin antibakteriyel aktivitesi

Bakteriler	Kök				Gövde				Çiçek				Meropenem	
	Zon Çapı (mm)		MİK (µg/ml)		Zon Çapı (mm)		MİK (µg/ml)		Zon Çapı (mm)		MİK (µg/ml)		Zon Çapı (mm)	MİK (µg/ml)
	EA ekst.	MeOH ekst.	EA ekst.	MeOH ekst.	EA ekst.	MeOH ekst.	EA ekst.	MeOH ekst.	EA ekst.	MeOH ekst.	EA ekst.	MeOH ekst.		
<i>S. aureus</i> ATCC 6538	*	*			4	—	3125		—	4		3125	32	<0.125
<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	*	*			5	5	6250	6250	—	—			34	0.25
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 1539	*	*			—	—			—	—			24	0.25
<i>E. coli</i> ATCC 11229	*	*			—	—			—	—			27	0.25
<i>P. mirabilis</i> ATCC 14153	*	*			—	—			—	—			24	0.125
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 4352	*	*			—	—			—	—			24	0.125

MİK : Minimum inhibitör konsantrasyon

— : İnhibisyon zonu yok

ekst. :ekstre, * : Test edilmedi



Şekil 4.2 *T. balsamita* ssp. *balsamitoides* *S. aureus* ATCC 6538 kökenine karşı inhibisyon zon çap değerleri

A : Gövde + çiçek EA ekstresi,

B : Gövde + çiçek MeOH ekstresi,

C : Kök MeOH Ekstresi,

D : Kök EA ekstresi

Tablo 4.3. *T. argyrophyllum* var. *argyrophyllum* bitkisinin EA ve MeOH ekstralarının antibakteriyel aktivitesi

Bakteriler	Kök				Gövde				Çiçek				Meropenem	
	Zon Çapı (mm)		MİK (µg/ml)		Zon Çapı (mm)		MİK (µg/ml)		Zon Çapı (mm)		MİK (µg/ml)		Zon Çapı (mm)	MİK (µg/ml)
	EA ekst.	MeOH ekst.	EA ekst.	MeOH ekst.	EA ekst.	MeOH ekst.	EA ekst.	MeOH ekst.	EA ekst.	MeOH ekst.	EA ekst.	MeOH ekst.		
	3	3	3125	12500	3	4	6250	3125	10	10	3125	3125	32	<0.125
<i>S. aureus</i> ATCC 6538	3	3	3125	12500	3	4	6250	3125	10	10	3125	3125	32	<0.125
<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	–	–	–	–	–	–	–	–	8	6	3125	6250	34	0.25
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 1539	–	13	–	6250	–	–	–	–	–	–	–	–	25	0.25
<i>E. coli</i> ATCC 11229	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	24	0.25
<i>P. mirabilis</i> ATCC 14153	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	27	0.125
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 4352	–	–	–	–	–	–	–	–	–	3	–	12500	24	0.125

MİK : Minimum inhibitör konsantrasyon

– : İnhibisyon zonu yok

ekst. : ekstre, * : Test edilmedi

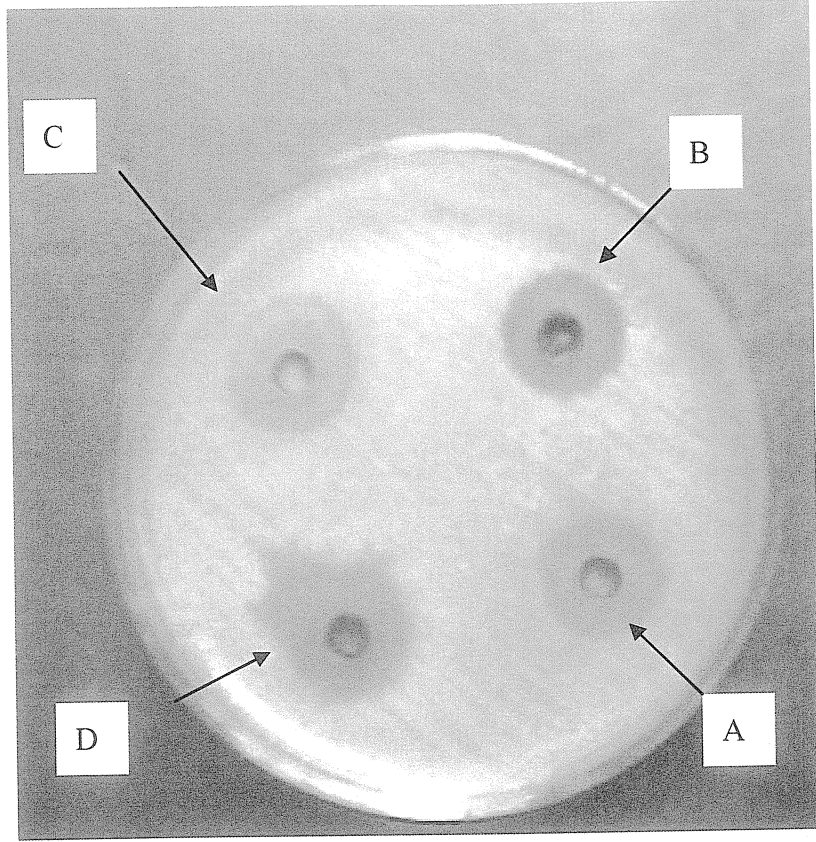
Tablo 4.4. *T. balsamita*. ssp. *balsamitoides* bitkisinin EA ve MeOH ekstrelerinin antibakteriyel aktivitesi

Bakteriler	Kök				Gövde +Çiçek				Meropenem	
	Zon Çapı (mm)		MİK (µg/ml)		Zon Çapı (mm)		MİK (µg/ml)		Zon Çapı (mm)	MİK (µg/ml)
	EA ekst.	MeOH ekst.	EA ekst.	MeOH ekst.	EA ekst.	MeOH ekst.	EA ekst.	MeOH ekst.		
	3	10	3125	6250	15	4	2185	12500	33	<0.125
<i>S. aureus</i> ATCC 6538										
<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	3	6	3125	3125	10	6	3125	6250	36	0.25
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 1539	–	3		25000	3	4	12500	12500	26	0.25
<i>E. coli</i> ATCC 11229	–	–			2		12500		27	0.25
<i>P. mirabilis</i> ATCC 14153	–	–			–				28	0.125
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 4352	–	–			3		12500		24	0.125

MİK : Minimum inhibitör konsantrasyon

– : İnhibisyon zonu yok

ekst. : ekstre, * : Test edilmedi



Şekil 4.3 *T. chiliophyllum* ve *T. argyrophyllum* ekstrelerinin *S. aureus* ATCC 6538 kökenine karşı gösterdiği inhibisyon zon değerleri

- A : *T. argyrophyllum* var. *argyrophyllum* çiçek EA ekstresi
B : *T. argyrophyllum* var. *argyrophyllum* çiçek MeOH ekstresi
C : *T. chiliophyllum* var. *chiliophyllum* çiçek MeOH ekstresi
D : *T. chiliophyllum* var. *chiliophyllum* kök EA ekstresi

Tablo 4.5 *T. chiliophyllum* var. *chiliophyllum* bitkisinin EA ve MeOH ekstraktlarının antibakteriyel aktivitesi

Bakteriler	Kök				Gövde				Çiçek				Meropenem	
	Zon Çapı (mm)		MİK (µg/ml)		Zon Çapı (mm)		MİK (µg/ml)		Zon Çapı (mm)		MİK (µg/ml)		Zon Çapı (mm)	MİK (µg/ml)
	EA ekst.	MeOH ekst.	EA ekst.	MeOH ekst.	EA ekst.	MeOH ekst.	EA ekst.	MeOH ekst.	EA ekst.	MeOH ekst.	EA ekst.	MeOH ekst.		
<i>S. aureus</i> ATCC 6538	6	—	6250		10	—	6250		—	9		3125	34	<0.125
<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	—	—			10	6	3125	6250	—	3		3125	38	0.25
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 1539	—	—			—	8		25000	—	—			26	0.25
<i>E. coli</i> ATCC 11229	—	—			—	—			—	—			24	0.25
<i>P. mirabilis</i> ATCC 14153	—	—			—	—			—	—			27	0.125
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 4352	—	—			—	—			—	—			26	0.125

MİK : Minimum inhibitör konsantrasyon

— : İnhibisyon zone yok

ekst. : ekstre, * : Test edilmedi

Tablo 4.6. *T. chiliophyllum* var. *monocephalum* bitkisinin EA ve MeOH ekstrelerinin antibakteriyel aktivitesi

Bakteriler	Kök				Gövde				Çiçek				Meropenem	
	Zon Çapı (mm)		MİK (µg/ml)		Zon Çapı (mm)		MİK (µg/ml)		Zon Çapı (mm)		MİK (µg/ml)		Zon Çapı (mm)	MİK (µg/ml)
	EA ekst.	MeOH ekst.	EA ekst.	MeOH ekst.	EA ekst.	MeOH ekst.	EA ekst.	MeOH ekst.	EA ekst.	MeOH ekst.	EA ekst.	MeOH ekst.	32	<0.125
	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		
<i>S. aureus</i> ATCC 6538	—	—	—	—	—	—	—	—	4	—	3125	—	32	<0.125
<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	—	—	—	—	—	—	—	—	8	—	1562	—	34	0.25
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 1539	—	—	—	—	—	—	—	—	10	—	12500	—	22	0.25
<i>E. coli</i> ATCC 11229	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	24	0.25
<i>P. mirabilis</i> ATCC 14153	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	27	0.125
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 4352	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	26	0.125

MİK : Minimum inhibitör konsantrasyon

— : İnhibisyon zonu yok

ekst. : ekstre , * : Test edilmedi

Tablo 4.7. *T. chilitophyllum* var. *oligocephalum* bitkisinin EA ve MeOH ekstraktlarının antibakteriyel aktivitesi

Bakteriler	Kök				Gövde				Çiçek				Meropenem	
	Zon Çapı (mm)		MİK (µg/ml)		Z. Çapı (mm)		MİK (µg/ml)		Zon Çapı (mm)		MİK (µg/ml)		Zon Çapı (mm)	MİK (µg/ml)
	EA ekst.	MeOH ekst.	EA ekst.	MeOH ekst.	EA ekst.	MeOH ekst.	EA ekst.	MeOH ekst.	EA ekst.	MeOH ekst.	EA ekst.	MeOH ekst.		
<i>S. aureus</i> ATCC 6538	—	—			—	—			*	*			32	<0.125
<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	—	—			—	—			*	*			34	0.25
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 1539	7	—	3125		—	—			*	*			22	0.25
<i>E. coli</i> ATCC 11229	—	—			—	—			*	*			24	0.25
<i>P. mirabilis</i> ATCC 14153	—	—			—	—			*	*			27	0.125
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 4352	—	—			—	—			*	*			26	0.125

MİK : Minimum inhibitör konsantrasyon

— : İnhibisyon zonu yok

ekst. : ekstre, * : Test edilmedi

Tablo 4.8. *T.c.orymbosum ssp.cinereum* bitkisinin EA ve MeOH ekstralarının antibakteriyel aktivitesi

Bakteriler	Kök				Gövde				Çiçek				Meropenem	
	Zon Çapı (mm)		MİK (µg/ml)		Zon Çapı (mm)		MİK (µg/ml)		Zon Çapı (mm)		MİK (µg/ml)		Zon Çapı (mm)	MİK (µg/ml)
	EA ekst.	MeOH ekst.	EA ekst.	MeOH ekst.	EA ekst.	MeOH ekst.	EA ekst.	MeOH ekst.	EA ekst.	MeOH ekst.	EA ekst.	MeOH ekst.		
	*	*												
<i>S. aureus</i> ATCC 6538	*	*			—	4		1562	14	—	1562		32	<0.125
<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	*	*			—	7		1562	6	—	6250		34	0.25
<i>P.aeruginosa</i> ATCC 1539	*	*			—	—			—	—			22	0.25
<i>E. coli</i> ATCC 11229	*	*			—	—			—	—			29	0.25
<i>P. mirabilis</i> ATCC 14153	*	*			—	—			—	—			26	0.125
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 4352	*	*			—	—			3	—	12500		26	0.125

MİK : Minimum inhibitör konsantrasyon

— : İnhibisyon zonu yok

ekst. : ekstre, * : Test edilmedi

Tablo 4. 9 *T. kotschyi* bitkisinin EA ve MeOH ekstrelerinin antibakteriyel aktivitesi

Bakteriler	Kök				Gövde				Çiçek				Meropenem	
	Zon Çapı (mm)		MİK (µg/ml)		Zon Çapı (mm)		MİK (µg/ml)		Zon Çapı (mm)		MİK (µg/ml)		Zon Çapı (mm)	
	EA ekst.	MeOH ekst.	EA ekst.	MeOH ekst.	EA ekst.	MeOH ekst.	EA ekst.	MeOH ekst.	EA ekst.	MeOH ekst.	EA ekst.	MeOH ekst.		
<i>S. aureus</i> ATCC 6538	—	—			9	—		6250	—	—			36	<0.125
<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	—	—			7	—		12500	—	—			32	0.25
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 1539	—	—			—	—			—	—			22	0.25
<i>E. coli</i> ATCC 11229	—	—			—	—			—	—			28	0.25
<i>P. mirabilis</i> ATCC 14153	—	—			—	—			—	—			26	0.125
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 4352	—	—			—	—			—	—			26	0.125

MİK : Minimum inhibitör konsantrasyon

— : İnhibisyon sonu yok

ekst. : ekstre, * : Test edilmedi

Tablo 4.10. *Tanacetum* L. türlerinin ekstrelerinin antifungal aktivitesi

Mayalar	<i>T. balsamita</i> ssp. <i>balsamitoides</i> Gövde+ çiçek				<i>T. kotschy</i> Gövde				ÇDTT**		Flukonazol	
	Zon Çapı (mm)		MİK (µg/ml)		Zon Çapı (mm)		MİK (µg/ml)		Zon Çapı (mm)	MİK (µg/ml)	Zon Çapı (mm)	MİK (µg/ml)
	EA ekst.	MeOH ekst.	EA ekst.	MeOH ekst.	EA ekst.	MeOH ekst.	EA ekst.	MeOH ekst.	EA / MeOH ekst.	EA / MeOH ekst.		
<i>C. guilliermondii</i> KUEN 998	4	—	>25 000	—	—	—	—	—	—	—	34	<0.3125
<i>C. glabrata</i> ATCC 90030	—	—	—	—	6	—	>25 000	—	—	—	28	<0.3125
<i>C. tropicalis</i> KUEN 1021	—	—	—	—	6	—	>25 000	—	—	—	36	<0.3125
<i>C. albicans</i> ATCC 10231	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	30	<0.3125
<i>C. pseudotropicalis</i> (kefir) KUEN 1012	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	38	<0.3125
<i>C. krusei</i> ATCC 6258	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	26	<0.3125

ÇDTT: Çalışmada test edilen diğer *Tanacetum* L. türleri

MİK :Minimum inhibitör konsantrasyon, * : Test edilmedi

—: İnhibisyon zonu yok, ekst. :ekstre

5. TARTIŞMA

Dünya'da oldukça geniş yayılım gösteren ve tıbbi bitki kapsamına girmiş bir çok türü bulunan *Compositae* familyası üzerinde biyolojik aktivite yönünden çok sayıda çalışma yapılmıştır (Thomas, 1989; Kalodera, 1997; Rezende, 2000; Candan, 2003).

Çalışmamızda, ülkemizin farklı bölgelerinden toplanan *Compositae* familyasına ait dokuz *Tanacetum* L. türünün agar oluk difüzyon yöntemi ile antimikrobiyal aktiviteleri araştırılmış, inhibisyon zonu veren EA ve MeOH ekstraktlarının tüp dilüsyon yöntemiyle minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri saptanmıştır.

Compositae familyasındaki *Tanacetum* L. türlerinden antimikrobiyal aktivite gösteren pek çok seskiterpenoid bileşik izole edilmiştir. Seskiterpen lakton bileşiklerindeki lakton halkasına bağlı fonksiyonel gruplarının biyolojik aktivitede etken olduğu; antitümör, sitotoksik, antiprotozoer, insektisit aktivitenin yanı sıra, antibakteriyel ve antifungal aktivite gösterdikleri araştırmalarda bildirilmiştir (Picman, 1983; 1990; Gören, 1993a; 1997; Rodriguez, 1976; Lee, 1977).

T. argyrophyllum var. *argyrophyllum* türünün de seskiterpen laktonlarının *Staphylococcus aureus*, *Bacillus megaterium*, *Bacillus subtilis* ve *Escherichia coli* bakterilerine karşı antibakteriyel aktivite gösterdiği bildirilmiştir (Gören, 1990).

Gören ve arkadaşları (1993a), endemik bir tür olan *Tanacetum densum* ssp. *amani* türünün seskiterpen laktonlarını araştırmışlardır. Yeni bir ödesmanolid bileşiği olan 1 β , 4 α , 6 α -trihidroxyeudesm-11-en-8 α ,12-olid bileşiğini izole etmişler ve bu bileşiğin zayıf bir antimikrobiyal aktivite gösterdiğini saptamışlardır.

Gören ve arkadaşları (1996), *T. praeteritum* ssp. *praeteritum* türünden izole ettikleri 10 seskiterpen lakton ve bir seskiterpen bileşiğinin sitotoksik ve antibakteriyel aktivitesini araştırmışlardır. İzole edilen tüm bileşiklerin sitotoksik aktivite gösterdiğini; bu bileşiklerden sadece armefolin, armeksifolin, ludovisin A ve tamirin bileşiklerinin *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus epidermidis*, *Klebsiella pneumoniae* bakteri kökenlerine karşı orta derecede antibakteriyel aktivite (600-1500 μ g/ml) gösterdiğini bildirmişlerdir.

Tanacetum L. türlerinden antimikrobiyal aktivite gösteren seskiterpen lakton bileşiklerinin izolasyonunda kullanılan çözücü sistemlerinde EA ve MeOH kullanıldığı ve bu çözücülerin seskiterpen laktonları çözücü özelliği olduğu bildirilmektedir (Gören, 1993a; 1993b; 1997). Çalışmamızda, *Tanacetum* L. türlerinden ekstraktların elde edilmesinde EA ve MeOH

kullanılmıştır. Antimikrobiyal etki gösteren *Tanacetum* L. türlerinin muhtemelen seskiterpenik maddeler içerdiğini ve antimikrobiyal aktivitenin bu bileşiklerden kayanaklanabileceğini düşünmekteyiz.

Keleş ve arkadaşları (2001), *Tanacetum vulgare* türünün çiçek etanol ekstresinin *Staphylococcus aureus* (Zon çapı, 14 mm; MİK, 1000 µg/ml) ve *Salmonella galinarum* (Zon çapı, 7 mm; MİK, 1000 µg/ml)'a karşı antibakteriyel aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir. Çalışmamızdaki *Tanacetum* L. türlerinin *S. aureus*'a karşı zon çapı 3-15 mm; MİK değerleri 1562-12500 µg/ml arasında bulunmuştur. Keleş ve arkadaşlarının çalışmasında; *Tanacetum vulgare* türünün 14 mikroorganizmadan 2'sine antibakteriyel aktivite göstermesi; çalışmamızdaki 9 *Tanacetum* L. türünün 12 mikroorganizmadan 7'sine antimikrobiyal aktivite göstermesinin, muhtemelen aynı *Tanacetum* L. cinsine ait, farklı tür ve alt türler olmalarından kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Çalışmamızda, *T. balsamita* ssp. *balsamitoides* gövde+çiçek kısımlarının EA ve MeOH ekstreleri *S. aureus* ATCC 6538, *S. epidermidis* ATCC 12228, *P. aeruginosa* ATCC 1539, *E. coli* ATCC 11229, *K. pneumoniae* ATCC 4352 bakterilerine (Zon çapı, 3-15 mm; MİK, 1562-25000 µg/ml) ve *C. guilliermondii* KUEN 998 (Zon çapı, 4 mm; MİK, >25000 µg/ml) kökenine karşı antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Çalışmamızda kullandığımız mikroorganizmalara karşı en yüksek antimikrobiyal aktivite, bu türün gövde ve çiçek kısımlarının EA ve MeOH ekstrlerinde bulunmuştur. Bu *Tanacetum* L. türünün diğer türlere göre daha kuvvetli antimikrobiyal aktivite göstermesinin; muhtemelen bitkinin gövde ve çiçek kısımlarının birlikte çalışılmasıyla, etken madde miktarının artması ve etken maddelerin birlikte mikroorganizmalara karşı sinerjistik etki göstermesinden kaynaklanabileceğini düşünmekteyiz.

Kalodera ve arkadaşları (1996), *T. parthenium* L. türünün yaprak kısımlarının % 45 ve % 90 oranında hazırladıkları etanol ekstrlerinin antimikrobiyal aktivitesini araştırmışlardır. % 45'lik etanol ekstresinin 7 mikroorganizmaya (*B. subtilis*, *B. pumilus*, *S. aureus*, *S. haemolyticus*, *S. flava*, *C. albicans* ve *Trychophyton mentagrophytes*) karşı 9-28 mm aralığında inhibisyon zonu verdiğini bildirmişlerdir. % 90'lık etanol ekstresinin ise; 14 mikroorganizmaya (*B. subtilis*, *B. pumilus*, *S. aureus*, *S. haemolyticus*, *S. flava*, *E. coli*, *P. mirabilis*, *P. morgani*, *P. rettgeri*, bakteri kökenleri ile *C. albicans*, *C. krusei*, *C. tropicalis*, *Trychophyton mentagrophytes*) karşı 9-21 mm çapında inhibisyon zonu verdiğini saptamışlardır. Araştırmacılar, % 90 oranındaki etanol çözücüsüyle hazırlanan ekstrlerin, çok sayıda mikroorganizmaya karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir.

Çalışmamızdaki bitki ekstralarının hazırlanmasında kullanılan saf EA ve MeOH çözücülerinin de bitkilerin içeriğindeki antimikrobiyal aktivite gösteren sekonder metabolitleri daha iyi ortaya çıkarmış olabileceğini düşündürmektedir.

NCCLS standartlarına göre; Meropenem (10 mg)'in *Enterobacteriaceae*, *Enterococcaceae*, *Staphylococcus* spp. ve *Pseudomonas* spp. bakterilerine karşı gösterdiği inhibisyon zon değerlerine göre; bakteriler ≤ 13 mm zon çapında dirençli, 14-15 mm zon çapında orta derecede duyarlı ve ≥ 16 mm zon çapında duyarlı olarak bildirilmiştir (NCCLS, 2003). Çalışmamızda pozitif kontrol olarak Meropenem seçilmiş ve bitki ekstralarının antibakteriyel aktivite sonuçları Meropenem'in gösterdiği inhibisyon zon değerleriyle karşılaştırılmıştır.

T. balsamita ssp. *balsamitoides* gövde+çiçek EA ekstresinin *S. aureus*'a karşı zon çapı 15 mm; *T. argyrophyllum* var. *argyrophyllum* kök MeOH ekstresinin *P. aeruginosa*'ya karşı zon çapı 13 mm; *T. corymbosum* ssp. *cinereum* çiçek EA ekstresinin *S. aureus*'a karşı zon çapı 14 mm olarak ölçülmüştür. Bu değerleri, Meropenem'in aynı bakteri grubuna olan etkisiyle kıyasladığımızda, bu bitki ekstralarının orta düzeyde bir antibakteriyel aktivite gösterdiğini söyleyebiliriz. Diğer *Tanacetum* L. türlerinin EA ve MeOH ekstralarının, çalışmamızda kullanılan bakterilere karşı inhibisyon zon değerleri 2-10 mm aralığında olup; Meropenem değerlerine göre; ≤ 13 mm'den düşük inhibisyon zonunda bakterilerin dirençli kabul edilmesinden dolayı, bu bitki ekstralarının zayıf düzeyde antimikrobiyal aktivite gösterdiği sonucuna varılmıştır.

Çalışmamızda, *Tanacetum* L. türlerinin gövde kısımlarından hazırlanan EA ve MeOH ekstralarının, diğer bitki kısımlarına (kök, çiçek) göre daha fazla antimikrobiyal aktivite gösterdiği saptanmıştır.

Çalışmamızda antimikrobiyal aktivitesi araştırılan üç *T. chiliophyllum* türü arasında *T. chiliophyllum* var. *chiliophyllum* türü kök, gövde ve çiçek EA ile MeOH ekstraları *S. aureus*, *S. epidermidis* ve *P. aeruginosa* bakteri kökenlerine karşı en fazla aktivite gösteren tür olmuştur. *T. chiliophyllum* var. *oligocephalum* ise çalışmamızda yalnız *P. aeruginosa* bakteri kökenine karşı zayıf etki göstererek, en az etkili *T. chiliophyllum* L. türü olmuştur.

Tanacetum L. türlerinin *Candida* kökenlerine karşı değişen oranlarda antifungal aktivite gösterdiğini bildiren çalışmalar mevcuttur:

Kalodera ve arkadaşları (1996), *Tanacetum parthenium*'un % 45'lik etanol ekstresinin *C. albicans* ve *Trychophyton mentagrophytes* e karşı 9-28 mm; % 90'lık etanol ekstresinin ise *C. albicans*, *C. krusei*, *C. tropicalis* ve *Trychophyton mentagrophytes* maya kökenlerine karşı 10-21 mm aralığında inhibisyon zonu verdiğini saptamışlardır.

Tanacetum praeteritum ssp. *praeteritum* türünün *C. albicans*'a karşı antifungal aktivitesi olmadığı bildirilmiştir (Gören, 1996).

Çalışmamızdaki *Tanacetum* L. türleri de *C. albicans* ATCC 10231 'a karşı antifungal aktivite göstermemiştir. *T. balsamita* ssp. *balsamitoides* gövde+çiçek EA ekstresi ile *T. kotschy* EA ekstresinin *C. tropicalis*, *C. glabrata* ve *C. guilliermondii* maya kökenlerine karşı 4-6 mm çapında zayıf bir inhibisyon zonu verdiğini saptanmıştır. MİK değerinin ise; 25000 µg/ml'den yüksek olduğu saptanmıştır.

Çalışmamızda, çözücü kontrolü olarak alınan etilasetat (EA), metanol (MeOH) ve dimetil sulfoksitin (DMSO) testlerde kullanılan konsantrasyonları bakteri ve maya kökenlerine karşı antimikrobiyal aktivite göstermemiştir.

6. SONUÇ

1) Çalışmamızda, antimikrobiyal aktivitesini agar oluk difüzyon yöntemiyle araştırdığımız *Tanacetum* L. türlerinin, EA ve MeOH ekstrelerinin (100 mg/ml) bakteriler (*Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Escherichia coli* ATCC 11229, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 1539, *Proteus mirabilis* ATCC 14153, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 4352) üzerinde 3-15 mm çapında inhibisyon zonları oluşturduğu, MİK değerlerinin ise 1562-25000 µg/ml aralığında olduğu saptanmıştır.

2) *Tanacetum* türlerinin EA ve MeOH ekstrelerinden, *T. balsamita* ssp. *balsamitoides* gövde + çiçek EA ekstresi, *S. aureus* ATCC 6538 kökenine; *T. argyrophyllum* var. *argyrophyllumi* kök MeOH ekstresi, *P. aeruginosa* ATCC 1539 kökenine; *T. corymbosum* ssp. *cinereum* çiçek EA ekstresi, *S. aureus* ATCC 6538 kökenine orta derecede (14-15 mm) antibakteriyel aktivite gösterirken, çalışmamızdaki diğer bitki ekstrelerinin ise; test edilen bakterilerden *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Escherichia coli* ATCC 11229, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 1539, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 4352 bakteri kökenlerine ise zayıf düzeyde (≤ 13 mm) antibakteriyel aktivite gösterdikleri saptanmıştır.

3) *T. kotschy* gövde kısmı ile *T. balsamita* ssp. *balsamitoides* gövde+çiçek kısmının EA ekstresi, 6 *Candida* kökeninden yalnız *C. tropicalis* KUEN 1021, *C. glabrata* ATCC 90030 ve *C. guilliermondii* KUEN 998 kökenlerine karşı zayıf düzeyde (4-6 mm) antifungal aktivite gösterdikleri saptanmıştır.

4) Çalışmamızda kullandığımız *Tanacetum* türlerinin, 12 EA ekstresi ve 11 MeOH ekstresi aynı değer aralığında (Zon çapı, 2-15 mm; MİK, 1562-25000 µg/ml) antimikrobiyal aktivite göstermiştir.

5) Çalışmamızda, kullandığımız konsantrasyondaki çözücüler; etilasetat (EA), metanol (MeOH) ile dimetil sulfoksit (DMSO) bakteri ve maya kökenlerine karşı antimikrobiyal aktivite göstermemiştir.

Sonuç olarak, çalışmamızda *Tanacetum* L. türlerinin *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Escherichia coli* ATCC 11229, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 1539, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 4352, *C. tropicalis* KUEN 1021, *C. glabrata* ATCC 90030 ve *C. guilliermondii* KUEN998 mikroorganizma kökenlerine karşı genel olarak zayıf derecede antimikrobiyal aktivite göstermesine karşın; bazı ekstrelerin *S. aureus* ve *P. aeruginos*'ya karşı orta derecede antimikrobiyal aktivite gösterdiği saptanmıştır. Bu *Tanacetum* türlerinin ileri çalışmalarda, antimikrobiyal aktivite gösteren ham ekstrelerinin, kimyasal yapı analizleri ile etken maddeleri saptanabilir ve anti-tümoral, antihemolitik, anti-enflammatuar ve immunomodülatör gibi biyolojik etkileri aydınlatılabilir ve bu da yeni bitkisel ilaçların kullanımını gündeme getirebilir.

KAYNAKLAR

- Akman Y., (1998), "Bitki Biyolojisine Giriş Botanik", 8. Baskı Palme Yayınları, 394-396, Ankara.
- Anaissie A., Paetnick V., Bodey G.P., (1991), "Fluconazole Susceptibility Testing of *Candida albicans*: Microtiter Method that is Independent of İnoculum Size, Temperature and Time of Reading", Antimicrobial Agents and Chemoteraphy, 35 (8):1641
- Asımgil A., (1993), "Şifalı Bitkiler", Timaş Yayınları, 218-219, İstanbul
- Awang D.V.C., Dawson B. A., Kindack D.G., Crompton C. W., Heptinstall S., (1991), "Parthenolide Content of Feverfew (*Tanacetum parthenium*) Assessed by HPLC and ¹H-NMR Spectroscopy", J. Nat. Prod., 34(6):1516-1521
- Baykal T., (1997), "Doğal Kaynaklı Bileşiklerin Biyolojik Aktivite Yönünden Değerlendirilmesi ve Tedavideki Yeri", GE, 46: 21-22
- Baytop T., (1984), "Türkiye'de Bitkilerle Tedavi", İstanbul Üniversitesi Yayınları, No. 3255 Eczacılık Fak., No: 40, 355-356, İstanbul
- Baytop T., (1999), "Türkiye'de Bitkilerle Tedavi", İstanbul Üniversitesi Yayınları, Eczacılık Fak., 25-40, İstanbul
- Bilgehan H., (1992), Temel Mikrobiyoloji ve Bağışıklık Bilimi, İzmir 5. Baskı, Barış Yayınları 8: 269-272
- Branchini M.L, Pfaller M.A, Rhine-Chalberg J., Frempong T., Isenberg H.D, (1994), "Genotypic Variation and Slime Production Among Blood and Catheter Isolates of *Candida parapsilosis*", J. Clin. Microbiol., 32: 452-456
- British Herbal Medicine Assoaciation, (1996), " British Herbal Pharmacopoeia", Published by the British Herbal Medicine Assoation and Completely Revised by its Scientific Commitee 4th edition, 81-82
- Bruneton Jean, (1999), "Pharmacognosy Phytochemistry Medical Plant 2nd edition", Hampshire Intercept Press, 631-635
- Candan F., (2003), "Antioxidant and Antimicrobial Activity of The Essential Oil and Methanol Extracts of *Achillea millefolium* subsp. *Millefolium* Afan (Asteraceae)", J. of Ethnopharm., 87 215-220
- Casida J.E., (1980), "Pyrethrum Flowers and Pyrethroid Insecticide", Environ. Health Perspec., 34:189-202
- Çetin E.T., (1973), "Genel ve Pratik Mikrobiyoloji", 3. Baskı, Sermet Matbaası, İstanbul, 443
- Çotuk A., (2003), "Genel Mikrobiyoloji Laboratuvar Yöntemleri", Nobel Matbaacılık, İstanbul, 77-97
- D'Amelio F. Sr., Roton B., (1999), "Botanicals A Phytochemical Desk Reference", CRC Pres, 199
- Dülger B., Ceylan M., Alıtsaous M., Uğurlu E., (1999), "*Artemisia absinthium* L. (Pelin)'un Antimikrobiyal Aktivitesi" Tr. J.of Biology, 23 (3) 377-384

- Ertürk Ö., (2003), "*Scorzonera mollis* Bieb. (*Compositae*) Bitkisinin Antimikrobiyal Aktivitesi" Çevre Koruma Dergisi, 47: 27-31
- Gören N., Jakupovic J., Topal Ş., (1990), "Sesquiterpene Lactones With Antibacterial Activity From *T. argyrophyllum* var. *argyrophyllum*", Phytochemistry, 29 (5): 1467-1469
- Gören N., Ulubelen A., Bozok- Johansson C., Tahtasakal E., (1993a), "Sesquiterpene Lactones From *Tanacetum densum* subsp. *amani*", Phytochemistry, 33 (5): 1157-1159
- Gören N., Tahtasakal E., (1993b), "Sesquiterpenes of *Tanacetum chiliophyllum* var. *heimerlei*", Phytochemistry, 34 (4): 1071-1073
- Gören N., Tahtasakal E., Pezzuto J. M., Cordell G.A., Schwarz B., Proksch P., (1994), "Sesquiterpene Lactones from *Tanacetum argenteum*", Phytochemistry, 36(1): 389-392
- Gören N., Woerdenbag H.J., Bozok-Johansson C., (1996), "Cytotoxic and Antibacterial Activities of Sesquiterpene Lactone Isolated From *Tanacetum praeteritum* subsp. *praeteritum*", Planta Med., 62 (5): 419-422
- Gören N., Tahtasakal E., (1997), "Sesquiterpenoids From *Tanacetum argenteum* subsp. *canum* var. *canum*", Phytochemistry, 45(1): 107-109
- Grierson, A. J. C., (1975), "*Tanacetum* L. In: Flora of Turkey and the East Aegan Islands (ed. P.H. Davis)", Edinburgh University Press, 5: 256-291.
- Güven A., Yürekli A. K., (1991), "Fırat Havzasında Yayılış Gösteren *Tanacetum* Türlerinin Ekonomik Potansiyeli", 6-8 Ekim 1986 Fırat Havzası Tıbbi Endüstriyel Bitkileri Sempozyumu, 251-259
- Juteau F., Jerkovic I., Masotti V., Milos M., Mastelic J., Bessiere J. M., Viano J., (2003), "Composition and Antimicrobial Activity of The Essential Oil of *Artemisia absinthium* from Croatia and France" Planta Med., 69:158-159
- Kalodera Z., Papeljnjak S., Petrak T., (1996), "The Antimicrobial Activity of *Tanacetum parthenium* Extract", Pharmazie, 52 (11): 885-886
- Kalodera Z., Papeljnjak S., Blazevic N., Petrak T., (1997) "Chemical composition and antimicrobial activity of *Tanacetum parthenium* oil", Pharmazie 52,11:885-886
- Kayser F.H., Bienz K.A., Eckert J., Zinkernagel R.M., (2002), "Tıbbi Mikrobiyoloji", Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul
- Keleş O., Ak S., Bakırel Y., Alpınar K., (2001), "Türkiye'de Yetişen Bazı Bitkilerin Antibakteriyel Etkisinin İncelenmesi", Turk J. Vet. Anim. Sci., 25: 559-565
- Lee K.H., Ibuka T., Wuş R.Y., Geissman T.A., (1977), "Structure-Antimicrobial Activity Relationships Among The Sesquiterpene Lactones and Related Compounds", Phytochemistry, 16, 1177-1181
- Martone J.W, Jarwis W.R, Edwards J.R, Culver D.H, Haley R.U, (1998), "Incidence and Nature of Endemic and Epidemic Nosocomial Infections", Hospital Infections Ed. Bennet JV, Brachman PS. 4th ed., Philadelphia, Lippincott, 42-70.
- Miglietta, A., Bozzo, F., Gabriel, L. ve Boca, C., (2004), "Microtubule- İnterfering Activity of Parthenolide", Chemico-Biol. Inter., 149:165-173.

- Mikami Y., Takahashi A., Yazawa K., Terao K., Ueno Y., (1992), "Synergistic Interaction of Miconazole and Fluconazole at Su- MIC Level on *Candida albicans*", *Mycoses*, 35: 327
- Nakipoğlu M., Otan H., (1992), "Tıbbi Bitkilerin Flavonoidleri" *J. AARI*, 4 (1): 70-93
- NCCLS, (1999), "Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Ninth Informational Supplement", NCCLS Document [ISBN 1-56238-358-2] NCCLS, 940 West Valley Road, Site 1400, Wayne, Pennsylvania, USA.
- NCCLS, (2003), "Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically", approved Standard- Sixth edition. NCCLS Document M7-A6 [ISBN 1-56238-486-4] NCCLS 940 West Valley Road, Site 1400, Wayne, Pennsylvania, USA.
- Newall C. A., Anderson L. A., Phillipson J. D., (1996), "Herbal Medicine: A Guide for health care professionals", London Pharmaceutical Press, 119-120, 254-255
- Palevitch, D., Earon G., Carasso R., (1997), "Feverfew (*Tanacetum parthenium*) as a Prophylactic Treatment for Migraine: A Double-Blind Placebo-Controlled Study", *Phytotherapy Res.*, 11: 508-511.
- Perez C., Pauli M., Bazerque P., (1990), "An Antibiotic Assay By The Agar-Well Diffusion Method", *Acta Biologica et Medicine Experimentalis* 15: 113-115
- Picman A.K., Towers G.H.N., (1983), "Antibacterial Activity Sesquiterpene Lactones", *Biochem. Systematic. and Ecology*, 11 (4): 321-327
- Picman A.K., (1986), "Biological Activities of Sesquiterpene Lactones", *Biochem. Systematic. and Ecology*, 14 (3): 255-281
- Picman A.K., Schneider E.F., Gershenzon J., (1990), "Antifungal Activities of Sunflower Terpenoids", *Biochem. Systematic. and Ecology*, 18 (5): 325-328
- Poucher W. A., (1974), "Perfumer Cosmetics and Soaps 7th edition", Chapman and Hall London A. Halsted press Book, John Wiley & Sons New York, 350
- Rezende M., Urzua A., Bortoluzzi A. J., Vasquez L., (2000), "Variation of The Antimicrobial Activity of *Pseudognaphalium vira vira* (Asteraceae): Isolation and X-ray Structure of ent-3 β -Hydroxy-16-Oic Acid", *J. of Ethnopharm.*, 72: 459-464
- Rex J.H., Pfaller M.A., Rinaldi M.G., Polak A., Galgiani J.N., (1993), "Antifungal Susceptibility Testing", *Clin. Microbiol.*, 6: 367
- Rodriguez E., Towers G.H.N., Mitchell J.C., (1976), "Biological Activities of Sesquiterpene Lactones", *Phytochemistry*, 15: 1573-1580
- Ross, J. J., Arnason, T. Birnboim, H. C., (1999), "Low Concentrations of the Feverfew Component Parthenolide Inhibits In Vitro Growth of Tumor Lines in a Cytostatic Fashion", *Planta Med.*, 65: 126-129.
- Scheerer W. R., (1984), "Components of Oil of Tansy (*Tanacetum vulgare*) that repel Colorado Potato Beetles (*Leptinotarsa decemlineata*)", *J. Nat. Prod.*, 47(6): 964-969
- Sheehan D.J., Espinel-Ingroff A., Moore L.S., Webb C.D., (1993), "Antifungal Susceptibility testing of Yeast: A Brief Overview", *Clin. Infect. Dis.*, 17: 494
- Shing B., Sahu P.M., Sharma M.K., (2002), "Anti-Inflammatory and Antimicrobial Activities of Triterpenoids from *Strobilanthes callosus* Ness", *Phytomedicine*, 9: 355-359

- Tadeg H., Mohammed E., Asres K., Mariam T. G., (2005), "Antimicrobial activities of Some Selected Traditional Ethiopian Medicinal Plants Used In The Treatment of Skin Disorders", J. of Ethnopharmacol., 100 (1):168-175
- Thiery D., Gabel B., Suchy V., Marison-Poll F., Hradsky P., Farkas P., (1992), "Floral Volatiles of *Tanacetum vulgare* L. Attractive to *Lobesia botrana* Den. et Schiff. Females", J. Chem. Ecol., 18 (5): 693-700
- Thiery D., Gabel B., (1994), "Non-Host Plant Odor (*Tanacetum vulgare*; Asteraceae) Affects the Reproductive Behavior of *Lobesia botrana* Den. et Schiff (Lepidoptera: Tortricidae)", Journal of Insect Behavior, 7 (2): 149-157
- Thomas O. O. (1989) "Antibacterial properties of the leaf and flower oils of *Tanacetum macrophyllum*", Fitoterapia, Vol.LX, No.4: 327-328
- Tournier, H., Schinella, G., Balsa, E., Buschiazzi, H., Manez, S. Buschiazzi, P. M., (1999), "Effect of the Chloroform Extracts of *Tanacetum vulgare* and One of Its Active Principles, Parthenolide, on Experimental Gastric Ulcer in Rats", J. Pharm. Pharmacol., 51: 215-219.
- Urzu A., (2003), "Antibacterial Activity of Fresh Flower heads of *Chrysanthemum coronarium*", Fitoterapia, 74: 606-608
- Yücel A., Kantarcioğlu A. S., (1999), "Some Important Changes in Taxonomy of *Candida albicans*", Cerrahpaşa J. Med., 30 (3): 236-246.
- Yücel A., Kantarcioğlu A.S. (2000), "*Candida*'ların Patojenlik Belirtgenleri", Cerrahpaşa J. Med. 31 (3): 172-186
- Zer Y., Balcı İ., (2002), "*Candida*'ların Tanımlanmasında Çeşitli Tanı Yöntemlerinin Karşılaştırılması", Türk Mikrobiyol. Cem. Derg., 32 (1-2): 89-90
- Zhang, S., Lin, Z.-N., Yang, C.-F., Shi, X., Ong C.-N. Shen, H.-M., (2004), "Supressed NF- κ B and Sustained JNK Activation Contribute to the Sensitization Effect of Parthenolide to TNF- α -Induced Apoptosis in Human Cancer Cells", Carcinogenesis, 25(11): 2191-2199.

INTERNET KAYNAKLARI

- [1] <http://en.wikipedia.org/wiki/Asteraceae>
- [2] www.ctf.istanbul.edu.tr/dergi/online/2000
- [3] <http://en.wikipedia.org/wiki/Candida>
- [4] www.mikrobiyoloji.org

ÖZGEÇMİŞ

Doğum tarihi 02.01.1980

Doğum yeri İstanbul

Lise 1993-1996 Fevzi Çakmak Lisesi

Lisans 1996-2000 İstanbul Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi
Biyoloji Bölümü

Yüksek Lisans 2005-2006 Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Bölümü

Çalıştığı kurum(lar)

2001-2002 Ferit İnal Lisesi Biyoloji Öğretmenliği
2003-2004 Biosel İlaç A.Ş.
2006-Devam ediyor Y.T.Ü'de Biyoloji Bölümünde Proje asistanı.
Biyolog