T.C.
KASTAMONU ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI

Fomes fomentarius, Fomitopsis pinicola ve *Phellinus hartigii'*nin Antibiyofilm Aktiviteleri

MERVE ŞENTURAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

PROF. DR. ERGİN MURAT ALTUNER

HAZİRAN - 2022
KASTAMONU

TEZ ONAYI

Merve ŞENTURAN tarafından hazırlanan "***Fomes fomentarius, Fomitopsis pinicola* ve *Phellinus hartigii*'nin Antibiyofilm Aktiviteleri**" adlı tez çalışmasının savunma sınavı **14.06.2022** tarihinde yapılmış olup aşağıda verilen jüri tarafından oy birliği ile Kastamonu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Biyoloji Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Danışman	Prof. Dr. Ergin Murat ALTUNER Kastamonu Üniversitesi	.....
Jüri Üyesi	Doç. Dr. Ilgaz AKATA Ankara Üniversitesi	.....
Jüri Üyesi	Dr. Öğr. Üyesi Aslı UĞURLU Kastamonu Üniversitesi	.....

Jüri üyeleri tarafından kabul edilmiş olan bu tez Kastamonu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunca onanmıştır.

Enstitü Müdürü Prof. Dr. İzzet ŞENER .....

TAAHHÜTNAME

Bu tezin tasarımı, hazırlanması, yürütülmesi, araştırmalarının yapılması ve bulgularının analizlerinde bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu; ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını, bilimsel etiğe uygun olarak kaynak gösterildiğini bildirir ve taahhüt ederim.

Merve ŞENTURAN

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

FOMES FOMENTARİUS, FOMİTOPSİS PİNİCOLA VE *PHELLİNUS HARTİGİİ'*NİN ANTİBİYOFİLM AKTİVİTELERİ

MERVE ŞENTURAN

KASTAMONU ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI
DANIŞMAN:PROF. DR. ERGİN MURAT ALTUNER

Yüzyıllardan beri doğal ürünlerin insanlığa farklı alanlarda hizmet ettiği bilinmektedir. Bu sebeple, var olan doğal ürünlerin araştırılması gerekliliği söz konusudur. Birçok bitki ve mantar gibi doğada bulunan canlılar kullanılarak; antimikrobiyal, antifungal, antibiyofilm, antioksidan testleri denenmiş olmasına ragmen, keşfedilmeyi bekleyen halihazırda çok sayıda doğal ürün bulunmaktadır. Bu nedenle bu tez çalışmasında *Fomes fomentarius, Fomitopsis pinicola* ve *Phellinus hartigii*'nin etanol (EtOH) ve kloroform ekstraklarının 12 *E. coli* suşu, *S. aureus, S. aureus MRSA* ve *C. albicans* mikroorganizmalarına karşı olan antibiyofilm, antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri araştırılmıştır. Sonuç olarak, *P. hartigii*-EtOH ekstraktının *E. coli* 7, *E. coli* 9, *E. coli* 11, *E. coli* 12 ve *S. aureus* suşlarına karşı değişen düzeylerde biyofilm üretimini aktive edici etkisi olduğu görülmüştür. Öte yandan, *F. fomentarius*-EtOH ekstraktının *S. aureus* MRSA suşuna ve *P. hartigii*-kloroform ekstraktının *S. aureus* MRSA ve C. *albicans* suşlarına karşı değişen düzeylerde biyofilm üretimini inhibe edici etkisi olduğu gözlenmiştir.

Yapılan antioksidan çalışmalarında ise *F. fomentarius*-EtOH, ekstraktının IC_{50} değeri 0,865 mg/mL olarak bulunmuşken, IC_{90} değeri 322,435 mg/mL olarak hesaplanmıştır. Ayrıca, *P. hartigii*-EtOH ekstraktının IC_{50} değeri 0,427 mg/mL olarak bulunmuşken, IC_{90} değeri 1,839 mg/mL olarak hesaplanmıştır. *F. fomentarius*-kloroform, *F. pinicola*-EtOH, *F. pinicola*-kloroform ve *P. hartigii*-kloroform ekstraktının uygulandığı konsantrasyonlarda bir antioksidan aktivite gözlenmemiştir.

ANAHTAR KELİMELER: *Fomes fomentarius, Fomitopsis pinicola, Phellinus hartigii,* Antibiyofilm, Antioksidan, SEM, AFM

Haziran 2022, 242 Sayfa

ABSTRACT

MSC THESIS

ANTIBIOFILM ACTIVITIES OF *FOMES FOMENTARIUS, FOMITOPSIS PINICOLA* AND *PHELLINUS HARTIGII*

MERVE ŞENTURAN

KASTAMONU UNIVERSITY INSTITUTE OF SCIENCE
DEPARTMENT OF BIOLOGY
SUPERVISOR:PROF. DR. ERGIN MURAT ALTUNER

It is known that natural products have served humanity in different fields for centuries. For this reason, it is necessary to research the existing natural products. By using living things found in nature, such as many plants and mushrooms, although antimicrobial, antifungal, antibiofilm and antioxidant tests have been applied, there are still many natural products waiting to be discovered. Therefore, in this thesis, the antibiofilm, antioxidant and antimicrobial activities of ethanol (EtOH) and chloroform extracts of *Fomes fomentarius*, *Fomitopsis pinicola* and *Phellinus hartigii* against 12 *E. coli* strains, *S. aureus*, *S. aureus* MRSA and *C. albicans* microorganisms were investigated. As a result, it was observed that *P. hartigii*-EtOH extract had an activating effect on biofilm production at varying levels against *E. coli* 7, *E. coli* 9, *E. coli* 11, *E. coli* 12 and *S. aureus* strains. On the other hand, it was observed that the *F. fomentarius*-EtOH extract had varying degrees of inhibitory effect on biofilm production against *S. aureus* MRSA and *P. hartigii*-chloroform extract against *S. aureus* MRSA and *C. albicans* strains.

In antioxidant studies, the IC_{50} value of the *F. fomentarius*-EtOH extract was found to be 0.865 mg/mL, while the IC_{90} value was calculated as 322.435 mg/mL. In addition, the IC_{50} value of the *P. hartigii*-EtOH extract was found to be 0.427 mg/mL, while the IC_{90} value was calculated as 1.839 mg/mL. No antioxidant activity was observed at the concentrations of *F. fomentarius*-chloroform, *F. pinicola*-EtOH, *F. pinicola*-chloroform and *P. hartigii*-chloroform extracts.

KEYWORDS: *Fomes fomentarius*, *Fomitopsis pinicola*, *Phellinus hartigii*, Antibiofilm, Antioxidant, SEM, AFM

June 2022, 242 Page

TEŞEKKÜR

Tüm lisansüstü öğrenimim boyunca hem tez sürecinde hem de bu sürecin doğası gereği karşılaştığım her türlü durumda benden desteğini esirgemeyen, çalışmalarım konusunda bana güvenen, fikirlerime değer veren, beni motive eden, öğrenmeye ve çalışmaya teşvik eden danışmanım Prof. Dr. Ergin Murat ALTUNER'e,

Laboratuvar ortamını ve ekipmanlarını kullanmama izin veren Kastamonu Üniversitesi Merkezi Araştırma ve Uygulama Müdürü Doç. Dr. Mahmut GÜR'e, çalışmalarım sırasında beni destekleyen öğretim görevlisi Dr. Fevziye Işıl KESBİÇ'e ve öğretim görevlisi Merve ZURNACI'ya,

Tezimde kullandığım örnekleri kendi kişisel koleksiyonundan sağlayan Doç. Dr. Ilgaz AKATA'ya,

Çalışmaya KÜ-HIZDES/2021-32 no'lu proje ile verdiği destek için Kastamonu Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne,

Hep yanımda olan, bana olan inançlarını, sabırlarını ve güvenlerini hiçbir zaman yitirmeyen ve her koşulda beni destekleyen aileme çok teşekkür ederim

Merve ŞENTURAN

Kastamonu, 2022

İÇİNDEKİLER

Sayfa

TEZ ONAYI ..... **ii**
TAAHHÜTNAME ..... **iii**
ÖZET ..... **iv**
ABSTRACT ..... **v**
TEŞEKKÜR ..... **vi**
İÇİNDEKİLER ..... **vii**
ŞEKİLLER DİZİNİ ..... **xi**
TABLOLAR DİZİNİ ..... **xix**
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ ..... **xx**
1. GİRİŞ **1**
1.1 Makromantarların Genel Özellikleri 1
1.2 Makromantarların Tıbbi Kullanım Alanları 1
1.2.1 Makromantarların Antimikrobiyal Aktiviteleri 2
1.2.2 Makromantarların Antioksidan Aktiviteleri 6
1.2.3 Makromantarların Antibiyofilm Aktiviteleri 8
1.2.4 Makromantarların Diğer Biyolojik Aktiviteleri 9
1.3 Çalışmada Kullanılan Mikroorganizmalar 10
1.3.1 *Escherichia coli* 10
1.3.2 *Staphylococcus aureus* 11
1.3.3 *Candida albicans* 11
1.4 Çalışmada Kullanılan Makromantarlar 12
1.4.1 *Fomes fomentarius* (L.) Fr. 12
1.4.2 *Fomitopsis pinicola* (Sw.) P. Karst 13
1.4.3 *Phellinus hartigii* (Allesch & Schnabl) 14
1.5 Çalışmanın Amacı 15
2. KAYNAK TARAMASI **16**
3. MATERYAL VE YÖNTEM **20**
3.1 Materyaller 20
3.3 Araştırmada Kullanılan Makrofungus Örnekleri 31
3.4 Araştırmada Kullanılan Mikroorganizmalar 31
3.5 Yöntem 32
3.5.1 Ekstrakt Stoklarının Elde Edilmesi 32
3.5.2 MHB Hazırlanması ve Katyon Ayarlarının Yapılması 34
3.5.3 Antimikrobiyal Aktivite Tespit Testlerinde Kullanılmak Üzere İnokulum Hazırlanması 35
3.5.3.1 Doğrudan koloni süspansiyon yöntemi 35
3.5.3.2 Broth besiyeri kültür yöntemi 36
3.5.4 Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK) 37
3.5.4.1 Sıvı mikrodilüsyon yöntemi 38
3.5.4.2 İnokülasyon aşaması 39
3.5.4.3 İnkübasyon 40
3.5.4.4 MİK değerinin bulunması 40
3.5.5 Minimum Bakterisidal Konsantrasyon (MBK)/ Minimum Fungusidal Konsantrasyon (MFK) 41

3.5.5.1 MBK değerini belirleyen testler 42
3.5.6 Biyofilm ve Antibiyofilm Aktivite 42
3.5.6.1 Kongo kırmızısı agar ile biyofilm saptama yöntemi 43
3.5.6.2 Kristal viyole ile biyofilm saptama yöntemi 44
3.5.6.3 Biyofilm SEM Analizi 47
3.5.6.4 Biyofilm AFM analizi 49
3.5.7 Antioksidan Aktivite 51
3.5.7.1 DPPH (2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil) Radikal Süpürme Kapasitesi Metodu 53
3.6 İstatistiksel Analiz 55
4. BULGULAR 56
4.1 Ekstraksiyonun Veriminin Hesaplanması 56
4.2 MİK Testi İle İlgili Sonuçlar 58
4.3 MBK/MFK Testi İle İlgili Sonuçlar 61
4.4 CRA Biyofilm Oluşturma Testi İle İlgili Sonuçlar 61
4.5 Optimum Biyofilm Oluşturma Parametrelerinin Belirlenmesi Sonuçları 64
4.6 Antibiyofilm Aktivitesi İle İlgili Sonuçlar 70
4.6.1 *P. hartigii*-EtOH - *E. coli* 7 antibiyofilm sonuçları 70
4.6.2 *P. hartigii*-EtOH - *E. coli* 9 antibiyofilm sonuçları 71
4.6.3 *P. hartigii*-EtOH - *E. coli* 11 antibiyofilm sonuçları 72
4.6.4 *P. hartigii*-EtOH - *E. coli* 12 antibiyofilm sonuçları 73
4.6.5 *P. hartigii*-EtOH - *S. aureus* antibiyofilm sonuçları 74
4.6.6 *P. hartigii*-Kloroform - *C. albicans* antibiyofilm sonuçları 75
4.6.7 *P. hartigii* -Kloroform - *S. aureus* MRSA antibiyofilm sonuçları 76
4.6.8 *F. fomentarius*-EtOH - *S. aureus* MRSA antibiyofilm sonuçları 77
4.6.9 Halamid Kimyasalının Antibiyofilm Sonuçları 78
4.7 SEM Sonuçları 85
4.7.1 Boş Metal Kuponlara (Negatif Kontrol) Ait SEM Görüntüleri 86
4.7.2 *P. hartigii* - EtOH Ekstraktının *E. coli* 7 Suşu Üzerindeki Antibiyofilm Etkisine Ait SEM Görüntüleri 87
4.7.3 *P. hartigii* - EtOH Ekstraktının *E. coli* 9 Suşu Üzerindeki Antibiyofilm Etkisine Ait SEM Görüntüleri 91
4.7.4 *P. hartigii* - EtOH Ekstraktının *E. coli* 11 Suşu Üzerindeki Antibiyofilm Etkisine Ait SEM Görüntüleri 96
4.7.5 *P. hartigii* - EtOH Ekstraktının *E. coli* 12 Suşu Üzerindeki Antibiyofilm Etkisine Ait SEM Görüntüleri 101
4.7.6 *P. hartigii* - EtOH Ekstraktının *S. aureus* Suşu Üzerindeki Antibiyofilm Etkisine Ait SEM Görüntüleri 106
4.7.7 *P. hartigii* - Kloroform Ekstraktının *S. aureus* MRSA Suşu Üzerindeki Antibiyofilm Etkisine Ait SEM Görüntüleri 111
4.7.8 *P. hartigii* - Kloroform Ekstraktının *C. albicans* Suşu Üzerindeki Antibiyofilm Etkisine Ait SEM Görüntüleri 115
4.7.9 *F. fomentarius* - EtOH Ekstraktının *S. aureus* MRSA Suşu Üzerindeki Antibiyofilm Etkisine Ait SEM Görüntüleri 120
4.7.10 Halamid'in (Pozitif Kontrol) *E. coli* 7 Üzerindeki Antibiyofilm Etkisine Ait SEM Görüntüleri 125

4.7.11 Halamid'in (Pozitif Kontrol) *E. coli* 9 Üzerindeki Antibiyofilm Etkisine Ait SEM Görüntüleri 128
4.7.12 Halamid'in (Pozitif Kontrol) *E. coli* 11 Üzerindeki Antibiyofilm Etkisine Ait SEM Görüntüleri 130
4.7.13 Halamid'in (Pozitif Kontrol) *E. coli* 12 Üzerindeki Antibiyofilm Etkisine Ait SEM Görüntüleri 133
4.7.14 Halamid'in (Pozitif Kontrol) *S. aureus* Üzerindeki Antibiyofilm Etkisine Ait SEM Görüntüleri 136
4.7.15 Halamid'in (Pozitif Kontrol) *S. aureus* MRSA Üzerindeki Antibiyofilm Etkisine Ait SEM Görüntüleri 139
4.7.16 Halamid'in (Pozitif Kontrol) *C. albicans* Üzerindeki Antibiyofilm Etkisine Ait SEM Görüntüleri 142
4.8 AFM Sonuçları 145
4.8.1 *P. hartigii* - EtOH Ekstraktının *E. coli* 7 Suşu Üzerindeki Antibiyofilm Etkisine Ait AFM Görüntüleri 145
4.8.2 *P. hartigii* - EtOH Ekstraktının *E. coli* 9 Suşu Üzerindeki Antibiyofilm Etkisine Ait AFM Görüntüleri 146
4.8.3 *P. hartigii* - EtOH Ekstraktının *E. coli* 11 Suşu Üzerindeki Antibiyofilm Etkisine Ait AFM Görüntüleri 147
4.8.4 *P. hartigii* - EtOH Ekstraktının *E. coli* 12 Suşu Üzerindeki Antibiyofilm Etkisine Ait AFM Görüntüleri 148
4.8.5 *P. hartigii* - EtOH Ekstraktının *S. aureus* Suşu Üzerindeki Antibiyofilm Etkisine Ait AFM Görüntüleri 149
4.8.6 *P. hartigii* - Kloroform Ekstraktının *S. aureus* MRSA Suşu Üzerindeki Antibiyofilm Etkisine Ait AFM Görüntüleri 150
4.8.7 *P. hartigii* - Kloroform Ekstraktının *C. albicans* Suşu Üzerindeki Antibiyofilm Etkisine Ait AFM Görüntüleri 151
4.8.8 *F. fomentarius* - EtOH Ekstraktının *S. aureus* MRSA Suşu Üzerindeki Antibiyofilm Etkisine Ait AFM Görüntüleri 152
4.9 DPPH Sonuçları 153
4.9.1 DPPH Kalibrasyon Eğrisi 153
4.9.2 *P. hartigii* - EtOH Ekstraktına Ait DPPH Sonuçları 154
4.9.3 *P. hartigii* - Kloroform Ekstraktına Ait DPPH Sonuçları 154
4.9.4 *F. fomentarius* - EtOH Ekstraktına Ait DPPH Sonuçları 155
4.9.5 *F. fomentarius* - Kloroform Ekstraktına Ait DPPH Sonuçları 155
4.9.6 *F. pinicola* - EtOH Ekstraktına Ait DPPH Sonuçları 155
4.9.7 *F. pinicola* - Kloroform Ekstraktına Ait DPPH Sonuçları 155
4.9.8 C Vitamini (Pozitif Kontrol) DPPH Sonuçları 156
4.10 GC/MS Sonuçları 156
4.10.1 *P. hartigii* - EtOH Ekstraktının GC/MS Sonuçları 156
4.10.2 *P. hartigii* - Kloroform Ekstraktının GC/MS Sonuçları 158
4.10.3 *F. fomentarius* - EtOH Ekstraktının GC/MS Sonuçları 159
4.10.4 *F. fomentarius* - Kloroform Ekstraktının GC/MS Sonuçları 160
4.10.5 *F. pinicola* - EtOH Ekstraktının GC/MS Sonuçları 161
4.10.6 *F. pinicola* - Kloroform Ekstraktının GC/MS Sonuçları 162
4.11 İstatistiksel Analizlere Ait Sonuçlar 163
4.11.1 Optimum Biyofilm Parametreleri İle İlgili İstatistiksel Analiz Sonuçları 163

4.11.2 Ekstraktların Antibiyofilm Etkileri İle İlgili İstatistiksel Analiz Sonuçları 167
4.11.3 DPPH Çalışması İle İlgili İstatistiksel Analiz Sonuçları 167
5. TARTIŞMA 169
5.1 Ekstraksiyon Verilerinin Değerlendirilmesi 169
5.2 Makromantarların Antimikrobiyal Aktivitelerinin Değerlendirilmesi 170
5.3 Makromantarların Antibiyofilm Aktivitelerinin Değerlendirilmesi 171
5.4 Biyofilm SEM Görüntülerinin Değerlendirilmesi 173
5.4.1 Aktivatör olarak etki gösteren ekstrakt - mikroorganizma SEM görüntüleri 173
5.4.2 İnhibitör olarak etki gösteren ekstrakt - mikroorganizma SEM görüntüleri 183
5.5 Biyofilm AFM Görüntülerinin Değerlendirilmesi 188
5.6 Makromantarların Antioksidan Aktivitelerinin Değerlendirilmesi 193
5.7 *P. hartigii* - EtOH Ekstraktının GC/MS Sonuçlarının Değerlendirilmesi 195
5.8 *P. hartigii* - Kloroform Ekstraktının GC/MS Sonuçlarının Değerlendirilmesi 196
5.9 *F. fomentarius* - EtOH Ekstraktının GC/MS Sonuçlarının Değerlendirilmesi 196
5.10 *F. fomentarius* - Kloroform Ekstraktının GC/MS Sonuçlarının Değerlendirilmesi 197
5.11 *F. pinicola* - EtOH Ekstraktının GC/MS Sonuçlarının Değerlendirilmesi 197
5.12 *F. pinicola* - Kloroform Ekstraktının GC/MS Sonuçlarının Değerlendirilmesi 197
6. SONUÇLAR 199
7. ÖNERİLER 201
KAYNAKLAR 202
EKLER 218
EK A Optimum Biyofilm Parametrelerinin İstatistik Sonuçları 218
EK B Ekstraktların Antibiyofilm Etkilerinin İstatistiksel Analiz Hesaplamaları 229
EK C Ekstraktların Antioksidan Etkilerinin İstatistiksel Analiz Hesaplamaları 233
EK D Halamid Pozitif Kontrolünün Antibiyofilm Etkilerinin İstatistiksel Analiz Hesaplamaları 237
ÖZGEÇMİŞ 241

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 1.1 *Fomes fomentarius* 13
Şekil 1.2 *Fomitopsis pinicola* 14
Şekil 1.3 *Phellinus hartigii* 15
Şekil 3.1 Çalkalayıcıdaki ekstrakt stokları 34
Şekil 3.2 Kristal viyole biyofilm işlemi 46
Şekil 3.3 Kristal viyole yüklenmiş mikroplakalar 47
Şekil 3.4 SEM ve AFM deneyi besiyeri ekleme aşaması 49
Şekil 3.5 SEM ve AFM deneyi metal kupon yerleştirme aşaması 50
Şekil 3.6 SEM ve AFM deneyi inkübasyon sonrası mikroplakalar 51
Şekil 3.7 DPPH deneyi sonrası mikroplakalar 54
Şekil 4.1 Ekstraksiyon verimi (%) 57
Şekil 4.2 MİK testi sonuçları (µg/mL) 60
Şekil 4.3 CRA (*E. coli* 2, *E. coli* 3, *E. coli* 4, *E. coli* 5, *E. coli* 6 ve *E. coli* 7) sonuçları 62
Şekil 4.4 CRA (*S. aureus*, *S aureus* MRSA, *P. mirabilis* ve S. *flexneri*) sonuçları 62
Şekil 4.5 CRA (*E. coli* 1, *E. coli* 10, *E. coli* 11, *E. coli* 12, *S. pneumoniae* ve *A. baumannii*) sonuçları 63
Şekil 4.6 CRA (*C. glabrata*, *C. albicans* ve *C. tropicalis*) sonuçları 63
Şekil 4.7 *E. coli* 3 optimum biyofilm oluşturma parametreleri sonuçları 64
Şekil 4.8 *E. coli* 7 optimum biyofilm oluşturma parametreleri sonuçları 64
Şekil 4.9 *E. coli* 8 optimum biyofilm oluşturma parametreleri sonuçları 65
Şekil 4.10 *E. coli* 9 optimum biyofilm oluşturma parametreleri sonuçları 66
Şekil 4.11 *E. coli* 10 optimum biyofilm oluşturma parametreleri sonuçları 66
Şekil 4.12 *E. coli* 11 optimum biyofilm oluşturma parametreleri sonuçları 67
Şekil 4.13 *E. coli* 12 optimum biyofilm oluşturma parametreleri sonuçları 67
Şekil 4.14 *S. aureus* optimum biyofilm oluşturma parametreleri sonuçları 68
Şekil 4.15 *S. aureus* MRSA optimum biyofilm oluşturma parametreleri sonuçları 69
Şekil 4.16 *C. albicans* optimum biyofilm oluşturma parametreleri sonuçları 69
Şekil 4.17 *P. hartigii*-EtOH - *E. coli* 7'nin 3 paralelinin antibiyofilm sonuçları 70
Şekil 4.18 *P. hartigii*-EtOH - *E. coli* 7'nin 3 paralelinin ortalama antibiyofilm sonuçları 71
Şekil 4.19 *P. hartigii*-EtOH - *E. coli* 9'un 3 paralelinin antibiyofilm sonuçları 71
Şekil 4.20 *P. hartigii*-EtOH - *E. coli* 9'un 3 paralelinin ortalama antibiyofilm sonuçları 72
Şekil 4.21 *P. hartigii*-EtOH - *E. coli* 11'in 3 paralelinin antibiyofilm sonuçları 72
Şekil 4.22 *P. hartigii*-EtOH - *E. coli* 11'in 3 paralelinin ortalama antibiyofilm sonuçları 73

Şekil 4.23 *P. hartigii*-EtOH - *E. coli* 12'nin 3 paralelinin antibiyofilm sonuçları 73
Şekil 4.24 *P. hartigii*-EtOH - *E. coli* 12'nin 3 paralelinin ortalama antibiyofilm sonuçları 74
Şekil 4.25 *P. hartigii*-EtOH - *S. aureus*'un 3 paralelinin antibiyofilm sonuçları 74
Şekil 4.26 *P. hartigii*-EtOH - *S. aureus*'un 3 paralelinin ortalama antibiyofilm sonuçları 75
Şekil 4.27 *P. hartigii*-kloroform - *C. albicans*'ın 3 paralelinin antibiyofilm sonuçları 75
Şekil 4.28 *P. hartigii*-kloroform - *C. albicans*'ın 3 paralelinin ortalama antibiyofilm sonuçları 76
Şekil 4.29 *P. hartigii*-kloroform - *S. aureus* MRSA'nın 3 paralelinin antibiyofilm sonuçları 76
Şekil 4.30 *P. hartigii-kloroform - S. aureus* MRSA'nın 3 paralelinin ortalama antibiyofilm sonuçları 77
Şekil 4.31 *F. fomentarius*-EtOH - *S. aureus* MRSA'nın 3 paralelinin antibiyofilm sonuçları 77
Şekil 4.32 *F. fomentarius*-EtOH - *S. aureus* MRSA'nın 3 paralelinin ortalama antibiyofilm sonuçları 78
Şekil 4.33 Halamid *E. coli* 7'nin 3 paralelinin antibiyofilm sonuçları 78
Şekil 4.34 Halamid *E. coli* 7'nin 3 paralelinin ortalama antibiyofilm sonuçları 79
Şekil 4.35 Halamid *E. coli* 9'un 3 paralelinin antibiyofilm sonuçları 79
Şekil 4.36 Halamid *E. coli* 9'un 3 paralelinin ortalama antibiyofilm sonuçları 80
Şekil 4.37 Halamid *E. coli* 11'in 3 paralelinin ortalama antibiyofilm sonuçları 80
Şekil 4.38 Halamid *E. coli* 11'in 3 paralelinin ortalama antibiyofilm sonuçları 81
Şekil 4.39 Halamid *E. coli* 12'nin 3 paralelinin antibiyofilm sonuçları 81
Şekil 4.40 Halamid *E. coli* 12'nin 3 paralelinin ortalama antibiyofilm sonuçları 82
Şekil 4.41 Halamid *S. aureus* 3 paralelinin antibiyofilm sonuçları 82
Şekil 4.42 Halamid *S. aureus*'un 3 paralelinin ortalama antibiyofilm sonuçları 83
Şekil 4.43 Halamid *S. aureus* MRSA'nın 3 paralelinin antibiyofilm sonuçları 83
Şekil 4.44 Halamid *S. aureus* MRSA'nın 3 paralelinin ortalam antibiyofilm sonuçları 84
Şekil 4.45 Halamid *C. albicans*'ın 3 paralelinin antibiyofilm sonuçları..... 84
Şekil 4.46 Halamid *C. albicans*'ın 3 paralelinin ortalama antibiyofilm sonuçları 85
Şekil 4.47 Boş metal kupon x 500'lük SEM görüntüsü..... 86
Şekil 4.48 Boş metal kupon x 1000'lik SEM görüntüsü..... 86
Şekil 4.49 *P. hartigii*-EtOH - *E. coli* 7 x 1000'lik SEM görüntüsü..... 87
Şekil 4.50 *P. hartigii*-EtOH - *E. coli* 7 x 2500'lük SEM görüntüsü..... 87
Şekil 4.51 *P. hartigii*-EtOH - *E. coli* 7 x 5000'lik SEM görüntüsü..... 88
Şekil 4.52 *P. hartigii*-EtOH - *E. coli* 7 x10.000'lik SEM görüntüsü..... 88

Şekil 4.53 *P. hartigii*-EtOH - *E. coli* 7 x 20.000'lik SEM görüntüsü 89
Şekil 4.54 *E. coli* 7 kontrol x 1000'lik SEM görüntüsü 89
Şekil 4.55 *E. coli* 7 kontrol x 5000'lik SEM görüntüsü 90
Şekil 4.56 *E. coli* 7 kontrol x 10.000'lik SEM görüntüsü 90
Şekil 4.57 *E. coli* 7 kontrol x 20.000'lik SEM görüntüsü 91
Şekil 4.58 *P. hartigii*-EtOH - *E. coli* 9 x 1000'lik SEM görüntüsü 91
Şekil 4.59 *P. hartigii*-EtOH - *E. coli* 9 x 5000'lik SEM görüntüsü 92
Şekil 4.60 *P. hartigii*-EtOH - *E. coli* 9 x 10.000'lik SEM görüntüsü 92
Şekil 4.61 *P. hartigii*-EtOH - *E. coli* 9 x 20.000'lik SEM görüntüsü 93
Şekil 4.62 *P. hartigii*-EtOH - *E. coli* 9 x 40.000'lik SEM görüntüsü 93
Şekil 4.63 *E. coli* 9 kontrol x 1000'lik SEM görüntüsü 94
Şekil 4.64 *E. coli* 9 kontrol x 2500'lük SEM görüntüsü 94
Şekil 4.65 *E. coli* 9 kontrol x 5000'lik SEM görüntüsü 95
Şekil 4.66 *E. coli* 9 kontrol x 10.000'lik SEM görüntüsü 95
Şekil 4.67 *E. coli* 9 kontrol x 20.000'lik SEM görüntüsü 96
Şekil 4.68 *P. hartigii*-EtOH - *E. coli* 11 x 2500'lük SEM görüntüsü 96
Şekil 4.69 *P. hartigii*-EtOH - *E. coli* 11 x 5000'lik SEM görüntüsü 97
Şekil 4.70 *P. hartigii*-EtOH - *E. coli* 11 x 10.000'lik SEM görüntüsü 97
Şekil 4.71 *P. hartigii*-EtOH - *E. coli 11* X 20.000'lik SEM görüntüsü 98
Şekil 4.72 *P. hartigii*-EtOH - *E. coli* 11 x 40.000'lik SEM görüntüsü 98
Şekil 4.73 *E. coli* 11 kontrol x 1000'lik SEM görüntüsü 99
Şekil 4.74 *E. coli* 11 kontrol x 5000'lik SEM görüntüsü 99
Şekil 4.75 *E. coli* 11 kontrol x 10.000'lik SEM görüntüsü 100
Şekil 4.76 *E. coli* 11 kontrol x 20.000'lik SEM görüntüsü 100
Şekil 4.77 *P. hartigii*-EtOH - *E. coli* 12 x 1000'lik SEM görüntüsü 101
Şekil 4.78 *P. hartigii*-EtOH - *E. coli* 12 x 2500'lük SEM görüntüsü 101
Şekil 4.79 *P. hartigii*-EtOH-*E. coli* 12 X 5000'lik SEM görüntüsü 102
Şekil 4.80 *P. hartigii*-EtOH - *E. coli* 12 x 10.000'lik SEM görüntüsü 102
Şekil 4.81 *P. hartigii*-EtOH-*E. coli* 12 x 20.000'lik SEM görüntüsü 103
Şekil 4.82 *P. hartigii*-EtOH - *E. coli* 12 x 40.000'lik SEM görüntüsü 103
Şekil 4.83 *E. coli* 12 kontrol x 1000'lik SEM görüntüsü 104
Şekil 4.84 *E. coli* 12 kontrol x 5000'lik SEM görüntüsü 104
Şekil 4.85 *E. coli* 12 kontrol x 10.000'lik SEM görüntüsü 105
Şekil 4.86 *E. coli* 12 kontrol x 20.000'lik SEM görüntüsü 105
Şekil 4.87 *P. hartigii*-EtOH - *S. aureus* x 10.000'lik SEM görüntüsü 106
Şekil 4.88 *P. hartigii*-EtOH - *S. aureus* X 20.000'lik SEM görüntüsü 106
Şekil 4.89 *P. hartigii*-EtOH - *S. aureus* x 20.000'lik SEM görüntüsü 107
Şekil 4.90 *P. hartigii*-EtOH - *S. aureus* x 40.000'lik SEM görüntüsü 107
Şekil 4.91 *P. hartigii*-EtOH - *S. aureus* x 40.000'lik SEM görüntüsü 108
Şekil 4.92 *P. hartigii*-EtOH - *S. aureus* x 80.000'lik SEM görüntüsü 108
Şekil 4.93 *S. aureus* kontrol x 1000'lik SEM görüntüsü 109
Şekil 4.94 S. *aureus* kontrol x 5000'lik SEM görüntüsü 109
Şekil 4.95 *S. aureus* kontrol x 10.000'lik SEM görüntüsü 110
Şekil 4.96 *S. aureus* kontrol x 20.000'lik SEM görüntüsü 110
Şekil 4.97 *S. aureus* kontrol x 40.000'lik SEM görüntüsü 111
Şekil 4.98 *P. hartigii*-kloroform - *S. aureus* MRSA x 1000'lik SEM görüntüsü 111
Şekil 4.99 *P. hartigii*-kloroform - *S. aureus* MRSA x 5000'lik SEM görüntüsü 112

Şekil 4.100 *P. hartigii*-kloroform - *S. aureus* MRSA x 10.000'lik SEM görüntüsü 112
Şekil 4.101 *P. hartigii*-kloroform - *S. aureus* MRSA X 20.000'lik SEM görüntüsü 113
Şekil 4.102 *S. aureus* MRSA kontrol x 1000'lik SEM görüntüsü 113
Şekil 4.103 *S. aureus* MRSA kontrol x 5000'lik SEM görüntüsü 114
Şekil 4.104 *S. aureus* MRSA kontrol x 10.000'lik SEM görüntüsü 114
Şekil 4.105 *S. aureus* MRSA kontrol x 20.000'lik SEM görüntüsü 115
Şekil 4.106 *P. hartigii*-kloroform - *C. albicans* x 1000'lik SEM görüntüsü 115
Şekil 4.107 *P. hartigii*-kloroform - *C. albicans* x 5000'lik SEM görüntüsü 116
Şekil 4.108 *P. hartigii*-kloroform - *C. albicans* x 10.000'lik SEM görüntüsü 116
Şekil 4.109 *P. hartigii*-kloroform - *C. albicans* x 20.000'lik SEM görüntüsü 117
Şekil 4.110 *P. hartigii*-kloroform - *C. albicans* x 40.000'lik SEM görüntüsü 117
Şekil 4.111 *C. albicans* kontrol x 1000'lik SEM görüntüsü 118
Şekil 4.112 *C. albicans* kontrol x 5000'lik SEM görüntüsü 118
Şekil 4.113 *C. albicans* kontrol x 10.000'lik SEM görüntüsü 119
Şekil 4.114 *C. albicans* kontrol x 20.000'lik SEM görüntüsü 119
Şekil 4.115 *C. albicans* kontrol x 40.000'lik SEM görüntüsü 120
Şekil 4.116 *F. fomentarius*-EtOH - *S. aureus* MRSA x 1000'lik SEM görüntüsü 120
Şekil 4.117 *F. fomentarius*-EtOH - *S. aureus* MRSA x 5000'lik SEM görüntüsü 121
Şekil 4.118 *F. fomentarius*-EtOH - *S. aureus* MRSA x 10.000'lik SEM görüntüsü 121
Şekil 4.119 *F. fomentarius*-EtOH - *S. aureus* MRSA x 20.000'lik SEM görüntüsü 122
Şekil 4.120 *S. aureus* MRSA kontrol x 1000'lik SEM görüntüsü 122
Şekil 4.121 *S. aureus* MRSA kontrol x 5000'lik SEM görüntüsü 123
Şekil 4.122 *S. aureus* MRSA kontrol x 10.000'lik SEM görüntüsü 123
Şekil 4.123 *S. aureus* MRSA kontrol x 20.000'lik SEM görüntüsü 124
Şekil 4.124 *S. aureus* MRSA kontrol x 40.000'lik SEM görüntüsü 124
Şekil 4.125 Halamid (pozitif kontrol) - *E. coli* 7 x 1000'lik SEM görüntüsü 125
Şekil 4.126 Halamid (pozitif kontrol) - *E. coli* 7 x 2500'lük SEM görüntüsü 125
Şekil 4.127 Halamid (pozitif kontrol) - *E. coli* 7 x 5000'lik SEM görüntüsü 126
Şekil 4.128 Halamid (pozitif kontrol) - *E. coli* 7 x 10.000'lik SEM görüntüsü 126
Şekil 4.129 Halamid (pozitif kontrol) - *E. coli* 7 x 20.000'lik SEM görüntüsü 127
Şekil 4.130 Halamid (pozitif kontrol) - *E. coli* 7 x 40.000'lik SEM görüntüsü 127

Şekil 4.131 Halamid (pozitif kontrol) - *E. coli* 9 x 2500'lük SEM görüntüsü 128
Şekil 4.132 Halamid (pozitif kontrol) - *E. coli* 9 x 5000'lik SEM görüntüsü 128
Şekil 4.133 Halamid (pozitif kontrol) - *E. coli* 9 x 10.000'lik SEM görüntüsü 129
Şekil 4.134 Halamid (pozitif kontrol) - *E. coli* 9 x 20.000'lik SEM görüntüsü 129
Şekil 4.135 Halamid (pozitif kontrol) - *E. coli* 9 x 40.000'lik SEM görüntüsü 130
Şekil 4.136 Halamid (pozitif kontrol) - *E. coli* 11 x 1000'lik SEM görüntüsü 130
Şekil 4.137 Halamid (pozitif kontrol) - *E. coli* 11 x 2500'lük SEM görüntüsü 131
Şekil 4.138 Halamid (pozitif kontrol) - *E. coli* 11 x 5000'lik SEM görüntüsü 131
Şekil 4.139 Halamid (pozitif kontrol) - *E. coli* 11 x 10.000'lik SEM görüntüsü 132
Şekil 4.140 Halamid (pozitif kontrol) - *E. coli* 11 x 20.000'lik SEM görüntüsü 132
Şekil 4.141 Halamid (pozitif kontrol) - *E. coli* 11 x 40.000'lik SEM görüntüsü 133
Şekil 4.142 Halamid (pozitif kontrol) - *E. coli* 12 x 1000'lik SEM görüntüsü 133
Şekil 4.143 Halamid (pozitif kontrol) - *E. coli* 12 x 2500'lük SEM görüntüsü 134
Şekil 4.144 Halamid (pozitif kontrol) - *E. coli* 12 x 5000'lik SEM görüntüsü 134
Şekil 4.145 Halamid (pozitif kontrol) - *E. coli* 12 x 10.000'lik SEM görüntüsü 135
Şekil 4.146 Halamid (pozitif kontrol) - *E. coli* 12 x 20.000'lik SEM görüntüsü 135
Şekil 4.147 Halamid (pozitif kontrol) - *E. coli* 12 x 40.000'lik SEM görüntüsü 136
Şekil 4.148 Halamid (pozitif kontrol) - *S. aureus* x 1000'lik SEM görüntüsü 136
Şekil 4.149 Halamid (pozitif kontrol) - *S. aureus* x 2500'lük SEM görüntüsü 137
Şekil 4.150 Halamid (pozitif kontrol) - *S. aureus* x 5000'lik SEM görüntüsü 137
Şekil 4.151 Halamid (pozitif kontrol) - *S. aureus* x 10.000'lik SEM görüntüsü 138
Şekil 4.152 Halamid (pozitif kontrol) - *S. aureus* x 20.000'lik SEM görüntüsü 138
Şekil 4.153 Halamid (pozitif kontrol) - *S. aureus* x 40.000'lik SEM görüntüsü 139
Şekil 4.154 Halamid (pozitif kontrol) - *S. aureus* MRSA x 1000'lik SEM görüntüsü 139

Şekil 4.155 Halamid (pozitif kontrol) - *S. aureus* MRSA x 2500'lük SEM görüntüsü 140
Şekil 4.156 Halamid (pozitif kontrol) - *S. aureus* MRSA x 5000'lik SEM görüntüsü 140
Şekil 4.157 Halamid (pozitif kontrol) - *S. aureus* MRSA x 10.000'lik SEM görüntüsü 141
Şekil 4.158 Halamid (pozitif kontrol) - *S. aureus* MRSA x 20.000'lik SEM görüntüsü 141
Şekil 4.159 Halamid (pozitif kontrol) - *S. aureus* MRSA x 40.000'lik SEM görüntüsü 142
Şekil 4.160 Halamid (pozitif kontrol) - *C. albicans* x 1000'lik SEM görüntüsü 142
Şekil 4.161 Halamid (pozitif kontrol) - *C. albicans* x 2500'lük SEM görüntüsü 143
Şekil 4.162 Halamid (pozitif kontrol) - *C. albicans* x 5000'lik SEM görüntüsü 143
Şekil 4.163 Halamid (pozitif kontrol) - *C. albicans* x 10.000'lik SEM görüntüsü 144
Şekil 4.164 Halamid (pozitif kontrol) - *C. albicans* x 20.000'lik SEM görüntüsü 144
Şekil 4.165 Halamid (pozitif kontrol) - *C. albicans* x 40.000'lik SEM görüntüsü 145
Şekil 4.166 *P. hartigii*-EtOH - *E. coli* 7 antibiyofilm AFM görüntüsü 145
Şekil 4.167 *E. coli* 7 kontrol antibiyofilm AFM görüntüsü 146
Şekil 4.168 *P. hartigii*-EtOH - *E. coli* 9 antibiyofilm AFM görüntüsü 146
Şekil 4.169 *E. coli* 9 kontrol antibiyofilm AFM görüntüsü 147
Şekil 4.170 *P. hartigii*-EtOH - *E. coli* 11 antibiyofilm AFM görüntüsü 147
Şekil 4.171 *E. coli* 11 kontrol antibiyofilm AFM görüntüsü 148
Şekil 4.172 *P. hartigii*-EtOH - *E. coli* 12 antibiyofilm AFM görüntüsü 148
Şekil 4.173 *E. coli* 12 kontrol antibiyofilm AFM görüntüsü 149
Şekil 4.174 *P. hartigii*-EtOH - *S. aureus* antibiyofilm AFM görüntüsü 149
Şekil 4.175 *S. aureus* kontrol antibiyofilm AFM görüntüsü 150
Şekil 4.176 *P. hartigii*-kloroform - *S. aureus* MRSA antibiyofilm AFM görüntüsü 150
Şekil 4.177 *S. aureus* kontrol antibiyofilm AFM görüntüsü 151
Şekil 4.178 *P. hartigii*-kloroform - *C. albicans* antibiyofilm AFM görüntüsü 151
Şekil 4.179 *C. albicans* kontrol antibiyofilm AFM görüntüsü 152
Şekil 4.180 *F. fomentarius* - EtOH - *S. aureus* MRSA antibiyofilm AFM görüntüsü 152
Şekil 4.181 *S. aureus* MRSA kontrol antibiyofilm AFM görüntüsü 153
Şekil 4.182 DPPH kalibrasyon eğrisi 153
Şekil 4.183 *P. hartigii* - EtOH ekstraktına ait DPPH sonuç grafiği 154
Şekil 4.184 *F. fomentarius* - EtOH ekstraktına ait DPPH sonuç grafiği 155
Şekil 4.185 C vitamini pozitif kontrolü DPPH sonuç grafiği 156
Şekil 4.186 *P. hartigii*-EtOH - GC/MS kromatogram sonuçları 156
Şekil 4.187 *P. hartigii*-kloroform - GC/MS kromatogram sonuçları 158
Şekil 4.188 *F. fomentarius*-EtOH - GC/MS kromatogram sonuçları 159
Şekil 4.189 *F. fomentarius*-kloroform - GC/MS kromatogram sonuçları 160

Şekil 4.190 *F. pinicola*-EtOH - GC/MS kromatogram sonuçları 161
Şekil 4.191 *F. pinicola*-kloroform - GC/MS kromatogram sonuçları 162
Şekil 4.192 *E. coli* 3, 24 saat ve 48 saat biyofilm oluşumu karşılaştırması 163
Şekil 4.193 *E. coli* 7, 24 saat ve 48 saat biyofilm oluşumu karşılaştırması 164
Şekil 4.194 *E. coli* 8, 24 saat ve 48 saat biyofilm oluşumu karşılaştırması 164
Şekil 4.195 *E. coli* 9, 24 saat ve 48 saat biyofilm oluşumu karşılaştırması 165
Şekil 4.196 *E. coli* 10, 24 saat ve 48 saat biyofilm oluşumu karşılaştırması..... 165
Şekil 4.197 *E. coli* 11, 24 saat ve 48 saat biyofilm oluşumu karşılaştırması..... 165
Şekil 4.198 *E. coli* 12, 24 saat ve 48 saat biyofilm oluşumu karşılaştırması..... 166
Şekil 4.199 *S. aureus*, 24 saat ve 48 saat biyofilm oluşumu karşılaştırması..... 166
Şekil 4.200 *S. aureus* MRSA, 24 saat ve 48 saat biyofilm oluşumu karşılaştırması..... 166
Şekil 4.201 *C. albicans*, 24 saat ve 48 saat biyofilm oluşumu karşılaştırması..... 167
Şekil 5.1 *E. coli* 7 kontrol x 5000 SEM görüntüsü 173
Şekil 5.2 *P. hartigii*-EtOH *E. coli* 7 x 5000 SEM görüntüsü..... 173
Şekil 5.3 Halamid-*E.coli* 7 x 5000 SEM görüntüsü..... 174
Şekil 5.4 *E. coli* 9 kontrol x 10.000 SEM görüntüsü 175
Şekil 5.5 *P. hartigii*-EtOH *E. coli* 9 x 10.000 SEM görüntüsü..... 175
Şekil 5.6 Halamid-*E. coli* 9 x 10.000 SEM görüntüsü..... 176
Şekil 5.7 *E. coli* 11 kontrol x 10.000 SEM görüntüsü 177
Şekil 5.8 *P. hartigii*-EtOH *E. coli* 11 x 10.000 SEM görontüsü..... 177
Şekil 5.9 Halamid-*E. coli* 11 x 10.000 SEM görüntüsü..... 178
Şekil 5.10 *E. coli* 12 kontrol x 20.000 SEM görüntüsü 179
Şekil 5.11 *P. hartigii*-EtOH *E. coli* 12 x 20.000 SEM görontüsü..... 179
Şekil 5.12 Halamid-*E. coli* 12 x 20.000 SEM görüntüsü..... 180
Şekil 5.13 *S. aureus* kontrol x 20.000 SEM görüntüsü..... 181
Şekil 5.14 *P. hartigii*-EtOH *S. aureus* x 20.000 SEM görüntüsü 181
Şekil 5.15 Halamid *S. aureus* x 20.000 SEM görüntüsü..... 182
Şekil 5.16 *S. aureus* MRSA kontrol x 20.000 SEM görüntüsü..... 183
Şekil 5.17 *P. hartigii*-kloroform *S. aureus* MRSA x20.000 SEM görüntüsü..... 183
Şekil 5.18 Halamid *S. aureus* MRSA x20.000 SEM görüntüsü 184
Şekil 5.19 *C. albicans* kontrol x 10.000 SEM görüntüsü 185
Şekil 5.20 *P. hartigii*-kloroform *C. albicans* x10.000 SEM görüntüsü 185
Şekil 5.21 Halamid *C. albicans* x 10.000 SEM görüntüsü 186
Şekil 5.22 *S. aureus* MRSA kontrol x 20.000 SEM görüntüsü..... 187
Şekil 5.23 *F. fomentarius*-EtOH *S. aureus* MRSA x 20.000 SEM görüntüsü..... 187
Şekil 5.24 Halamid *S. aureus* x 20.000 SEM görüntüsü..... 188
Şekil 5.25 *P. hartigii*-EtOH *E. coli* 7 AFM görüntüsü karşılaştırması..... 188
Şekil 5.26 *P. hartigii*-EtOH *E. coli* 9 AFM görüntüsü karşılaştırması..... 189
Şekil 5.27 *P. hartigii*-EtOH *E. coli* 11 AFM görüntüsü karşılaştırması..... 189
Şekil 5.28 *P. hartigii*-EtOH *E. coli* 12 AFM görüntüsü karşılaştırması..... 190
Şekil 5.29 *P. hartigii*-EtOH *S. aureus* AFM görüntüsü karşılaştırması 190

Şekil 5.30 *P. hartigii*-kloroform *S. aureus* MRSA AFM görüntüsü karşılaştırması.....191
Şekil 5.31 *P. hartigii*-kloroform *C. albicans* AFM görüntüsü karşılaştırması.....191
Şekil 5.32 *F. fomentarius*-EtOH *S. aureus* MRSA AFM görüntüsü karşılaştırması.....192
Şekil 5.33 Başarısız Halamid AFM görüntüsü 192

TABLOLAR DİZİNİ

Sayfa

Tablo 3.1 Ekstrakt stoklarındaki çözücü oranları 34
Tablo 4.1 Ekstrakt stok konsantrasyonları (mg/mL)..... 56
Tablo 4.2 Ekstraksiyon verimi (%) 56
Tablo 4.3 P. hartigii ekstraktlarının MİK değerleri..... 58
Tablo 4.4 *F. fomentarius* ekstraktlarının MİK değerleri..... 59
Tablo 4.5 *F. pinicola* ekstraktlarının MİK değerleri..... 60
Tablo 4.6 *P. hartigii* - EtOH ekstraktının major bileşenleri 157
Tablo 4.7 *P. hartigii* - kloroform ekstraktının major bileşenleri 158
Tablo 4.8 *F. fomentarius*-EtOH ekstraktının major bileşenleri 159
Tablo 4.9 *F. fomentarius* - kloroform ekstraktının major bileşenleri 160
Tablo 4.10 *F. pinicola* - EtOH ekstraktının major bileşenleri 161
Tablo 4.11 *F. pinicola* - kloroform ekstraktının major bileşenleri 162

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

°C	**:** Santigrat Derece
nm	**:** Nanometre
mg	**:** Miligram
mm	**:** Milimetre
mL	**:** Mililitre
α	**:** Alfa
β	**:** Beta
µg	**:** Mikrogram
µL	**:** Mikrolitre

Kısaltmalar

ABTS	**:** 2,2′-azino-bis(3-etilbenzothiazolin-6-sülfonik asit)
AFM	**:** Atomik Kuvvet Mikroskobu
AIDS	**:** Kazanılmış Bağışıklık Yetersizliği Sendromu
ATCC	**:** Amerikan Tip Kültür Koleksiyonu
BHI-B	**:** Brain-Heart Infusion Broth
BHT	**:** Bütillenmiş Hidroksitoluen
CUPRAC	**:** Bakır (II) İndirgeyici Antioksidan Kapasitesi
CR	**:** Kongo Kırmızısı
CRA	**:** Kongo Kırmızısı Agar
CV	**:** Kristal Viyole
DPPH	**:** 2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil
DNA	**:** Deoksiribonükleik Asit
DMSO	**:** Dimetil Sülfoksit
ELISA	**:** Enzim Bağlı İmmünosorbent Analizi
EPS	**:** Ekzopolisakkarit
ESBL	**:** Geniş Spektrumlu Beta-laktamaz
ET	**:** Tek Elektron Transferi Reaksiyonu
ETEC	**:** Enterotoksijenik *Escherichia coli*
EtOH	**:** Etil Alkol/Etanol
FCR	**:** Folin-Ciocalteu Reaktifi
FRAP	**:** Demir (III) İndirgeme Antioksidan Gücü
GC/MS	**:** Gaz Kromatografisi - Kütle Spektroskopisi
HAT	**:** Hidrojen Atomu Transferi Reaksiyonu
HPLC	**:** Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
KOB	**:** Koloni Oluşturan Birim
MBK	**:** Minimum Bakterisidal Konsantrasyonu
MDR	**:** Çoklu İlaç Direnci
MFK	**:** Minimum Fungusidal Konsantrasyonu
MİK	**:** Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu
MHB	**:** Müller Hinton Broth

MTCC	**:** Mikrobiyal Tip Kültür Koleksiyonu
NB	**:** Nutrient Broth
ORAC	**:** Oksijen Radikal Absorbans Kapasitesi
SDA	**:** Sabouraud Dekstroz Agar
sdH_2O	**:** Steril Distile Su
SEM	**:** Taramalı Elektron Mikroskobu
TEAC	**:** Troloks Eşdeğeri Antioksidan Kapasitesi
TEM	**:** Geçirimli Elektron Mikroskobu
TRAP	**:** Total Radikal Yakalama Antioksidan Kapasitesi
TRP	**:** Toplam İndirgen Güç
TSB	**:** Tryptic Soy Broth
UV	**:** Ultraviyole

1. GİRİŞ

1.1 Makromantarların Genel Özellikleri

Makrofunguslar, Mantarlar (Fungi) aleminin *Ascomycota* ve *Basidiomycota* divizyolarında bulunan, ökaryotik, spor üreten, hif olarak bilinen kitin ve glukan yapıdaki hücre duvarı ile çevrilmiş ipliksi yapılara sahip, şapka ve sap denilen iki kısımdan meydana gelen heterotrof organizmalardır. Doğal yaşamdaki yayılışları oldukça geniş olan bu organizmalar özellikle ayrıştırıcı özellikleri ile azot, karbon, su döngüsü gibi ekolojik dengenin korunması için devamlılığı önemli olan biyojeokimyasal döngülerin sürdürülebilirliğinde büyük rol oynadığından diğer canlıların yaşamı için önemli yere sahiptir (Pommerville, 2014; Üstün, 2011).

1.2 Makromantarların Tıbbi Kullanım Alanları

Makromantarlar, biyojeokimyasal döngülerde rol oynamaları sebebiyle ekolojik dengenin devam etmesinde kritik rol oynamakla birlikte; yenilebilir olanları insanlar için önemli besin kaynağı olarak tüketilirken, farmasötik bileşikler barındıran makromantarların özellikle Asya'da pek çok hastalığın tedavisinde yüzyıllardır kullanıldığı bilinmektedir. Bununla birlikte henüz hâlâ etkisi keşfedilmemiş pek çok makromantar türü ve keşfedilmeyi bekleyen birçok biyoaktif bileşiğin de bulunduğu bilinen gerçekler arasındadır. Yeni biyoaktif bileşiklerin ortaya çıkarılması için bitki ve makromantarlar gibi doğal kaynakların araştırılması, güçlü teröpatik etki potansiyeline sahip ilaçların keşfedilmesi için olanak tanımıştır. Günümüzde mantarlar üzerinde yapılan çalışmalar sonucunda pek çok teröpatik bileşik rapor edilmiştir. Son yıllarda, *Basidiomycota*'ya ait türlerden farklı bileşikler izole edilerek bu bileşiklerin antibakteriyel, antifungal, fitotoksik, sitostatik, antiviral ve diğer farmakolojik aktivitelere sahip oldukları yapılan çalışmalar ile ortaya konmuştur (Fendoğlu vd., 2018; Forland vd., 2010; Homer ve Sperry, 2017; Öztürk vd. 2015; Sullivan vd. 2006; Şöhretoğlu ve Huang, 2018; Üstün, 2011; Wachtel-Galor vd., 2011; Wasser, 2011).

Makrofungusların bazı hastalıkları tedavi edebilecek özellikte bileşikler barındırdıklarının tespit edilmiş olması, makromantarların yeni farmasötik ve

biyoteknolojik ürünlerin geliştirilmesinde kaynak olarak kullanımı açısından onları günden güne ilgi odağı haline getirmektedir. Bununla birlikte yenilebilen makromantar türlerinin farmasötik bileşiklere ek olarak protein, karbonhidrat ve yağ gibi insanların temel besin ihtiyaçlarını karşılayabilecek düzeyde biyomakromolekülleri içermesi, makromantarların değerini daha da artırmaktadır. Örneğin *Agaricus bisporus, Lactarius deliciosus* ve *Ganoderma lucidum* türlerinin protein ve lif miktarının oldukça yüksek olduğu bilinmektedir (Barros vd., 2007a; Barros vd., 2008; Garcha vd., 1993; Mau vd, 2001; Konuk vd., 2006; Pushpa ve Puruskothama, 2010; Saiqa vd., 2008; Üstün, 2011).

Bazı makromantarların yapısındaki β-glukan, ganoderik asit, N-asetilglukozamin, fenol, flavonit, likopen gibi terpen, steroit, polisakkarit yapılı bileşikler sayesinde anti-tümöral, anti-enflamatuar, antimikrobiyal, antibakteriyel özellikler taşıdığı bilinmektedir. *Pleurotus eryngii*, *Pleurotus ostreatoroseus*, *Inonotus obliquus*, *Agarigus blazeii*, *Hericium erinaceus* ve *Grifola frondosa* mantarları, polisakkarit yapıdaki β-glukan barındıran makrofunguslara örnek gösterilebilir (Carbonero vd., 2006; Rheea vd., 2008).

1.2.1 Makromantarların Antimikrobiyal Aktiviteleri

Literatür incelendiğinde makromantarların biyoloijk aktiviteleri arasında en yaygın araştırılan aktivitelerden birinin antimikrobiyal etkileri olduğu görülmektedir.

Örneğin, *Basidiomycota*'ya ait olan *Phellinus rimosus, G. lucidum, Termitomyces microcarpus, Cantharellus cibarius, Lactarius piperatus, Sarcodon imbricatus* ve *Navesporus floccosa* gibi türlerin antimikrobiyal etkileri olduğu yapılan çalışmalar ile ortaya konmuştur (Barros vd. 2007b; Barros vd. 2007c; Gbolagade vd., 2007; Rheea, vd. 2008; Sheena vd., 2003).

Dülger vd. (2002), *Lactarius* cinsine ait bazı üyelerin *Mycobacterium smegmatis, Proteus vulgaris* ve *Escherichia coli* suşlarına karşı antibakteriyel etkisi bulunduğunu ortaya koymuşlardır. Özellikle *L. deliciosus*'a ait ekstraktın diğer *Lactarius* türlerinden elde edilen ekstraktların aktiviteleri ile karşılaştırıldığında bakteri suşlarına karşı daha yüksek etki ortaya koyduğunu göstermişlerdir.

Giri vd. (2012), Hindistan'ın Bengal bölgesinden toplanan bazı yabani mantar örneklerinin şapka kısımlarının antibakteriyel ve anti-fungal etkilerini araştırmışlardır. Çalışmalarında, *Agaricus*, *Amanita*, *Armillaria*, *Astraeus*, *Auricularia*, *Calocybe*, *Fistulina*, *Hygrophorus*, *Lepiota*, *Pleurotus*, *Lentinus*, *Polyporus*, *Ramaria*, *Russula*, *Schizophyllum*, *Termitomyces*, *Tricholoma* ve *Volvariella* cinlerine ait bazı mantar türlerinden metanol ile elde edilmiş ekstraktların *Bacillus subtilis* MTCC 736, *Pseudomonas aeruginosa* MTCC 8158, *E. coli* MTCC 68, *Bacillus cereus* MTCC 1306, *Candida albicans* MTCC 183, *Proteus vulgaris* MTCC 426 ve *Staphylococcus aureus* MTCC 96 mikroorganizmalarına karşı etkisini gözlemlemişlerdir. Mikroorganizmaların çalışmada kullanılmış olan 21 adet mantar ekstraktına göstermiş olduğu duyarlılığın sıralaması *P. vulgaris* > *P. aeruginosa* > *E. coli* > *B. cereus* > *C. albicans* > *B. subtilis* = *S. aureus* şeklinde bulunmuştur.

Abah ve Abah (2010), *Agaricus bisporus*'tan metanol ile 100, 200 ve 300 mg/mL konsantrasyonlar şeklinde elde edilmiş ekstraktın *Listeria monocytogenes*, *C. albicans*, *Salmonella typhi*, *B. cereus*, *Shigella dysenterae*, *Shigella flexneri*, *E. coli* ATCC 25922 ve *P. aeruginosa* suşlarına karşı antibakteriyel ve antifungal etkilerini çalışmış ve elde edilmiş bütün ekstraktların, bütün mikroorganizmalara karşı etkili olduğunu gözlemlemişlerdir.

Yıldız vd. (2017), yaptıkları çalışmada *Lepiota* sp., *Russula rosea* ve *Tramates pubescens*'ten elde edilen ekstraktların hem quorum sensing inhibisyon etkilerini, hem de antimikrobiyal aktivitelerini araştırmıştır. Çalışmanın sonucunda *R. rosea* ve *T. pubescens* ekstraktlarının *S. aureus* suşuna antibakteriyel aktivite gösterdiği, ayrıca ekstraktların MİK (minimum inhibisyon konsantrasyonu) değerlerinin ise sırasıyla 156,25 µg/mL ve 78.125 µg/mL olduğu gözlenmiştir. Bu sonuca göre düşük MİK değerine sahip olduğu için *T. pubescens*'den elde edilmiş ekstraktın, *R. rosea*'dan elde edilmiş ekstrakttan daha yüksek etki gösterdiği ileri sürülmüştür.

Nikolovska vd. (2013) *Boletus lupinus*, *Flammulina velutipes*, *Phellinus igniarius*, *S. imbricatus*, *Tricholoma aurantium*, *Xerocomus ichnussanus* türlerinin metanol ekstraktlarını elde etmişler ve çalışmalarında bu ekstraktların *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *Bacillus pumilus*, *Sarcina lutea* ve *B. subtilis* suşları üzerindeki

antimikrobiyal aktivitesini minimum inhibisyon yöntemini kullanarak analiz etmişlerdir. Analizlerin sonuçları incelendiğinde *P. igniarius* metanol ekstraktının *S. lutea* ve *B. subtilis* (MİK=2,5 mg/mL) suşlarına karşı en yüksek antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu görülmüştür.

Matijasevic vd. (2016) tarafından yapılan çalışmada *Coriolus versicolor*'un metanol özütünün antimikrobiyal potansiyeli MİK ve MBK testleri uygulanarak araştırılmıştır. Ayrıca, ekstrakt ile muameleden sonra bakteri hücrelerindeki morfolojik farklılaşmayı görüntüleyebilmek için taramalı elektron mikroskobu (SEM) ve geçirimli (transmisyon) elektron mikroskobu (TEM) kullanılmıştır. Araştırmanın raporuna göre, mantar özütünün *S. aureus, Salmonella enteritidis, Yersinia enterocolitica* ve *Proteus hauseri* bakteri suşlarına karşı öldürücü etkisi yüksek bulunmuştur. Ek olarak, *S. aureus*'un TEM ve SEM görüntüleri incelendiğinde işlem görmemiş olan kontrol hücreleri ile özüt ile işleme tabi tutulmuş hücreler arasında farklar olduğu gözlenmiştir. Mantar ekstresi ile muamele edilen hücrelerin yapısal bütünlüğünün bozulduğu rapor edilmiştir.

Shameem vd. (2017) tarafından yürütülen çalışmada Kuzeybatı Himalaya'dan toplanan *Verpa bohemica* ve *Morchella esculenta*'nın bütanol ve etil asetat ekstraktlarının disk difüzyon, MİK ve MBK metotları izlenerek antimikrobiyal potansiyeli araştırılmıştır. *M. esculenta*'nın bütanol ekstraktının *P. aeruginosa* suşuna karşı yüksek öldürücü etkili olduğu (MİK = 750 μg/mL ve MBK = 1000 μg/mL), *V. bohemica*'nın etil asetat ekstraktının *P. aeruginosa* suşuna karşı antibakteriyel etkili olduğu (MİK = 750 μg / mL ve MBK = 1000 μg / mL) görülmüştür.

Eren ve Akyüz (2018) *Terfezia boudieri, Picoa juniper, Picoa lefebvrei, P. ostreatus, Pleurotus florida, Pleurotus sajor-caju, P. eryngii* ve *A. bisporus*'un misel kültürlerinden elde edilen metil alkol ekstraktların 6 bakteri, 2 maya ve 2 dermatofit suşa karşı olan antimikrobiyal aktivitesini disk difüzyon metodunu kullanarak araştırmışlardır. Araştırmanın sonucunda *Pleurotus* spp., *A. bisporus, P. lefebvrei, P. juniperi* ve *Terfezia boudieri* metanol ekstraktlarının, test edilen tüm mikroorganizmaların büyümesini farklı oranda inhibe ettiği belirtilmiştir. Çalışmada ekstraktların mikroorganizmalara karşı gösterdiği etkiler tek tek detaylandırılmıştır. *P.*

lefebvrei misel ekstraktı standart antibiyotiklerle karşılaştırıldığında etkisi düşük olmasına ragmen, çalışmada kullanılan diğer mantar ekstraktları ile karşılaştırıldığında onlardan daha yüksek inhibisyon etkisine sahip olduğu görülmüştür.

Adeoyo ve Oluborode (2020) tarafından yürütülen çalışmada *P. florida*, *P.osteratus* ve *P. sajor caju*'nun distile su ve etil asetat ekstrelerinin agar kuyu metodu ile antimikobiyal aktivite etkinliği araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre *P. florida*'nın etil asetat özütü *Enterobacter aerogenes* suşuna karşı en yüksek öldürücü etki gösterirken, *P. osteratus* etil asetat ekstraktı *Klebsiella oxytoca* suşunda en iyi öldürücü etki göstermiştir. Ayrıca, *P. sajor caju* etil asetat özütü, *K. oxytoca* suşuna karşı en iyi büyümeyi baskılayıcı etkinlik göstermiştir.

Karaca vd. (2020) tarafından yapılan çalışmada *Morchella angusticeps, G. lucidum, Cerioporus squamosus, Tinea versicolor* ve *Lentinula edodes* mantar türlerinin metanolik ekstraktlarının metisiline dirençli *Enterokok* suşlarına karşı anti-biyofilm aktivite ve antimikobiyal etkinlik potansiyeli analiz edilmiştir. Antimikrobiyal aktivite tespitinde disk difüzyon, MİK, agar kuyucuk difüzyonu ve MBK metotlarından yararlanılmıştır. Standart antibiyotikler ile ekstraktların etkinliği karşılaştırılmıştır. Bu çalışmanın bir sonucunda, aktif bileşik kombinasyonlarının modellenmesinde seçilen antibiyotik-makrofungus ekstresi etkileşimlerinin sinerjik olduğu gözlenmiştir. Makromantar konsantrasyonlarındaki nispi artış ile kullanılacak antibiyotik dozlarını azaltılması ihtimali oldukça fazladır. Bu modelleme yaklaşımı sayesinde antibiyotik dozlarının azaltılması sağlanarak etkili antimikrobiyal stratejilerin geliştirilmesine olanak tanıyabileceği ve *Enterokok* suşlarında görülen antibiyotik direncinin kırılması için antibiyotiklere alternatif olarak tıbbi makrofungus türlerinin antimikrobiyal ajan niteliği oluşturmakta olduğu açıkça belirtilmiştir.

Altuner ve Akata (2010) tarafından yapılan çalışmada *Infundibulicybe geotropa, Lactarius controversus, L. deliciosus* ve *Phellinus hartigii*'nin bazı mikroorganizma suşlarına (*C. albicans* ATCC 26555, *E. coli* ETEC LM 63083, *P. aeruginosa, Salmonella enterica* Serotype *Typhimirium* SL 1344 ve *S. flexneri* (klinik izole)) karşı antimikrobiyal aktivitesi araştırılmıştır. Araştırma sonunda tüm mantar ekstraktlarının *S. flexneri* suşuna karşı değişen oranda etkili olduğu, *L. controversus*'un genel olarak

en düşük etkiye sahip olduğu gözlenmiştir. *L. deliciosus* ile *I. geotropa* özütlerinin, *L. controversus*'a göre daha yüksek etkiye sahip olduğu belirtilmiştir. *P. hartigii* özütü dışındaki tüm ekstraktların *P. aeruginosa* suşuna karşı mikroorganizmaları inhibe edici özelliği olduğu ortaya konulmuştur.

Sevindik vd. (2018) tarafından yapılan çalışmada *Leucoagaricus leucothites*'in etanol özütünün antimikrobiyal aktivitesi araştırılmıştır. Araştırma sonucunda elde edilen veriler ışığında ekstraktın *P. aeruginosa, E. coli, Enterococcus faecalis, Candida tropicalis, C. albicans* ve *S. aureus* suşlarına karşı antimikrobiyal aktiviteleri *P. aeruginosa* > *E. faecalis* = *S. aureus* > *E. coli* > *C. tropicalis* = *C. albicans* şeklinde sıralanmıştır.

1.2.2 Makromantarların Antioksidan Aktiviteleri

Literatürde makromantarların en yaygın araştırılan biyolojik aktivitelerinden biri de antioksidan etkileridir.

Ascomycota üyesi olan *Verpa conica* türünün yapılan çalışmalar sonucunda antioksidan özelliği olduğu keşfedilmiştir. Yine *Ascomycota* divizyosu üyelerinden olan *Morchella* cinsine ait türlerin de antimikrobiyal aktivitelerinin yanı sıra antioksidan aktivitelerinin olduğu da bildirilmiştir (Anguiano vd., 2007; Elmastas vd., 2007; Kalyoncu vd., 2010a,b).

Taofiq vd. (2016) tarafından ortaya konan çalışmada *A. bisporus, L. edodes* ve *P. ostreatus* etanol özütlerinin kimyasal bileşimi belirlenmiş olup merhem olarak kullanılabilme potansiyelinin öğrenilmesi açısından antibakteriyel ve antioksidan aktiviteleri analiz edilmiştir. *A. bisporus* ve *P. ostreatus* türlerinin etanol özütlerinin DPPH yöntemi ile yüksek antioksidan potansiyele sahip olduğu belirlenmiştir. Tüm mantar ekstrelerinin çalışmada kullanılan suşlardan gram-negatif bakteri suşlarına karşı öldürücü etki gösterememiş olsa da, metisiline dirençli ve metisiline duyarlı *S. aureus* suşlarına karşı yüksek antibakteriyel etkili olduğu rapor edilmiştir.

Sevindik vd. (2018) tarafından yapılan çalışmada *L. leucothites*'in etanol ekstraktının antimikrobiyal aktivitesi, toplam fenolik bileşik miktarı ve ağır metal miktarının yanı

sıra, antioksidan aktivite potansiyeli DPPH radikali kullanılarak incelenmiş ve antioksidan testlerde standart olarak kullanılan kaffeik asit, rosmarinik asit, askorbik asit ile karşılaştırıldığında daha yüksek etki gösterdiği görülmüştür.

Dimitrijevic vd. (2019) tarafından gerçekleştirilen araştırmada *Cantharellus cinereus*, *Clavariadelphus pistillaris*, *Clitocybe nebularis* ve *Hygrocybe punicea* türlerinin polariteleri farklı (etanol, su ve metanol) özütleri elde edilerek, bu özütlerin DPPH, ABTS, TRP ve CUPRAC gibi farklı yöntemlerle antioksidan kapasite tayini, toplam fenolik bileşik miktarı tayini ve antimikrobiyal aktivite potansiyeli analiz edilmiştir. Araştırmadan elde edilen verilere göre, söz konusu mantar özütlerinin kayda değer nitelikte antimikrobiyal aktivitesi olmadığı görülmektedir. Bunun yanı sıra DPPH radikali süpürme yönteminde antioksidan aktivitenin su > %80 metanol > %80 etanol şeklinde çözücüye bağlı olarak değişiklik gösterdiği belirtilmiştir. Suyun çözücü olduğu ekstraklarda (DPPH yönteminde) *C. cinereus* > *H. punicea* > *C. nebularis* >*C. pistillaris* şeklinde sıralanmıştır. Bunu metanol ekstraktlarında *C. cinereus* > *C. nebularis* > *H. punicea* > *C. pistillaris* sırası takip etmiştir. Ardından etanol özütlerinde sıralama *H. punicea* > *C. cinereus* > *C. nebularis* > *C. pistillaris* şeklinde olmuştur. ABTS yöntemi ile yapılan testlerden elde edilen sonuçlar DPPH radikali süpürme yöntemi ile aynı eğilimde olup daha yüksek gözlenmiştir. CUPRAC indirgeme metodu uygulandığında ise yine su özütleri en yüksek etkiyi göstermiş olup, %80 metanol ve %80 etanol özütleri az miktarda etki göstermiştir. Su özütlerinin içerisinde en yüksek indirgeme gücüne sahip olan mantar türünün ise *C. nebularis* olduğu görülmüştür.

Angelini vd. (2020) ortaya koydukları çalışmada yenilebilir bir mantar türü olan *Tricholosporum goniospermum*'un fruktifikasyon organı ve misellerinden n-hekzan, etil asetat ve metanol gibi farklı çözücüler kullanarak elde ettikleri ekstraktların toplam fenolik bileşik tayininin yanı sıra; DPPH, CUPRAC, ABTS ve FRAP gibi farklı yöntemleri kullanarak antioksidan kapasitelerini araştırmış; ayrıca, ekstraktların antibakteriyel ve antifungal aktivite potansiyellerini araştırmışlardır. Araştırma sonucuna göre tüm özütlerin antioksidan, antimikrobiyal etkinliği olduğu saptanmıştır.

Avcı ve Alp Avcı (2019) *L. deliciosus*'un kloroform, etanol ve saf su ekstraktlarının antimikrobiyal ve antioksidan aktivite potansiyelini araştırdıkları çalışmanın

raporunda bu ekstraktların orta düzeyde antioksidan potansiyeli bulunduğunu ortaya koymuşlardır.

1.2.3 Makromantarların Antibiyofilm Aktiviteleri

Karaca vd. (2020) tarafından yapılan çalışmada *M. angusticeps, G. lucidum, C. squamosus, T. versicolor* ve *L. edodes*'in antimikrobiyal etkinliği olduğu gösterilmiş metanol ekstraktlarının ayrıca antibiyofilm çalışmalarında da kullanılabileceği kanıtlanmıştır.

Karaca vd. (2017), tıbbi açıdan öneme sahip olan *L. edodes, L. deliciosus* ve *G. lucidum* türlerine ait metil alkol ve etil alkol özütlerinin *P. aeruginosa* ve *S. typhimurium* bakteri suşlarına karşı bakteri büyümesinin inhibisyonu ve biyofilm inhibisyonu etkileri incelenmiştir. Sadece metanol ekstraktlarında antimikrobiyal aktivite tespit edilirken, yapılan antibiyofilm aktivite çalışmalarından elde edilen sonuçlara göre en yüksek etkinin *G. lucidum*'da olduğu belirlenmiştir.

Bir başka kapsamlı çalışmada *Russula delica, Fistulina hepatica, Mycena rosea, Leucopaxilus giganteus, S. imbricatus* ve *Lepista nuda* türlerine ait özütlerin *E. coli, P. aeruginosa, Acinetobacter baumannii* ve *Proteus mirabilis* gibi patojenlerin biyofilmleri üzerinde inhibe edici etki gösterdiği saptanmıştır (Alves vd. 2014; Karaca vd. 2017).

Papetti vd. (2018) tarafından yürütülen çalışmada *L. edodes*'ten elde edilen ekstraktın düşük moleküler kütle fraksiyonundaki bileşikler ve bu bileşiklerin *Streptococcus mutans, Actinomyces naeslundii* ve *Prevotella intermedia* suşları üzerindeki anti-virülans aktiviteleri araştırılmıştır. HPLC-DAD-ESI-MS/MS ile tanımlanan oksalik asit, süksinik asit, kinik asit ve adenin, inozin ve üridin bileşiklerinin biyofilm inhibisyon kapasitesi ve önceden oluşturulmuş biyofilmi ayrıştırma aktiviteleri, değişen derişimlerde test edilmiş ve piyasada bulunan standart olarak kullanılan bileşiklerin etkileri ile olan benzerlik veya farklılık oranları belirlenmiştir. Hem antibiyofilm aktivite, hem de önceden oluşturulmuş biyofilm ayrıştırma kapasitesi incelendiğinde; *S. mutans* suşuna karşı en yüksek etkinin, %20 oranında önceden oluşturulmuş biyofilm ayrıştırma kapasitesi ve %50 oranında biyofilm inhibisyon

kabiliyeti ile 5mg/mL adenin bileşiği olduğu tespit edilmiştir. *A. naeslundii* suşuna karşı en yüksek biyofilm inhibisyonu (%80) 1 mg/mL ve 2 mg/mL oksalik asit konsantrasyonlarında gözlenirken önceden oluşturulmuş biyofilm ayrıştırma aktivitesi 3 mg/mL kinik asit konsantrasyonunda gözlenmiştir. Bununla birlikte *P. intermedia* suşuna karşı elde edilen etki düşük bulunmuştur. Ayrıca ticari standartların bileşikler ile değişen konsantrasyonlarının araştırılması sonucunda birbirlerini kimi zaman pozitif, kimi zaman da negatif yönde etkileyebileceği sonucuna ulaşılmıştır.

1.2.4 Makromantarların Diğer Biyolojik Aktiviteleri

Doğadan elde edilmiş ekstraktlar, bakteri kaynaklı hastalıkların yanı sıra diğer birçok hastalık için de bir takım etken bileşikler içerdiğinden iyileştirici potansiyelleri bulunur (Clardy ve Walsh, 2004; Karaca vd. 2017). Bazı makromantarlara ait ekstraktların antiprotozoal, antiviral, antifungal ve antibakteriyel gibi etkilere sebep olan değişik farmasötik bileşikler içerdikleri pek çok araştırma ile ortaya konmuştur. Mantarlar bulundukları habitatta yaşamını sürdürebilmek ve yaşadığı çevrede bulunan rekabetçi türler ile mücadele edebilmek için bu tür kimyasallara gereksinim duymaktadır (Solak vd., 2006). Bu kimyasallar bazen kuvvetli, bazen zayıf etki gösterebilmektedir, ancak hâlihazırda makromantarlardan ekstrakte edilerek satışa sunulan antibiyotik özellikli ticari bir ilaç yoktur. Piyasada bulunan antibiyotik ilaçlarının çoğu aktinomisetlerden veya mikromantarlardan ekstrakte edilerek üretilmiştir (Cos vd. 2006; Karaca vd 2017). Geniş bir biyolojik aktiviteye sahip olan makrofungusların ilaçlara alternatif olarak kullanılabilmeleri için kimyasal bileşiklerinin izolasyon ve tanımlanmasının yapıldığı yeni araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır (Üstün, 2011).

Antrodia cinnamomea'nın, polisakkaritler, triterpenoidler, ubikinon türevleri, süksinik ve maleik türevler gibi biyolojik olarak aktif bileşenlere sahip olup; tümör büyümesini engelleyici, anti-inflamatuar, antioksidan özellikler barındırdığı bilinmektedir (Lu vd. 2020; Zhang vd., 2019).

Lignosus spp.'nin bağışıklığı güçlendirmek için takviye gıda olarak ve üst solunum yolu enfeksiyonları ve astım gibi hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır (Chang ve Lee, 2001; 2004).

Ganoderma lucidum'un ise polisakkarit, triterpenoid (esas olarak Ganoderma asidi), proteinler, steroidler, steroller, nükleotitler, yağ asitleri, vitamin içerdiği ve bu bileşenler ile immün sistem düzenleyici, antikanser, antidiyabetik, antioksidan, anti-fibrotik, anti-inflamatuar, antimikrobiyal özellikleri olduğuna dair kanıtlar daha önceki yapılan çalışmalarca literatüre sunulmuştur (Ahmad, 2018; Lu vd. 2020).

1.3 Çalışmada Kullanılan Mikroorganizmalar

Çalışmada klinik izole 12 adet *E. coli* suşu, 2 adet *S. aureus* suşu, *P. mirabilis*, *S. pneumoniae*, *S. flexineri*, *A. baumannii*, *C. tropicalis*, *C. glabrata* ve *C. albicans* suşları kullanılmış ve bu suşların biyofilm üretme kapasitelerini ortaya koyan ön çalışmadan sonra bu suşlardan 4 adet *E. coli* suşu, 2 adet *S. aureus* suşu ve *C. albicans* çalışmalarda kullanılmak üzere seçilmiştir. Seçilen bu suşlar ile ilgili bilgi aşağıda verilmiştir.

1.3.1 *Escherichia coli*

E. coli, Enterobacteriaceae familyasına bağlı, *Escherichia* cinsine ait, fakültatif anaerobik, çubuk şekilli, endospor oluşturmayan, gram negatif, ismini kısmen habitatı olan kalın bağırsaktan almış, biyofilm üretme yeteneğine sahip bakterilerdir. Suşların çoğu zararsızdır, ancak bazıları ortamı istila etmesine neden olan plazmitlerin aktarımı ile patojenik hale gelebilir. Bu patojenik suşlar idrar yolu, ishal, yenidoğan, septisemi (dolaşım enfeksiyonu/kan zehirlenmesi) gibi enfeksiyonların başlıca sebebidir. Evcil hayvanlarda intestinal ve sistit, mastit ve pnömoni gibi intestinal dışı hastalıklara neden olur (Makvana ve Krilov, 2015; Scheutz ve Strockbine, 2015). *E. coli* enfeksiyonlarının tedavisindeki en büyük tehdit de, diğer tüm enfeksiyonlarda olduğu gibi, antimikrobiyal dirençtir. *E. coli* klinik olarak kullanılan ilk β-laktam antibiyotik olan penisilin G'ye karşı direnç gösterir. Bununla birlikte *E. coli*'de, farklı pek çok değişik etki mekanizmasına sahip antibiyotiğe karşı da direnç görülmektedir (Allocati vd., 2013).

E. coli, laboratuvar ortamında aerobik koşullarda 37°C'de (nutrient broth/agar) gibi genel ya da (MacConkey veya eozin metilen-mavi agar) seçici besiyerilerinde klinik örneklerden kolaylıkla izole edilebilir ve muhafaza edilebilir (Alows, 2003).

1.3.2 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcacae familyasına ait gram pozitif, hareketsiz, sporsuz ve fakültatif anaerobik bir bakteridir. *S. aureus*'un üremesinde sıcaklık, su miktarı, pH değeri, ortamda bulunan NaCl ve glukoz miktarı gibi ortam koşulları oldukça etkilidir. Optimum büyüme sıcaklığı 37 ℃'dir. İsmini mikroskopta üzüm salkımı şeklinde görünmesinden almıştır. Keşfi 1880'lerde gerçekleşmiştir. Çoğunlukla boğaz ve burundaki mukus yapısında, hayvan dışkılarında, sivilce ve çıbanlarda ve iltihaplı yaralarda bulunur. İnsanlarda menenjitin, iltihaplı yaraların, eklem romatizmalarının septiseminin ve hastane enfeksiyonlarının başlıca nedenlerindendir. Günümüzün en önemli sorunlarından biri olan antibiyotiklere karşı direnç konusunda *S. aureus*'un oldukça geniş bir rolü bulunmaktadır. Metisilin ve diğer tüm β-laktam antibiyotiklere karşı dirençli olanları bulunmaktadır (Skinner ve Keefer, 1941; Deurenberg ve Stobberingh, 2008). *S. aureus* biyofilm üreten bir bakteri suşudur. Biyofilme gömülü bakterilerin standart antibiyotiklerle yok edilmesi zordur. *S. aureus* biyofilmi kalıcı hastane cihazları enfeksiyonu, katater enfeksiyonları ile ilişkilidir (Croes vd., 2009).

1.3.3 *Candida albicans*

Eşeyli ve eşeysiz çoğalma gösteren bu mantarlar insan gastrointestinal ve genitoüriner yollarda herhangi bir semptom göstermeden koloni oluşturabilir. Aşırı stres, yanlış antibiyotik kullanımı, beslenme alışkanlıklarındaki değişim vb. faktörler, var olan sağlıklı dengenin bozulmasına neden olabilir ve bu durumda *C. albicans*'ın ortamdaki sayısının hızla artmasına imkan vermek suretiyle pamukçuk, pişik ve vajinal enfeksiyonlar gibi enfeksiyonların oluşmasına neden olabilir (Fox vd., 2013; Gulati, ve Nobile, 2016). Bunların yanı sıra hastane kaynaklı enfeksiyonların da başlıca nedenlerindendir. Pek çok dermal enfeksiyondan, kan dolaşımı enfensiyonlarından, özellikle AIDS hastaları gibi bağışıklığı baskılanmış kişilerde görülen enfeksiyonlardan ve vücudunda herhangi bir tıbbi cihaz bulunan bireylerin

enfeksiyonundan başlıca sorumlularındandır (Fox vd., 2013; Gulati ve Nobile, 2016; Kojic ve Darouiche, 2004).

C. albicans aynı zamanda biyofilm oluşturması ile de ünlüdür. Kalp pili, kalp kapakçığı, protez, katater veya sonda gibi geçici veya kalıcı olarak tıbbi cihaz implantasyonu yapılmış kişilerin bu cihazlarına tutunarak güçlü biyofilm oluşturur. Tedavi etme amaçlı kullanılan antibiyotiklerin çoğu planktonik *C. albicans*'lara karşı etkili olsalar bile, *C. albicans*'ların biyofilmlerine karşı etkili sayılmazlar (Kojic ve Darouiche, 2004; Lohse vd., 2018; Ramage vd., 2006).

1.4 Çalışmada Kullanılan Makromantarlar

Bu tezde *Fomes fomentarius* (L.) Fr., *Fomitopsis pinicola* (Sw.) P. Karst ve *Phellinus hartigii* (Allesch. & Schnabl) makromantarlarının antimikrobiyal, antibiyofilm ve antioksidan etkileri üzerinde çalışılmıştır.

1.4.1 *Fomes fomentarius* (L.) Fr.

Fomes cinsi yüzyıllardır bilinen ve üzerinde çalışılan mantarlardır. İlaç ve medikal alanda, tekstilde, yanmayı kolaylaştırıcı kav ve kereste üretimi gibi sektörlerde ekonomik değere sahiptir (Akgul vd., 2017; Elkhateeb vd., 2020; Sevindik 2018).

Halk arasında kav mantarı ya da fruktifikasyon organının görüntüsünden dolayı at toynağı olarak bilinen, ağaç gövdelerinde (özellikle kayın ağaçları (*Fagus* sp.) üzerinde) saprofit olarak yaşayan, yenilebilir özellik taşımayan *F. fomentarius* mantarı *Polyporaceae* ailesinin bir üyesidir. Çoğunlukla kahverengi görünümü olsa da coğrafi yayılımının değişkenliği sebebiyle beyaz, gri, siyah renklerde de olabilir. (Arpin vd., 1974; Judova vd., 2012; Müller vd., 2021; Schwarze 1992; 1994; Suvorov 1967; Vyas vd. 2014). Son yıllarda giderek popüler hale gelen *F fomentarius* ekstraktlarından elde edilen değerli biyoaktif bileşiklerin varlığı ve bunların enzimatik aktivite, antimikrobiyal aktivite, antifungal, antienflamatuar, antitümöral ve antikosidan aktiviteler gibi önemli etkileri olduğu görülmüştür. Tüm bu nedenlerden dolayı *F. fomentarius* türünün tıbbi olarak değerini artırmaktadır (Aoki vd. 1993; Dundar vd. 2016; Elkhateeb vd., 2020).

F. fomentarius türüne ait bir örnek Şekil 1.1'de (Steward, 2014) verilmiştir.



Şekil 1.1 *Fomes fomentarius*

1.4.2 *Fomitopsis pinicola* (Sw.) P. Karst

F. pinicola ağaçlarda gövde çürümesine neden olan Asya ve Avrupa'nın ılıman bölgelerinde yaşayan yelpaze şeklinde fruktifikasyon organına sahip genellikle kahverenginde görünüme sahip sert, odunsu dokudadır. Canlı ağaçlar üzerindeki çürüme etkisi ile ağaç gövdelerinde oluşan boşluklar tarla fareleri, birçok kuş türü ve sincaplar gibi canlı türü için habitat oluşturarak yaban hayatına katkı sağlar. Ölü ağaçların gövdeleri, dalları ve köklerindeki çürüme etkisi ile temel besin döngüsü görevini yerine getirir (Bishop, 2020; FS-R10-FHP. 2014; Haight, vd., 2019).

Fomitopsis pinicola türüne ait bir örnek Şekil 1.2'de (Howes, 2012) verilmiştir.



Şekil 1.2 *Fomitopsis pinicola*

1.4.3 *Phellinus hartigii* (Allesch & Schnabl)

Genel olarak Kuzeybatı Amerika ve Avrupa'da dağılım gösteren bu mantar türü *Hymenochaetaceae* ailesinin *Phellinus* cinsi üyesi ve 41 polipordan biridir. Saprofitik olarak ağaç gövdeleri üzerinde yaşayan *P. hartigii*, çok yıllıktır, sert bir yapıya sahip olmakla birlikte odunsu kahverengindedir. Genellikle kozalaklı ağaçlar üzerinde ve yaşlı köknar ağaçlarında sıkça görülürler (Zapora vd., 2016). Bu türün fruktifikasyon organı şekil itibariyle farklılık gösterebilir. Gövde üzerinde bir oluşum söz konusu ise 45° açıya sahip üçgen ana hatları olan, 5-15 cm genişliğe sahip yapıda görünürler. Üst kısım siyaha yakın ve alt yüzey ise kahverengi renktedir. *P. hartigii*'nin dalların alt kısmında oluşumu söz konusu ise fruktifikasyon organlarının resupinat olduğu görülür (Karadelev vd., 2007).

Phellinus linteus, *Phellinus gilvus*, *Phellinus pini* ve *P. hartigii* gibi çok sayıda farklı *Phellinus* cinsi mantar bulunmaktadır. *Phellinus* cinsi özellikle Doğu Asya'da mantarların sağlık üzerinde iyileştirici etkileri olduğu bilindiğinden geleneksel tıpta kullanılmaktadır. Son yıllarda da makromantarlara olan ilginin artması ile ortaya konan çalışmalarda *Phellinus* cinsi mantarların antimikrobiyal, anti-viral, anti-tümoral ve antioksidan özellik taşıyan bileşiklere sahip olduğu bilinmektedir (Azeem vd., 2018; Kodiyalmath ve Krishnappa 2017; Kovacs vd. 2017).

P. hartigii makromantarına ait bir örnek Şekil 1.3'te (Schwab, 2013) verilmiştir.



Şekil 1.3 *Phellinus hartigii*

1.5 Çalışmanın Amacı

Bu çalışmada *F. fomentarius*, *F. pinicola* ve *P. hartigii* makromantar türlerinden elde edilen etanol ve kloroform ekstraktlarının bazı klinik izole *C. albicans*, *E. coli*, *S. aureus* suşlarına karşı antimikrobiyal, antibiyofilm ve antioksidan aktivitesinin araştırılması amaçlanmıştır.

2. KAYNAK TARAMASI

Elmajdoub (2021), tarafından yapılan tez çalışmasında *P. hartigii*, *F. fomentarius* ve *F. pinicola* türleri ile etanol, kloroform, etil asetat ve aseton çözücüleri kullanılarak 12 farklı ekstrakt elde edilmiştir. Bu ekstraktların *L. monocytogenes* suşu üzerindeki antibakteriyel ve antibiyofilm etkisi araştırılmıştır. Antibakteriyel etkinin araştırılması için MİK ve MBK testlerinden yararlanılmıştır. Çalışmalar sonucunda her bir ekstraktın farklı MİK değerine sahip olduğu ve sonrasında yapılan MBK testine göre de 12 ekstrakttan sadece iki tanesinin MİK konsantrasyonunun bakteriyosidal olduğu diğerlerinin ise bakteriyostatik olduğu görülmüştür. Bunlara ilaveten *P. hartigii*'nin kloroform ve etanol ekstraktlarının farklı dozlarda değişen düzeylerde biyofilmi tetiklediği gözlenirken, *F. pinicola*'nın kloroform ekstraktının farklı dozlarda biyofilm inhibitörü olarak davranış sergilediği gözlenmiştir.

İrez vd. (2021) tarafından yapılan çalışmada *F. fomentarius* (L.) Fr. (Polypodiaceae)'nin metanol, etanol, aseton ve kloroform ekstraktlarının disk difüzyon ve mikrodilüsyon yöntemleri ile antimikrobiyal, DPPH radikali süpürme yöntemi ile antioksidan ve kristal viyole boyama yöntemi ile antibiyofilm aktiviteleri *E. coli, A. baumannii, S. aureus, C. albicans, B. subtilis, P. vulgaris, P. aeruginosa, S. haemolyticus*'a karşı test edilmiştir. *F. fomentarius*-EtOH ekstraktının *E.coli'*ye karşı olan antimikrobiyal aktivitesi 2,5 µg/mL, *S. aureus*'a karşı olan antimikrobiyal aktivitesi 2,5 µg/mL ve *C. albicans*'a karşı olan antimikrobiyal aktivitesi 5 µg/mL MİK değeri olarak hesaplanmıştır. *F. fomentarius*-kloroform ekstraktının *E.coli'*ye karşı olan antimikrobiyal aktivitesi 20 µg/mL, *S. aureus*'a karşı olan antimikrobiyal aktivitesi 20 µg/mL ve *C. albicans*'a karşı olan antimikrobiyal aktivitesi 20 µg/mL MİK değeri olarak hesaplanmıştır. MBK değerleri ise hem *F. fomentarius*-kloroform hem de *F. fomentarius*-EtOH ekstraktlarında tüm suşlar için 40 µg/mL olarak gözlenmiştir. Araştırmada antioksidan deneylerinde tüm ekstraktlar, pozitif kontrol standardı olarak kullanılan BHT (bütillenmiş hidroksitoluen) ile karşılaştırıldığında daha yüksek antioksidan aktivite gösterdiği bulunmuştur. 1 mg/mL *F. fomentarius*-kloroform ekstraktının süpürdüğü DPPH radikali %80,93 iken, 1 mg/mL *F. fomentarius*-EtOH ekstraktının süpürdüğü DPPH radikali %89,95 olarak bulunmuştur.

Yapılan çalışmada, *F. fomentarius*'a ait etanol, metanol ve aseton ekstreleri penisilin antibiyotiği ile kıyaslanmış ve *P. aeruginosa* ATCC 27853'e karşı kontrol antibiyotiğinden daha yüksek antimikrobiyal etkiye sahip olduğu gösterilmiştir. En düşük MİK değeri, *S. haemolyticus* ATCC 43252'ye (0,625 µg/mL) karşı etanol ekstraktında kaydedilmiştir. En yüksek antibiyofilm aktivitesinin, *S. haemolyticus* ATCC 43252'de olduğu görülmüştür. Araştırma sonucunda *F. fomentarius*'un antimikrobiyal, antibiyofilm ve antioksidan aktiviteleri açısından potansiyel doğal biyoaktif bileşikler içerdiği raporlanmıştır.

Yang vd. (2013) tarafından yapılan çalışmada Polyporaceae üyesi olan *Poria cocos* (Schw.) Wolf makromantarı etil asetat ile ekstre edilmiş ve *E. coli* U 07 suşuna karşı antibiyofilm aktivitesi araştırılmıştır. Araştırmaya göre makromantar ekstraktı konsantrasyona bağlı olarak *E. coli* biyofilm oluşumunu inhibe etmiştir.

Azeem vd. (2018), tarafından yapılan çalışmada bazı *Phellinus* cinsi makrofunguslara ait biyoaktif moleküller ve biyoaktivite özellikleri derlenmiştir. Buna göre bu cinse ait makrofungus türlerinden etanol, methanol ve etil asetat gibi çözücüler ile elde edilen ekstraktların antimikrobiyal aktivitesi araştırıldığında *A. baumannii*, *E. faecalis*, *A. viscosus* ve *S. mutans* gibi suşlara karşı yüksek etkili olduğu görülmüştür. *Phellinus* cinsi makrofungusların farmakolojik olarak aktif bileşiklere sahip olduğu ve ilaç ham maddesi olarak kullanılabileceği görülmüştür.

Krupodorova vd. (2016) tarafından yapılan çalışmada Basidiomycota ve Ascomycota'ya ait sıvı kültürlerinde yetiştirilen, aralarında *F. fomentarius* ve *F. pinicola* türlerinin yanı sıra, *Phellinus* cinsine ait türlerin de olduğu otuz farklı mantar türünün *B. subtilis*, *S. aureus* ve *E. coli* suşlarına karşı antibakteriyel aktivitesi araştırılmıştır. Araştırmanın sonucuna göre incelenen türlerin kültür ortamlarının antibakteriyel potansiyelinin misel aktivitelerinden daha yüksek olduğu ve antibakteriyel aktivitenin kültür ortamına bağımlılığı gösterilmiştir.

Dündar vd. (2016) tarafından yapılan çalışmada aralarında *F. fomentarius*'un da bulunduğu yedi makrofungusun metanol ekstraktlarının antimikrobiyal, antioksidan, antikolinesteraz ve sitotoksik kapasiteleri araştırılmıştır. Uygulanan antioksidan

testlerinden elde edilen sonuçlara göre *F. fomentarius* en yüksek aktivite gösteren makrofungus olduğu görülmüştür.

Khadhri vd. (2017) tarafından yapılan çalışmada Tunus'ta yetişen, aralarında *F. pinicola* ve *F. fomentarius*'un da bulunduğu 5 makromantarın etanol ekstraktlarının farmakolojik özellikleri araştırılmıştır. Araştırmaya göre tüm mantarların 8 farklı bakteri suşuna karşı antibakteriyel etkisi olduğu ve *F. fomentarius*'un DPPH radikali süpürme testine göre en yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu görülmüştür. Bununla birlikte demir indirgeme gücü deneyinde *F. pinicola*'nın etanol ekstraktının en yüksek antioksidan aktivite gösterdiği rapor edilmiştir.

Yowaphui ve Kanjanaruch (2019), tarafından yapılan çalışmada *Phellinus* cinsine ait (*P. igniarius, P. nigricans*, *P. robustus* ve *P. setulosus*) örneklerin fruktifikasyon organları ve misellerinden elde edilen ekstraktların *Proteus mirabilis*, *S. aureus* ve *Staphylococcus epidermidis* suşlarına karşı antimikrobiyal ve antioksidan aktivitesi DPPH, FRAP ve ABTS deneyleri uygulanarak araştırılmıştır. *P. igniarius*'tan elde edilen miselyum ve fruktifikasyon organı ekstraktının DPPH yöntemi (IC_{50} değeri sırasıyla 62,45 ± 0,96 ve 64,27 ± 0,18 µg/mL'ye eşittir) ve ABTS (IC_{50} değeri sırasıyla 27,24 ± 0,76 ve 28,06 ± 0,17 µg/mL'ye eşittir) uygulandığında en yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Metal indirgeme etkisi FRAP yönteminin sonucu, *P. igniarius*'un (119 ± 1,63 µmol $FeSO_4$/g dw) miselyum ekstraktı olduğu görülmüştür.

Nur (2014) tarafından yapılan tez çalışmasında, *Tricholoma terreum* ve *Coprinus micaceus* türlerine ait etanol ekstraktlarının antioksidan, antimikrobiyal, DNA koruyucu aktiviteleri ve mineral madde içeriği belirlenmiştir. Antioksidan aktivitelerinin belirlenmesi için Rel Assay Diagnostics kitleri (TAS, TOS) ve DPPH yönteminden yararlanılmıştır. Antimikrobiyal aktivite testlerinde 5 farklı bakteri türüne karşı MİK testi uygulanmıştır. Test edilen makrofungus ekstraktlarının DNA'yı koruma etkinliklerinin tespiti için pBR322 plazmid DNA'sı (vivantis) kullanılmıştır. Plazmid DNA, ekstraktlar ile birlikte hidrojen peroksit (H_2O_2) kullanılarak yapısal olarak değişikliğe uğratıldıktan sonra % 1,25'lik agaroz jel üzerinde görüntüleme gerçekleştirilmiştir. Araştırmanın sonucunda kullanılan makrofungus etanol

ekstraktlarının, uygulanan antioksidan testlerinde büyük ölçüde serbest radikal temizleme aktivitesi göstermediği, ancak az da olsa etkili olduğu görülmüştür. Antimikrobiyal testlerin sonucunda *C. micaceus* ekstraktı *T. terreum* ekstraktı ile kıyaslandığında çalışılan mikroorganizmalara karşı çok daha yüksek etkiye sahip olduğu belirlenmiştir. Yapılan DNA koruyucu aktivite testlerinde DNA koruyucu etkisinin bulunmadığı tespit edilmiştir.

Orhan (2017) tarafından yapılan çalışmada değişik bölgelerde yetişmiş *F. fomentarius* da dahil dokuz farklı makrofungus türünün DPPH radikali süpürme, toplam fenolik içerik belirleme ve metal iyonu şelatlama yöntemlerinden yararlanılarak antioksidan aktivite kapasitesi ve makrofungusların *S. epidermidis* ATCC 12228, *P aeruginosa* ATCC 27853, *S. aureus* ATCC 2392, *S. aureus* ATCC 25923, *E. coli* O157:H7, *E. coli* ATCC 35218, *E. coli* ATCC 11229 ve *L. monocytogenes* ATCC 7644 suşlarına karşı antimikrobiyal aktiviteleri araştırılmıştır. Uygulanan antioksidan testlerinden elde edilen sonuçlara göre en yüksek DPPH serbest radikal yakalama aktivitesini *F. fomentarius* (%57-95 yakalama aralığı, IC_{50}: < 0,01 mg/mL), en düşük *Armillaria mellea* (%25-39 yakalama aralığı, IC_{50}: 0,65 mg/mL) mantarı göstermiştir. En yüksek metal şelatlama aktivitesini *A. mellea* (%52-80 aralığı, IC_{50}: 0,0012 mg/mL), en düşük *T. versicolor* (%10-35 aralığı, IC_{50}: 0,606 mg/mL) mantarı göstermiştir. Toplam fenol miktarı en yüksek tür *F. fomentarius* (46,8 mg/g) iken, en düşük tür *A. mellea* (5,09 mg/g) olarak belirlenmiştir. Bu çalışmada *F. fomentarius* ve *T. versicolor* mantarları önemli derecede antioksidan ve antibakteriyel etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir. *F. fomentarius* ekstraktları çalışmada kullanılan tüm suşlara karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği kaydedilmiştir. *S. aureus* ATCC 2392 30±2,8 mm, *S. aereus* ATCC 25923 27±2,2 mm, *E. coli* 0157:m7 27±2,2 mm, *E. coli* 35218 19±1,9 mm ve *E. coli* 11229 21±2 mm, çaplarında zon oluşumu gözlemlenmiştir. *F. fomentarius* makromantarının DPPH süpürme kabiliyeti analiz edildiğinde IC_{50} değerinin 0,01< mg/mL olduğu görülmüştür.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Materyaller

Bu tezin deney aşamalarında kullanılan materyaller, kimyasallar ve cihazlar aşağıda belirtilmiştir:

3.1.1 Erlen

Etkisi araştırılan makromantarlar öğütülmüş halde 500 mL'lik cam erlenlere konulup çalkalayıcıya bırakılmıştır.

3.1.2 Deney Tüpleri

16 x 100 mm boyutlarında olan kısa borosilikat cam deney tüpleri inokulum hazırlamak amacıyla kullanılmıştır.

3.1.3 Buharlaştırma Balonları

Buharlaştırma balonları, endüstride, döner buharlaştırıcılar ve kısa yollu damıtma düzenekleri gibi uygulamalarda, kaynatma, damıtma, çözelti hazırlama gibi pek çok işlemde kullanılmaktadır. Vakum uygulamaları için sağlam bir yüzeye ve dönüş sırasında sızıntıyı önleyecek dengeli bir yapıya sahip olduğundan, bu tez çalışmasında, ekstraksiyon çözücülerinin ekstraktlardan uzaklaştırılması işleminde buharlaştırma balonları (S&H Labware, ABD) kullanılmıştır.

3.1.4 Petri Kabı

Çalışmada ısıya dayanıklı (≈80 °C) 94 x 16 mm boyutunda steril kapaklı plastik petri kapları kullanılmıştır. Petri kapları mikrobiyoloji laboratuvarlarında sıklıkla katı veya yarı-katı yüzeylerde gelişen bakteri, maya ve küf gibi mikroorganizmaların kültüre edilmesinde kullanılır. Çalışmada kullanılan steril plastik petri kapları, Fıratmed (Ankara) firmasından temin edilmiştir.

3.1.5 Cam Şişeler

Besiyerlerin hazırlanmasında, serum fizyolojik ve distile suyun sterilizasyonunda 200 mL, 250 mL, 500 mL ve 700 mL şeklinde değişen boyutlarda otoklavlanabilen kapaklı borosilikat cam şişeler (Labware, ABD) kullanılmıştır.

3.1.6 Beher

Isıya dayanıklı, boyutları 50 mL ve 100 mL olarak değişkenlik gösteren ve genel olarak katı-sıvı, sıvı-sıvı çözelti hazırlama ve karıştırma işlemlerinde kullanılan beherler (Labware, ABD) bu tez çalışmasında sterilize edilerek, ekstrakt hazırlama aşamasında sıvı aktarımı amacıyla kullanılmıştır.

3.1.7 Steril Öze

Yapılan tez çalışmasında Microloop (Birleşik Krallık) marka steril tek kullanımlık ve çok kullanımlık metal uçlu özeler mikroorganizmaların ekiminde ve transferinde kullanılmıştır.

3.1.8 Eküvyon çubuğu

Mikroorganizmaların ekiminde ve transferinde steril swap (eküvyon çubuklar) (LB Italiana) kullanılmıştır.

3.1.9 Pens

Pensler birçok deneyde farklı aşamalarda sıklıkla herhangi bir katı ürünün bir yerden başka bir yere aktarılmasında kullanılan standart bir laboratuvar gerecidir.

Bu araştırmada, uygun şartlarda sterilze edilmiş olan pensler biyofilm deneylerinde metal kuponların aktarımında kullanılmıştır.

3.1.10 Filtre Kâğıdı

Çalışmada 125 milimetre çapında filtre kâğıdı (Sigma-Aldrich, ABD) kullanılmıştır. Filtre kâğıdı, ekstraktlarda bulunan ve çözücü tarafından çözünmemiş partiküllerin ayrılmasında kullanılan yarı geçirgen bir bariyerdir. Bu çalışmada da aynı amaçla kullanılmıştır.

3.1.11 Şırınga Ucu Filtre

Biyofilm çalışmasında pozitif kontrol olan Halamid® kimyasalının sterilizasyonu şırınga ucu filtre kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

3.1.12 Steril Şırınga

Biyofilm çalışmalarında pozitif kontrol olarak kullanılan Halamid® kimyasalının sterilizasyonu için kullanılan filtrenin ucuna takılıp filtrasyon işlemi gerçekleştirilmiştir.

3.1.13 Pipet ucu

Sıvıların pipetle aktarılması için tek kullanımlık ve otoklavlanabilen, polipropilenden yapılmış ve içeriği kolaylıkla görülebilen, pipet uçları kullanılmıştır. Her bir pipet ucunun kullanılabileceği hacim değiştiğinden farklı hacimlerde (0,5 - 10 µL, 2 - 20 µL, 20 - 200 µL ve 200 - 1000 µL) pipet uçları mevcuttur. Bu çalışmada, sarı (10-100 µL arasında hacme ayarlanabilen pipet için uygun) ve mavi (100-1000 µL arasında hacme ayarlanabilen pipet için uygun) olmak üzere iki tip pipet ucu kullanılmıştır.

3.1.14 Falkon Test Tüpleri

Farklı boyutlarda, içeriği net gösteren (şeffaf) dereceli plastik steril falkon test tüplerinin üzerinde okunması kolay siyah baskılı dereceler, büyük beyaz yazı bölümü ve kolay açılır/kapanır kapakları vardır. Laboratuvarda gerçekleştirilen santrifüjleme, vorteksleme gibi işlemlerde içinde bulunan örnekleri koruyabilme özellikleri bulunur.

Bu tez çalışmasında, ekstraktların saklanmasında plastik falkon tüpleri (Corning, ABD) kullanılmıştır.

3.1.15 Metal Kuponlar

Deneylerde üretilen biyofilm tabakalarının incelenebilmesi için metal kuponlar temin edilmiş ve sterilize edildikten sonra biyofilm deneylerinde kullanılmıştır.

3.1.16 96 Kuyucuklu Mikroplakalar

96 kuyucuklu plakalar, deneylerde çok küçük hacimde yapılan çalışmalarda kullanılan dikdörtgen şeklinde, kuyucuklarının dip kısmının deneyin amacına göre değişkenlik gösterdiği plastik (polistiren) plakalardır. Mikroplakalar, analitik araştırma ve klinik tanı testi laboratuvarlarında kullanılan standart bir laboratuvar gerecidir. Bu tez çalışmasında, biyofilm testlerinde tabanı düz (TPP, İsviçre) ve minimum inhibisyon konsantrasyonu testinde U-tabanlı (Citotest, Çin) olmak üzere iki tip 96 kuyucuklu plaka kullanılmıştır.

3.1.17 24 Kuyucuklu Mikroplakalar

Genellikle hücre kültürü çalışmalarında kullanılan 24 kuyucuklu mikroplakalar yeni kimyasalların uzun sure depolanabilmesinde de kullanılabilir. Bu araştırmada 24 kuyucuklu mikroplakalar (Cellstar, Almanya) metal kuponlara biyofilmin tutunup SEM ve AFM kullanılarak görüntülenebilmesi için kullanılmıştır.

3.1.18 Müller Hinton Broth (MHB)

Bu besiyeri *in vitro* araştırmalarda agar difüzyon testi veya MİK testinde mikroorganizmaların antibiyotik duyarlılığını ölçmede kullanılır. 7,2 - 7,6 pH aralığında kullanılır. Bu tez çalışmasında kullanılan MHB (Merck, Almanya) besiyeri et infüzyonu 2,0 g/L; kazein hidrolizatı 17,5 g/L ve nişasta 1,5 g/L bileşimine sahiptir. Bu tez araştırmasında MHB (Merck, Almanya) MİK testinde kullanılmıştır.

3.1.19 Nutrient Broth (NB)

In vitro çalışmalarda uygulanan standart mikrobiyolojik analizlerde genel sıvı besiyeri olarak kullanılır. Bu tez çalışmasında kullanılan NB (Merck, Almanya) besiyeri, pepton 5,0 g/L ve et ekstraktı 3,0 g/L kompozisyonuna sahiptir. NB, bu tez çalışmasında *S. aureus* ve *E. coli* suşlarının kültüre edilmesinde kullanılmıştır.

3.1.20 Brain-Heart Infusion Broth (BHI-B)

Bu tez çalışmasında kullanılan BHI-B (Merck, Almanya) sığır kalbi (250 g'dan infüzyon) 5 g/L; dana beyni (200 g'dan infüzyon) 12,5 g/L; disodiyum hidrojen fosfat 2,5 g/L; D (+)-glukoz 2 g/L; pepton 10 g/L ve sodyum klorür 5 g/L bileşimine sahiptir. Geniş bir yelpazede bakteri ve mantarların gelişimine uygun bir besiyeridir. Bu araştırmada Kongo Kırmızısı Agar besiyerinin hazırlanmasında kullanılmıştır.

3.1.21 Tryptic Soy Broth (TSB)

TSB (Merck, Almanya), *in vitro* çalışmalarda kullanılan standart bir besiyeridir. İnhibitör ya da indikatör içermez. Bileşimi kazeinden pepton 17,0 g/L; soyadan pepton 3,0 g/L; D(+)glukoz 2,5 g/L; NaCl 5,0 g/L ve K_2HPO_4 2,5 g/L şeklindedir. Bu araştırmada biyofilm deneylerinde çift kuvvet olarak kullanılmıştır.

3.1.22 Sabouraud Dekstroz Agar (SDA)

SDA (Merck, Almanya), *in vitro* çalışmalarda yapılan standart mikrobiyolojik analizlerde maya ve küflerin, dermatofitlerin kültivasyonu için Sabouraud tarafından geliştirilen genel amaçlı bir besiyeridir. Yaklaşık olarak 5,6 pH'a sahiptir. Pepton 10,0 g/L; D(+) glukoz 40,0 g/L ve agar-agar 15,0g/L bileşimine sahiptir. Bu çalışmada *C. albicans*'ın kültüründe kullanılmıştır.

3.1.23 Agar Agar

Agar agar (Merck, Almanya) termo-geri dönüşümlü, polisakkarit jelleştirici bir ajandır. Yapısal olarak yaklaşık %70 agaroz ve %30 agaropektin olmak üzere iki ana

fraksiyondan oluşur. Agarın jelleşme özellikleri agarozdan gelir. Bu çalışmada sıvı besiyerlerinin içeriğine eklenerek katı besiyeri elde etmek için kullanılmıştır.

3.1.24 Kongo Kırmızısı Agar (CRA)

Bu besiyerini hazırlamak için BHI-B, sükroz, agar agar ve kongo kırmızısı (CR) gereklidir. Bu çalışmada biyofilm oluşturan mikroorganizmaların tespit edilebilmesi için kullanılmıştır.

3.1.25 Serum Fizyolojik

Serum fizyolojik, ozmotik basıncı mikroorganizmaların ozmotik basıncına eşdeğer olan %0,9'luk tuzlu sudur. Bu araştırmada inokulum hazırlamada steril serum fizyolojik (Polifarma, Türkiye) kullanılmıştır.

3.1.26 Sakkaroz

Diğer ismiyle sükroz insan beslenmesinde önemli bir yer tutar. Sistematik adı *β-D-fruktofuranozil-(2→1)-α-D-glukopiranosit*'tir. Bu araştırmada sükroz (Merck, Almanya) Kongo kırmızı agar besiyerinin hazırlanmasında kullanılmıştır

3.1.27 Congo Red/Kongo Kırmızısı (CR)

Bir azo boyası olan kongo kırmızısı (CR) (Chembio, Türkiye) suda çözünür bir yapıdadır. Suda çözündüğünde kırmızı renkte görünür. Histoloji laboratuvarlarında hücre duvarı ve gram (-) bakterilerin dış zarının boyanmasında kullanılır. Bununla birlikte CR içeren özel bir katı besiyeri hazırlanarak biyofilm indikatörü şeklinde mikrobiyoloji alanında kullanılır. Bu araştırmada CR biyofilm üreten mikroorganizmaların tespiti için hazırlanan besiyerinde kullanılmıştır.

3.1.28 Crystal Violet/Kristal Viyole (CV)

Antibakteriyel, antifungal ve antiseptik özelliklere sahip olan bu mor menekşe rengindeki boyar madde, histolojik çalışmalarda kesitlerin incelenmesinde ve

mikrobiyolojide bakterilerin gram boyama yöntemi ile sınıflandırılmasında kullanılmaktadır. Bu tez çalışmasında biyofilm oluşumunun belirlenmesinde kristal viyole boyası (Chembio, Türkiye) kullanılmıştır.

3.1.29 2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH)

DPPH, iyi bilinen ve yaygın olarak antioksidan çalışmalarında kullanılan DPPH radikali süpürme yönteminin ana unsuru olarak kullanılan kararlı bir azot bileşiğidir. 515-520 nm'de iyi absorbans verir ve mormenekşe renginde görülür. DPPH (Sigma-Aldrich, ABD), bu araştırmada antioksidan testlerinde kullanılmıştır.

3.1.30 C vitamini

C vitamini, diğer adı ile askorbik asit, antioksidan özellik taşıyan birçok doğal üründe bulunur. Suda çözünebilir yapıda olup, insan vücudunda kolajen sentezi ve demir absorbsiyonu gibi görevlerle ilişkilidir. Bu araştırmada DPPH radikal süpürücü antioksidan aktivite belirlenmesinde pozitif kontrol olarak kullanılmıştır.

3.1.31 Halamid®

Halamid®, beyaz renkte ve toz halindedir. Güçlü bir oksitleyicidir. Halamid® (Kloramin-T), iyodojen veya laktoperoksidaz ile birlikte radyoiyodin izotopları ile peptitleri ve proteinleri etiketlemek için yaygın olarak kullanılır Ayrıca bakterisidal, virüsidal, spor öldürücü ve mantar öldürücü özelliği olduğu bilinir. Halamid® (Axcentive, Fransa) bu çalışmada biyofilm deneylerinde pozitif kontrol olarak kullanılmıştır.

3.1.32 Dimetil Sülfoksit (DMSO)

DMSO hem polar, hem de apolar bileşikleri çözebilme yeteneğine sahip kuvvetli bir çözücüdür. Bu özelliği sayesinde çeşitli organik çözücüler, su, iyonik ve non-iyonik bileşikler ve bazı tuzlar ile birlikte kullanılabilir. DMSO (Merck, Almanya) bu tez çalışmasında, makrofungus ekstraktlarının stok çözeltilerini hazırlamak amacıyla kullanılmıştır.

3.1.33 İspirto

Kuyumculuk sektöründe, mobilya, kalıp ve matbaa sanaylerinde, kaynak yapımında kullanımı olan ispirtonun tutuşturuculuk ve dezenfektan özelliğinden faydalanılır. Biyoloji labortuvarlarında da ispirto ocağı için yakıt olarak ve laboratuvar ekipmanlarının sterilizasyonunda kullanılmaktadır. İspirto, bu araştımada ispirto ocağı yakıtı olarak kullanılmıştır.

3.1.34 Etil Alkol/Etanol (EtOH)

Molekül formülü C_2H_5OH ($CH_3{-}CH_2{-}OH$) olarak bilinen etil alkol, kokusuz, uçucu ve yanıcı özelliktedir. Kimyasal bir çözücüdür ve antiseptik özelliği bulunmasından dolayı dezenfektan olarak kullanılır. Bu tez çalışmasında, deneyler sırasında yüzey dezenfektanı olarak teknik etanol (Markasız, Türkiye) ve makrofungus ekstraktlarında ve biyofilm çalışmasında ise absolute etanol (Merck, Almanya) olmak üzere üç amaçla iki farklı kaynaktan temin edilen etil alkol kullanılmıştır.

3.1.35 Aseton

Aseton, günlük yaşamda, kozmetik ve temizlik sektörlerinde yaygın olarak kullanılan bir çözücüdür. Bilimsel çalışmalarda ekstraksiyon uygulamalarında veya laboratuvarda bulunan bazı ekipmanların sterilizasyonunda da kullanılabilir. Bu tez çalışmasında, biyofilm deneylerinde aseton (Merck, Almanya) kullanılmıştır.

3.1.36 Kloroform (Triklorometan)

Hızlı etki etmesi, düşük maliyetli olması ve kullanım kolaylığı açısından belki de en yaygın olarak (özellikle diş hekimliğinde) kullanılan çözücülerden biri olmasının yanı sıra kansorejen potansiyelindedir.

Kloroform (Riedel-de Haën, Almanya) bu çalışmada ekstraksiyon işleminde kullanılmıştır.

Bu çalışmada kullanılan çözücüler polarite ve kaynama noktaları göz önünde bulundurularak seçilmiştir.

3.2 Çalışmada Kullanılan Cihazlar

3.2.1 Tartım Cihazı

Deneylerde kullanılan ve tartımı yapılması gereken besiyeri, kimyasal, evapore edilmiş ekstrakt vb ürünlerin tamamı Precisa (İsviçre) firmasına ait hassas terazi ile tartılmıştır.

3.2.2 Distile Su Cihazı

Araştırmada kullanılan distile su, Human Corporation (Kore) tarafından üretilen laboratuvar tipi su distilasyon cihazı kullanılarak üretilmiştir.

3.2.3 Mikropipetler

Bu araştırmada, çözücüleri, ekstraktları ve kültür ortamını aktarmak için Microlit (Hindistan) firması tarafından üretilen pipetler (10-100 µL/100-1000 µL) ve (10-100 µL) multi channel mikropipet kullanılmıştır.

3.2.4 Çalkalayıcı

Makromantarlardan ekstrakt elde etmek için çözücü eklenmiş makromantar örnekleri çalkalayıcıya çalkalama işlemi için bırakılmıştır. Bu işlem için Daihan, WiseShake (Kore) marka çalkalayıcı kullanılmıştır.

3.2.5 Döner Buharlaştırıcı

Döner buharlaştırıcı (rotary evaporator) genel olarak ekstrakt içinden uzaklaştırılmak istenen çözücünün hızlı verimli ve güvenli bir şekilde buharlaştırma yaparak uzaklaştırılmasını sağlar. Makrofungus ekstraktlarının çözücülerinin buharlaştırılması aşamasında döner buharlaştırıcı (Heidolph, Almanya) kullanılmıştır.

3.2.6 Otoklav

Otoklav yüksek sıcaklık ve basınçta zararlı mantar, maya, virüs ve bakterileri öldürmek için kullanılan sterilizasyon cihazıdır. Bu tez araştırmasında kullanılan besiyerleri ve tüm pipet ucu ya da cam malzemelerin sterilizasyonunda otoklav (Daihan, Wiseclave, Kore) kullanılmıştır.

3.2.7 İnkübatör

İnkübatörler mikroorganizma inkübasyonunda, hücre kültürlerinin üretiminde ve korunmasında kullanılır. Sıcaklık, nem, CO_2 ve O_2 miktarı gibi mikroorganizma ve hücre kültürleri için gerekli optimum koşulların sağlabildiği bir cihazdır. Bu tez çalışmasında mikroorganizmaların inkübe edilmesi için Selecta (İspanya) firması tarafından üretilen inkübatör kullanılmıştır.

3.2.8 McFarland Densitometresi

McFarland densitometresi, turbidimetrik yöntem kullanarak mikroorganizma inokulumlarını standardize etmek için kullanılan bir cihazdır. Bununla birlikte antimikrobiyal duyarlılık testlerinde de aynı amaçlı kullanılır. Cihaz 565 ± 15 nm dalga boyunda ölçüm yapar. Mikroorganizmalarla yapılan çalışmalarda ihtiyaca göre farklı seviyelerde McFarland standardı kullanılabilir. Bu çalışmada, inokulum turbiditesinin 0,5 McFarland standardına ayarlanmasında McFarland densitometresi (Biosan, Letonya) kullanılmıştır.

3.2.9 İspirto Ocağı

İspirto ocağı, yakıt olarak ispirto kullanılan, fitilli, camdan yapılmış, laboratuvarlarda deney esnasında öze, deney tüpleri ve şişeler gibi materyallerin aseptik tekniğe uygun olarak kullanılmasını sağlayan standart bir mikrobiyoloji laboratuvar ekipmanıdır. Bu araştırmada da aynı amaçlı kullanılmıştır.

3.2.10 Biyogüvenlik Kabini

Gıda, kimya, ziraat, veterinerlik, ilaç çalışmaları, patoloji ve mikrobiyoloji gibi biyogüvenlik gereksinimi olan laboratuvarlarda, çalışanların maruz kalabileceği tehlikelere karşı çalışan kişilerin sağlığını ve yapılan çalışmaların dışarıdan gelebilecek istenmeyen toz, mikroorganizma gibi kontaminasyona neden olabilecek etkilerden korunmasını sağlayan bir güvenlik sistemidir. Bu araştırmada yapılan antimikrobiyal, antibiyofilm ve antioksidan testlerinin tamamı biyogüvenlik kabini (Heal Force, Çin) kullanılarak yapılmıştır.

3.2.11 Mikroplaka Okuyucu

Mikroplakalarda bulunan numunelerdeki biyolojik, kimyasal veya fiziksel olayları tespit etmek ve ölçmek için kullanılan bir cihazdır. Mikroplaka okuyucuları farmasötik ve biyoteknoloji alanlarında ve akademik çalışmalarda, ilaç keşfi, biyolojik tahlil validasyonu, kalite kontrol ve üretim süreçlerinde, ELISA, enzim kinetiği, nükleik asit ve protein kantifikasyonu, hücre çoğaltma, sitotoksisite, spektral tarama, reaktif oksijen türleri, gıda güvenliği ve kalitesi, bakteriyel tanımlama, toplam protein tayini, nükleik asit saflık analizi gibi uygulamaların analizlerinde kullanılır. Bu tez araştırmasında kristal viyole biyofilm deneyinde mikroplaka okuyucu (EPOCH 2 BIO-TEK) kullanılmıştır.

3.2.12 GC/MS (Gaz Kromatografisi/Kütle Spektroskopisi)

İlaç, kalite kontrol, uçucu yağların bileşiminin ve miktarının saptanması, organize çözücü atığı saptanması gibi uygulama alanlarında ilaç, gıda, yağ, polimer, parfüm endüstrilerinde bu cihazdan yararlanılır. Bu tez araştırmasında makromantar ekstraktlarının bileşiminin belirlenmesi için GC/MS (Shimadzu, Japonya) cihazı kullanılmıştır.

3.2.13 SEM (Taramalı Elektron Mikroskobu)

SEM; kuru, iletken ve yüksek vakuma dayanıklı olan her türlü numune yüzeyinin kompozisyonu hakkında bilgi edinilmesini sağlayan yüksek çözünürlüklü görüntüler

veren bir cihazdır. Bu araştırmada biyofilm yüzey yapısını görüntülemek için SEM (Fei, ABD) kullanılmıştır.

3.2.14 AFM (Atomik Kuvvet Mikroskobu)

AFM'nin kuvvet ölçümü, topografik görüntüleme ve manipülasyon olmak üzere üç temel özelliği bulunmaktadır. Kuvvet ölçümü özelliği numunenin sertliği, yapışma mukavemeti, iletkenlik gibi mekanik özelliklerinin ölçümüne olanak tanırken, topoğrafik görüntülemede numunenin üç boyutlu yapısını, şeklini, yüksekliğini yüzey yapısını yüksek çözünürlükte analiz etmeyi sağlar. Manipülasyon özelliği ile prob uç ve numune arasındaki kuvvetler kullanılarak numunenin özellikleri kontrollü bir şekilde değiştirilebilir. Topoğrafik görüntüleme yapılırken eş zamanlı olarak numunenin diğer özellikleri de ölçülebilir. Bu araştırmada üretilen biyofilmlerin şekilsel özelliklerinin topografik görüntülenmesinde AFM (Bruker, ABD) kullanılmıştır.

3.3 Araştırmada Kullanılan Makrofungus Örnekleri

Bu çalışmada, *Fomes fomentarius* (L.) Fr., *Phellinus hartigii* (Allesch. & Schnabl) Pat. ve *Fomitopsis pinicola* (Sw.) P. Karst örnekleri kullanılmıştır. Mantar örnekleri Doç Dr. Ilgaz AKATA'nın kişisel koleksiyonundan temin edilmiş olup, mantarlar sırasıyla İstanbul Belgrad Ormanı, Ilgaz Dağı Milli Parkı ve İzmit Yuvacık'tan toplanmış ve Doç Dr. Ilgaz AKATA tarafından teşhis edilmiştir.

3.4 Araştırmada Kullanılan Mikroorganizmalar

Bu tez çalışmasında, ekstraktların antimikrobiyal aktivitesi farklı derecede antibiyotik direnci gösteren *S. aureus*, klinik *E. coli* izolatları (2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11) ile *E. coli* ATCC 25922 (1) standart suşuna ve 1 adet *C. albicans* maya suşu olmak üzere toplamda on bir adet mikroorganizmaya karşı test edilmiştir. Bu mikrorganizmalardan yüksek biyofilm oluşmu gösteren yedi adet mikroorganizma (*E. coli* 7, 9, 11, 12, *S. aureus*, *S. aureus* MRSA ve *C. albicans*) ileri çalışmalarda kullanılmıştır.

3.5 Yöntem

3.5.1 Ekstrakt Stoklarının Elde Edilmesi

Genel bir yaklaşım olarak, antimikrobiyal etkisi denenecek ekstrakt stokları, 1000 µg/mL veya yukarısında olacak şekilde hazırlanmış olmalı veya teste tabi tutulacak konsantrasyonun 10 katı olacak şekilde hesaplanmalıdır (örn: 1280 µg/mL) ve mümkünse suda çözülmelidir. Antimikrobiyal maddelerin çözünürlüğü az olanları için daha düşük konsantrasyon hazırlanabilir.

Bazı antimikrobiyallerin su harici bir çözücü ile çözülmesi gerekebilir. Bu durumda;

- antimikrobiyal madde olabilecek en düşük hacimdeki çözücüler ile çözülmüş olmalı,

- uygun çözücüler veya doğrudan su kullanılarak son konsantrasyon için dilüye edilmeli

Kontaminasyon ihtimalinin olduğu durumlarda ekstraktların sterilizasyonu membran filtrasyon yöntemiyle sağlanabilir. Stok çözeltiler hazır hale getirilerek küçük hacimlerde steril polietilen, polistren, polipropilen veya cam tüpler içinde stoklanabilir. Stok solüsyonlar uygun koşullar sağlandığı zaman genelde altı aylık bir süre etkinliklerini yitirmeden stoklanabilirler, hatta bazı ekstraktlarda bu stoklama süresi çok daha uzun olabilmektedir. Stoklar kullanılacağı gün çözdürülerek zaman geçirilmeden kullanılmalıdır. Aynı gün içinde kullanılmayacak olan ekstraktların tekrar dondurularak stoklanmamasına dikkat edilmelidir. Pozitif kontrol amaçlı kullanılacak standart antibiyotik ve antifungal çözeltilerinde meydana gelebilecek aktivite kaybı veya bozulma durumunu tespit etmek amacıyla rutin olarak mutlaka standart yöntemlerde belirtilmiş olan kalite kontrol amaçlı suşlar kullanılarak bu standart antibiyotik ve antifungal çözeltilerinin etkinlik durumları kontrol edilmelidir (Çoban, 2012).

Yapılan tez çalışmasında makrofungus örnekleri, laboratuvar tipi bir öğütücü (Christy ve Norris, Chelmsford, İngiltere) kullanılarak ince toz haline getirilmiştir. Örneklerin

ekstraksiyonu hazırlanma işlemi ve ekstraksiyonda kullanılan makromantar ve çözücü miktarı aşağıda verildiği gibidir.

- 2,0453 g *F. fomentarius* tartılarak bir erlene konulup, üzerine 150 mL kloroform ilave edilmiştir.

- Farklı bir erlene 2,0783g *F. fomentarius* konmuş ve 150 mL etanol eklenmiştir.

- 3,4793 g toz haldeki *P. hartigii* tartılarak bir erlene aktarılmış ve üzerine 150 mL kloroform eklenmiştir.

- 4,0684g *P. hartigii* farklı bir erlene aktarılıp üzerine 150 mL etanol eklenmiştir.

- 4,0745 g *F. pinicola* üzerine 150 mL etanol ve 4,0750 g *F. pinicola* üzerine 150 mL kloroform eklenmiştir.

Erlenler bir çalkalayıcıya (WiseShake, Kore) yerleştirilerek 3 gün boyunca 140 rpm'lik bir hızda oda sıcaklığında çalkalanmıştır (Şekil 3.1). Üç günlük çalkalanma işleminden sonra ekstraktlar ayrı ayrı filtre kâğıdından süzülüp, buharlaştırma balonlarına aktarılmıştır. Bu balonlar döner buharlaştırıya (Heidolph, Almanya) bağlanmış, 40 ila 50°C'de döndürülerek ekstraktlarda bulunan çözücülerin uzaklaştırılması sağlanmış ve toz halinde özüt elde edilmiştir.

Tüm özütler çözünme durumlarına göre farklı oranlarda steril distile su (sdH_2O):DMSO içinde çözülmüştür. Bu ekstraktların çözünmüş olduğu sdH_2O:DMSO oranları Tablo 2.1 belirtilmiştir. DMSO stokları hava geçirmez falkon tüplerinde tutulmuş, ayrı ayrı etiketlenmiş ve kullanıma kadar -18°C'de saklanmıştır. DMSO bakteriler için toksik olduğundan, ekstrakt stokları bakteriler üzerine uygulanırken en yüksek %1 DMSO içerecek şekilde seyreltilmiştir.



Şekil 3.1 Çalkalayıcıdaki ekstrakt stokları

Tablo 3.1 Ekstrakt stoklarındaki çözücü oranları

Makromantar/Çözücü	sdH_2O : DMSO
P. hartigii - Etanol	50/50
P. hartigii - Kloroform	25/75
F. pinicola - Etanol	50/50
F. pinicola - Kloroform	40/60
F. fomentarius - Etanol	50/50
F. fomentarius - Kloroform	40/60

3.5.2 MHB Hazırlanması ve Katyon Ayarlarının Yapılması

Literatürde fakültatif anaerob mikroorganizmaların yaşamı için Müller-Hinton Broth (MHB) besiyerinin kullanımı önerilmektedir. MHB, duyarlılık testleri için her çalışmada benzer sonuçlar veren ve bu sebeple tercih edilen bir besiyeridir. MHB'de tetrasiklin, trimetoprim ve sülfonamid inhibitörlerinin miktarları azdır. MHB birçok bakterinin yanı sıra özellikle patojenite gösteren bakterilerin çoğunun

üremeyebilmelerine elverişli bir besiyerdir. Öte yandan duyarlılık testleri için kullanılan MHB besiyerinin katyon ayarlarının yapılması zorunludur. MHB'nin uygun hale getirilmesi için kalsiyum ve magnezyum katyon oranları aşağıda belirtildiği miktarda olmalıdır;

- Magnezyum (10-12,5 mg/L)
- Kalsiyum (20-25 mg/L), [daptomisin testinde ise 50 mg/L]

Eğer katyonlar yukarıda belirtilen miktarlarda ayarlanmazsa *P. aeruginosa* suşlarına karşı aminoglikozit ajanların, bütün bakteri suşlarına karşı tetrasiklin ve türevleri ajanların ve Gram pozitiflere karşı daptomisinin ortaya koyacağı MİK değerleri olması gerekenden farklı olması kaçınılmazdır.

Öte yandan, ticari olarak satışa sunulmuş MHB besiyerlerinin bazılarında katyon bulunduğu dikkate alınmalı ve katyon ayarlaması yapılacağı zaman dikkatli olunmalıdır (Çoban, 2012).

Besiyerinde düşük miktarda katyon bulunması kadar, yüksek miktarda katyon bulunması da sonuçlara etki edebilmektedir. Bu tez çalışmasında kullanılacak MHB ticari olarak kutunun üzerinde belirtildiği şekilde hazırlanıp otoklavlanarak sterilize edilmiş ve kullanılmıştır.

3.5.3 Antimikrobiyal Aktivite Tespit Testlerinde Kullanılmak Üzere İnokulum Hazırlanması

Antimikrobiyal aktivite tespit testlerinde kullanmak amacıyla inokulum hazırlanması gerekmektedir. İnokulum hazırlanması için literatürde çeşitli teknikler mevcuttur. Bu tekniklerden en yaygın kullanılan iki tanesi aşağıda verilmiştir.

3.5.3.1 Doğrudan koloni süspansiyon yöntemi

Bu yöntem, birçok bakterinin test edilmesinde rahatlıkla kullanılabilen inokulum hazırlanma yöntemidir.

Bunun için inokulum, 18-24 saatlik inkübasyon sonrasında petri kabındaki tek düşen kolonilerden direkt steril serum fizyolojik veya broth (sıvı besiyeri) içinde süspanse edilerek elde edilir.

Süspansiyon bulanıklığının standardize edilebilmesi için 0,5 McFarland standardı kullanılarak süspansiyon bulanıklığı ayarlanmalıdır. Bu basamağı doğru bir şekilde uygulayabilmek için çıplak gözle bakılır veya fotometrik bir cihaz kullanılır. İnokulum tüpünün bulanıklığı gözle bakılarak ayarlanacak ise inokulum tüpü yeteri kadar ışığın olduğu bir ortamda Wickerham kartı (üzerinde siyah-beyaz çizgiler bulunan kart) önüne tutularak süspansiyon bulanıklığı 0,5 McFarland'a ayarlanır (Altuner ve Çetin, 2018).

3.5.3.2 Broth besiyeri kültür yöntemi

Broth kültür yöntemi kolonilerin doğrudan koloni süspansiyon yöntemi ile süspanse edilmesinin güç olduğu durumlarda ikinci bir seçenek olarak kullanılabilir veya Stafilokoklar dışında kalan kolaylıkla üreme gösteren bakteriler için, koloni süspansiyon yönteminde kullanılacak 24 saatlik koloniler çalışma sırasında mevcut değilse bu yöntem tercih edilebilir.

Bunun için, agar besiyerinde üretilmiş kolonilerden, benzer morfolojiye sahip olanların 3-5 adet seçilir. Bu koloniler steril swap veya öze yardımıyla toplanır ve yaklaşık 4 veya 5 mL TSB besiyerine transfer edilir.

Bu besiyeri en az 0,5 McFarland standardı kadar bulanık oluncaya kadar, çoğunlukla 2 - 6 saat inkübasyona tabi tutulur.

Şayet kültür bulanıklığı 0,5 McFarland bulanıklığından fazla ise, bulanıklık 0,5 McFarland standardına eşdeğer bulanıklığa ulaşıncaya kadar steril sıvı besiyeri veya serum fizyolojik ilave edilir. Bulanıklığın doğru ayarlanabilmesi için spektrofotometre kullanılabileceği gibi, yine ışığın yeterli olduğu ortamda Wickerham kartı da kullanılabilir (Aydemir vd., 2016).

Bu çalışmada, ön taramada toplamda 12 adet *E. coli* suşu, 2 adet *S. aureus* suşu, *P. mirabilis, S. pneumoniae, S. flexineri, A. baumannii, C. tropicalis, C. glabrata* ve *C. albicans* maya suşu kullanılmıştır. Her bir mikroorganizmanın inokulumu hazırlanırken mikroorganizmalara ait morfolojik olarak benzer koloniler seçilmiş, %0,9 steril serum fizyolojik içine aktarılmış ve inokulumun bulanıklığı 0,5 McFarland standardına göre ayarlanmıştır.

3.5.4 Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK)

Patojen olan mikroorganizmalarda *in vitro* duyarlılık testleri, özellikle hastalık etmeninin hali hazırda kullanılan antibiyotik ilaçlara direnç oluşturma ihtimali söz konusu olduğunda uygulanmaktadır. MİK testi, dirençli mikroorganizmalar ile ilgili çalışmalarda ve yeni üretilen ya da hali hazırda kullanılan antibiyotik ilaçların etkilerinin birbiri ile kıyaslanması bakımından önem arz eder (Kahlmeter vd., 2003).

Dilüsyon yöntemleri antibiyotiklerin ve antimikrobiyal maddelerin MİK değerlerini belirten ve antibiyotik duyarlılık testlerinde referans olan yöntemlerdir (Aydemir vd., 2016; ISO 20776-1, 2006).

Dilüsyon testleri, antibakteriyel ve antifungal bileşiklerin dilüsyonları şeklinde tasarlanmış kuyucuklu plaklar veya katı besiyeri (agar) üzerinde gözle görülebilir üreme varlığı esasına dayanır. Bir mikroorganizma için üremenin gözle görülebilir bir şekilde engellendiği en düşük antibakteriyel ya da antifungal bileşik konsantrasyonu MİK değeri şeklinde ifade edilir. Uygulanan bu test sonucu, çalışılan mikroorganizmanın üremesinin engellenmesi için gereken minimum etken madde konsantrasyonunu gösterir (Çoban, 2012; Jorgensen, ve Sahm, 1995).

Maddelerin antimikrobiyal aktivitlerini gözlemlemek amacıyla farklı *in vitro* yaklaşımlar kullanılır. Bir maddenin antimikrobiyal aktivitesinin bulunup bulunmadığı, aktivitesi varsa Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK) ve mikroorganizma spektrumunun belirlenmesi antimikrobiyal aktivite testleri ile sağlanır. Yapılacak olan çalışmanın amacına uygun *in vitro* antimikrobiyal aktivite testinin seçiminin yapılması çalışmanın anlamlılığı açısından oldukça önem taşır. Yöntemin seçimi; maddelerin sayısı, miktarı, çözünürlüğü ayrıca kullanılacak

mikroorganizma cinsi, özelliği ve yoğunluğu dikkate alınarak yapılmalıdır. Sonuçların güvenilir ve tekrarlanabilir olmasına ek olarak en az emeğin harcandığı, zamanın en verimli kullanıldığı ve maddi olanaklar bakımından en ucuz olan yöntemin tercih edilmesi araştırmacıya her açıdan avantaj sağlar (Abbasoglu, 1996).

Bakterilerin duyarlılıklarını ortaya koymak için kullanılan *in vitro* testler mikrobiyoloji laboratuvarlarında vazgeçilemez testler olmuştur. Günümüzde çeşitli sınıflardan antibiyotiklere dirençli hale gelen pek çok bakteri türü bulunmaktadır. Örneğin; herhangi bir klinik örnekten izole edilmiş bir *P. aeruginosa* suşunun tedavisinde kullanılacak olan antibiyotiklerden hangisine duyarlı, hangisine direnç göstereceğini tahmin etmek artık çok da kolay olmamaktadır (Kahlmeter vd., 2006; Sümerkan ve Gökahmetlioğlu, 1998).

3.5.4.1 Sıvı mikrodilüsyon yöntemi

Besiyerlerinin çok düşük hacimlere sahip mikrodilüsyon plak kuyucuklarına dağıtılması sebebiyle yöntemin ismine "mikrodilüsyon" denmiştir. Her kuyucukta minimum 0,1 mL sıvı bulunmalıdır.

Mikrodilüsyon plaklarını hazırlama aşamasında etken madde veya ekstrakt her seferinde miktarı yarıya düşecek şekilde dilüsyonları yapılır. Bütün dilüsyonların hazırlanmasında ekstrakt stoğunun ilk kuyucuğa transferinde bir adet pipet ucunun kullanılması yeterlidir. Daha sonra yapılacak bütün dilüsyonlarda pipet ucunun değiştirilmesi uygun olur. Böylece etken madde veya ekstraktın plaklara değişen konsantrasyonlarda dağıtımı yapılmış olur.

Plakların hazırlanmasında en yaygın izlenen yol, dilüsyon işlemini mikropipet gibi dağıtım yapan aletler yardımı ile 96 kuyucuğu bulunan standart mikroplaktaki kuyucukların her birine 0,1 mL hacimde dağıtmaktır.

Son olarak inokulumun pipet ile eklenmesi planlanmışsa, ekstraktlar hedeflenen konsantrasyonlarının iki katı şeklinde hazırlanır. Tasarlanan her çalışmada mutlaka pozitif üreme kontrolü olarak adlandırılan üremenin kontrol edildiği bir kuyucuk ve

negatif kontrol olarak adlandırılan mikroorganizmanın aktarılmadığı bir kuyucuk bulunmalıdır.

3.5.4.2 İnokülasyon aşaması

Mikroorganizmalara ait inokula daha önce tanımı yapıldığı şekilde mikroorganizma kolonilerini kullanmak suretiyle süspansiyon şeklinde hazırlanmalıdır.

Standardize edilmiş inokula hazırlandıktan sonraki 15 dakikayı geçmeyecek şekilde inokülasyon işlemi için kullanılmalıdır. İnokülasyon bitiminde final mikroorganizma miktarı kuyucuk başına yaklaşık $5x10^5$ kob/mL olmalıdır. Bunun için steril sıvı besiyeri, serum fizyolojik veya su kullanılarak inokulum dilüye edilmelidir. Kuyucuk başına düşen mikroorganizma miktarının ayarlanması, yöntemin yaklaşımına ve denenmesi planlanan mikroorganizma çeşidine bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Bu nedenle kullanılacak mikroorganizma ve yönteme göre yeniden hesaplama yapılmasına ihtiyaç vardır. Yapılacak testlerde hesaplama işleminin hatasız olması için kuyucuklara aktarılan inokulum hacminin bilinmesi büyük önem taşır. Örneğin; şayet kuyucuklara aktarılmış besiyeri hacminin 0,1 mL ve inokulum hacminin de 0,01 mL olması planlanmışsa, bu durumda 0,5 McFarland süspansiyonunun ($1x10^8$ kob/mL), 1'e 20 oranında sulandırılması gereklidir. Böylece $5x10^6$ kob/mL miktarında inokulum hazırlanmalıdır. Hazırlanan bu solüsyondan 0,01 mL alınarak kuyucuğa transfer edildiğinde, kuyucuktaki mikroorganizmanın final konsantrasyonu yaklaşık $5x10^5$ kob/mL veya $5x10^4$ kob/kuyucuk şeklinde olur.

Yukarıda belirtildiği şekilde hazırlanmış inokula hazırlandıktan sonraki 15 dakika içinde plakların kuyucuklarına, kuyucukta bulunan besiyeri ve test edilecek bileşik veya ekstraktın toplam hacminin %10'undan fazla olmayacak şekilde transfer edilir. Örneğin, 0,1 mL toplam hacim içine 10 µL'ye eşit veya daha az inokulum aktarılmalıdır. Bunun yanı sıra 0,05 mL'lik bir pipetleme yapılacaksa makrodilüsyon metodundaki gibi kuyucukların her birinin (0,05 mL içeren) içeriği 1'e 2 sulanmış olacaktır (Canli vd., 2016).

3.5.4.3 İnkübasyon

İnoküle edilen plaklar 35-37°C'de 16 ile 20 saat süresince aerobik şartlarda inkübatörde inkübasyona bırakılır. Bütün testler için inkübasyon sıcaklığının aynı olabilmesi için, plaklardan en fazla dörder adet üst üste dizilmelidir.

Mikroplakların kuyucuklarında inkübasyon sırasında kurumanın engellenebilmesi için, plakların kapakları plastik bir poşet, parafilm veya bantla kapatılmalıdır (Baldas ve Altuner, 2018).

3.5.4.4 MİK değerinin bulunması

Daha önce de belirtildiği gibi MİK, mikroorganizmaların kuyucuklardaki üremesini engelleyen ve çıplak gözle algılanabilen en düşük antimikrobiyal madde derişimidir.

MİK değeri bulunurken kontrol kuyucuklarındaki (antimikrobiyal maddesiz) üremenin yoğunluğu, antimikrobiyal madde içeren kuyucuklardaki üremenin yoğunluğu ile mukayese edilmelidir. Yapılan testlerin geçerliliğinin kabul edilebilmesi açısından, pozitif kontrol kuyucuğundaki üremenin 2 mm'ye eşit veya büyük bir çökelme oluşturması veya gözle görülebilen bir bulanıklığın oluşması gereklidir.

Sülfonamidler ve trimetoprim antibiyotikler ile besiyerinin kompozisyonunda bulunan antagonistlerin üremede bir zayıflığa sebep olması nedeniyle, MİK değeri belirlenirken pozitif üreme kontrol kuyucuğundaki üreme ile karşılaştırıldığında %80'e eşit veya daha fazla azalmanın görüldüğü derişim belirlenmelidir.

Bu tez çalışmasında ilk olarak 96 kuyucuklu mikroplakanın tüm kuyucuklarına 100 µL MHB aktarılmıştır. İlk kuyucuğa 100 µL ekstrakttan aktarılarak dikkatli bir şekilde karıştırılmış ve 1 numaralı kuyucuktan 100 µL alınıp 2 numaralı kuyucuğa aktarım sağlanmıştır. 2 numaralı kuyucuğun içeriği pipetasyon yaparak karıştırılıp, 2 numaralı kuyucuktan 100 µL alınıp, 3 numaralı kuyucuğa aktarılmıştır. Bu seri seyreltim işlemi, 10 numaralı kuyucuğa kadar uygulanmış ve 10 numaralı kuyucuktan 100 µL alınarak dışarı atılmıştır. Mikrodilüsyon tamamlandıktan sonra 12 numaralı kuyucuk dışındaki tüm kuyucuklara 30 µL inokulum aktarılmıştır. Yani, ekstraktların aktivitesini test

etmek için 1 ila 10 numaralı kuyucuklar kullanılmıştır. 11 numaralı mikroplaka sütunu mikroorganizmaların için pozitif üreme kontrolü ve 12 numaralı mikroplaka sütunu ise MHB besiyerinin sterilitesinin kontrolü için negatif kontrol olarak kullanılmıştır. Mikroplakanın üzerindeki her bir kuyucuk, mikroorganizmanın bir kuyucuktan diğerine sıçramayacak şekilde özenle eklenmiştir. 96 kuyucuklu plakalar, 24 saat boyunca 37°C'de inkübe edilmiştir. MİK, mikroorganizmanın büyümesinin gözle görülebilecek seviyede tamamen inhibe olduğu en düşük konsantrasyon olarak belirlenmiştir.

3.5.5 Minimum Bakterisidal Konsantrasyon (MBK)/ Minimum Fungusidal Konsantrasyon (MFK)

Antibakteriyel veya antifungal etkileri olan bazı özütlerin mikroorganizmaların üremesini durdurmada veya öldürme etkilerinin araştırılmasının gerekliliği yadsınamaz bir hal aldığından, bu etkileri ortaya koymak adına MBK, MFK gibi yöntemler geliştirilmiştir (Johnson, 1996; Sümerkan ve Gökahmetlioğlu, 1998). Çoğu zaman mikroorganizmaların ölmesine neden olan sidal etki gösteren antimikrobiyaller açısından MİK ve MBK değerleri ya aynı veya birbirine çok yakındır. Öte yandan mikroorganizmaların ürelemelerini durduran statik özellik gösteren ilaçlar için MBK değeri MİK değerinden yüksektir. Bazı antimikrobiyal maddeler bakterisidal olmasına rağmen, az sayıdaki bazı bakteri türleri ise bu antimikrobiyallere karşı toleranslıdır. Bakteriyel tolerans oldukça kompleks bir durum olmakla beraber, kabaca MBK/MİK değerinin ≥32 olduğu durumda suşun bu antimikrobiyal maddeye karşı tolerans gösterdiği belirtilir. Enterokoklar, streptokoklar, stafilokoklar, *Clostridium, Lactobacillus* ve *Listeria* suşları bu şekildeki suşlardan olabilirler (Johnson, 1996; Sümerkan ve Gökahmetlioğlu, 1998; Töreci, 1992).

Teknik olarak aynı olan antifungal ve antibakteriyel aktivite yöntemleri sadece kullanılan besiyerleri ve inkübasyon koşulları bakımından farklılık gösterir (Abbasoğlu, 1996).

3.5.5.1 MBK değerini belirleyen testler

Antimikrobiyal etkisi olduğu düşünülen bir mantar özütünün, herhangi bir bakteriye karşı MBK değeri, gerek makro, gerekse mikrodilüsyon yöntemleri aracılığıyla MİK değerinin bulunmasının ardından belirlenebilir.

Kısaca açıklamak gerekirse, MBK en başta bulunan bakteri miktarını %99,9 oranında azaltabilen antimikrobiyal madde konsantrasyonudur. MİK değerinin bulunmasının ardından üremenin görülmediği kuyucuklardan 10 µL alınıp agara ekimi yapılır. Agara ekilen kuyucuk içeriği 37°C'de bir gece inkübe edilir. Örneğin, testin başlangıcındaki inokulum $1x10^4$ kob/mL olarak ayarlanmışsa, bu miktardaki %99,9 düşüş, besiyerinde 100 kob/mL'luk bakteri miktarının canlı kaldığı anlamındadır. Bu azalmaya neden olan antimikrobiyal madde konsantrasyonu MBK şeklinde isimlendirilir. 100 kob/mL olan bir süspansiyondan 10 µL alındığında sadece bir adet bakterinin koloni oluşturması beklenir. Uygulamada başlangıçtaki inokulumlar $5x10^4$ kob/mL olarak ayarlandığında 3 ila 9 arasında koloninin üreyebildiği konsantrasyon MBK değeri şeklinde belirlenir (Sümerkan ve Gökahmetlioğlu, 1998; Tilton ve Howard, 1987).

Bu tez çalışmasında MİK testi sonucunda MİK değeri bulunamamasına rağmen, birinci kuyucuklardan alınan örnekler MBK testi uygulamak amacıyla bakteriler için NA ve *Candida* için SDA besiyerlerine aktarılmıştır. Mikroorganizmaların optimum büyüme sıcaklığı göz önünde bulundurularak bir gece inkübe edilmiştir.

3.5.6 Biyofilm ve Antibiyofilm Aktivite

Mikroorganizmaların canlı veya cansız herhangi bir yüzeye tutunmak suretiyle oluşturdukları polimerik yapıdaki jelsi tabaka içinde yapılanmaları ile meydana getirdikleri topluluklara biyofilm adı verilir (Baker ve Banfield, 2003; Joseph, 2004; Leone, vd., 2006; Onbaşlı vd., 2017). Jelimsi bu yapı, bakteri hücrelerinin üretmiş olduğu ve terminolojide "hücre dışı polimerik yapı", "ekzopolisakkarit (EPS)" veya "ekzopolimer" olarak isimlendirilen polisakkarit tabanlı bir yapıdır (Fujishige vd., 2006; Onbaşlı vd., 2017). Biyofilm hücrelerinin tutunmasını sağlayan hücre dışı matriks, protein, su, polisakkarit ve deoksiribonükleik asitten (DNA) meydana gelir. Matriksin en önemli işlevlerinden biri ultraviyole, su kaybı, ozmotik basınç, farklı pH

koşulları, antimikrobiyal madde, radyasyon gibi pek çok etkene karşı bakteriyi korumaktır (Gutiérrez vd., 2016; Junker ve Clardy 2007; Gün ve Ekinci, 2009; Onbaşlı vd., 2017).

Biyofilm oluşturabilen mikroorganizmalar, gerek büyüme oranı bakımından, gerekse antibiyotik veya antifungal tedavilerine karşı oluşturdukları direnç ile biyofilm oluşturmayan mikroorganizmalardan farklı davranış sergilerler. Bununla birlikte olgunlaşan biyofilmleri yok etmenin güçleşmesinin nedeni biyofilm oluşturan mikroorganizma topluluklarının antimikrobiyal ajanlara karşı olan toleransının gün geçtikçe artması ve bunun ciddi bir halk sağlığı sorunu haline gelmesidir (Joseph, 2004; Onbaşlı vd. 2017).

Biyofilmi tamamen ortadan kaldırmak veya üremesini engellemek için sıkça uygulanan işlemler, kimyasal veya mekanik yöntemlerlerle olgun biyofilmi kaldırmak ya da bakteriyel tutunmayı engellemek için, besin öğelerini sınırlandırmak veya farklı yüzey materyallerinin kullanımını kapsar (Darouiche vd., 1999; Onbaşlı vd., 2017).

Biyofilm oluşum aşamaları;

1. Yüzeye geri dönüşümsüz olarak tutunması,

2. Mikrokolonizasyon ve ilk olgunlaşma,

3. Kompleks biyofilm yapısı,

4. Mikroorganizmaların biyofilmin üst tabakasından koparak ayrılması şeklinde özetlenebilir (Atalan, 2019; Temel ve Eraç, 2018).

3.5.6.1 Kongo kırmızısı agar ile biyofilm saptama yöntemi

Bir ya da daha fazla türdeki mikroorganizmanın canlı veya cansız herhangi bir yüzeye tutunması ile meydana gelen biyofilm; yapısında ekzopolisakkarit, DNA, protein ve polisakkarit bulunduran jelsi bir yapıdır. Bu tabaka insan yaşamını birçok alanda olumsuz yönde etkilemektedir. Bu sebeple de tespiti büyük önem taşımaktadır.

Biyofilm oluşumunun laboratuvar koşullarında tespiti için farklı yöntemler bulunmaktadır. Bunlardan biri de fenotipik olarak biyofilm tespiti yapan Kongo Kırmızısı Agar (CRA) yöntemidir. Bu yöntemde BHI-B 37 g/L, sükroz 50 g/L, agar 15 g/L ve Kongo Kırmızısı boya indikatörü 0,8 g/L şeklinde 300 mL için hesaplanarak hazırlanmış ve 121°C'de 15 dk otoklavda sterilize edilmiştir. Çalışmada kullanılan tüm mikroorganizmalar bu hazırlanmış olan CRA besiyerine öze ile ekilmiş ve 24 saat 37°C'de inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda mikroorganizmalardaki renk değişimine göre biyofilm üretimi olanlar daha sonra yapılan biyofilm deneyleri için seçilmiştir.

3.5.6.2 Kristal viyole ile biyofilm saptama yöntemi

Biyofilm oluşumunu belirlemeye yönelik araştırmalarda mikroplakların kullanıldığı yöntemlerin, literatürde çeşitli modifikasyonlar ile tercih edildiği görülmektedir. Özellikle spektrofotometrik mikroplak yönteminin diğer yöntemlerle kıyaslandığında daha spesifik ve güvenilir sonuçlar verdiği belirtilmektedir (Atshan vd., 2012; Eraç vd., 2014; Öztürk vd., 2015; Stepanović vd., 2007). Spektrofotometriye dayanan plak metodunda çoğunlukla 96 kuyucuklu mikroplaklar tercih edilir. Belirlenen hacimde uygun besiyeri bulunduran kuyucuklara bakteri inokulumundan eklendikten sonra, mikroorganizma için optimum olan koşullar altında inkübe edilir. İnkübasyonun sonuna gelindiğinde kuyucukların içeriği plaklar ters çevirmek suretiyle boşaltılır. Boşaltılmış mikroplak kuyucukları yavaş bir şekilde uygun bir yıkama solüsyonuyla yıkanıp, her bir mikroplak kuyucuğuna aynı miktarda boya maddesi ilave edilir. Biyofilmin boyaması için trypan blue veya safranin gibi boyaların yanı sıra, çoğunlukla kristal viyole tercih edilmektedir. Kuyucukların içine boya eklendikten sonra boyanın biyofilmin içine penetrasyonunun sağlanması amacıyla belli bir sürenin geçmesi gerekir. Bu işlemin arkasından kuyucukların içeriği tekrar boşaltılır ve bir kere daha yıkama solüsyonu ile muamele edilir. Böylece boya biyofilmin yapısına katılmış bütün elemanları boyarken, biyofilmin yapısında yer almayan boya kuyucuktan uzaklaştırılmış olur. Yıkama işlemleri sırasında hem oluşan biyofilmin, hem de yüzeye bağlı bakterilerin zarar görmemesi, böylece sonuçların doğru olması için, bu işlemlerin yavaşça uygulanması gerekmeklidir. Yıkama adımından sonra plaklar oda sıcaklığında yarım saat kadar kurutulur. Plaklar kuruduktan sonra

kuyucuklara aseton, asetik asit veya etanol gibi çözücüler uygulanır. Biyofilme penetre olmuş boya, bu çözücüler tarafından çözülür ve çözücü içindeki boya miktarı spektrofotometre ile ölçülerek, kuyucukların içindeki boya + çözücü karışımlarının optik dansiteleri okunur.

Spektrofotometrenin kaydetmiş olduğu bu veriler, biyofilm oluşumunun olmadığı kontrol kuyucuğunun ortalama absorbsiyon değerleriyle karşılaştırılıp, biyofilm oluşumunun olup olmadığı ve oluşan biyofilmin inhibisyon miktarı belirlenebilir (Öztürk vd., 2014; Stepanović, vd., 2007; Temel ve Eraç, 2018). İnkübasyon koşulları, kullanılan besiyeri ve inokulum yoğunluğu, kullanılan farklı yöntemlerde üzerinde çalışılan mikroorganizmanın çeşidine göre farklılık gösterebilir. Bu sebeple göz önüne alınması gereken bütün parametrelerin farklı kombinasyonların dikkate alınma zorunluluğu, uygulanacak yöntemin standardizasyonunun oluşturulmasını zorlaştırmaktadır (Temel ve Eraç, 2018; Valdes vd., 2015).

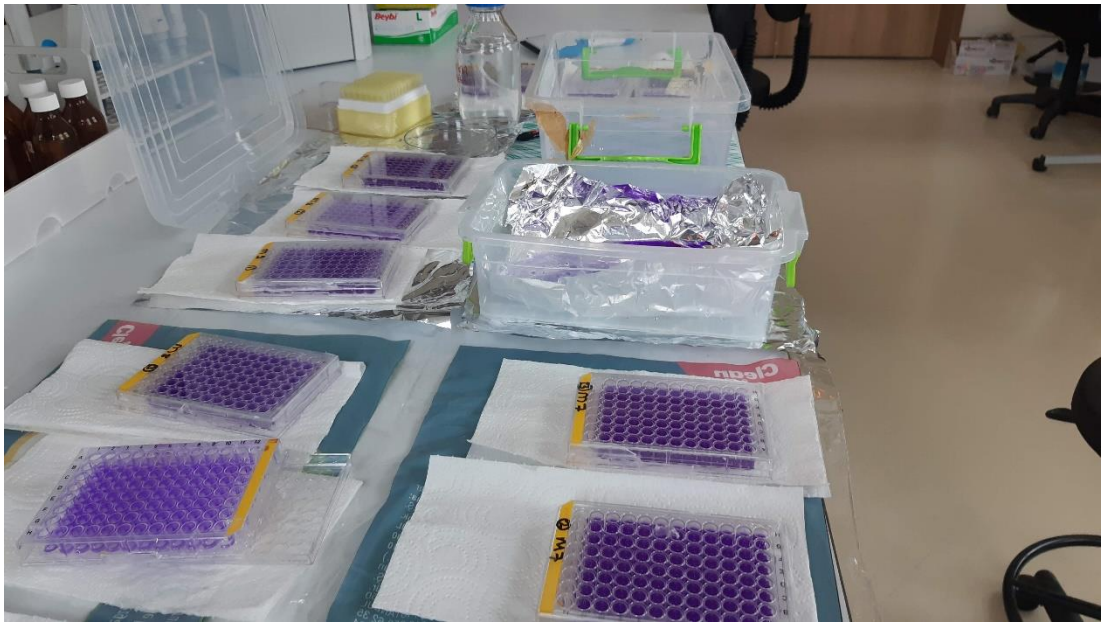
Yapılan bu tez çalışmasında, ilk adımda CRA yöntemi ile biyofilm ürettiği tespit edilen mikroorganizmalar üzerinde kristal viyole yöntemi uygulanmıştır. %0; %0,5; %1; %1,5; %2; ve % 2,5 oranlarında değişkenlik gösteren glikoz derişimlerine sahip çift kuvvet TSB besiyeri hazırlanmış ve biyofilm özelliği incelenmek istenen tüm mikroorganizmaların glikoz derişimi ve inkübasyon süresi parametrelerinin hangisinde en iyi biyofilm üreteceğini tespit etmek amacıyla 24 ve 48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda elde edilen veriler doğrultusunda %0,5 glikoz derişiminde 48 saat inkübasyon süresinde mikroorganizmaların en iyi biyofilmi ürettiği görülmüştür.

Antibiyofilm çalışmasında makromantar ekstraktları için ilk kuyucuğa yüklenecek, yani denenecek, en yüksek doz; ekstraktın her bir mikroorganizma için tespit edilmiş olan MİK değerinin yarısı (MİK/2) olarak belirlenmiştir (Şekil 3.2 ve Şekil 3.3).



Şekil 3.2 Kristal viyole biyofilm işlemi

Çalışma sırasında ilk olarak tüm kuyucuklara 100 µL çift kuvvet %0,5 glikozlu TSB besiyeri konmuştur. Sonra A1 numaralı kuyucuktan A10 numaralı kuyucuğa (A10 numaralı kuyucuk dahil) kadar 100 µL ekstrakt eklenip yukarıdan aşağıya (A'dan H'ye) doğru dikkatlice seri seyreltme uygulanıp 20 µL mikroorganizma inokulumu eklenmiştir. 11 numaralı sütunun tamamına ve 12 numaralı sütunun ilk iki kuyucuğuna mikrobiyal üremenin pozitif kontrolü olması için yalnızca inokulum ve besiyeri yüklenmiştir. 12 numaralı sütunun son 6 kuyucuğunda besiyeri sterilitesinin kontrolü (negatif kontrol) için sadece besiyeri konmuştur. Mikroplakalar 37°C'de 48 saat boyunca kenarları parafilmlenerek inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresinin sonunda her bir mikroplakanın içeriği dikkatli bir şekilde ters çevrilerek boşaltılmıştır. Bu mikroplakalar distile su ile yıkanıp ters çevrilip kurumaya bırakılmıştır. Kurumuş olan mikroplaka kuyucuklarına %0,1'lik kristal viyole çözeltisi yüklenmiştir. %0,1'lik kristal viyole çözeltisi yüklenen mikroplakalar 20-25 dk oda sıcaklığında bekletilmiştir. Bekleme süresinin sonunda mikroplaka içeriği tekrar boşaltılıp dikkatli bir şekilde yıkanmıştır. Yıkanan mikroplakalar kuruyana kadar bekletilmiştir. Kurumuş olan mikroplaklara etanol-aseton karışımı eklenerek kuyucuklarda bulunan kristal viyole çözülene kadar bekletilip, temiz, kullanılmamış 96 kuyucuklu mikroplakalara aktarılıp mikroplaka okuyucuda 550 nm'de ölçüm yapılmıştır. Her ekstrakt 3 ayrı mikroplakada üç paralel olarak çalışılmıştır. Tüm bunlara ek olarak, pozitif kontrol olması için Halamid® kimyasalına da aynı işlemler uygulanmıştır.



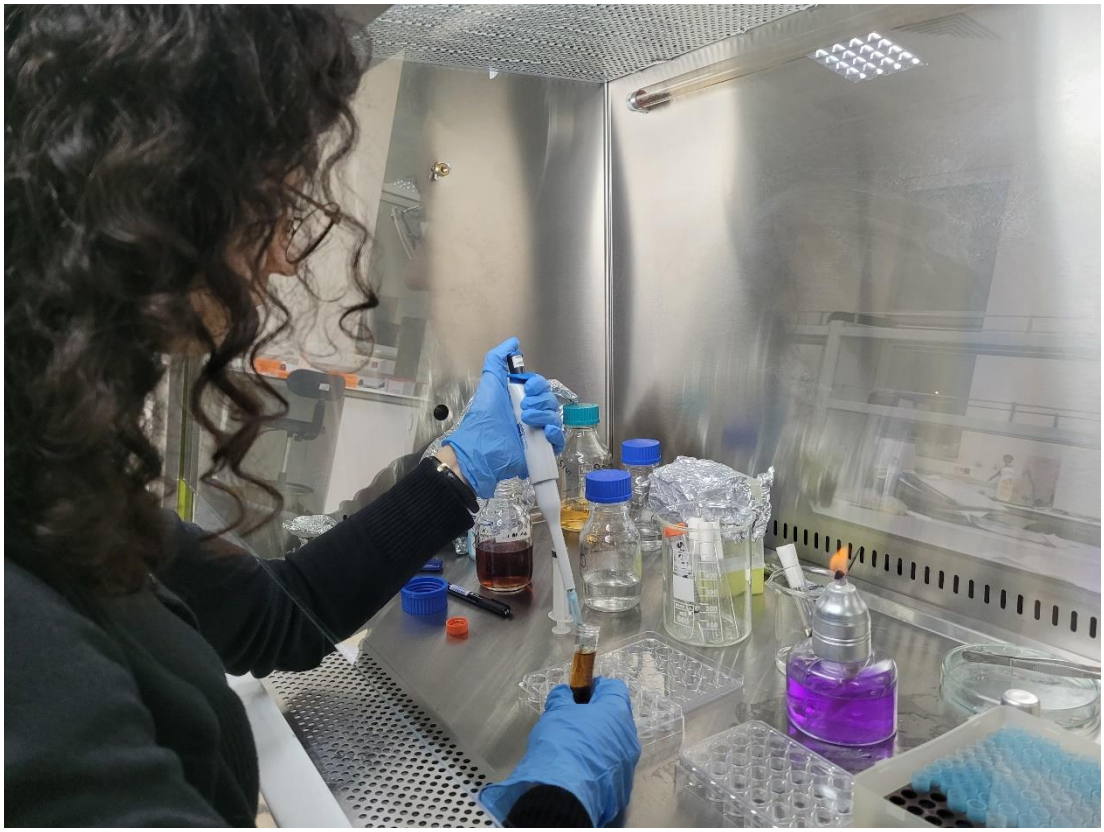
Şekil 3.3 Kristal viyole yüklenmiş mikroplakalar

3.5.6.3 Biyofilm SEM Analizi

Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM), bir yüzey üzerine yapışan mikroorganizmaların oluşturduğu kolonileri, tek başına hücresel yapılarını, morfolojilerini, üç boyutlu yapılarını, biyofilm yapısını, fizikokimyasal özellikleri gözlemlemeyi olanaklı kılar (Blenkinsopp ve Costerton, 1991; Camargo vd., 2005; Zameer ve Gopal, 2010).

SEM'de iyi görüntüleme elde edebilmek için cam, metal veya silikon kuponlar hazırlanır. Mikroplaklara öncelikle bu kuponlar yerleştirilir ve hücre süspansiyonu ile besiyeri konularak biyofilm oluşumu sağlanır. Numuneler ekstrakt ile muamele edilir. Daha sonra analiz öncesi farklı yüzdelik oranlara sahip etanol dehidratasyon serisine maruz bırakılır. Ardından glutaraldehit %50 etanol + heksametildisilazan içinde 5 dakika boyunca tutulur. Negatif kontrol olarak kullanılacak yüzeyler de aynı dehidrasyon işlemine tabi tutulur. Tüm kuponlar daha sonra 1 gün boyunca kurutulur ve ince bir paladyum-altın film ile kaplanır. Negatif kontrol ve biyofilm örnekleri 15 kV'de yüksek vakum modunda bir SEM / EDS sistemi ile görüntülenir. Biyofilm numuneleri, bağımsız kupon görüntüleri ekstrakt uygulamasından önce ve sonra analiz edilir (Gomes ve Mergulhão, 2017).

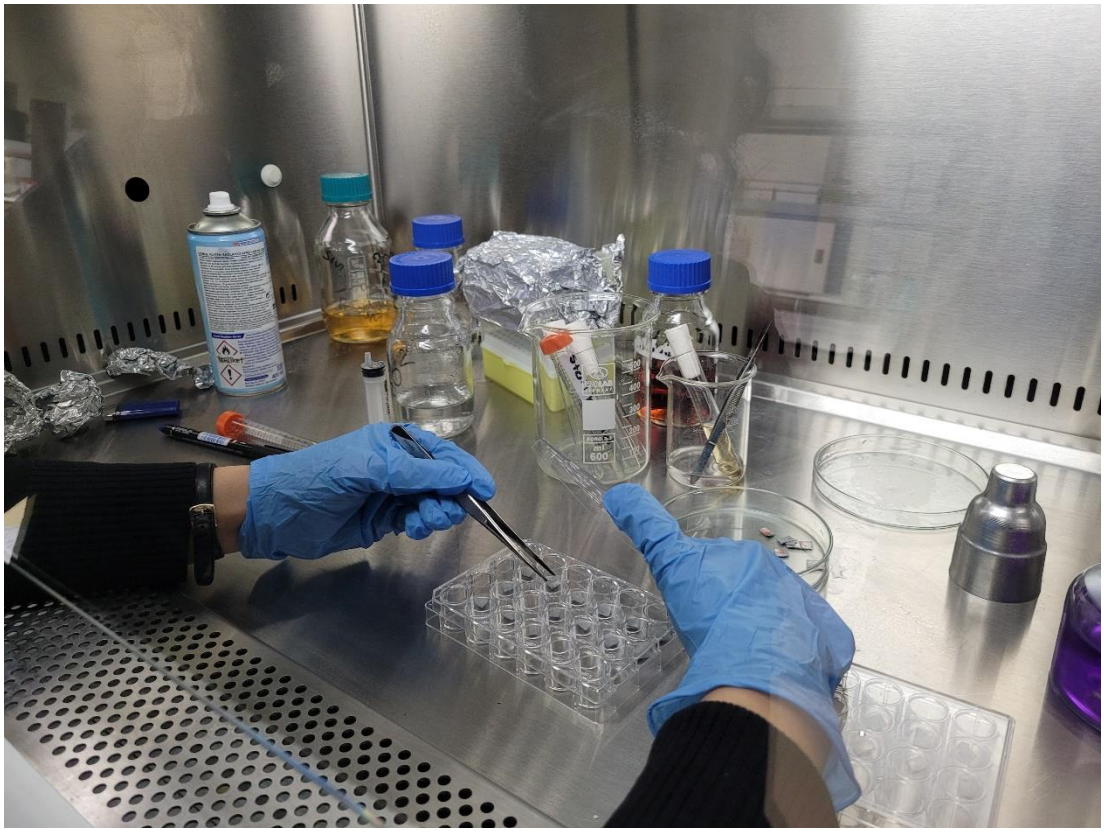
Bu tez çalışmasında uygulanan biyofilm SEM analizi için kristal viyole biyofilm saptama yönteminden elde edilen sonuçlara göre biyofilm aktivitör ve inhibitör etkisi olduğu görülen 7 mikroorganizma seçilmiştir. Buna göre öncelikle bir tarafı işaretlenmiş ve sterilize edilmiş metal kuponlar 24 kuyucuklu mikroplakanın A1-A2-A3-A4-A5-A6-B1-B2-B3-B4-B5-B6-C1-C2-C3 kuyucuklarına steril pens yardımı ile işaretli yüzü altta kalacak şekilde yerleştirilmiştir. Metal kuponlar yerleştirildikten sonra kuyucukların her birine 400 µL %0,5 glikozlu çift kuvvet TSB besiyeri eklenmiştir. Daha sonra A1-A2-A3-A4-A5-A6-B1-B2 kuyucuklarına 400 µL ekstrakt aktarılmıştır. A4-A5-A6-B1-B2-B3-B4-B5-B6-C1-C2-C3 kuyucuklarına 20 µL mikroorganizma inokulumu eklenmiştir. B3-B4-B5-B6-C1-C2-C3 kuyucuklarına ekstrakt yokluğunda mikroorganizmaların metal kuponlardaki biyofilm davranışının nasıl olacağının görülmesi için metal kupon, besiyeri, mikroorganizma ve steril distile su eklenmiştir. C5'ten D4'e kadar (D4 dahil) olan kuyucuklara mikroorganizmaların üremelerinin pozitif kontrolü olması için besiyeri, mikroorganizma inokulumu ve steril distile su konulmuştur. D5 ve D6 kuyucuklarına ise sadece besiyeri yüklenmiş olup negatif kontrol olarak kullanılmıştır. Hazırlanan mikroplakanın kenarları besiyerinin kurumasını önlemek amaçlı parafilmlenerek 37°C'de 5 gün boyunca inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda metal kuponlar kurutulup SEM görüntüsü alınmıştır (Şekil 3.4).



Şekil 3.4 SEM ve AFM deneyi besiyeri ekleme aşaması

3.5.6.4 Biyofilm AFM analizi

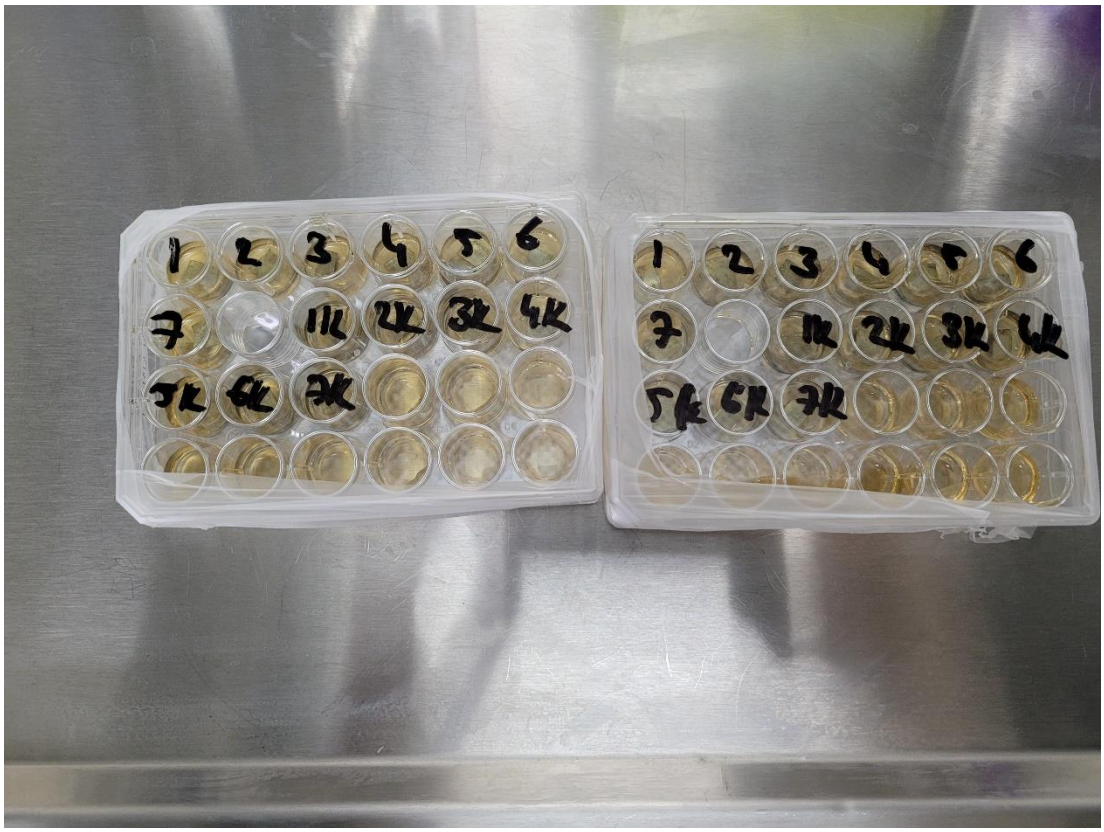
Kendiliğinden olan veya insan faktörünün rol oynadığı farklı koşullarda oluşmuş olan biyofilmler, büyük bir kısmı kalitatif olan pek çok mikroskopi tekniği kullanılmak suretiyle gelişim evrelerinin değişik zamanlarında genişçe incelenmiştir. Bu teknikler ne yazık ki biyofilmin temelini oluşturan substratumda (alt tabaka) yaptığı etki konusunda fikir öne sürmek hususunda faydalı değildir. Diğer taraftan atomik kuvvet mikroskobu (AFM), biyofilm/alt tabaka etkileşimlerinin kalitatif ve kantitatif olarak ayırt etmekte önemli ölçüde kolaylık sağladığından avantajlı konumdadır (Beech vd., 2002).



Şekil 3.5 SEM ve AFM deneyi metal kupon yerleştirme aşaması

Bu tez çalışmasında uygulanan biyofilm AFM analizi için kristal viyole biyofilm saptama yönteminden elde edilen sonuçlara göre biyofilm aktivitör ve inhibitör etkisi olduğu görülen 7 mikroorganizma seçilmiştir. Buna göre öncelikle bir tarafı işaretlenmiş ve sterilize edilmiş metal kuponlar 24 kuyucuklu mikroplakanın A1-A2-A3-A4-A5-A6-B1-B2-B3-B4-B5-B6-C1-C2-C3 kuyucuklarına steril pens yardımı ile işaretli yüzü altta kalacak şekilde yerleştirilmiştir. Metal kuponlar yerleştirildikten sonra kuyucukların her birine 400 µL %0,5 glikozlu çift kuvvet TSB besiyeri eklenmiştir. Daha sonra A1-A2-A3-A4-A5-A6-B1-B2 kuyucuklarına 400 µL ekstrakt aktarılmıştır. A4-A5-A6-B1-B2-B3-B4-B5-B6-C1-C2-C3 kuyucuklarına 20 µL mikroorganizma inokulumu eklenmiştir. B3-B4-B5-B6-C1-C2-C3 kuyucuklarına ekstrakt yokluğunda mikroorganizmaların metal kuponlardaki biyofilm davranışının nasıl olacağının görülmesi için metal kupon, besiyeri, mikroorganizma ve steril distile su eklenmiştir. C5'ten D4'e kadar (D4 dahil) olan kuyucuklara mikroorganizmaların üremesinin pozitif kontrolü olması için besiyeri, mikroorganizma inokulumu ve steril distile su konulmuştur. D5 ve D6 kuyucuklarına ise sadece besiyeri yüklenmiş olup negatif kontrol olarak kullanılmıştır. Hazırlanan mikroplakanın kenarları besiyerinin

kurumasını önlemek amaçlı parafilmlenerek 37°C'de 5 gün boyunca inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresinin sonunda numuneler AFM ile görüntülenmiştir (Şekil 3.5 ve Şekil 3.6).



Şekil 3.6 SEM ve AFM deneyi inkübasyon sonrası mikroplakalar

3.5.7 Antioksidan Aktivite

Antioksidan kapasitesini ölçmek amacıyla günümüze değin çeşitli yöntemler geliştirilmiştir (Albayrak vd., 2010; Okan vd., 2013). Literatürde antioksidan kapasitenin belirlenmesi için kullanılan metotlar, dayandığı kimyasal reaksiyonlar açısından iki sınıf altında gruplandırılabilir:

- Hidrojen atomu transferi reaksiyonu temelli olanlar (HAT)
- Tek elektron transferi reaksiyonu temelli olanlar (ET)

HAT temelli metotların genelinde yarışmalı reaksiyon kinetiği takip edilir ve kantitasyon kinetik eğrilerden türetilir. HAT temelli metotlar çoğunlukla sentetik bir serbest radikal oluşturucu, bir antioksidan ve bir oksitlenebilen probtan meydana gelir.

ET prensipli metotlar ise hem reaksiyonun sonuçlandığının göstergesi olarak, hem de reaksiyonun akışını izlemek için prob olarak kullanılan bir oksidan ile redoks tepkimesinden oluşur. ET ve HAT temelli metotlar, bir örneğin antioksidan koruma kapasitesi yerine, oksidan veya diğer bir deyişle radikal süpürme kapasitesini tespit etmeye yöneliktir.

HAT tepkimelerine bağlı inceleme metotlarının birçoğu azo bileşiklerinin bozunması ile ortaya çıkan peroksil radikallerinin antioksidan ve substrat tarafından yarışmalı bir şekilde süpürülmesi temeline dayanır.

HAT inceleme metotları:

- İndüklenmiş düşük yoğunluklu lipoprotein otooksidasyonu,
- Oksijen radikal absorbans kapasitesi (ORAC),
- Total radikal yakalama antioksidan kapasitesi (TRAP),
- Crocin bleaching deneyleri olarak belirtilebilir.

ET temelli inceleme metotları, indirgenme yükseltgenme reaksiyonu üzerine temellenir. Kısaca tanımlanacak olursa, antioksidan özelliği gösteren maddelerin indirgenmesiyle renk değişimi gözlenen bir oksidan maddeyi indirgeme kapasitesinin ölçümüne dayanır.

ET temelli inceleme metotları:

- Folin-Ciocalteu reaktifi (FCR) ile toplam fenolik madde analizi,
- Troloks eşdeğeri antioksidan kapasite (TEAC) ölçümü,

- Ferrik (Demir (III)) iyonu indirgeme antioksidan gücü (FRAP) ölçümü,

- Cu (II) kompleksini oksidan olarak kullanılan "toplam antioksidan potansiyel" ölçüm yöntemi,

- DPPH kullanarak "toplam antioksidan potansiyel" ölçüm yöntemi,

- CUPRAC (Bakır (II) İndirgeyici Antioksidan Kapasite) yöntemi olarak sıralanabilir (Lopez-Alarcon ve Lissi, 2005; Ozgen vd. 2006).

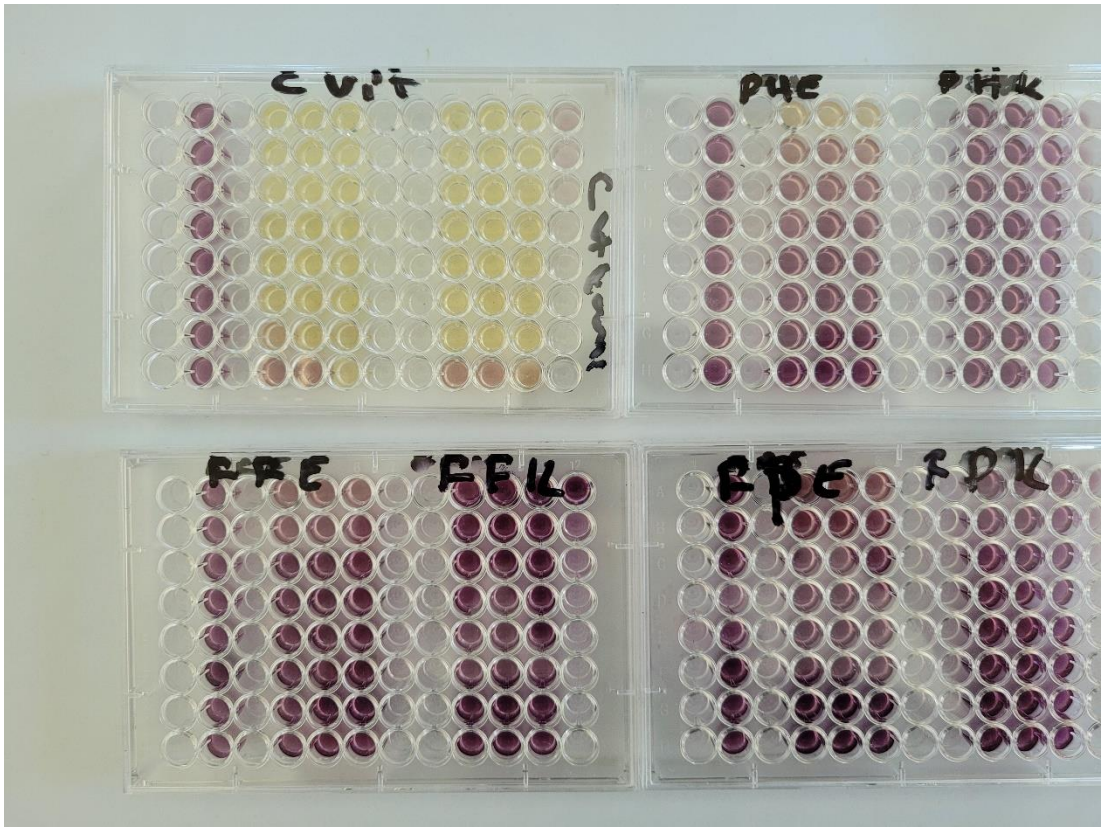
Bu tez çalışmasında yukarıda belirtilmiş yöntemlerden ET temelli inceleme metotlarından biri olan DPPH kullanarak "toplam antioksidan potansiyeli" ölçüm yöntemi kullanılmıştır.

3.5.7.1 DPPH (2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil) Radikal Süpürme Kapasitesi Metodu

Kararlı bir organik azot radikali olan DPPH radikali, koyu menekşe mavisi rengindedir ve UV-Görünür Bölge (UV-GB) maksimum absorbsiyon dalga boyu 515 nm'dir. ABTS•+ radikali gibi deneyden önce hazırlanması mecburi değildir (Büyüktuncel, 2013; Prior, vd. 2005). Bu yöntem, bir radikal olan DPPH'in antioksidan bileşikler aracılığıyla bir redoks tepkimesi ile süpürülmesi esasına dayanmaktadır. Metanolik DPPH çözeltisi koyu menekşe rengindedir ve bu renk reaksiyon sırasında açılır. Bu absorbans azalmasının ölçümü, spektrofotometre kullanılmak suretiyle yapılır. Metanolik DPPH çözeltisinde rengin daha fazla açılması, reaksiyon karışımının absorbansında çok daha fazla azalmanın olduğu ve bununla birlikte çok daha yüksek radikal süpürme kapasitesi olması anlamına gelir (Büyüktuncel, 2013; Ndhlala vd., 2010).

Brand-Williams ve arkadaşlarının ilk defa ortaya koyduğu renk giderme yöntemi (Brand-Williams vd., 1995) uzun yıllardır kullanılmaktadır. Kalan % DPPH süpürülmesi antioksidan konsantrasyonu ile orantılıdır. Başlangıçtaki DPPH konsantrasyonunda %50'lik azalmaya sebep olan konsantrasyon EC_{50} şeklinde ifade edilir (Sanchez-Moreno vd., 1998).

Bu tez çalışmasında kullanılan makrofungus örneklerinin tümüne antioksidan özelliklerini tespit etmek amacı ile DPPH radikali süpürme testi uygulanmıştır. Ekstraktlarda DPPH radikali süpürme testinde standart olarak metanol kullanıldığından çözücü olarak metanol kullanılmıştır. Kullanılan örneklerin ve pozitif kontrol olarak kullanılan askorbik asidin stok konsantrasyonu 1 mg/mL olarak ayarlanmıştır. 1. sütun solventin kontrolü olarak kullanılmıştır. 2. sütuna 100'er µL DPPH ve metanol eklenmiş olup, negatif kontroldür. 3. sütunda ekstrakt ve metanol bulunmaktadır ve yukarıdan aşağıya doğru seyreltilmiştir. 4, 5 ve 6. sütunlarda ekstrakt, metanol ve DPPH bulunmaktadır. DPPH eklenmeden önce ekstrakt ve metanol yukarıdan aşağıya doğru seri olarak dilüye edilmiştir. 12. sütun ise kalibrasyon eğrisi olarak kullanılmıştır. Bu sebeple 12. sütundaki tüm kuyucuklar 100 µL metanol ile doldurulup 12A kuyucuğuna 100 µL DPPH eklenerek yukarıdan aşağıya doğru seri mikrodilüsyon uygulanmıştır. 30 dakika boyunca mikroplakalar ışıktan korunacak bir şekilde bekletilip mikroplaka okuyucuda 517 nm'deki absorbansları ölçülmüştür. Tüm işlemler DPPH kimyasalının ışıktan etkilenmemesi için olabildiğince karanlık ortam sağlanarak gerçekleştirilmiştir (Şekil 3.7).



Şekil 3.7 DPPH deneyi sonrası mikroplakalar

3.6 İstatistiksel Analiz

Bu tez çalışmasında yapılan bütün deneyler üçer tekrarlı olarak yapılmış olup, tekrarlar arasındaki farkın istatistiksel değerlendirilmesi ANOVA testi ile R Studio v3.3.2 programı kullanılarak yapılmıştır. *p*-değeri <0,05 olduğunda gruplar arasındaki fark anlamlı kabul edilmiştir. Öte yandan artan madde miktarının etkiyi artırıp artırmadığını ortaya koymak için ise Pearson korelasyon katsayısı hesaplanmıştır (Core R Team, 2016). İstatistiksel analizin detayları Ekler bölümünde verilmiştir.

4. BULGULAR

4.1 Ekstraksiyonun Veriminin Hesaplanması

Çalışmada kullanılan makrofunguslardan elde edilen ekstraktlar daha önce detaylı olarak açıklandığı gibi farklı DMSO:(sdH_2O) oranlarında hazırlanmıştır. Ekstrakt ana stoklarının konsantrasyonları Tablo 4.1'de verilmiştir. Her bir makrofungus ektraksiyon işlemleri sırasında en başta farklı miktarlarda tartımı alınarak yapılmıştır. Bundan yola çıkarak aşağıda verilen formül ile ekstraksiyon verimi hesaplanabilir.

$$ekstraksiyon\ verimi = \frac{ekstrakt\ miktarı\ (gr.)}{kullanılan\ örnek\ miktarı\ (gr.)} \times (100)$$

Tablo 4.1'de kullanılan ekstraktların stok konsantrasyonları verilmiştir. Elde edilen ekstraktların ekstrakt verimleri aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır.

Tablo 4.1 Ekstrakt stok konsantrasyonları (mg/mL)

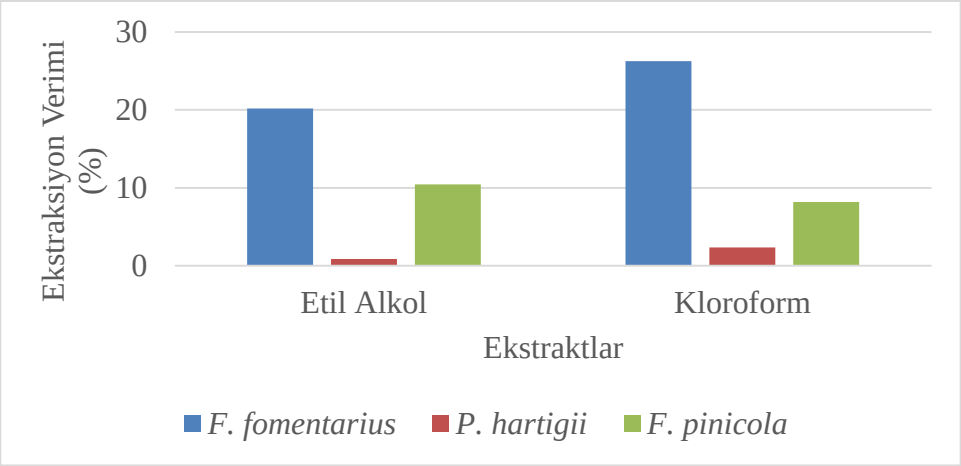
	Mantarlar		
Ekstraktlar	*F. fomentarius*	*P. hartigii*	*F. pinicola*
Etil Alkol	104,75	6	71
Kloroform	107,4	20,25	66,8

Buna göre hesaplanan ekstraksiyon verimleri Tablo 4.1'de gösterilmiştir.

Tablo 4.2 Ekstraksiyon verimi (%)

	Mantarlar		
Ekstraktlar	*F. fomentarius*	*P. hartigii*	*F. pinicola*
Etil Alkol	%20,160	%0,884	%10,428
Kloroform	%26,25	%2,328	%8,19

Ekstrakt miktarına göre hesaplanmış olan ekstraksiyon verimleri Şekil 4.1'de gösterilmiştir.



Şekil 4.1 Ekstraksiyon verimi (%)

Tablo 4.1 ve Şekil 4.1'de gösterilmiş olan veriler ışığında en yüksek ekstraksiyon verimin %26,25 değeri ile *F. fomentarius* kloroform ekstraktına ait olduğu, en düşük ekstraksiyon verimin %0,884 değeri ile *P. hartigii* etanol ekstraktına ait olduğu gözlenmektedir.

Tablo 4.1 ve Şekil 4.1'deki verilere göre ekstraksiyon veriminin ortalaması analiz edilirse, en yüksek ekstraksiyon veriminin ortalaması %23,21 olarak hesaplanabilir ve bu ortalama değeri de *F. fomentarius* makrofungusuna ait olduğu görülmektedir. En düşük ekstraksiyon veriminin ortalaması ise %1,61 olarak *P. hartigii* makrofungusuna aittir.

F. fomentarius makrofungusuna ait ekstraktların ekstraksiyon verimi kıyas edildiğinde kloroform ile elde edilen ekstraktın, etanol ile elde edilen ekstrakttan daha yüksek verimli olduğu gözlenmektedir. Ayrıca *F. fomentarius* makrofungusuna ait ekstraktların iki çözücüde de diğer iki makromantar türüne göre daha yüksek verimli olduğu görülmektedir.

P. hartigii'nin etanol (%0,884) ve kloroform (%2,328) ektraktlarının ekstraksiyon verimi incelendiğinde etanol ekstraktının kloroform ekstraktına göre daha düşük verime sahip olduğu görülmektedir.

F. pinicola makromantarının kloroform ve etanol ekstraktlarının verimi incelendiğinde ise etanol ekstraktının %10,428 değeri ile kloroform ekstraktından daha yüksek verimli olduğu Tablo 4.1 ve Şekil 4.1'de görülmektedir.

4.2 MİK Testi İle İlgili Sonuçlar

Yapılan MİK testi sonucunda elde edilen *P. hartigii* ekstraktlarının MİK değerleri µg/mL olarak Tablo 4.3'te, *F. fomentarius* ekstraktlarının MİK değerleri Tablo 4.4'te ve *F. pinicola* ekstraktlarının MİK değerleri Tablo 4.5'te verildiği gibidir.

Tablo 4.3 P. hartigii ekstraktlarının MİK değerleri

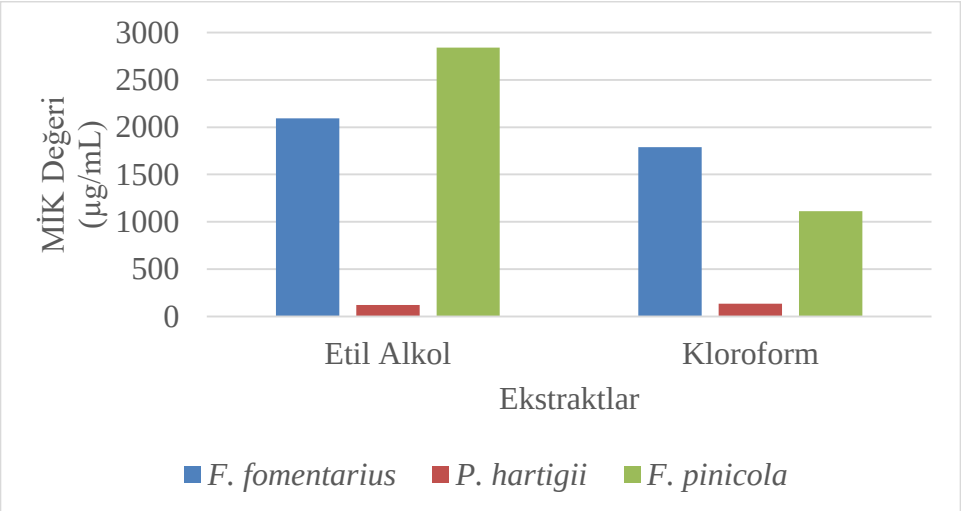
	Kloroform	Etanol
E. coli 1	>134	>120
E. coli 2	>134	>120
E. coli 3	>134	>120
E. coli 4	>134	>120
E. coli 5	>134	>120
E. coli 6	>134	>120
E. coli 7	>134	>120
E. coli 8	>134	>120
E. coli 9	>134	>120
E. coli 10	>134	>120
E. coli 11	>134	>120
E. coli 12	>134	>120
S. aureus	>134	>120
S. aureus MRSA	>134	>120
C. albicans	>134	>120

Tablo 4.4 *F. fomentarius* ekstraktlarının MİK değerleri

	Kloroform	Etanol
E. coli 1	>1790	>2095
E. coli 2	>1790	>2095
E. coli 3	>1790	>2095
E. coli 4	>1790	>2095
E. coli 5	>1790	>2095
E. coli 6	>1790	>2095
E. coli 7	>1790	>2095
E. coli 8	>1790	>2095
E. coli 9	>1790	>2095
E. coli 10	>1790	>2095
E. coli 11	>1790	>2095
E. coli 12	>1790	>2095
S. aureus	>1790	>2095
S. aureus MRSA	>1790	>2095
C. albicans	>1790	>2095

Tablo 4.5 *F. pinicola* ekstraktlarının MİK değerleri

	Kloroform	Etanol
E. coli 1	>1113,5	>2840
E. coli 2	>1113,5	>2840
E. coli 3	>1113,5	>2840
E. coli 4	>1113,5	>2840
E. coli 5	>1113,5	>2840
E. coli 6	>1113,5	>2840
E. coli 7	>1113,5	>2840
E. coli 8	>1113,5	>2840
E. coli 9	>1113,5	>2840
E. coli 10	>1113,5	>2840
E. coli 11	>1113,5	>2840
E. coli 12	>1113,5	>2840
S. aureus	>1113,5	>2840
S. aureus MRSA	>1113,5	>2840
C. albicans	>1113,5	>2840



Şekil 4.2 MİK testi sonuçları (µg/mL)

Çalışmada yapılan MİK testlerinden elde edilen sonuç verileri Tablo 4.3, Tablo 4.4 ve Tablo 4.5'te ayrı ayrı ve Şekil 4.2'de birlikte sunulmuştur. Buna göre en yüksek MİK değeri >2095,0 µg/mL değeri ile *F. fomentarius* etanol ekstraktına ait olduğu ve en

düşük MİK değerinin de >120 µg/mL değeri ile *P. hartigii* makromantarına ait olduğu gözlenmektedir. Tablo 4.3, Tablo 4.4 ve Tablo 4.5 ve Şekil 4.2 verileri çözücüler açısından ve ortalama cinsinden incelendiğinde 1685 µg/mL değeri ile etanol ekstraktlarının kloroform ekstraktlarına göre daha yüksek ortalama değerlerine sahip olduğu görülmektedir. Makromantarlar yine ortalama cinsinden değerlendirilirse 1976,8 µg/mL değeri ile en yüksek ortalama MİK değeri sonucunun *F. pinicola*'ya ait olduğu, *F. fomentarius* makromantarının 1942,5 µg/mL değeri ile *F. pinicola*'yı takip ettiği ve son sırada da 127 µg/mL değeri ile *P. hartigii* makrofungusunun olduğu görülmektedir. MİK değerleri tablolarındaki ve Şekil 4.2'deki veriler incelendiğinde tüm ekstraktların bütün mikroorganizmalara karşı MİK testleri sonuçlarının ilk kuyucukta elde edilen konsantrasyonlarından daha yüksek olduğu gözlenmektedir.

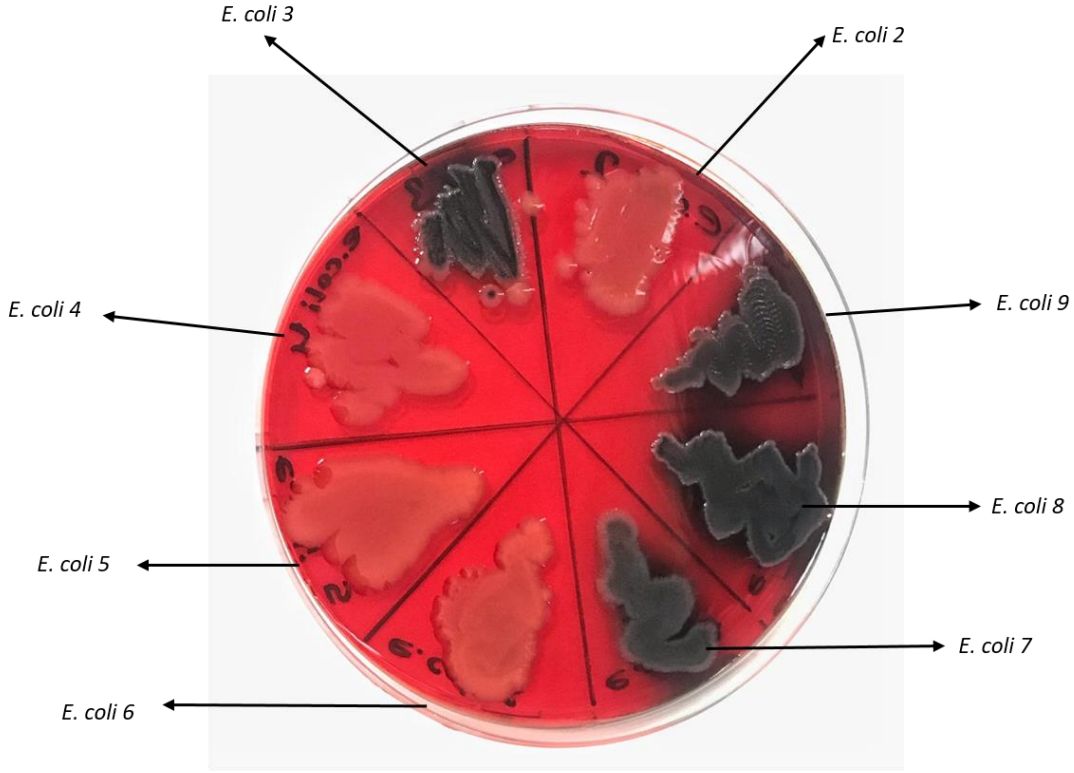
4.3 MBK/MFK Testi İle İlgili Sonuçlar

MİK testi sonuçlarının ilk kuyucuk konsantrasyonundan daha yüksek bulunması rağmen, ilk kuyucuklardan alınan örnekler MBK testi uygulamak amacıyla bakteriler için NA ve MFK testi için *Candida* SDA besiyerlerine aktarılmış, mikroorganizmaların optimum büyüme sıcaklığı göz önünde bulundurularak bir gece inkübe edilmiştir. Sonuç olarak, tüm örneklerde üreme gözlenmiş olup, ekstraktlar için de MBK değerleri bulunamamıştır.

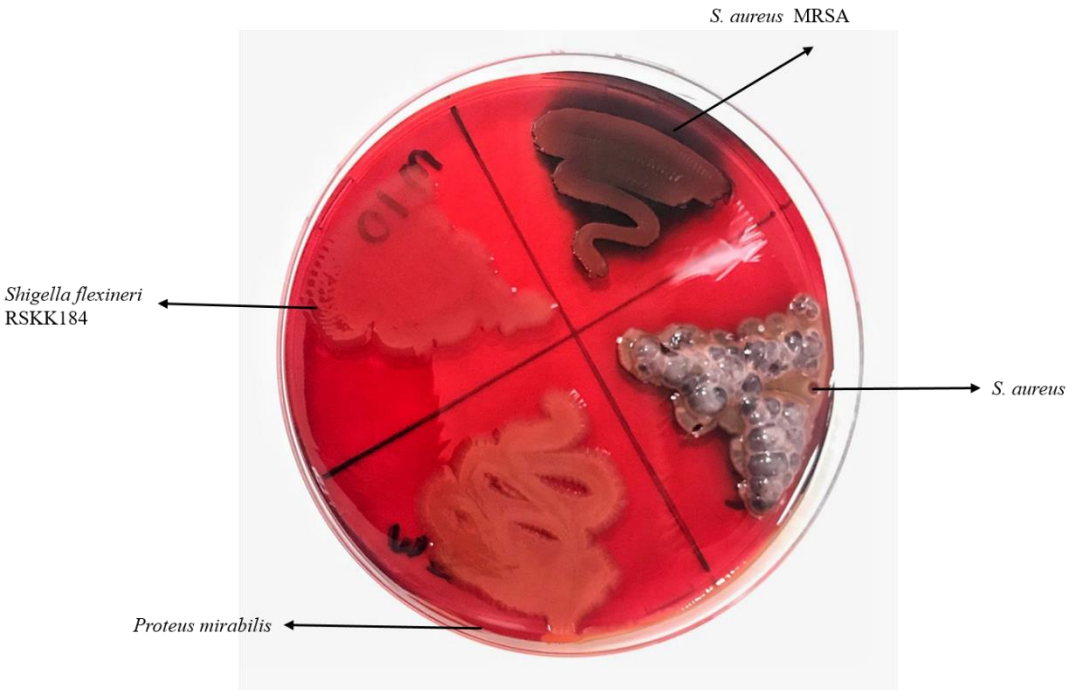
4.4 CRA Biyofilm Oluşturma Testi İle İlgili Sonuçlar

Yapılan CRA biyofilm oluşturma testi ile *E. coli* 3, *E. coli* 7, *E. coli* 8, *E. coli* 9, *E. coli* 10, *E. coli* 12, *S. aureus* ve *S. aureus* MRSA mikroorganizmalarının biyofilm ürettiği sonucuna ulaşılmıştır.

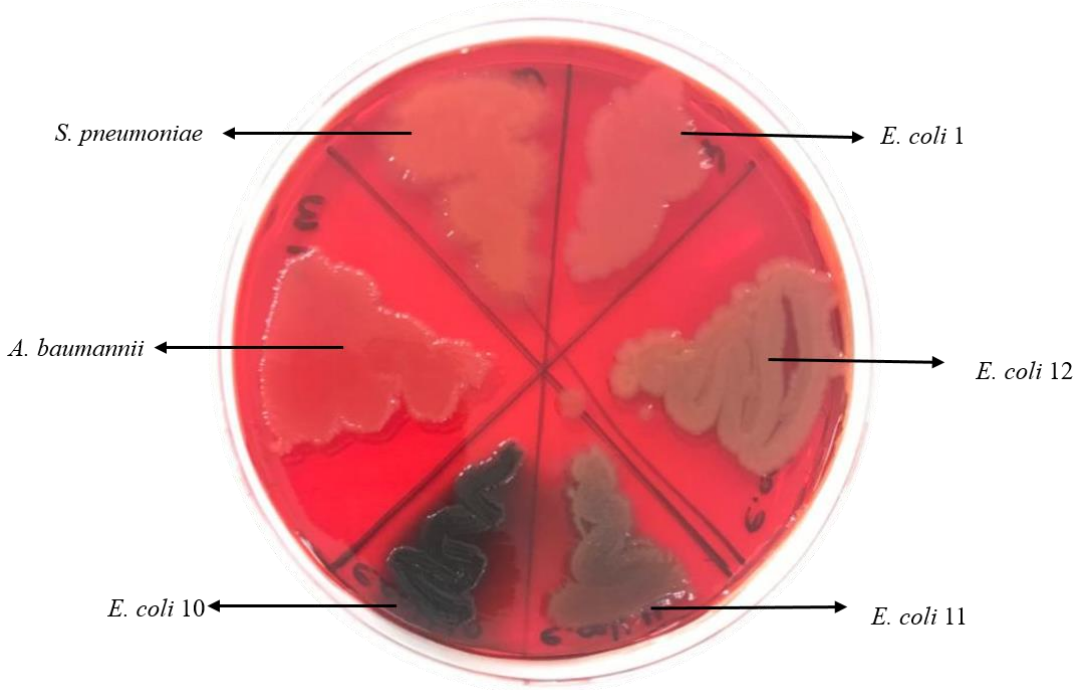
Sonuçlar Şekil 4.3, Şekil 4.4, Şekil 4.5 ve Şekil 4.6'da gösterilmiştir.



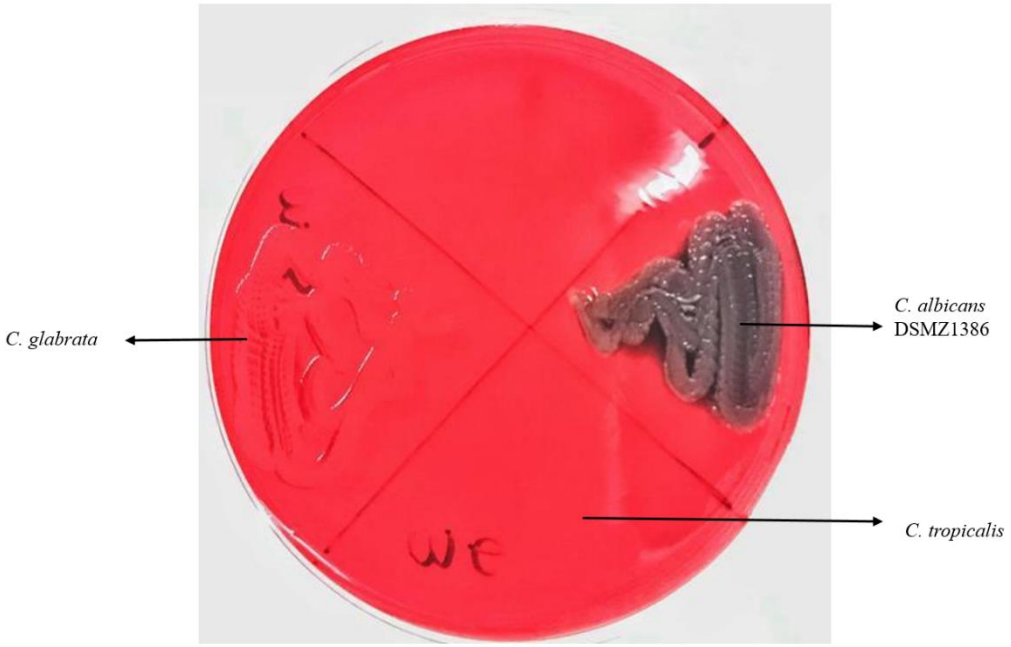
Şekil 4.3 CRA (*E. coli* 2, *E. coli* 3, *E. coli* 4, *E. coli* 5, *E. coli* 6 ve *E. coli* 7) sonuçları



Şekil 4.4 CRA (*S. aureus*, *S aureus* MRSA, *P. mirabilis* ve S. *flexneri*) sonuçları



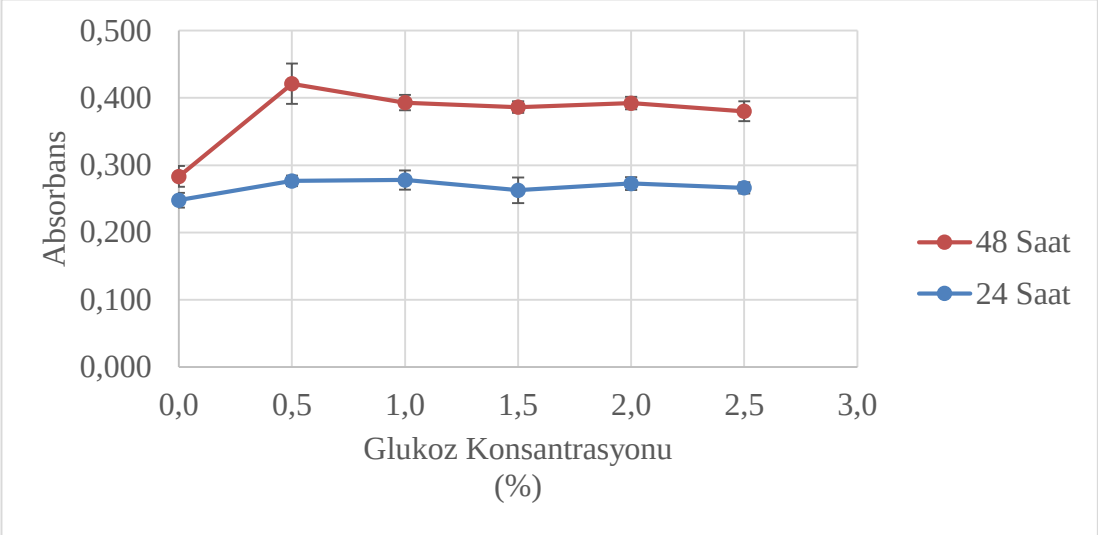
Şekil 4.5 CRA (*E. coli* 1, *E. coli* 10, *E. coli* 11, *E. coli* 12, *S. pneumoniae* ve *A. baumannii*) sonuçları



Şekil 4.6 CRA (*C. glabrata*, *C. albicans* ve *C. tropicalis*) sonuçları

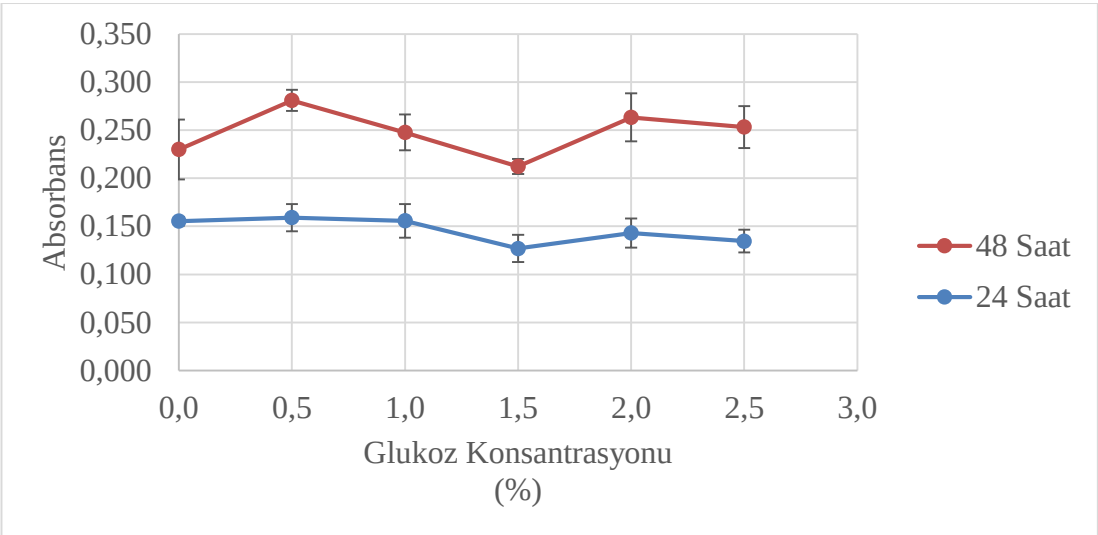
4.5 Optimum Biyofilm Oluşturma Parametrelerinin Belirlenmesi Sonuçları

Mikroorganizmaların optimum biyofilm oluşturma parametrelerinin belirlenmesi için yapılan çalışmanın sonuçları aşağıda verilmiştir.



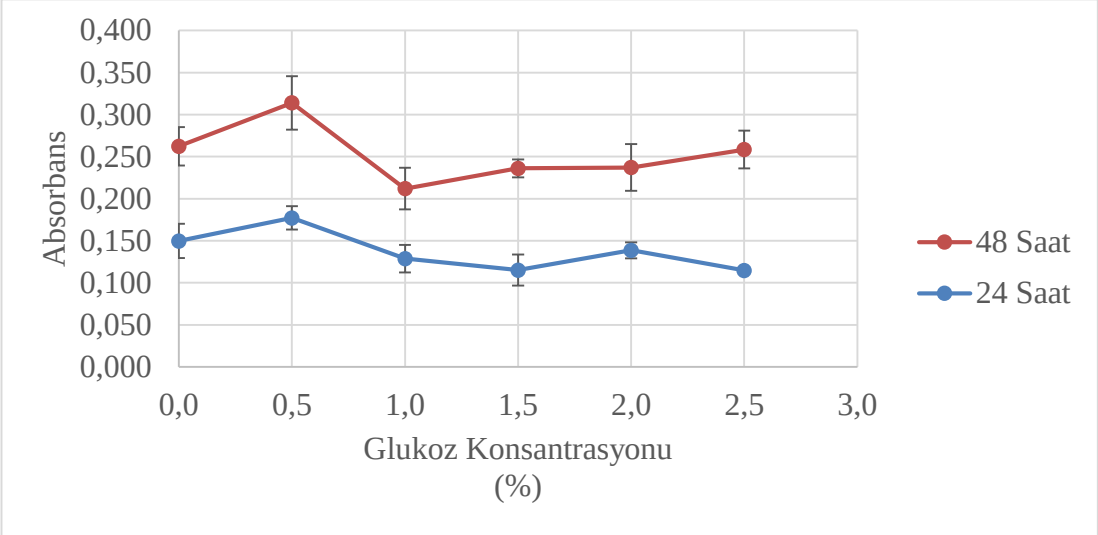
Şekil 4.7 *E. coli* 3 optimum biyofilm oluşturma parametreleri sonuçları

Şekil 4.7'deki veriler incelendiğinde *E. coli* 3 mikroorganizmasının en iyi biyofilm oluşturduğu glukoz konsantrasyonunun %0,5'lik glukoz konsantrasyonuna sahip besiyeri olduğu diğer glukoz konsantrasyonlarında yaklaşık olarak aynı kapasitede biyofilm ürettiği görülmektedir. En iyi biyofilm oluşturduğu inkübasyon süresinin ise 48 saat olduğu gözlenmektedir.



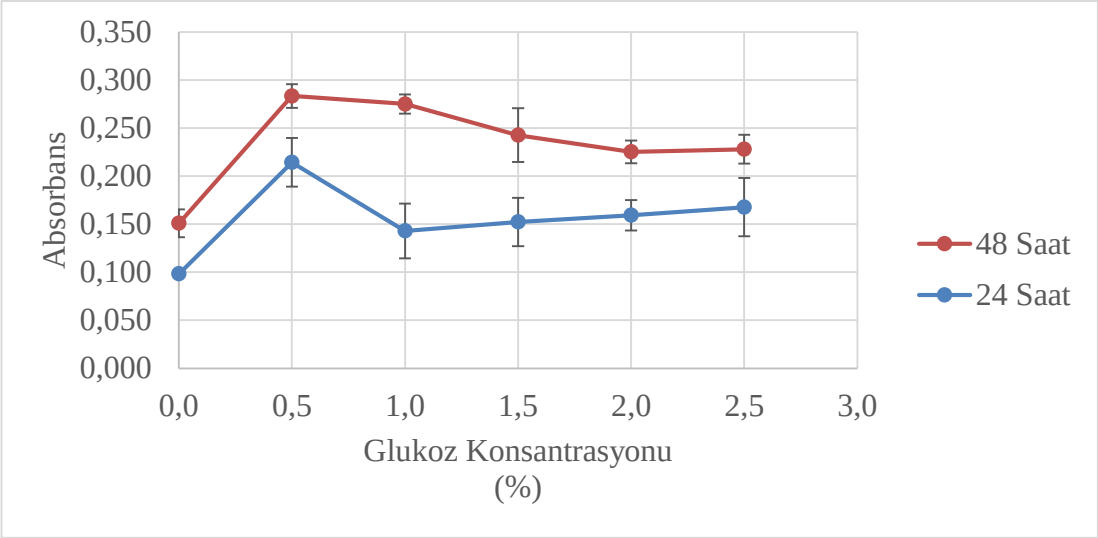
Şekil 4.8 *E. coli* 7 optimum biyofilm oluşturma parametreleri sonuçları

Şekil 4.8'deki veriler incelendiğinde *E. coli* 7'nin en iyi biyofilm ürettiği glukoz konsantrasyonunun %0,5'lik glukoz konsantrasyonuna sahip besiyerinde 48 saat inkübasyon süresi sonunda elde edildiği görülmektedir. En az biyofilm ürettiği glukoz konsantrasyonunun %1,5'lik glukoz konsantrasyonuna sahip besiyeri ve 24 saatlik inkübasyon süresi olduğu gözlenmektedir. İnkübasyon süreleri birbirleri ile karşılaştırıldığında 48 saatlik inkübasyon süresinin biyofilm oluşturmada daha etkili olduğu ve 24 saatlik inkübasyon ile tutarlı sonuçlar kaydedildiği görülmektedir.



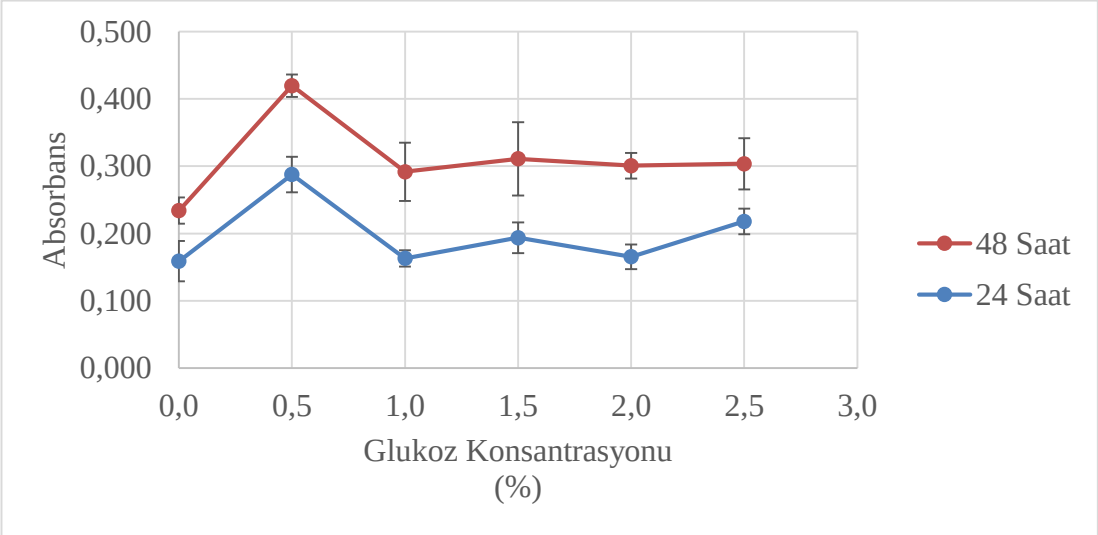
Şekil 4.9 *E. coli* 8 optimum biyofilm oluşturma parametreleri sonuçları

Şekil 4.9'daki veriler incelendiğinde *E. coli* 8'in en çok biyofilm oluşturduğu ortamın %0,5'lik glukoz konsantrasyonuna sahip besiyeri olduğu gözlenmektedir. *E. coli* 8'in en çok biyofilm oluşturduğu inkübasyon süresinin 48 saat olduğu gözlenmektedir. İnkübasyon süreleri karşılaştırıldığında 48 saatlik inkübasyon süresinin her bir glukoz konsantrasyonunda 24 saatlik inkübasyon süresine göre daha çok biyofilm ürettiği ve sonuçların birbirleri ile tutarlı olduğu görülmektedir.



Şekil 4.10 *E. coli* 9 optimum biyofilm oluşturma parametreleri sonuçları

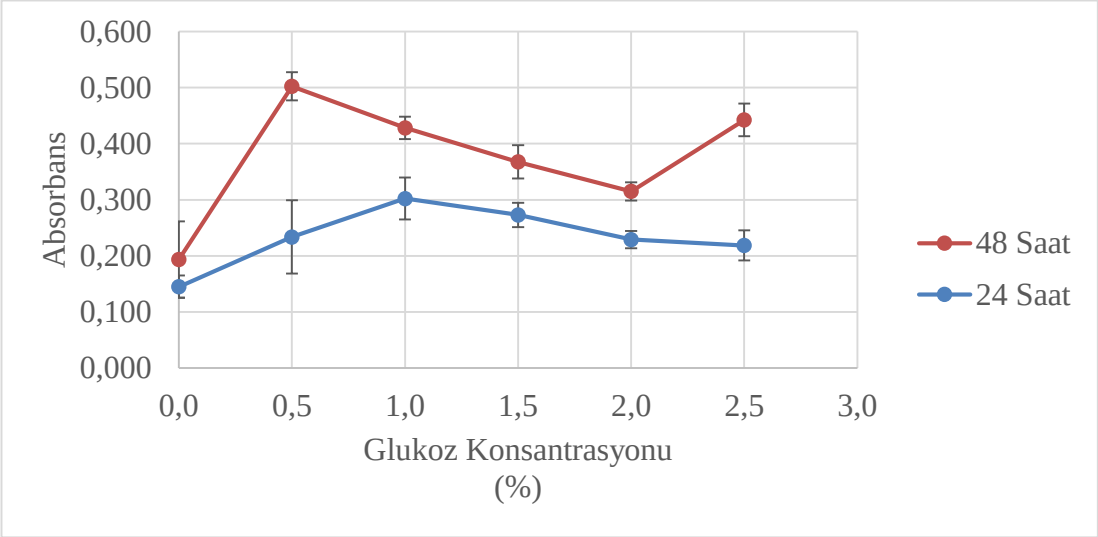
Şekil 4.10'deki veriler incelendiğinde *E. coli* 9'un en çok biyofilm oluşturduğu ortamın %0,5'lik glukoz konsantrasyonuna sahip besiyeri olduğu gözlenmektedir. *E. coli* 9'un en çok biyofilm oluşturduğu inkübasyon süresinin 48 saat olduğu gözlenmektedir. İnkübasyon süreleri karşılaştırıldığında 48 saatlik inkübasyon süresinin her bir glukoz konsantrasyonunda 24 saatlik inkübasyon süresine göre daha çok biyofilm ürettiği ve sonuçların birbirleri ile tutarlı olduğu görülmektedir.



Şekil 4.11 *E. coli* 10 optimum biyofilm oluşturma parametreleri sonuçları

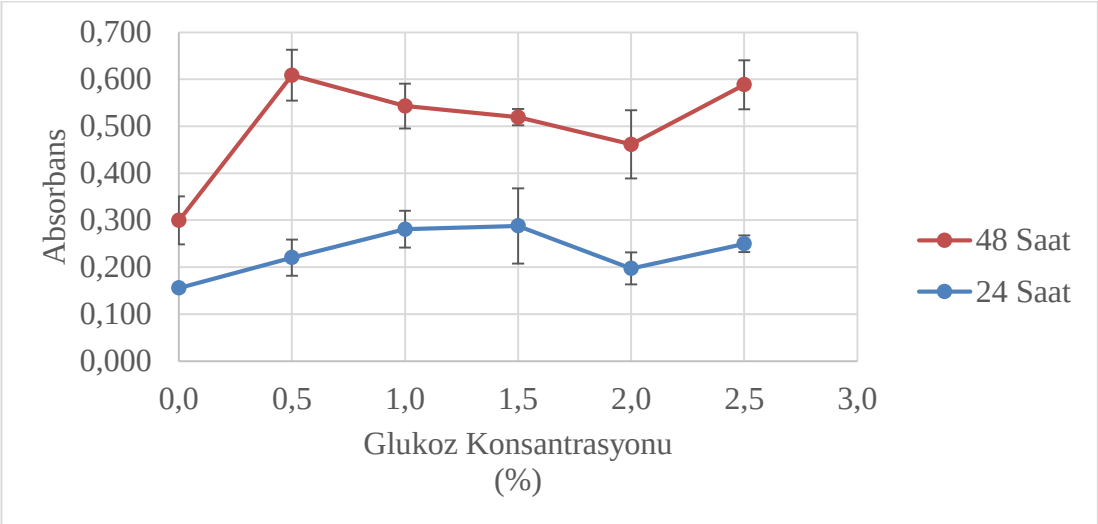
Şekil 4.11'deki veriler incelendiğinde *E. coli* 10'un en çok biyofilm oluşturduğu ortamın %0,5'lik glukoz konsantrasyonuna sahip besiyeri olduğu gözlenmektedir. *E. coli* 10'un en çok biyofilm oluşturduğu inkübasyon süresinin 48 saat olduğu

gözlenmektedir. İnkübasyon süreleri karşılaştırıldığında 48 saatlik inkübasyon süresinin her bir glukoz konsantrasyonunda 24 saatlik inkübasyon süresine göre daha çok biyofilm ürettiği ve sonuçların birbirleri ile tutarlı olduğu görülmektedir.



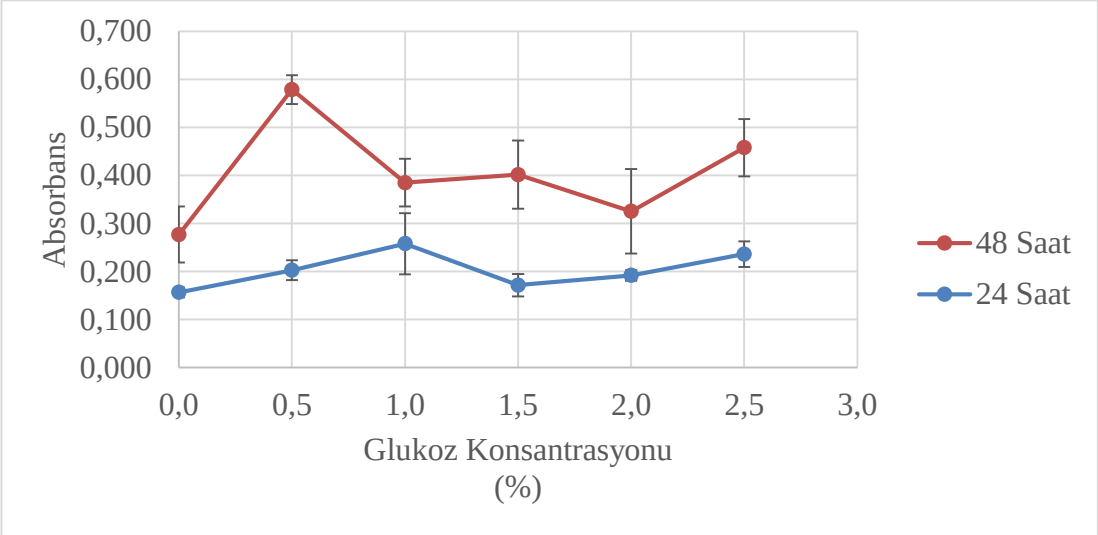
Şekil 4.12 *E. coli* 11 optimum biyofilm oluşturma parametreleri sonuçları

Şekil 4.12'deki veriler incelendiğinde *E. coli* 11'in en çok biyofilm oluşturduğu ortamın %0,5'lik glukoz konsantrasyonuna sahip besiyeri olduğu gözlenmektedir. *E. coli* 11'in en çok biyofilm oluşturduğu inkübasyon süresinin 48 saat olduğu gözlenmektedir. İnkübasyon süreleri karşılaştırıldığında 48 saatlik inkübasyon süresinin her bir glukoz konsantrasyonunda 24 saatlik inkübasyon süresine göre daha çok biyofilm ürettiği ve sonuçların birbirleri ile tutarlı olduğu görülmektedir.



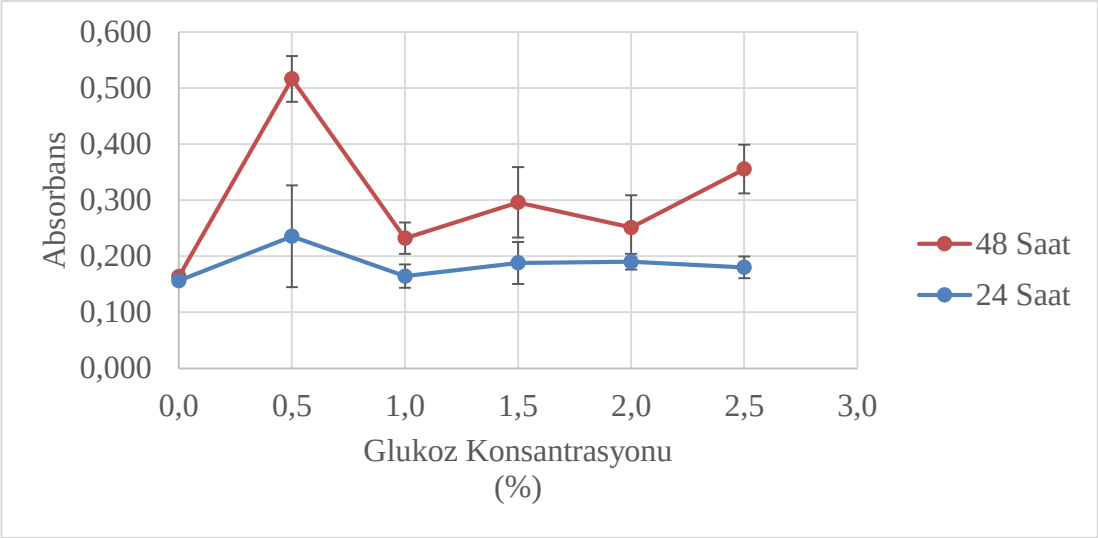
Şekil 4.13 *E. coli* 12 optimum biyofilm oluşturma parametreleri sonuçları

Şekil 4.13'teki veriler incelendiğinde *E. coli* 12'nin en çok biyofilm oluşturduğu ortamın %0,5'lik glukoz konsantrasyonuna sahip besiyeri olduğu gözlenmektedir. *E. coli* 12'nin en çok biyofilm oluşturduğu inkübasyon süresinin 48 saat olduğu gözlenmektedir. İnkübasyon süreleri karşılaştırıldığında 48 saatlik inkübasyon süresinin her bir glukoz konsantrasyonunda 24 saatlik inkübasyon süresine göre daha çok biyofilm ürettiği ve sonuçların birbirleri ile tutarlı olduğu görülmektedir.



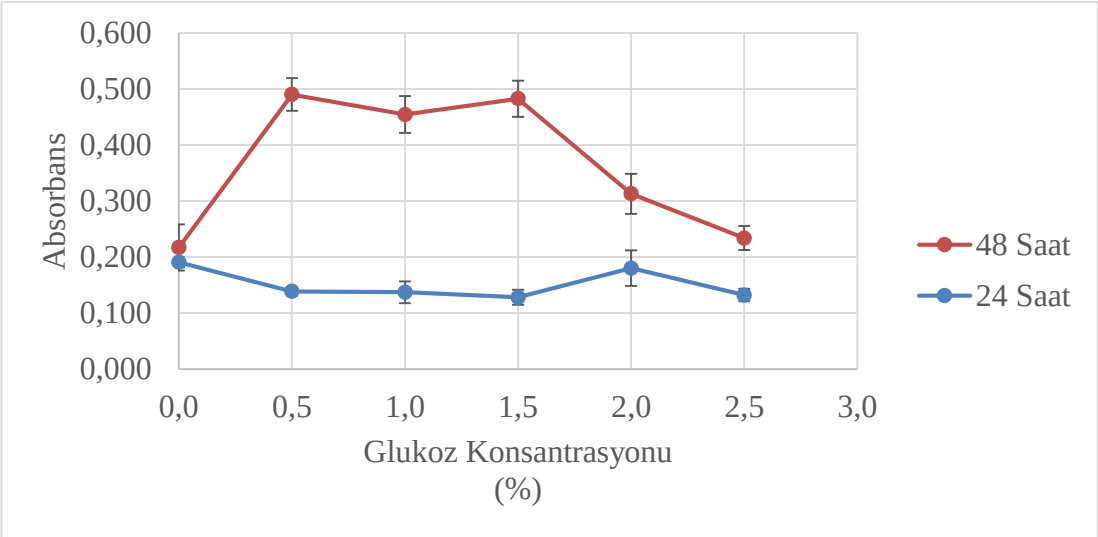
Şekil 4.14 *S. aureus* optimum biyofilm oluşturma parametreleri sonuçları

Şekil 4.14'teki veriler incelendiğinde *S. aureus*'un en çok biyofilm oluşturduğu ortamın %0,5'lik glukoz konsantrasyonuna sahip besiyeri olduğu gözlenmektedir. *S. aureus*'un en çok biyofilm oluşturduğu inkübasyon süresinin 48 saat olduğu gözlenmektedir. İnkübasyon süreleri karşılaştırıldığında 48 saatlik inkübasyon süresinin her bir glukoz konsantrasyonunda 24 saatlik inkübasyon süresine göre daha çok biyofilm ürettiği ve sonuçların yaklaşık olarak birbirleri ile tutarlı olduğu görülmektedir.



Şekil 4.15 *S. aureus* MRSA optimum biyofilm oluşturma parametreleri sonuçları

Şekil 4.15'teki veriler incelendiğinde *S. aureus* MRSA'nın en çok biyofilm oluşturduğu ortamın %0,5'lik glukoz konsantrasyonuna sahip besiyeri olduğu gözlenmektedir. *S. aureus* MRSA'nın en çok biyofilm oluşturduğu inkübasyon süresinin 48 saat olduğu gözlenmektedir. İnkübasyon süreleri karşılaştırıldığında 48 saatlik inkübasyon süresinin her bir glukoz konsantrasyonunda 24 saatlik inkübasyon süresine göre daha çok biyofilm ürettiği ve sonuçların yaklaşık olarak birbirleri ile tutarlı olduğu görülmektedir.



Şekil 4.16 *C. albicans* optimum biyofilm oluşturma parametreleri sonuçları

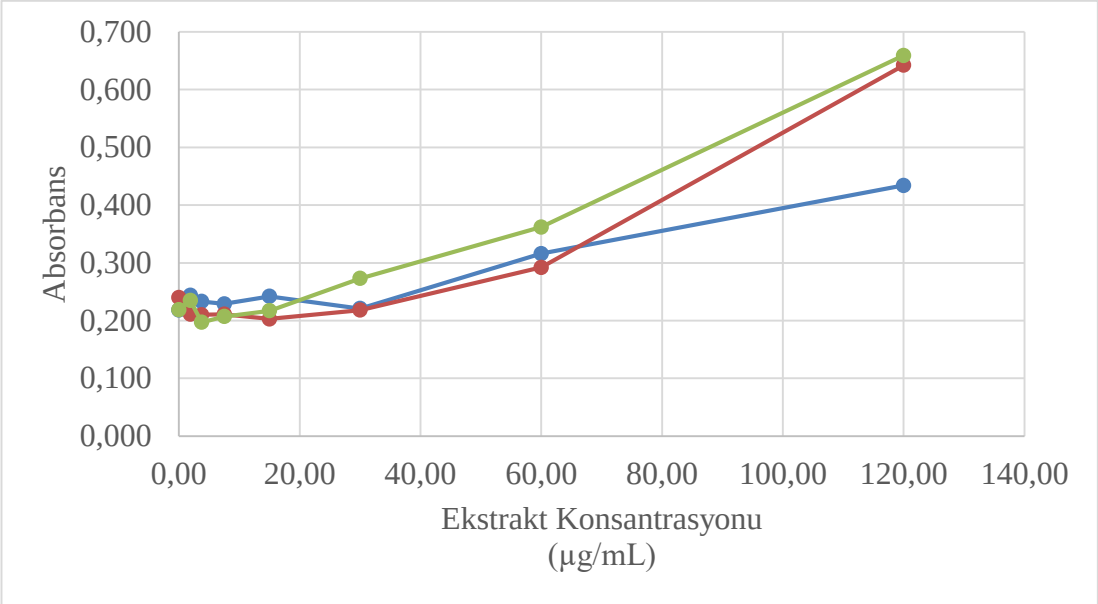
Şekil 4.16'daki veriler incelendiğinde *C. albicans*'ın en çok biyofilm oluşturduğu ortamın %0,5'lik glukoz konsantrasyonuna sahip besiyeri olduğu gözlenmektedir. *C.*

albicans'ın en çok biyofilm oluşturduğu inkübasyon süresinin 48 saat olduğu gözlenmektedir. İnkübasyon süreleri karşılaştırıldığında 48 saatlik inkübasyon süresinin her bir glukoz konsantrasyonunda 24 saatlik inkübasyon süresine göre daha çok biyofilm ürettiği görülmektedir.

4.6 Antibiyofilm Aktivitesi İle İlgili Sonuçlar

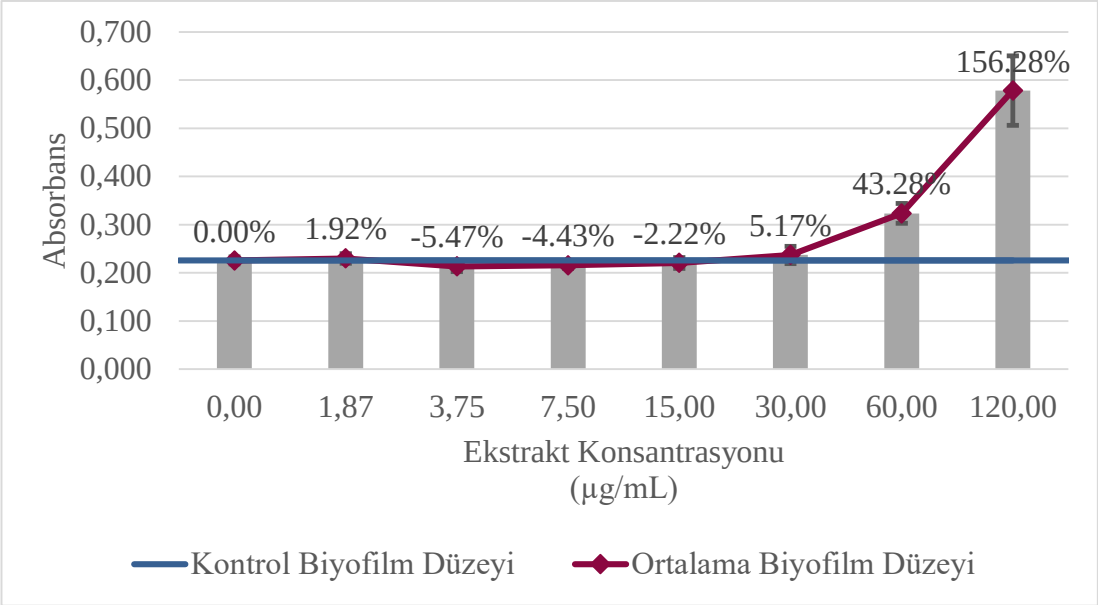
Ekstraktların antibiyofilm aktivitesi ile ilgili yapılan çalışmanın sonuçları aşağıda verilmiştir.

4.6.1 *P. hartigii*-EtOH - *E. coli* 7 antibiyofilm sonuçları



Şekil 4.17 *P. hartigii*-EtOH - *E. coli* 7'nin 3 paralelinin antibiyofilm sonuçları

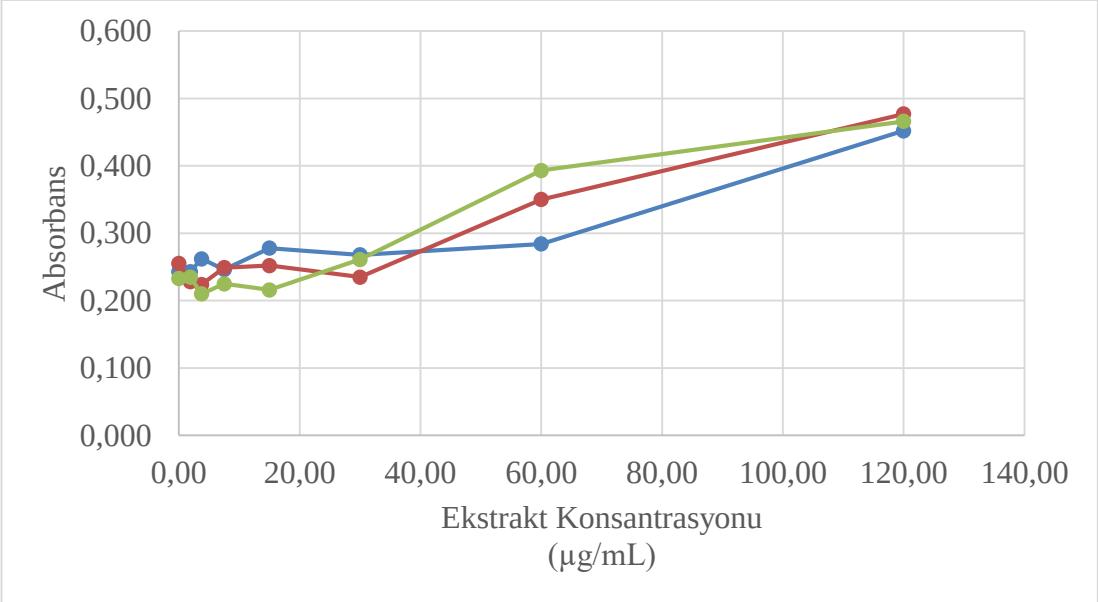
Şekil 4.17'de *P. hartigii*-EtOH ekstraktının *E. coli* 7'nin 3 paraleline ait antibiyofilm etkisinin sonuçları ayrı ayrı gösterilmiştir.



Şekil 4.18 *P. hartigii*-EtOH - *E. coli* 7'nin 3 paralelinin ortalama antibiyofilm sonuçları

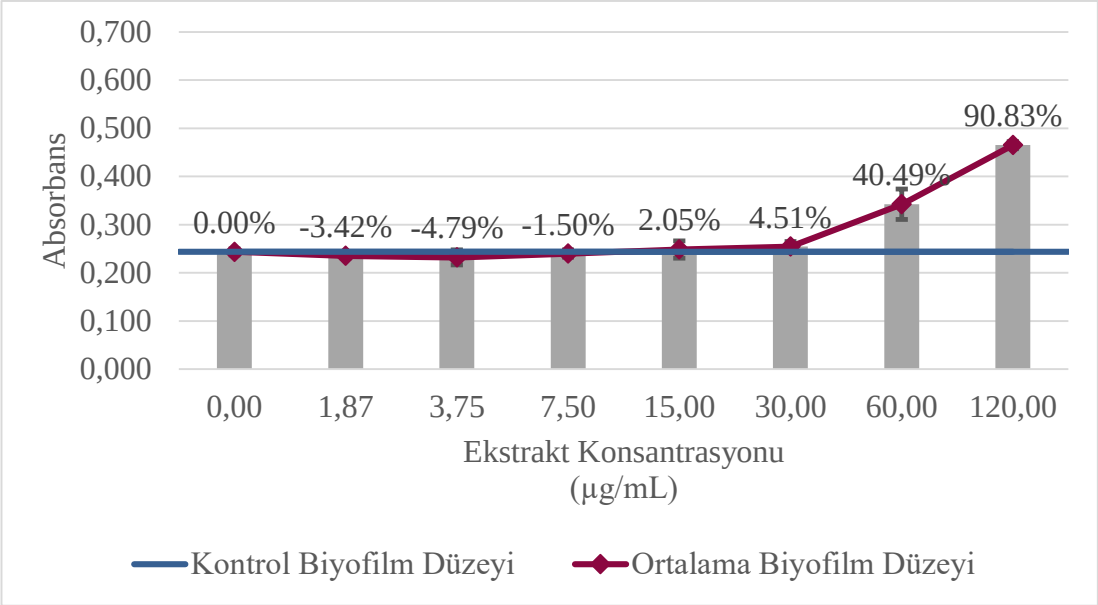
Şekil 4.18'de *P. hartigii*-EtOH ekstraktının *E. coli* 7'nin 3 paraleline ait antibiyofilm etkisinin sonuçların ortalaması gösterilmiştir.

4.6.2 *P. hartigii*-EtOH - *E. coli* 9 antibiyofilm sonuçları



Şekil 4.19 *P. hartigii*-EtOH - *E. coli* 9'un 3 paralelinin antibiyofilm sonuçları

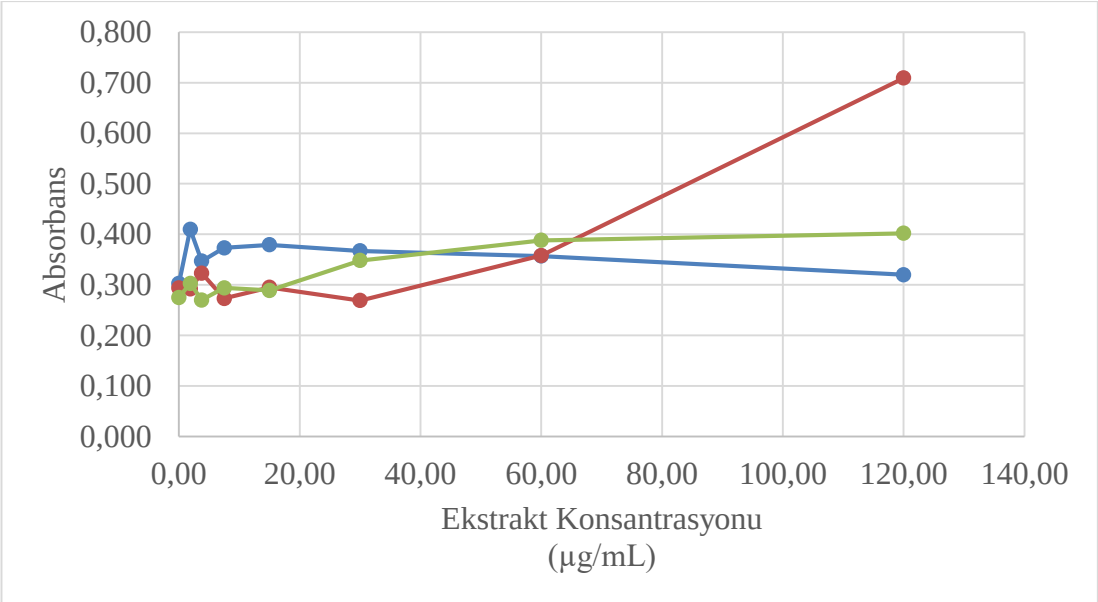
Şekil 4.19'da *P. hartigii*-EtOH ekstraktının *E. coli* 9'un 3 paraleline ait antibiyofilm etkisinin sonuçları ayrı ayrı gösterilmiştir.



Şekil 4.20 *P. hartigii*-EtOH - *E. coli* 9'un 3 paralelinin ortalama antibiyofilm sonuçları

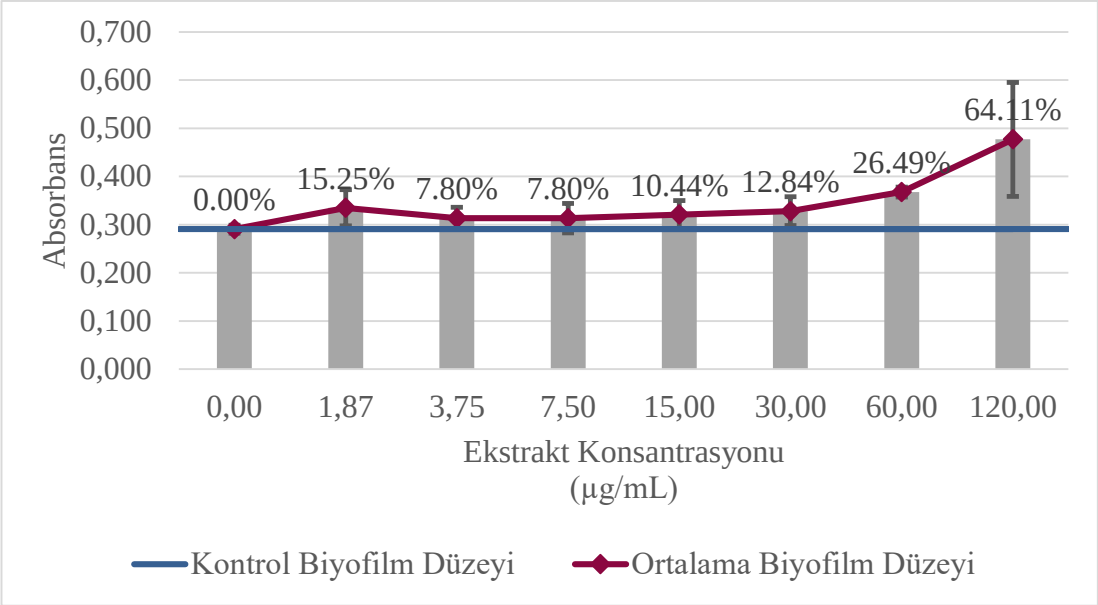
Şekil 4.20'de *P. hartigii*-EtOH ekstraktının *E. coli* 9'un 3 paraleline ait antibiyofilm etkisinin sonuçların ortalaması gösterilmiştir.

4.6.3 *P. hartigii*-EtOH - *E. coli* 11 antibiyofilm sonuçları



Şekil 4.21 *P. hartigii*-EtOH - *E. coli* 11'in 3 paralelinin antibiyofilm sonuçları

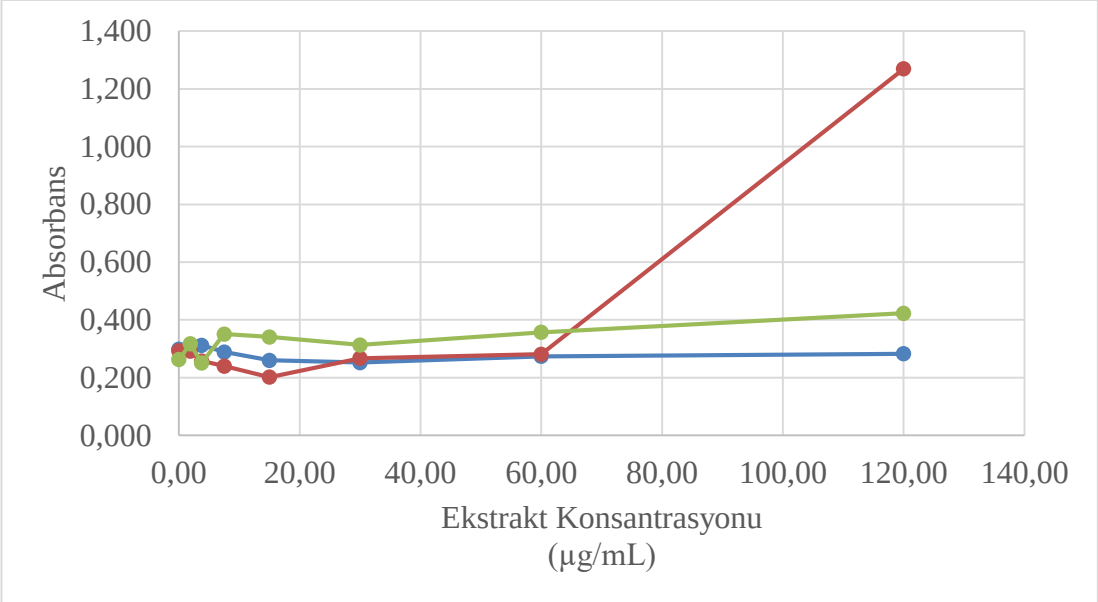
Şekil 4.21'de *P. hartigii*-EtOH ekstraktının *E. coli* 11'in 3 paraleline ait antibiyofilm etkisinin sonuçları ayrı ayrı gösterilmiştir.



Şekil 4.22 *P. hartigii*-EtOH - *E. coli* 11'in 3 paralelinin ortalama antibiyofilm sonuçları

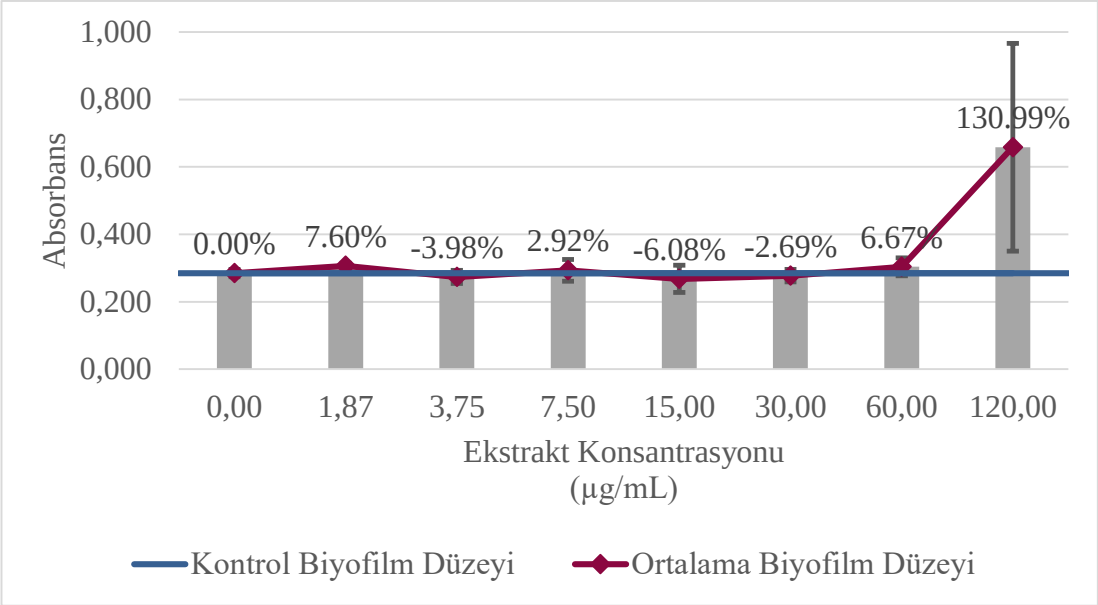
Şekil 4.22'de *P. hartigii*-EtOH *E. coli* 11'in 3 paraleline ait antibiyofilm etkisinin sonuçların ortalaması gösterilmiştir.

4.6.4 *P. hartigii*-EtOH - *E. coli* 12 antibiyofilm sonuçları



Şekil 4.23 *P. hartigii*-EtOH - *E. coli* 12'nin 3 paralelinin antibiyofilm sonuçları

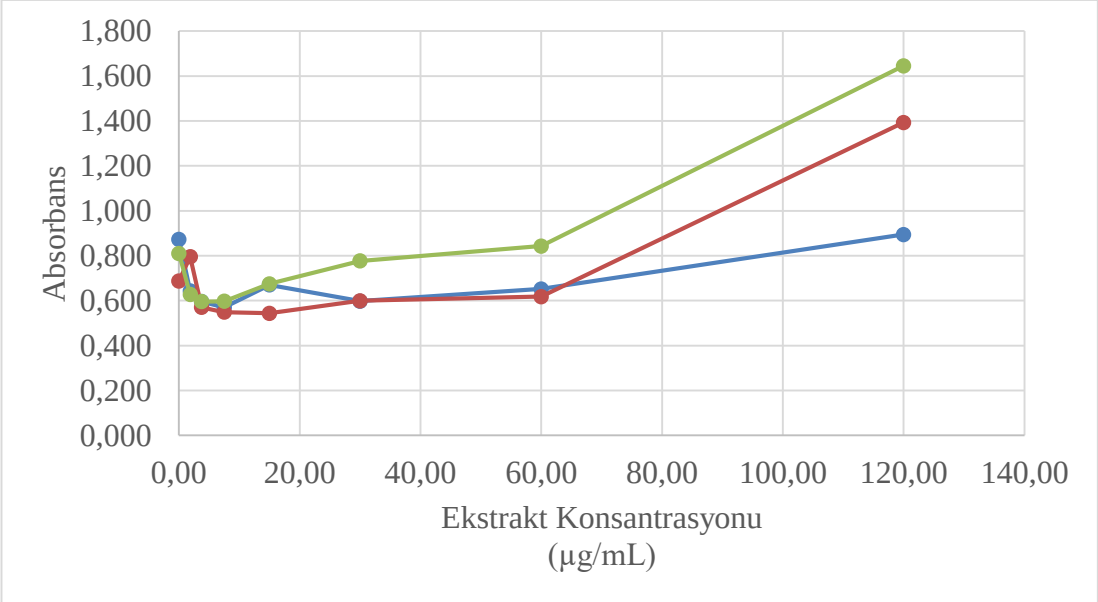
Şekil 4.23'te *P. hartigii*-EtOH ekstraktının *E. coli* 12'nin 3 paraleline ait antibiyofilm etkisinin sonuçları ayrı ayrı gösterilmiştir.



Şekil 4.24 *P. hartigii*-EtOH - *E. coli* 12'nin 3 paralelinin ortalama antibiyofilm sonuçları

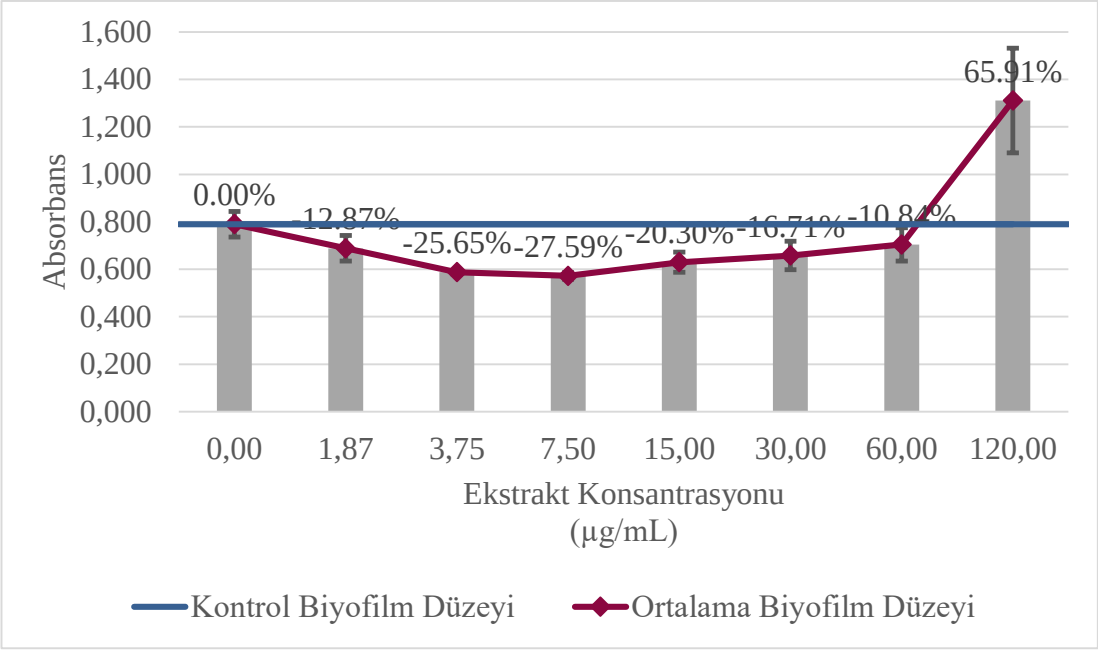
Şekil 4.24'te *P. hartigii*-ETOH *E. coli* 12'nin 3 paraleline ait antibiyofilm etkisinin ortalama sonuçları gösterilmiştir.

4.6.5 *P. hartigii*-EtOH - *S. aureus* antibiyofilm sonuçları



Şekil 4.25 *P. hartigii*-EtOH - *S. aureus*'un 3 paralelinin antibiyofilm sonuçları

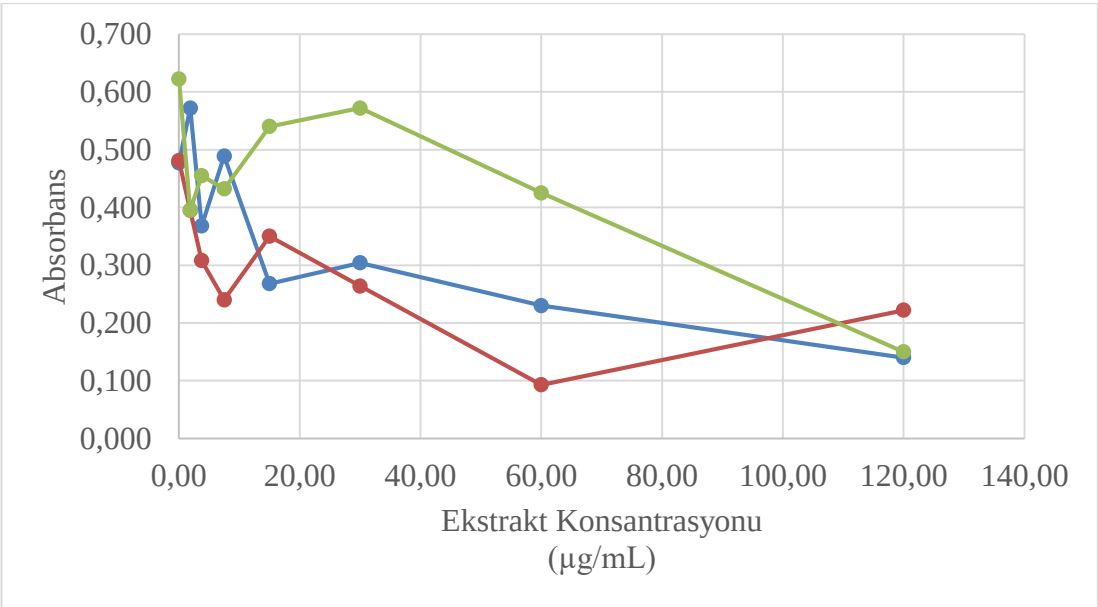
Şekil 4.25'te *P. hartigii*-EtOH ekstraktının *S. aureus*'un 3 paraleline ait antibiyofilm etkisinin sonuçları ayrı ayrı gösterilmiştir.



Şekil 4.26 *P. hartigii*-EtOH - *S. aureus*'un 3 paralelinin ortalama antibiyofilm sonuçları

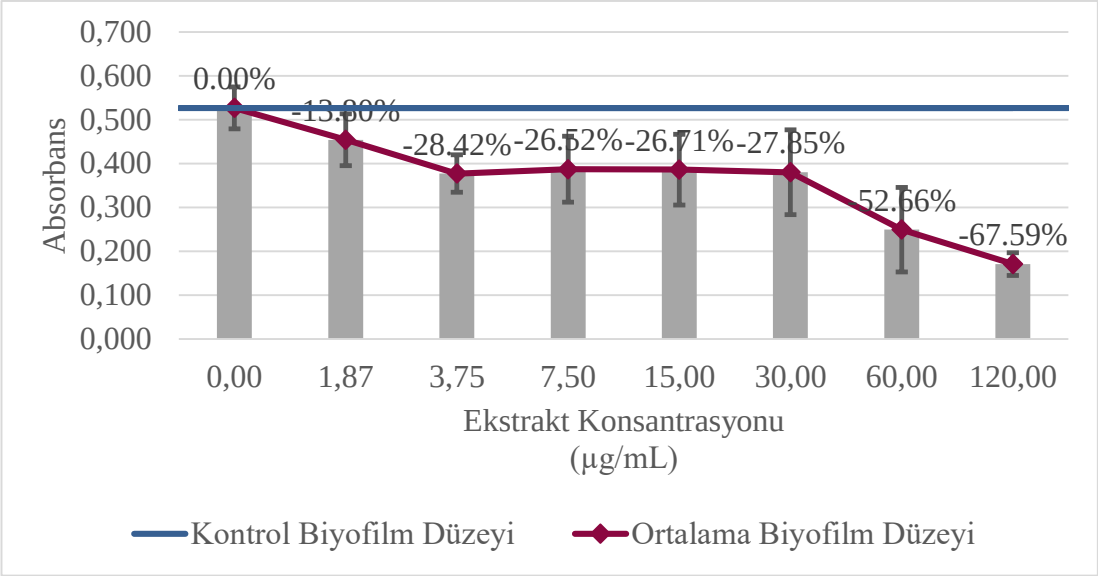
Şekil 4.26'da *P. hartigii*-EtOH ekstraktının *S. aureus*'un 3 paraleline ait antibiyofilm etkisinin ortalama sonuçları gösterilmiştir.

4.6.6 *P. hartigii*-Kloroform - *C. albicans* antibiyofilm sonuçları



Şekil 4.27 *P. hartigii*-kloroform - *C. albicans*'ın 3 paralelinin antibiyofilm sonuçları

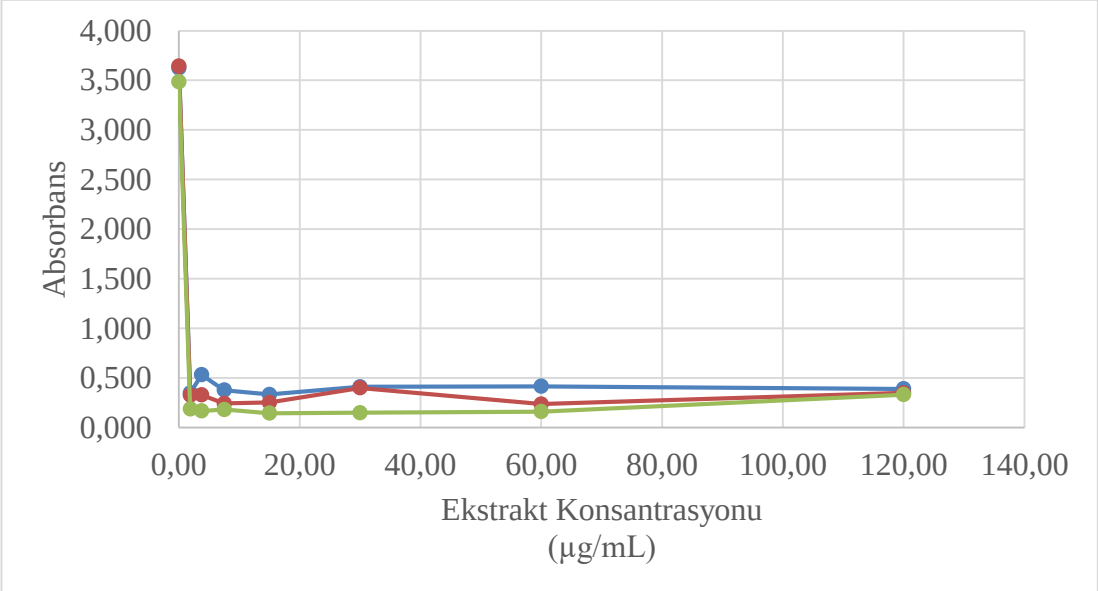
Şekil 4.27'de *P. hartigii*-kloroform ekstraktının *C. albicans*'ın 3 paraleline ait antibiyofilm etkisinin sonuçları ayrı ayrı gösterilmiştir.



Şekil 4.28 *P. hartigii*-kloroform - *C. albicans*'ın 3 paralelinin ortalama antibiyofilm sonuçları

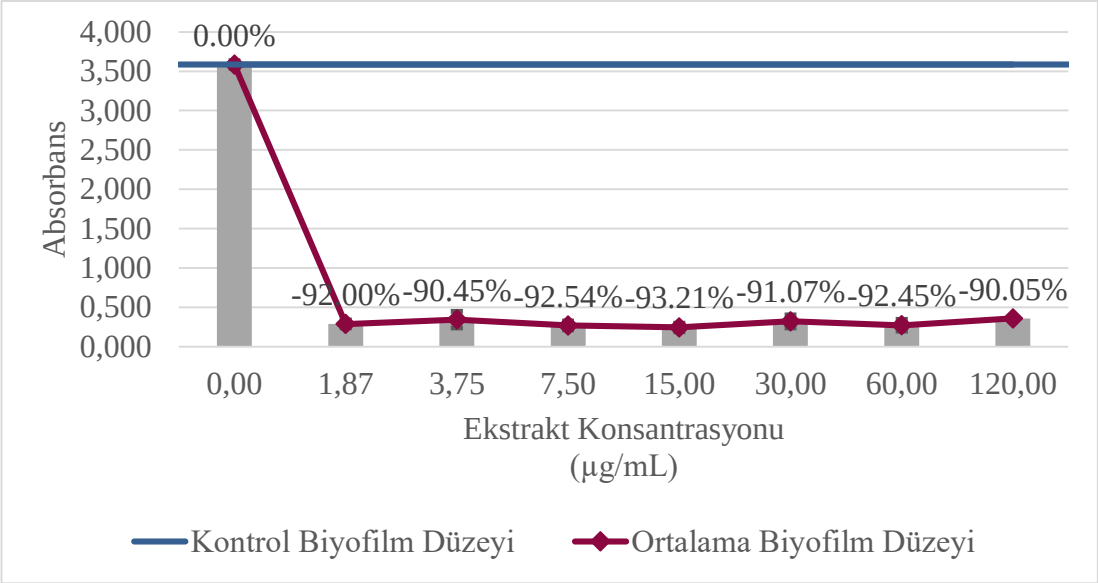
Şekil 4.28'de *P. hartigii*-kloroform ekstraktının *C. albicans*'ın 3 paralelinin ortalama antibiyofilm sonuçları gösterilmiştir.

4.6.7 *P. hartigii* -Kloroform - *S. aureus* MRSA antibiyofilm sonuçları



Şekil 4.29 *P. hartigii*-kloroform - *S. aureus* MRSA'nın 3 paralelinin antibiyofilm sonuçları

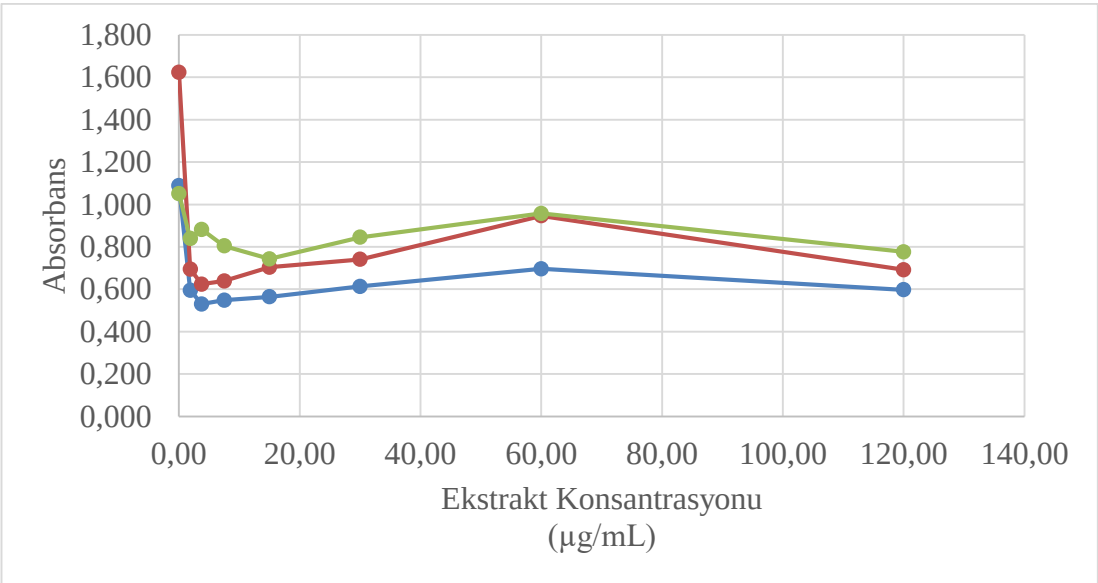
Şekil 4.29'da *P. hartigii*-kloroform ekstraktının *S. aureus* MRSA'nın 3 paralelinin antibiyofilm sonuçları ayrı ayrı gösterilmiştir.



Şekil 4.30 *P. hartigii-kloroform - S. aureus* MRSA'nın 3 paralelinin ortalama antibiyofilm sonuçları

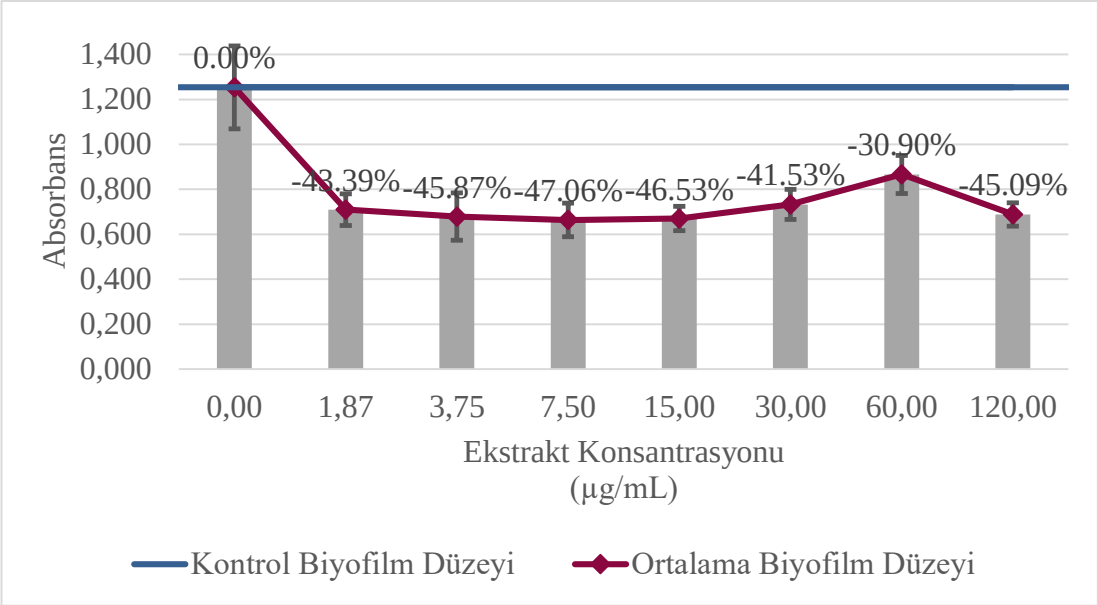
Şekil 4.30'da *P. hartigii*-kloroform ekstraktının *S. aureus* MRSA'nın 3 paralelinin ortalama antibiyofilm sonuçları gösterilmiştir.

4.6.8 *F. fomentarius*-EtOH - *S. aureus* MRSA antibiyofilm sonuçları



Şekil 4.31 *F. fomentarius*-EtOH - *S. aureus* MRSA'nın 3 paralelinin antibiyofilm sonuçları

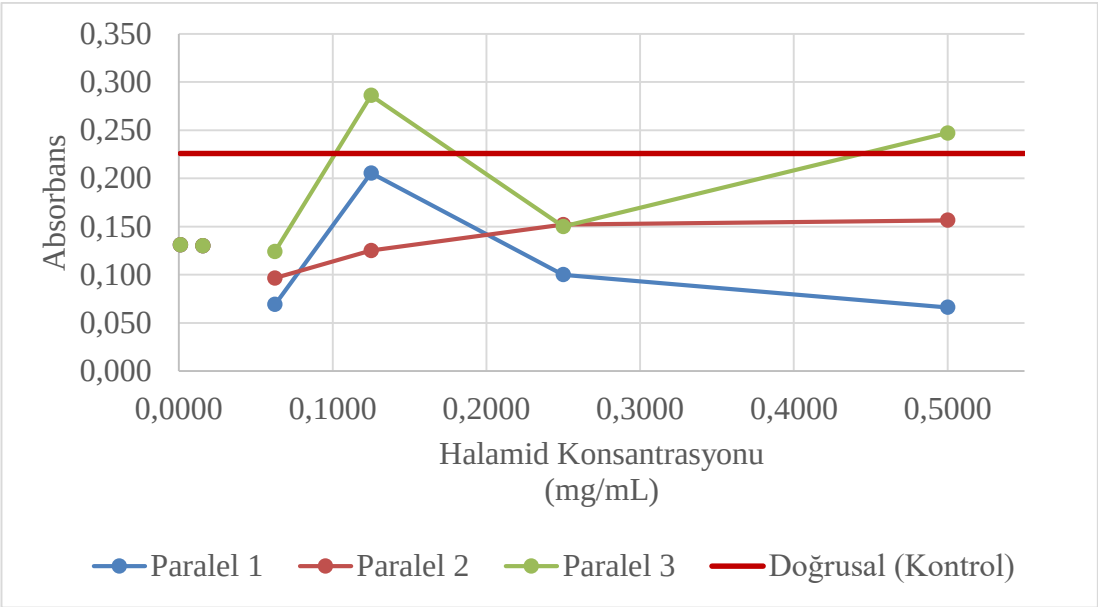
Şekil 4.31'de *F. fomentarius*-EtOH ekstraktının *S. aureus* MRSA'nın 3 paralelinin antibiyofilm sonuçları ayrı ayrı gösterilmiştir.



Şekil 4.32 *F. fomentarius*-EtOH - *S. aureus* MRSA'nın 3 paralelinin ortalama antibiyofilm sonuçları

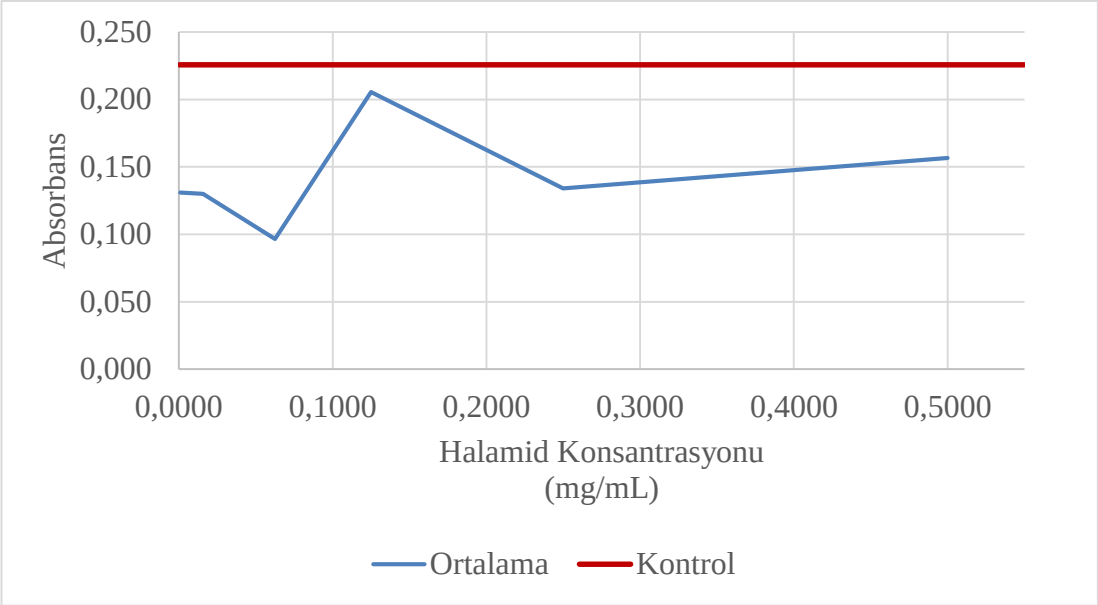
Şekil 4.32'de *F. fomentarius*-EtOH ekstraktının *S. aureus* MRSA'nın 3 paralelinin ortalama antibiyofilm sonuçları gösterilmiştir.

4.6.9 Halamid Kimyasalının Antibiyofilm Sonuçları



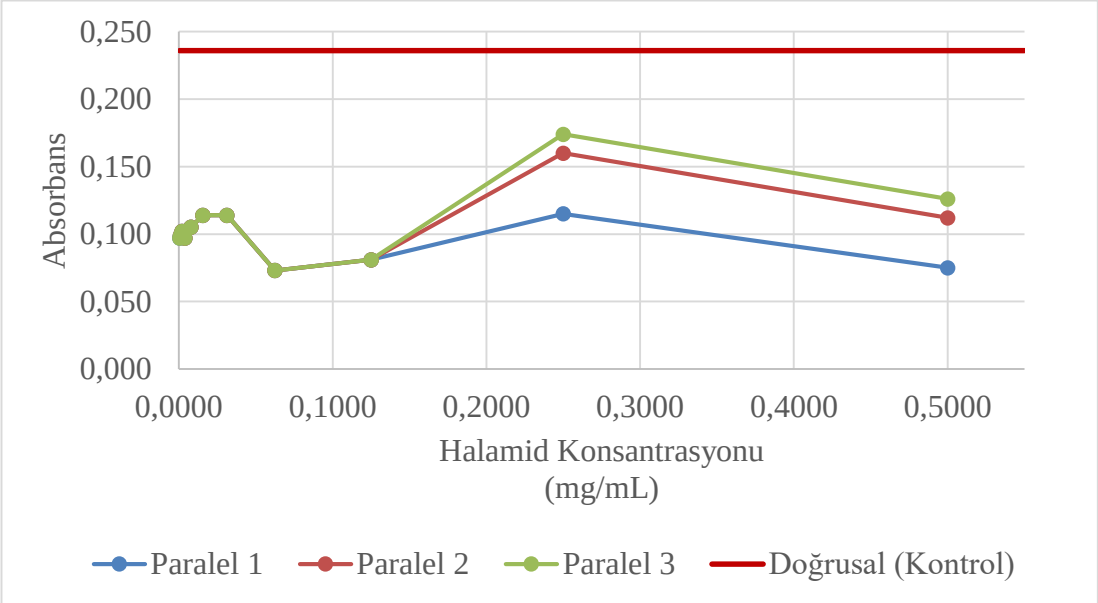
Şekil 4.33 Halamid *E. coli* 7'nin 3 paralelinin antibiyofilm sonuçları

Şekil 4.33'te Halamid kimyasalının *E. coli* 7'nin 3 paralelinin antibiyofilm sonuçları gösterilmiştir.



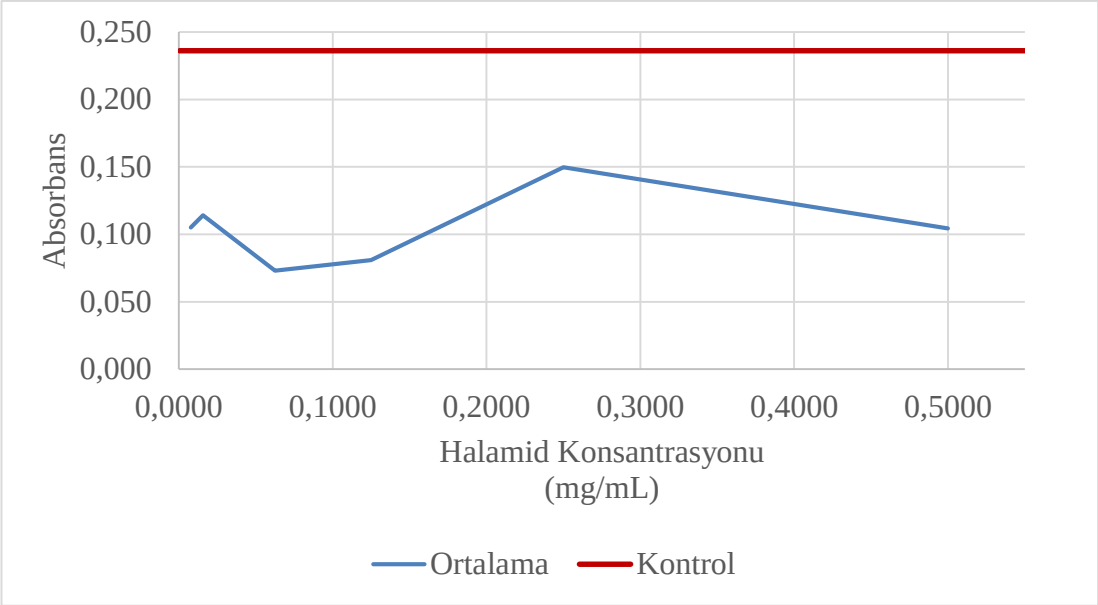
Şekil 4.34 Halamid *E. coli* 7'nin 3 paralelinin ortalama antibiyofilm sonuçları

Şekil 4.34'te Halamid kimyasalının *E. coli* 7'nin 3 paralelinin ortalama antibiyofilm sonuçları gösterilmiştir.



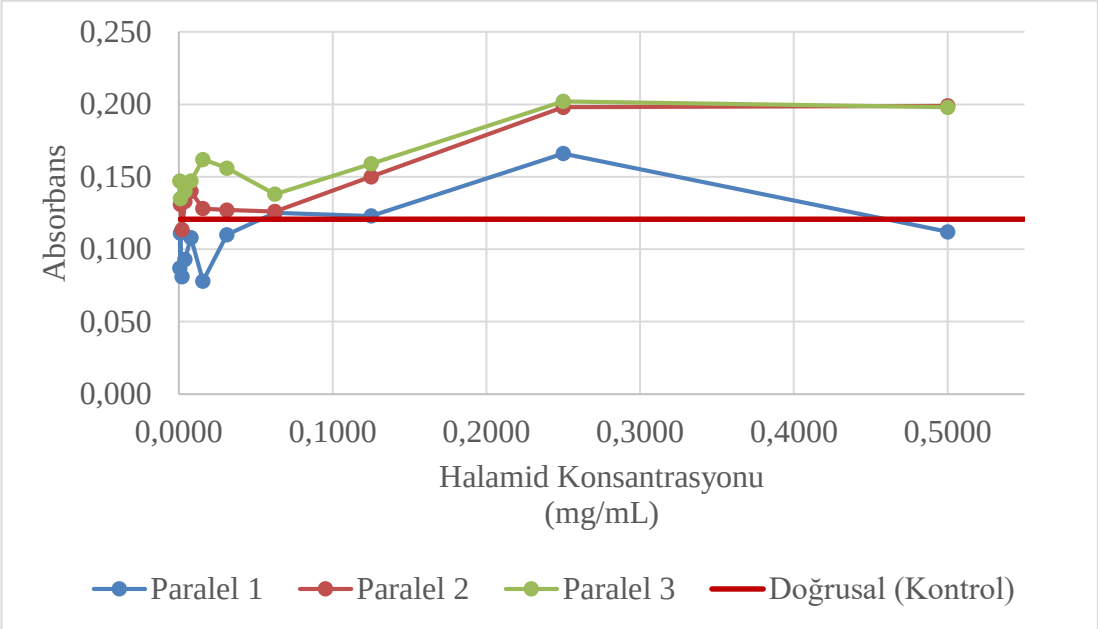
Şekil 4.35 Halamid *E. coli* 9'un 3 paralelinin antibiyofilm sonuçları

Şekil 4.35'te Halamid kimyasalının *E. coli* 9'un 3 paralelinin antibiyofilm sonuçları gösterilmiştir.



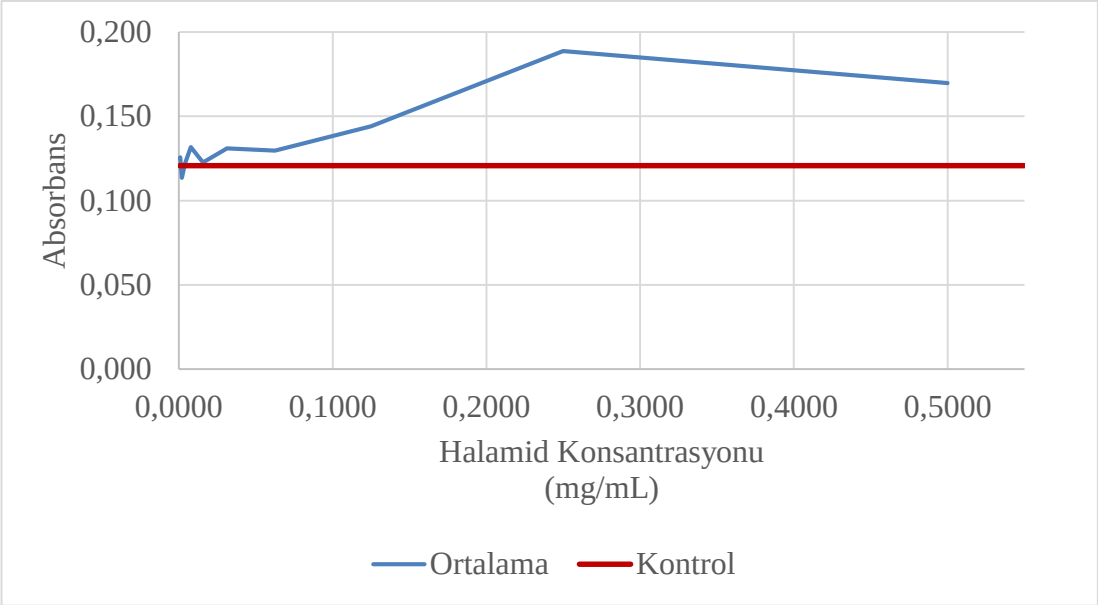
Şekil 4.36 Halamid *E. coli* 9'un 3 paralelinin ortalama antibiyofilm sonuçları

Halamid kimyasalının *E. coli* 9'un 3 paralelinin ortalama antibiyofilm sonuçları gösterilmiştir.



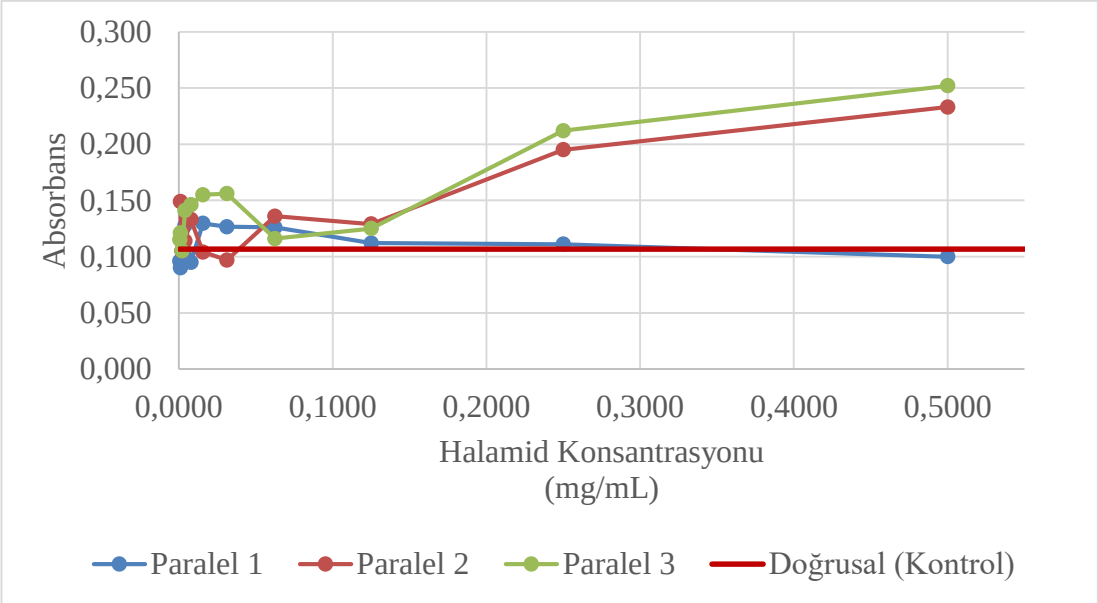
Şekil 4.37 Halamid *E. coli* 11'in 3 paralelinin ortalama antibiyofilm sonuçları

Şekil 4.37'de Halamid kimyasalının *E. coli* 11'in 3 paralelinin antibiyofilm sonuçları gösterilmiştir.



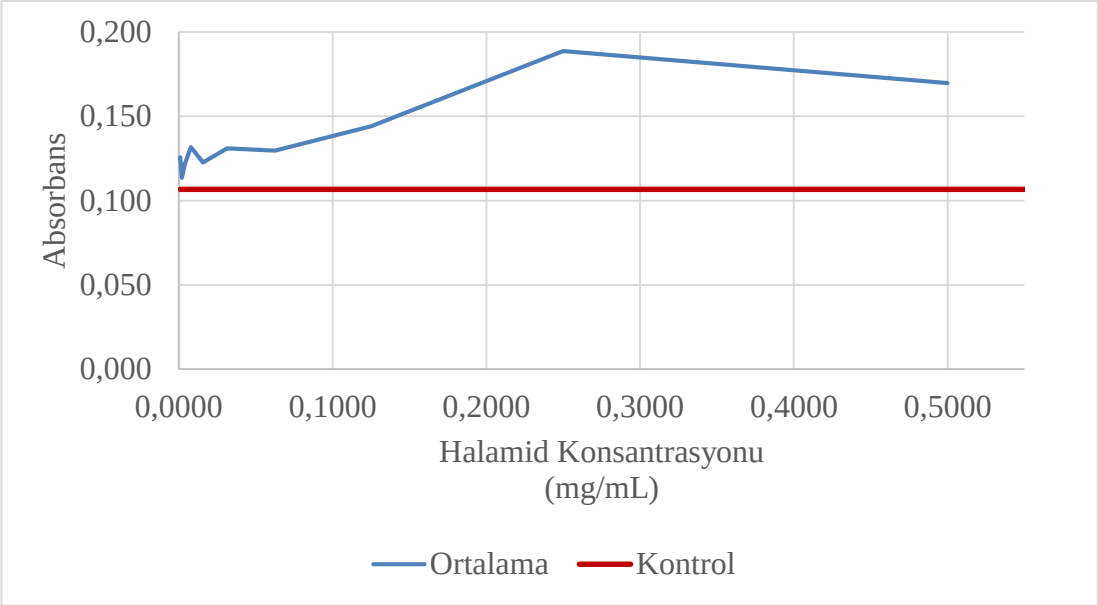
Şekil 4.38 Halamid *E. coli* 11'in 3 paralelinin ortalama antibiyofilm sonuçları

Şekil 4.38'de Halamid kimyasalının *E. coli* 11'in 3 paralelinin ortalama antibiyofilm sonuçları gösterilmiştir.



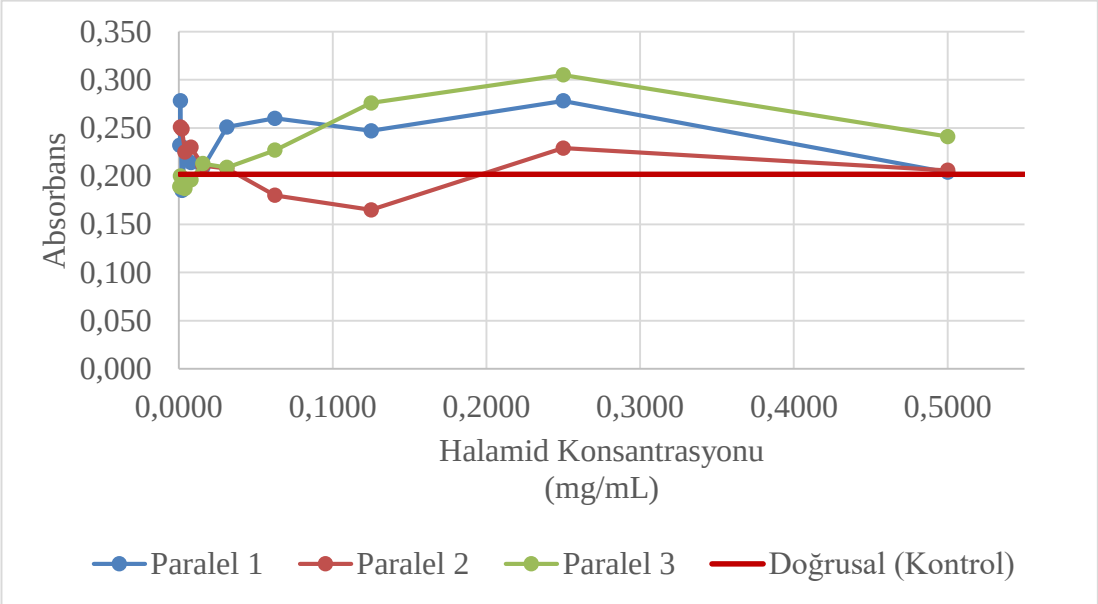
Şekil 4.39 Halamid *E. coli* 12'nin 3 paralelinin antibiyofilm sonuçları

Şekil 4.39'da Halamid kimyasalının *E. coli* 12'nin 3 paralelinin antibiyofilm sonuçları gösterilmiştir.



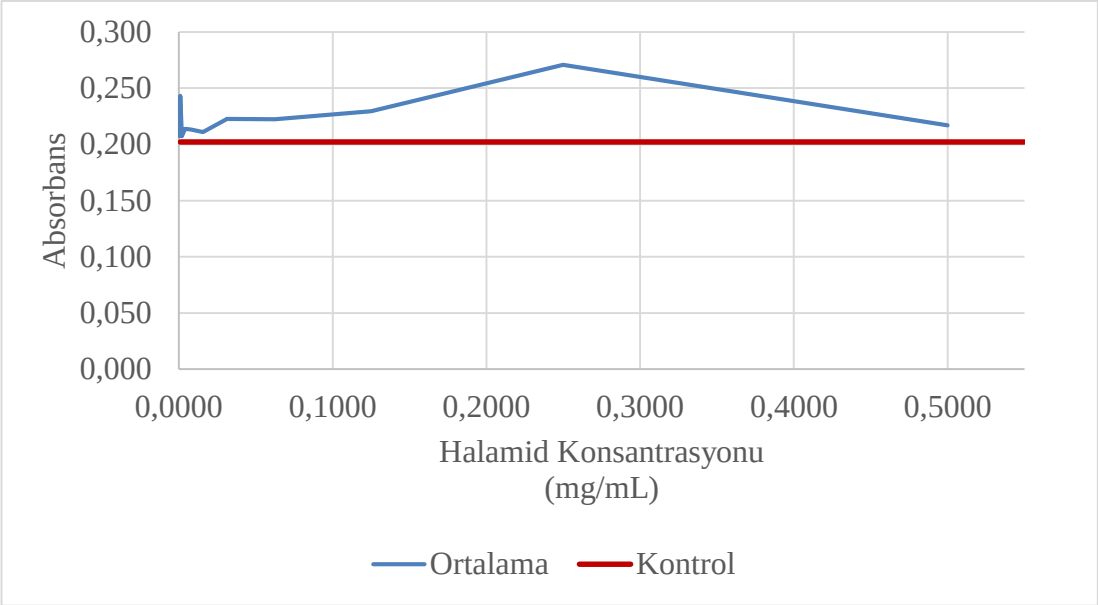
Şekil 4.40 Halamid *E. coli* 12'nin 3 paralelinin ortalama antibiyofilm sonuçları

Şekil 4.40'ta Halamid kimyasalının *E. coli* 12'nin 3 paralelinin ortalama antibiyofilm sonuçları gösterilmiştir.



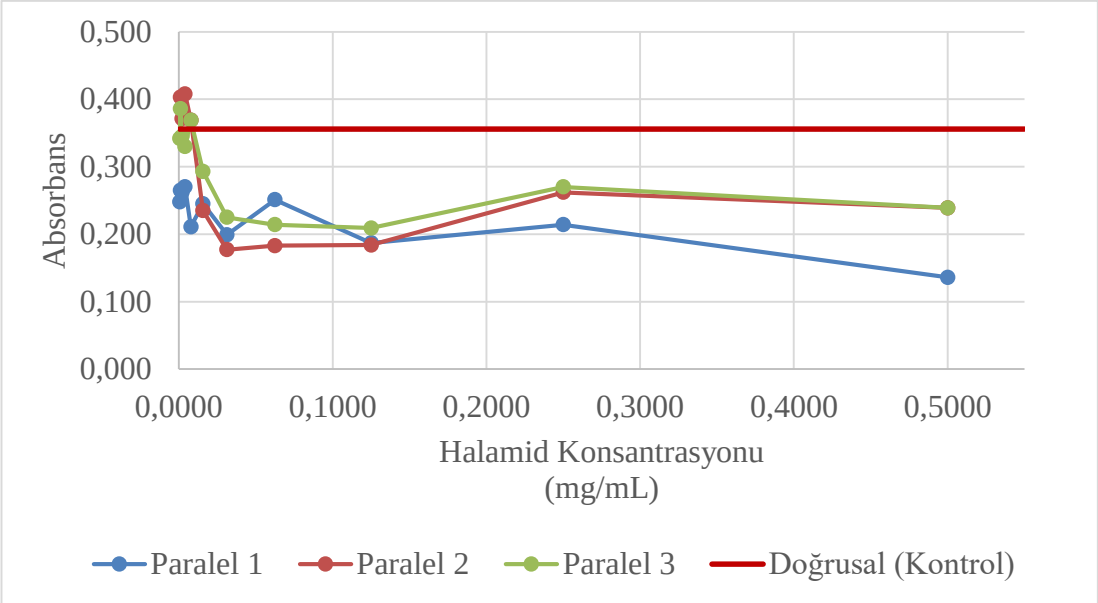
Şekil 4.41 Halamid *S. aureus* 3 paralelinin antibiyofilm sonuçları

Şekil 4.41'de Halamid kimyasalının *S. aureus*'un 3 paralelinin antibiyofilm sonuçları gösterilmiştir.



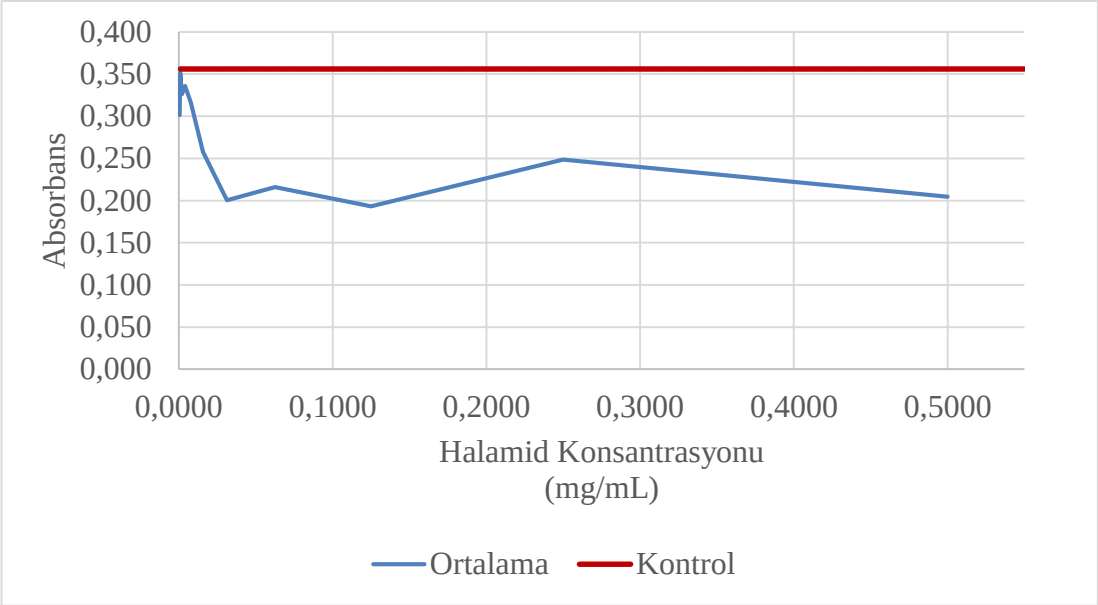
Şekil 4.42 Halamid *S. aureus*'un 3 paralelinin ortalama antibiyofilm sonuçları

Şekil 4.42'de Halamid kimyasalının *S. aureus*'un ortalama antibiyofilm sonuçları gösterilmiştir.



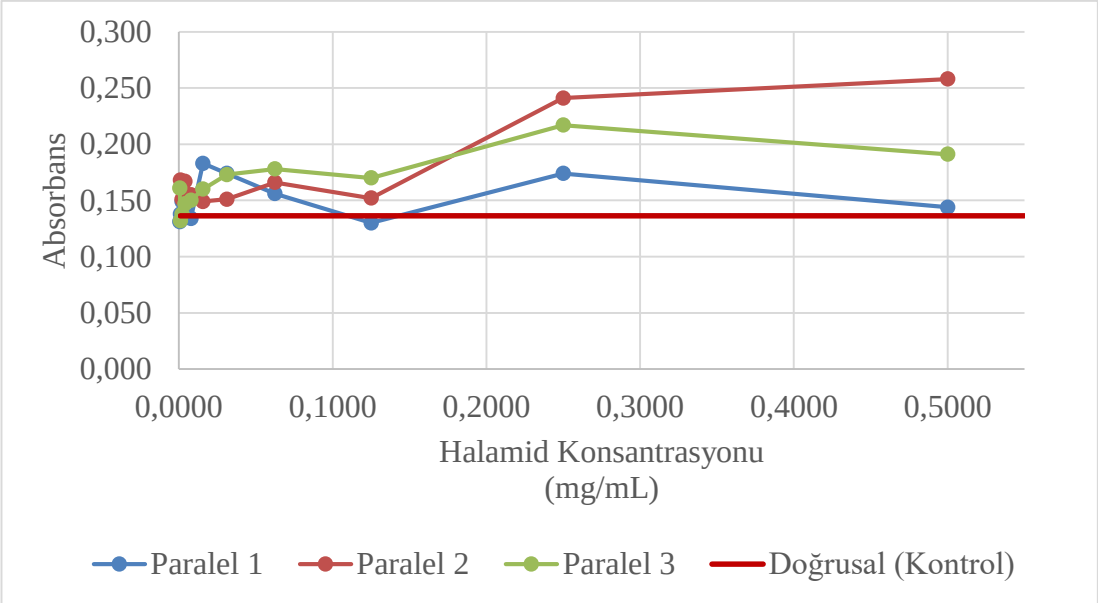
Şekil 4.43 Halamid *S. aureus* MRSA'nın 3 paralelinin antibiyofilm sonuçları

Şekil 3.43'te Halamid kimyasalının *S. aureus* MRSA'nın 3 paralelinin antibiyofilm sonuçları verilmiştir.



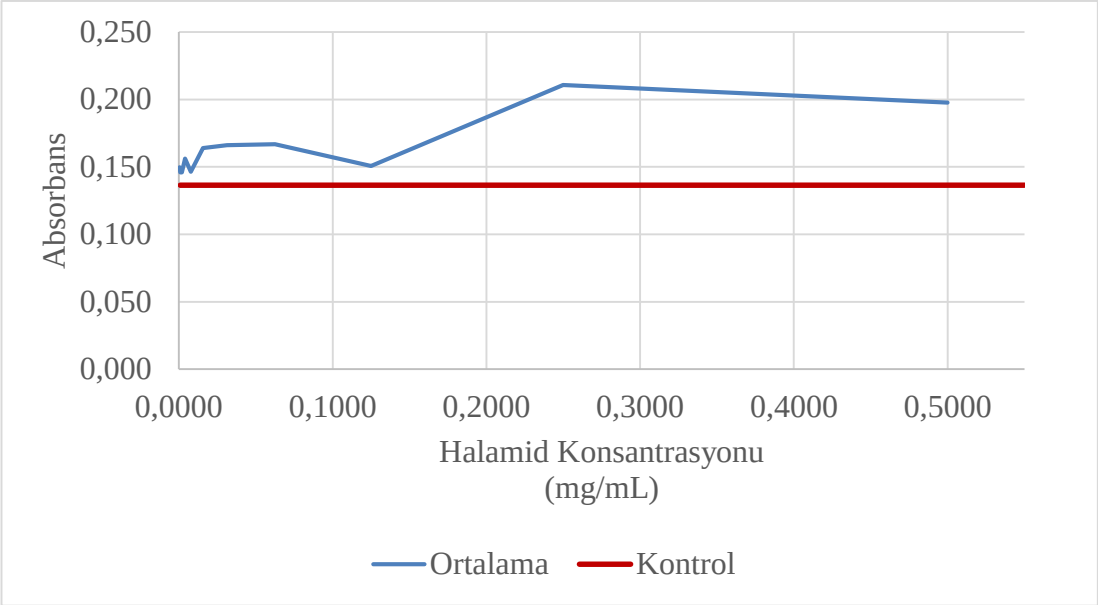
Şekil 4.44 Halamid *S. aureus* MRSA'nın 3 paralelinin ortalam antibiyofilm sonuçları

Şekil 4.44'te Halamid kimyasalının *S. aureus*'un 3 paralelinin ortalama antibiyofilm sonuçları gösterilmiştir.



Şekil 4.45 Halamid *C. albicans*'ın 3 paralelinin antibiyofilm sonuçları

Şekil 4.45'te Halamid kimyasalının *C. albicans*'ın 3 paralelinin antibiyofilm sonuçları gösterilmiştir.



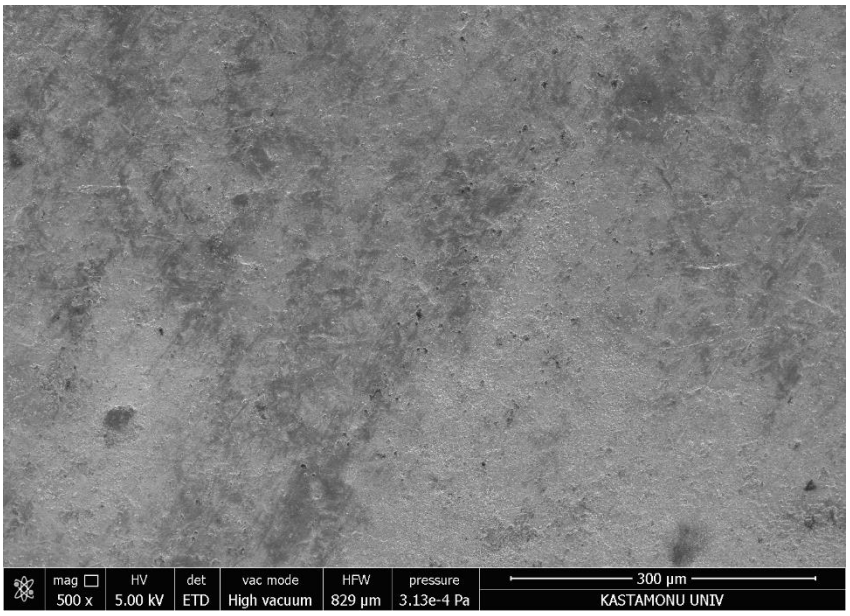
Şekil 4.46 Halamid *C. albicans*'ın 3 paralelinin ortalama antibiyofilm sonuçları

Şekil 4.46'da Halamid kimyasalının *C. albicans*'ın 3 paralelinin ortalama antibiyofilm sonuçları gösterilmiştir.

4.7 SEM Sonuçları

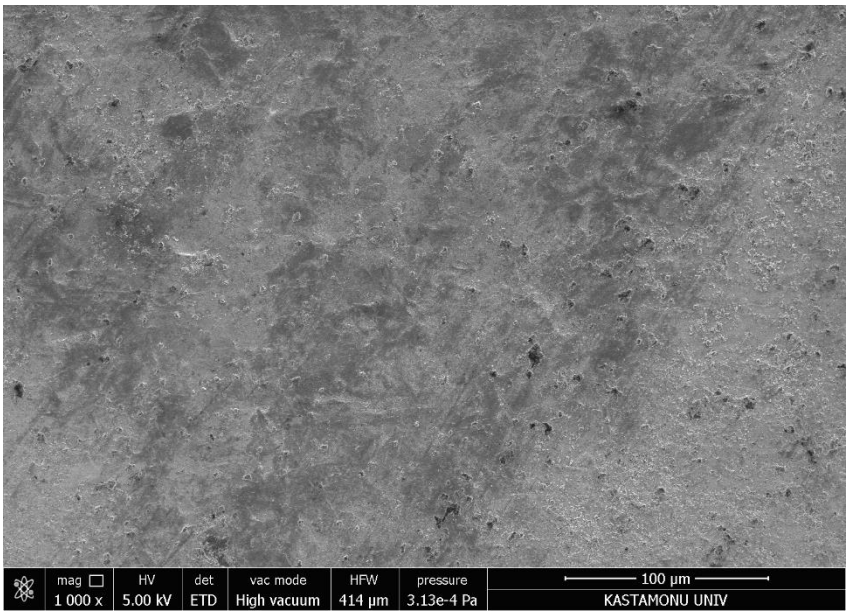
Antibiyofilm çalışması sonucunda etkinin gözlendiği ekstrakt - mikroorganizma kombinasyonu için SEM çalışması yapılmış olup, sonuçlar negatif kontrol olarak boş metal kuponlar ve pozitif kontrol olarak Halamid ile karşılaştırılmıştır. Sonuçlar aşağıda verilmiştir.

4.7.1 Boş Metal Kuponlara (Negatif Kontrol) Ait SEM Görüntüleri



Şekil 4.47 Boş metal kupon x 500'lük SEM görüntüsü

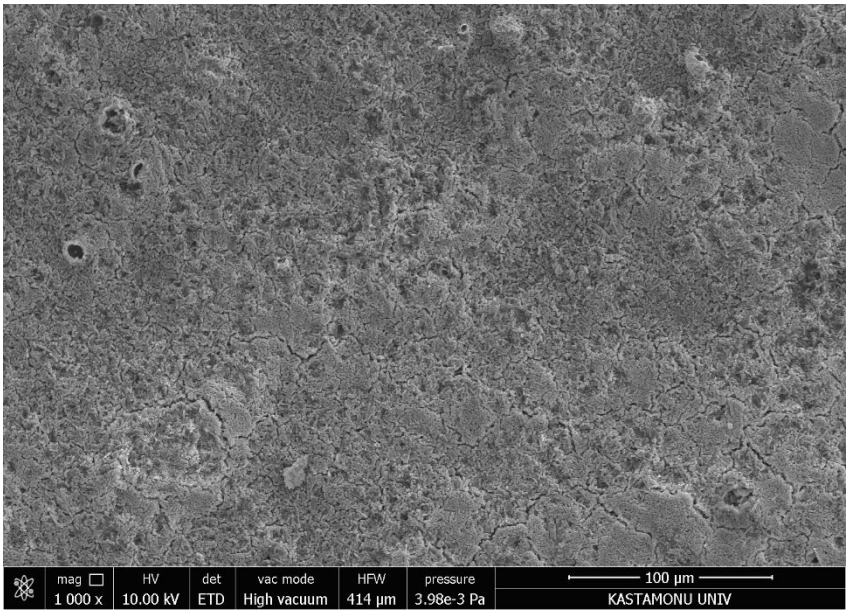
Şekil 4.47'de işlem uygulanmamış boş metal kuponun 500 büyütmedeki SEM görüntüsü negatif kontrol olarak verilmiştir.



Şekil 4.48 Boş metal kupon x 1000'lik SEM görüntüsü

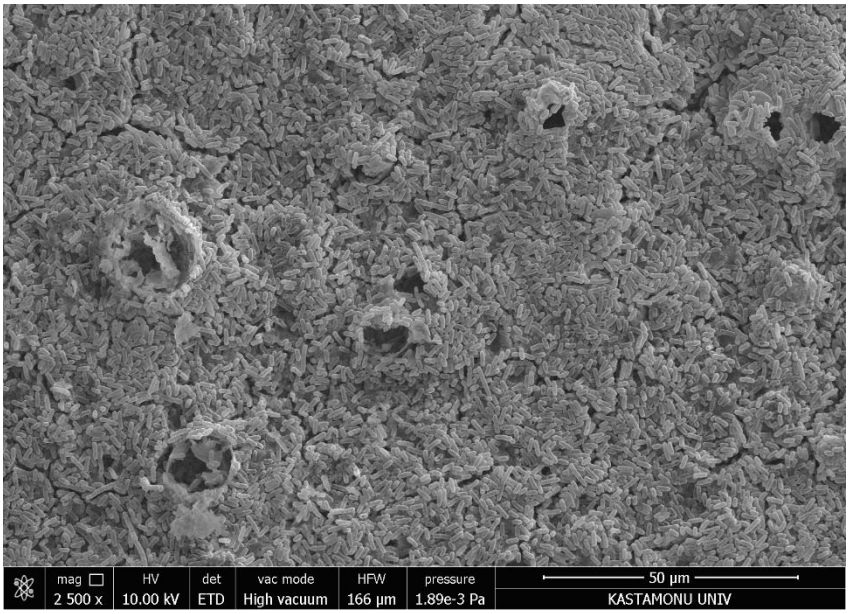
Şekil 4.48'de işlem uygulanmamış boş metal kuponun 1000 büyütmedeki SEM görüntüsü negatif kontrol olarak verilmiştir.

4.7.2 *P. hartigii* - EtOH Ekstraktının *E. coli* 7 Suşu Üzerindeki Antibiyofilm Etkisine Ait SEM Görüntüleri



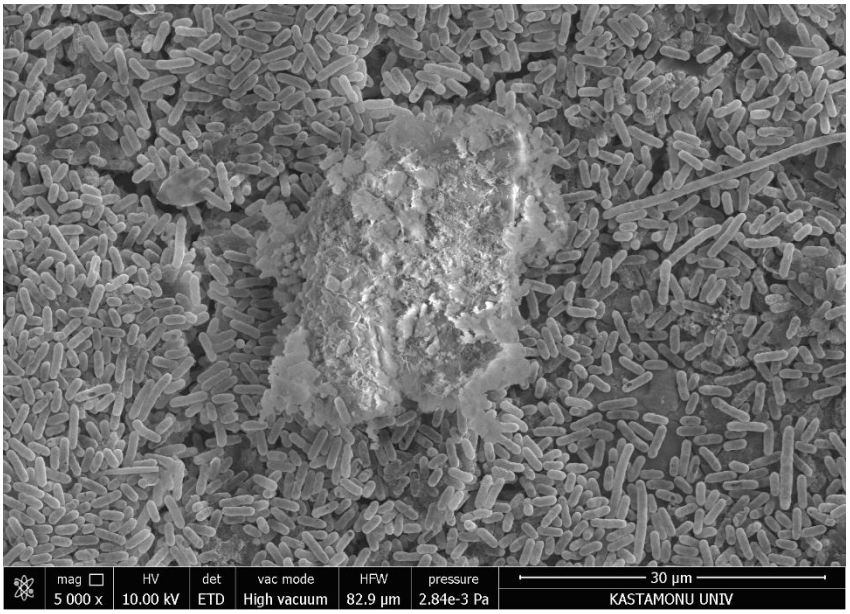
Şekil 4.49 *P. hartigii*-EtOH - *E. coli* 7 x 1000'lik SEM görüntüsü

Şekil 4.49'da *P. hartigii* - EtOH ekstraktının *E. coli* 7 suşu üzerindeki antibiyofilm etkisinin 1000 büyütmedeki SEM görüntüsü verilmiştir.



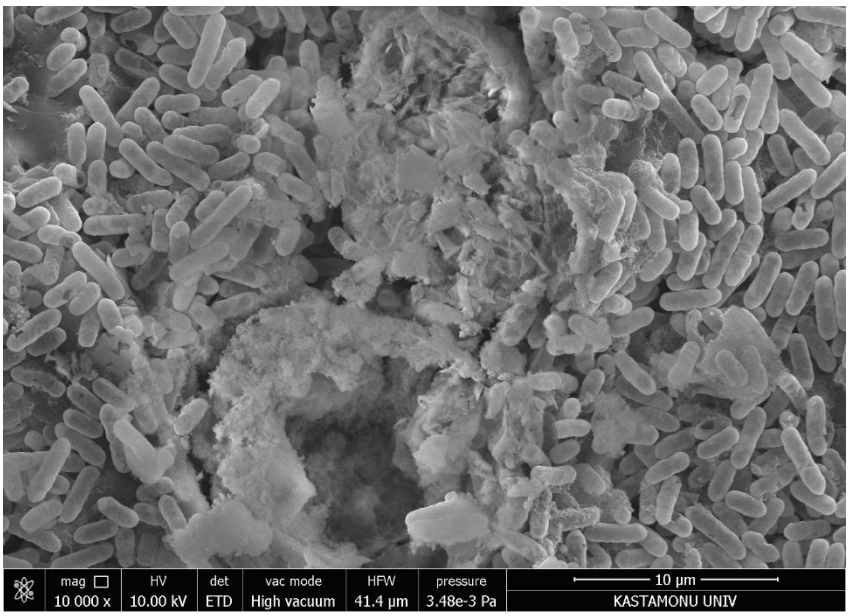
Şekil 4.50 *P. hartigii*-EtOH - *E. coli* 7 x 2500'lük SEM görüntüsü

Şekil 4.50'de *P. hartigii* - EtOH ekstraktının *E. coli* 7 suşu üzerindeki antibiyofilm etkisinin 2500 büyütmedeki SEM görüntüsü verilmiştir.



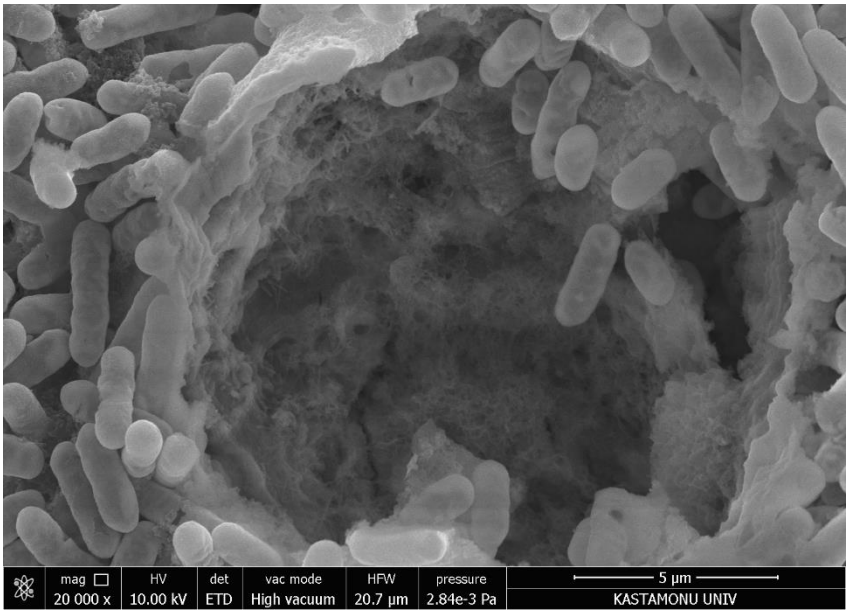
Şekil 4.51 *P. hartigii*-EtOH - *E. coli* 7 x 5000'lik SEM görüntüsü

Şekil 4.51'de *P. hartigii* - EtOH ekstraktının *E. coli* 7 suşu üzerindeki antibiyofilm etkisinin 5000 büyütmedeki SEM görüntüsü verilmiştir.



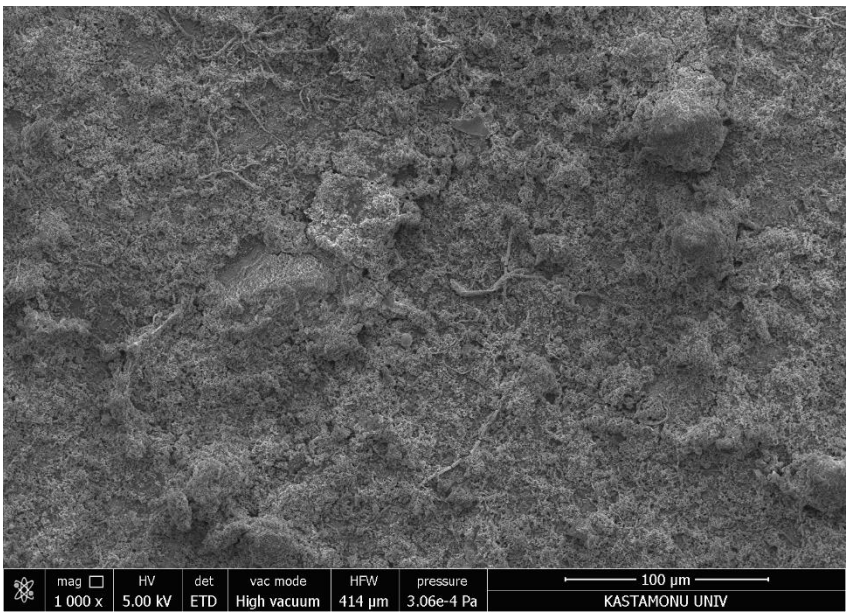
Şekil 4.52 *P. hartigii*-EtOH - *E. coli* 7 x10.000'lik SEM görüntüsü

Şekil 4.52'de *P. hartigii* - EtOH ekstraktının *E. coli* 7 suşu üzerindeki antibiyofilm etkisinin 10.000 büyütmedeki SEM görüntüsü verilmiştir.



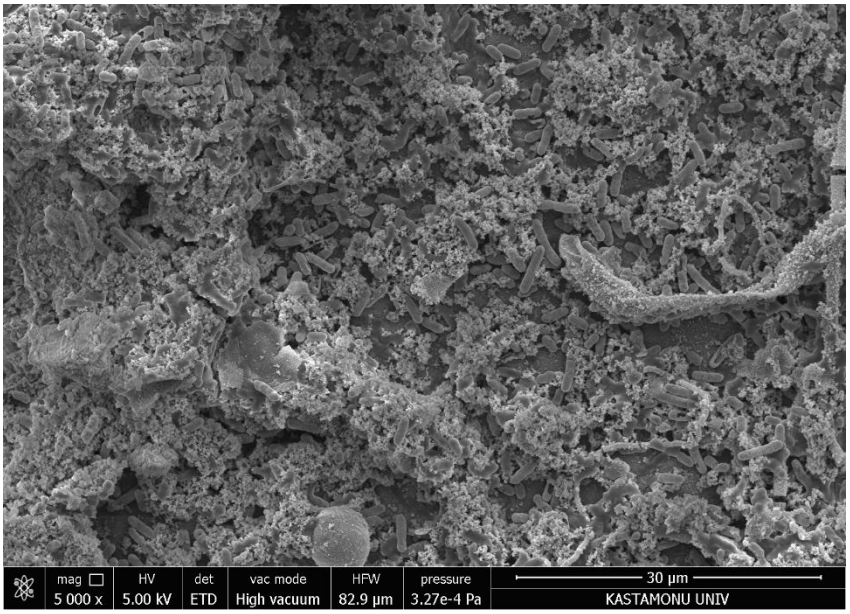
Şekil 4.53 *P. hartigii*-EtOH - *E. coli* 7 x 20.000'lik SEM görüntüsü

Şekil 4.53'de *P. hartigii* - EtOH ekstraktının *E. coli* 7 suşu üzerindeki antibiyofilm etkisinin 20.000 büyütmedeki SEM görüntüsü verilmiştir.



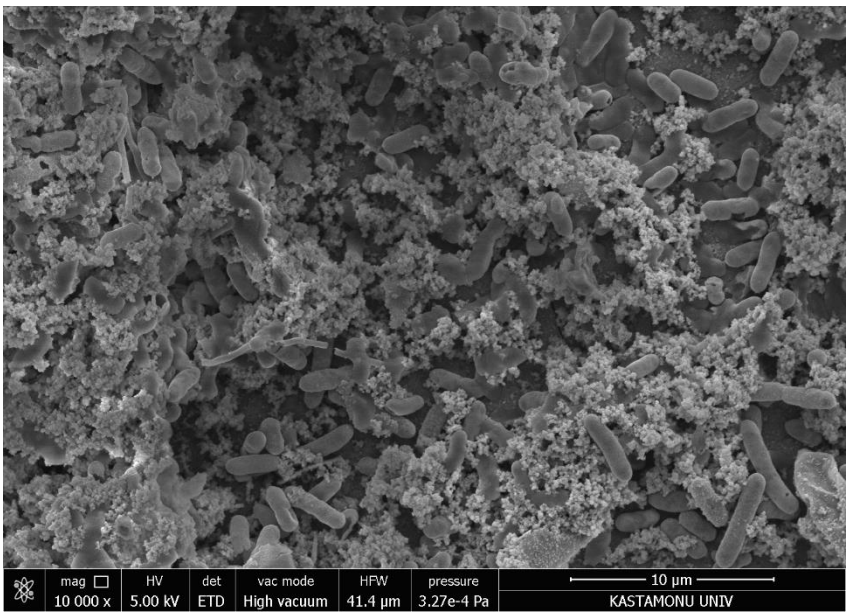
Şekil 4.54 *E. coli* 7 kontrol x 1000'lik SEM görüntüsü

Şekil 4.54'de *E. coli* 7'nin ekstrakt uygulanmadığında metal kuponda 1000 büyütmedeki SEM görüntüsü verilmiştir.



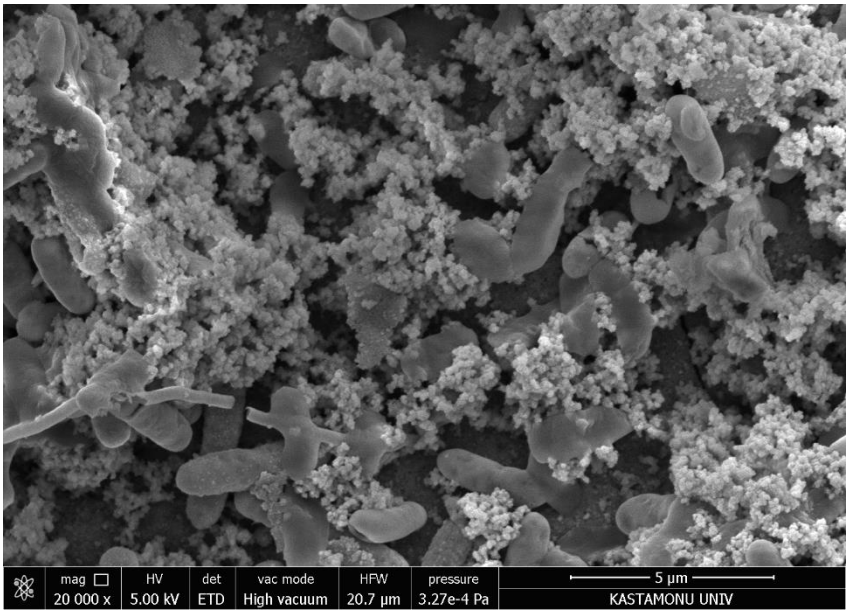
Şekil 4.55 *E. coli* 7 kontrol x 5000'lik SEM görüntüsü

Şekil 4.55'de *E. coli* 7'nin ekstrakt uygulanmadığında metal kuponda 5000 büyütmedeki SEM görüntüsü verilmiştir.



Şekil 4.56 *E. coli* 7 kontrol x 10.000'lik SEM görüntüsü

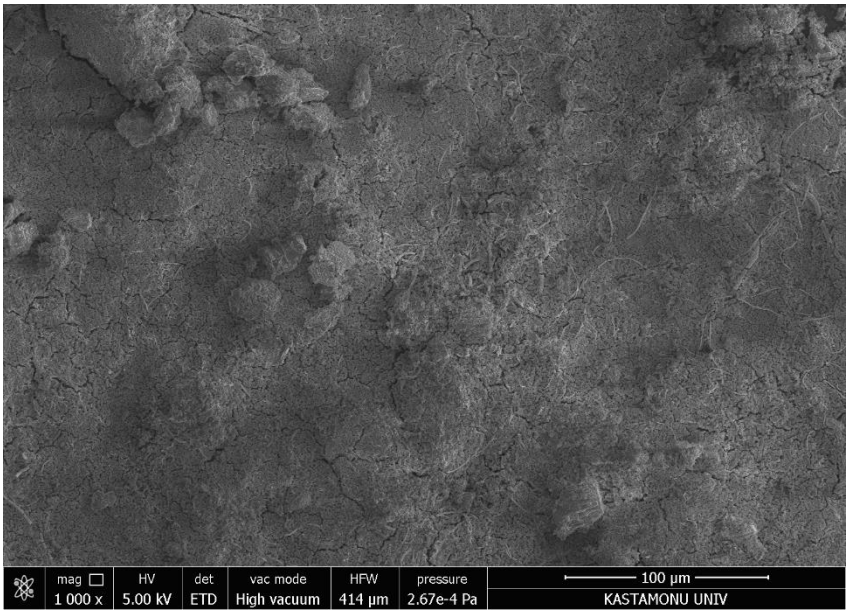
Şekil 4.56'da *E. coli* 7'nin ekstrakt uygulanmadığında metal kuponda 10.000 büyütmedeki SEM görüntüsü verilmiştir.



Şekil 4.57 *E. coli* 7 kontrol x 20.000'lik SEM görüntüsü

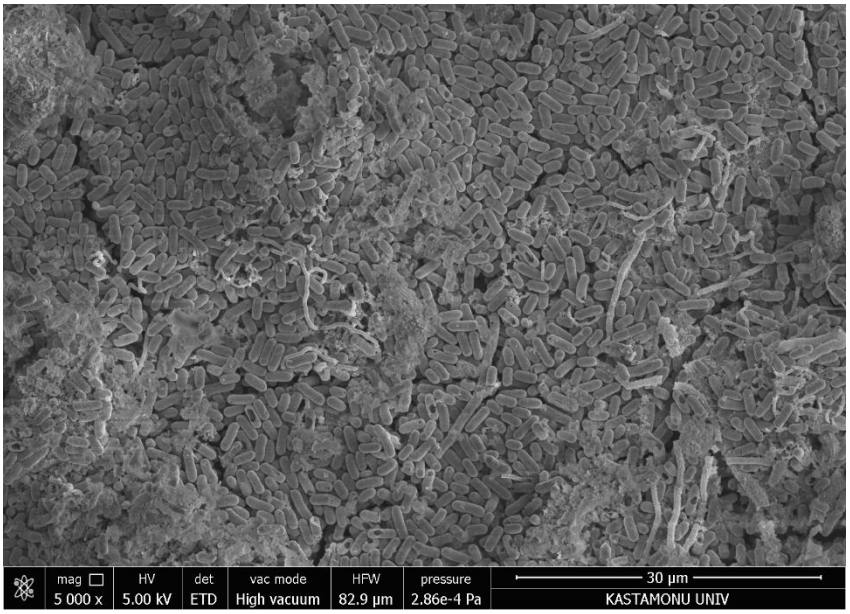
Şekil 4.57'de *E. coli* 7'nin ekstrakt uygulanmadığında metal kuponda 20.000 büyütmedeki SEM görüntüsü verilmiştir.

4.7.3 *P. hartigii* - EtOH Ekstraktının *E. coli* 9 Suşu Üzerindeki Antibiyofilm Etkisine Ait SEM Görüntüleri



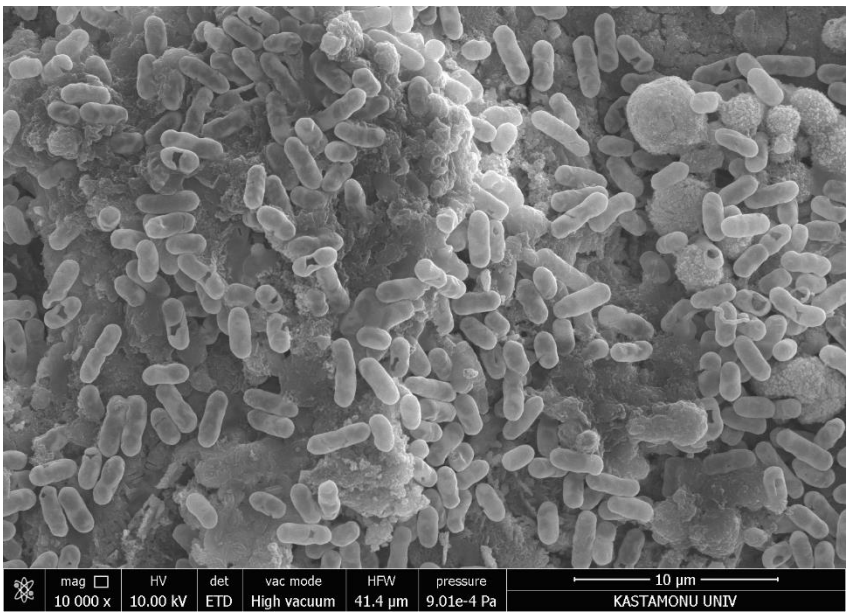
Şekil 4.58 *P. hartigii*-EtOH - *E. coli* 9 x 1000'lik SEM görüntüsü

Şekil 4.58'de *P. hartigii* - EtOH ekstraktının *E. coli* 9 suşu üzerindeki antibiyofilm etkisinin 1000 büyütmedeki SEM görüntüsü verilmiştir.



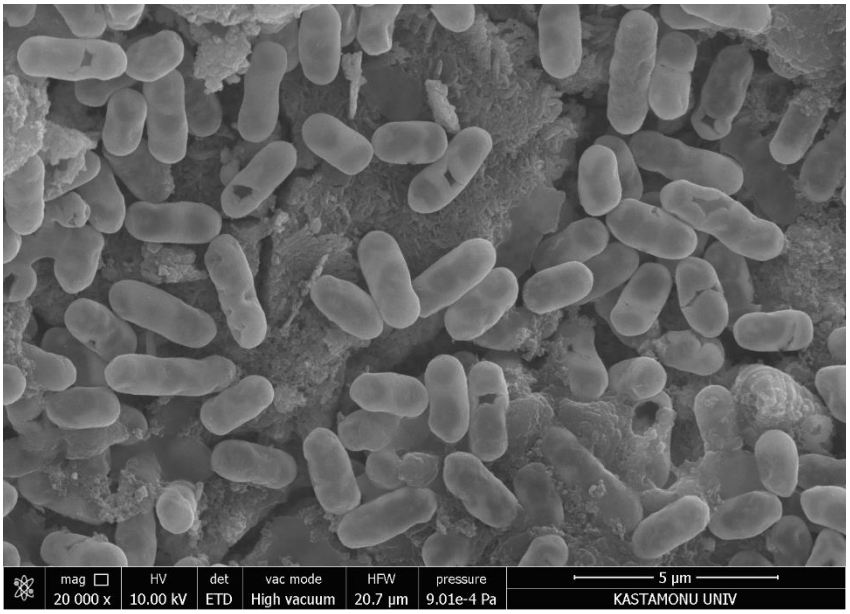
Şekil 4.59 *P. hartigii*-EtOH - *E. coli* 9 x 5000'lik SEM görüntüsü

Şekil 4.59'da *P. hartigii* - EtOH ekstraktının *E. coli* 9 suşu üzerindeki antibiyofilm etkisinin 5000 büyütmedeki SEM görüntüsü verilmiştir.



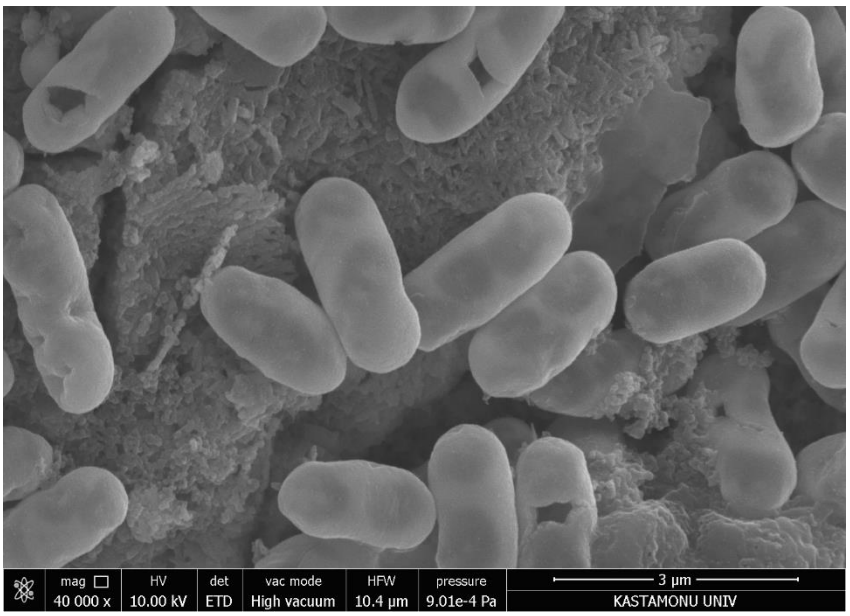
Şekil 4.60 *P. hartigii*-EtOH - *E. coli* 9 x 10.000'lik SEM görüntüsü

Şekil 4.60'da *P. hartigii* - EtOH ekstraktının *E. coli* 9 suşu üzerindeki antibiyofilm etkisinin 10.000 büyütmedeki SEM görüntüsü verilmiştir.



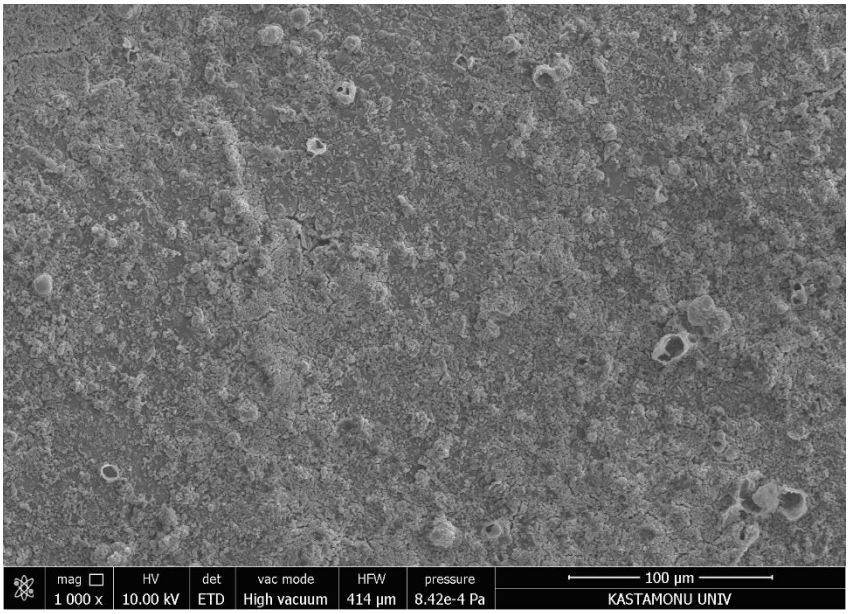
Şekil 4.61 *P. hartigii*-EtOH - *E. coli* 9 x 20.000'lik SEM görüntüsü

Şekil 4.61'de *P. hartigii* - EtOH ekstraktının *E. coli* 9 suşu üzerindeki antibiyofilm etkisinin 20.000 büyütmedeki SEM görüntüsü verilmiştir.



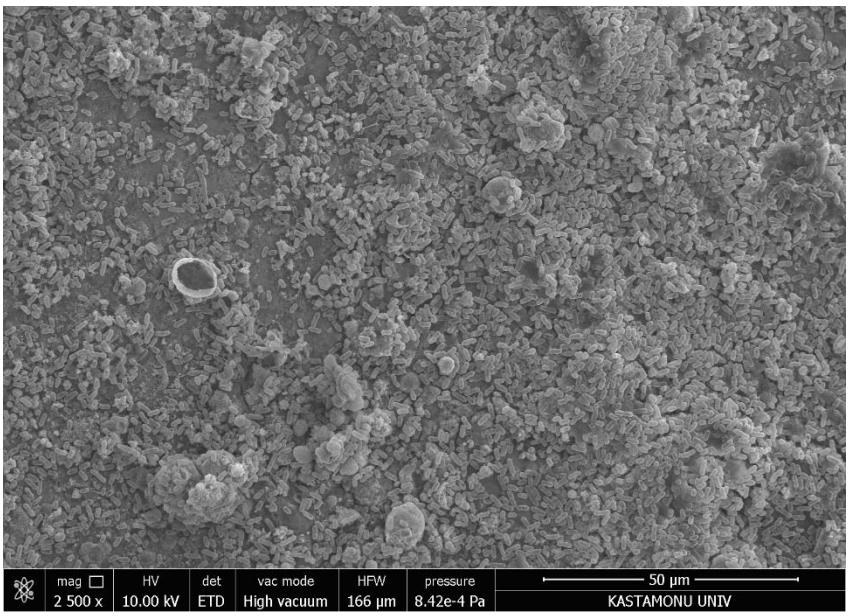
Şekil 4.62 *P. hartigii*-EtOH - *E. coli* 9 x 40.000'lik SEM görüntüsü

Şekil 4.62'de *P. hartigii* - EtOH ekstraktının *E. coli* 9 suşu üzerindeki antibiyofilm etkisinin 40.000 büyütmedeki SEM görüntüsü verilmiştir.



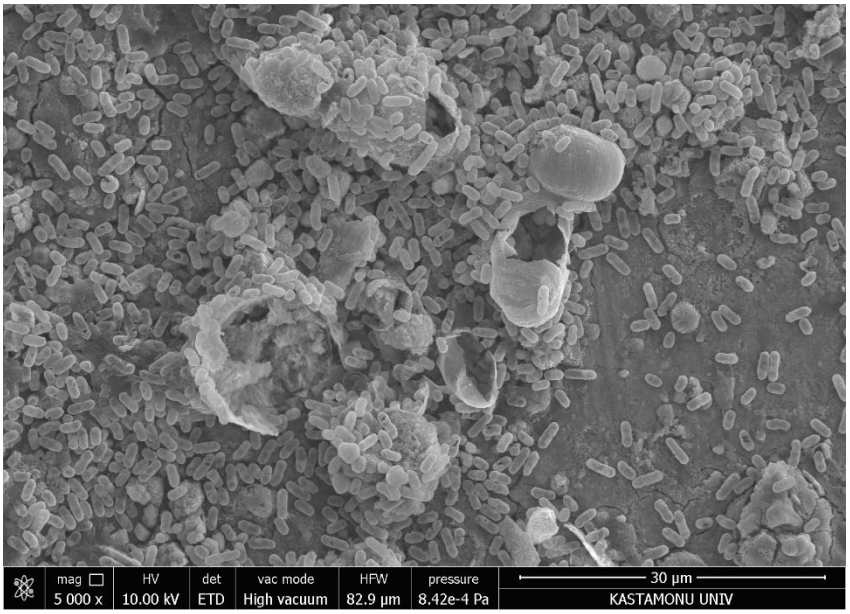
Şekil 4.63 *E. coli* 9 kontrol x 1000'lik SEM görüntüsü

Şekil 4.63'de *E. coli* 9'un ekstrakt uygulanmadığında metal kuponda 1000 büyütmedeki SEM görüntüsü verilmiştir.



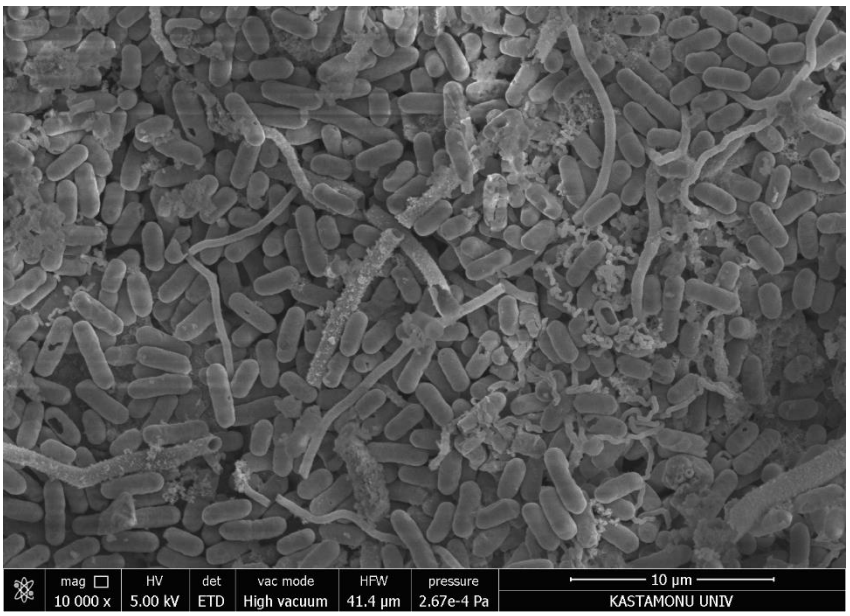
Şekil 4.64 *E. coli* 9 kontrol x 2500'lük SEM görüntüsü

Şekil 4.64'te *E. coli* 9'un ekstrakt uygulanmadığında metal kuponda 2500 büyütmedeki SEM görüntüsü verilmiştir.



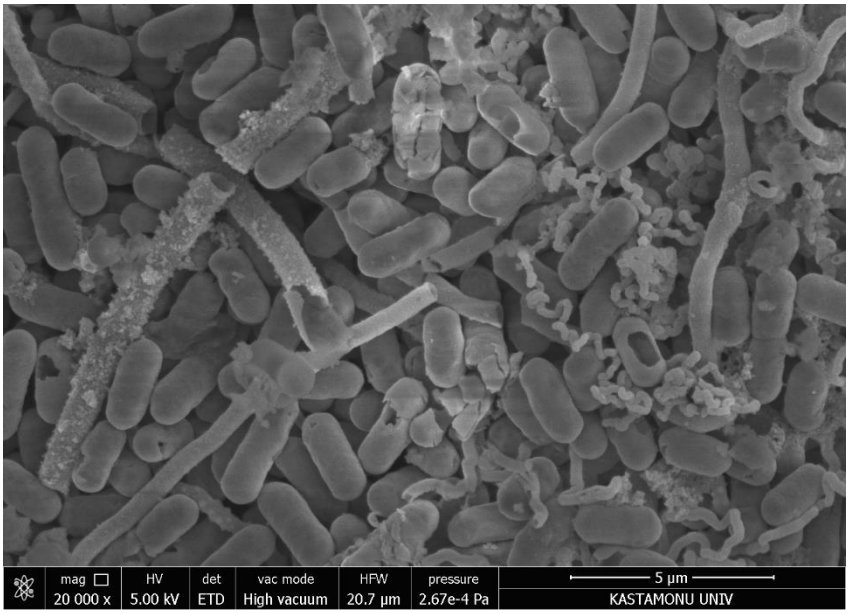
Şekil 4.65 *E. coli* 9 kontrol x 5000'lik SEM görüntüsü

Şekil 4.65'de *E. coli* 9'un ekstrakt uygulanmadığında metal kuponda 5000 büyütmedeki SEM görüntüsü verilmiştir.



Şekil 4.66 *E. coli* 9 kontrol x 10.000'lik SEM görüntüsü

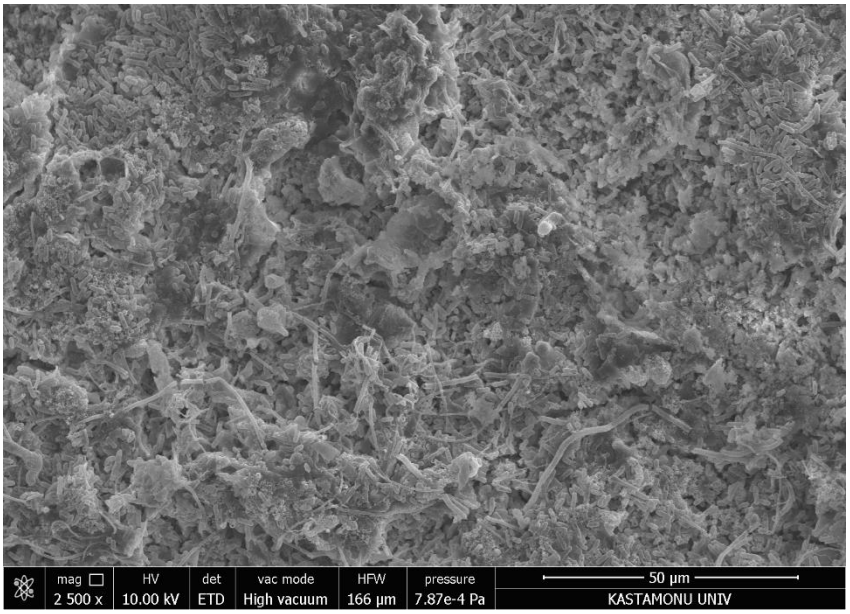
Şekil 4.66'da *E. coli* 9'un ekstrakt uygulanmadığında metal kuponda 10.000 büyütmedeki SEM görüntüsü verilmiştir.



Şekil 4.67 *E. coli* 9 kontrol x 20.000'lik SEM görüntüsü

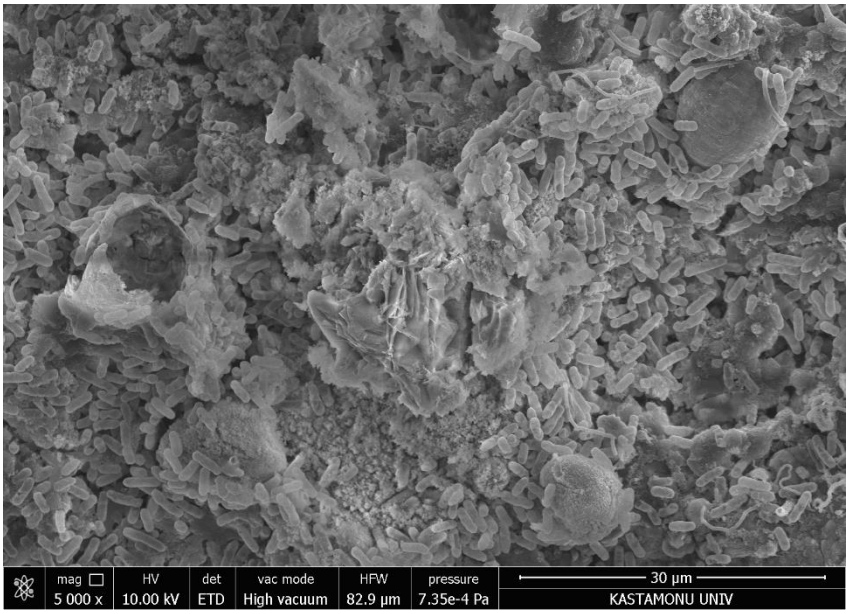
Şekil 4.67'de *E. coli* 9'un ekstrakt uygulanmadığında metal kuponda 20.000 büyütmedeki SEM görüntüsü verilmiştir.

4.7.4 *P. hartigii* - EtOH Ekstraktının *E. coli* 11 Suşu Üzerindeki Antibiyofilm Etkisine Ait SEM Görüntüleri



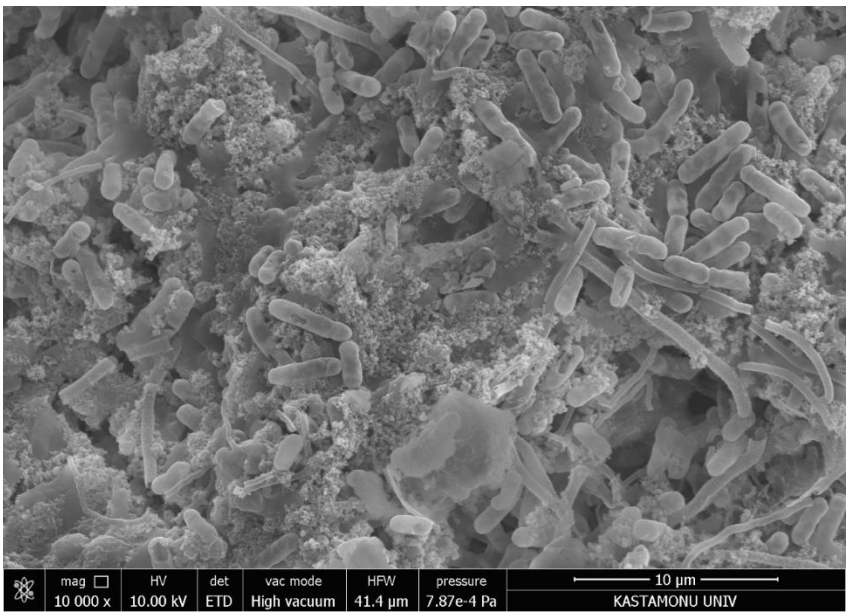
Şekil 4.68 *P. hartigii*-EtOH - *E. coli* 11 x 2500'lük SEM görüntüsü

Şekil 4.68'de *P. hartigii* - EtOH ekstraktının *E. coli* 11 suşu üzerindeki antibiyofilm etkisinin 2500 büyütmedeki SEM görüntüsü verilmiştir.



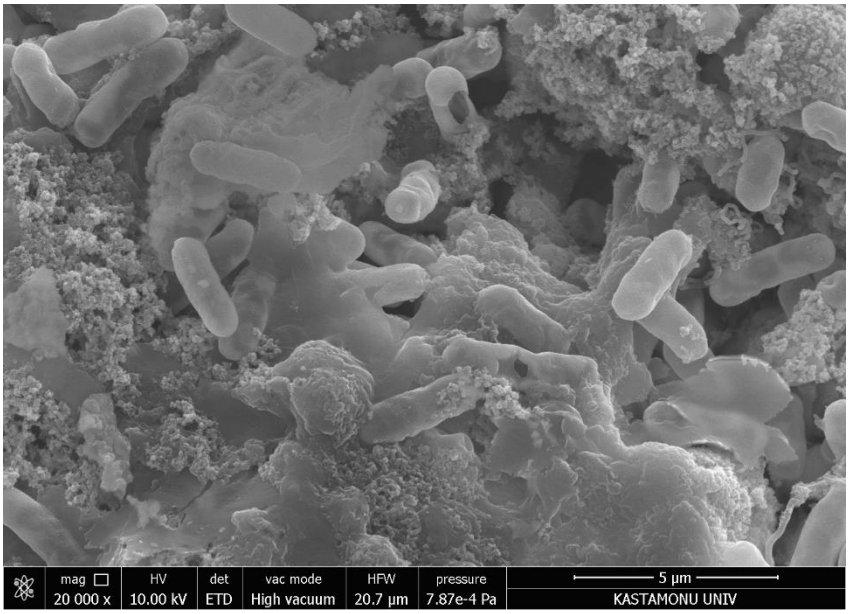
Şekil 4.69 *P. hartigii*-EtOH - *E. coli* 11 x 5000'lik SEM görüntüsü

Şekil 4.69'te *P. hartigii* - EtOH ekstraktının *E. coli* 11 suşu üzerindeki antibiyofilm etkisinin 5000 büyütmedeki SEM görüntüsü verilmiştir.



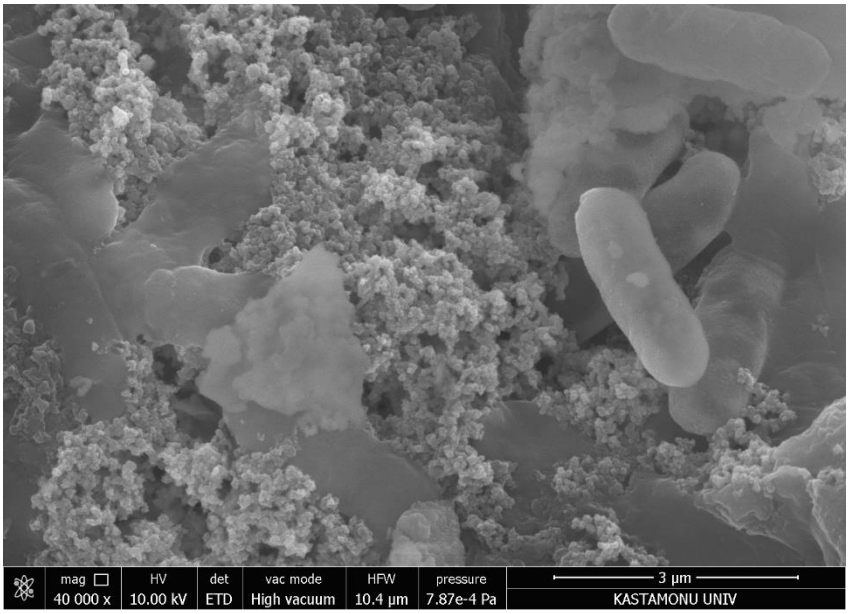
Şekil 4.70 *P. hartigii*-EtOH - *E. coli* 11 x 10.000'lik SEM görüntüsü

Şekil 4.70'da *P. hartigii* - EtOH ekstraktının *E. coli* 11 suşu üzerindeki antibiyofilm etkisinin 10.000 büyütmedeki SEM görüntüsü verilmiştir.



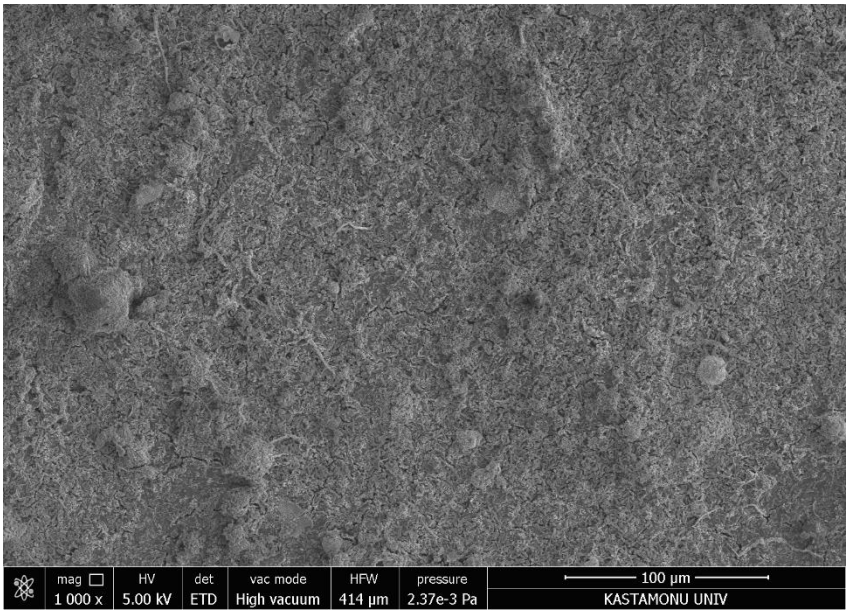
Şekil 4.71 *P. hartigii*-EtOH - *E. coli 11* X 20.000'lik SEM görüntüsü

Şekil 4.71'de *P. hartigii* - EtOH ekstraktının *E. coli* 11 suşu üzerindeki antibiyofilm etkisinin 20.000 büyütmedeki SEM görüntüsü verilmiştir.



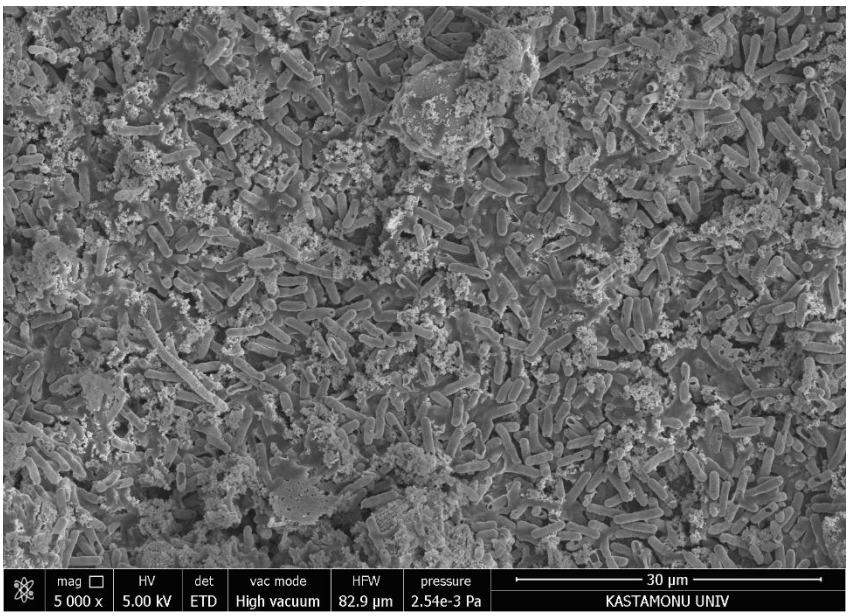
Şekil 4.72 *P. hartigii*-EtOH - *E. coli* 11 x 40.000'lik SEM görüntüsü

Şekil 4.72'de *P. hartigii* - EtOH ekstraktının *E. coli* 11 suşu üzerindeki antibiyofilm etkisinin 40.000 büyütmedeki SEM görüntüsü verilmiştir.



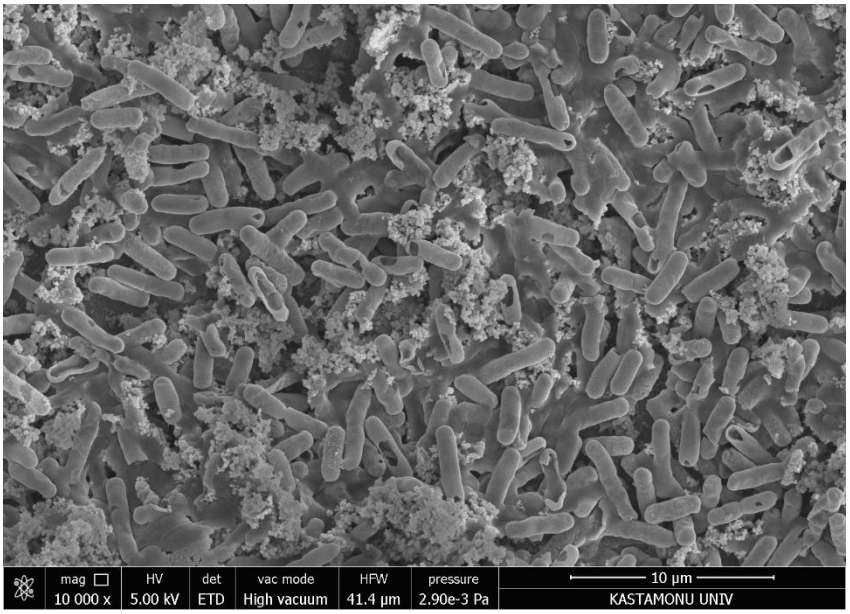
Şekil 4.73 *E. coli* 11 kontrol x 1000'lik SEM görüntüsü

Şekil 4.73'de *E. coli* 11'in ekstrakt uygulanmadığında metal kuponda 1000 büyütmedeki SEM görüntüsü verilmiştir.



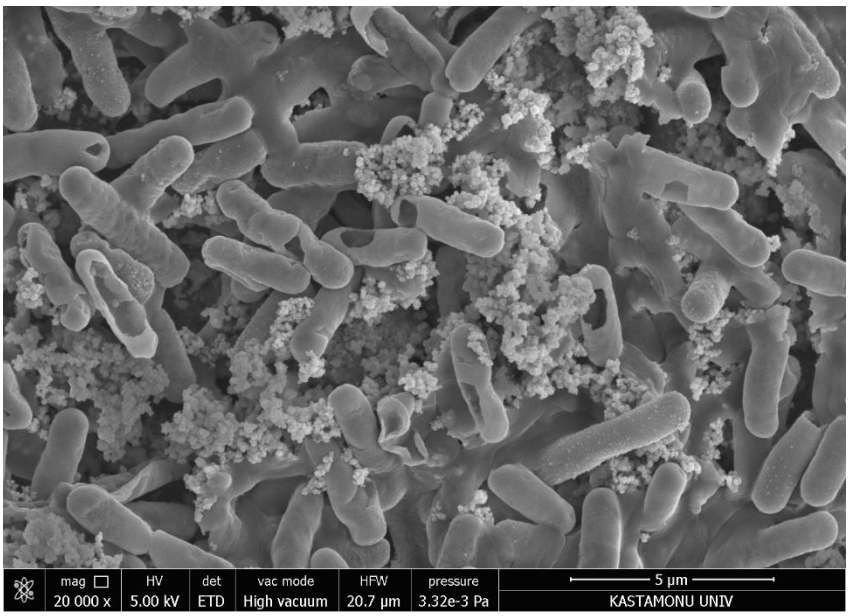
Şekil 4.74 *E. coli* 11 kontrol x 5000'lik SEM görüntüsü

Şekil 4.74'te *E. coli* 11'in ekstrakt uygulanmadığında metal kuponda 5000 büyütmedeki SEM görüntüsü verilmiştir.



Şekil 4.75 *E. coli* 11 kontrol x 10.000'lik SEM görüntüsü

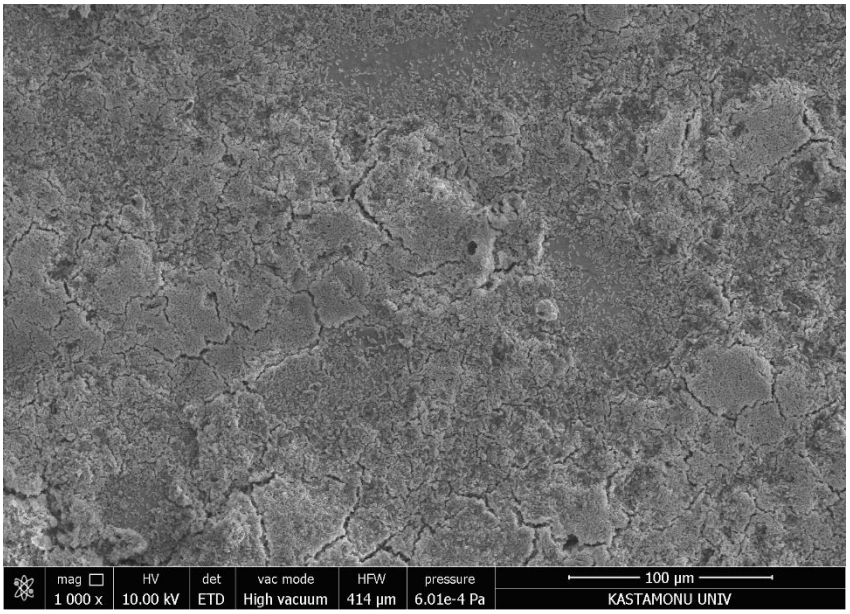
Şekil 4.75'de *E. coli* 11'in ekstrakt uygulanmadığında metal kuponda 10.000 büyütmedeki SEM görüntüsü verilmiştir.



Şekil 4.76 *E. coli* 11 kontrol x 20.000'lik SEM görüntüsü

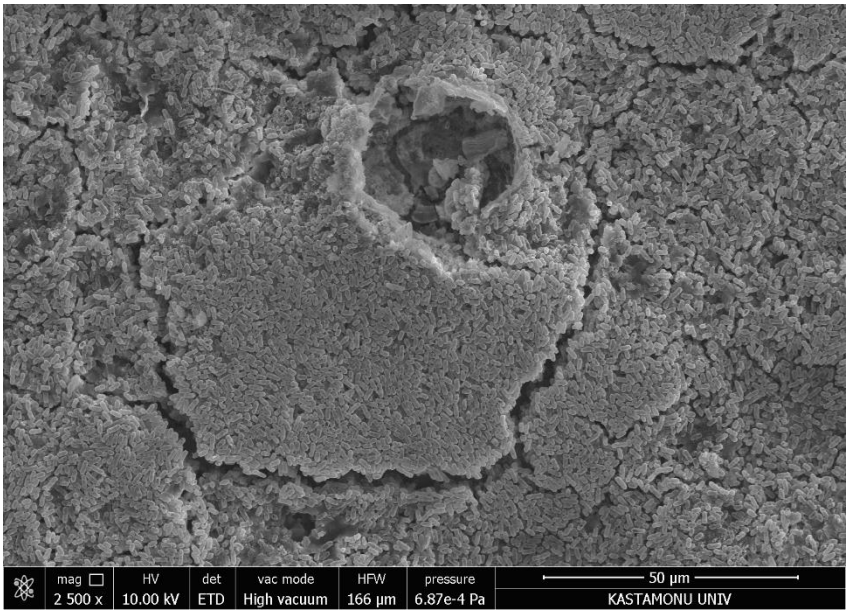
Şekil 4.76'da *E. coli* 11'in ekstrakt uygulanmadığında metal kuponda 20.000 büyütmedeki SEM görüntüsü verilmiştir.

4.7.5 *P. hartigii* - EtOH Ekstraktının *E. coli* 12 Suşu Üzerindeki Antibiyofilm Etkisine Ait SEM Görüntüleri



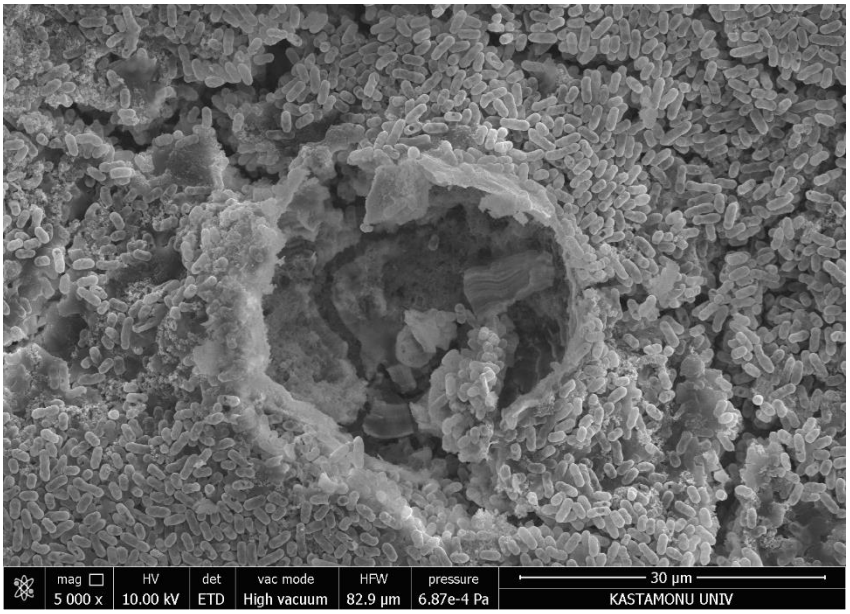
Şekil 4.77 *P. hartigii*-EtOH - *E. coli* 12 x 1000'lik SEM görüntüsü

Şekil 4.77'de *P. hartigii*-EtOH ekstraktının *E. coli* 12 suşu üzerindeki antibiyofilm etkisinin 1000 büyütmedeki SEM görüntüsü verilmiştir.



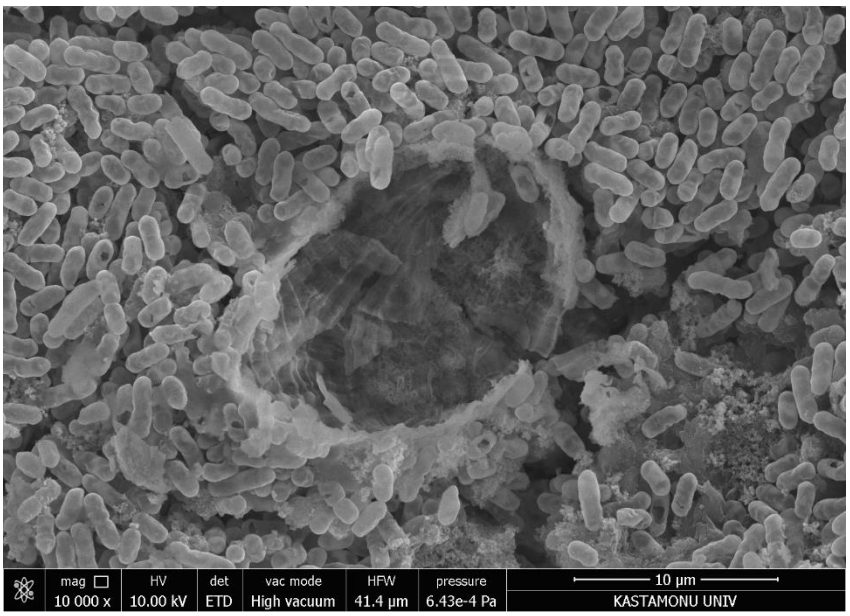
Şekil 4.78 *P. hartigii*-EtOH - *E. coli* 12 x 2500'lük SEM görüntüsü

Şekil 4.64'te *P. hartigii* - EtOH ekstraktının *E. coli* 12 suşu üzerindeki antibiyofilm etkisinin 2500 büyütmedeki SEM görüntüsü verilmiştir.



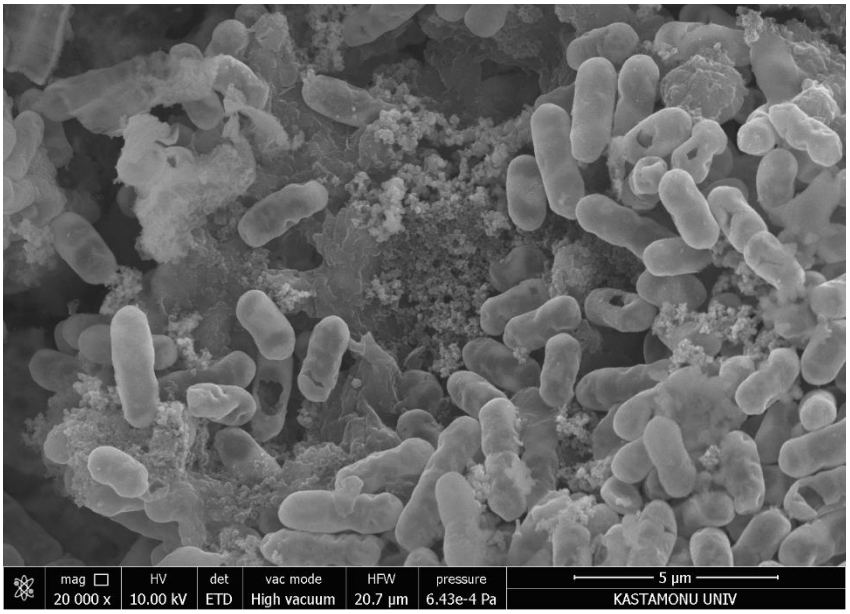
Şekil 4.79 *P. hartigii*-EtOH-*E. coli* 12 X 5000'lik SEM görüntüsü

Şekil 4.79'da *P. hartigii* - EtOH ekstraktının *E. coli* 12 suşu üzerindeki antibiyofilm etkisinin 5000 büyütmedeki SEM görüntüsü verilmiştir.



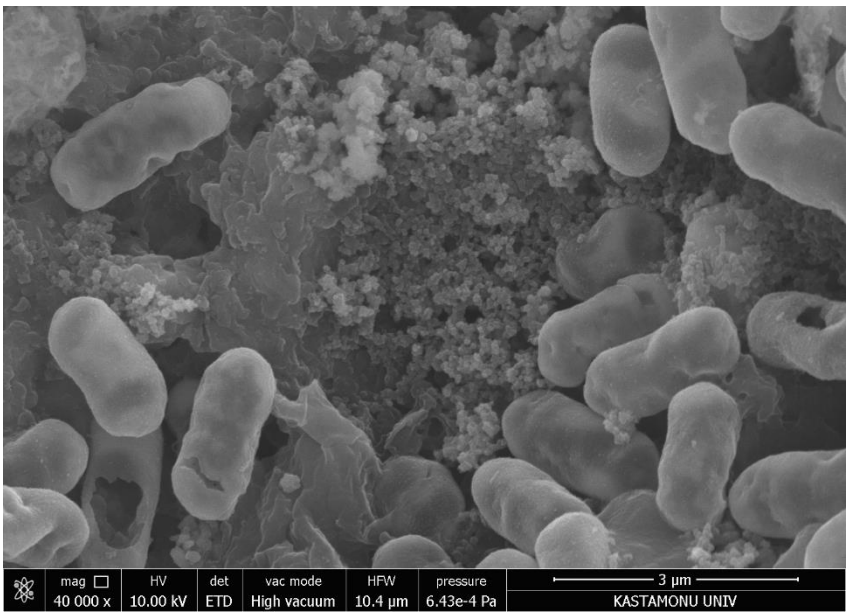
Şekil 4.80 *P. hartigii*-EtOH - *E. coli* 12 x 10.000'lik SEM görüntüsü

Şekil 4.80'de *P. hartigii* - EtOH ekstraktının *E. coli* 12 suşu üzerindeki antibiyofilm etkisinin 10.000 büyütmedeki SEM görüntüsü verilmiştir.



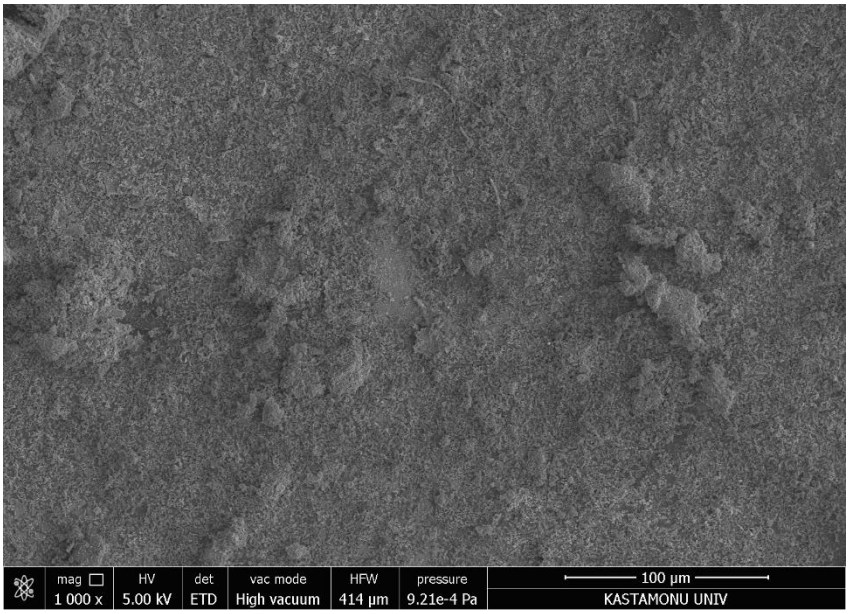
Şekil 4.81 *P. hartigii*-EtOH-*E. coli* 12 x 20.000'lik SEM görüntüsü

Şekil 4.81'de *P. hartigii* - EtOH ekstraktının *E. coli* 12 suşu üzerindeki antibiyofilm etkisinin 20.000 büyütmedeki SEM görüntüsü verilmiştir.



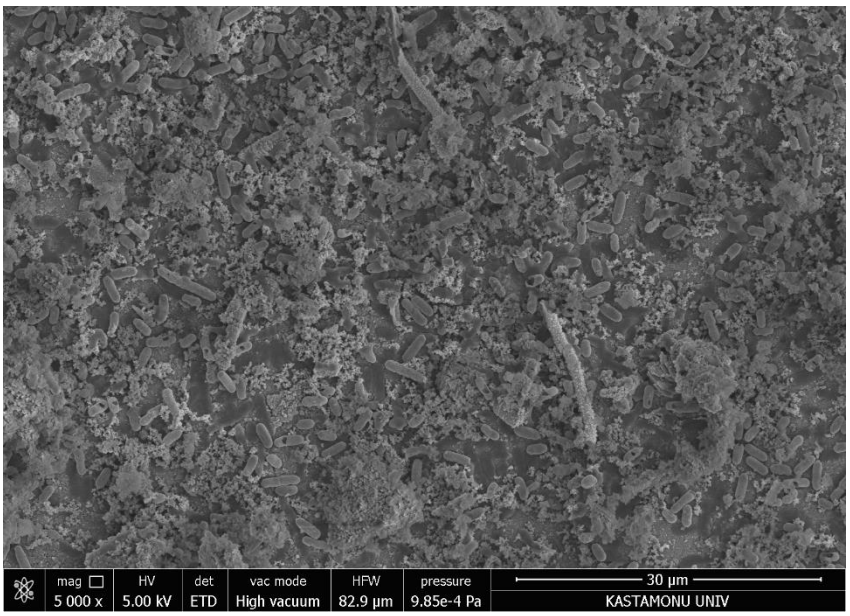
Şekil 4.82 *P. hartigii*-EtOH - *E. coli* 12 x 40.000'lik SEM görüntüsü

Şekil 4.82'de *P. hartigii* - EtOH ekstraktının *E. coli* 12 suşu üzerindeki antibiyofilm etkisinin 40.000 büyütmedeki SEM görüntüsü verilmiştir.



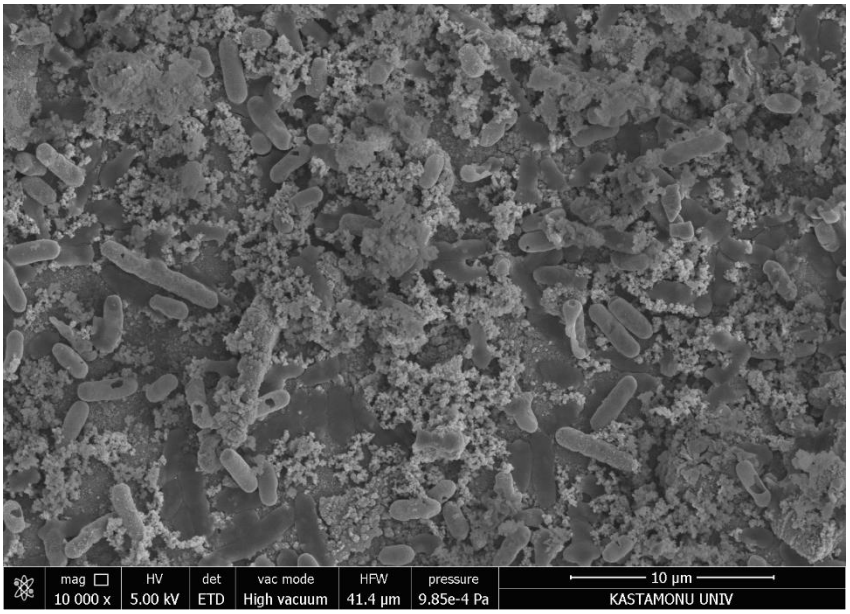
Şekil 4.83 *E. coli* 12 kontrol x 1000'lik SEM görüntüsü

Şekil 4.83'de *E. coli* 12'nin ekstrakt uygulanmadığında metal kuponda 1000 büyütmedeki SEM görüntüsü verilmiştir.



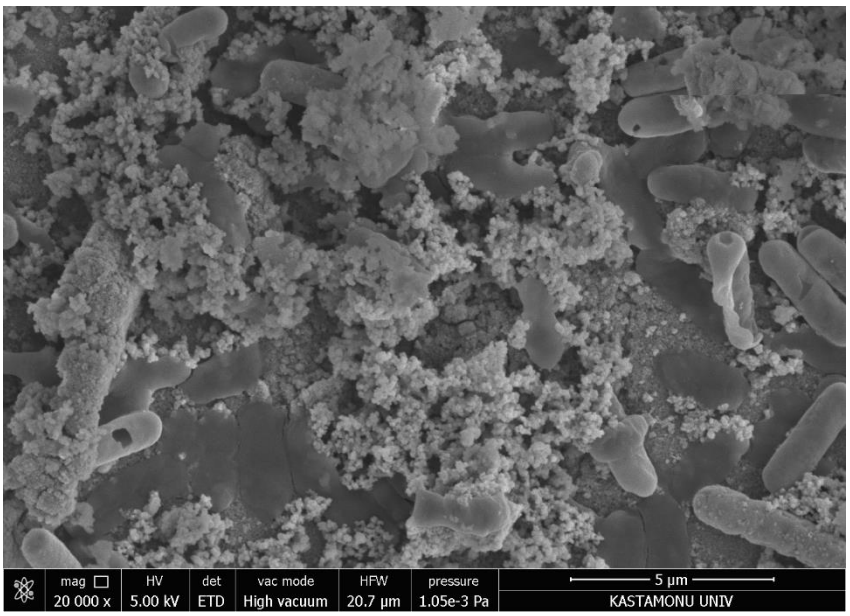
Şekil 4.84 *E. coli* 12 kontrol x 5000'lik SEM görüntüsü

Şekil 4.84'te *E. coli* 12'nin ekstrakt uygulanmadığında metal kuponda 5000 büyütmedeki SEM görüntüsü verilmiştir.



Şekil 4.85 *E. coli* 12 kontrol x 10.000'lik SEM görüntüsü

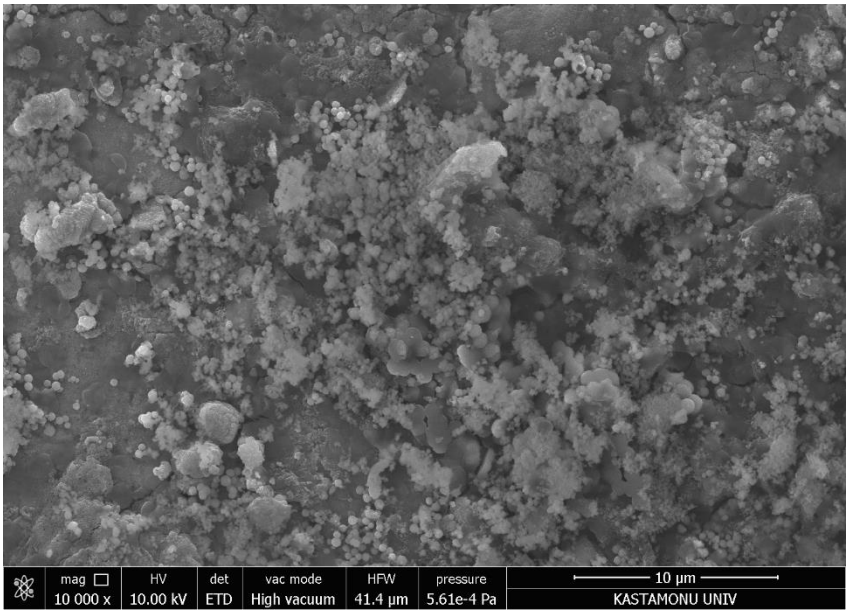
Şekil 4.85'de *E. coli* 12'nin ekstrakt uygulanmadığında metal kuponda 10.000 büyütmedeki SEM görüntüsü verilmiştir.



Şekil 4.86 *E. coli* 12 kontrol x 20.000'lik SEM görüntüsü

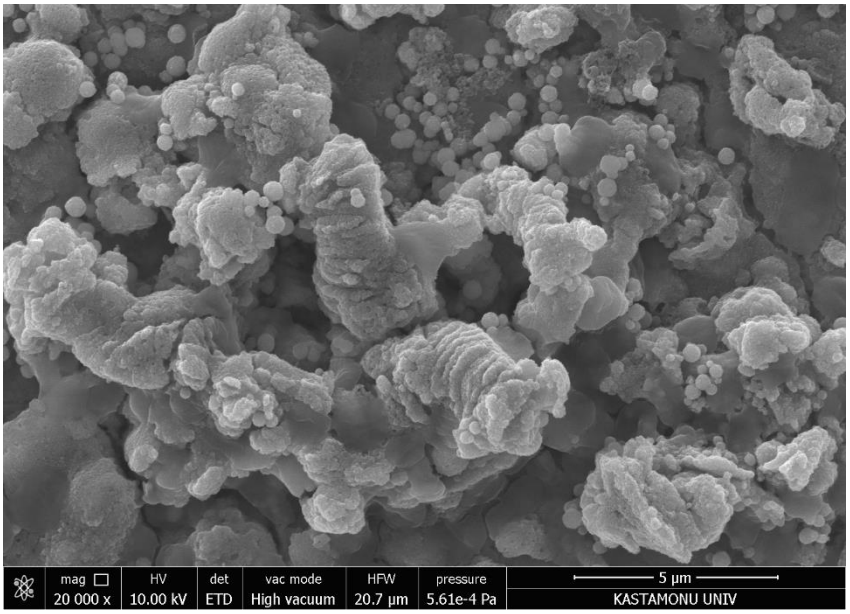
Şekil 4.86'da *E. coli* 12'nin ekstrakt uygulanmadığında metal kupondaki 20.000 büyütmedeki SEM görüntüsü verilmiştir.

4.7.6 *P. hartigii* - EtOH Ekstraktının *S. aureus* Suşu Üzerindeki Antibiyofilm Etkisine Ait SEM Görüntüleri



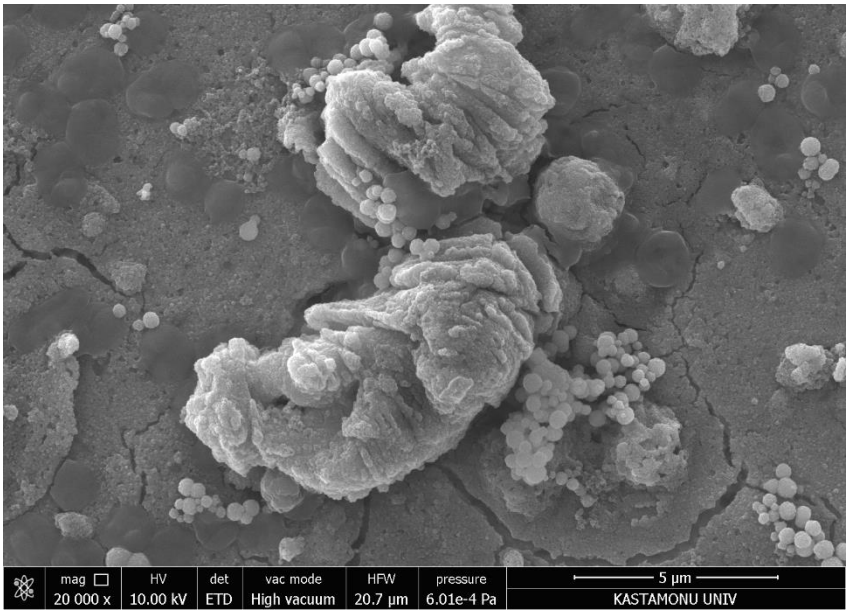
Şekil 4.87 *P. hartigii*-EtOH - *S. aureus* x 10.000'lik SEM görüntüsü

Şekil 4.87'de *P. hartigii* - EtOH ekstraktının *S. aureus* suşu üzerindeki antibiyofilm etkisinin 10.000 büyütmedeki SEM görüntüsü verilmiştir.



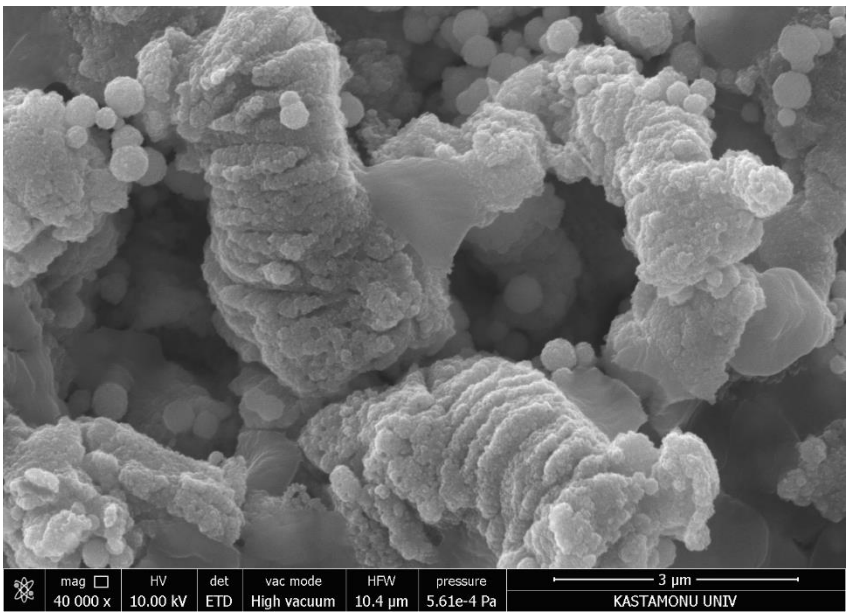
Şekil 4.88 *P. hartigii*-EtOH - *S. aureus* X 20.000'lik SEM görüntüsü

Şekil 4.88'de *P. hartigii* - EtOH ekstraktının *S. aureus* suşu üzerindeki antibiyofilm etkisinin 20.000 büyütmedeki SEM görüntüsü verilmiştir.



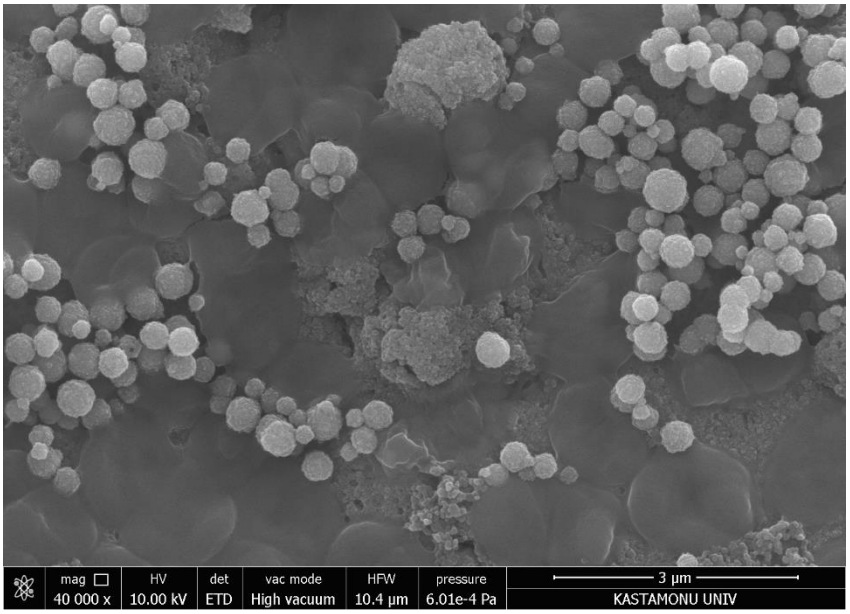
Şekil 4.89 *P. hartigii*-EtOH - *S. aureus* x 20.000'lik SEM görüntüsü

Şekil 4.89'da *P. hartigii* - EtOH ekstraktının *S. aureus* suşu üzerindeki antibiyofilm etkisinin 20.000 büyütmedeki SEM görüntüsü farklı bir açıdan verilmiştir.



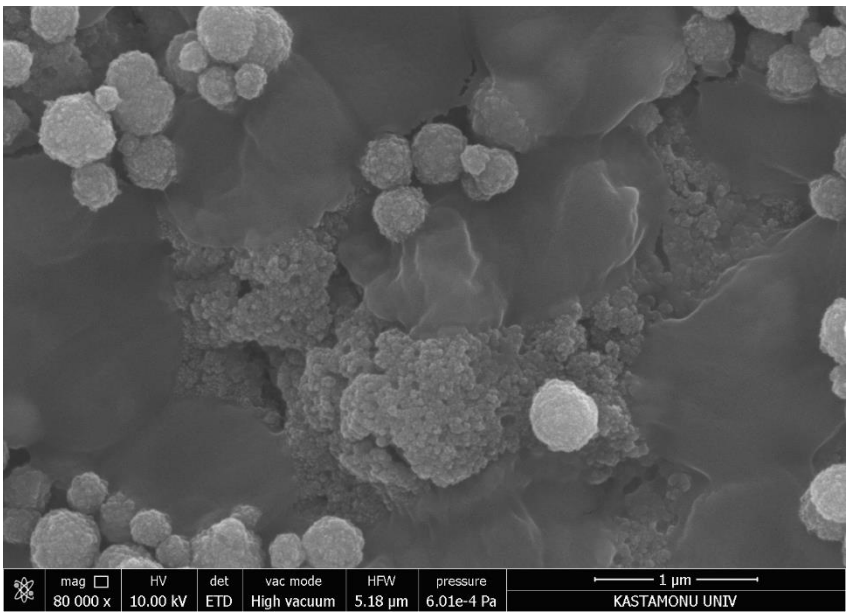
Şekil 4.90 *P. hartigii*-EtOH - *S. aureus* x 40.000'lik SEM görüntüsü

Şekil 4.90'da *P. hartigii* - EtOH ekstraktının *S. aureus* suşu üzerindeki antibiyofilm etkisinin 20.000 büyütmedeki SEM görüntüsü verilmiştir.



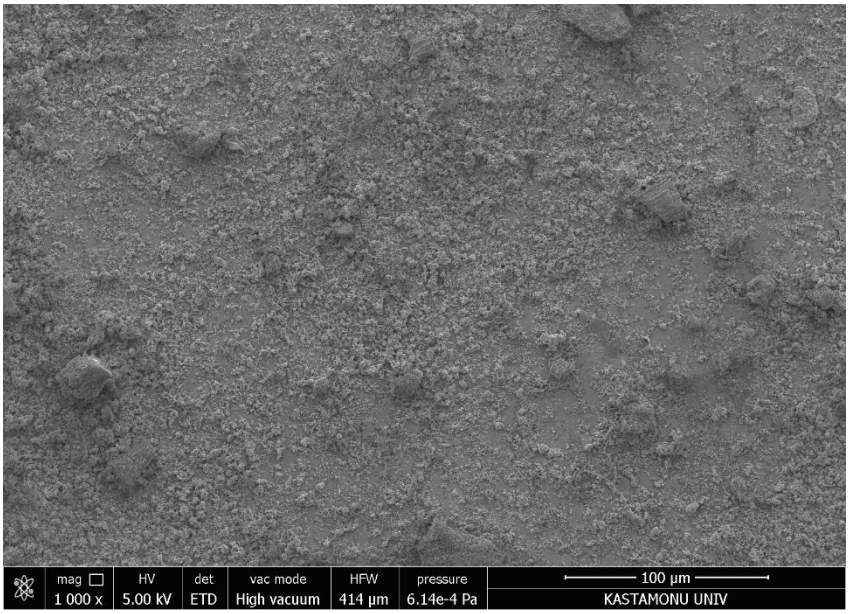
Şekil 4.91 *P. hartigii*-EtOH - *S. aureus* x 40.000'lik SEM görüntüsü

Şekil 4.91'de *P. hartigii* - EtOH ekstraktının *S. aureus* suşu üzerindeki antibiyofilm etkisinin 40.000 büyütmedeki SEM görüntüsü farklı bir açıdan verilmiştir.



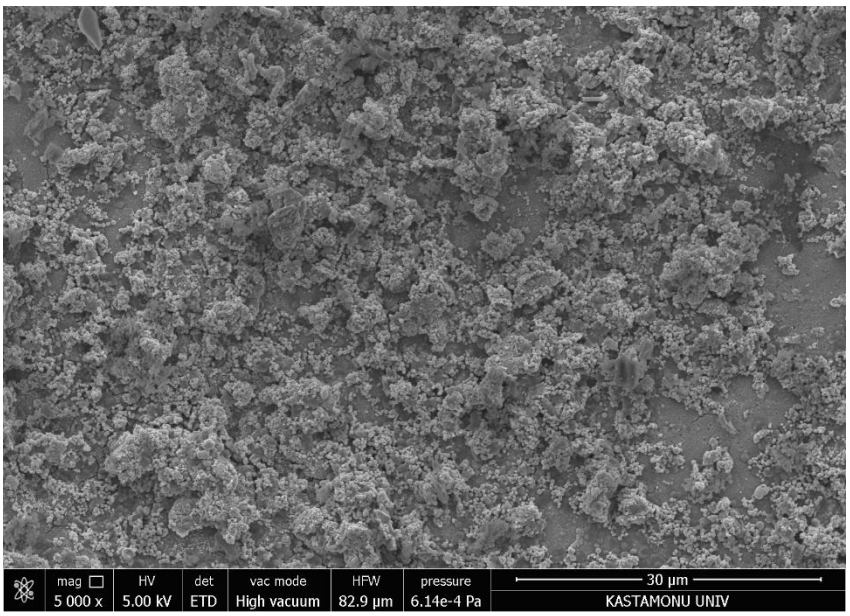
Şekil 4.92 *P. hartigii*-EtOH - *S. aureus* x 80.000'lik SEM görüntüsü

Şekil 4.92'de *P. hartigii* - EtOH ekstraktının *S. aureus* suşu üzerindeki antibiyofilm etkisinin 80.000 büyütmedeki SEM görüntüsü farklı bir açıdan verilmiştir.



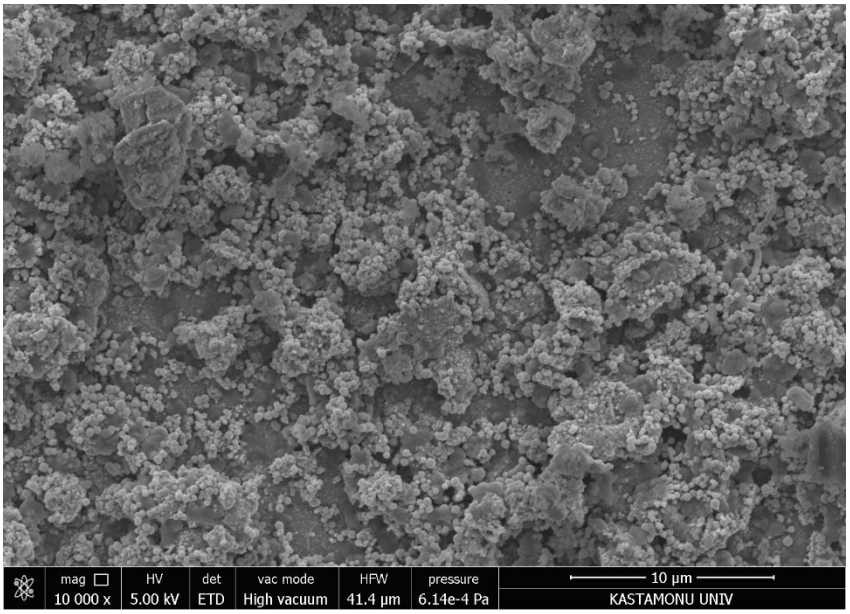
Şekil 4.93 *S. aureus* kontrol x 1000'lik SEM görüntüsü

Şekil 4.93'de *S. aureus*'un ekstrakt uygulanmadığında metal kuponda 1000 büyütmedeki SEM görüntüsü verilmiştir.



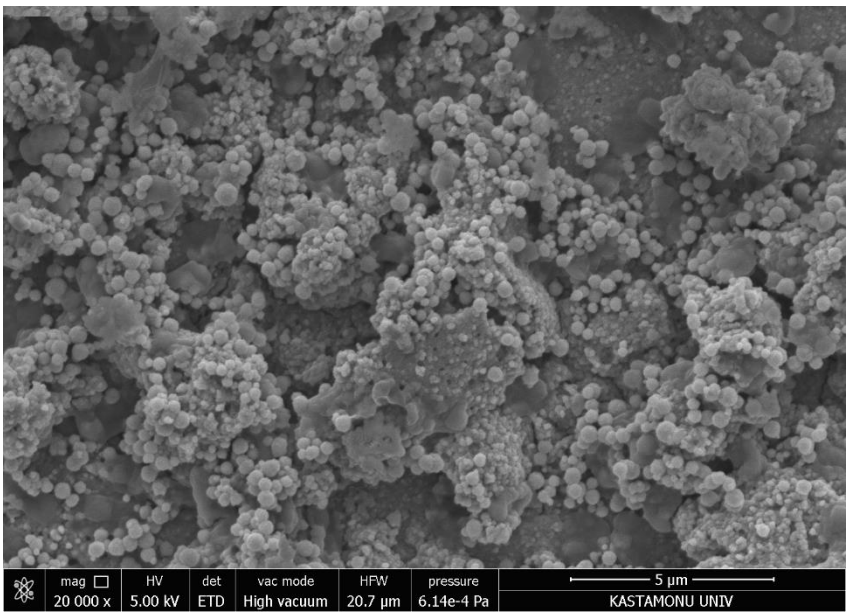
Şekil 4.94 S. *aureus* kontrol x 5000'lik SEM görüntüsü

Şekil 4.94'te *S. aureus*'un ekstrakt uygulanmadığında metal kuponda 5000 büyütmedeki SEM görüntüsü verilmiştir.



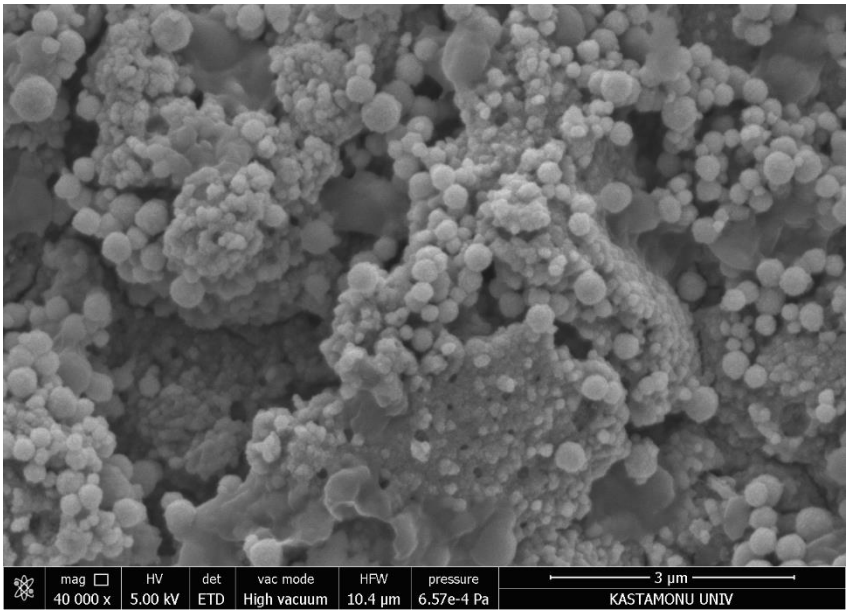
Şekil 4.95 *S. aureus* kontrol x 10.000'lik SEM görüntüsü

Şekil 4.95'de *S. aureus*'un ekstrakt uygulanmadığında metal kuponda 10.000 büyütmedeki SEM görüntüsü verilmiştir.



Şekil 4.96 *S. aureus* kontrol x 20.000'lik SEM görüntüsü

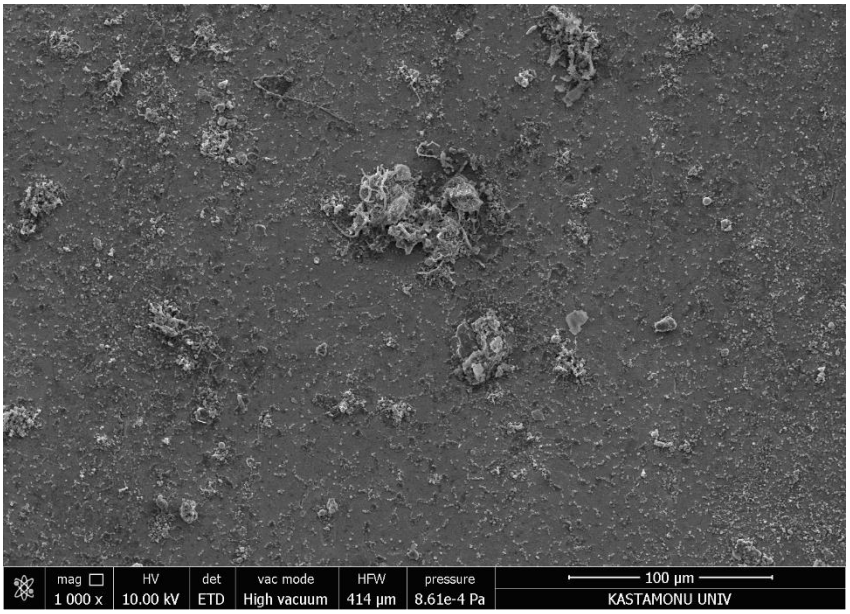
Şekil 4.96'da *S. aureus*'un ekstrakt uygulanmadığında metal kuponda 20.000 büyütmedeki SEM görüntüsü verilmiştir.



Şekil 4.97 *S. aureus* kontrol x 40.000'lik SEM görüntüsü

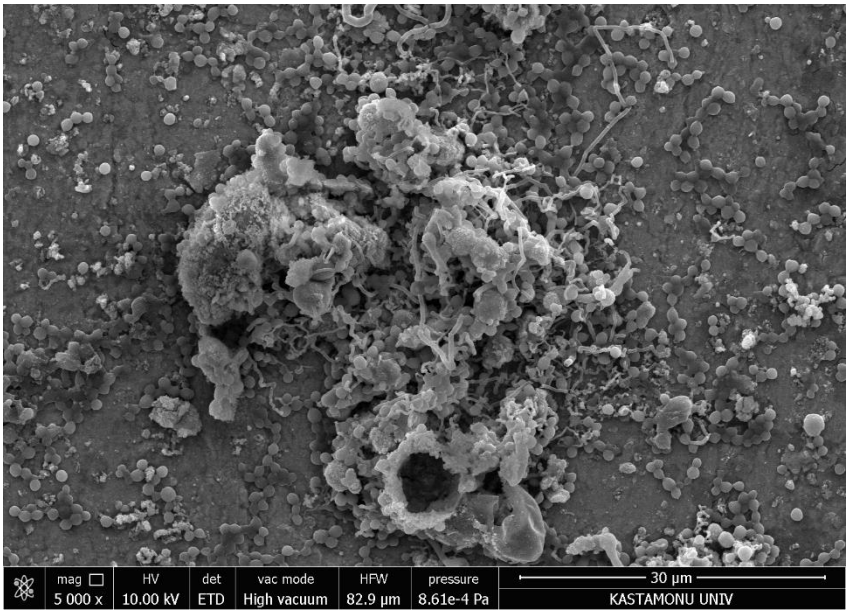
Şekil 4.97'de *S. aureus*'un ekstrakt uygulanmadığında metal kuponda 40.000 büyütmedeki SEM görüntüsü verilmiştir.

4.7.7 *P. hartigii* - Kloroform Ekstraktının *S. aureus* MRSA Suşu Üzerindeki Antibiyofilm Etkisine Ait SEM Görüntüleri



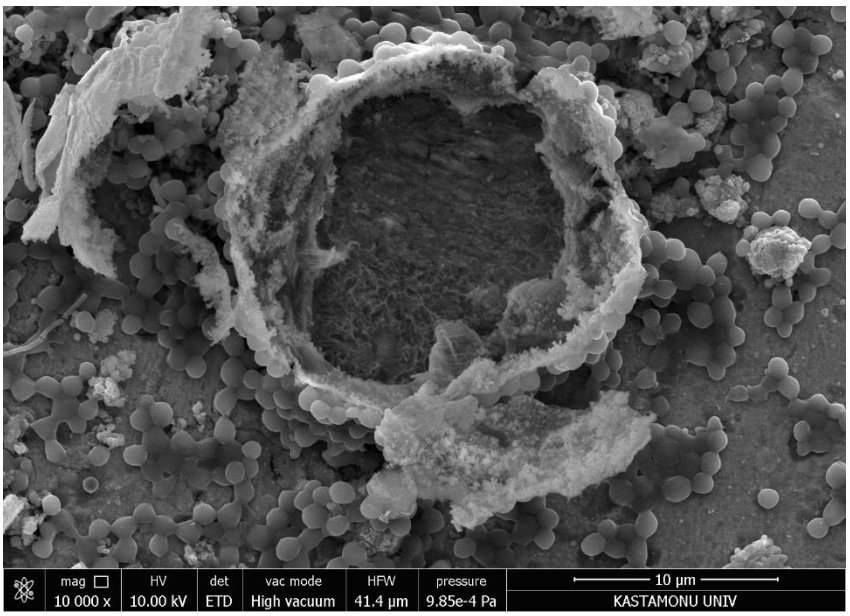
Şekil 4.98 *P. hartigii*-kloroform - *S. aureus* MRSA x 1000'lik SEM görüntüsü

Şekil 4.98'de *P. hartigii* - kloroform ekstraktının *S. aureus* MRSA suşu üzerindeki antibiyofilm etkisinin 1000 büyütmedeki SEM görüntüsü verilmiştir.



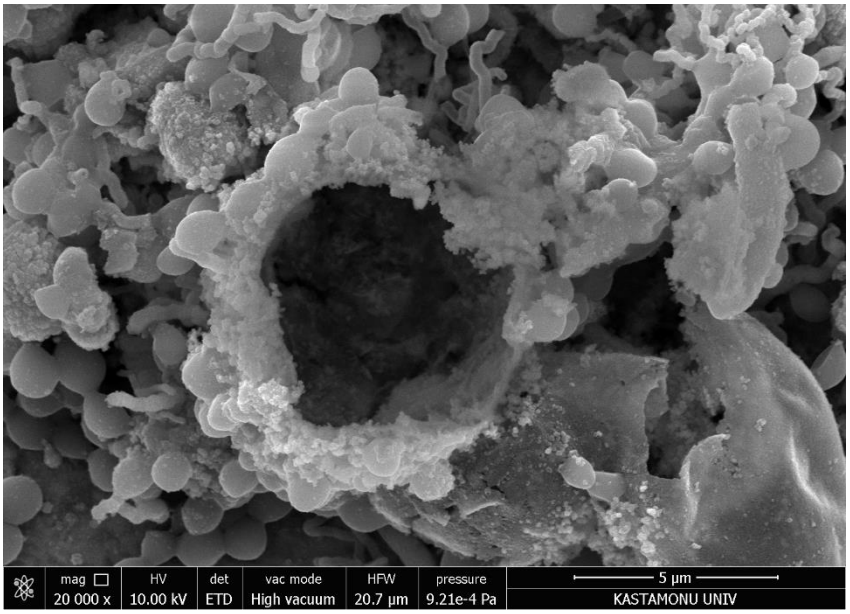
Şekil 4.99 *P. hartigii*-kloroform - *S. aureus* MRSA x 5000'lik SEM görüntüsü

Şekil 4.99'da *P. hartigii* - kloroform ekstraktının *S. aureus* MRSA suşu üzerindeki antibiyofilm etkisinin 5000 büyütmedeki SEM görüntüsü verilmiştir.



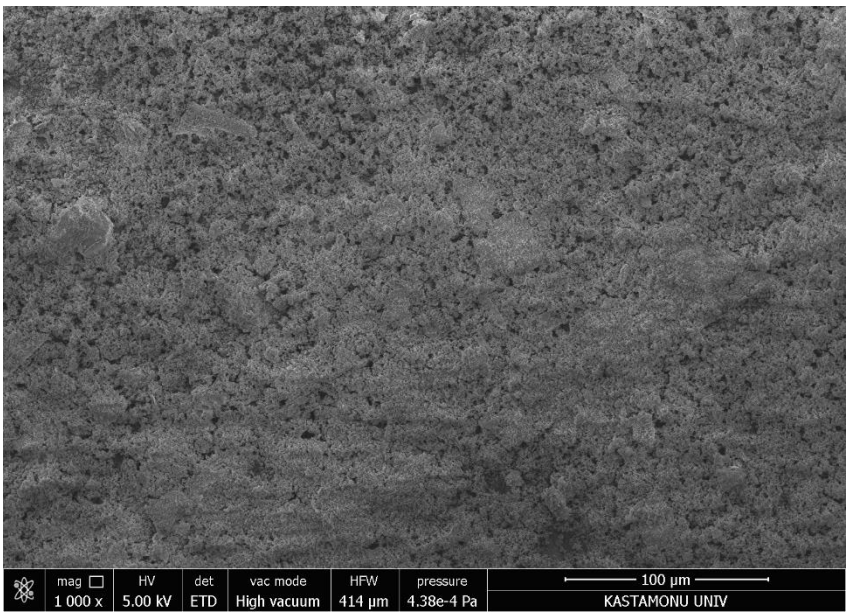
Şekil 4.100 *P. hartigii*-kloroform - *S. aureus* MRSA x 10.000'lik SEM görüntüsü

Şekil 4.100'de *P. hartigii* - kloroform ekstraktının *S. aureus* MRSA suşu üzerindeki antibiyofilm etkisinin 10.000 büyütmedeki SEM görüntüsü verilmiştir.



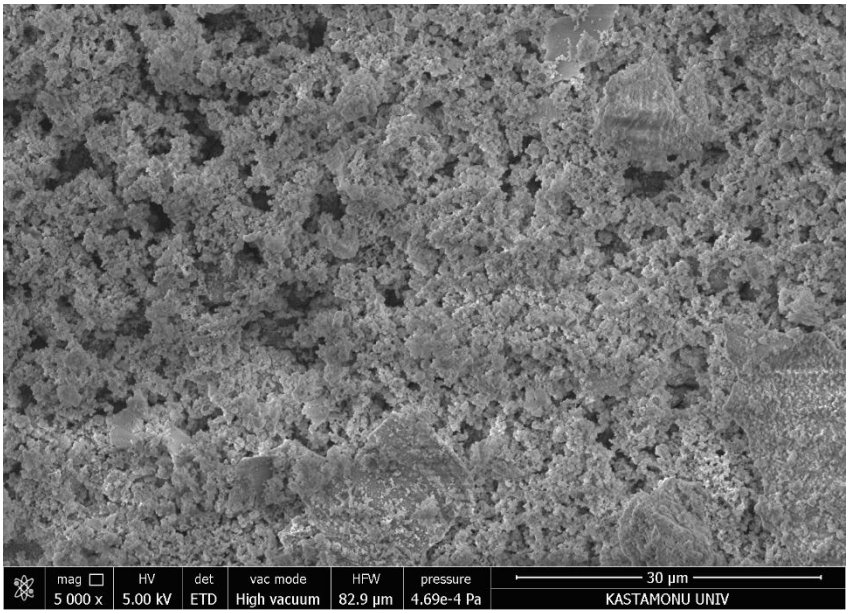
Şekil 4.101 *P. hartigii*-kloroform - *S. aureus* MRSA X 20.000'lik SEM görüntüsü

Şekil 4.101'de *P. hartigii* - kloroform ekstraktının *S. aureus* MRSA suşu üzerindeki antibiyofilm etkisinin 20.000 büyütmedeki SEM görüntüsü verilmiştir.



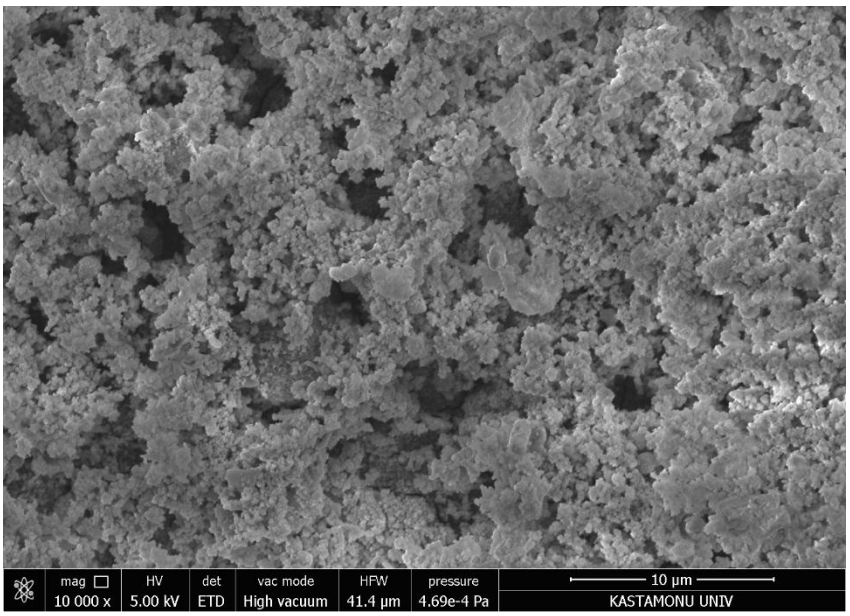
Şekil 4.102 *S. aureus* MRSA kontrol x 1000'lik SEM görüntüsü

Şekil 4.102'de *S. aureus* MRSA'nın ekstrakt uygulanmadığında metal kuponda 1000 büyütmedeki SEM görüntüsü verilmiştir.



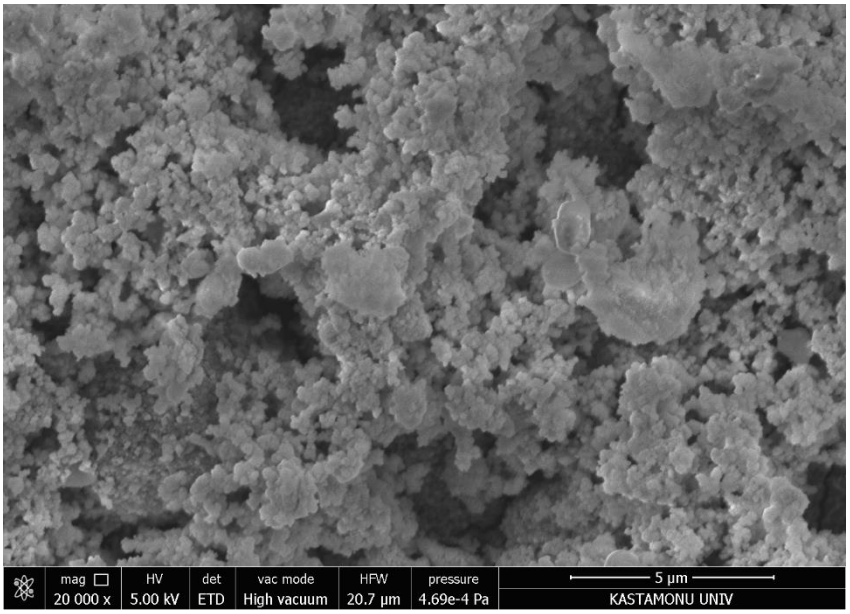
Şekil 4.103 *S. aureus* MRSA kontrol x 5000'lik SEM görüntüsü

Şekil 4.103'de *S. aureus* MRSA'nın ekstrakt uygulanmadığında metal kuponda 5000 büyütmedeki SEM görüntüsü verilmiştir.



Şekil 4.104 *S. aureus* MRSA kontrol x 10.000'lik SEM görüntüsü

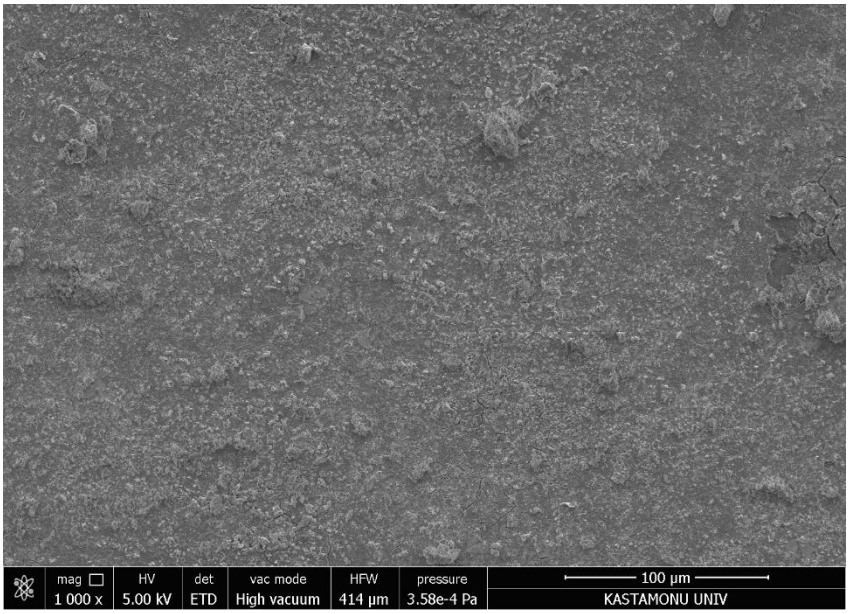
Şekil 4.104'de *S. aureus* MRSA'nın ekstrakt uygulanmadığında metal kuponda 10.000 büyütmedeki SEM görüntüsü verilmiştir.



Şekil 4.105 *S. aureus* MRSA kontrol x 20.000'lik SEM görüntüsü

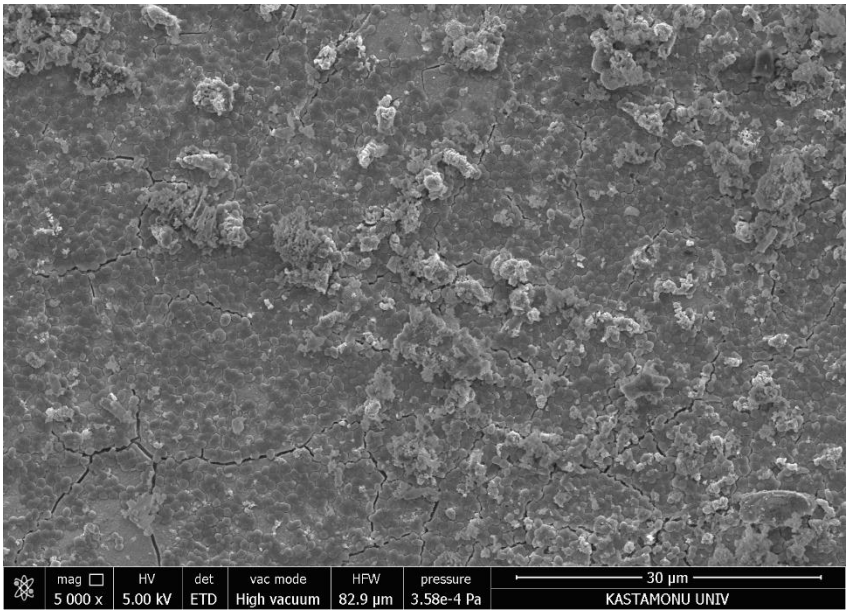
Şekil 4.105'de *S. aureus* MRSA'nın ekstrakt uygulanmadığında metal kuponda 20.000 büyütmedeki SEM görüntüsü verilmiştir.

4.7.8 *P. hartigii* - Kloroform Ekstraktının *C. albicans* Suşu Üzerindeki Antibiyofilm Etkisine Ait SEM Görüntüleri



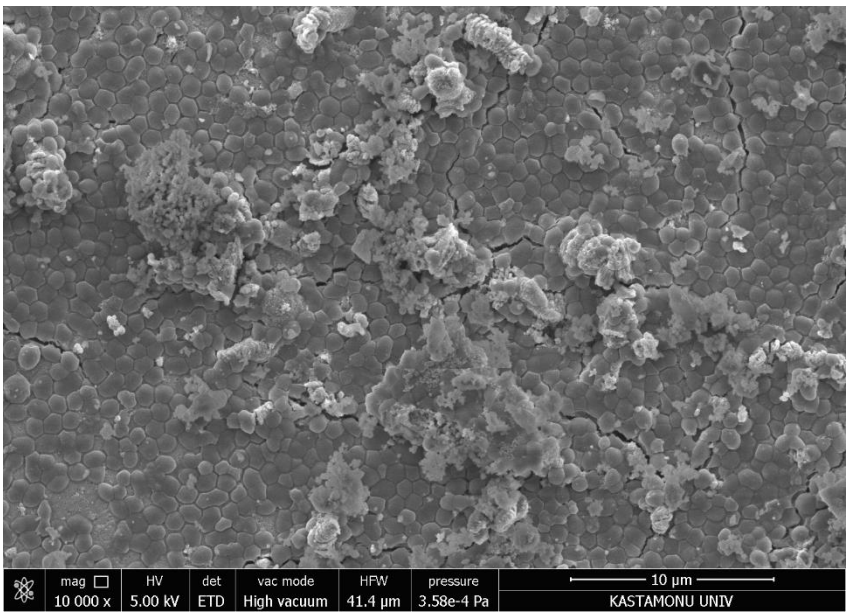
Şekil 4.106 *P. hartigii*-kloroform - *C. albicans* x 1000'lik SEM görüntüsü

Şekil 4.106'da *P. hartigii* - kloroform ekstraktının *C. albicans* suşu üzerindeki antibiyofilm etkisinin 10.000 büyütmedeki SEM görüntüsü verilmiştir.



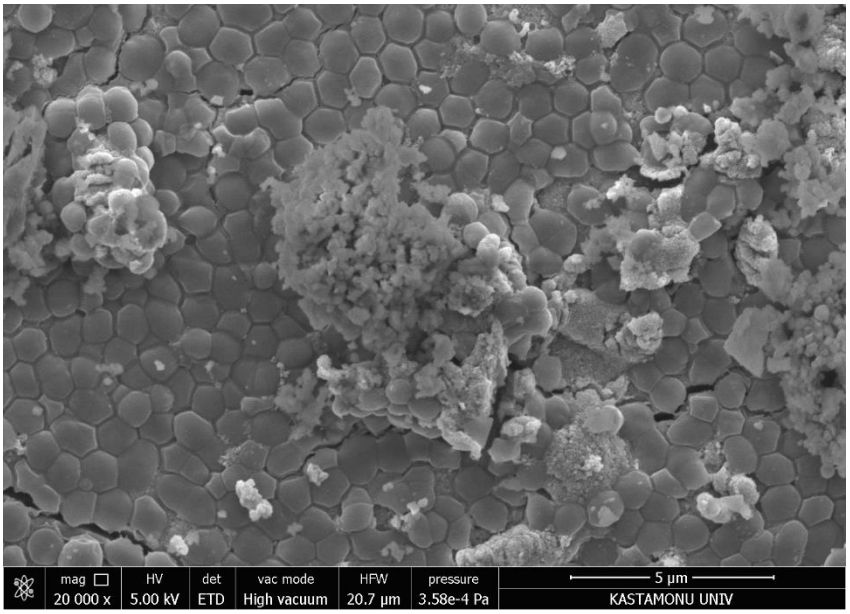
Şekil 4.107 *P. hartigii*-kloroform - *C. albicans* x 5000'lik SEM görüntüsü

Şekil 4.107'de *P. hartigii* - kloroform ekstraktının *C. albicans* suşu üzerindeki antibiyofilm etkisinin 5000 büyütmedeki SEM görüntüsü verilmiştir.



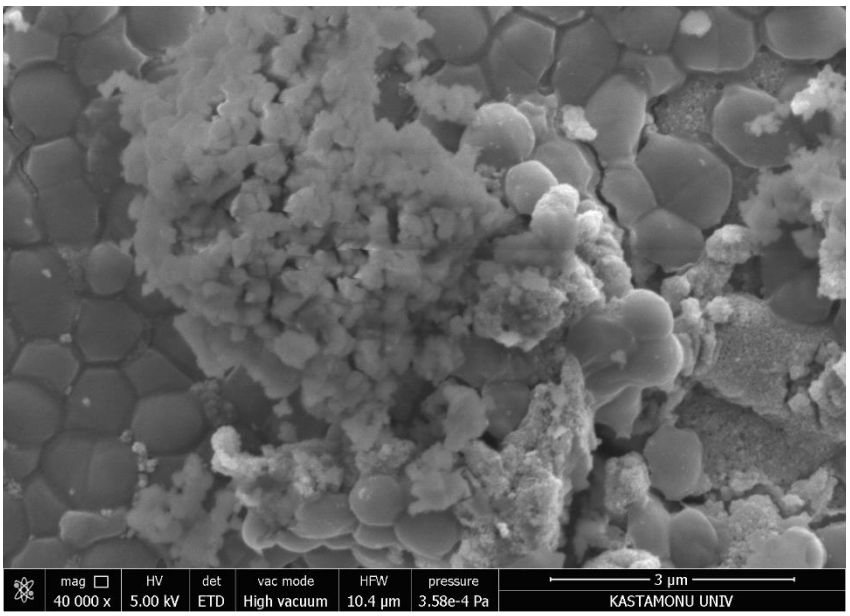
Şekil 4.108 *P. hartigii*-kloroform - *C. albicans* x 10.000'lik SEM görüntüsü

Şekil 4.108'de *P. hartigii* - kloroform ekstraktının *C. albicans* suşu üzerindeki antibiyofilm etkisinin 10.000 büyütmedeki SEM görüntüsü verilmiştir.



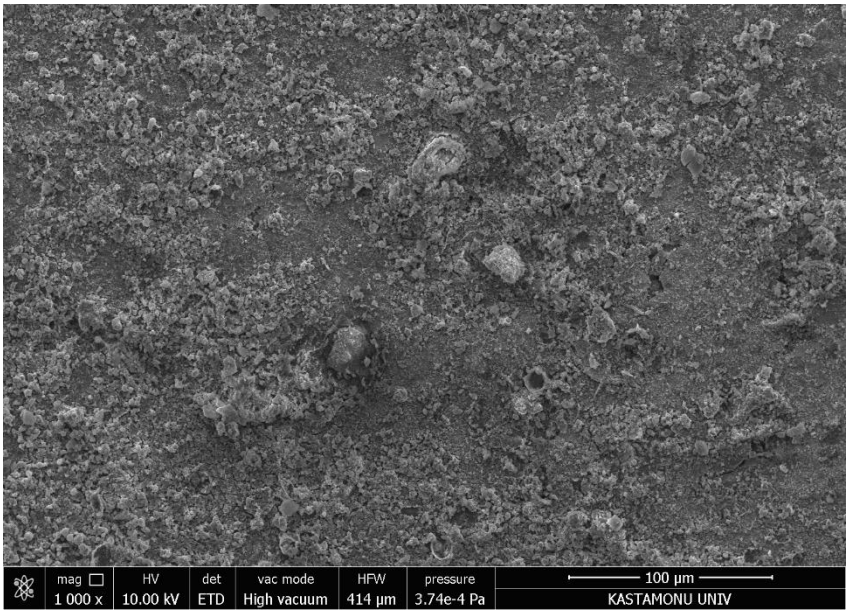
Şekil 4.109 *P. hartigii*-kloroform - *C. albicans* x 20.000'lik SEM görüntüsü

Şekil 4.109'da *P. hartigii* - kloroform ekstraktının *C. albicans* suşu üzerindeki antibiyofilm etkisinin 20.000 büyütmedeki SEM görüntüsü verilmiştir.



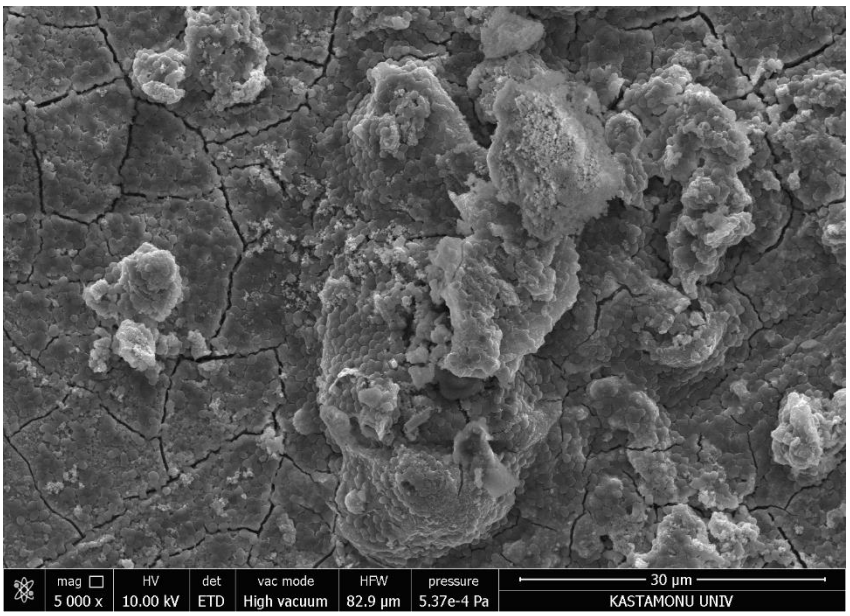
Şekil 4.110 *P. hartigii*-kloroform - *C. albicans* x 40.000'lik SEM görüntüsü

Şekil 4.110'da *P. hartigii* - kloroform ekstraktının *C. albicans* suşu üzerindeki antibiyofilm etkisinin 40.000 büyütmedeki SEM görüntüsü verilmiştir.



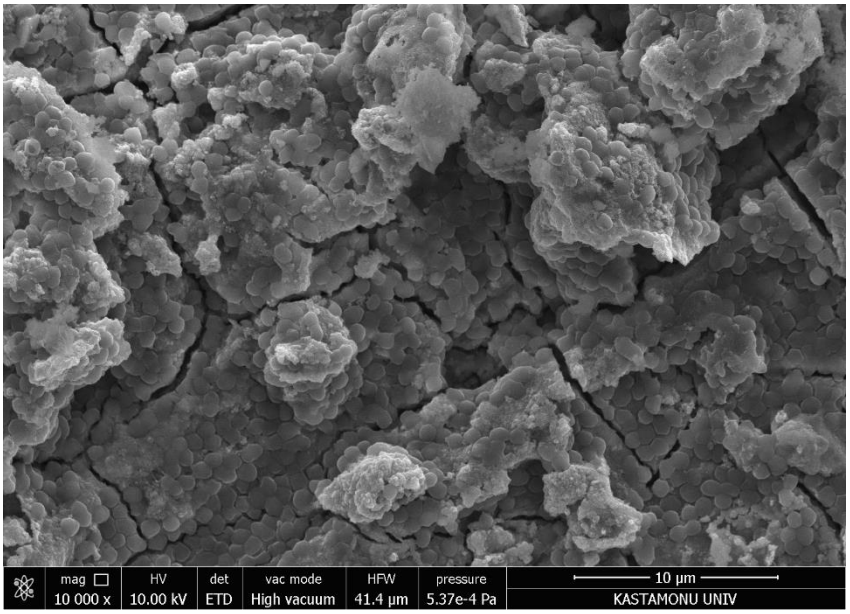
Şekil 4.111 *C. albicans* kontrol x 1000'lik SEM görüntüsü

Şekil 4.111'de *C. albicans*'ın ekstrakt uygulanmadığında metal kuponda 1000 büyütmedeki SEM görüntüsü verilmiştir.



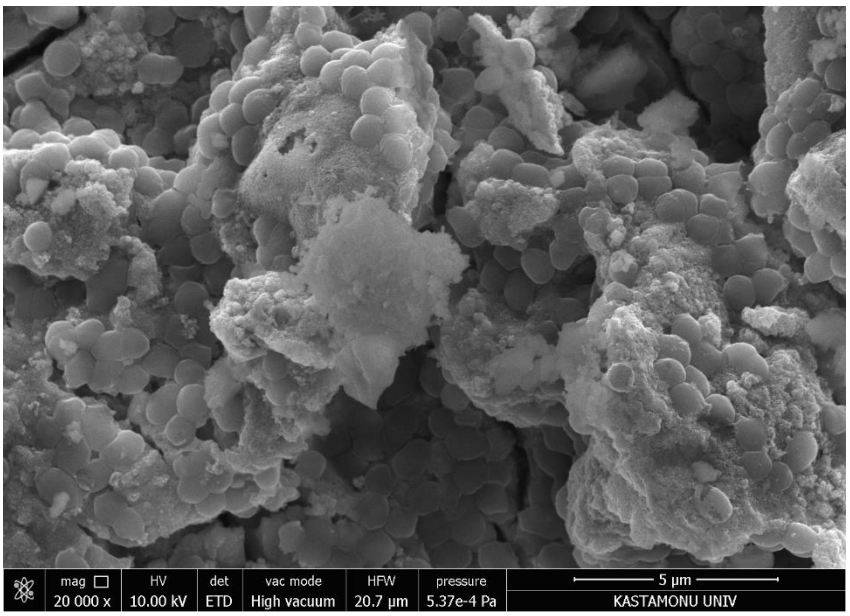
Şekil 4.112 *C. albicans* kontrol x 5000'lik SEM görüntüsü

Şekil 4.112'de *C. albicans*'ın ekstrakt uygulanmadığında metal kuponda 5000 büyütmedeki SEM görüntüsü verilmiştir.



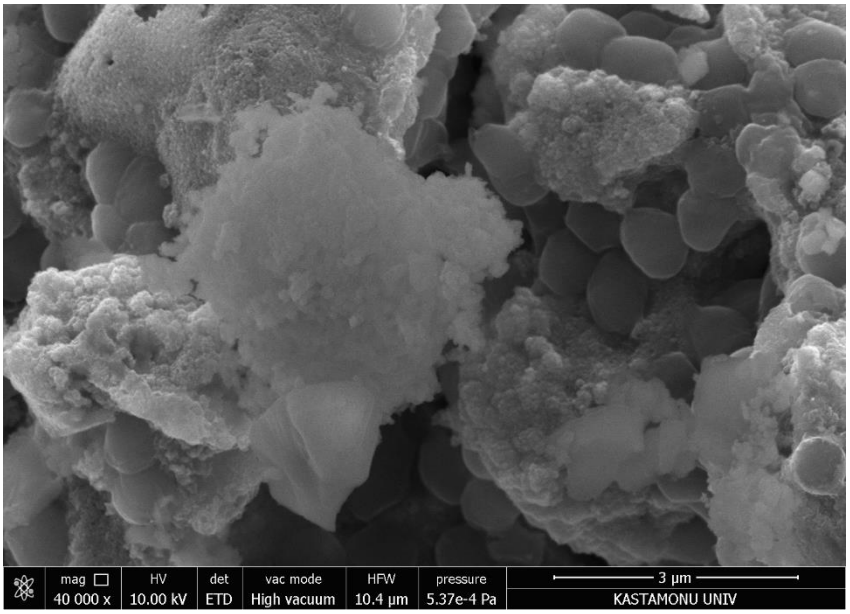
Şekil 4.113 *C. albicans* kontrol x 10.000'lik SEM görüntüsü

Şekil 4.113'de *C. albicans*'ın ekstrakt uygulanmadığında metal kuponda 10.000 büyütmedeki SEM görüntüsü verilmiştir.



Şekil 4.114 *C. albicans* kontrol x 20.000'lik SEM görüntüsü

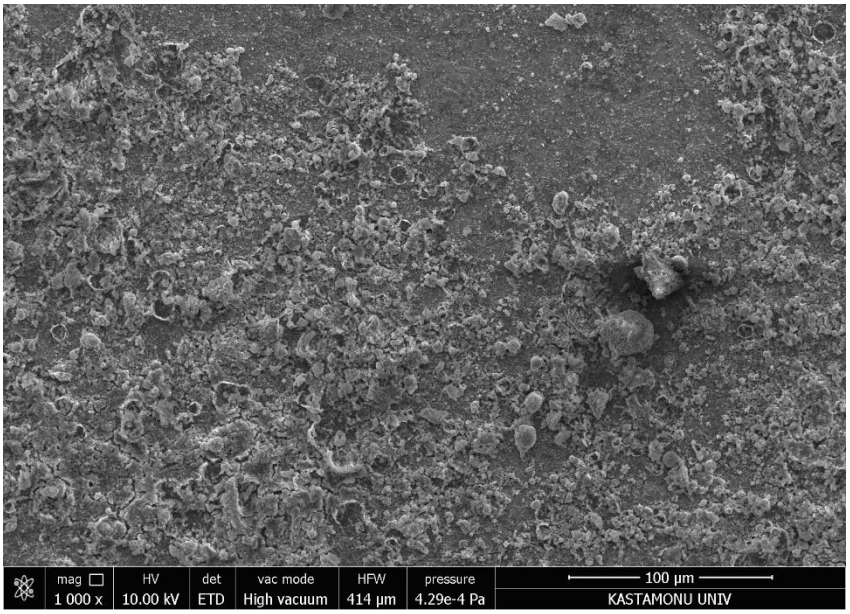
Şekil 4.114'te *C. albicans*'ın ekstrakt uygulanmadığında metal kuponda 20.000 büyütmedeki SEM görüntüsü verilmiştir.



Şekil 4.115 *C. albicans* kontrol x 40.000'lik SEM görüntüsü

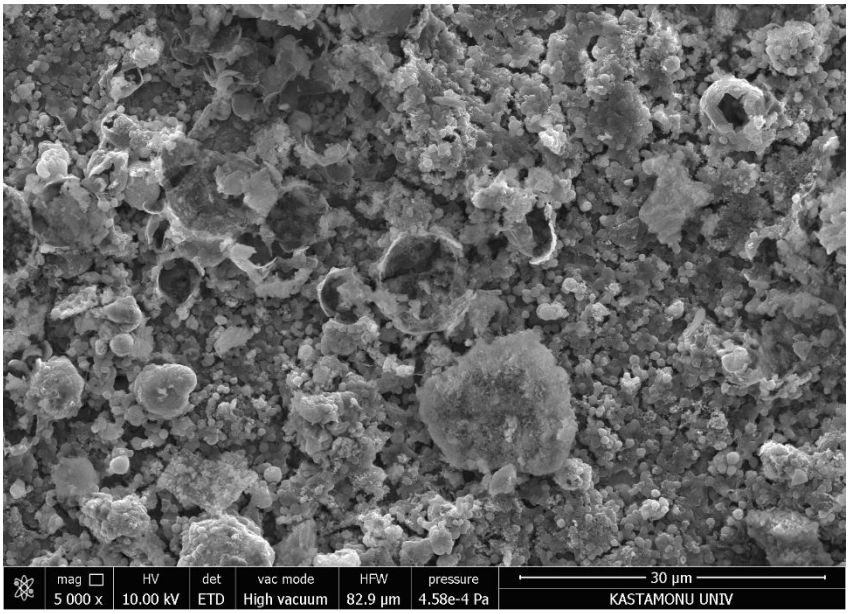
Şekil 4.115'te *C. albicans*'ın ekstrakt uygulanmadığında metal kuponda 20.000 büyütmedeki SEM görüntüsü verilmiştir.

4.7.9 *F. fomentarius* - EtOH Ekstraktının *S. aureus* MRSA Suşu Üzerindeki Antibiyofilm Etkisine Ait SEM Görüntüleri



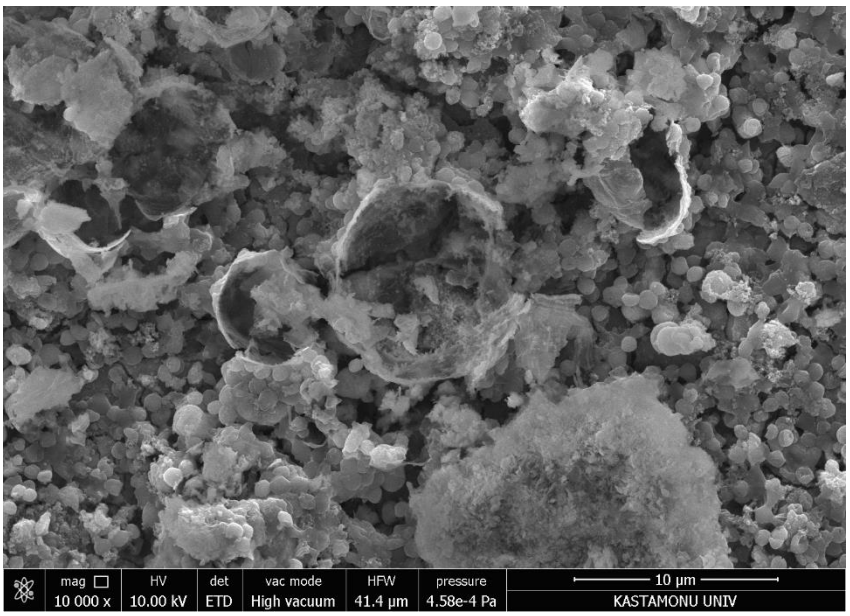
Şekil 4.116 *F. fomentarius*-EtOH - *S. aureus* MRSA x 1000'lik SEM görüntüsü

Şekil 4.116'da *F. fomentarius* - EtOH ekstraktının *S. aureus* MRSA suşu üzerindeki antibiyofilm etkisinin 1000 büyütmedeki SEM görüntüsü verilmiştir.



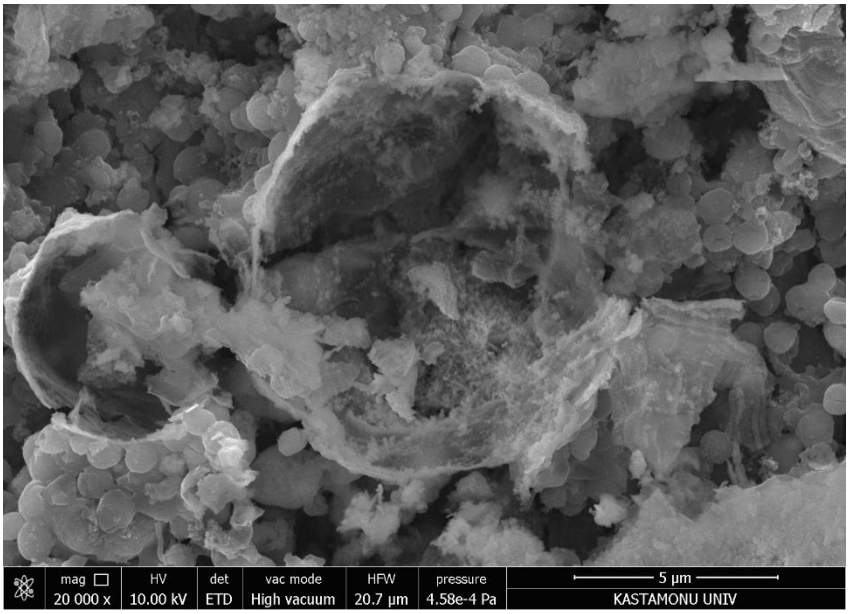
Şekil 4.117 *F. fomentarius*-EtOH - *S. aureus* MRSA x 5000'lik SEM görüntüsü

Şekil 4.117'de *F. fomentarius* - EtOH ekstraktının *S. aureus* MRSA suşu üzerindeki antibiyofilm etkisinin 5000 büyütmedeki SEM görüntüsü verilmiştir.



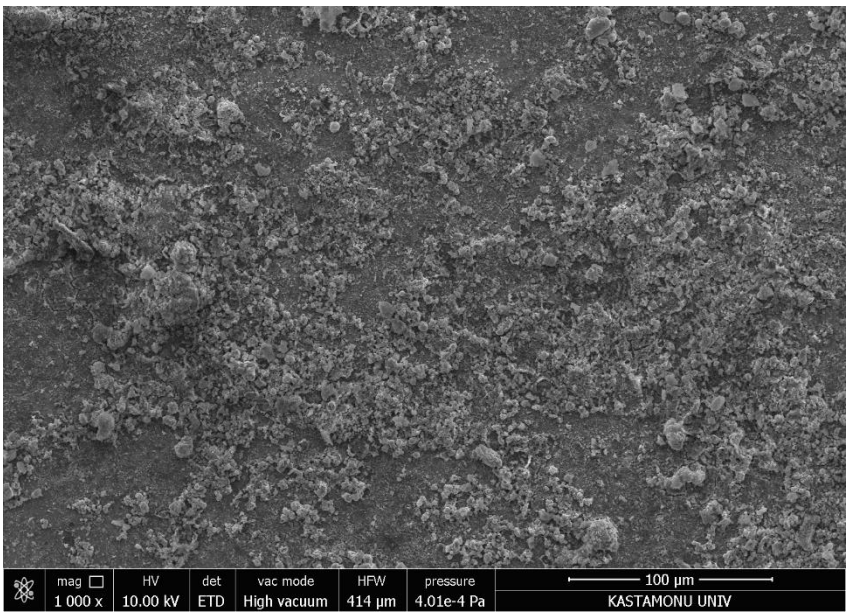
Şekil 4.118 *F. fomentarius*-EtOH - *S. aureus* MRSA x 10.000'lik SEM görüntüsü

Şekil 4.118'de *F. fomentarius* - EtOH ekstraktının *S. aureus* MRSA suşu üzerindeki antibiyofilm etkisinin 10.000 büyütmedeki SEM görüntüsü verilmiştir.



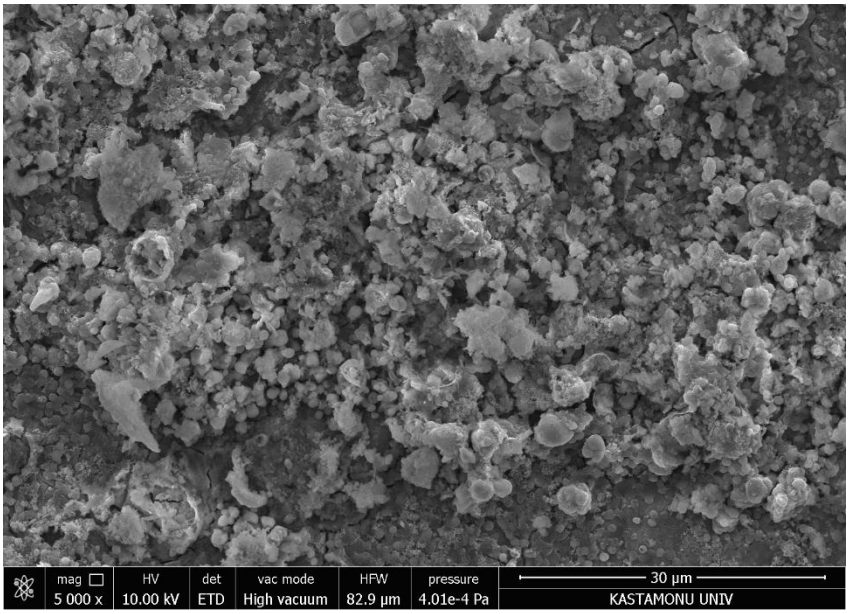
Şekil 4.119 *F. fomentarius*-EtOH - *S. aureus* MRSA x 20.000'lik SEM görüntüsü

Şekil 4.119'da *F. fomentarius* - EtOH ekstraktının *S. aureus* MRSA suşu üzerindeki antibiyofilm etkisinin 20.000 büyütmedeki SEM görüntüsü verilmiştir.



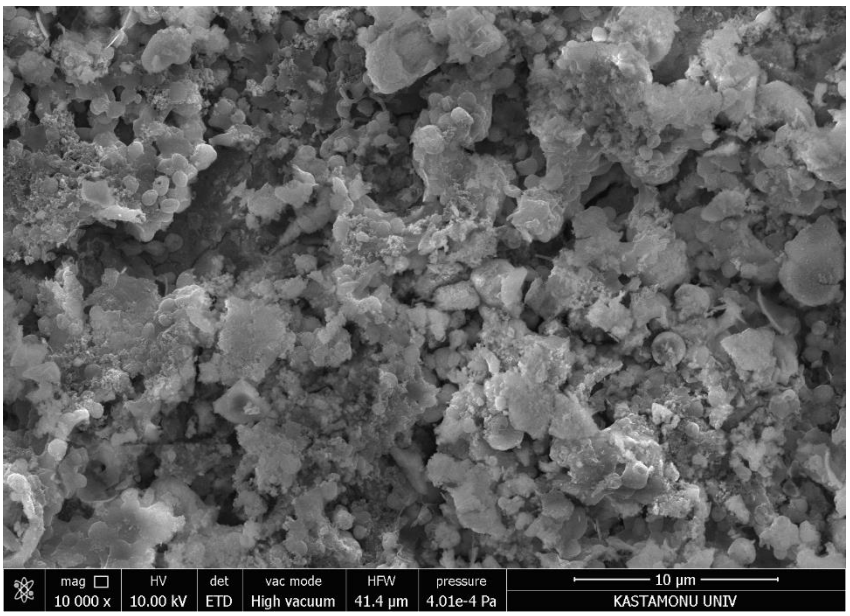
Şekil 4.120 *S. aureus* MRSA kontrol x 1000'lik SEM görüntüsü

Şekil 4.120'de *S. aureus* MRSA suşunun ekstrakt uygulanmadığında metal kuponda 1000 büyütmedeki SEM görüntüsü verilmiştir.



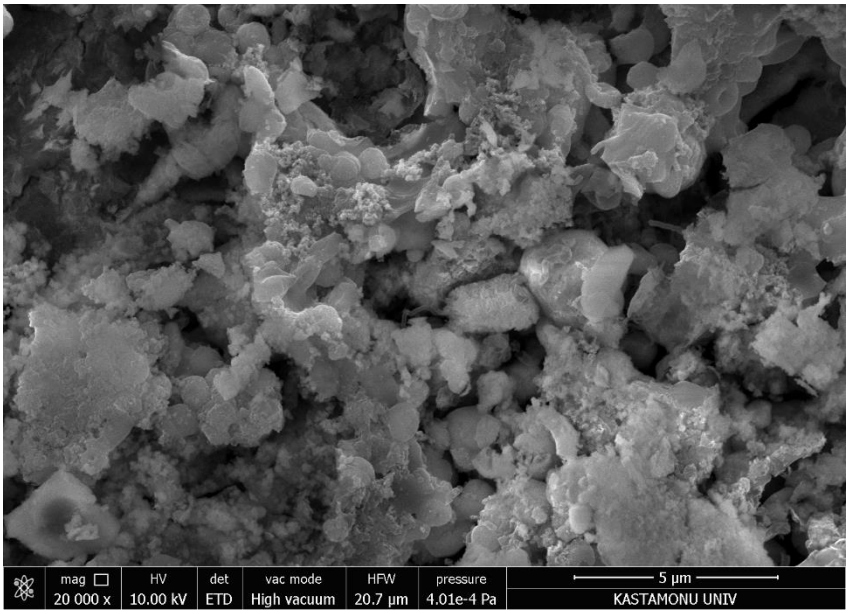
Şekil 4.121 *S. aureus* MRSA kontrol x 5000'lik SEM görüntüsü

Şekil 4.121'de *S. aureus* MRSA suşunun ekstrakt uygulanmadığında metal kuponda 5000 büyütmedeki SEM görüntüsü verilmiştir.



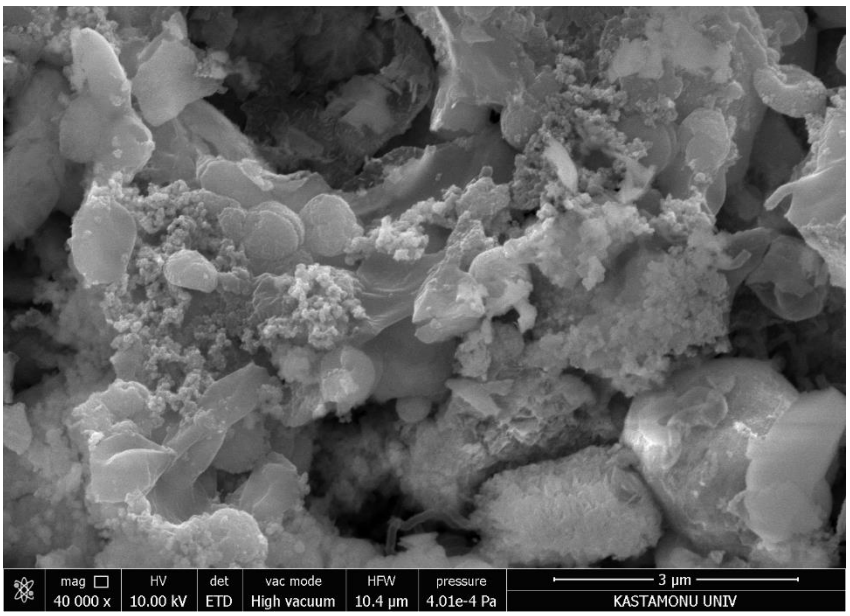
Şekil 4.122 *S. aureus* MRSA kontrol x 10.000'lik SEM görüntüsü

Şekil 4.122'de *S. aureus* MRSA suşunun ekstrakt uygulanmadığında metal kuponda 10.000 büyütmedeki SEM görüntüsü verilmiştir.



Şekil 4.123 *S. aureus* MRSA kontrol x 20.000'lik SEM görüntüsü

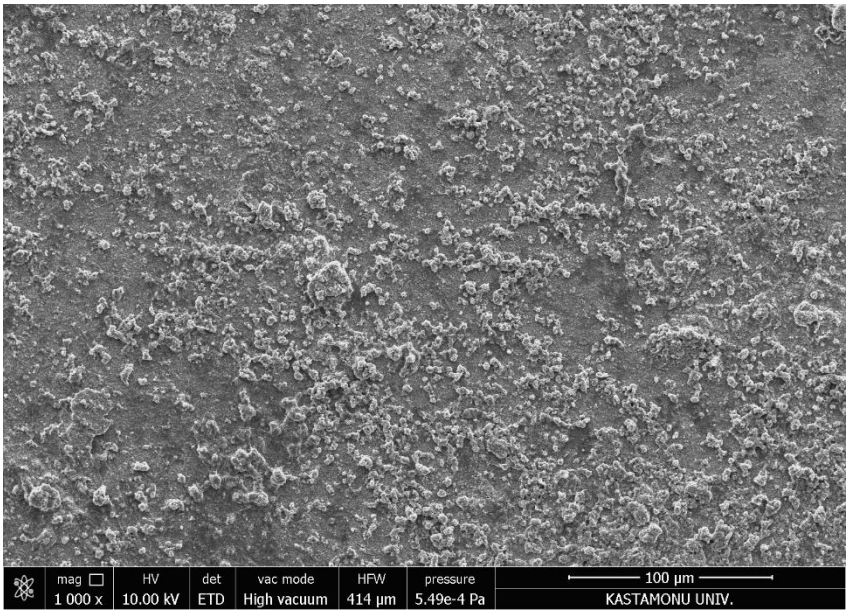
Şekil 4.123'de *S. aureus* MRSA suşunun ekstrakt uygulanmadığında metal kuponda 20.000 büyütmedeki SEM görüntüsü verilmiştir.



Şekil 4.124 *S. aureus* MRSA kontrol x 40.000'lik SEM görüntüsü

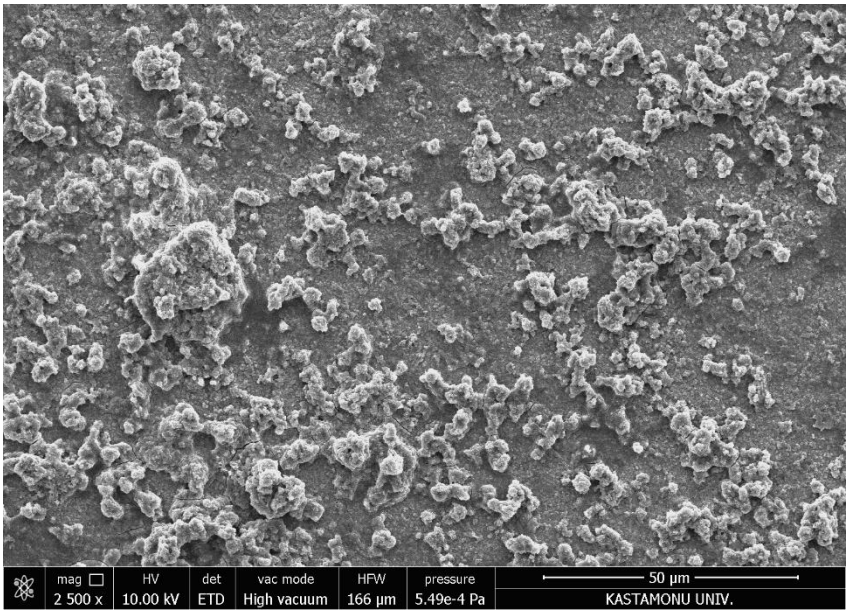
Şekil 4.124'de *S. aureus* MRSA suşunun ekstrakt uygulanmadığında metal kuponda 40.000 büyütmedeki SEM görüntüsü verilmiştir.

4.7.10 Halamid'in (Pozitif Kontrol) *E. coli* 7 Üzerindeki Antibiyofilm Etkisine Ait SEM Görüntüleri



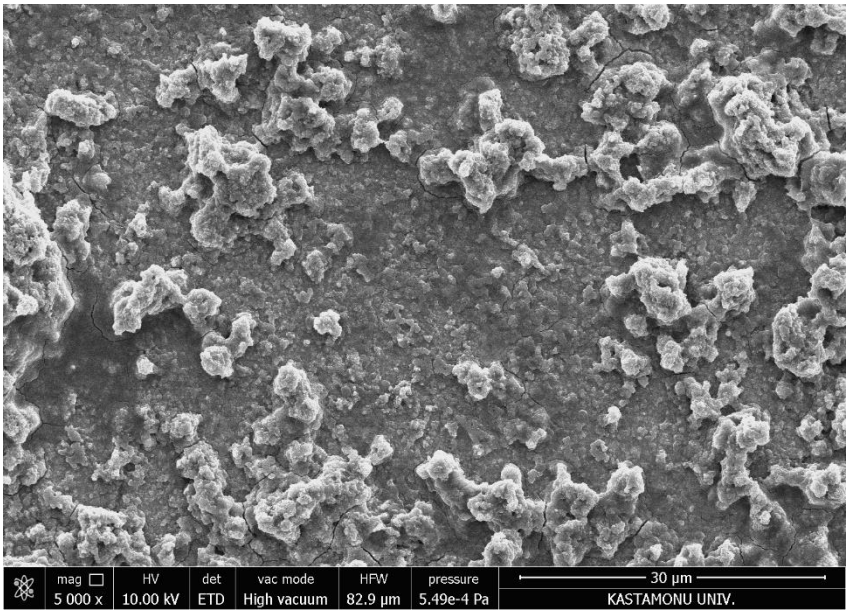
Şekil 4.125 Halamid (pozitif kontrol) - *E. coli* 7 x 1000'lik SEM görüntüsü

Şekil 4.125'de biyofilm çalışmalarında pozitif kontrol olarak kullanılan Halamidin *E. coli* 7'ye karşı etkisinin 1000 büyütmedeki görüntüsü verilmiştir.



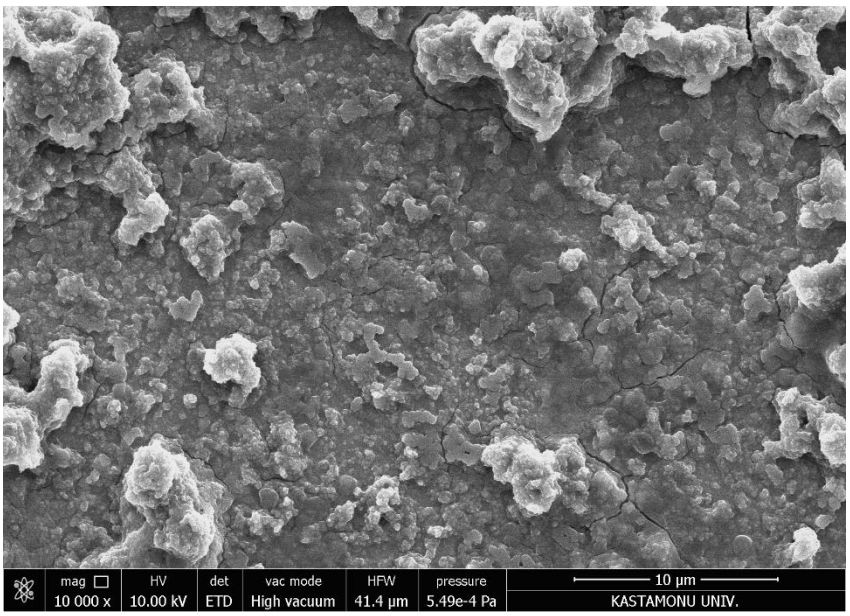
Şekil 4.126 Halamid (pozitif kontrol) - *E. coli* 7 x 2500'lük SEM görüntüsü

Şekil 4.126'da biyofilm çalışmalarında pozitif kontrol olarak kullanılan Halamidin *E. coli* 7'ye karşı etkisinin 2500 büyütmedeki görüntüsü verilmiştir.



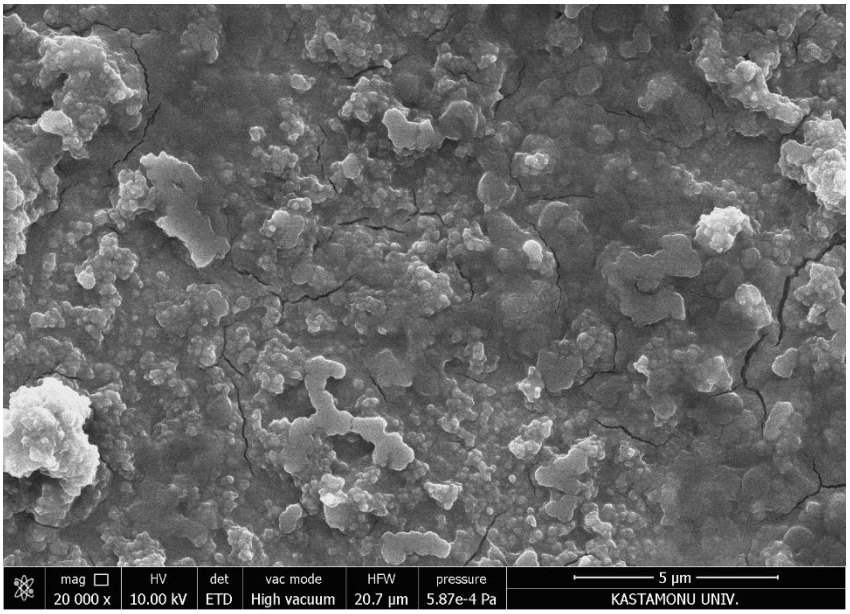
Şekil 4.127 Halamid (pozitif kontrol) - *E. coli* 7 x 5000'lik SEM görüntüsü

Şekil 4.127'de biyofilm çalışmalarında pozitif kontrol olarak kullanılan Halamidin *E. coli* 7'ye karşı etkisinin 5000 büyütmedeki görüntüsü verilmiştir.



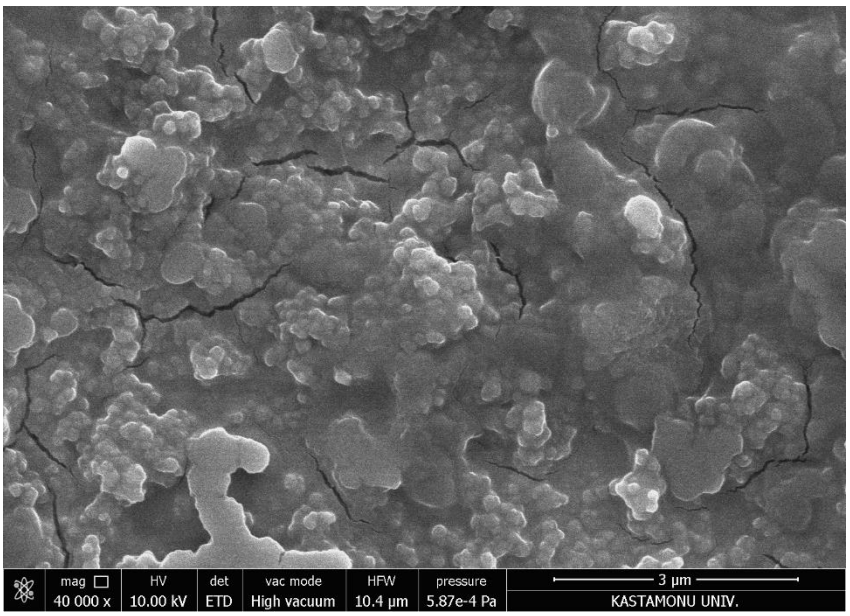
Şekil 4.128 Halamid (pozitif kontrol) - *E. coli* 7 x 10.000'lik SEM görüntüsü

Şekil 4.128'de biyofilm çalışmalarında pozitif kontrol olarak kullanılan Halamidin *E. coli* 7'ye karşı etkisinin 10.000 büyütmedeki görüntüsü verilmiştir.



Şekil 4.129 Halamid (pozitif kontrol) - *E. coli* 7 x 20.000'lik SEM görüntüsü

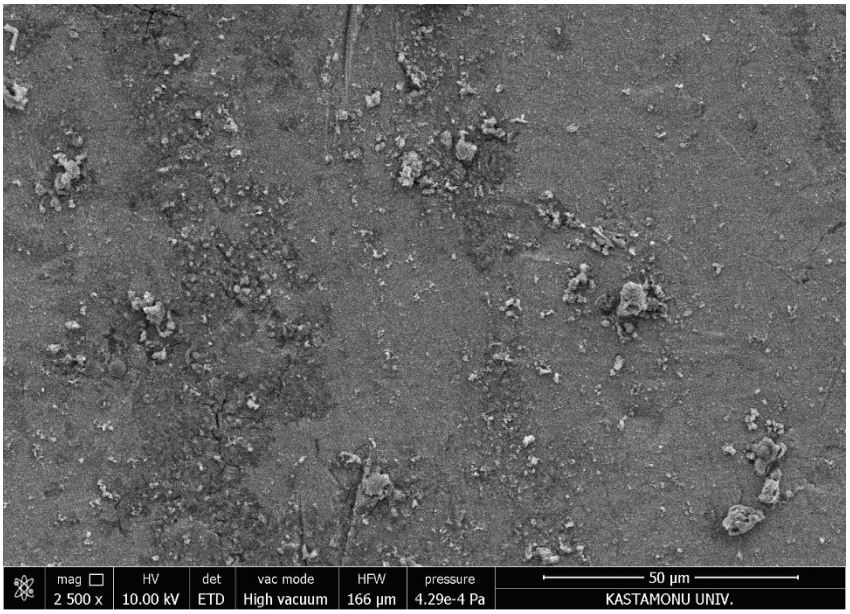
Şekil 4.129'da biyofilm çalışmalarında pozitif kontrol olarak kullanılan Halamidin *E. coli* 7'ye karşı etkisinin 20.000 büyütmedeki görüntüsü verilmiştir.



Şekil 4.130 Halamid (pozitif kontrol) - *E. coli* 7 x 40.000'lik SEM görüntüsü

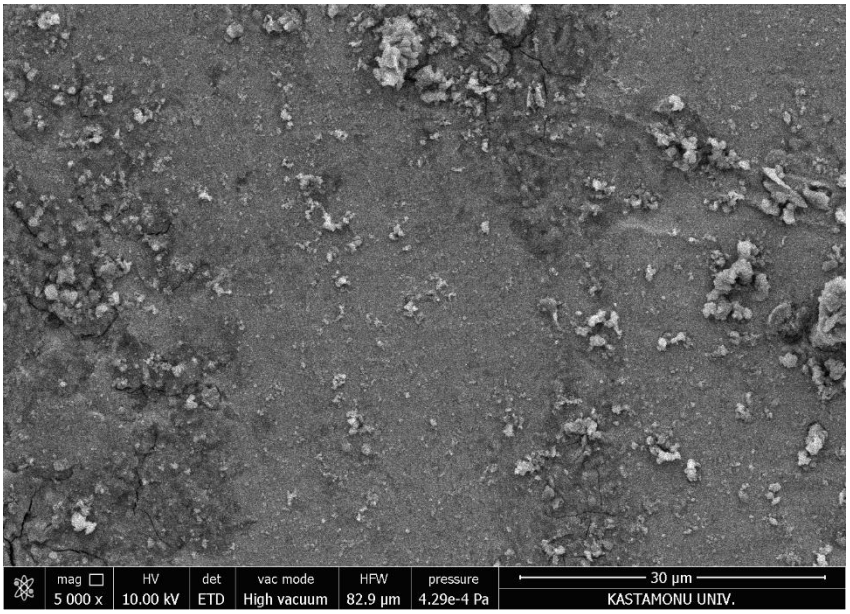
Şekil 4.130'da biyofilm çalışmalarında pozitif kontrol olarak kullanılan Halamidin *E. coli* 7'ye karşı etkisinin 20.000 büyütmedeki görüntüsü verilmiştir.

4.7.11 Halamid'in (Pozitif Kontrol) *E. coli* 9 Üzerindeki Antibiyofilm Etkisine Ait SEM Görüntüleri



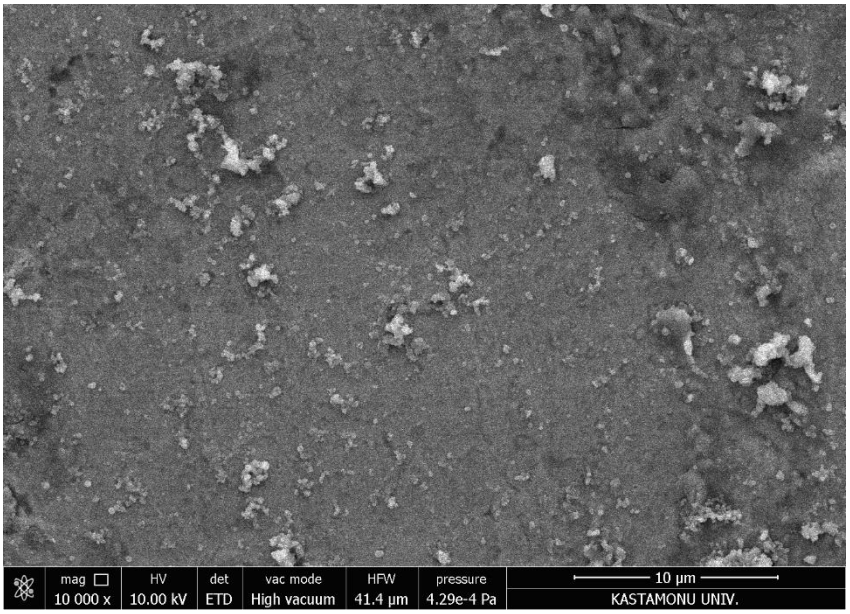
Şekil 4.131 Halamid (pozitif kontrol) - *E. coli* 9 x 2500'lük SEM görüntüsü

Şekil 4.131'de biyofilm çalışmalarında pozitif kontrol olarak kullanılan Halamidin *E. coli* 9'a karşı etkisinin 2500 büyütmedeki görüntüsü verilmiştir.



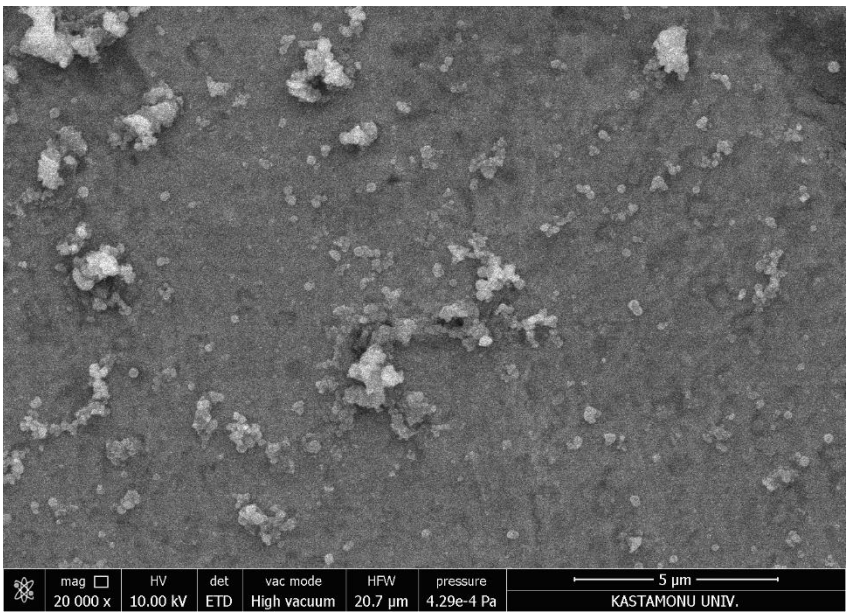
Şekil 4.132 Halamid (pozitif kontrol) - *E. coli* 9 x 5000'lik SEM görüntüsü

Şekil 4.132'de biyofilm çalışmalarında pozitif kontrol olarak kullanılan Halamidin *E. coli* 9'a karşı etkisinin 5000 büyütmedeki görüntüsü verilmiştir.



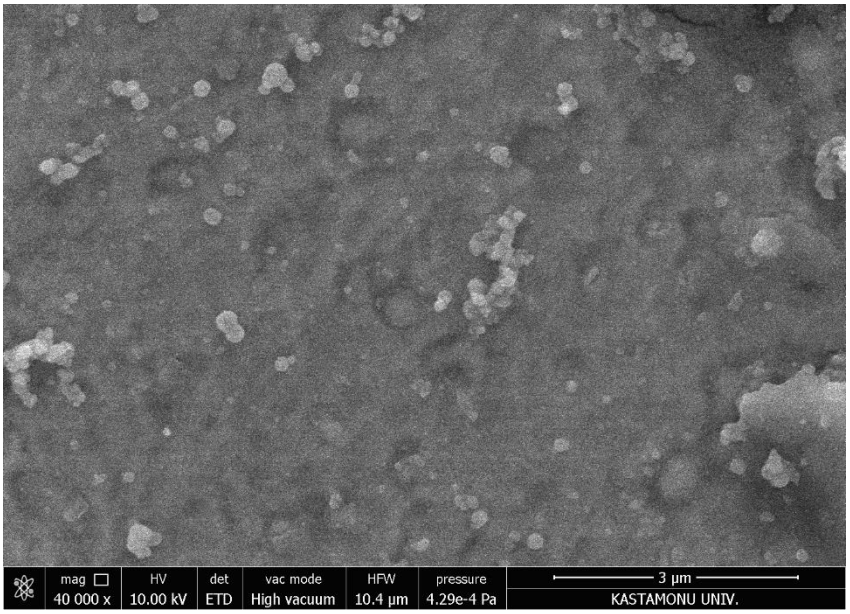
Şekil 4.133 Halamid (pozitif kontrol) - *E. coli* 9 x 10.000'lik SEM görüntüsü

Şekil 4.133'de biyofilm çalışmalarında pozitif kontrol olarak kullanılan Halamidin *E. coli* 9'a karşı etkisinin 10.000 büyütmedeki görüntüsü verilmiştir.



Şekil 4.134 Halamid (pozitif kontrol) - *E. coli* 9 x 20.000'lik SEM görüntüsü

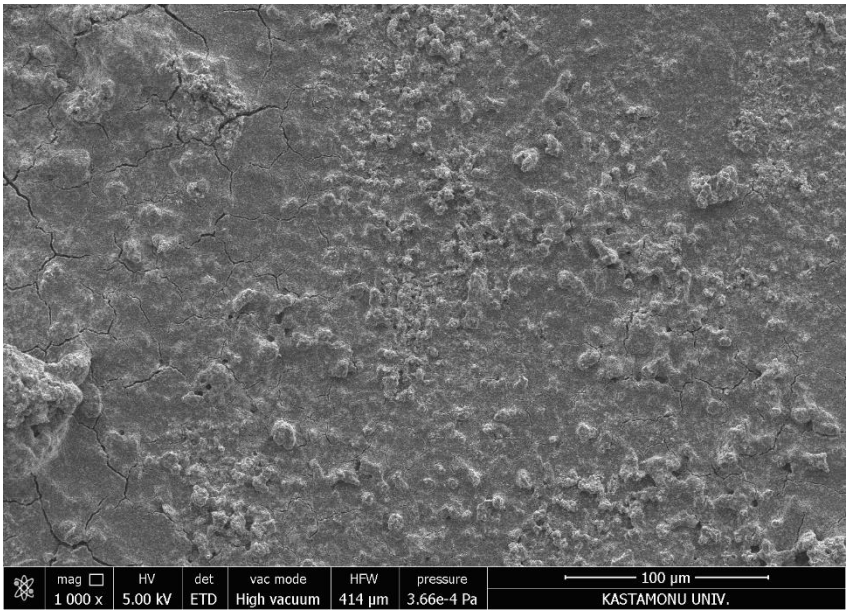
Şekil 4.134'de biyofilm çalışmalarında pozitif kontrol olarak kullanılan Halamidin *E. coli* 9'a karşı etkisinin 20.000 büyütmedeki görüntüsü verilmiştir.



Şekil 4.135 Halamid (pozitif kontrol) - *E. coli* 9 x 40.000'lik SEM görüntüsü

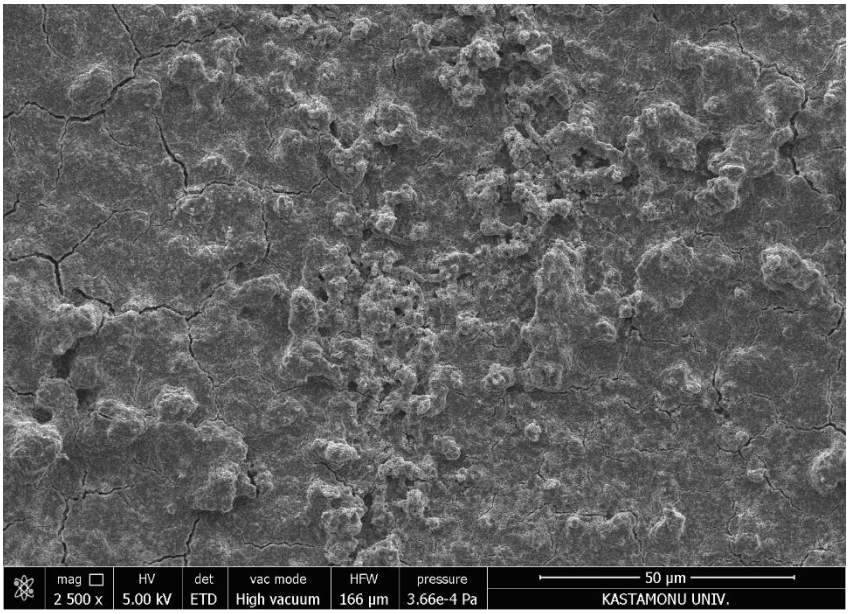
Şekil 4.135'de biyofilm çalışmalarında pozitif kontrol olarak kullanılan Halamidin *E. coli* 9'a karşı etkisinin 40.000 büyütmedeki görüntüsü verilmiştir.

4.7.12 Halamid'in (Pozitif Kontrol) *E. coli* 11 Üzerindeki Antibiyofilm Etkisine Ait SEM Görüntüleri



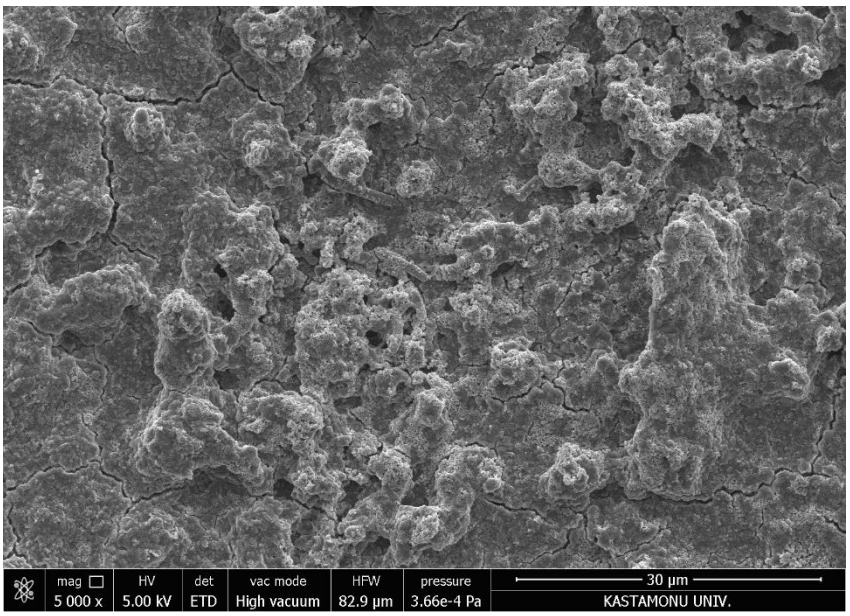
Şekil 4.136 Halamid (pozitif kontrol) - *E. coli* 11 x 1000'lik SEM görüntüsü

Şekil 4.136'da biyofilm çalışmalarında pozitif kontrol olarak kullanılan Halamidin *E. coli* 11'e karşı etkisinin 1000 büyütmedeki görüntüsü verilmiştir.



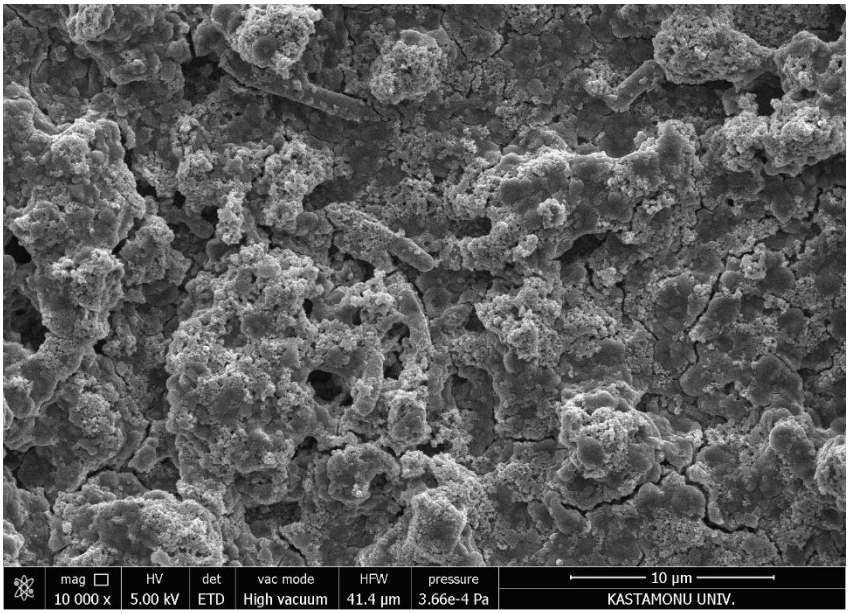
Şekil 4.137 Halamid (pozitif kontrol) - *E. coli* 11 x 2500'lük SEM görüntüsü

Şekil 4.137'de biyofilm çalışmalarında pozitif kontrol olarak kullanılan Halamidin *E. coli* 11'e karşı etkisinin 2500 büyütmedeki görüntüsü verilmiştir.



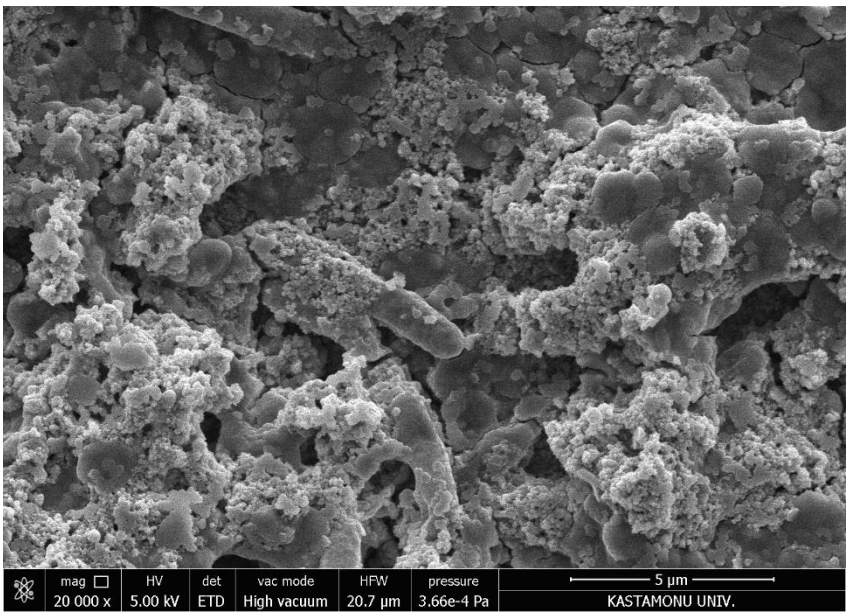
Şekil 4.138 Halamid (pozitif kontrol) - *E. coli* 11 x 5000'lik SEM görüntüsü

Şekil 4.138'de biyofilm çalışmalarında pozitif kontrol olarak kullanılan Halamidin *E. coli* 11'e karşı etkisinin 5000 büyütmedeki görüntüsü verilmiştir.



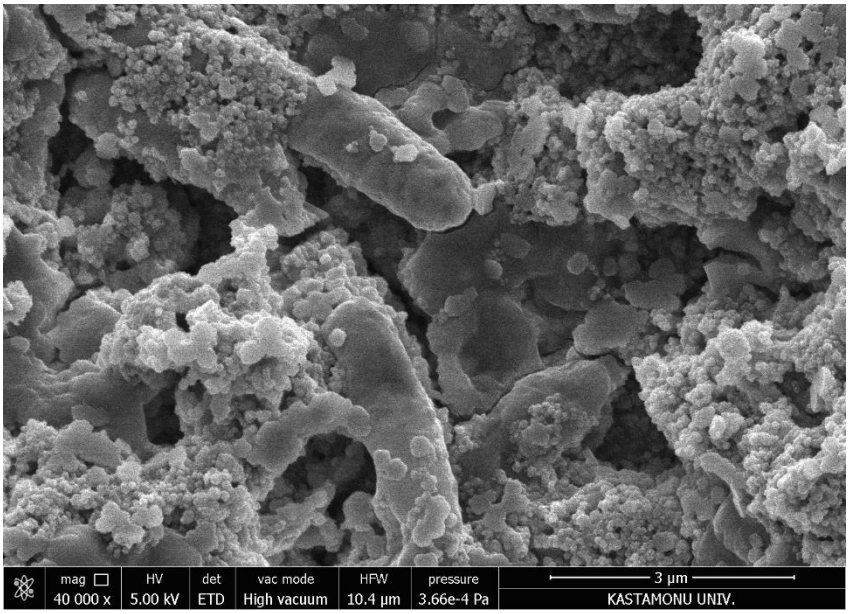
Şekil 4.139 Halamid (pozitif kontrol) - *E. coli* 11 x 10.000'lik SEM görüntüsü

Şekil 4.139'da biyofilm çalışmalarında pozitif kontrol olarak kullanılan Halamidin *E. coli* 11'e karşı etkisinin 10.000 büyütmedeki görüntüsü verilmiştir.



Şekil 4.140 Halamid (pozitif kontrol) - *E. coli* 11 x 20.000'lik SEM görüntüsü

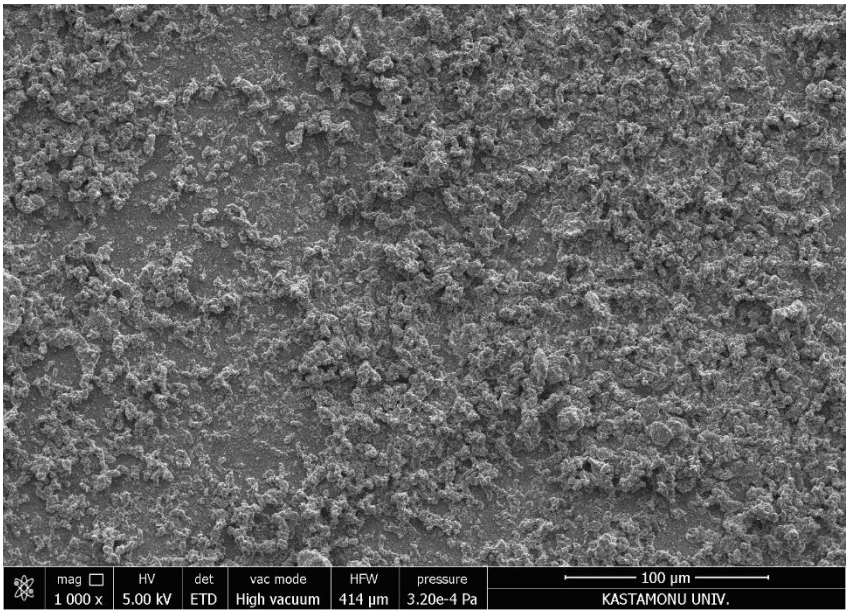
Şekil 4.140'da biyofilm çalışmalarında pozitif kontrol olarak kullanılan Halamidin *E. coli* 11'e karşı etkisinin 20.000 büyütmedeki görüntüsü verilmiştir.



Şekil 4.141 Halamid (pozitif kontrol) - *E. coli* 11 x 40.000'lik SEM görüntüsü

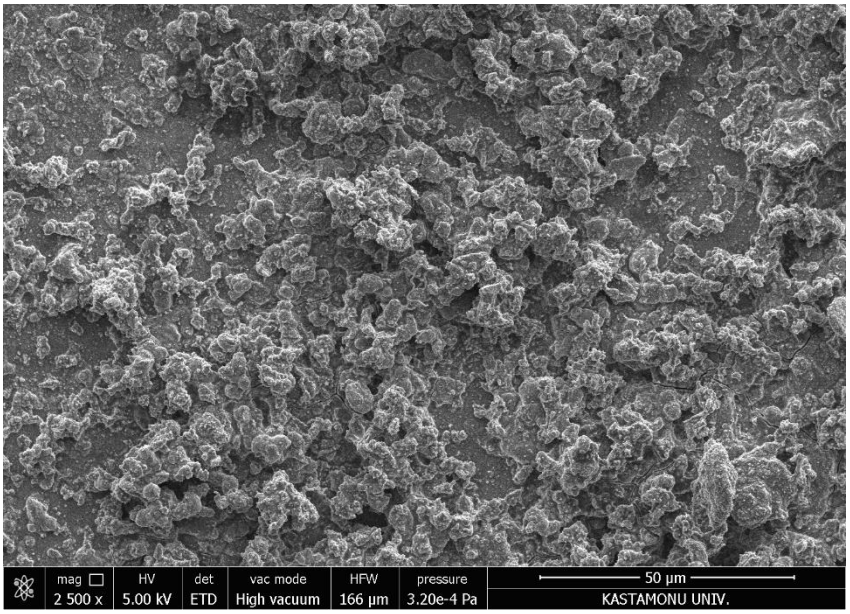
Şekil 4.141'de biyofilm çalışmalarında pozitif kontrol olarak kullanılan Halamidin *E. coli* 11'e karşı etkisinin 40.000 büyütmedeki görüntüsü verilmiştir.

4.7.13 Halamid'in (Pozitif Kontrol) *E. coli* 12 Üzerindeki Antibiyofilm Etkisine Ait SEM Görüntüleri



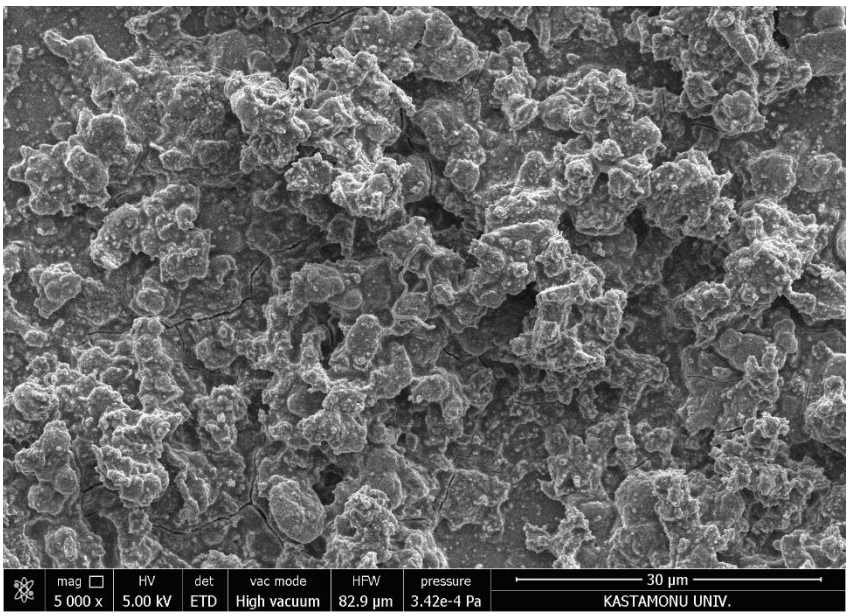
Şekil 4.142 Halamid (pozitif kontrol) - *E. coli* 12 x 1000'lik SEM görüntüsü

Şekil 4.142'de biyofilm çalışmalarında pozitif kontrol olarak kullanılan Halamidin *E. coli* 12'ye karşı etkisinin 1000 büyütmedeki görüntüsü verilmiştir.



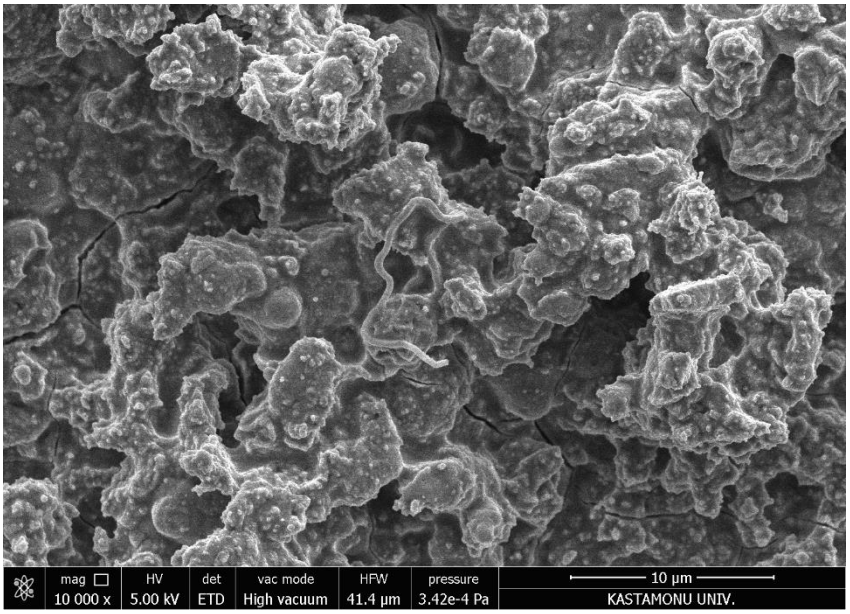
Şekil 4.143 Halamid (pozitif kontrol) - *E. coli* 12 x 2500'lük SEM görüntüsü

Şekil 4.143'de biyofilm çalışmalarında pozitif kontrol olarak kullanılan Halamidin *E. coli* 12'ye karşı etkisinin 2500 büyütmedeki görüntüsü verilmiştir.



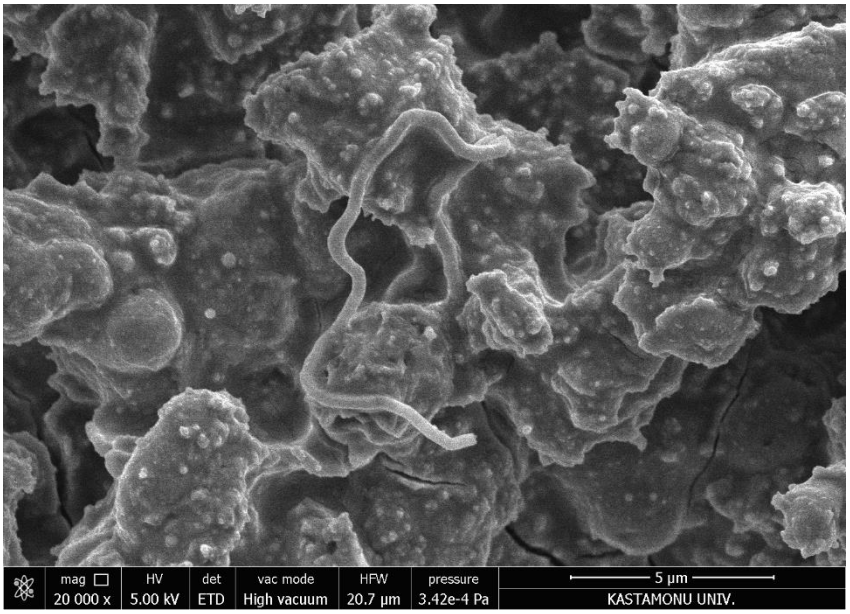
Şekil 4.144 Halamid (pozitif kontrol) - *E. coli* 12 x 5000'lik SEM görüntüsü

Şekil 4.144'de biyofilm çalışmalarında pozitif kontrol olarak kullanılan Halamidin *E. coli* 12'ye karşı etkisinin 5000 büyütmedeki görüntüsü verilmiştir.



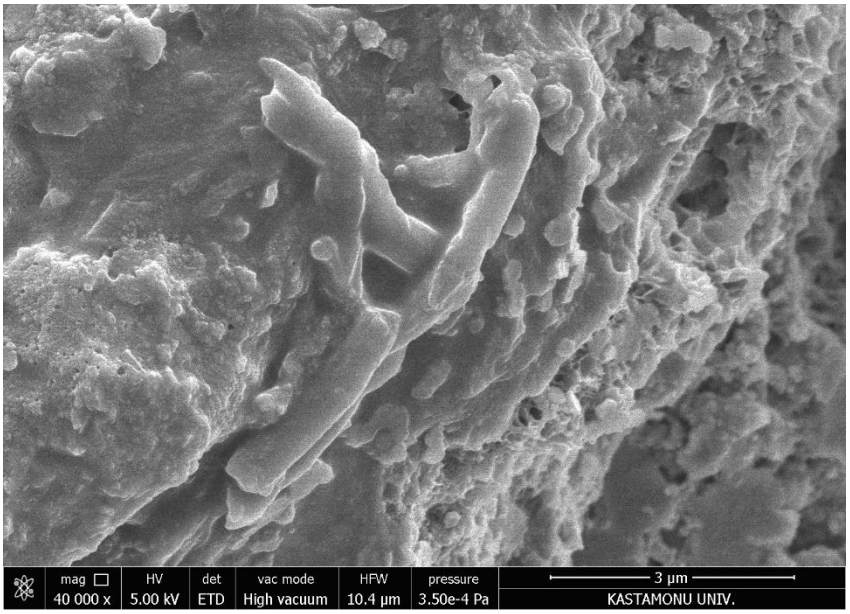
Şekil 4.145 Halamid (pozitif kontrol) - *E. coli* 12 x 10.000'lik SEM görüntüsü

Şekil 4.145'te biyofilm çalışmalarında pozitif kontrol olarak kullanılan Halamidin *E. coli* 12'ye karşı etkisinin 10.000 büyütmedeki görüntüsü verilmiştir.



Şekil 4.146 Halamid (pozitif kontrol) - *E. coli* 12 x 20.000'lik SEM görüntüsü

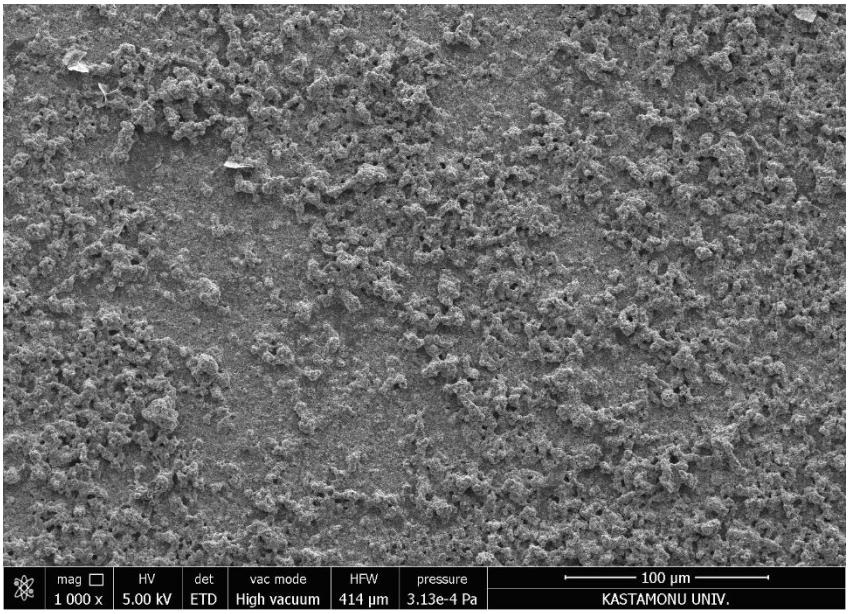
Şekil 4.146'da biyofilm çalışmalarında pozitif kontrol olarak kullanılan Halamidin *E. coli* 12'ye karşı etkisinin 20.000 büyütmedeki görüntüsü verilmiştir.



Şekil 4.147 Halamid (pozitif kontrol) - *E. coli* 12 x 40.000'lik SEM görüntüsü

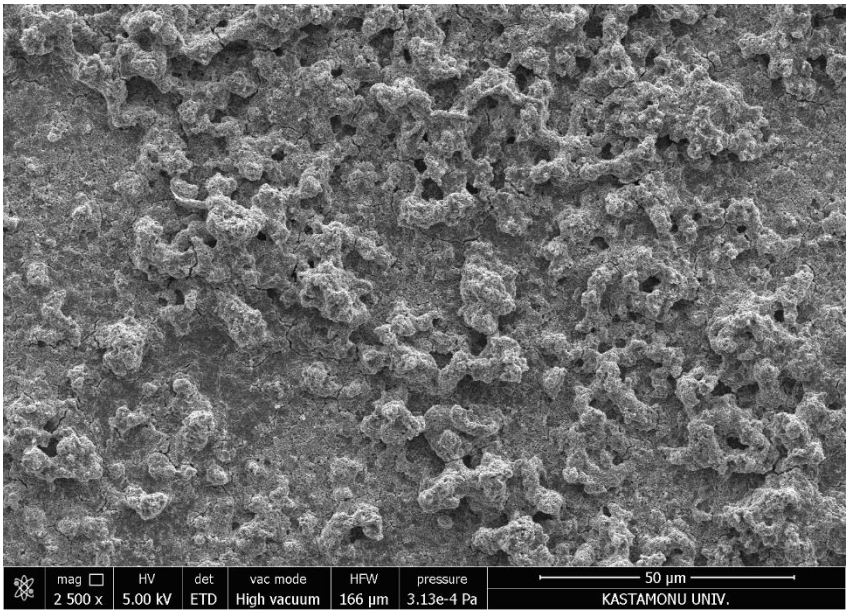
Şekil 4.147'de biyofilm çalışmalarında pozitif kontrol olarak kullanılan Halamidin *E. coli* 12'ye karşı etkisinin 40.000 büyütmedeki görüntüsü verilmiştir.

4.7.14 Halamid'in (Pozitif Kontrol) *S. aureus* Üzerindeki Antibiyofilm Etkisine Ait SEM Görüntüleri



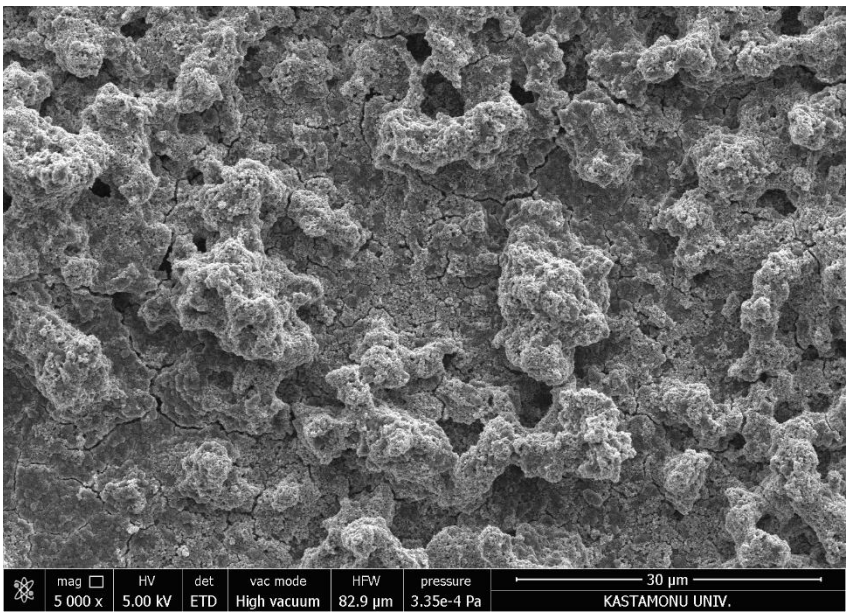
Şekil 4.148 Halamid (pozitif kontrol) - *S. aureus* x 1000'lik SEM görüntüsü

Şekil 4.148'de biyofilm çalışmalarında pozitif kontrol olarak kullanılan Halamidin *S. aureus*'a karşı etkisinin 1000 büyütmedeki görüntüsü verilmiştir.



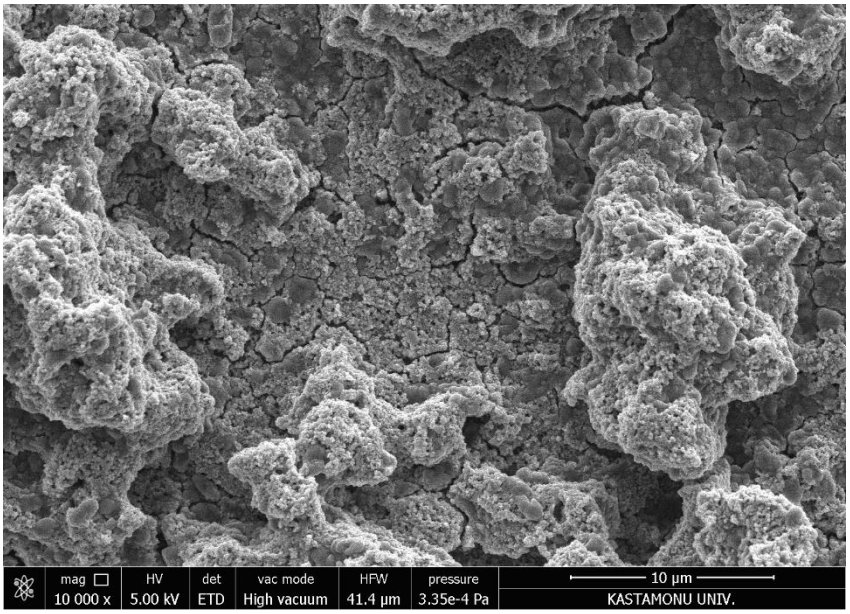
Şekil 4.149 Halamid (pozitif kontrol) - *S. aureus* x 2500'lük SEM görüntüsü

Şekil 4.149'da biyofilm çalışmalarında pozitif kontrol olarak kullanılan Halamidin *S. aureus*'a karşı etkisinin 2500 büyütmedeki görüntüsü verilmiştir.



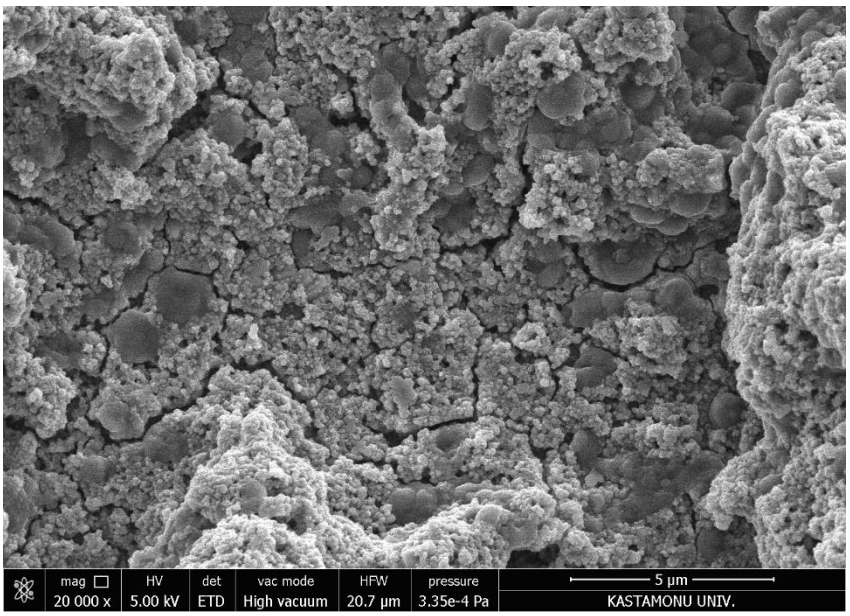
Şekil 4.150 Halamid (pozitif kontrol) - *S. aureus* x 5000'lik SEM görüntüsü

Şekil 4.150'de biyofilm çalışmalarında pozitif kontrol olarak kullanılan Halamidin *S. aureus*'a karşı etkisinin 5000 büyütmedeki görüntüsü verilmiştir.



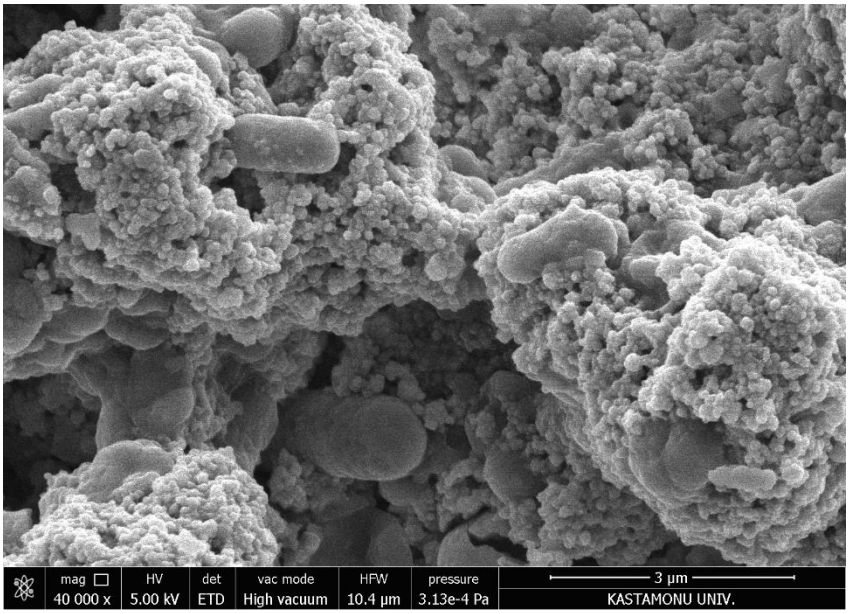
Şekil 4.151 Halamid (pozitif kontrol) - *S. aureus* x 10.000'lik SEM görüntüsü

Şekil 4.151'de biyofilm çalışmalarında pozitif kontrol olarak kullanılan Halamidin *S. aureus*'a karşı etkisinin 10.000 büyütmedeki görüntüsü verilmiştir.



Şekil 4.152 Halamid (pozitif kontrol) - *S. aureus* x 20.000'lik SEM görüntüsü

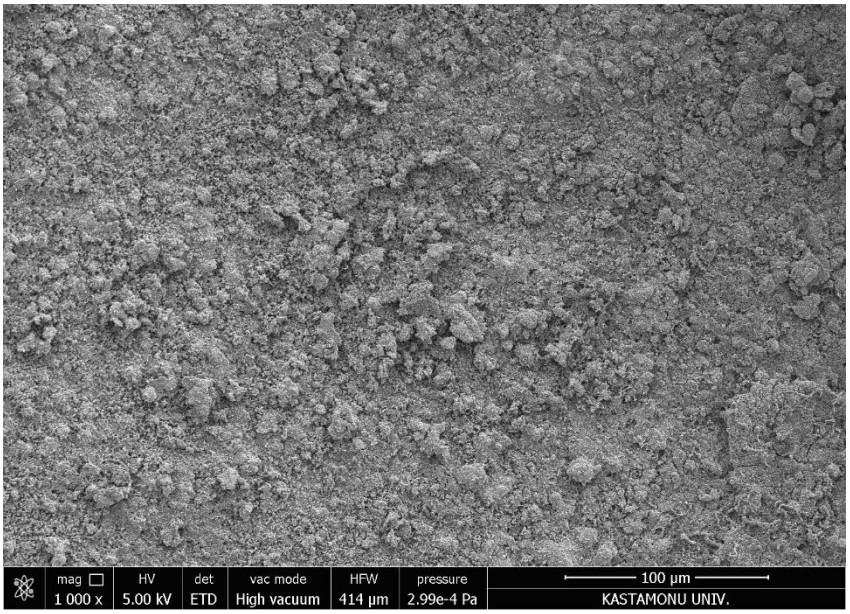
Şekil 4.152'de biyofilm çalışmalarında pozitif kontrol olarak kullanılan Halamidin *S. aureus*'a karşı etkisinin 20.000 büyütmedeki görüntüsü verilmiştir.



Şekil 4.153 Halamid (pozitif kontrol) - *S. aureus* x 40.000'lik SEM görüntüsü

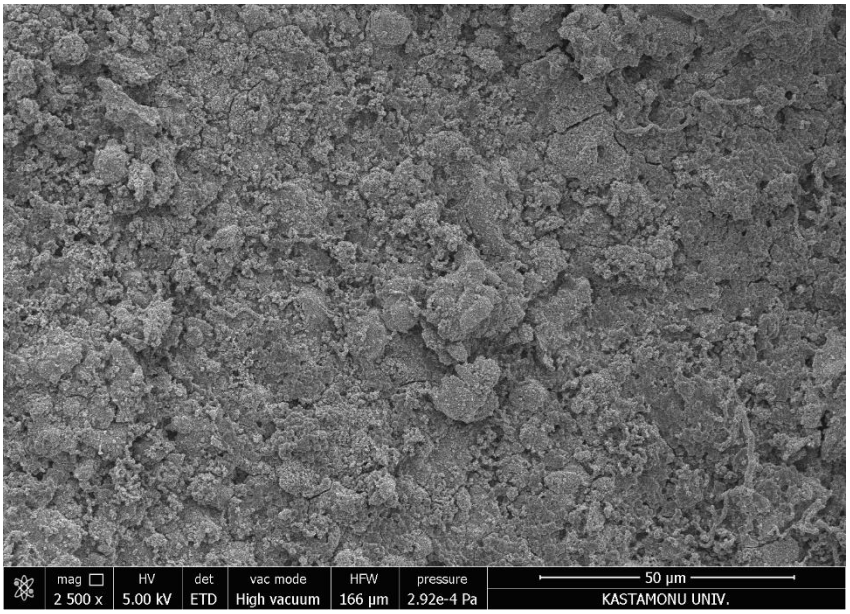
Şekil 4.153'de biyofilm çalışmalarında pozitif kontrol olarak kullanılan Halamidin *S. aureus*'a karşı etkisinin 40.000 büyütmedeki görüntüsü verilmiştir.

4.7.15 Halamid'in (Pozitif Kontrol) *S. aureus* MRSA Üzerindeki Antibiyofilm Etkisine Ait SEM Görüntüleri



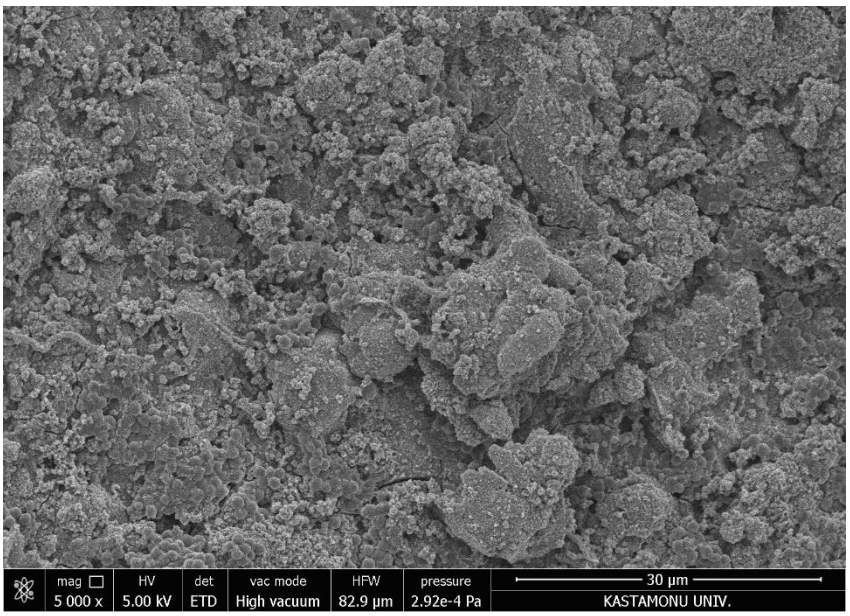
Şekil 4.154 Halamid (pozitif kontrol) - *S. aureus* MRSA x 1000'lik SEM görüntüsü

Şekil 4.154'te biyofilm çalışmalarında pozitif kontrol olarak kullanılan Halamidin *S. aureus* MRSA'ya karşı etkisinin 1000 büyütmedeki görüntüsü verilmiştir.



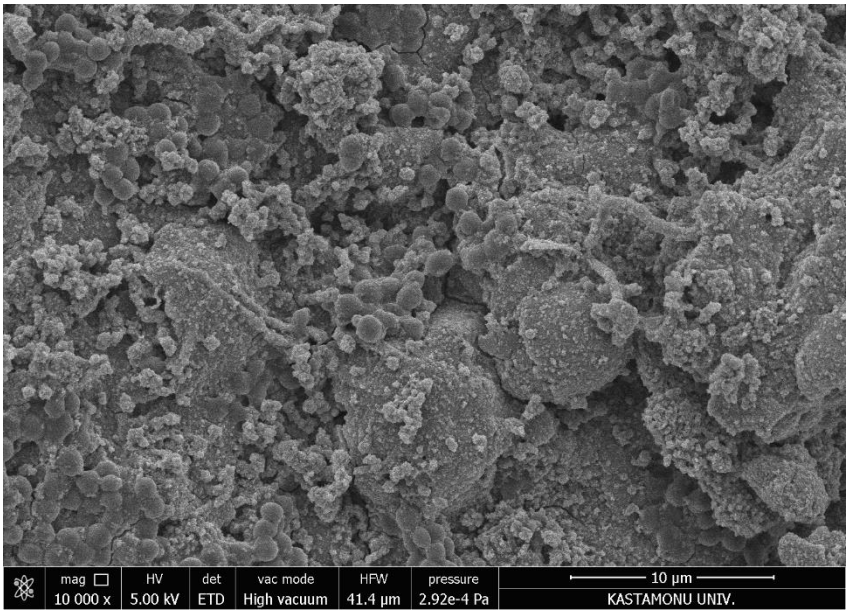
Şekil 4.155 Halamid (pozitif kontrol) - *S. aureus* MRSA x 2500'lük SEM görüntüsü

Şekil 4.155'de biyofilm çalışmalarında pozitif kontrol olarak kullanılan Halamidin *S. aureus* MRSA'ya karşı etkisinin 2500 büyütmedeki görüntüsü verilmiştir.



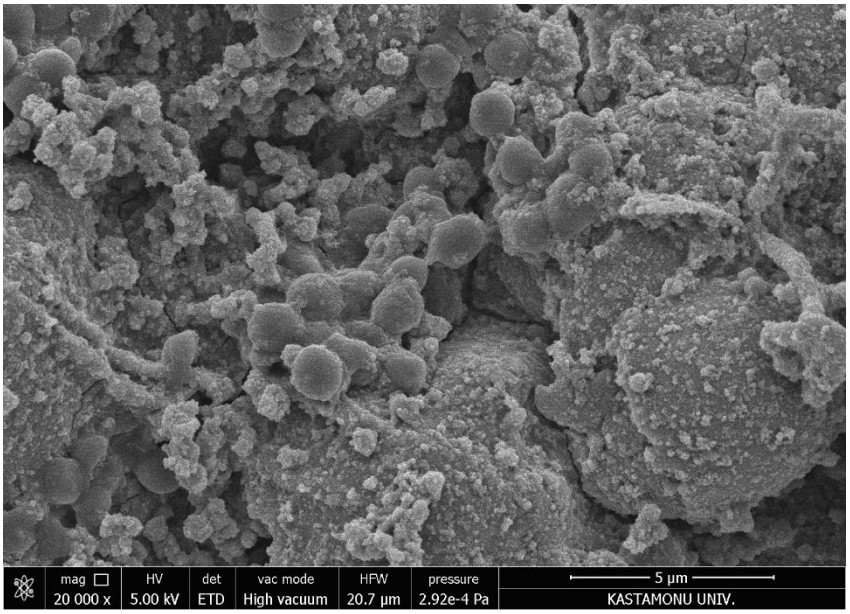
Şekil 4.156 Halamid (pozitif kontrol) - *S. aureus* MRSA x 5000'lik SEM görüntüsü

Şekil 4.156'da biyofilm çalışmalarında pozitif kontrol olarak kullanılan Halamidin *S. aureus* MRSA'ya karşı etkisinin 5000 büyütmedeki görüntüsü verilmiştir.



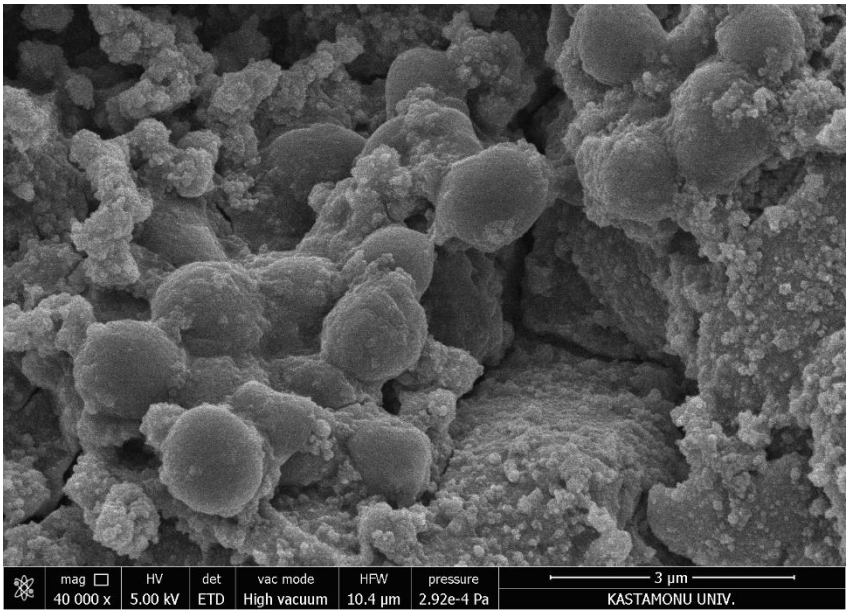
Şekil 4.157 Halamid (pozitif kontrol) - *S. aureus* MRSA x 10.000'lik SEM görüntüsü

Şekil 4.157'de biyofilm çalışmalarında pozitif kontrol olarak kullanılan Halamidin *S. aureus* MRSA'ya karşı etkisinin 10.000 büyütmedeki görüntüsü verilmiştir.



Şekil 4.158 Halamid (pozitif kontrol) - *S. aureus* MRSA x 20.000'lik SEM görüntüsü

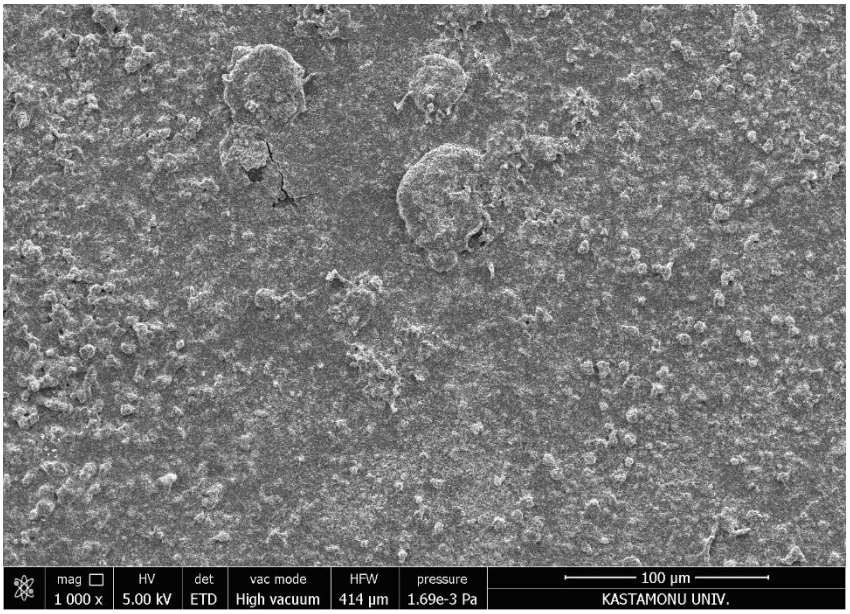
Şekil 4.158'de biyofilm çalışmalarında pozitif kontrol olarak kullanılan Halamidin *S. aureus* MRSA'ya karşı etkisinin 20.000 büyütmedeki görüntüsü verilmiştir.



Şekil 4.159 Halamid (pozitif kontrol) - *S. aureus* MRSA x 40.000'lik SEM görüntüsü

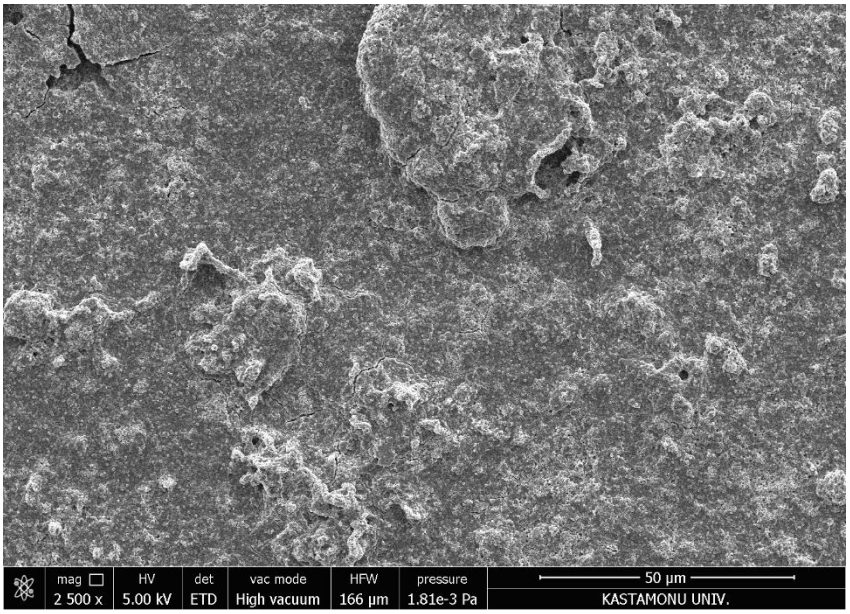
Şekil 4.159'da biyofilm çalışmalarında pozitif kontrol olarak kullanılan Halamidin *S. aureus* MRSA'ya karşı etkisinin 40.000 büyütmedeki görüntüsü verilmiştir.

4.7.16 Halamid'in (Pozitif Kontrol) *C. albicans* Üzerindeki Antibiyofilm Etkisine Ait SEM Görüntüleri



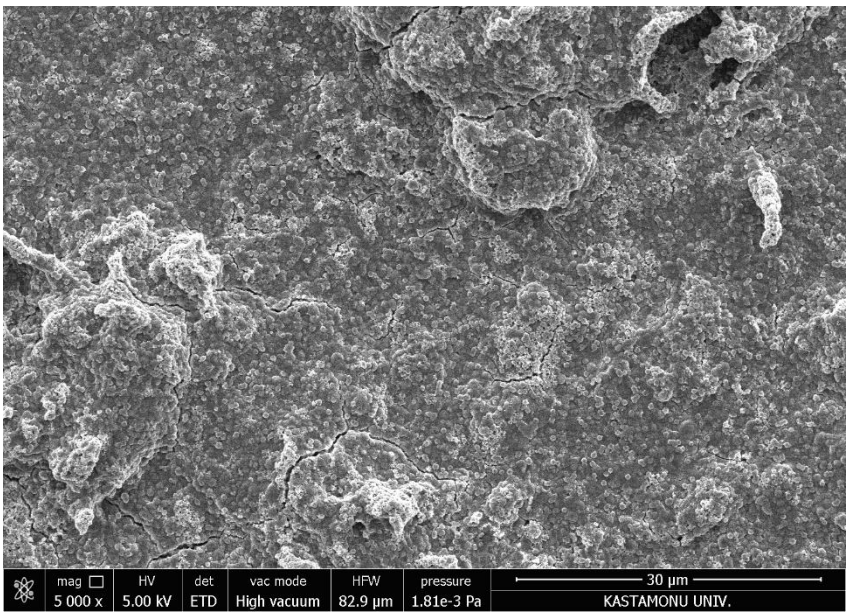
Şekil 4.160 Halamid (pozitif kontrol) - *C. albicans* x 1000'lik SEM görüntüsü

Şekil 4.160'da biyofilm çalışmalarında pozitif kontrol olarak kullanılan Halamidin *C.albicans*'a karşı etkisinin 1000 büyütmedeki görüntüsü verilmiştir.



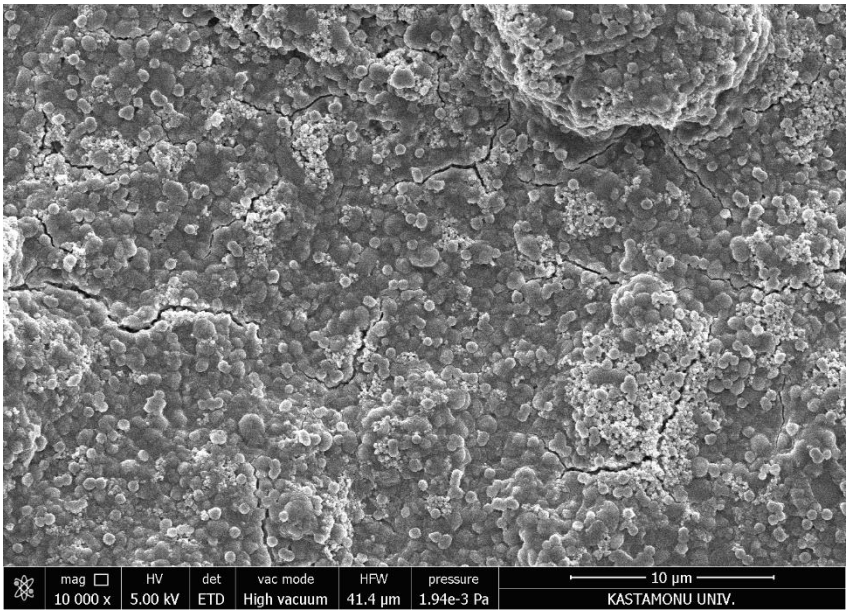
Şekil 4.161 Halamid (pozitif kontrol) - *C. albicans* x 2500'lük SEM görüntüsü

Şekil 4.161'de biyofilm çalışmalarında pozitif kontrol olarak kullanılan Halamidin *C.albicans*'a karşı etkisinin 2500 büyütmedeki görüntüsü verilmiştir.



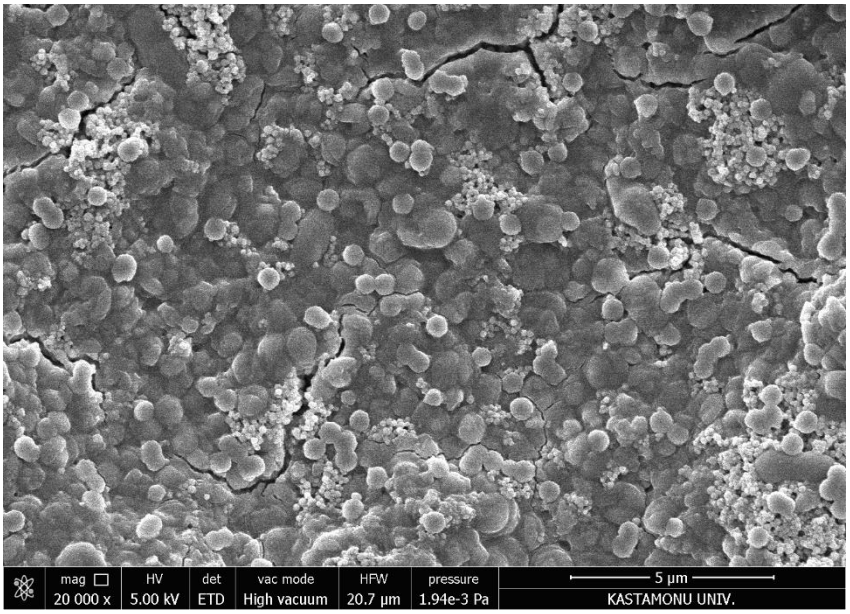
Şekil 4.162 Halamid (pozitif kontrol) - *C. albicans* x 5000'lik SEM görüntüsü

Şekil 4.162'de biyofilm çalışmalarında pozitif kontrol olarak kullanılan Halamidin *C.albicans*'a karşı etkisinin 5000 büyütmedeki görüntüsü verilmiştir.



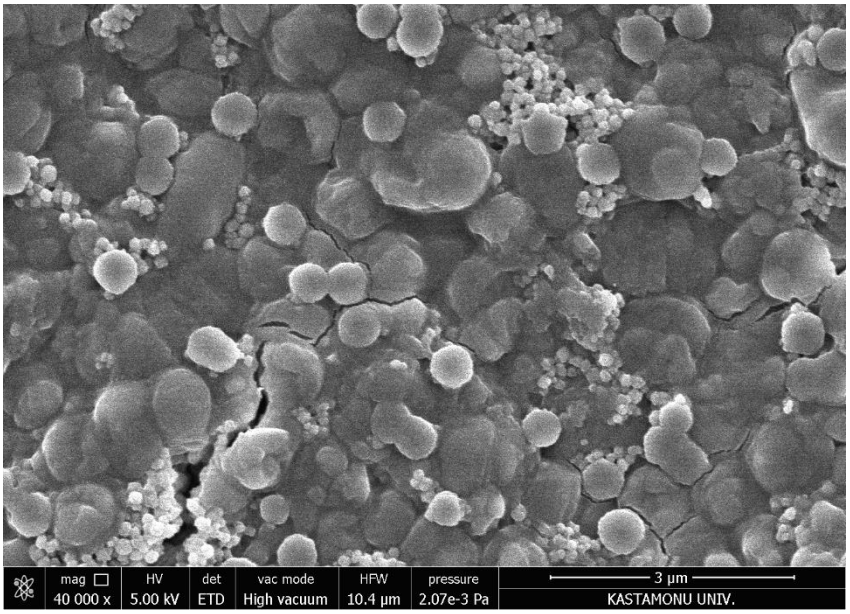
Şekil 4.163 Halamid (pozitif kontrol) - *C. albicans* x 10.000'lik SEM görüntüsü

Şekil 4.163'te biyofilm çalışmalarında pozitif kontrol olarak kullanılan Halamidin *C.albicans*'a karşı etkisinin 10.000 büyütmedeki görüntüsü verilmiştir.



Şekil 4.164 Halamid (pozitif kontrol) - *C. albicans* x 20.000'lik SEM görüntüsü

Şekil 4.164'de biyofilm çalışmalarında pozitif kontrol olarak kullanılan Halamidin *C.albicans*'a karşı etkisinin 20.000 büyütmedeki görüntüsü verilmiştir.

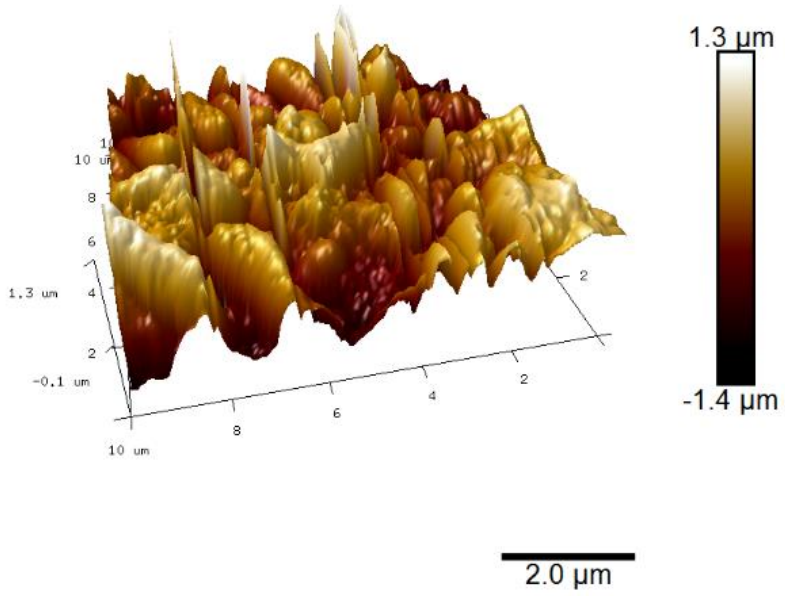


Şekil 4.165 Halamid (pozitif kontrol) - *C. albicans* x 40.000'lik SEM görüntüsü

Şekil 4.165'de biyofilm çalışmalarında pozitif kontrol olarak kullanılan Halamidin *C.albicans*'a karşı etkisinin 40.000 büyütmedeki görüntüsü verilmiştir.

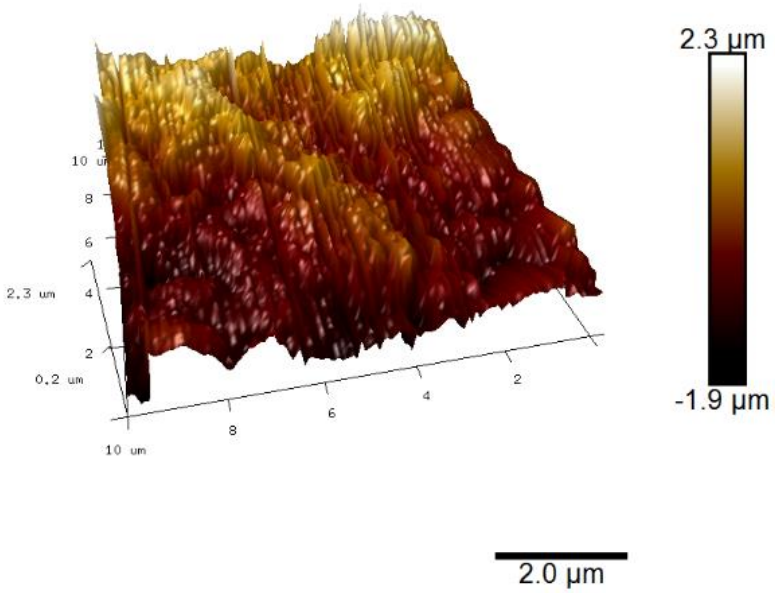
4.8 AFM Sonuçları

4.8.1 *P. hartigii* - EtOH Ekstraktının *E. coli* 7 Suşu Üzerindeki Antibiyofilm Etkisine Ait AFM Görüntüleri



Şekil 4.166 *P. hartigii*-EtOH - *E. coli* 7 antibiyofilm AFM görüntüsü

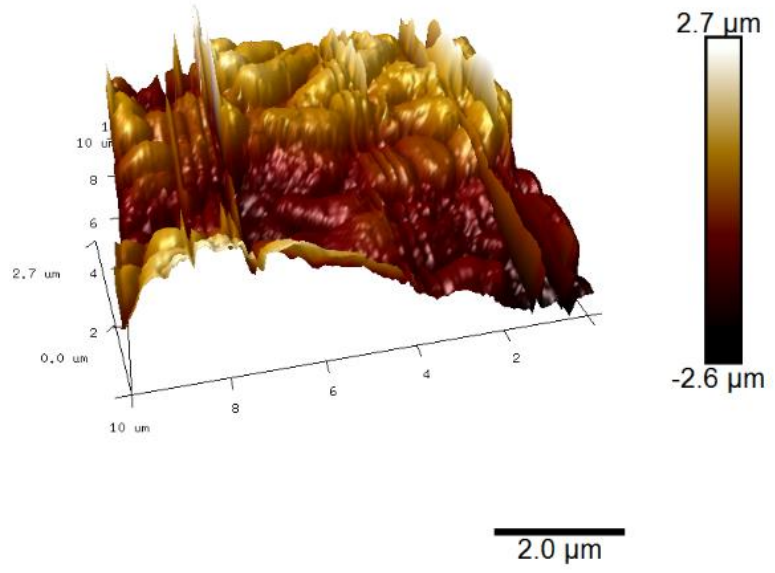
Şekil 4.166'da *P. hartigii* - EtOH ekstraktının *E. coli* 7 suşu üzerindeki antibiyofilm etkisinin AFM sonuç görüntüsü verilmiştir.



Şekil 4.167 *E. coli* 7 kontrol antibiyofilm AFM görüntüsü

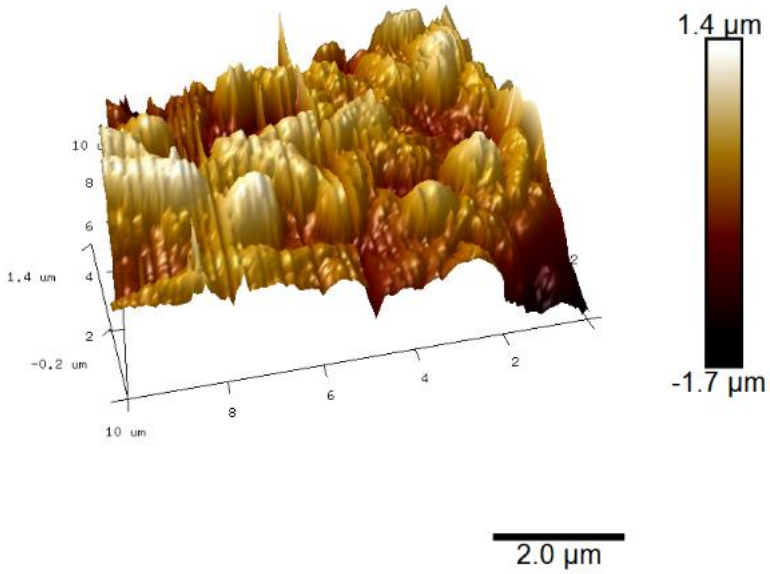
Şekil 4.167'de *P. hartigii* - EtOH ekstraktı uygulanmamış *E. coli* 7 suşunun metal kupondaki tutunumunun AFM görüntüsü verilmiştir.

4.8.2 *P. hartigii* - EtOH Ekstraktının *E. coli* 9 Suşu Üzerindeki Antibiyofilm Etkisine Ait AFM Görüntüleri



Şekil 4.168 *P. hartigii*-EtOH - *E. coli* 9 antibiyofilm AFM görüntüsü

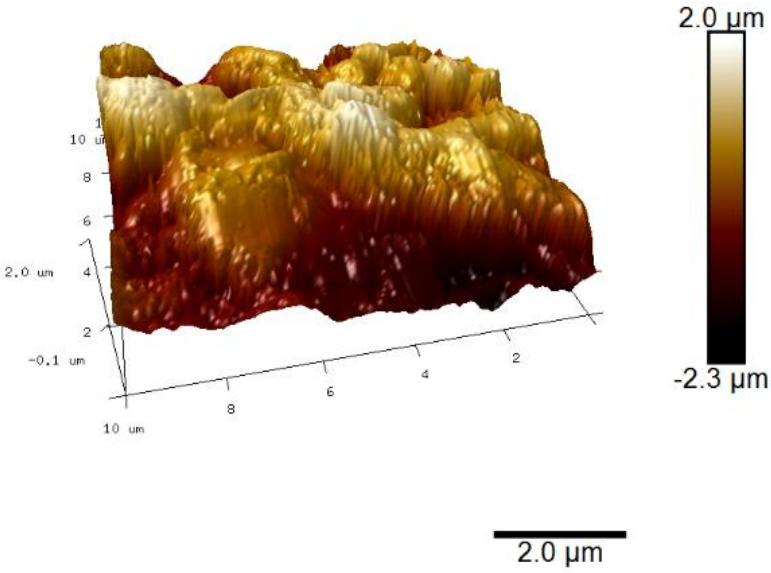
Şekil 4.168'te *P. hartigii* - EtOH ekstraktının *E. coli* 9 suşu üzerindeki antibiyofilm etkisinin AFM sonuç görüntüsü verilmiştir.



Şekil 4.169 *E. coli* 9 kontrol antibiyofilm AFM görüntüsü

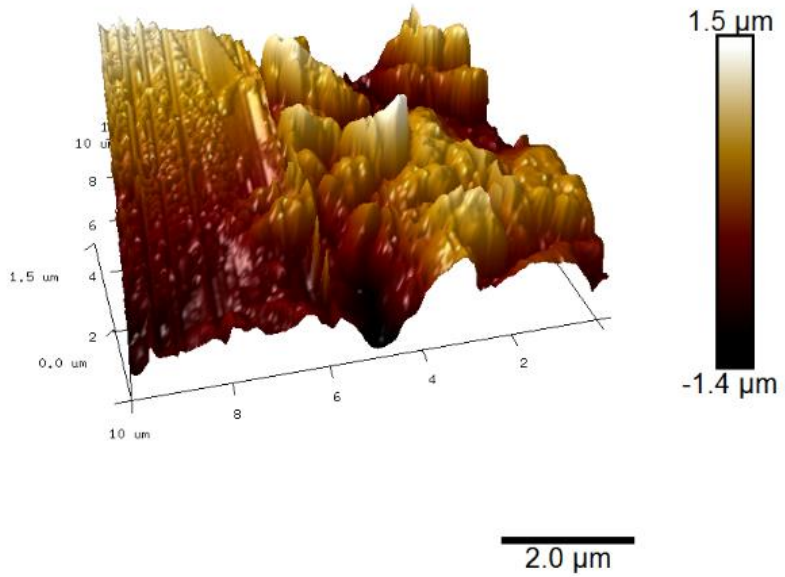
Şekil 4.169'da *P. hartigii* - EtOH ekstraktı uygulanmamış *E. coli* 9 suşunun metal kupondaki tutunumunun AFM görüntüsü verilmiştir.

4.8.3 *P. hartigii* - EtOH Ekstraktının *E. coli* 11 Suşu Üzerindeki Antibiyofilm Etkisine Ait AFM Görüntüleri



Şekil 4.170 *P. hartigii*-EtOH - *E. coli* 11 antibiyofilm AFM görüntüsü

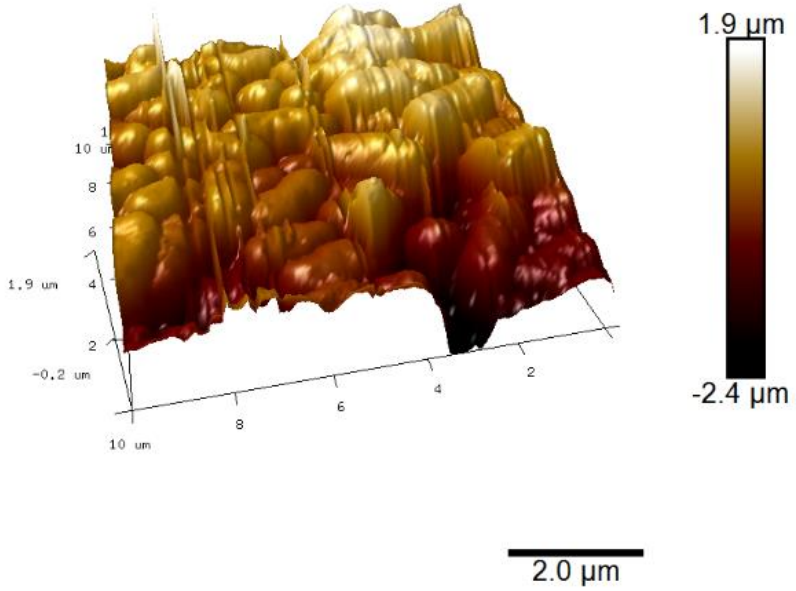
Şekil 4.170’de *P. hartigii* - EtOH ekstraktının *E. coli* 11 suşu üzerindeki antibiyofilm etkisinin AFM sonuç görüntüsü verilmiştir.



Şekil 4.171 *E. coli* 11 kontrol antibiyofilm AFM görüntüsü

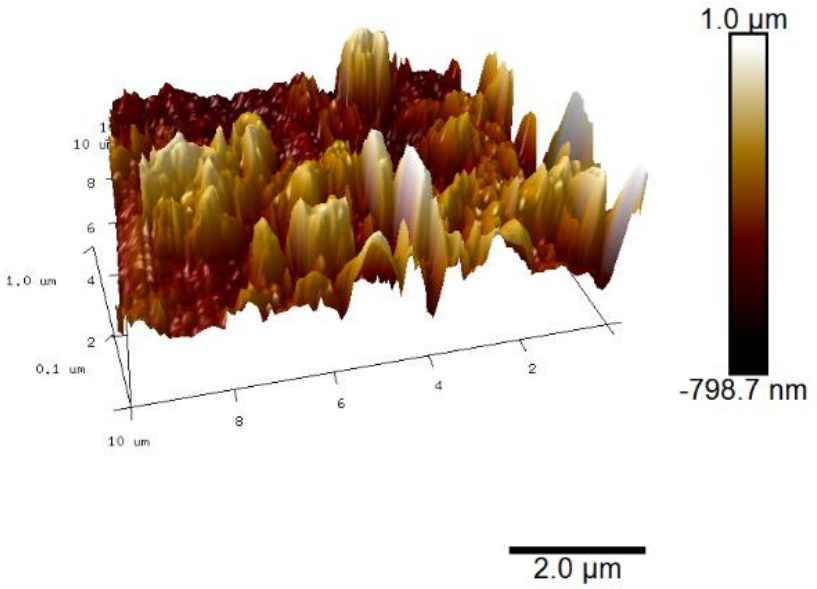
Şekil 4.171’de *P. hartigii* - EtOH ekstraktı uygulanmamış *E. coli* 11 suşunun metal kupondaki tutunumunun AFM görüntüsü verilmiştir.

4.8.4 *P. hartigii* - EtOH Ekstraktının *E. coli* 12 Suşu Üzerindeki Antibiyofilm Etkisine Ait AFM Görüntüleri



Şekil 4.172 *P. hartigii*-EtOH - *E. coli* 12 antibiyofilm AFM görüntüsü

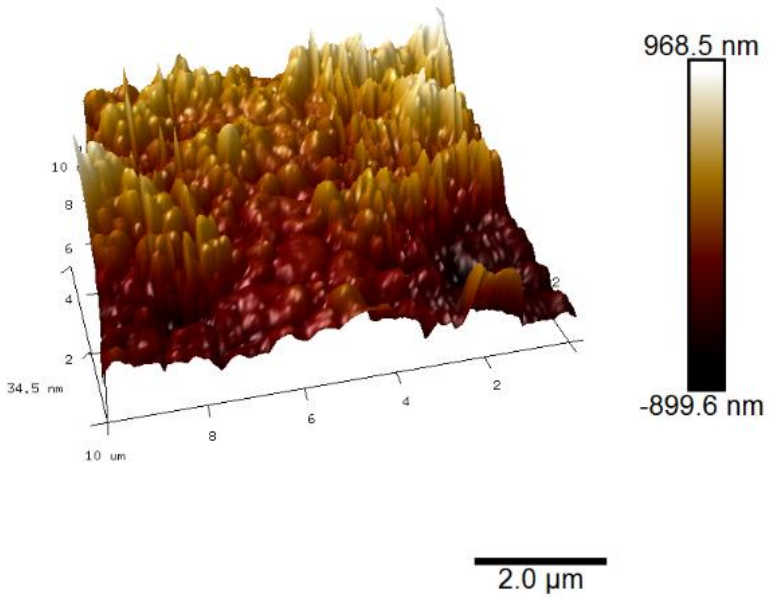
Şekil 4.172’de *P. hartigii* - EtOH ekstraktının *E. coli* 12 suşu üzerindeki antibiyofilm etkisinin AFM sonuç görüntüsü verilmiştir.



Şekil 4.173 *E. coli* 12 kontrol antibiyofilm AFM görüntüsü

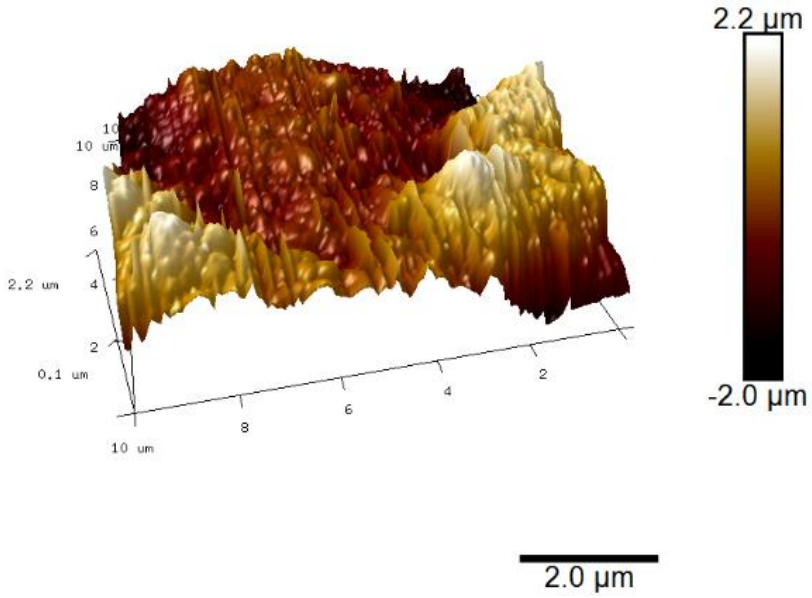
Şekil 4.173’de *P. hartigii* - EtOH ekstraktı uygulanmamış *E. coli* 12 suşunun metal kupondaki tutunumunun AFM görüntüsü verilmiştir.

4.8.5 *P. hartigii* - EtOH Ekstraktının *S. aureus* Suşu Üzerindeki Antibiyofilm Etkisine Ait AFM Görüntüleri



Şekil 4.174 *P. hartigii*-EtOH - *S. aureus* antibiyofilm AFM görüntüsü

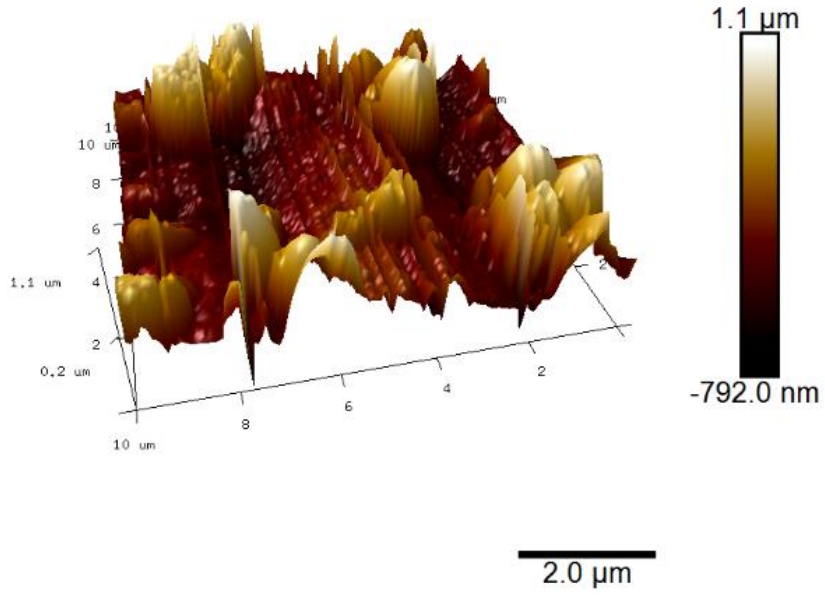
Şekil 4.174'de *P. hartigii* - EtOH ekstraktının *S. aureus* suşu üzerindeki antibiyofilm etkisinin AFM sonuç görüntüsü verilmiştir.



Şekil 4.175 *S. aureus* kontrol antibiyofilm AFM görüntüsü

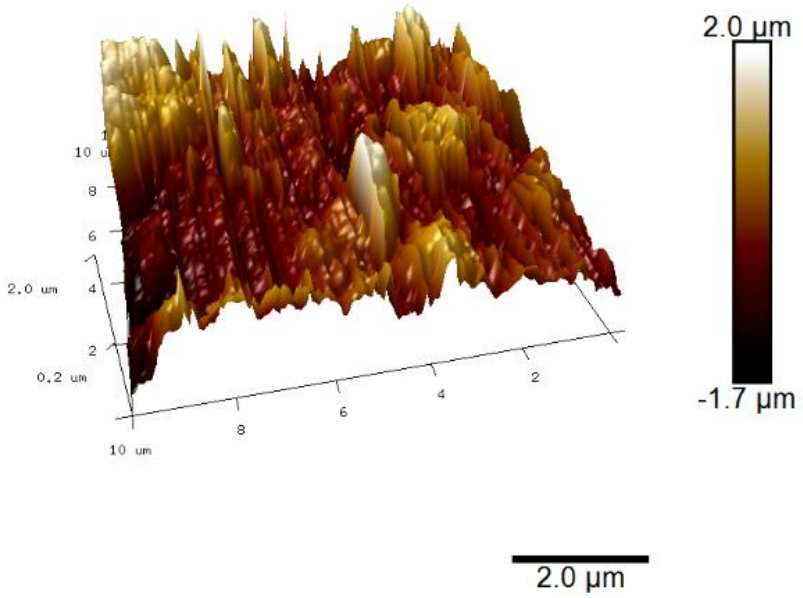
Şekil 4.175'de *P. hartigii* - EtOH ekstraktı uygulanmamış *S. aureus* suşunun metal kupondaki tutunumunun AFM görüntüsü verilmiştir.

4.8.6 *P. hartigii* - Kloroform Ekstraktının *S. aureus* MRSA Suşu Üzerindeki Antibiyofilm Etkisine Ait AFM Görüntüleri



Şekil 4.176 *P. hartigii*-kloroform - *S. aureus* MRSA antibiyofilm AFM görüntüsü

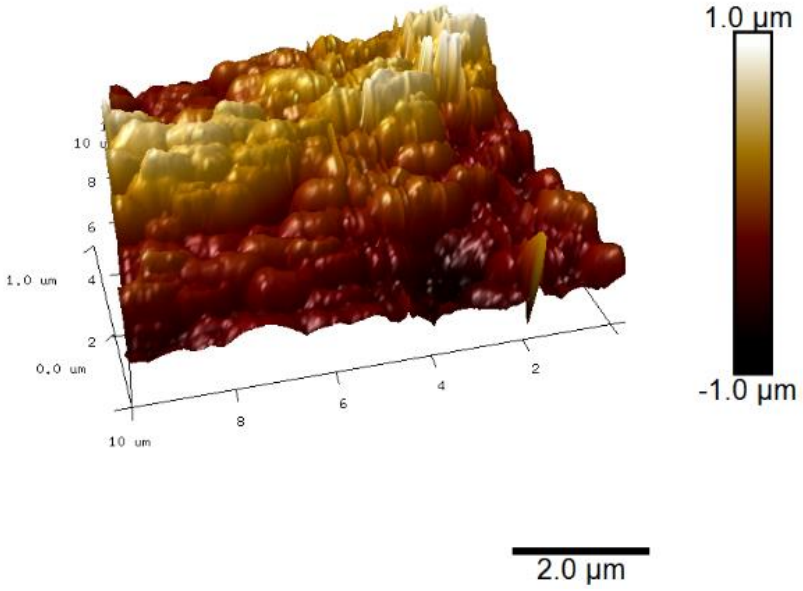
Şekil 4.176'da *P. hartigii* - kloroform ekstraktının *S. aureus* MRSA suşu üzerindeki antibiyofilm etkisinin AFM sonuç görüntüsü verilmiştir.



Şekil 4.177 *S. aureus* kontrol antibiyofilm AFM görüntüsü

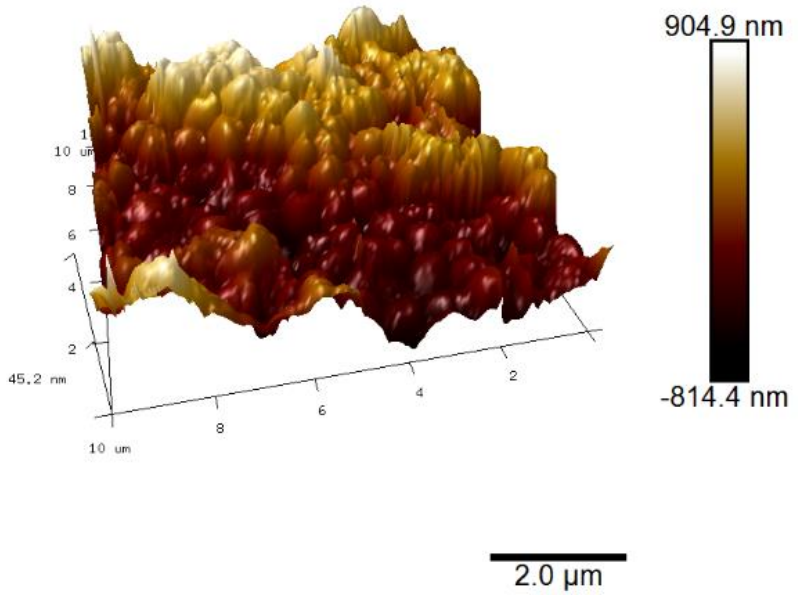
Şekil 4.177'de *P. hartigii* - kloroform ekstraktı uygulanmamış *S. aureus* MRSA suşunun metal kupondaki tutunumunun AFM görüntüsü verilmiştir.

4.8.7 *P. hartigii* - Kloroform Ekstraktının *C. albicans* Suşu Üzerindeki Antibiyofilm Etkisine Ait AFM Görüntüleri



Şekil 4.178 *P. hartigii*-kloroform - *C. albicans* antibiyofilm AFM görüntüsü

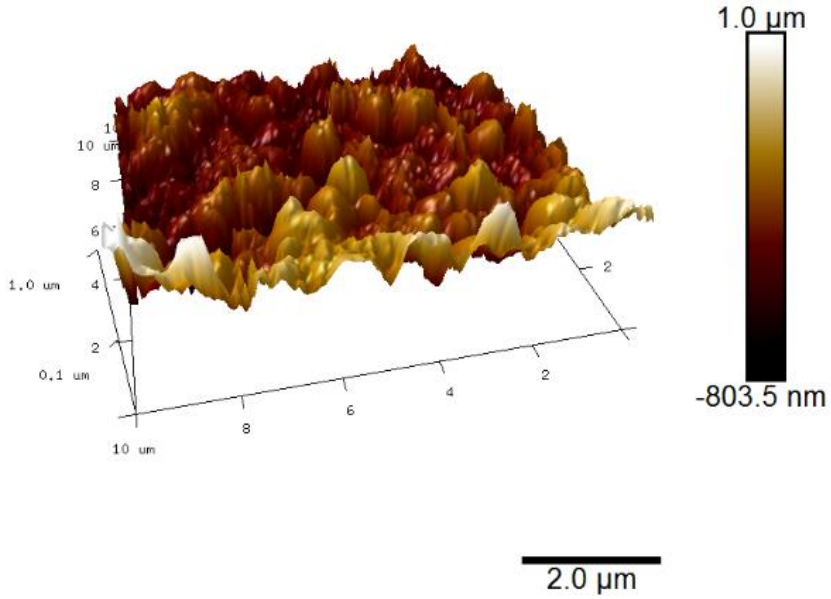
Şekil 4.178'de *P. hartigii* - kloroform ekstraktının *C. albicans* suşu üzerindeki antibiyofilm etkisinin AFM sonuç görüntüsü verilmiştir.



Şekil 4.179 *C. albicans* kontrol antibiyofilm AFM görüntüsü

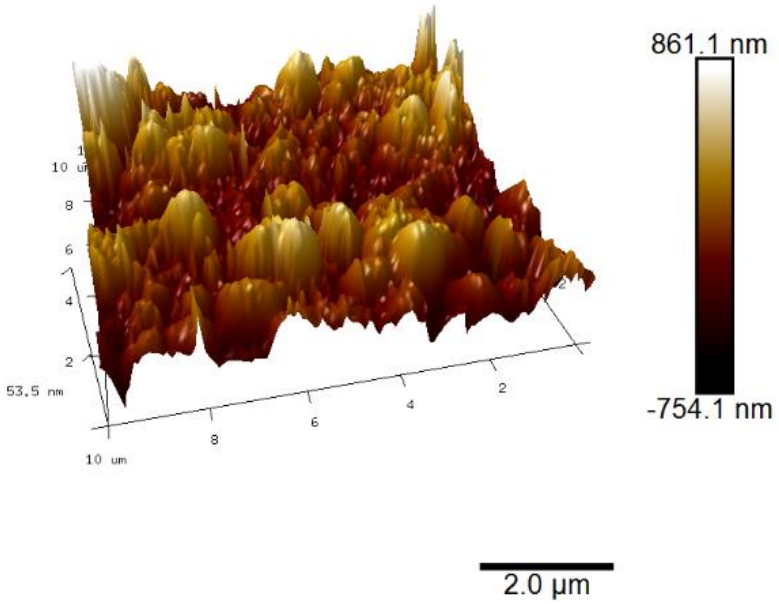
Şekil 4.179'da *P. hartigii* - kloroform ekstraktı uygulanmamış *C. albicans* suşunun metal kupondaki tutunumunun AFM görüntüsü verilmiştir.

4.8.8 *F. fomentarius* - EtOH Ekstraktının *S. aureus* MRSA Suşu Üzerindeki Antibiyofilm Etkisine Ait AFM Görüntüleri



Şekil 4.180 *F. fomentarius* - EtOH - *S. aureus* MRSA antibiyofilm AFM görüntüsü

Şekil 4.180'de *F. fomentarius* - EtOH ekstraktının *S. aureus* suşu üzerindeki antibiyofilm etkisinin AFM sonuç görüntüsü verilmiştir.

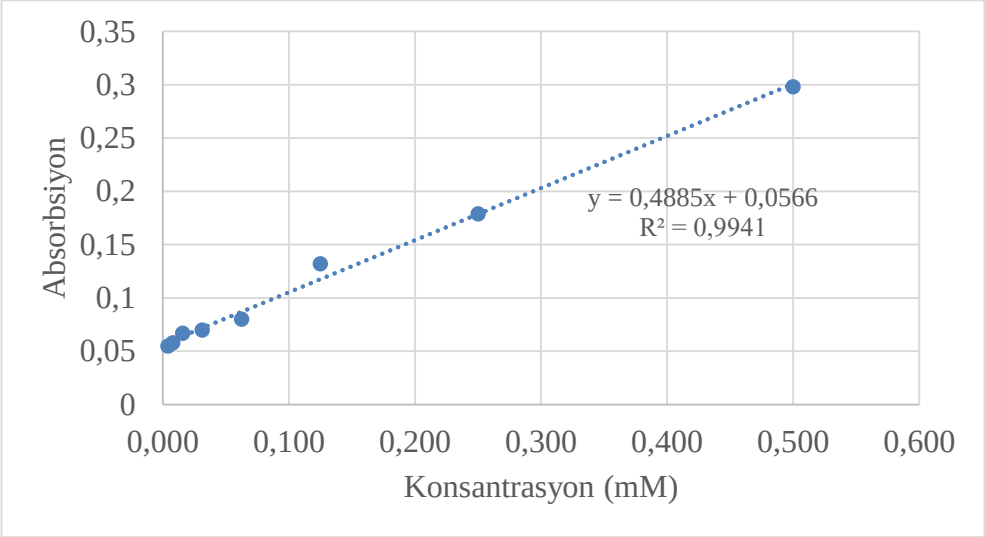


Şekil 4.181 *S. aureus* MRSA kontrol antibiyofilm AFM görüntüsü

Şekil 4.181'de *F. fomentarius* - EtOH ekstraktı uygulanmamış *S. aureus* MRSA suşunun metal kupondaki tutunumunun AFM görüntüsü verilmiştir.

4.9 DPPH Sonuçları

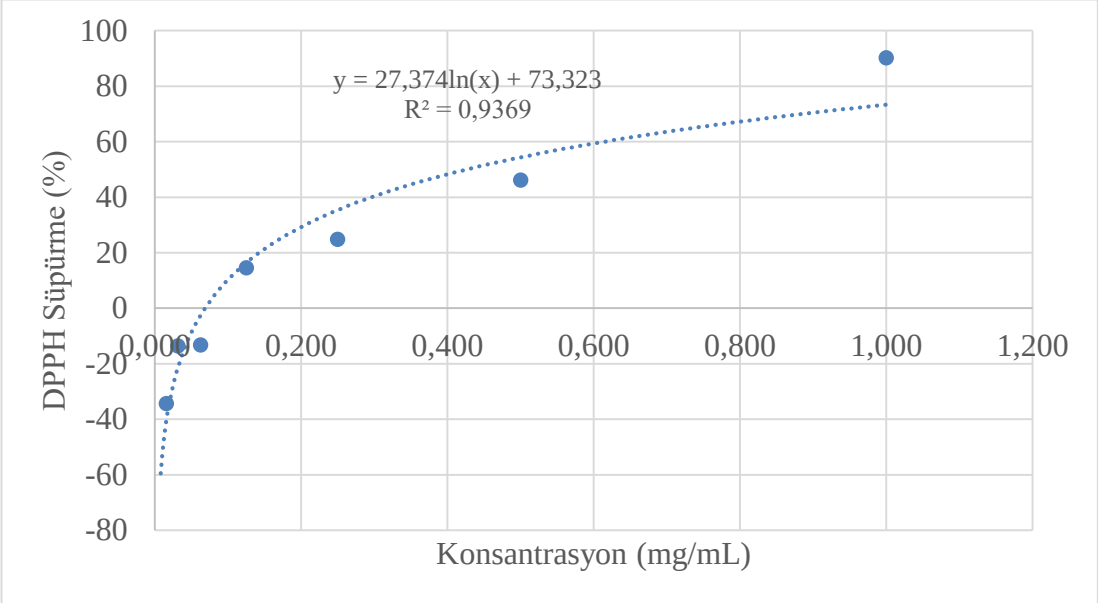
4.9.1 DPPH Kalibrasyon Eğrisi



Şekil 4.182 DPPH kalibrasyon eğrisi

Şekil 4.182'de DPPH konsantrasyonuna karşılık absorbsiyon değerleri kullanarak çizilmiş olan DPPH kalibrasyon eğrisi gösterilmiştir.

4.9.2 *P. hartigii* - EtOH Ekstraktına Ait DPPH Sonuçları



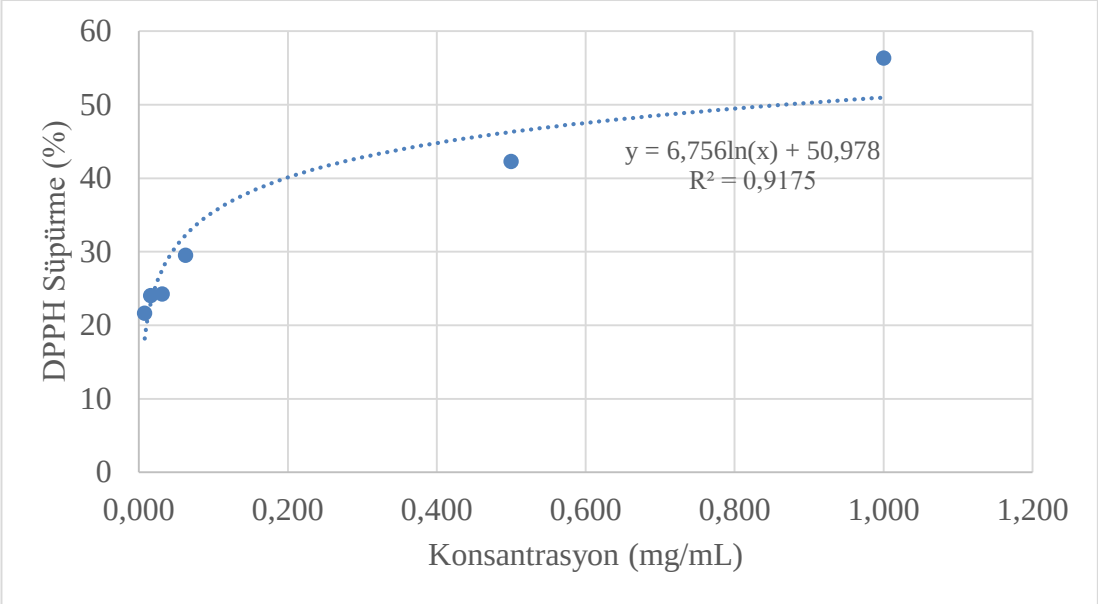
Şekil 4.183 *P. hartigii* - EtOH ekstraktına ait DPPH sonuç grafiği

Şekil 4.183'de *P. hartigii* - EtOH ekstraktına ait DPPH sonuç grafiği verilmiştir. Bu grafik kullanılarak hesaplanan IC_{50} değeri 0,427 mg/mL olarak bulunmuşken, IC_{90} değeri 1,839 mg/mL olarak hesaplanmıştır.

4.9.3 *P. hartigii* - Kloroform Ekstraktına Ait DPPH Sonuçları

P. hartigii - kloroform ekstraktının uygulandığı konsantrasyonlarda bir antioksidan aktivite gözlenmemiştir.

4.9.4 *F. fomentarius* - EtOH Ekstraktına Ait DPPH Sonuçları



Şekil 4.184 *F. fomentarius* - EtOH ekstraktına ait DPPH sonuç grafiği

Şekil 4.184'te *F. fomentarius* - EtOH ekstraktına ait DPPH sonuç grafiği verilmiştir. Bu grafik kullanılarak hesaplanan IC_{50} değeri 0,865 mg/mL, olarak bulunmuşken, IC_{90} değeri 322,435 mg/mL olarak hesaplanmıştır. Ancak, IC_{90} değeri gözlenen süpürme aralığının dışında olduğundan, bu hesabın güvenirliği düşüktür.

4.9.5 *F. fomentarius* - Kloroform Ekstraktına Ait DPPH Sonuçları

F. fomentarius - kloroform ekstraktının uygulandığı konsantrasyonlarda bir antioksidan aktivite gözlenmemiştir.

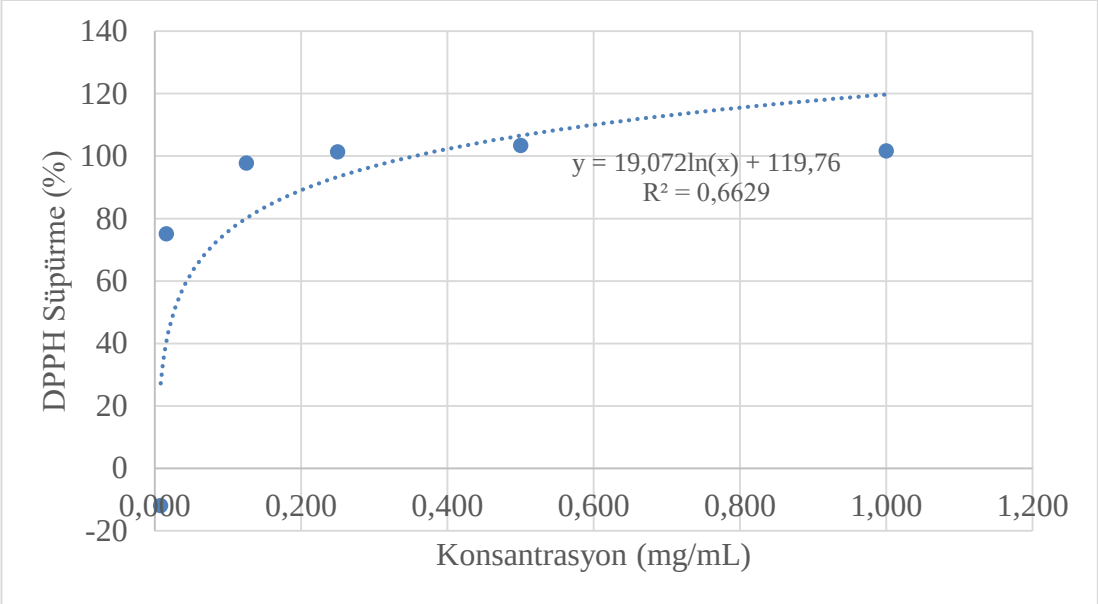
4.9.6 *F. pinicola* - EtOH Ekstraktına Ait DPPH Sonuçları

F. pinicola - EtOH ekstraktının uygulandığı konsantrasyonlarda bir antioksidan aktivite gözlenmemiştir.

4.9.7 *F. pinicola* - Kloroform Ekstraktına Ait DPPH Sonuçları

F. pinicola - kloroform ekstraktının uygulandığı konsantrasyonlarda bir antioksidan aktivite gözlenmemiştir.

4.9.8 C Vitamini (Pozitif Kontrol) DPPH Sonuçları

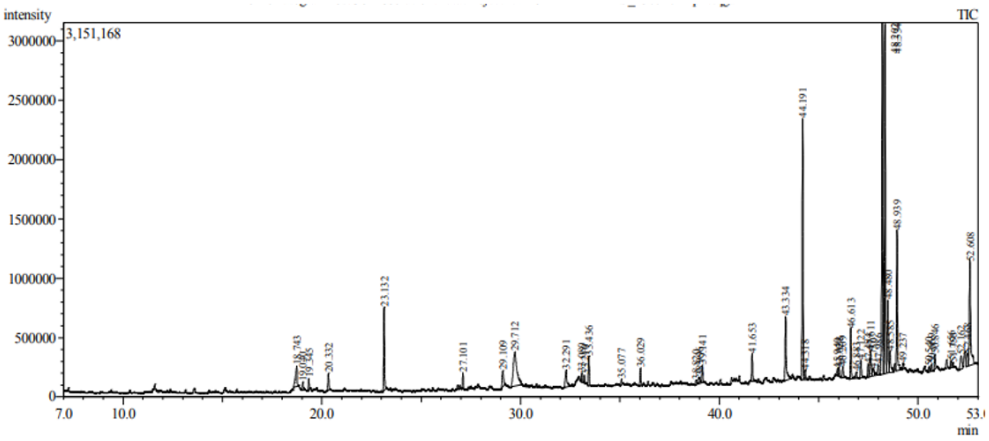


Şekil 4.185 C vitamini pozitif kontrolü DPPH sonuç grafiği

Şekil 4.185'te C vitaminine (pozitif kontrol) ait DPPH sonuç grafiği verilmiştir. Bu grafik kullanılarak hesaplanan IC_{50} değeri 0,026 mg/mL, olarak bulunmuşken, IC_{90} değeri 0,210 mg/mL olarak hesaplanmıştır.

4.10 GC/MS Sonuçları

4.10.1 *P. hartigii* - EtOH Ekstraktının GC/MS Sonuçları



Şekil 4.186 *P. hartigii*-EtOH - GC/MS kromatogram sonuçları

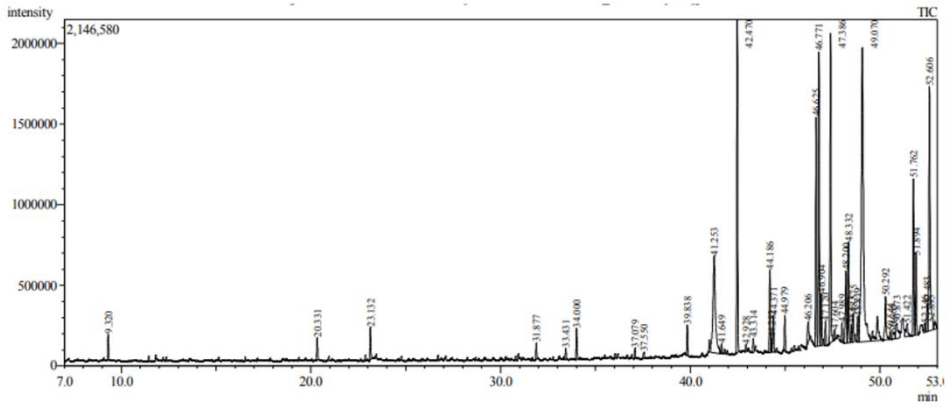
Şekil 4.186'da *P. hartigii* - EtOH ekstraktının kromatogram grafiği verilmiştir.

Tablo 4.6 *P. hartigii* - EtOH ekstraktının major bileşenleri

Major Bileşenler	Yüzde (%)
Etil oleat	19,19
Etil linolat	16,53
Etil palmitat	11,14
Etil stearat	6,66
9-Oktadesenamid	6,51
D - Alloz	5,74
Palmitik asit	3,60
Anetol	3,57
Etil heptadekanoat	2,15
Hekzadekan	2,09
Benzoik asit	1,67
Oleik asit	1,47
Nonadekanamid	1,38
İzovanilik asit	1,36
Etil pentadekanoat	1,22
Dimethyl{bis[(2Z)-pent-2-en-1-yloxy]}silane	1,15
5,8-Oktadekadienoik asit, metil ester	1,11
Etil 9-heksadekenoat	1,09

Tablo 4.6'da *P. hartigii* - EtOH ekstraktında bulunan major bileşenler gösterilmiştir.

4.10.2 *P. hartigii* - Kloroform Ekstraktının GC/MS Sonuçları



Şekil 4.187 *P. hartigii*-kloroform - GC/MS kromatogram sonuçları

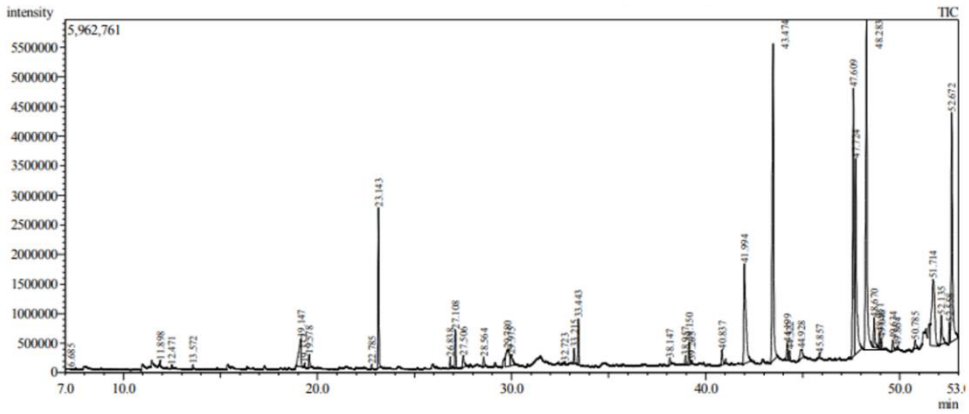
Şekil 4.187'de *P. hartigii* - kloroform ekstraktının kromatogram grafiği verilmiştir.

Tablo 4.7 *P. hartigii* - kloroform ekstraktının major bileşenleri

Major Bileşenler	Yüzde (%)
Metil behenat	21,23
9-Octadecenamid	8,59
Metil stearat	8,22
Metil palmitat	8,13
Metil oleat	7,60
Metil henikosanoat	7,29
Alfa-linoleik asit	5,80
Dimetil heksadekandioat	4,17
Etil oleat	3,23
Metil araşidat	2,23
Etil palmitat	2,17
Hekzadekanedioik asit, dimetil ester	1,51
Metil elaidat	1,49
Tridekanedial	1,09
9-Heksakozen	1,05
Metil dihidromalvalat	1,01

Tablo 4.7'de *P. hartigii* - kloroform ekstraktının major bileşenleri gösterilmiştir.

4.10.3 *F. fomentarius* - EtOH Ekstraktının GC/MS Sonuçları



Şekil 4.188 *F. fomentarius*-EtOH - GC/MS kromatogram sonuçları

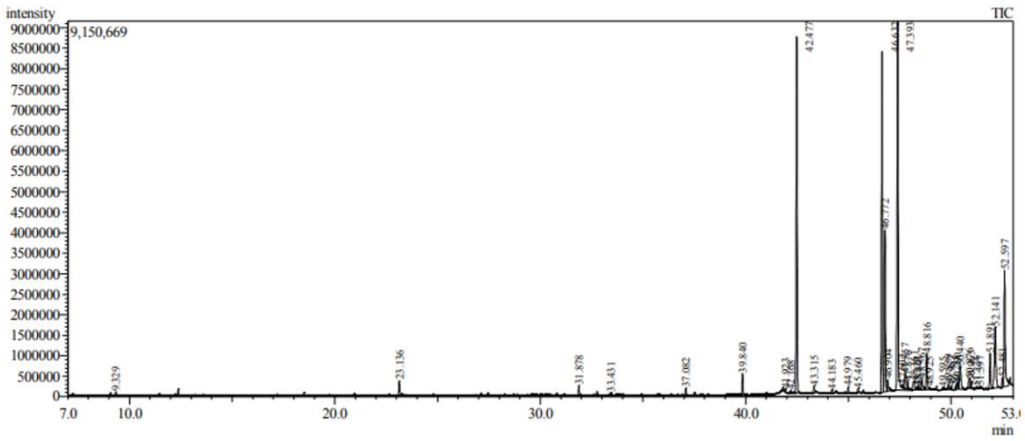
Şekil 4.188'te *F. fomentarius* - EtOH ekstraktının kromatogram grafiği verilmiştir.

Tablo 4.8 *F. fomentarius*-EtOH ekstraktının major bileşenleri

Major Bileşenler	Yüzde (%)
Stearik asit	15,86
Palmitik asit	14,28
Alfa-linoleik asit	11,28
9-Oktadesenamid	10,54
Oleik asit	9,64
Linokain hidroklorür	6,99
Metil tetrakosanoat	6,95
Anetol	4,58
Benzoik asit	2,29
D - Alloz	2,15
Tetradesilsikloheksan	1,29
Oktadekanamid	1,29
Hekzadekan	1,26
Tetradekan	1,09

Tablo 4.8'de *F. fomentarius* - EtOH ekstraktının major bileşenleri gösterilmiştir.

4.10.4 *F. fomentarius* - Kloroform Ekstraktının GC/MS Sonuçları



Şekil 4.189 *F. fomentarius*-kloroform - GC/MS kromatogram sonuçları

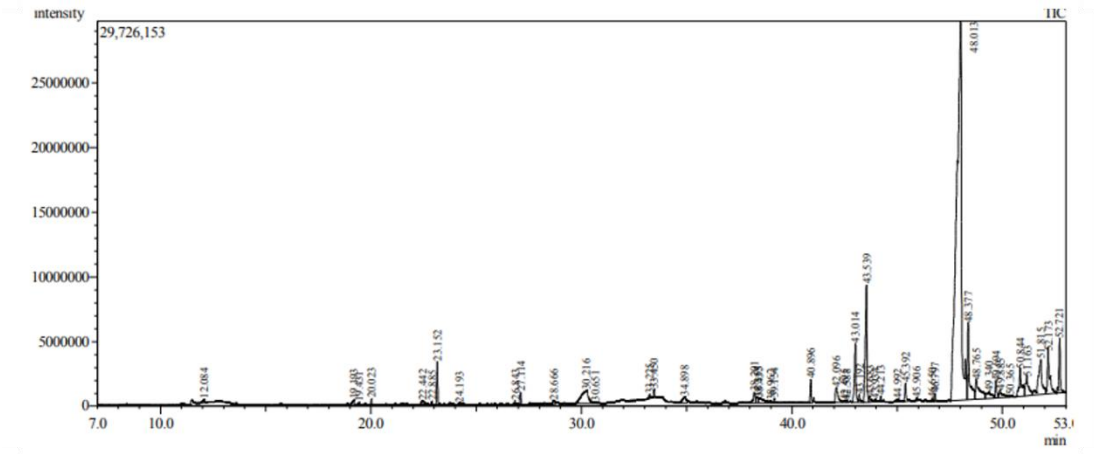
Şekil 4.189'da *F. fomentarius* - kloroform ekstraktının kromatogram grafiği verilmiştir.

Tablo 4.9 *F. fomentarius* - kloroform ekstraktının major bileşenleri

Major Bileşenler	Yüzde (%)
Metil stearat	21,44
9,12-Oktadekadienoik asit	18,71
Metil palmitat	18,70
9-Oktadesenamid	7,79
Etil stearat	5,23
9,12-Oktadekadienoik asit, metil ester	2,39
Metil 18-metilnonadekanoat	2,07
Trisiklo[20.8.0.0(7,16)]triacontane, 1(22),7(16)-diepoksi-	3,49
Metil pentadekanoat	1,06

Tablo 4.9'da *F. fomentarius* - kloroform ekstraktının major bileşenleri gösterilmiştir.

4.10.5 *F. pinicola* - EtOH Ekstraktının GC/MS Sonuçları



Şekil 4.190 *F. pinicola*-EtOH - GC/MS kromatogram sonuçları

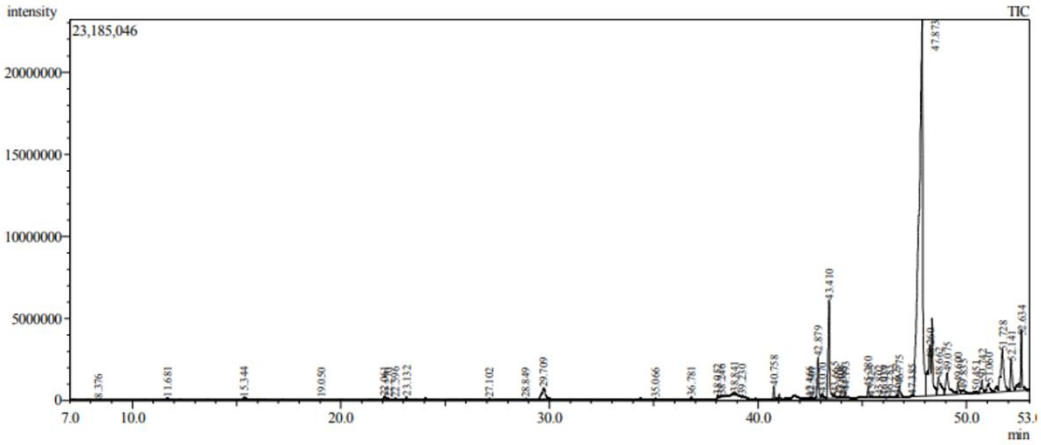
Şekil 4.190'da *F. pinicola* - EtOH ekstraktının kromatogram grafiği verilmiştir.

Tablo 4.10 *F. pinicola* - EtOH ekstraktının major bileşenleri

Major Bileşenler	Yüzde (%)
9-Oktadekanoik asit	55,23
Metil dihomo-gama-linolenat	7,97
Palmitik asit	5,60
Etil oleat	4,60
9-Oktadesenamid	4,55
Tetradesilsikloheksan	2,85
D - Alloz	2,83
Dimetil 3-hidroksi-3-metilglutarat	1,19
Linokain hidroklorür	1,13

Tablo 4.10'da *F. pinicola* - EtOH ekstraktının major bileşenleri ve bu bileşenlerin bulunma yüzde oranları gösterilmiştir.

4.10.6 *F. pinicola* - Kloroform Ekstraktının GC/MS Sonuçları



Şekil 4.191 *F. pinicola*-kloroform - GC/MS kromatogram sonuçları

Şekil 4.191'de *F. pinicola* - kloroform ekstraktının kromatogram grafiği verilmiştir.

Tablo 4.11 *F. pinicola* - kloroform ekstraktının major bileşenleri

Major Bileşenler	Yüzde (%)
Oleik asit	54,74
Stearik asit	9,50
Metil behenat	8,78
Palmitik asit	6,18
9-Oktadesenamid	6,15
2-Hidroksisiklopentadekanon	2,65
Sikloheksan, eikosil-	2,27
Dihomo-gamma-linolenik asit metil ester	2,23

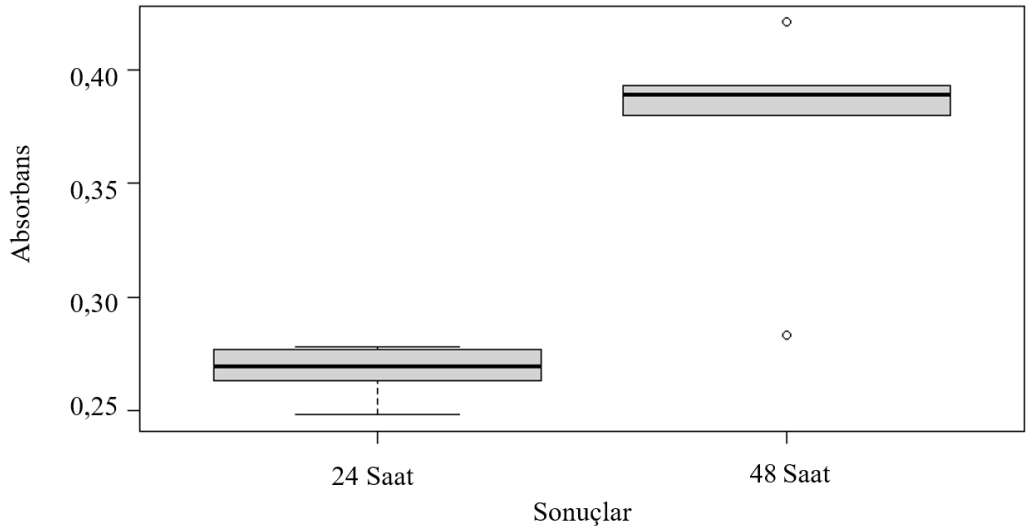
Tablo 4.11'de *F. pinicola* - kloroform ekstraktının major bileşenleri ve bu bileşenlerin bulunma yüzde oranları gösterilmiştir.

4.11 İstatistiksel Analizlere Ait Sonuçlar

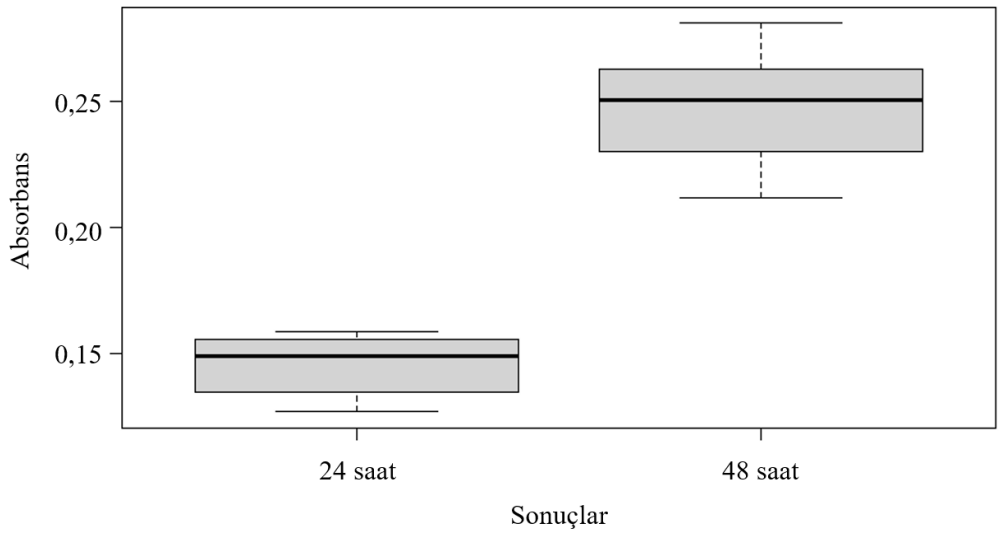
4.11.1 Optimum Biyofilm Parametreleri İle İlgili İstatistiksel Analiz Sonuçları

Optimum biyofilm parametrelerinin belirlendiği çalışmalardan elde edilen verilerin analizi sonucunda 24 saat ve 48 saat olarak yapılan çalışmaların paralelleri arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edimiş olup, 24 saat ve 48 saat olarak yapılan çalışmalar birbirleri ile kıyas edildiğide anlamlı fark olduğu istatistik analizler ile belirlenmiştir. İstatistiksel analizlerin detayları eklerde (Ek A Optimum Biyofilm Parametrelerinin İstatistik Sonuçları) belirtilmiştir.

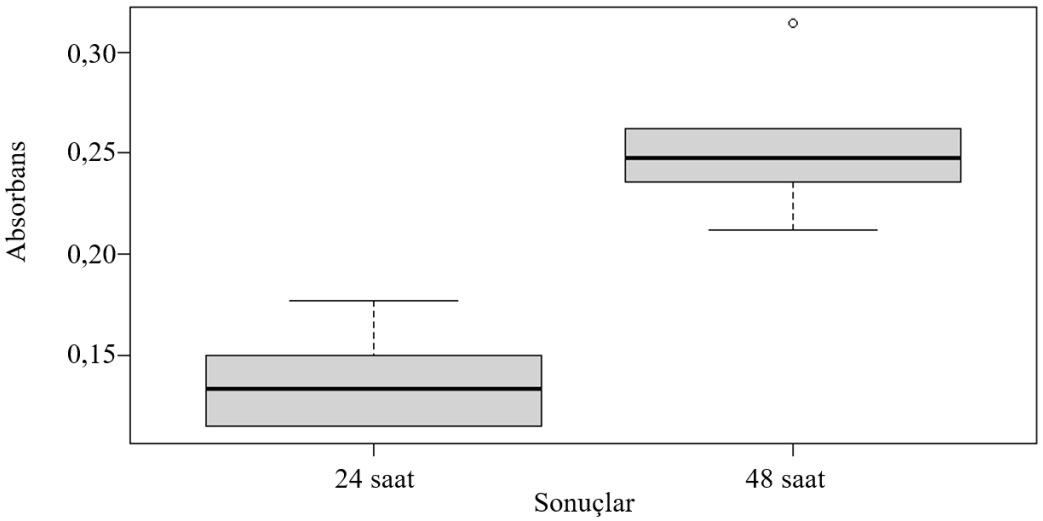
24 saat ve 48 saat inkübasyon süresi sonunda biyofilm oluşumundaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğunun gösterildiği durumlara ait kutu grafikleri (boxplot) Şekil 4.192, Şekil 4.193, Şekil 4.194, Şekil 4.195, Şekil 4.196, Şekil 4.197, Şekil 4.198, Şekil 4.199, Şekil 4.200 ve Şekil 4.201'de verilmiştir.



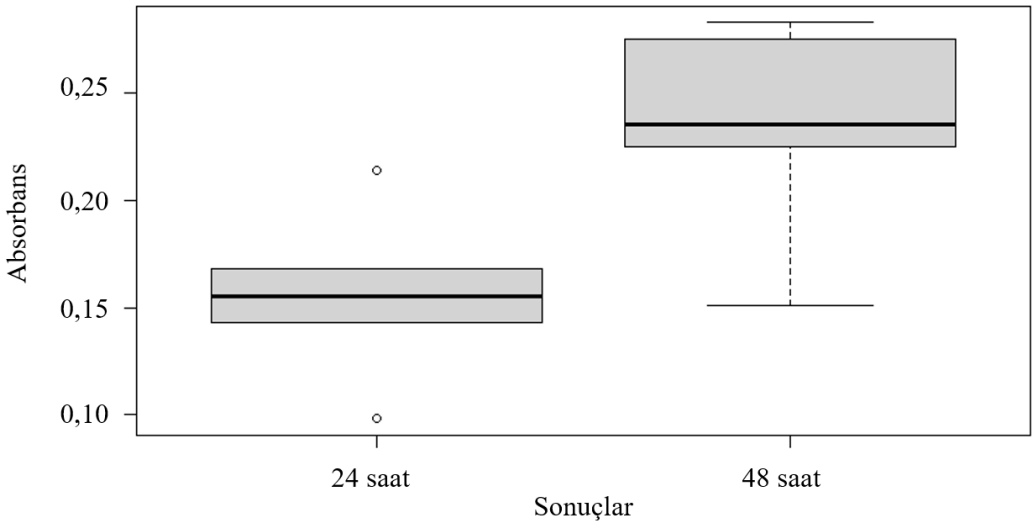
Şekil 4.192 *E. coli* 3, 24 saat ve 48 saat biyofilm oluşumu karşılaştırması



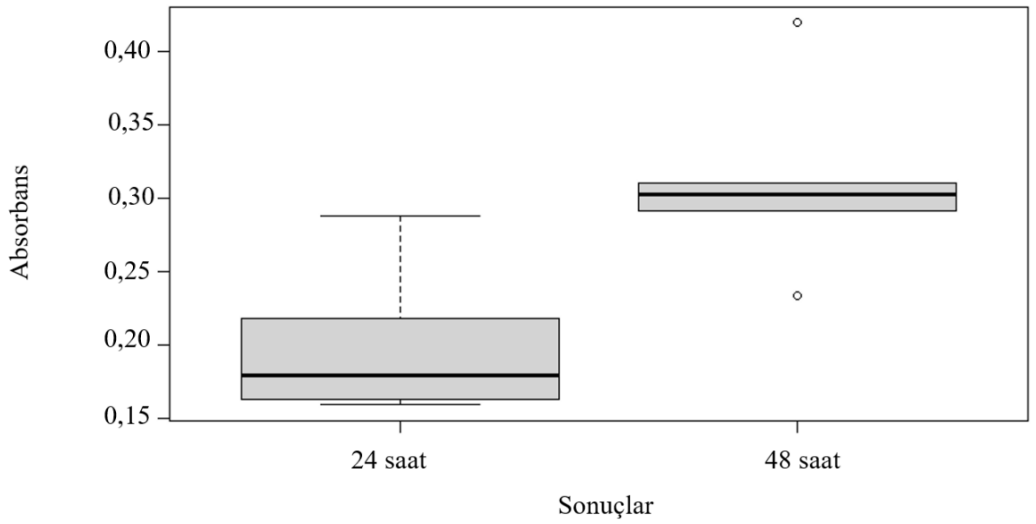
Şekil 4.193 *E. coli* 7, 24 saat ve 48 saat biyofilm oluşumu karşılaştırması



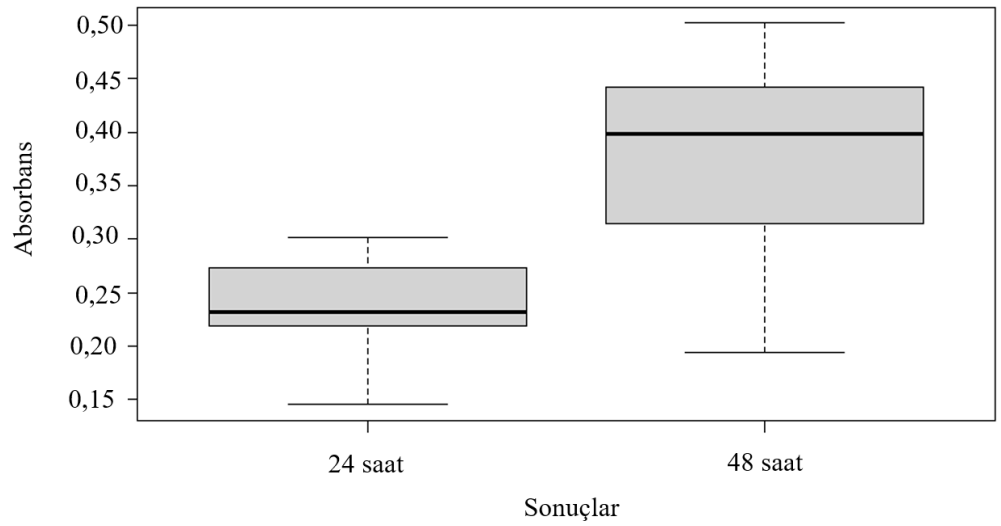
Şekil 4.194 *E. coli* 8, 24 saat ve 48 saat biyofilm oluşumu karşılaştırması



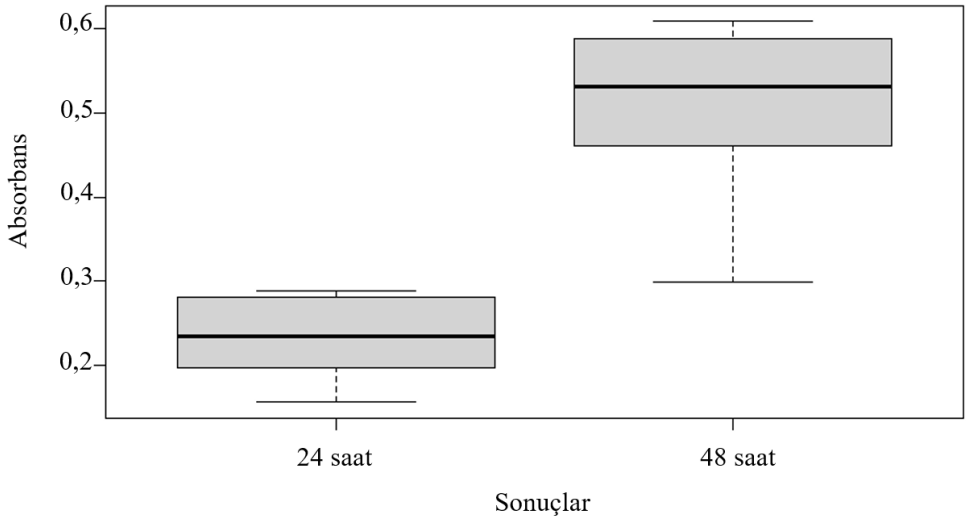
Şekil 4.195 *E. coli* 9, 24 saat ve 48 saat biyofilm oluşumu karşılaştırması



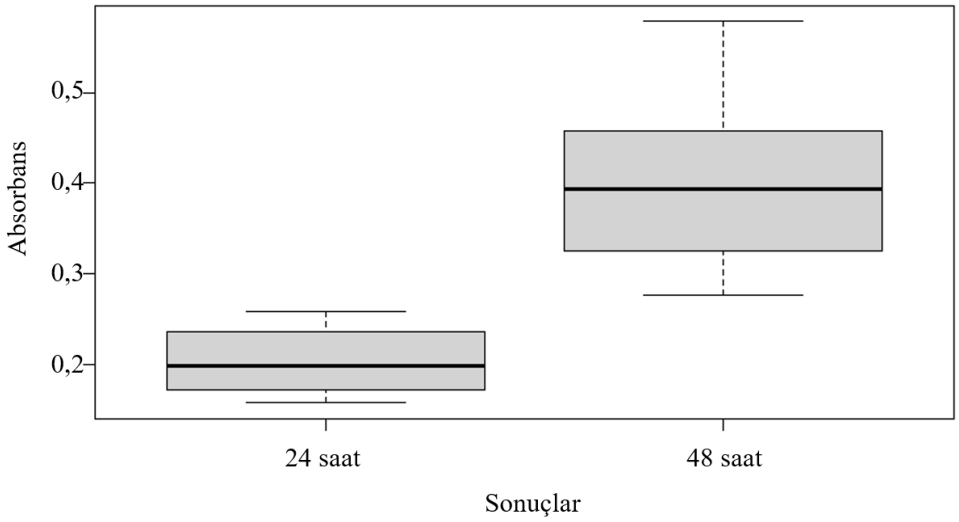
Şekil 4.196 *E. coli* 10, 24 saat ve 48 saat biyofilm oluşumu karşılaştırması



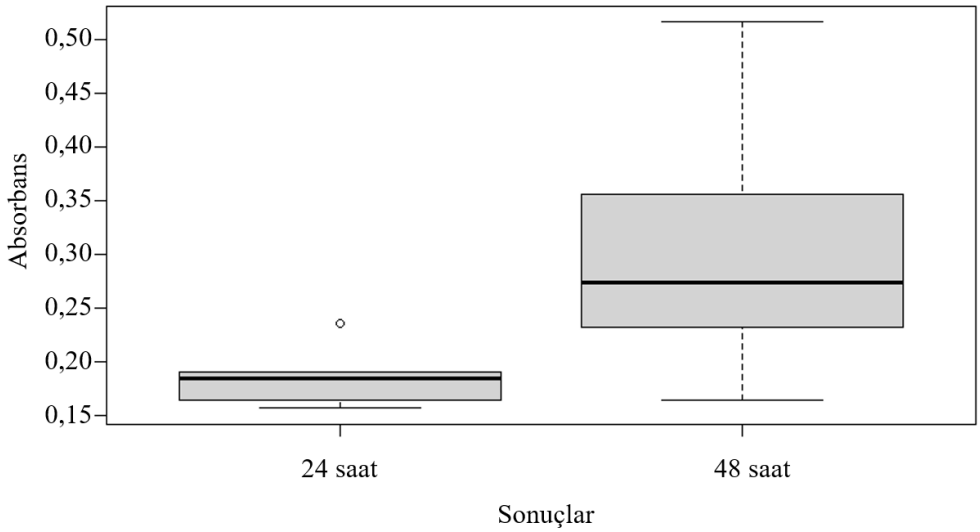
Şekil 4.197 *E. coli* 11, 24 saat ve 48 saat biyofilm oluşumu karşılaştırması



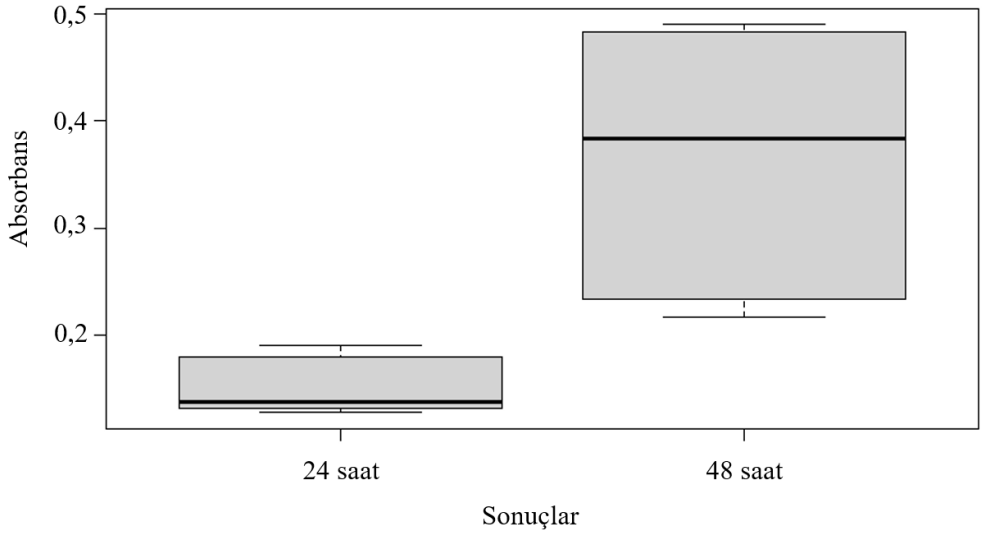
Şekil 4.198 *E. coli* 12, 24 saat ve 48 saat biyofilm oluşumu karşılaştırması



Şekil 4.199 *S. aureus*, 24 saat ve 48 saat biyofilm oluşumu karşılaştırması



Şekil 4.200 *S. aureus* MRSA, 24 saat ve 48 saat biyofilm oluşumu karşılaştırması



Şekil 4.201 *C. albicans*, 24 saat ve 48 saat biyofilm oluşumu karşılaştırması

4.11.2 Ekstraktların Antibiyofilm Etkileri İle İlgili İstatistiksel Analiz Sonuçları

Tüm ekstraktların antibiyofilm etkileri istatistiki olarak analiz edildiğinde ekstraktların her bir mikroorganizma için üç paraleli arasında anlamlı farklar olmadığı tespit edilmiştir. İstatistiksel analiz sonuç verileri eklerde (Ek B Ekstraktların Antibiyofilm Etkilerinin İstatistiksel Analiz Hesaplamaları) detaylı olarak verilmiştir.

4.11.3 DPPH Çalışması İle İlgili İstatistiksel Analiz Sonuçları

Ekstraktların DPPH süpürme kapasitesinden ve C vitamin pozitif kontrolünden elde edilen verilere Pearson korelasyon katsayı istatistiki analizi uygulandığında ekstraktların konsantrasyonu ile DPPH radikali süpürme oranının ilişkili olduğu görülmüştür. Pearson korelasyon katsayı analizine göre *F. fomentarius* - EtOH ekstraktının Pearson korelasyon katsayısı -0,9791542 (çok kuvvetli), *P. hartigii* - EtOH ekstraktının Pearson korelasyon katsayısı -0,9593273 (çok kuvvetli) ve pozitif kontrol olan C vitaminin Pearson korelasyon katsayısı -0,3697159 (zayıf) olarak hesaplanmıştır.

Yapılan analizlere göre DPPH çalışmasında *P. hartigii* - kloroform ve *F. fomentarius* - kloroform ekstraktlarının paralelleri arasında fark gözlenmiştir. Diğer ekstraktların paralelleri arasında fark bulunmamaktadır. İstatistiksel analiz sonuç verileri eklerde

(Ek C Ekstraktların DPPH Etkilerinin İstatistiksel Analiz Hesaplamaları) detaylı olarak verilmiştir.

5. TARTIŞMA

5.1 Ekstraksiyon Verilerinin Değerlendirilmesi

Elmajdoub (2021), tarafından yapılan çalışmada *P. hartigii*, *F. fomentarius* ve *F. pinicola* makrofunguslarının farklı çözücülerdeki ekstraktları kullanılmıştır. Bu ekstraktlar arasında etil alkol ve kloroform çözücüleri ile ekstrakte edilmiş olanlar da bulunmaktadır. Ekstrakt verimleri hesaplandığında *F. fomentarius* - EtOH 72,2 mg/mL (%3,61), *F. fomentarius* - kloroform 32,0 mg/mL (%1,60), *P. hartigii* - EtOH 44,2 mg/mL (%2,21), *P. hartigii* - kloroform 33,8 mg/mL (%1,69), *F. pinicola* - EtOH 505,4 mg/mL (%25,27) ve *F. pinicola* - kloroform 565,2 mg/mL (%28,26) olduğu görülmüştür. Sonuç verileri incelendiğinde en yüksek verimin %28,26 değeri ile *F. pinicola* - kloroform ekstraktına ve en düşük verimin %1,69 değeri ile *P. hartigii* - kloroform ekstraktına ait olduğu görülmektedir.

Yapılan bu tez çalışmasında ekstrakt verimi *F. fomentraius* - EtOH 104,75 mg/mL (%20,160), *F. fomentarius* - kloroform 107,4 mg/mL (%26,25), *P. hartigii* - EtOH 6 mg/mL (%0,884), *P. hartigii* - kloroform 20,25 mg/mL (%2,328), *F. pinicola* - EtOH 71 mg/mL (%10,428), *F. pinicola* - kloroform 66,8 mg/mL (%8,19) olarak hesaplanmıştır. En yüksek verimin %26,25 değeri ile *F. fomentarius* - kloroform ekstraktına ve en düşük verim ise %2,328 değeri ile *P. hartigii* - kloroform ekstraktına ait olduğu bulunmuştur.

Elmajdoub (2021) en yüksek verimi *F. pinicola* - kloroform ekstraktında elde ederken bu çalışmada en yüksek verim *F. fomentarius* - kloroform ekstraktında elde edilmiştir. Bu farkın sebebi kullanılan mantar örneklerinin ilk başta farklı miktarlarda kullanılması olabileceği değerlendirilmiştir. En düşük verim ise iki çalışmada da *P. hartigii* - kloroform ekstraktına ait olduğu kaydedilmiştir. Bu açıdan bakıldığında her iki çalışmanın birbiri ile uyumlu olduğu görülmüştür.

5.2 Makromantarların Antimikrobiyal Aktivitelerinin Değerlendirilmesi

Alalaqi (2020) tarafından yapılan çalışmada *P. hartigii, F. pinicola* ve *F. fomentarus* makromantarlarından farklı çözücüler kullanılarak ekstrakt elde edilmiş ve bunların MİK testi ile 12 farklı *E .coli* suşunun antimikrobiyal aktivitesi denenmiştir. Sonuç verilerine göre *P. hartigii* - kloroform ekstraktı 3,47 - 6,94 mg/mL arasında değişiklik gösteren, *F. pinicola* - kloroform ekstraktı 6,25 - 50,03 mg/mL arasında değişiklik gösteren ve *F. fomentarus* - kloroform ekstraktı 2,11 mg/mL MİK değeri ile antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu görülmüştür.

İrez vd. (2021) tarafından yapılan çalışmada *F.fomentarius*'un *E. coli, S. aureus, C. albicans* suşlarına karşı MİK ve MBK testleri ile antimikrobiyal aktivite tespit edilmiştir. *F. fomentarius* - EtOH ekstraktının *E. coli'*ye karşı olan antimikrobiyal aktivitesi 2,5 µg/mL, *S. aureus*'a karşı olan antimikrobiyal aktivitesi 2,5 µg/mL ve *C. albicans*'a karşı olan antimikrobiyal aktivitesi 5 µg/mL MİK değeri olarak hesaplanmıştır. *F. fomentarius* - kloroform ekstraktının *E. coli'*ye karşı olan antimikrobiyal aktivitesi 20 µg/mL, *S. aureus*'a karşı olan antimikrobiyal aktivitesi 20 µg/mL ve *C. albicans*'a karşı olan antimikrobiyal aktivitesi 20 µg/mL MİK değeri olarak bulunmuştur. MBK değerleri ise hem *F. fomentarius* - kloroform, hem de *F. fomentarius* - EtOH ekstraktlarında tüm suşlar için 40 µg/mL olarak hesaplanmıştır.

Yapılan bu tez çalışmasında, kullanılan tüm ekstrakt ve suşların antimikrobiyal aktivite testleri incelendiğinde MİK değerleri *F. fomentarius* - EtOH için >2095 µg/mL, *F. fomentarius* - kloroform için >1790 µg/mL, *P. hartigii* - etanol için >120 µg/mL, *P. hartigii* - kloroform için >134 µg/mL, *F. pinicola* - kloroform için >1113,5 µg/mL ve *F. pinicola* - EtOH için >2840 µg/mL olduğu gözlenmiştir. MBK değeri tüm kuyucuklarda üreme olması nedeni ile bulunamamıştır. MİK değeri bulunamamasının nedeni mevcut ana makrofungus numune miktarının yetersiz bulunmasından dolayı düşük doz ile çalışmaya başlanmış olmasıdır. Bununla birlikte bu çalışmadaki hedef suşları öldürecek konsantrasyonu bulmak değildir. Bu çalışmada MİK testi uygulanmasının amacı biyofilm çalışmasında kullanılacak olan konsantrasyonu belirlemektir. Ayrıca İrez vd (2021) tarafından yapılan çalışma ile kıyas edildiğinde farklı MİK ve MBK değerlerinin bir diğer sebebi ise iki çalışmada

farklı *E. coli, S. aureus, C. albicans* suşlarının kullanılmış olmasıdır. İrez vd (2021) tarafından yapılan çalışmada *E. coli* NRRL B-3704, *S. aureus* ATCC 25923, *C. albicans* ATCC 10231 suşları kullanılmıştır. Bu tez çalışmasında ise *C. albicans* DSMZ 1386, 12 farklı klinik izolat *E. coli, S. aureus* ve *S. aureus* MRSA suşları kullanılmıştır. Bunlara ilave olarak bir de çalışmalarda kullanılan makromantar örneklerinin farklı yerlerden farklı zamanlarda toplanmış olması, örneklerin farklı miktarlarda madde kompozisyonuna sahip olmasına neden olmuş olabilir. Bu da göstermiş oldukları etkilerin farklı olmasına neden olacağını ileri sürmek mümkündür.

Bu tez çalışmasında düşük miktarlarda numune ile çalışıldığından ve çalışmanın asıl amacı antimikrobiyal aktivite sınanması olmadığından, ekstraktlar için herhangi bir MİK değerinin bulunamaması büyük önem arz etmemektedir. Literatür incelendiğinde MİK değeri bulunan çalışmalar mevcuttur. Şayet daha yüksek dozda numune ile çalışılırsa MİK değeri tespit edilme olasılığı bulunmaktadır (Alalaqi, 2020; İrez vd. 2021; Krupodorova vd., 2016).

5.3 Makromantarların Antibiyofilm Aktivitelerinin Değerlendirilmesi

İrez vd. (2021) tarafından yapılan çalışmada *F. fomentarius* makromantarının farklı ekstraktlarının antibiyofilm aktivitesi araştırılmıştır. Yapılan çalışmadan elde edilen sonuç verilerine göre, *F. fomentarius* - EtOH ekstraktı kullanılan suşlara karşı inhibisyon etki göstermiş olup, *E. coli* için %80, *S. aureus* için %80'in üzerinde ve *C. albicans* için %80'e yakın oranda inhibisyon etkisi göstermiştir.

F. fomentarius - kloroform ekstraktı kullanılan suşlara karşı inhibisyon etki göstermiş olup, bu etki *F. fomentarius* - EtOH ekstraktı ile karşılaştırıldığında daha düşüktür. *E. coli* ve *S. aureus* için %20'nin altında, *C. albicans* için yaklaşık %40 olarak bulunmuştur.

Bu tez çalışmasında öncelikle CRA yöntemi uygulanarak biyofilm üreten mikroorganizmalar tespit edilmiştir. Daha sonra seçilen mikroorganizmalar kristal viyole boyama yöntemi ile biyofilm testine tabi tutulmuştur. Bu deney sonucunda hem aktivatör, hem de inhibitör olarak etki gösteren farklı suşlar tespit edilmiştir. *P. hartigii* - kloroform ekstraktı *C. albicans* ve *S. aureus* MRSA suşlarında inhibitör etki

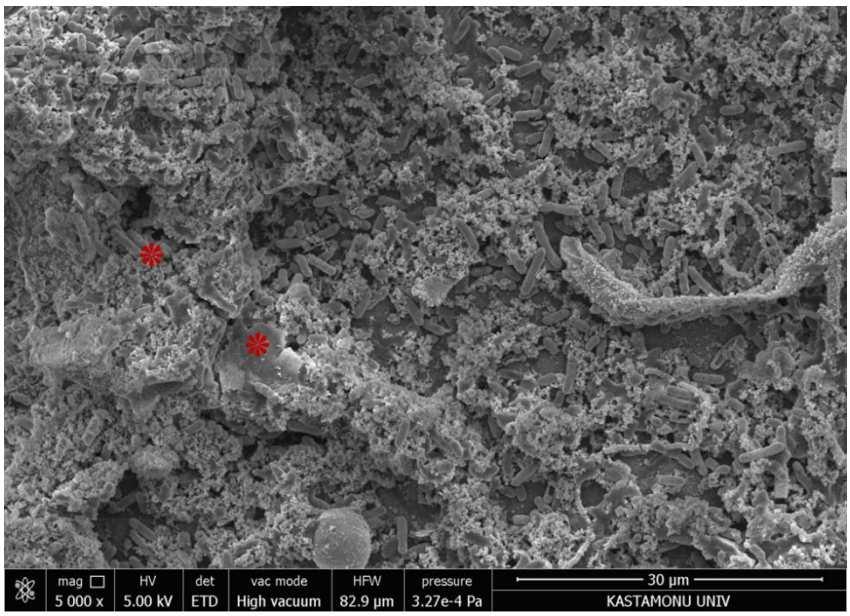
göstermiştir. *P. hartigii* - EtOH ekstraktı *E. coli* 7, *E. coli* 9, *E. coli* 11, *E. coli* 12 ve *S. aureus* suşlarına karşı aktivatör, yani biyofilmi tetikleyici etki ortaya koymuştur. *F. fomentarius* - EtOH ekstraktı *S. aureus* MRSA suşu için inhibitör etki göstermiştir. *F. fomentarius* - kloroform, *F. pinicola* - kloroform ve *F. pinicola* - EtOH ekstraktlarında biyofilmi tetikleyici veya biyofilmi inhibe eden bir etki gözlenmemiştir. Son olarak etki görülen mikroorganizmalar tarafından üretilen biyofilmler SEM ve AFM verileri kullanılarak desteklenmiştir.

Tarafımızca daha önce literatüre kazandırılmış olan bir çalışmanın antibiyofilm deneyleri aşamasında Halamid; *E. coli* 9, *S. aureus* MRSA ve *C. albicans* suşlarının çalışıldığı çalışmada pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar *S. aureus* MRSA için %62,91 (3,90 μg/mL), *E. coli* 9 için %45,66 (0,41 μg/mL) ve *C. albicans* için %68,70 (1,95 μg/mL) olarak hesaplanmıştır (Zurnacı vd., 2021).

Bu tez çalışmasında da tüm biyofilm analizlerinde pozitif kontrol olarak Halamid kimyasalı kullanılmıştır. Halamid uygulanan mikroorganizmalardan *E. coli* 9 için %31,48 (62,5 μg/mL) ve *S. aureus* MRSA için %54,21 (125 μg/mL) suşlarında inhibisyon gözlenirken, Zurnacı vd. (2021) tarafından yapılan çalışmada *C. albicans* suşunda inhibisyon gözlenmesine rağmen bu çalışmada *C. albicans* suşunda herhangi bir inhibisyon gözlenmemiştir. Bununla birlikte uygulanmış olan SEM deneylerinden elde edilen görüntüler de bu çalışmada elde edilen sonuçları destekler durumdadır. Öte yandan, tez çalışmasında bulunmuş olan inhibisyon yüzdeleri ve aktif konsantrasyonlar ile Zurnacı vd. (2021) tarafından elde edilmiş veriler arasında fark bulunmaktadır. Bu sonuçlar ışığında spektroskopik yöntemlerle yapılacak herhangi bir biyofilm çalışmasının SEM ve/veya AFM gibi görüntüleme yöntemleri ile desteklenmesinin uygun olacağı değerlendirilmiştir.

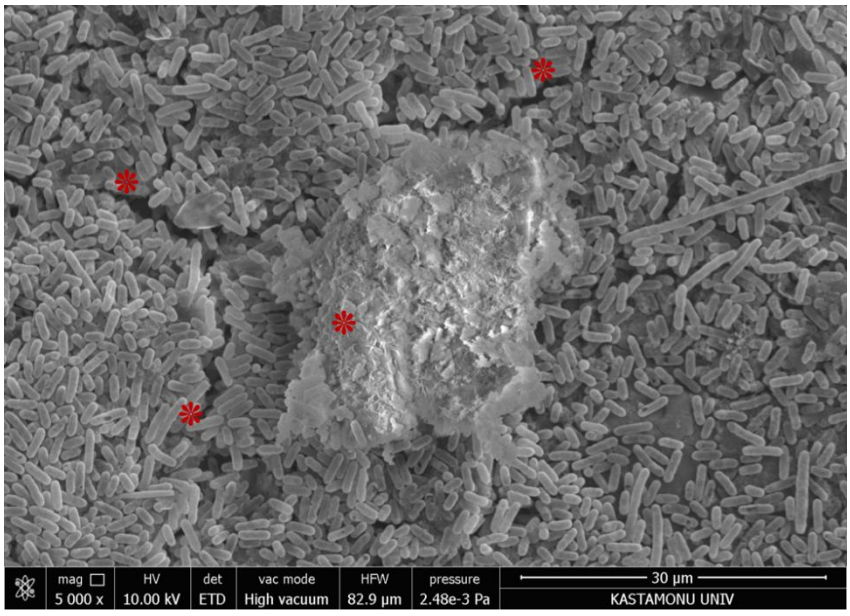
5.4 Biyofilm SEM Görüntülerinin Değerlendirilmesi

5.4.1 Aktivatör olarak etki gösteren ekstrakt - mikroorganizma SEM görüntüleri



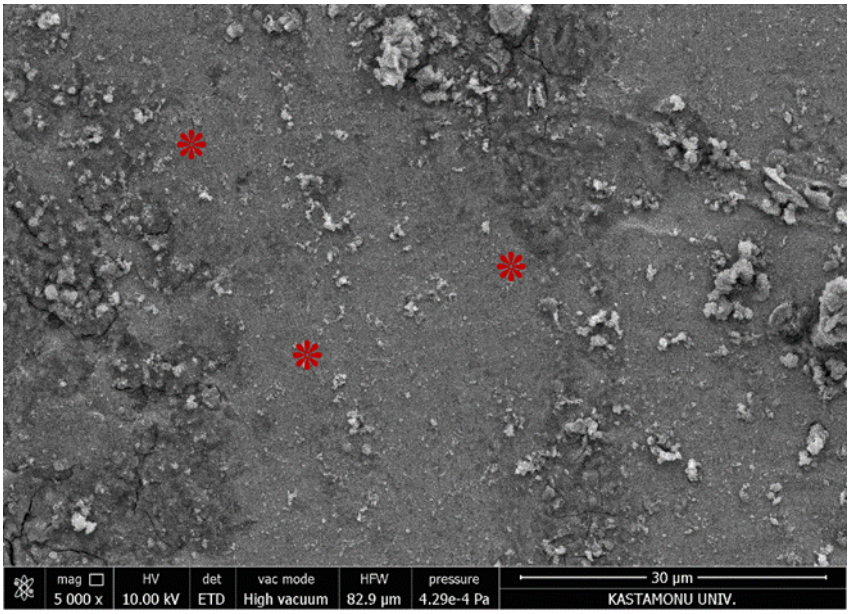
Şekil 5.1 *E. coli* 7 kontrol x 5000 SEM görüntüsü

Şekil 5.1'de *E. coli* 7 suşunun ekstrakt yokluğunda metal kuponda 5000 büyütmedeki görüntüsü verilmiş ve biyofilm oluşum sahaları işaretlenmiştir.



Şekil 5.2 *P. hartigii*-EtOH *E. coli* 7 x 5000 SEM görüntüsü

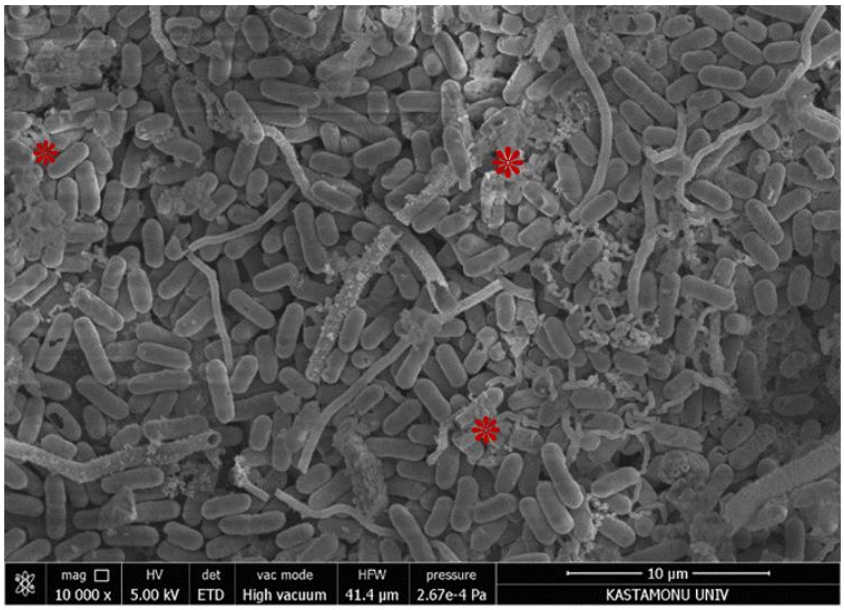
Şekil 5.2’de *P. hartigi*-EtOH uygulanmış *E. coli* 7 suşunun 5000 büyütmedeki SEM görüntüsü verilmiş ve biyofilm oluşum sahaları işaretlenmiştir.



Şekil 5.3 Halamid-*E.coli* 7 x 5000 SEM görüntüsü

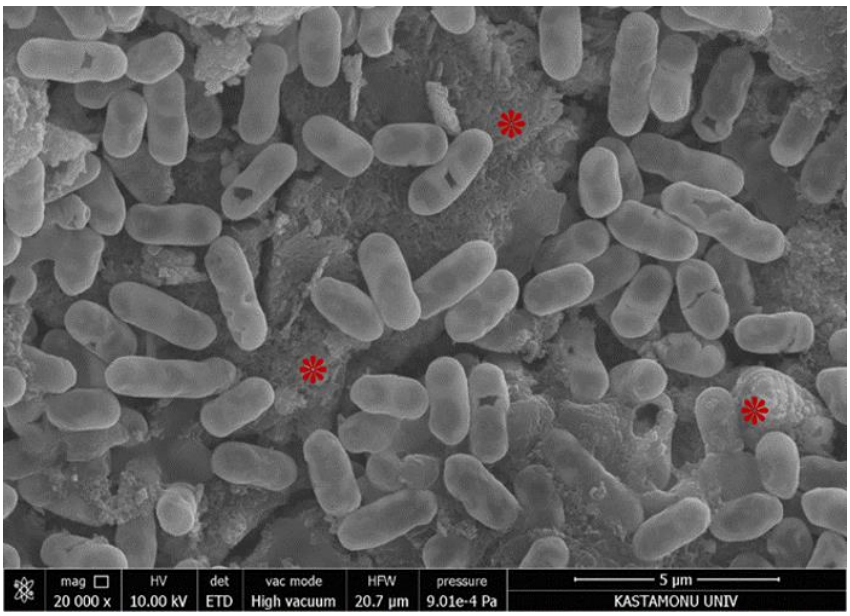
Şekil 5.3’te Halamid kimyasalı uygulanmış *E. coli* 7 suşunun metal kuponda 5000 büyütmedeki görüntüsü verilmiş ve biyofilm oluşum sahaları işaretlenmiştir.

E. coli 7 suşuna *P. hartigii* - EtOH ekstraktı uygulandığında biyofilm üretiminin arttığı SEM görüntüleri incelendiğinde açıkça görülmektedir. Pozitif kontrol, *P. hartigii* - EtOH ekstraktı ve negatif kontrol görüntüleri karşılaştırıldığında en çok biyofilmin oluştuğu ortamın *P. hartigii* - EtOH ekstraktının olduğu ortam olduğu, ardından sırası ile negatif ve pozitif kontrolün onu izlediği görülmektedir. Halamid kimyasalı hali hazırda biyofilm inhibitörü olarak kullanıldığından en düşük biyofilm oluşumunun görüldüğü ortam olması beklenilen bir durumdur.



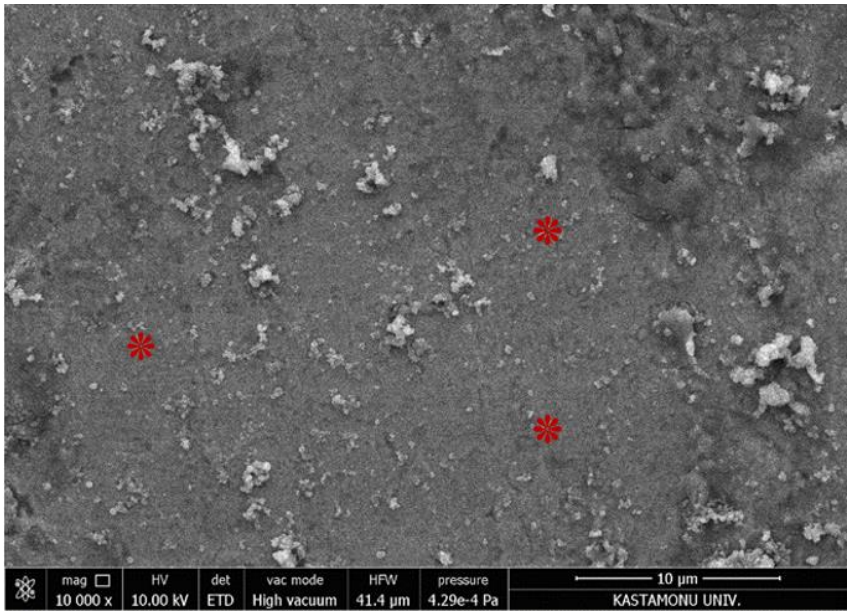
Şekil 5.4 *E. coli* 9 kontrol x 10.000 SEM görüntüsü

Şekil 5.4'te *E. coli* 9 suşunun ekstrakt yokluğunda metal kuponda 10.000 büyütmedeki görüntüsü verilmiş ve biyofilm oluşum sahaları işaretlenmiştir.



Şekil 5.5 *P. hartigii*-EtOH *E. coli* 9 x 10.000 SEM görüntüsü

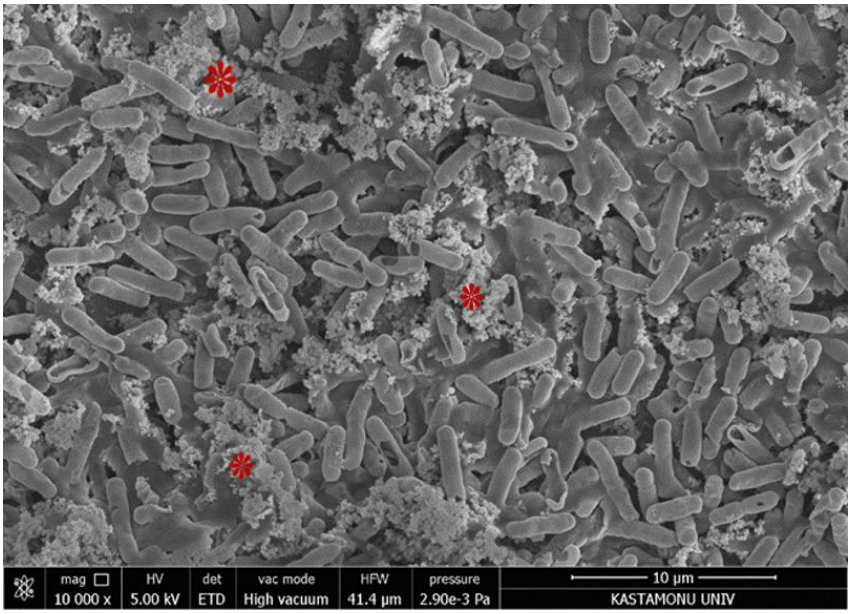
Şekil 5.5'te *P. hartigii* - EtOH uygulanmış *E. coli* 9 suşunun 10.000 büyütmedeki SEM görüntüsü verilmiş ve biyofilm oluşum sahaları işaretlenmiştir.



Şekil 5.6 Halamid-*E. coli* 9 x 10.000 SEM görüntüsü

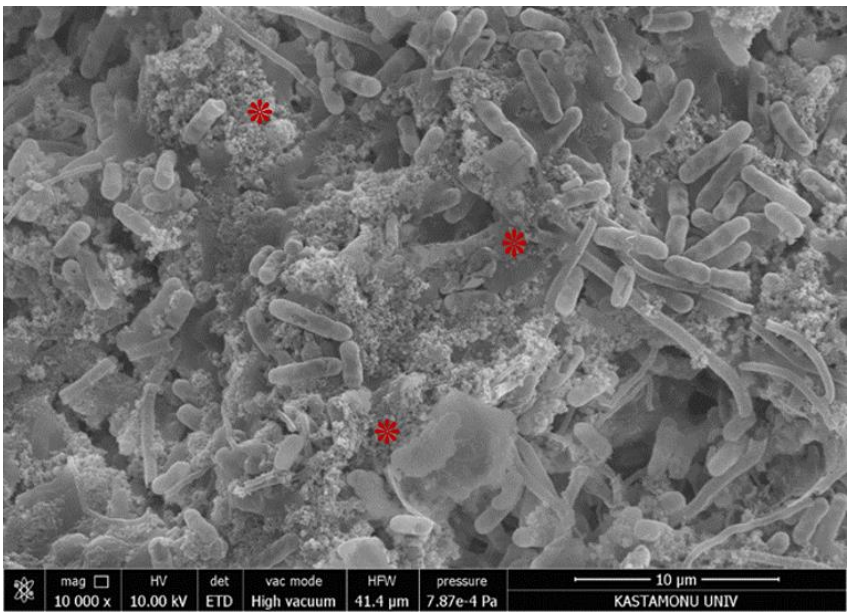
Şekil 5.6'da Halamid kimyasalı uygulanmış *E. coli* 9 suşunun 10.000 büyütmedeki SEM görüntüsü verilmiş ve biyofilm oluşum sahaları işaretlenmiştir.

Bu üç görüntü incelendiğinde, *E. coli* 9 suşuna *P. hartigii* - EtOH ekstraktı uygulandığında biyofilm üretiminin arttığı açıkça görülmektedir. Pozitif kontrol, *P. hartigii* - EtOH ekstraktı ve negatif kontrol görüntüleri karşılaştırıldığında en çok biyofilmin oluştuğu ortamın *P. hartigii* - EtOH ekstraktının olduğu ortam olduğu, ardından sırası ile negatif ve pozitif kontrolün onu izlediği görülmektedir.



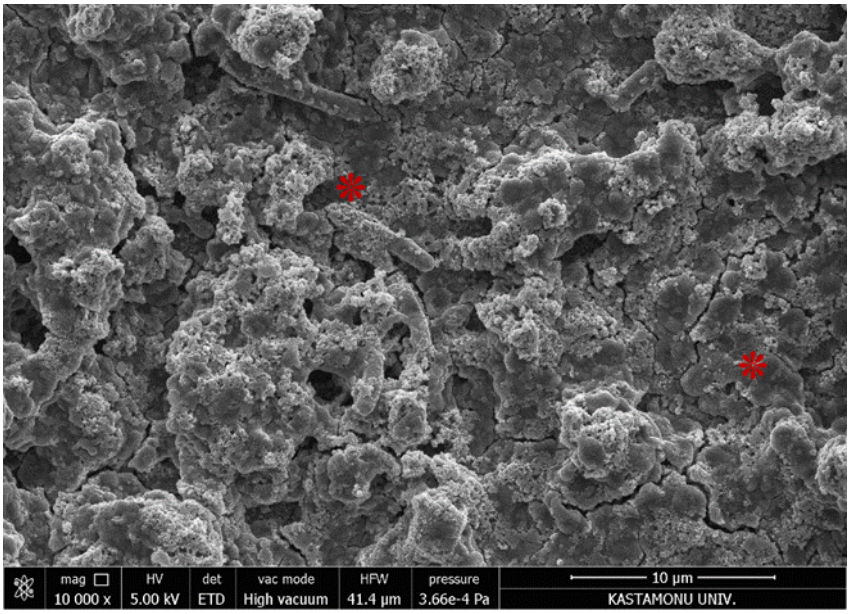
Şekil 5.7 *E. coli* 11 kontrol x 10.000 SEM görüntüsü

Şekil 5.7'de *E. coli* 11 suşunun ekstrakt yokluğunda metal kuponda 10.000 büyütmedeki görüntüsü verilmiş ve biyofilm oluşum sahaları işaretlenmiştir.



Şekil 5.8 *P. hartigii*-EtOH *E. coli* 11 x 10.000 SEM görontüsü

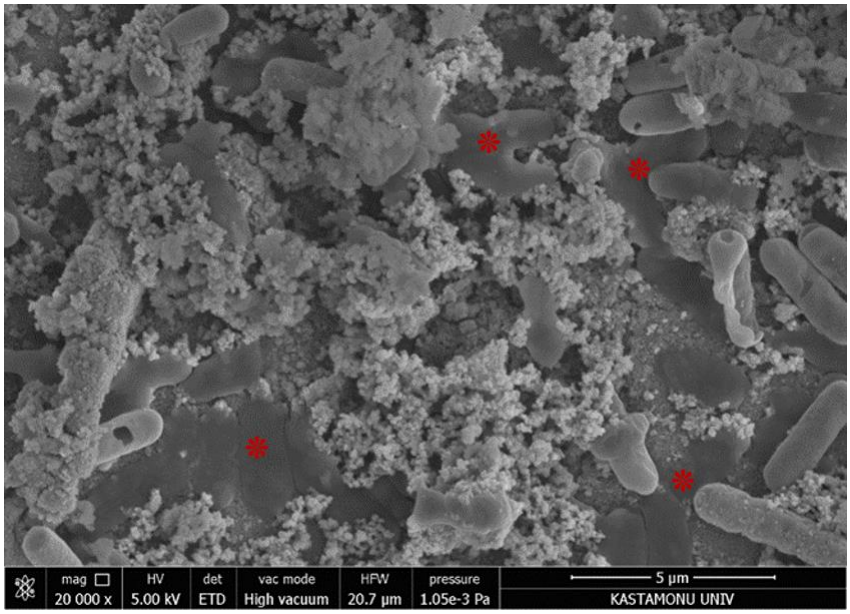
Şekil 5.8'de *P. hartigii* - EtOH uygulanmış *E. coli* 11 suşunun 10.000 büyütmedeki SEM görüntüsü verilmiş ve biyofilm oluşum sahaları işaretlenmiştir.



Şekil 5.9 Halamid-*E. coli* 11 x 10.000 SEM görüntüsü

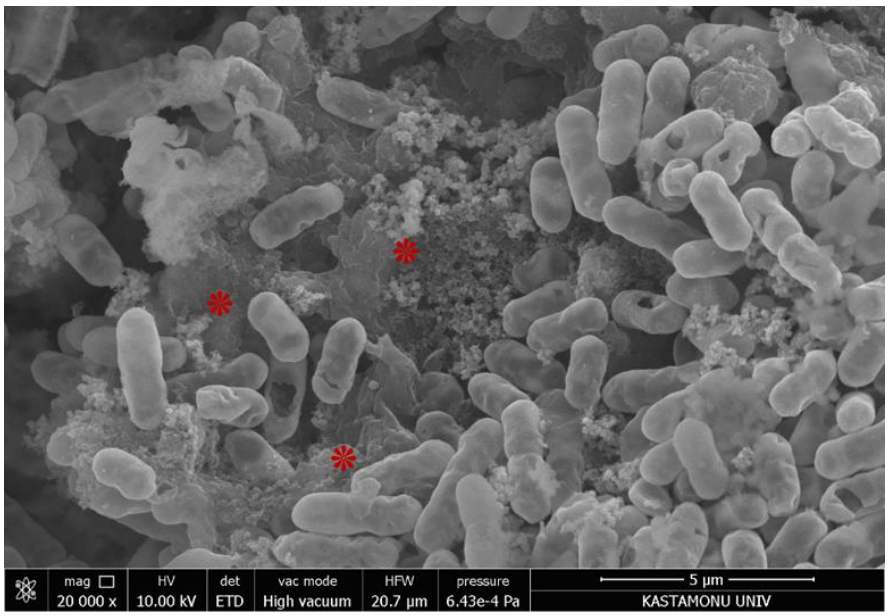
Şekil 5.9'da Halamid kimyasalı uygulanmış *E. coli* 11 suşunun 10.000 büyütmedeki SEM görüntüsü verilmiş ve biyofilm oluşum sahaları işaretlenmiştir.

Bu üç görüntü incelendiğinde, *E. coli* 11 suşuna *P. hartigii* - EtOH ekstraktı uygulandığında biyofilm üretiminin arttığı açıkça görülmektedir. *P. hartigii* - EtOH ekstraktı ve negatif kontrol görüntüleri karşılaştırıldığında en çok biyofilmin oluştuğu ortamın *P. hartigii* - EtOH ekstraktının olduğu ortam olduğu görülmektedir. Ancak diğer sonuçların aksine Halamid kimyasalının *E. coli* 11'de biyofilm oluşumunu azaltmadığı görülmüş olup, bu sonuçların spektrofotometrik sonuçlarla da tutarlı olduğu gözlenmiştir. Bu durumun, *E. coli* 11 suşunun direnç profile ile ilgili olmasının muhtemel olduğu değerlendirilmiştir.



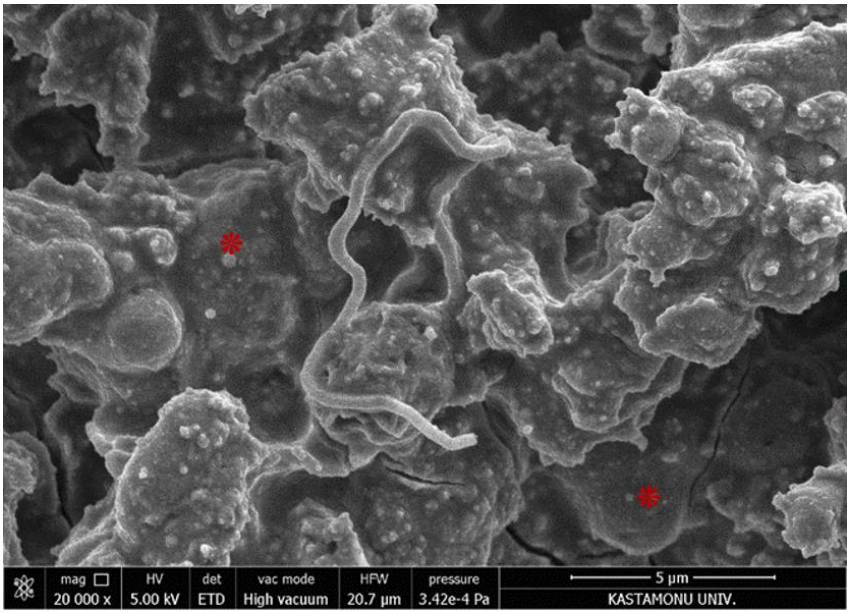
Şekil 5.10 *E. coli* 12 kontrol x 20.000 SEM görüntüsü

Şekil 5.10'da *E. coli* 12 suşunun ekstrakt yokluğunda metal kuponda 20.000 büyütmedeki görüntüsü verilmiş ve biyofilm oluşum sahaları işaretlenmiştir.



Şekil 5.11 *P. hartigii*-EtOH *E. coli* 12 x 20.000 SEM görontüsü

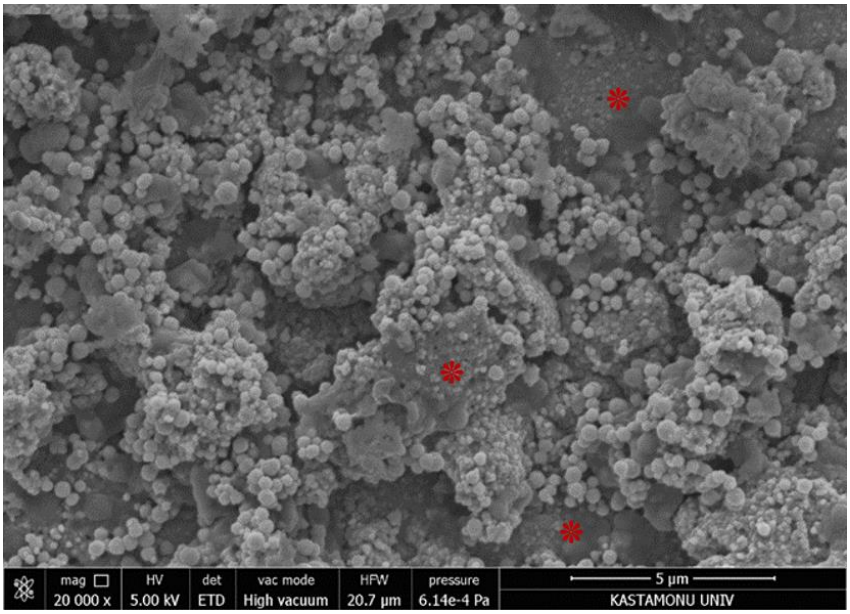
Şekil 5.11'de *P. hartigi*-EtOH uygulanmış *E. coli* 12 suşunun 20.000 büyütmedeki SEM görüntüsü verilmiş ve biyofilm oluşum sahaları işaretlenmiştir.



Şekil 5.12 Halamid-*E. coli* 12 x 20.000 SEM görüntüsü

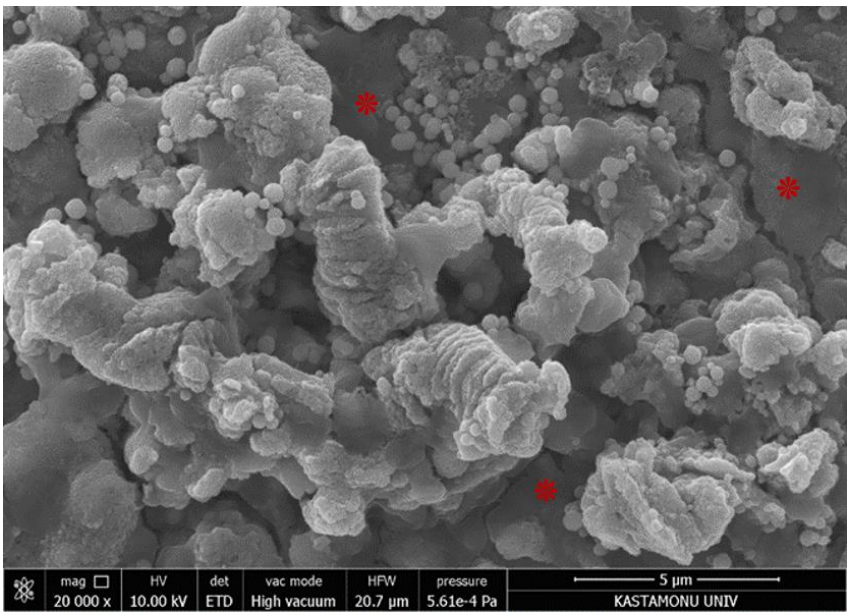
Şekil 5.12'de Halamid kimyasalı uygulanmış *E. coli* 12 suşunun 20.000 büyütmedeki SEM görüntüsü verilmiş ve biyofilm oluşum sahaları işaretlenmiştir.

Bu üç görüntü incelendiğinde, *E. coli* 12 suşuna *P. hartigii* - EtOH ekstraktı uygulandığında biyofilm üretiminin arttığı açıkça görülmektedir. *P. hartigii* - EtOH ekstraktı ve negatif kontrol görüntüleri karşılaştırıldığında en çok biyofilmin oluştuğu ortamın *P. hartigii* - EtOH ekstraktının olduğu ortam olduğu görülmektedir. Ancak *E. coli* 11'deki sonuçlarda olduğu gibi Halamid kimyasalının *E. coli* 12'de biyofilm oluşumunu azaltmadığı görülmüş olup, bu sonuçların spektrofotometrik sonuçlarla da tutarlı olduğu gözlenmiştir. Aynı şekilde bu durumun da *E. coli* 12 suşunun direnç profile ile ilgili olmasının muhtemel olduğu değerlendirilmiştir.



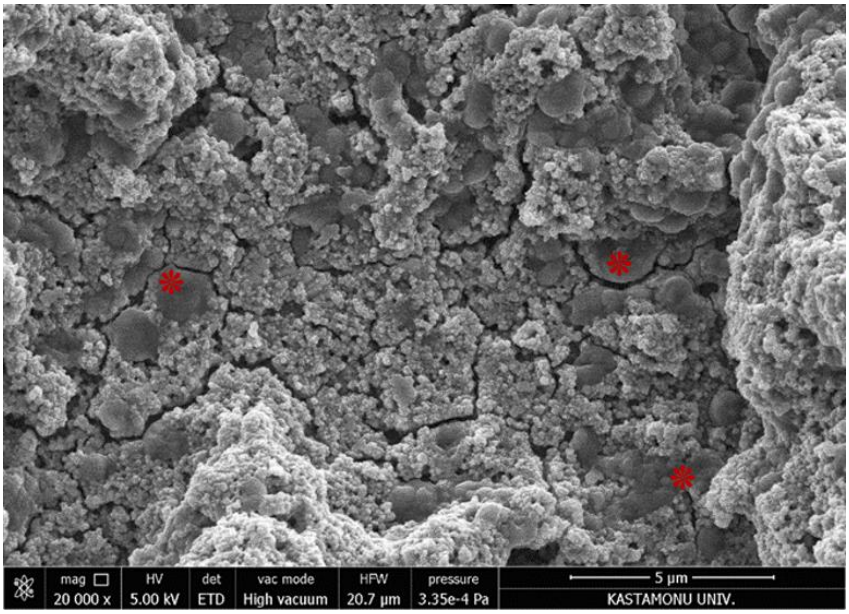
Şekil 5.13 *S. aureus* kontrol x 20.000 SEM görüntüsü

Şekil 5.13'te *S. aureus* suşunun ekstrakt yokluğunda metal kuponda 20.000 büyütmedeki görüntüsü verilmiş ve biyofilm oluşum sahaları işaretlenmiştir.



Şekil 5.14 *P. hartigii*-EtOH *S. aureus* x 20.000 SEM görüntüsü

Şekil 5.14 *P. hartigii* - EtOH uygulanmış *S. aureus* suşunun 20.000 büyütmedeki SEM görüntüsü verilmiş ve biyofilm oluşum sahaları işaretlenmiştir.

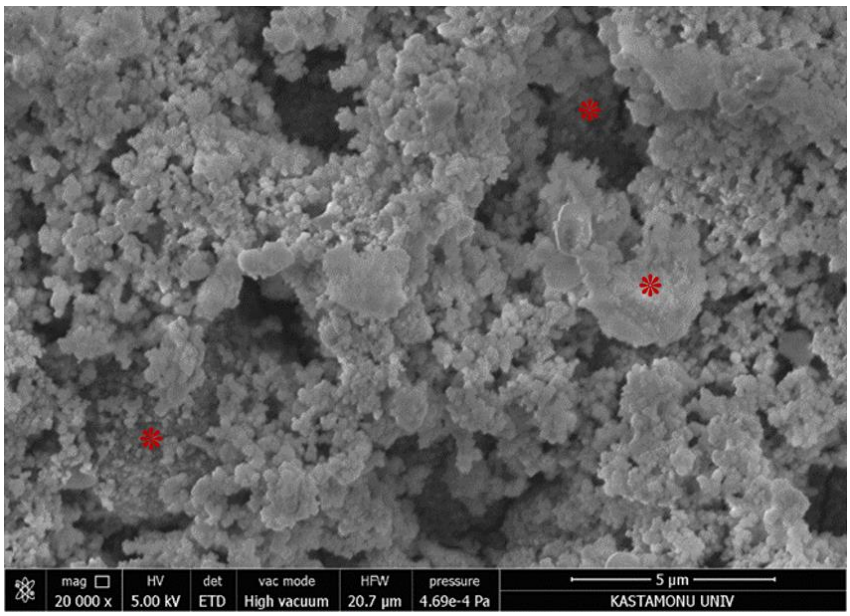


Şekil 5.15 Halamid *S. aureus* x 20.000 SEM görüntüsü

Şekil 5.15'te Halamid kimyasalı uygulanmış *S. aureus* suşunun 20.000 büyütmedeki SEM görüntüsü verilmiş ve biyofilm oluşum sahaları işaretlenmiştir.

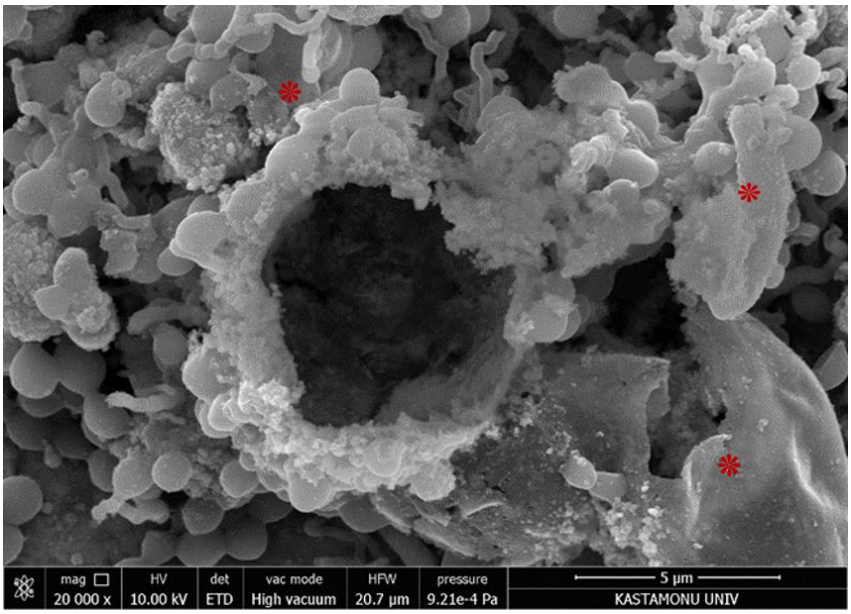
Bu üç görüntü incelendiğinde, *S. aureus* suşuna *P. hartigii* - EtOH ekstraktı uygulandığında biyofilm üretiminin arttığı açıkça görülmektedir. *P. hartigii* - EtOH ekstraktı ve negatif kontrol görüntüleri karşılaştırıldığında en çok biyofilmin oluştuğu ortamın *P. hartigii* - EtOH ekstraktının olduğu ortam olduğu görülmektedir. Ancak *E. coli* 12'deki sonuçlarda olduğu gibi Halamid kimyasalının *S. aureus*'ta biyofilm oluşumunu azaltmadığı görülmüş olup, bu sonuçların spektrofotometrik sonuçlarla da tutarlı olduğu gözlenmiştir. Bu durumun da sebebinin direnç profil farklılığından kaynaklanmış olması kuvvetle muhtemeldir.

5.4.2 İnhibitör olarak etki gösteren ekstrakt - mikroorganizma SEM görüntüleri



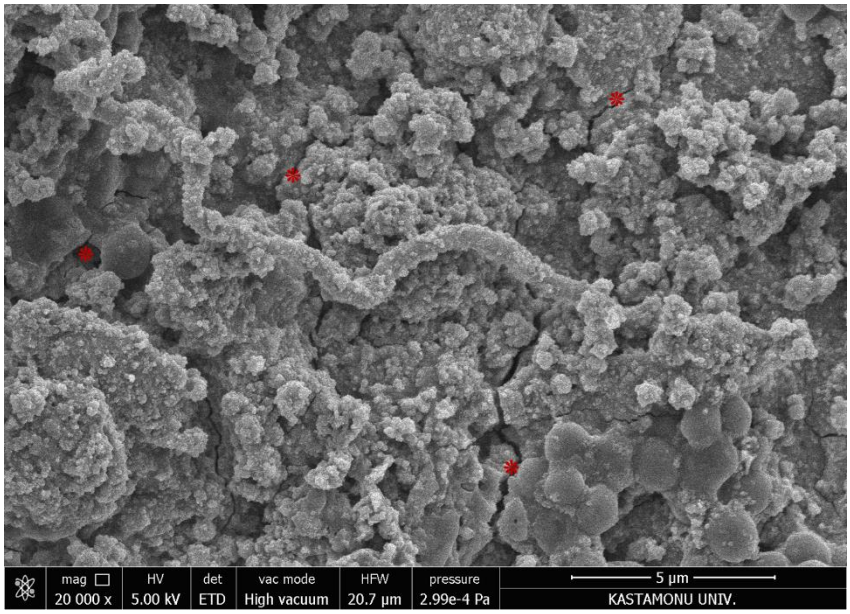
Şekil 5.16 *S. aureus* MRSA kontrol x 20.000 SEM görüntüsü

Şekil 5.16'da *S. aureus* MRSA suşunun ekstrakt yokluğunda metal kuponda 20.000 büyütmedeki görüntüsü verilmiş ve biyofilm oluşum sahaları işaretlenmiştir.



Şekil 5.17 *P. hartigii*-kloroform *S. aureus* MRSA x20.000 SEM görüntüsü

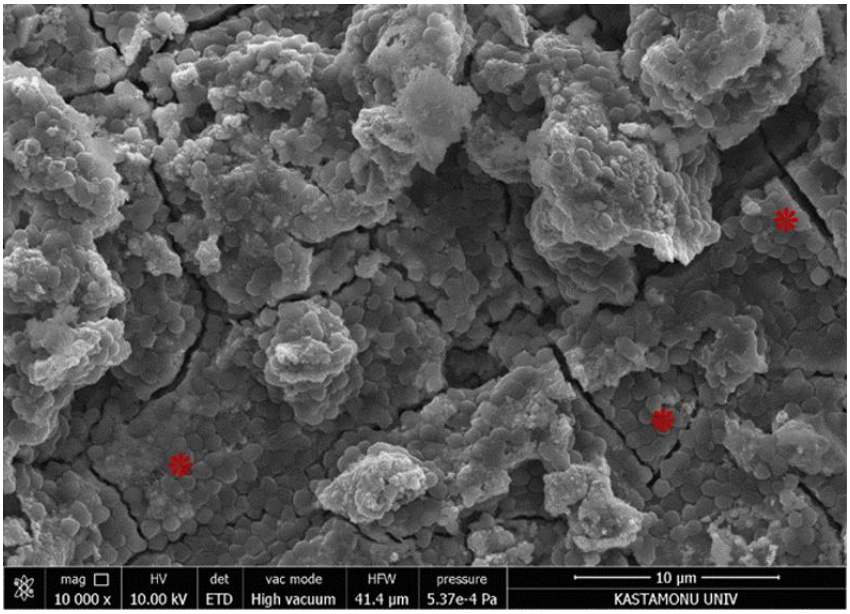
Şekil 5.17’de *P. hartigii* - kloroform uygulanmış *S. aureus* MRSA suşunun 20.000 büyütmedeki SEM görüntüsü verilmiş ve biyofilm oluşum sahaları işaretlenmiştir.



Şekil 5.18 Halamid *S. aureus* MRSA x20.000 SEM görüntüsü

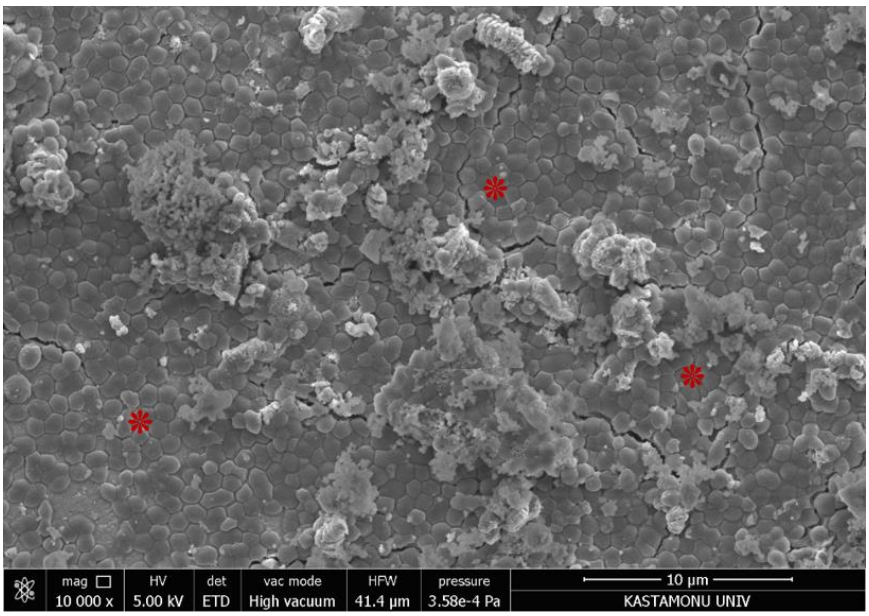
Şekil 5.18’de Halamid kimyasalı uygulanmış *S. aureus* MRSA suşunun 20.000 büyütmedeki SEM görüntüsü verilmiş ve biyofilm oluşum sahaları işaretlenmiştir.

Bu üç görüntü incelendiğinde, *S. aureus* MRSA suşuna *P. hartigii* - kloroform ekstraktı uygulandığında biyofilm üretiminin azaldığı açıkça görülmektedir. *P. hartigii* - kloroform ekstraktı ve negatif kontrol görüntüleri karşılaştırıldığında en çok biyofilmin oluştuğu ortamın *P. hartigii* - kloroform ekstraktının bulunmadığı ortam olduğu görülmektedir. Halamid kimyasalının biyofilm oluşumunu azalttığı ve bunun spektrofotometrik sonuçlarla uyumlu olduğu görülmüştür.



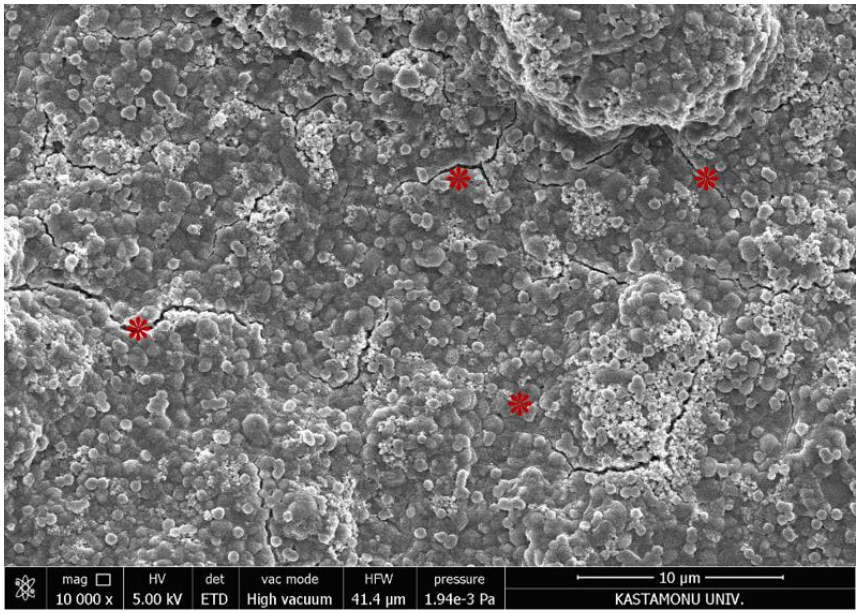
Şekil 5.19 *C. albicans* kontrol x 10.000 SEM görüntüsü

Şekil 5.19'da *C. albicans* suşunun ekstrakt yokluğunda metal kuponda 20.000 büyütmedeki görüntüsü verilmiş ve biyofilm oluşum sahaları işaretlenmiştir.



Şekil 5.20 *P. hartigii*-kloroform *C. albicans* x10.000 SEM görüntüsü

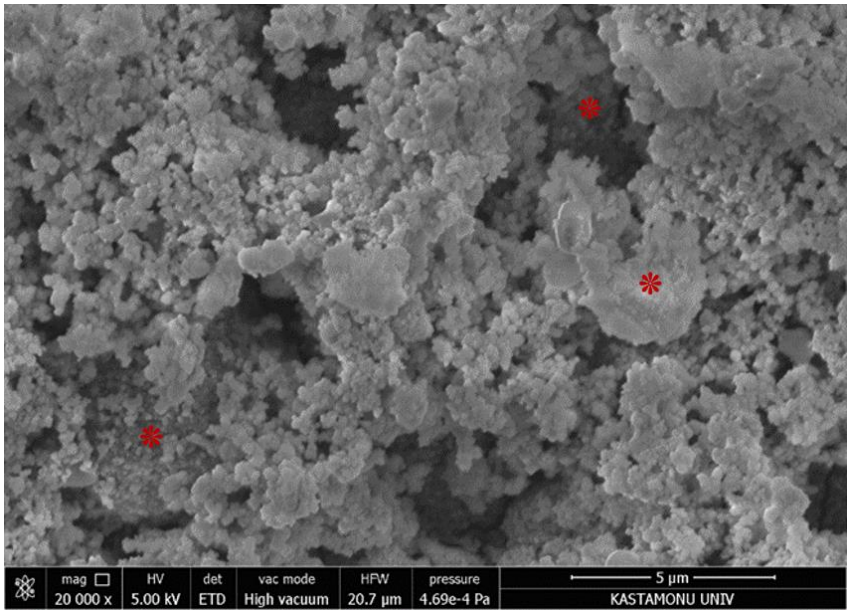
Şekil 5.20'de *P. hartigii* - kloroform uygulanmış *C. albicans* suşunun 10.000 büyütmedeki SEM görüntüsü verilmiş ve biyofilm oluşum sahaları işaretlenmiştir.



Şekil 5.21 Halamid *C. albicans* x 10.000 SEM görüntüsü

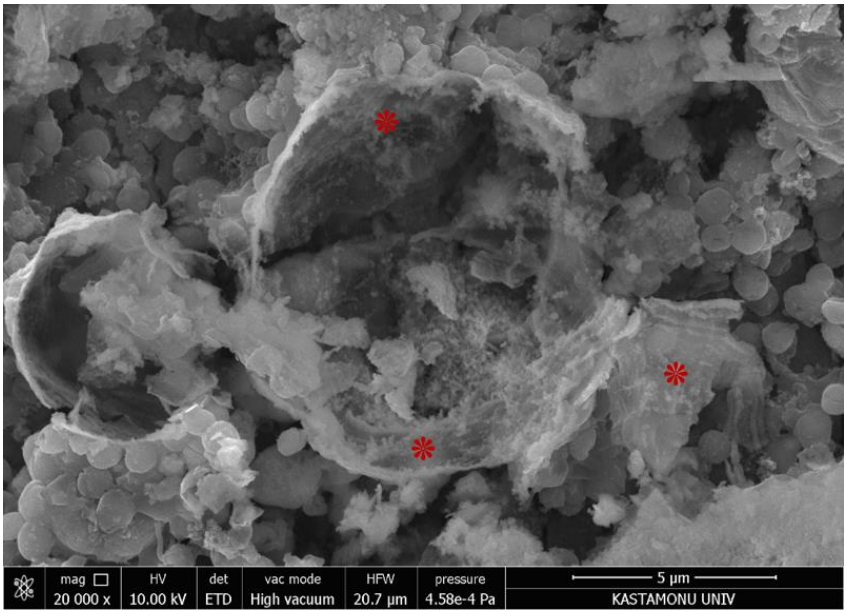
Şekil 5.21'de Halamid kimyasalı uygulanmış *C. albicans* suşunun 10.000 büyütmedeki SEM görüntüsü verilmiş ve biyofilm oluşum sahaları işaretlenmiştir.

Bu üç görüntü incelendiğinde, *S. aureus* MRSA suşuna *P. hartigii* - kloroform ekstraktı uygulandığında biyofilm üretiminin azaldığı açıkça görülmektedir. *P. hartigii* - kloroform ekstraktı, pozitif ve negatif kontrol görüntüleri karşılaştırıldığında en az biyofilmin oluştuğu ortamın *P. hartigii* - kloroform ekstraktının bulunduğu ortam olduğu görülmektedir. Bunu sırasıyla pozitif kontrol ve negatif kontrol izlemektedir.



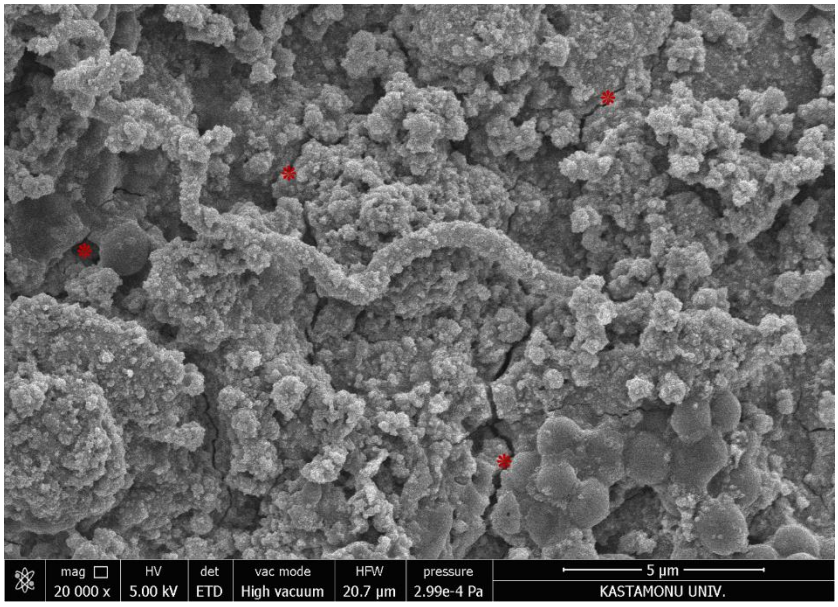
Şekil 5.22 *S. aureus* MRSA kontrol x 20.000 SEM görüntüsü

Şekil 5.22'de *S. aureus* MRSA suşunun ekstrakt yokluğunda metal kuponda 20.000 büyütmedeki görüntüsü verilmiş ve biyofilm oluşum sahaları işaretlenmiştir.



Şekil 5.23 *F. fomentarius*-EtOH *S. aureus* MRSA x 20.000 SEM görüntüsü

Şekil 5.23'te *F. fomentarius* - EtOH uygulanmış *S. aureus* MRSA suşunun 20.000 büyütmedeki SEM görüntüsü verilmiş ve biyofilm oluşum sahaları işaretlenmiştir.

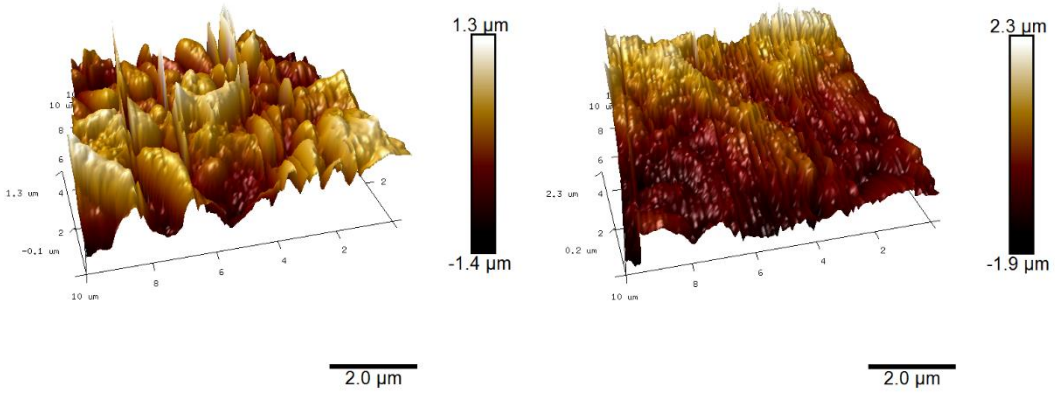


Şekil 5.24 Halamid *S. aureus* x 20.000 SEM görüntüsü

Şekil 5.24'te Halamid kimyasalı uygulanmış *S. aureus* MRSA suşunun 20.000 büyütmedeki SEM görüntüsü verilmiş ve biyofilm oluşum sahaları işaretlenmiştir.

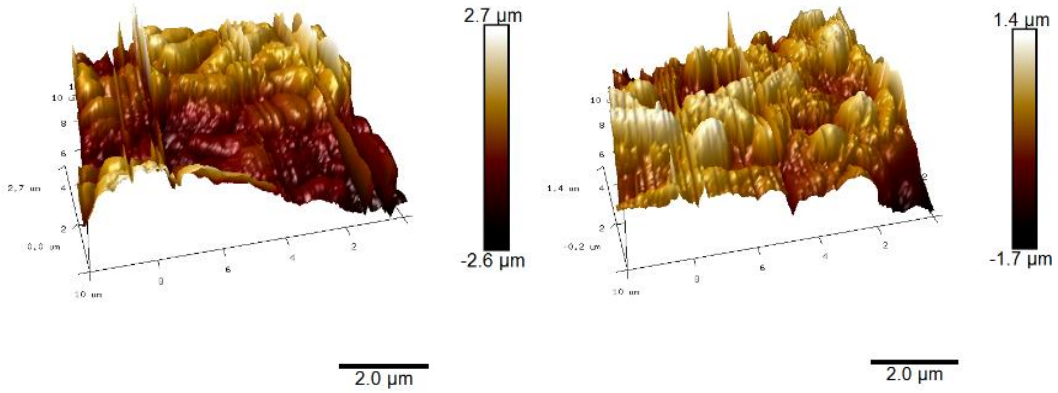
Bu üç görüntü incelendiğinde, *S. aureus* MRSA suşuna *F. fomentarius* - EtOH ekstraktı uygulandığında biyofilm üretiminin azaldığı açıkça görülmektedir. *F. fomentarius* - EtOH ekstraktı ve negatif kontrol görüntüleri karşılaştırıldığında en çok biyofilmin oluştuğu ortamın *F. fomentarius* - EtOH ekstraktının bulunmadığı ortam olduğu görülmektedir. Halamid kimyasalının biyofilm oluşumunu azalttığı ve bunun spektrofotometrik sonuçlarla uyumlu olduğu görülmüştür.

5.5 Biyofilm AFM Görüntülerinin Değerlendirilmesi



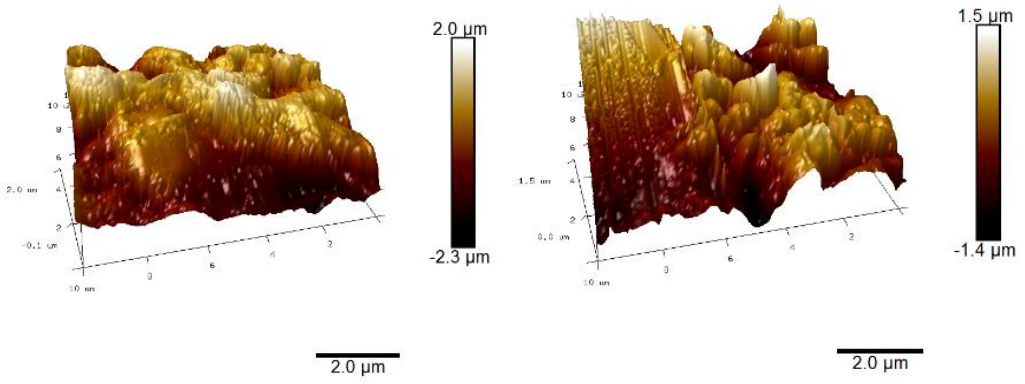
Şekil 5.25 *P. hartigii*-EtOH *E. coli* 7 AFM görüntüsü karşılaştırması

Şekil5.25’te solda *P. hartigii* - EtOH ekstraktı uygulanmış, sağda ise kontrolün AFM görüntüsü verilmiştir. *P. hartigii* - EtOH ekstraktı uygulanmış olan *E. coli* 7 suşunun biyofilm üretimi ekstrakt eklenmemiş olana göre daha yüksek olduğu AFM görüntülerinde açık bir şekilde görülmektedir. Bununla birlikte bu sonuçlar SEM sonuçları ve spektrofotometrik sonuçlar ile tutarlıdır.



Şekil 5.26 *P. hartigii*-EtOH *E. coli* 9 AFM görüntüsü karşılaştırması

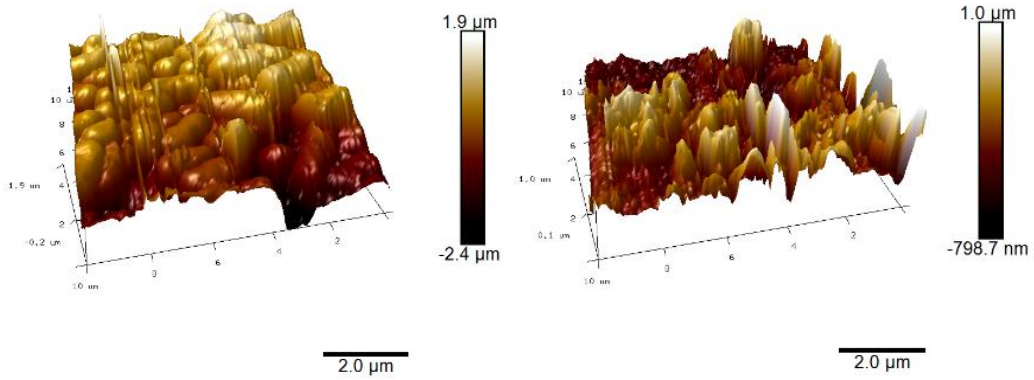
Şekil 5.26’da solda P. *hartigii* - EtOH ekstraktı uygulanmış, sağda ise kontrolün AFM görüntüsü verilmiştir. *P. hartigii* - EtOH ekstraktı uygulanmış olan *E. coli* 9 suşunun biyofilm üretimi ekstrakt eklenmemiş olana göre daha yüksek olduğu AFM görüntülerinde açık bir şekilde görülmektedir. Bununla birlikte bu sonuçlar SEM sonuçları ve spektrofotometrik sonuçlar ile tutarlıdır.



Şekil 5.27 *P. hartigii*-EtOH *E. coli* 11 AFM görüntüsü karşılaştırması

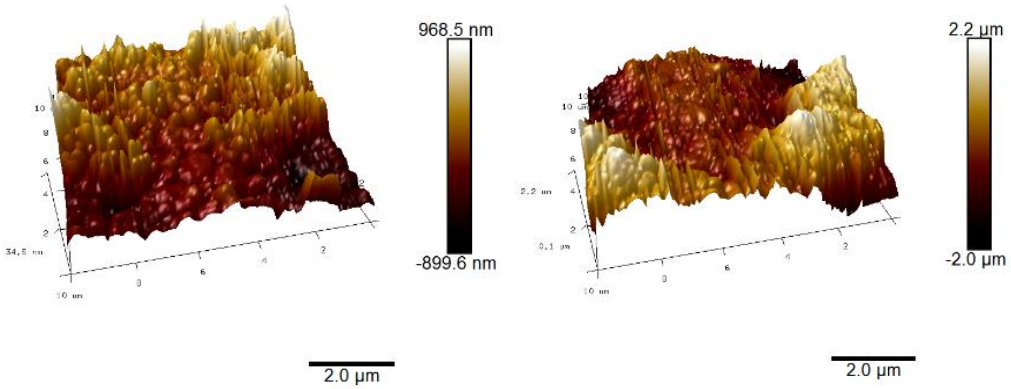
Şekil 5.27’de solda P. *hartigii* - EtOH ekstraktı uygulanmış, sağda ise kontrolün AFM görüntüsü verilmiştir. *P. hartigii* - EtOH ekstraktı uygulanmış olan *E. coli* 11 suşunun biyofilm üretimi ekstrakt eklenmemiş olana göre daha yüksek olduğu AFM

görüntülerinde açık bir şekilde görülmektedir. Bununla birlikte bu sonuçlar SEM sonuçları ve spektrofotometrik sonuçlar ile tutarlıdır.



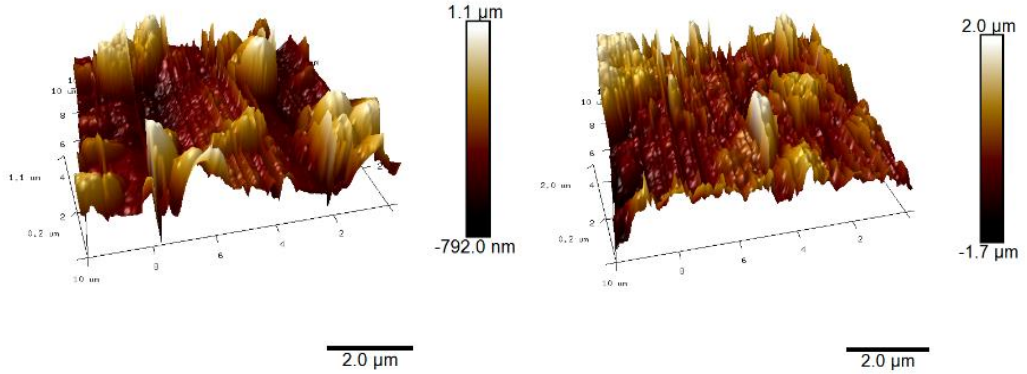
Şekil 5.28 *P. hartigii*-EtOH *E. coli* 12 AFM görüntüsü karşılaştırması

Şekil 5.28'de solda P. *hartigii* - EtOH ekstraktı uygulanmış, sağda ise kontrolün AFM görüntüsü verilmiştir. *P. hartigii* - EtOH ekstraktı uygulanmış olan *E. coli* 12 suşunun biyofilm üretimi ekstrakt eklenmemiş olana göre daha yüksek olduğu AFM görüntülerinde açık bir şekilde görülmektedir. Bununla birlikte bu sonuçlar SEM sonuçları ve spektrofotometrik sonuçlar ile tutarlıdır.



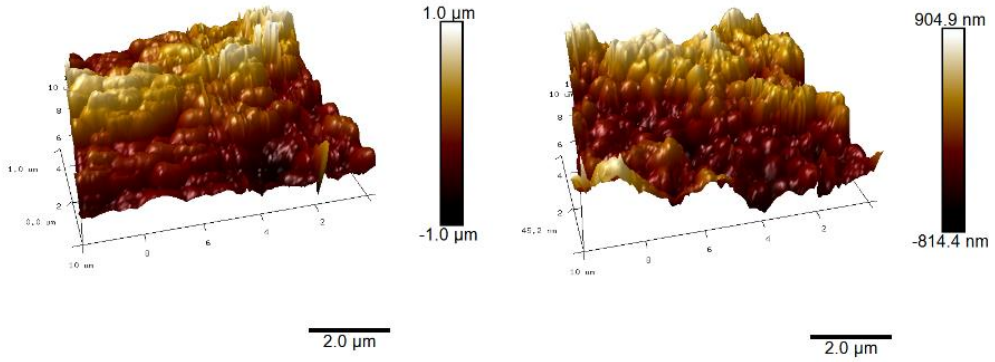
Şekil 5.29 *P. hartigii*-EtOH *S. aureus* AFM görüntüsü karşılaştırması

Şekil 5.29'da solda *P. hartigii* - EtOH ekstraktı uygulanmış, sağda ise kontrolün AFM görüntüsü verilmiştir. *P. hartigii* - EtOH ekstraktı uygulanmış olan *S. aureus* suşunun biyofilm üretimi ekstrakt eklenmemiş olana göre daha yüksek olduğu AFM görüntülerinde açık bir şekilde görülmektedir. Bununla birlikte bu sonuçlar SEM sonuçları ve spektrofotometrik sonuçlar ile tutarlıdır.



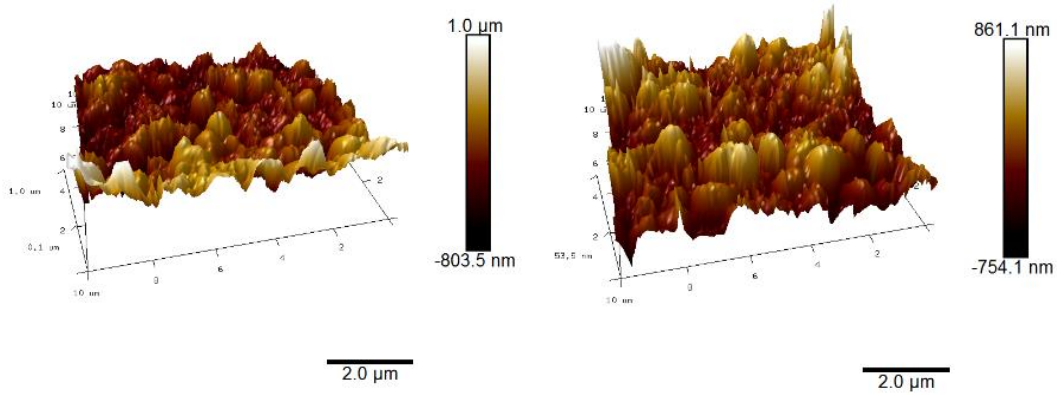
Şekil 5.30 *P. hartigii*-kloroform *S. aureus* MRSA AFM görüntüsü karşılaştırması

Şekil 5.30'da solda *P. hartigii* - kloroform ekstraktı uygulanmış, sağda ise kontrolün AFM görüntüsü verilmiştir. *P. hartigii* - kloroform ekstraktı uygulanmış olan *S. aureus* MRSA suşunun biyofilm üretimi ekstrakt eklenmemiş olana göre daha düşük olduğu yani biyofilm oluşumunu inhibe ettiği AFM görüntülerinde açık bir şekilde görülmektedir. Bununla birlikte bu sonuçlar SEM sonuçları ve spektrofotometrik sonuçlar ile tutarlıdır.



Şekil 5.31 *P. hartigii*-kloroform *C. albicans* AFM görüntüsü karşılaştırması

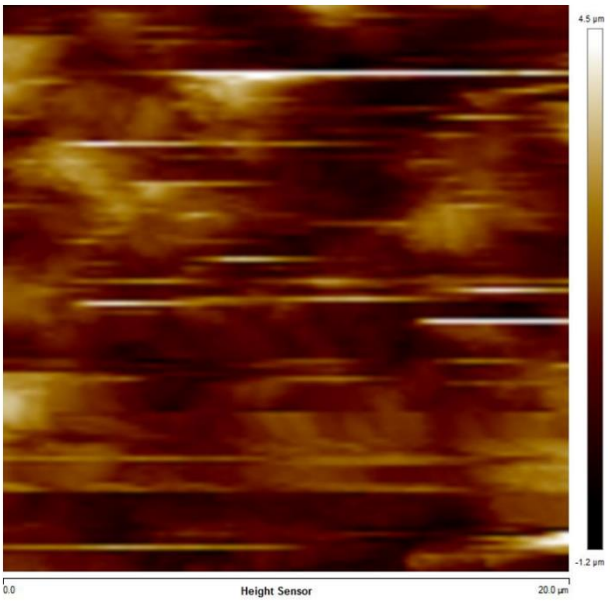
Şekil 5.31'de solda *P. hartigii* - kloroform ekstraktı uygulanmış, sağda ise kontrolün AFM görüntüsü verilmiştir. *P. hartigii* - kloroform ekstraktı uygulanmış olan *C. albicans* suşunun biyofilm üretimi ekstrakt eklenmemiş olana göre daha düşük olduğu yani biyofilm oluşumunu inhibe ettiği AFM görüntülerinde açık bir şekilde görülmektedir. Bununla birlikte bu sonuçlar SEM sonuçları ve spektrofotometrik sonuçlar ile tutarlıdır.



Şekil 5.32 *F. fomentarius*-EtOH *S. aureus* MRSA AFM görüntüsü karşılaştırması

Şekil 5.32'de solda ekstraktı *F. fomentarius* - EtOH uygulanmış, sağda ise kontrolün AFM görüntüsü verilmiştir. *F. fomentarius* - EtOH ekstraktı uygulanmış, sağda ise kontrolün AFM görüntüsü verilmiştir. *F. fomentarius* - EtOH ekstraktı uygulanmış olan *S. aureus* MRSA suşunun biyofilm üretimi ekstrakt eklenmemiş olana göre daha düşük olduğu, yani biyofilm oluşumunu inhibe ettiği AFM görüntülerinde açık bir şekilde görülmektedir. Bununla birlikte bu sonuçlar SEM sonuçları ve spektrofotometrik sonuçlar ile tutarlıdır.

Pozitif kontrol olarak kullanılan Halamid kimyasalının yapısı ile ilişkili olduğu düşünülen bir durum nedeni ile AFM görüntüleri başarılı bir şekilde elde edilememiştir. Aşağıda başarılı olarak elde edilemeyen bir AFM görüntüsü verilmiştir.



Şekil 5.33 Başarısız Halamid AFM görüntüsü

5.6 Makromantarların Antioksidan Aktivitelerinin Değerlendirilmesi

İrez vd. (2021) tarafından yapılan çalışmada *F. fomentarius* makromantarının farklı ekstraktlarının DPPH radikali süpürme testi ile antioksidan aktivitesi incelenmiştir. 1 mg/mL *F. fomentarius* - kloroform ekstraktının süpürdüğü DPPH radikali %80,93 ve 1 mg/mL *F. fomentarius* - etanol ekstraktının süpürdüğü DPPH radikali %89,95 olarak bulunmuştur.

Dündar (2016) tarafından yapılan çalışmada aralarında *F. fomentarius*'un da bulunduğu yedi makrofungusun metanol ekstraktlarının antimikrobiyal, antioksidan, antikolinesteraz ve sitotoksik kapasiteleri araştırılmıştır. Uygulanan antioksidan testlerinden elde edilen sonuçlara göre *F. fomentarius* en yüksek aktivite gösteren makrofungus olduğu görülmüştür.

Khadhri vd. (2017) tarafından yapılan çalışmada Tunus'ta yetişen, aralarında *F. pinicola* ve *F. fomentarius*'un da bulunduğu 5 makromantarın etanol ekstraktlarının farmakolojik özellikleri araştırılmıştır. Araştırmaya göre tüm mantarların 8 farklı bakteri suşuna karşı antibakteriyel etkisi olduğu ve *F. fomentarius*'un DPPH radikali süpürme testine göre en yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu görülmüştür. Bununla birlikte demir indirgeme gücü deneyinde *F. pinicola*'nın etanol ekstraktının en yüksek antioksidan aktivite gösterdiği rapor edilmiştir.

Orhan (2017) tarafından yapılan çalışmada değişik bölgelerde yetişmiş *F. fomentarius* da dahil dokuz farklı makrofungus türünün DPPH radikali süpürme, toplam fenolik içerik belirleme ve metal iyonu şelatlama yöntemlerinden yararlanılarak antioksidan aktivite kapasitesi ve makrofungusların *S. epidermidis* ATCC 12228, *P aeruginosa* ATCC 27853, *S. aureus* ATCC 2392, *S. aureus* ATCC 25923, *E. coli* O157:H7, *E. coli* ATCC 35218, *E. coli* ATCC 11229 ve *L. monocytogenes* ATCC 7644 suşlarına karşı antimikrobiyal aktiviteleri araştırılmıştır. Uygulanan antioksidan testlerinden elde edilen sonuçlara göre en yüksek DPPH serbest radikal yakalama aktivitesini *F. fomentarius* (%57-95 yakalama aralığı, IC_{50}: < 0,01 mg/mL), en düşük *Armillaria mellea* (%25-39 yakalama aralığı, IC_{50}: 0,65 mg/mL) mantarı göstermiştir. En yüksek metal şelatlama aktivitesini *A. mellea* (% 52-80 aralığı, IC_{50}: 0,0012 mg/mL), en düşük

T. versicolor (%10-35 aralığı, IC_{50}: 0,606 mg/mL) mantarı göstermiştir. Toplam fenol miktarı en yüksek tür *F. fomentarius* (46,8 mg/g) iken, en düşük tür *A. mellea* (5,09 mg/g) olarak belirlenmiştir. Bu çalışmada *F. fomentarius* ve *T. versicolor* mantarları önemli derecede antioksidan ve antibakteriyel etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir. *F. fomentarius* ekstraktları çalışmada kullanılan tüm suşlara karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği kaydedilmiştir. *S. aureus* ATCC 2392 30±2,8 mm, *S. aureus* ATCC 25923 27±2,2 mm, *E. coli* O157:H7 27±2,2 mm, *E. coli* ATCC 35218 19±1,9 mm, *E. coli* ATCC 11229 21±2 mm, çaplarında zon oluşumu gözlemlenmiştir. *F. fomentarius* makromantarının DPPH süpürme kabiliyeti analiz edildiğinde IC_{50} değerinin 0,01< mg/mL olduğu görülmüştür.

Yapılan bu tez çalışmasında, *F. fomentarius* - EtOH, ekstraktının IC_{50} değeri 0,865 mg/mL olarak bulunmuşken, IC_{90} değeri 322,435 mg/mL olarak hesaplanmıştır. Ancak, IC_{90} değeri gözlenen süpürme aralığının dışında olduğundan, bu hesabın güvenirliği düşüktür. *F. fomentarius* - kloroform ekstraktının uygulandığı konsantrasyonlarda bir antioksidan aktivite gözlenmemiştir. *P. hartigii* - EtOH ekstraktının IC_{50} değeri 0,427 mg/mL olarak bulunmuşken, IC_{90} değeri 1,839 mg/mL olarak hesaplanmıştır. *P. hartigii* - kloroform ekstraktının uygulandığı konsantrasyonlarda bir antioksidan aktivite gözlenmemiştir. *F. pinicola* - EtOH ve *F. pinicola* - kloroform ekstraktının uygulandığı konsantrasyonlarda bir antioksidan aktivite gözlenmemiştir.

Sonuçların göstermiş olduğu farkların muhtemel sebeplerinden biri numune örneklerinin farklı zamanlarda ve farklı yerlerden toplanmış olması olabileceği değerlendirilmiştir. Ayrıca bu tez çalışmasında kullanılan mantar örnekleri uzun süre önce toplanmış olup, laboratuvar ortamında uzunca bir süre bekletilmiştir. Bu durum göz önünde bulundurulduğunda örnek kompozisyonunda değişiklik olmuş olma olasılığı bulunmaktadır. Bu da sonuçların farklılık göstermesinin nedeni olabilir.

Buradaki korelasyon analizinde kalan DPPH miktarı üzerinden hesaplama yapılmıştır. C vitamini oldukça yüksek oranda DPPH radikalini süpürdüğü için zayıf korelasyon göstermiş gibi görünse de, daha fazla seyreltme yapıldığı taktirde korelasyonun daha yüksek görünme ihtimali beklenmektedir.

5.7 *P. hartigii* - EtOH Ekstraktının GC/MS Sonuçlarının Değerlendirilmesi

GC/MS analizi sonucunda *P. hartigii* - EtOH ekstraktının %19,19 oranında etil oleat, %16,53 oranında etil linoleat ve %11,14 oranında etil palmitat, %5,74 D - Alloz ve %3,67 oranında anetol içerdiği, bunlarla birlikte daha düşük oranda farklı bileşenlere sahip olduğu bulunmuştur.

Etil oleat ve etil palmitat bileşenlerinin gıda ürünlerinde tatlandırıcı ve aroma verici olarak kullanılmakta olduğu bilinmektedir (EUFIA, 2012).

Başka bir araştırma ekibi, emülgatör olarak Tween 80 ve ortak emülgatör olarak n-pentanol kullanarak bir etil oleat mikroemülsiyonu ile çalışmış ve etil oleatın hem *S. aureus*, hem de *P. aeruginosa*'nın süspansiyon kültürlerinde güçlü bir bakterisidal etki ortaya koyduğunu göstermişlerdir Daha sonra mikroemülsiyonun aktivitesi *P. aeruginosa*'nın biyofilmlerine karşı değerlendirilmiş ve emülsiyonların özellikle patojen memranlarına bağlanabileceği ve etkileyebileceği sonucuna ulaşılmıştır (Al-Adham vd., 2000, 2003; Ferreira vd., 2010; Hamouda ve Baker, 2000).

Etil linoleat bileşeninin kozmetik alanında yumuşatıcı veya koku bileşeni olarak kullanıldığı bilinmektedir (EUCOSMETICS, 2006). Ayrıca antibakteriyel bir bileşen olduğu literatüre kazandırılmıştır (Shade vd., 2020). Yağ asidi bileşenleri olan etil linoleat ve metil linoleatın *P. aeruginosa* suşunda quorum sensing inhibitörü olarak etki gösterdiği daha önce yapılan çalışmalarla kanıtlanmıştır (Musthafa vd., 2017; Prasad vd., 2019). Quorum sensing inhibitörü olarak etki gösteren bir kimyasalın, biyofilm ile ilişkilendirilmesi mümkündür.

D - Alloz bileşeninin ortopedik omurga cerrahisinde ameliyat sonrası iyileşme hızını artırdığı bilinmektedir (URL-1, 2022).

Anetol bileşeninin tatlandırıcı ve aroma verici olarak kullanılır. Anason, yıldız anason ve rezene gibi bitkisel yağların ana bileşenidir (Karaffa, 2013).

5.8 *P. hartigii* - Kloroform Ekstraktının GC/MS Sonuçlarının Değerlendirilmesi

GC/MS analizi sonucunda *P. hartigii* - kloroform ekstraktının %21,23 oranında metil behenat, %8,59 oranında 9-octadecenamid ve %8,22 oranında metil stearat içerdiği, bunlarla birlikte daha düşük oranda farklı bileşenlere sahip olduğu bulunmuştur.

9-Octadecenamid, hayvan yemlerinin işlenmesinde ve depolanmasında, gıda boyalarında ve gıda koruyucularında, antioksidanlarda kullanılan bir bileşendir (Gault vd., 2002).

5.9 *F. fomentarius* - EtOH Ekstraktının GC/MS Sonuçlarının Değerlendirilmesi

GC/MS analizi sonucunda *F. fomentarius* - EtOH ekstraktının %15,86 oranında stearik asit, %14,28 oranında palmitik asit, %11,28 oranında alfa-linoleik asit, %1,13 oranında linokain hidroklorür, ve %2,83 oranında D - alloz içerdiği, bunlarla birlikte daha düşük oranda farklı bileşenlere sahip olduğu bulunmuştur.

Stearik asit, güçlü bir anti-inflamatuar lipid olarak tanınır. Bu yağ asidinin karaciğer metabolizması üzerinde derin ve çeşitli etkileri bulunur (Goradel vd., 2016; Khalil vd., 2000)

Yağ asitlerinin bir çoğunun değişen düzeylerde farklı suşlara karşı antibakteriyel, antifungal, antioksidan ve antibiyofilm özelliği olduğu bilinmektedir. Bunların arasında palmitik asit, stearik asit de bulunmaktadır (Bentrad vd., 2017; Kumar vd., 2020; Prasath vd., 2020; Xie vd., 2021).

5.10 *F. fomentarius* - Kloroform Ekstraktının GC/MS Sonuçlarının Değerlendirilmesi

GC/MS analizi sonucunda *F. fomentarius* - kloroform ekstraktının %21,44 oranında metil stearat, %18,71 oranında 9,12-oktadekadienoik asit, %18,70 oranında metil palmitat, içerdiği, bunlarla birlikte daha düşük oranda farklı bileşenlere sahip olduğu bulunmuştur.

Metil palmitat, deterjanların yapımında, plastik üretiminde ve hayvan yemlerinde kullanılır. Antienflamatuvar, antimikrobiyal ve antifungal özelliği bulunmaktadır (El-Demerdash vd., 2011; Lewis, 2016; Mantawy vd., 2012; Roopa vd., 2020; SR ve Singaravadivel 2014; Wang vd., 2009).

5.11 *F. pinicola* - EtOH Ekstraktının GC/MS Sonuçlarının Değerlendirilmesi

GC/MS analizi sonucunda *F. pinicola* - EtOH ekstraktının %55,23 oranında 9-oktadekanoik asit, %5,60 oranında palmitik asit, %7,97 oranında metil dihomo-gama-linolenat %6,99 oranında lnokain hidroklorür, %4,58 oranında anetol ve %2,15 oranında D - alloz içerdiği, bunlarla birlikte daha düşük oranda farklı bileşenlere sahip olduğu bulunmuştur.

Trans-anetolün *S. aureus* suşlarında mupirocin duyarlılığının artırılmasında ve biyofilm oluşumunun azaltılmasında etkili olduğu daha önce yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (Kwiatkowski vd., 2019). Moleküler dokking analizleri sonucunda anetolün quorum sensing iletişim sistemini ve biyofilmi inhibe ettiği bilinmektedir (Ganesh vd., 2019).

5.12 *F. pinicola* - Kloroform Ekstraktının GC/MS Sonuçlarının Değerlendirilmesi

GC/MS analizi sonucunda *F. pinicola* - kloroform ekstraktının %54,74 oranında oleik asit, %9,50 oranında stearik asit, %8,78 oranında metil behenat, içerdiği, bunlarla birlikte daha düşük oranda farklı bileşenlere sahip olduğu bulunmuştur.

Bütün bu sonuçlara bakıldığında makromantarlardan elde edilmiş olan ekstraktında görülen etkilerin sebebinin içeriklerinde bulunan major bileşenler olabileceği ileri sürülebilir.

6. SONUÇLAR

Bu tez çalışmasında, öncelikle klinik izole 12 *E. coli* suşu, 2 adet *S. aureus* suşu, *P. mirabilis, S. pneumoniae, S. flexineri, A. baumannii, C. tropicalis, C. glabrata* ve *C. albicans* suşlarına biyofilm oluşturanları belirlemek için CRA yöntemi uygulanmış olup, bu deneyin sonucunda *E. coli* 3, *E. coli* 7, *E. coli* 8, *E. coli* 9, *E. coli* 10, *E. coli* 12, *S. aureus* ve *S. aureus* MRSA mikroorganizmalarının biyofilm ürettiği sonucuna ulaşılmıştır.

Yapılan çalışmalar sonucunda *P. hartigii* - EtOH ekstraktının *E. coli* 7, *E. coli* 9, *E. coli* 11, *E. coli* 12 ve *S. aureus* suşlarına karşı değişen düzeylerde biyofilm üretimini aktive edici etkisi olduğu görülmüştür.

Biyofilmler, hayvan yemleri, biyoyakıt hammaddeleri, yüksek değerli kimyasallar, farmasötik olarak aktif bileşikler ve biyoplastikler gibi bazı değerli ürünleri geliştirmek için kullanılma avantajına sahiptir. Biyofilmlerin ayrıca fotosentetik bir plazmonik voltaik cihazda elektrik gücü üretmek gibi bazı başka ilginç uygulamaları da bulunmaktadır (Markou ve Georgakakis, 2011; Pan vd., 2019; Zurnacı vd., 2021).

Nie ve arkadaşları 2019 yılında ilk kez yüksek güçlü ve yüksek enerjili piller için biyofilm kaplı bir ayırıcı geliştirmişler. Biyofilm kaplı nanofiberler, elektrolit ıslanabilirliğini ve lityum aktarım sayısını iyileştirdiği gibi, ayırıcılar ve elektrotlar arasındaki yapışmayı artırır. Bu açıdan biyofilm oluşumunu tetiklemenin birçok avantajı olabileceğini söylemek mümkündür.

F. fomentarius - EtOH ekstraktının *S. aureus* MRSA suşuna ve *P. hartigii* - kloroform ekstraktının *S. aureus* MRSA ve *C. albicans* suşlarına karşı değişen düzeylerde biyofilm üretimini inhibe edici etkisi olduğu görülmüştür.

Biyofilmlerin daha çok vasküler kateterler, Foley kateterler ve beyin omurilik şantları ile ilişkili enfeksiyonlardan sorumlu olduğu, ayrıca cilt ve dişler gibi bazı dokularda bazı hastalıklara neden olduğu bilinmektedir Biyofilmler, biyofilm oluşturan mikroorganizmalarda antibiyotiklere veya mantar önleyici maddelere karşı direncin

artmasından da sorumludur. Bu nedenle biyofilm oluşumunun engellenmesi halk sağlığı ve endüstri için oldukça önemlidir (Jabra-Rizk vd., 2004; López vd., 2010; Richet ve Fournier 2006; Rodríguez-Baño vd., 2003, 2004; Rodríguez-Baño vd., 2008; Zurnacı vd., 2021).

Bu tez çalışmasında *P. hartigii* - EtOH, *F. fomentarius* - EtOH, *P. hartigii*-kloroform, *F. pinicola* - EtOH ve *F. pinicola* - kloroform ekstraktlarının antioksidan aktiviteleri incelenmiştir. *F. fomentarius* - EtOH, ekstraktının IC_{50} değeri 0,865 mg/mL olarak bulunmuşken, güvenirliği düşük olmakla birlikte IC_{90} değeri 322,435 mg/mL olarak hesaplanmıştır. Ayrıca, *P. hartigii* - EtOH ekstraktının IC_{50} değeri 0,427 mg/mL olarak bulunmuşken, IC_{90} değeri 1,839 mg/mL olarak hesaplanmıştır. Öte yandan, *F. fomentarius* - kloroform, *P. hartigii* - kloroform, *F. pinicola* - EtOH ve *F. pinicola* - kloroform ekstraktlarının uygulandığı konsantrasyonlarda bir antioksidan aktivite gözlenmemiştir.

7. ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında elde edilmiş olan antibiyofilm sonuçları incelendiğinde, yalnızca spektrofotometrik deneylerin uygulanarak kesin sonuca her zaman ulaşılamayabileceği, bu deneylerin mutlaka SEM, AFM ve/veya başka yöntemleri kullanılarak desteklenmesi gerektiği anlaşılmıştır. Bu sebeple, ileride yapılacak biyofilm araştırmalarında spektrofotometrik deneylere ek olarak SEM ve/veya AFM gibi çalışmaların da yapılmasının daha doğru sonuç vereceğinden bu deneylerin kombine kullanımı önerilebilir.

Biyofilmlerin aktive edilmesinin önemi göz önüne alındığında, bu çalışmada kullanılan ve dikkat çekici bir biyofilm aktivasyon etkisi gösteren *P. hartigii* - EtOH ekstraktı ile bu hususta ileri çalışmalarının yapılması önemlidir.

Öte yandan biyofilmlerin inhibe edilmesinin de öneminin açık olduğu düşünüldüğünde, bu çalışmada kullanılan ve biyofilmi inhibe edici etki gösteren *P. hartigii* - kloroform ve *F. fomentarius* - EtOH ekstraktlarının bu hususta ileri çalışmalarının yapılmasıda önem teşkil etmektedir.

Bunlara ek olarak yapılan içerik analizi sonuçlarında major komponent olarak bulunan bileşenlerin ekstraktların biyofilmi aktive edici veya inhibe edici etkinin nedeni olup olmadığının tespit edilebilmesi için, bu bileşenlerin saflaştırılarak veya ticari olarak ulaşılabilenlerin satın alınarak ileri araştırılmalarının yapılması da önemli sonuçlar elde edilmesini sağlayabilecektir.

Ayrıca yapılacak ileri çalışmalarda bu çalışmalara ilave olarak, özellikle biyofilmin inhibe edildiği durumlarda biyofilm içinde varsa kalan canlı hücre miktarının da belirlenmesinin faydalı olacağı değerlendirilmiştir.

KAYNAKLAR

Abah, S., & Abah, G., (2010). Antimicrobial and antioxidant potentials of *Agaricus bisporus. Advances in Biological Research, 4*(5), 277-282.

Abbasoglu, U. (1996). Antimikrobiyal aktivite araştırma yöntemleri. *FABAD J. Pharm. Sci*, *22*, 111-118.

Adeoyo, O.R., & Oluborode, O.O. (2020). Antimicrobial properties of some Nigerian edible mushrooms. *J Phytopharmacol*, *9*(2), 110-114.

Ahmad, M. F. (2018). Ganoderma lucidum: Persuasive biologically active constituents and their health endorsement. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 107, 507-519. doi:10.1016/j.biopha.2018.08.036

Akgul, H., Sevindik, M., Coban, C., Alli, H., & Selamoglu, Z. (2017). New approaches in traditional and complementary alternative medicine practices: *Auricularia auricula* and *Trametes versicolor*. *J Tradit Med Clin Natur*, *6*(4), 1000239.

Alalaqi, N.A.S. (2020). Bazı Mantar Ekstraktlarinin Antimikrobiyal Aktivitesi ve Zaman-Öldürme Kinetiklerinin Gözlemlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, *Kastamonu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*. Kastamonu.

Al-Adham, I. S. I., Khalil, E., Al-Hmoud, N. D., Kierans, M., & Collier, P. J. (2000). Microemulsions are membrane-active, antimicrobial, self-preserving systems. *Journal of Applied Microbiology, 89*(1), 32-39.

Al-Adham, I. S. I., Al-Hmoud, N. D., Khalil, E., Kierans, M., & Collier, P. J. (2003). Microemulsions are highly effective anti-biofilm agents. *Letters in Applied Microbiology, 36*(2), 97-100.

Albayrak S., Sağdıç O., & Aksoy A., (2010). Bitkisel ürünlerin ve gıdaların antioksidan kapasitelerinin belirlenmesinde kullanılan yöntemler. *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, *26*(4), 401-409.

Allocati, N., Masulli, M., Alexeyev, M., & Di Ilio, C. (2013). *Escherichia coli* in Europe: An overview. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, *10*(12), 6235-6254. doi: 10.3390/ijerph10126235

Alows, A. (2003). Book reviews. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, *47*(4), 625-627.

Altuner, E.M., & Akata, I. (2010). Antimicrobial activity of some macrofungi extracts. *SAÜ. Fen Bilimleri Dergisi, 14*(1), 45-49.

Altuner, E. M., & Çetin, B. (2018). Antimicrobial activity of Isothecium alopecuroides and potential effect of some climate elements on the activity of this bryophyte sample. *Kastamonu Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi*, *18*(2), 126-137.

Alves, M. J., Ferreira, I. C., Lourenço, I., Costa, E., Martins, A., & Pintado, M. (2014). Wild mushroom extracts as inhibitors of bacterial biofilm formation. *Pathogens*, *3*(3), 667-679.

Angelini, P., Venanzoni, R., Flores, G.A., Tirillini, B., Orlando, G., Recinella, L., Chiavaroli, A., Brunetti, L., Leone, S., Simone, S.C.D., Ciferri, M.C., Zengin, G., Ak, G., Menghini, L., & Ferrante, C. (2020). Evaluation of antioxidant, antimicrobial and tyrosinase inhibitory activities of extracts from *Tricholosporum goniospermum*, an edible wild mushroom. *Antibiotics, 9* (8), 513 doi:10.3390/antibiotics9080513.

Anguiano, A.C.R., Santoyo, S., Reglero, G., & Rivas, C.S. (2007). Radical scavenging activities, endogenous oxidative enzymes and total phenols in edible mushrooms commonly consumed in Europe. *J Sci Food Agric*, *87*, 2272-2278.

Aoki, M., Tan, M., Fukushima, A., Hieda, T., Kubo, S., Takabayashi, M., Ono, K., & Mikami, Y. (1993). Antiviral substances with systemic effects produced by *Basidiomycetes* such as *Fomes fomentarius*. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, *57*(2), 278-282.

Arpin, N., Favre-Bonvin, J., & Steglich, W. (1974). Le fomentariol: Nouvelle benzotropolone isolée de *Fomes fomentarius. Phytochemistry, 13*(9), 1949-1952.

Atalan, E. (2019). Türkiye'de Yetiştirilen Pelemir Bitkisinin *[Cephalaria Syriaca (L.)]* Antioksidan, Antimikrobiyal, Antifungal, Antibiyofilm Özelliklerinin Ve Tohum Morfolojisinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, *Bartın Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü.* Ankara.

Atshan, S.S., Shamsudin, M.N., Lung, L.T., Sekawi, Z., Ghaznavi-Rad, E., & Pei, C.P. (2012). Comparative characterisation of genotypically different clones of MRSA in the production of biofilms. *J Biomed Biotechnol*, *2012*, 417247. doi:10.1155/2012417247

Avcı, E., & Alp Avcı, G. (2019). Antimicrobial and antioxidant activities of medicinally important *Lactarius deliciosus. International Journal of Medical Science and Dental Research*, *2* (6), 49-55.

Aydemir, Ş., Çöplü, N., Gülay, Z., Gür, D., Hasdemir, U., Karahan, Z.C., Karatuna, O., Kayacan, Z.Ç., & Söyletir, G. (2016). Antibiyotik duyarlılık testleri, EUCAST: Uygulama, yorum ve uzman kurallar. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, *46*, 11-25.

Azeem, U., Dhingra, G. S., & Shri, R. (2018). Pharmacological potential of wood inhabiting fungi of genus Phellinus Quél.: an overview. *J Pharmacogn Phytochem*, *7*(2), 1161-1171.

Baldas, B., & Altuner, E. M. (2018). The antimicrobial activity of apple cider vinegar and grape vinegar, which are used as a traditional surface disinfectant for fruits and vegetables. *Commun. Fac. Sci. Univ. Ank. Series C, 27*(1), 1-10.

Baker, B.J., Banfield, J.F.(2003). Microbial communities in acid mine drainage. *FEMS Microbiol Ecol, 44* 139-152.

Barros, L., Baptista, P., Correia, D.M., Casal, S., Oliveira, B., & Ferreira, I.C.F.R. (2007a). Fatty acid and sugar compositions, and nutritional value of five wild edible mushrooms from Northeast Portugal. *Food Chem, 105,* 140-145.

Barros, L., Baptista, P., Estevinho, L.M., & Ferreira, I.C.F.R. (2007b). Effect of fruiting body maturity stage on chemical composition and antimicrobial activity of *Lactarius sp*. mushrooms. *J Agric Food Chem, 55,* 8766-8771.

Barros, L., Calhelha, R.C., Vaz, J.A., Ferreira, & I.C.F.R, Baptista, P., Estevinho, L.M. (2007c). Antimicrobial activity and bioactive compounds of Portuguese wild edible mushrooms methanolic extracts. *Eur Food Res Technol, 225,* 151-156.

Barros, L., Cruz, T., Baptista, P., Estevinho, L.M., & Ferreira, I.C.F.R. (2008). Wild and commercial mushrooms as source of nutrients and nutraceuticals. *Food Chem Toxicol, 46,* 2742-2747.

Beech, I.B., Smith, J.R., Steele, A.A., Penegar, I., & Campbell, S.A. (2002). The use of atomic force microscopy for studying interactions of bacterial biofilms with surfaces. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 23*(2-3), 231-247.

Bentrad, N., Gaceb-Terrak, R., & Rahmania, F. (2017). Identification and evaluation of antibacterial agents present in lipophilic fractions isolated from sub-products of *Phoenix dactilyfera*. *Natural product research, 31*(21), 2544-2548.

Bishop, K. S. (2020). Characterisation of Extracts and Anti-Cancer Activities of *Fomitopsis pinicola*. *Nutrients*, *12*(3), 609.

Blenkinsopp, A.S., & Costerton, J.W. (1991). Understanding bacterial biofilms. *Trends in Biotechnology, 9,* (1), 138-143.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., & Berset, C. (1995). Use of a freeradical method to evaluate antioxidant activity. *Food Sci Technol-Leb, 28,* 25-30.

Büyüktuncel, E. (2013). Toplam fenolik içerik ve antioksidan kapasite tayininde kullanılan başlıca spektrofotometrik yöntemler. *Marmara Pharmaceutical Journal, 17,* 93-103. doi:10.12991/201317377.

Camargo, G.M.P.A., Pizzolitto, A.C., & Pizzolitto, E.L. (2005). Biofilm formation on catheters used after cesarean section as observed by scanning electron Microscopy. *International Journal of Gynecology and Obstetrics, 90,* 148-149.

Canli, K., Yetgin, A., Akata, I., & Altuner, E. M. (2016). In vitro antimicrobial activity of Angelica sylvestris roots. *International Journal of Biological Sciences, 1*(1), 1-7.

Carbonero, E.R., Gracher, A.H.P, Smiderle, F.R., Rosado, F.R., Sassaki, G.L., & Gorin, P.A.J., vd. (2006). A β-glucan from the fruit bodies of edible mushrooms *Pleurotus eryngii* and *Pleurotus ostreatoroseus*. *Carbohyd Polym, 66,* 252-257.

Chang, Y.S., & Lee, S.S. (2001). Utilisation of wild mushrooms by the Temuans in Selangor, Malaysia. *CFFPR 2001*, 100, Kuala Lumpur.

Chang, Y.S., & Lee, S.S. (2004). Utilisation of Macrofungi Species in Malaysia. *Fungal Diversity*, *15*, 15-22.

Clardy, J., & Walsh, C. (2004). Lessons from natural molecules. *Nature*, *432*, 829-837.

Cos, P., Vlietinck, A. J., Berghe, D. V., & Maes, L. (2006). Anti-infective potential of natural products: how to develop a stronger *in vitro* 'proof-ofconcept'. *Journal of Ethnopharmacology*, *106*(3), 290-302.

Croes, S., Deurenberg, R. H., Boumans, M. L. L., Beisser, P. S., Neef, C., & Stobberingh, E. E. (2009). *Staphylococcus aureus* biofilm formation at the physiologic glucose concentration depends on the *S. aureus* lineage. *BMC microbiology*, *9*(1), 1-9.

Çoban, A.Y. (2012). *MİK mikrodilüsyon ve makrodilüsyon hazırlanması ve ekimi*. https://www.klimik.org.tr/wp-content/uploads/2012/02/128201112107-49.pdf, Erişim tarihi:09.12.2019.

Darouiche, R. O., Raad, I. I., Heard, S. O., Thornby, J. I., Wenker, O. C., Gabrielli, A., Berg, J., Khardori, N., Hanna, H., Hachem, R. Herris, R.L., & Mayhall, G. (1999). A comparison of two antimicrobial-impregnated central venous catheters. *New England Journal of Medicine*, *340*, 1-8.

Deurenberg, R. H., & Stobberingh, E. E. (2008). The evolution of *Staphylococcus aureus*. *Infection, genetics and evolution*, *8*(6), 747-763.

Dimitrijevic, M. V., Mitic, V. D., Nikolic, J. S., Djordjevic, A. S., Mutic, J. J., Stankov Jovanovic, V. P., & Stojanovic, G. S. (2019). First report about mineral content, fatty acids composition and biological activities of four wild edible mushrooms. *Chemistry & Biodiversity*, *16*(2), e1800492.

Dundar, A., Okumus, V., Ozdemir, S., Celik, K. S., Boğa, M., & Ozcagli, E. (2016). Determination of cytotoxic, anticholinesterase, antioxidant and antimicrobial activities of some wild mushroom species. *Cogent Food & Agriculture*, *2*(1), 1178060.

Dülger, B., Yılmaz, F., & Gücin, F. (2002). Antimicrobial activity of some *Lactarius* Species *Pharmaceutical Biology*, *40*(4), 304-306.

El-Demerdash, E. (2011). Anti-inflammatory and antifibrotic effects of methyl palmitate. *Toxicology and applied pharmacology*, *254*(3), 238-244.

Elkhateeb, W. A., Elnahas, M. O., Paul, W., & Daba, T. G. M. (2020). *Fomes fomentarius* and *polyporus squamosus* models of marvel medicinal mushrooms. *Biomed. Res. Rev*, *3*(1), 1-4.

Elmajdoub, M. İ. E. (2021). Sıcaklık, pH, su aktivitesi, inokulum yoğunluğu ve bazı mantar ekstraktlarının *Listeria monocytogenes* gelişimi ve biyofilmi üzerine etkileri Yüksek Lisans Tezi, *Kastamonu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*. Kastamonu.

Elmastas, M., Isildak, O., Turkekul, I., & Temur, N. (2007). Determination of antioxidant activity and antioxidant compounds in wild edible mushrooms. *J Food Compos Anal*, *20*, 337-345.

Eren A., & Akyüz M. (2018). Bazı Makrofungus Misellerin Antimikrobiyal Aktivitelerinin Belirlenmesi. *Mantar Dergisi*, *9*(2), 196-205. doi:10.30708/mantar.451294.

EUFIA (EU Food Improvement Agents), (2012). Etil oleat, https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX:32012R0872, Erişim tarihi:08/06/2022.

Fendoğlu, B., Kuruüzüm-Uz, A., & Şöhretoğlu, D. (2018). Mantarlardan Elde Edilen Alkoloidler. *Mantar Dergisi*, *9*(2) 11-125.

Ferreira, J. P., Alves, D., Neves, O., Silva, J., Gibbs, P. A., & Teixeira, P. C. (2010). Effects of the components of two antimicrobial emulsions on food-borne pathogens. *Food control*, *21*(3), 227-230.

Forland, D.T., Johnson, E., Tryggestad, A.M.A., Lyberg, T., & Hetland, G. (2010). An extract based on the medicinal mushroom *Agaricus blazei* Murill stimulates monocyte-derived dendritic cells to cytokine and chemokine production in vitro. *Cytokine*, *49*, 245-250.

Fox, E. P., Nobile, C. J., Dietrich, L. A., & Friedmann, T. S. (2013). The role of *Candida albicans* biofilms in human disease. *Candida albicans* symptoms, causes and treatment options. *Nova Science Publishers*, 1-24.

FS-R10-FHP. (2014). Forest Health Conditions in Alaska 2013. Anchorage, Alaska: USDA Forest Service, Alaska Region.

Fujishige, N.A., Kapadia, N.N., & Hirsch, A.M. (2006) A feeling for the microorganism: structure on a small scale. Biofilms on plant roots. *Bot J Linnean Soc, 1*, 79-88.

Ganesh, P. S., Veena, K., Senthil, R., Iswamy, K., Ponmalar, E. M., Mariappan, V., Griija, A.S.S., Vadivelu, J., Nagarajan, S., Challabathula, D., & Shankar, E. M. (2022). Biofilm-Associated Agr and Sar Quorum Sensing Systems of Staphylococcus aureus Are Inhibited by 3-Hydroxybenzoic Acid Derived from *Illicium verum*. *ACS omega*, *7*(17), 14653-14665.

Garcha, H.S., Khanna, P.K., Garcha, & G.L.S. (1993). Nutritional importance of mushrooms. T. Chang, J.A. Buswell & S.W. Chiu (Eds.), *Mushroom Biology and Mushroom Products.*, (pp. 227-236). Hong Kong: The Chinese University Press.

Gault, L. V., Shultz, M., & Davies, K. J. (2002). Variations in Medical Subject Headings (MeSH) mapping: from the natural language of patron terms to the controlled vocabulary of mapped lists. *Journal of the Medical Library Association, 90*(2), 173-180.

Gbolagade, J., Kigigha, L., & Ohimain, E. (2007). Antagonistic effect of extracts of some Nigerian higher fungi against selected pathogenic microorganisms. *American Eurasian J Agric Environ Sci, 2*(4), 364-368.

Giri, S., Biswas, G., Pradhan, P., Mandal, S.C., & Acharya, K., (2012). Antimicrobial activities of basidiocarps of wild edible mushrooms of West Bengal, India. *International Journal of PharmTech Research, 4* (4), 1554- 1560.

Gomes, L. C., & Mergulhão, F. J. (2017). SEM Analysis of Surface Impact on Biofilm Antibiotic Treatment. *Scanning*, 2960194. doi: 10.1155/2017/2960194.

Goradel, N. H., Eghbal, M. A., Darabi, M., Roshangar, L., Asadi, M., Zarghami, N., & Nouri, M. (2016). Improvement of liver cell therapy in rats by dietary stearic acid. *Iranian Biomedical Journal, 20*(4), 217-222.

Gulati, M., & Nobile, C. J. (2016). *Candida albicans* biofilms: development, regulation, and molecular mechanisms. *Microbes and infection, 18*(5), 310-321.

Gutiérrez, D., Hidalgo-Cantabrana, C., Rodríguez, A., García, P., & Ruas-Madiedo, P. (2016). Monitoring in real time the formation and removal of biofilms from clinical related pathogens using an impedance-based technology. *PLoS One, 11*(10), 1-17. doi: 10.1371/ 0163966.

Gün, İ., & Ekinci, Y. (2009). Biyofilmler: Yüzeylerdeki mikrobiyal yaşam. *Gıda, 34*(3), 165-173.

Haight, J. E., Nakasone, K. K., Laursen, G. A., Redhead, S. A., Taylor, D. L., & Glaeser, J. A. (2019). *Fomitopsis mounceae* and *F. schrenkii* - two new species from North America in the *F. pinicola* complex. *Mycologia, 111*(2), 339-357.

Hamouda, T., & Baker Jr, J. R. (2000). Antimicrobial mechanism of action of surfactant lipid preparations in enteric Gram-negative bacilli. *Journal of Applied Microbiology, 89*(3), 397-403.

Homer, J.A. & Sperry, J. (2017). Mushroom-derived indole alkaloids, *Journal of Natural Products, 80*(7), 2178-2187.

Howes, T. (2012). "Red-belted Polypore - Fomitopsis pinicola" by tlhowes2012 is licensed under CC BY-NC-SA 2.0. https://wordpress.org/openverse/image/2c620f2d-6ecd-4144-8ec5-57ddbbb4d32f/, Erişim tarihi:31/05/2022.

ISO 20776-1 (2006). Clinical laboratory testing and in vitro diagnostic test systems - Susceptibility testing of infectious agents and evaluation of performance of antimicrobial susceptibility test devices - Part 1: Broth micro-dilution reference method for testing the in vitro activity of antimicrobial agents against rapidly

growing aerobic bacteria involved in infectious diseases. Geneva, Switzerland: Internatinonal Organization for Standarditation.

İrez, E.İ., Hacioğlu Doğru, N., & Demir N. (2021). *Fomes fomentarius* (L.) Fr. extracts as sources of an antioxidant, antimicrobial and antibiofilm agents. *Biologica Nyssana, 12* (1), 55-62.

Jabra-Rizk, M. A., Falkler, W. A., & Meiller, T. F. (2004). Fungal biofilms and drug resistance. *Emerging Infectious Diseases, 10*(1), 14-19.

Johnson, C.C. (1996). *In vitro* testing: Correlations of bacterial susceptibility, body fluid levels and effectiveness of antibacterial therapy. V Lorian (Eds.), *Antibiotics in Laboratory Medicine.* Fourth edition, (pp. 813-834). Baltimore: Williams Wilkins.

Jorgensen, J., & Sahm, D. (1995). Antimicrobial susceptibility testing: General considerations. P. Murray, , E. Baron, M.A. Pfaller. (Eds.), *Manual of Clinical Microbiology.* Sixth edition, (pp. 1277-1280) Washington: D.C. American Society for Microbiology.

Joseph, R.L. (2004). Prosthetic joint infections: Bane of orthopaedists. *Clin Infect Dis, 36,* 1157-1161.

Judova, J., Dubikova, K., Gaperova, S., Gaper, J., & Pristas, P. (2012). The occurrence and rapid discrimination of *Fomes fomentarius* genotypes by ITS-RFLP analysis. *Fungal Biology, 116*(1), 155-160.

Junker, L., & Clardy, J. (2007). High-Throughput Screens for Small-Molecule Inhibitors of Pseudomonas aeruginosa Biofilm Development. *Antimicrob Agents Chemother, 51,* 3582-3590.

Kahlmeter, G., & Brown, D.F., Goldstein, F.W., MacGowan, A.P., Mouton, J.W., Odenholt, I., Rodloff, A., Soussy, C.J., Steinbakk, M., Soriano, F., Stetsiouk, O. (2006). European Committee on antimicrobial susceptibility testing (EUCAST) technical notes on antimicrobial susceptibility testing. *Clin Microbiol Infect, 12,* 501-503.

Kahlmeter, G., Brown, D.F., Goldstein, F.W., MacGowan, A.P., Mouton, J.W., Osterlund, A., Rodloff, A., Steinbakk, M., Urbaskova, P., & Vatopoulos, A. (2003). European harmonization of MIC breakpoints for antimicrobial susceptibility testing of bacteria. *J Antimicrob Chemother, 52,* 145-148.

Kalyoncu, F., Oskay, M., & Kalmış, E. (2010a). Bazı Yabani Makrofungus Misellerinin Antimikrobiyal Aktivitelerinin Belirlenmesi. *Mantar Dergisi, 1*(1),1-8.

Kalyoncu F., Oskay, M., Sağlam, H., Erdoğan, T.F., & Tamer, A.U. (2010b). Antimicrobial and antioxidant activities of mycelia of 10 wild mushroom species. *J Med Food, 13*(2), 415-419.

Karaca, B., Akata, I., & Çöleri Cihan, A. (2017). *Lentinus edodes*, *Lactarius delicious* ve *Ganoderma lucidum*'un antibiyofilm ve antimikrobiyal etkinlikleri. *Kastamonu Univ., Orman Fakültesi Dergisi, 17*(4), 660-668.

Karaca, B., Çöleri Cihan, A., Akata, I., & Altuner, E.M. (2020). Anti-Biofilm and Antimicrobial Activities of Five Edible and Medicinal Macrofungi Samples on Some Biofilm Producing Multi Drug Resistant *Enterococcus* Strains. *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology, 8*(1), 69-80. doi:10.24925/turjaf.v8i1.69-80.2723.

Karadelev, M., Rusevska, K., & Stojanovska, S. (2007). Ecology and distribution of Genus *Phellinus (Hymenochaetaceae)* in the Republic of Macedonia. *III Congress of Ecologists of the Republic of Macedonia*, 197-207, Struga.

Karaffa, L. S. (2013). *The Merck index: an encyclopedia of chemicals, drugs, and biologicals.* RSC Publishing.

Khadhri, A., Aouadhi, C., & Aschi-Smiti, S. (2017). Screening of bioactive compounds of medicinal mushrooms collected on Tunisian territory. *International Journal of Medicinal Mushrooms, 19*(2), 127-135.

Khalil, M. H., Marcelletti, J. F., Katz, L. R., Katz, D. H., & Pope, L. E. (2000). Topical application of docosanol-or stearic acid-containing creams reduces severity of phenol burn wounds in mice. *Contact dermatitis, 43*(2), 79-81.

Kodiyalmath, J. K., & Krishnappa, M. (2017). Evaluation of antimicrobial activity of *Phellinus linteus* (Berk. & MA Curtis.) with their wild collections from Western Ghats of India. *Trop Plant Res, 4*(2), 351-357.

Kojic, E.M., & Darouiche, R.O. (2004). *Candida* infections of medical devices. *Clinical microbiology reviews, 17* (2), 255-267.

Konuk, M., Afyon, A., & Yağız, D. (2006) Chemical composition of some naturally growing and edible mushrooms. *Pak J Bot*, *38*(3), 799-804.

Kovacs, B., Zomborszki, Z. P., Orban-Gyapai, O., Csupor-Loffler, B., Liktor-Busa, E., Lazar, A., Papp, V., Urban, E., Hohmann, J., & Vanyolos, A. (2017). Investigation of Antimicrobial, Antioxidant, and Xanthine Oxidase− Inhibitory Activities of Phellinus (Agaricomycetes) Mushroom Species Native to Central Europe. *International Journal of Medicinal Mushrooms, 19*(5), 387-394.

Krupodorova, T. A., Barshteyn, V. Y., Zabeida, E. F., & Pokas, E. V. (2016). Antibacterial activity of macromycetes mycelia and culture liquid. *Microbiology and Biotechnology Letters, 44*(3), 246-253.

Kumar, P., Lee, J. H., Beyenal, H., & Lee, J. (2020). Fatty acids as antibiofilm and antivirulence agents. *Trends in microbiology*, *28*(9), 753-768.

Kwiatkowski, P., Grygorcewicz, B., Pruss, A., Wojciuk, B., Dołęgowska, B., Giedrys-Kalemba, S., Sienkiewicz, M., & Wojciechowska-Koszko, I. (2019). The effect

of subinhibitory concentrations of trans-anethole on antibacterial and antibiofilm activity of mupirocin against mupirocin-resistant *Staphylococcus aureus strains*. *Microbial Drug Resistance*, *25*(10), 1424-1429.

Leone, S., Molinaro, A., Alfieri, F., Cafaro, V., Lanzetta, R., Di Donato, A., & Parrilli, M.(2006). The biofilm matrix of *Pseudomonas spp*. OX1 grown on phenol is mainly constituted by alginate oligosaccharides. *Carbohydr Res, 341(*14), 2456-2461.

Lewis, R. A. (2016). *Hawley's condensed chemical dictionary*. John Wiley & Sons.

Lohse, M. B., Gulati, M., Johnson, A. D., & Nobile, C. J. (2018). Development and regulation of single-and multi-species *Candida albicans* biofilms. *Nature Reviews Microbiology*, *16*(1), 19-31.

Lopez-Alarcon, C., & Lissi, E. (2005). Interaction of pyrogallol red with peroxyl radicals. A basis for a simple methodology for the evaluation of antioxidant capabilities. *Free Radical Research*, *39*(7), 729-736.

López, D., Vlamakis, H., & Kolter, R. (2010). Biofilms. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, *2*(7), a000398.

Lu, H., Lou, H., Hu, J., Liu, Z., & Chen, Q. (2020). Macrofungi: A review of cultivation strategies, bioactivity, and application of mushrooms. *Compr Rev Food Sci Food Saf.* 19, 2333-2356. doi:/10.1111/1541-4337.12602.

Makvana, S., & Krilov, L. R. (2015). *Escherichia coli* infections. *Pediatrics in review*, *36*(4), 167-170.

Mantawy, E. M., Tadros, M. G., Awad, A. S., Hassan, D. A., & El-Demerdash, E. (2012). Insights antifibrotic mechanism of methyl palmitate: impact on nuclear factor kappa B and proinflammatory cytokines. *Toxicology and applied pharmacology*, *258*(1), 134-144.

Markou, G., & Georgakakis, D. (2011). Cultivation of filamentous cyanobacteria (blue-green algae) in agro-industrial wastes and wastewaters: a review. *Applied Energy*, *88*(10), 3389-3401.

Matijasevic, D., Pantic, M., Raskovic, B., Pavlovic, V., Duvnjak, D., Sknepnek, A., & Niksic, M.(2016). The antibacterial activity of Coriolus versicolor methanol extract and its effect on Ultrastructural changes of *Staphylococcus aureus* and *Salmonella Enteritidis*. *Frontiers in Microbiology*, *7,* 1226. doi: 10.3389/fmicb.2016.01226.

Mau, J.L., Lin, H.C., & Chen, C.C. (2001). Non-volatile components of several medicinal mushrooms. *Food Res Int, 34,* 521-526.

Musthafa, K. S., Sianglum, W., Saising, J., Lethongkam, S., & Voravuthikunchai, S. P. (2017). Evaluation of phytochemicals from medicinal plants of Myrtaceae

family on virulence factor production by *Pseudomonas aeruginosa*. *Apmis, 125*(5), 482-490.

Müller, C., Klemm, S., & Fleck, C. (2021). Bracket fungi, natural lightweight construction materials: hierarchical microstructure and compressive behavior of Fomes fomentarius fruit bodies. *Applied Physics A, 127*(3), 1-11.

Ndhlala, A.R., Moyo, M., Van Staden, J. (2010). Natural Antioxidants: Fascinating or Mythical Biomolecules?. M*olecules*, *15*(10) 6905-6930.

Nie, L., Li, Y., Chen, S., Li, K., Huang, Y., Zhu, Y., Sun, Z., Zhank, J., He, Y., & Wei, S. (2019). Biofilm nanofiber-coated separators for dendrite-free lithium metal anode and ultrahigh-rate lithium batteries. *ACS applied materials & interfaces*, *11*(35), 32373-32380.

Nikolovska, D., Atanasova, N., Amedi, H., Veleska, D., Ivanova, E., Karadelev, M., & Kungulovski, D. (2013). Screening of antibacterial and antifungal activities of selected Macedonian wild mushrooms. *Zbornik Matice srpske za prirodne nauke, 124*, 333-340. doi: 10.2298/ zmspn1324333n.

Nur, A. D. (2014). Bazı makromantar türlerinin (*Tricholoma terreum* (Schaeff.) P. Kumm. ve *Coprinus micaceus* (Bull.) Fr. mineral madde içeriği ve biyolojik aktivitelerinin belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, *Gaziantep Üniversitesi, Biyoloji Bölümü*. Gaziantep.

Okan, O., Varlıbaş, H., Öz, M., & Deniz, İ. (2013). Antioksidan Analiz Yöntemleri ve Doğu Karadeniz Bölgesinde Antioksidan Kaynağı Olarak Kullanılabilecek Odun Dışı Bazı Bitkisel Ürünler. *Kastamonu Üni., Orman Fakültesi Dergisi*, *13* (1), 48-59.

Onbaşlı, D., Yuvalı Çelik, G., & Ökçesiz, A. (2017). Mikrobiyal biyofilmlere karşı yeni antibiyofilm stratejileri ve nanoteknolojik yaklaşımlar. *Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitütüsü Dergisi*, *26,* 262-266.

Orhan, A. (2017). Türkiye'nin bazı bölgelerinden toplanan makromantar türlerinin antioksidan aktiviteleri. Yüksek Lisans Tezi, *Nevşehir Haci Bektaş Veli Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*. Nevşehir.

Ozgen, M., Reese, R.N., Tulio, A.Z., Scheerens, J.C., & Miller, A.R. (2006). Modified 2,2-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) method to measure antioxidant capacity of selected small fruits and comparison to ferric reducing antioxidant power (FRAP) and 2,2 '-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) methods. *J Agr Food Chem*, *54*, (4), 1151-1157.

Öztürk, İ., Yurtman, A.N., Eraç, B., Gül-Yurtsever, S., Ermertcan, Ş., & Hoşgör-Limoncu, M. (2014). *In vitro* effect of moxifloxacin and rifampicin on biofilm formation by clinical MRSA isolates. *Bratisl Lek Listy*, *115*(8), 483-486.

Öztürk, M., Tel-Cayan, G., Muhammad, A., Terzioglu, P. & Duru, M.E. (2015). Mushrooms: A source of exciting bioactive compounds. *Studies In Natural Products Chemistry*, *45*(10), 363−456.

Pan, M., Lyu, T., Zhang, M., Zhang, H., Bi, L., Wang, L., Chen, J., Yao, C., Ali, J., Best, S., Ray, N., & Pan, G. (2019). Synergistic recapturing of external and internal phosphorus for in situ eutrophication mitigation. *Water, 12*(1), 2.

Papetti, A., Signoretto, C., Spratt, D.A., Pratten, J., Lingström, P., Zaura, E., Ofek, I., Wilson, M., Pruzzog, C., & Gazzania, G. (2018). Components in *Lentinus Edodes* Mushroom with Anti-Biofilm Activity Directed Against Bacteria İnvolved in Caries and Gingivitis. *Food & Function, 9*, 3489-3499.

Pommerville J.C. (2014). *Fundamentals of Microbiology*. Burlington, Mass: Jones and Bartlett Publishers.

Prasad, M. A., Zolnik, C. P., & Molina, J. (2019). Leveraging phytochemicals: the plant phylogeny predicts sources of novel antibacterial compounds. *Future science OA, 5*(7), FSO407.

Prasath, K. G., Tharani, H., Kumar, M. S., & Pandian, S. K. (2020). Palmitic acid inhibits the virulence factors of Candida tropicalis: Biofilms, cell surface hydrophobicity, ergosterol biosynthesis, and enzymatic activity. *Frontiers in Microbiology, 11*, 864.

Prior, R.L., Wu, X., & Schaich, K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *J Agr Food Chem, 53* (10), 4290-4302.

Pushpa, H., & Puruskothama, K.B. (2010) Nutritional analysis of wild and cultivated edible medicinal mushrooms. *World J Dairy Food Sci*, *5*(2), 140-144.

Ramage, G., Martínez, J. P., & López-Ribot, J. L. (2006). *Candida* biofilms on implanted biomaterials: a clinically significant problem. *FEMS yeast research, 6*(7), 979-986.

Richet, H., & Fournier, P. E. (2006). Nosocomial infections caused by Acinetobacter baumannii a major threat worldwide. *Infection Control & Hospital Epidemiology*, *27*(7), 645-646.

Rheea, S.J., Chob, S.Y., Kimb, K.M., Chaa, D.S., & Park, H.J. (2008). A comparative study of analytical methods for alkali-soluble β-glucan in medicinal mushroom, Chaga *(Inonotus obliquus*). *LWT, 41,* 545-549.

Rodríguez-Baño, J., Marti, S., Soto, S., Fernández-Cuenca, F., Cisneros, J. M., Pachón, J., Pascual, A., Martinez-Martinez, L., McQueary, C., Actis, L.A., & Spanish Group for the Study of Nosocomial Infections (GEIH). (2008). Biofilm formation in Acinetobacter baumannii: associated features and clinical implications. *Clinical microbiology and infection, 14*(3), 276-278.

Rodríguez-Baño, J., Cisneros, J. M., Fernández-Cuenca, F., Ribera, A., Vila, J., Pascual, A., Martinez-Martinez, L., Bou, G., Pachón, J., & Grupo de Estudio de Infección Hospitalaria. (2004). Clinical features and epidemiology of *Acinetobacter baumannii* colonization and infection in Spanish hospitals. *Infection Control & Hospital Epidemiology, 25*(10), 819-824.

Rodríguez-Baño, J., Pascual, A., Gálvez, J., Muniain, M. A., Ríos, M. J., Martínez-Martínez, L., Perez-Cano, R., & Perea, E. J. (2003). *Acinetobacter baumannii* bacteremia: clinical and prognostic features. *Enfermedades infecciosas y microbiologia clinica*, *21*(5), 242-247.

Roopa, M. S., Shubharani, R., Rhetso, T., & Sivaram, V. (2020). Comparative analysis of phytochemical constituents, free radical scavenging activity and GC-MS analysis of leaf and flower extract of *Tithonia diversifolia* (Hemsl.) A. Gray. *International Journal of Pharmaceutical Sciences& Research, 11*(10), 5081-5090.

Saiqa, S., Haq, N.B., Muhammad, A.H., Muhammad, A.A., & Rehman, A. (2008). Studies on chemical composition and nutritive evaluation of wild edible mushrooms. *Iran J Chem Chem Eng*, *27*(3), 151-154.

Sanchez-Moreno, C., Larrauri, J.A., & Saura-Calixto, F. (1998). A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *J Sci Food Agr, 76* (2), 70-76.

Schwab, N. (2013). *P. hartigii* https://www.flickr.com/photos/erminocybe36/9690408477/in/photolist-fLiSQe-Jq3GB2-besN9T-cJPVhE-2aRsjNz-8zf7ru-2iFrYrr-fQ3zJA-8zf7BS2m5BhvH-8zsL1B-Jg663b-8zf7G7-8zbYxZ-8zbYor-o1mpF8-8zbYex-93mdHb-93mdH5-2hfCeB4-2mXeA6o-2mXdZHZ-2iFwc1q-8zf7im-8zf7NC-UX729i-8zf7uW-Jg4WBA-TftV1Q-2iFwc6L-2mEeZ8D-2mEg3yv-fPL7bM-HtW29i-Jq1VWn-JmZev3-fQ3F8o-ziUD73-sm6fuq-Jii73v-Jg671y-sbDM1e-2mXgboe-2mXaJGZ-2mXfAME-2mXgbuB-2mXfAAC-2mXdZTP-HtXyFp-ohMqq3/, Erişim tarihi:31/05/2022.

Scheutz, F., & Strockbine, N. A. (2015). *Escherichia*. *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*, 1-49.

Schwarze, F. W. M. R. (1992). Intraspecific variation in *Fomes fomentarius* from Great Britain and the European continent. Yüksek Lisans Tezi, *University of Reading.* Reading.

Schwarze, F. (1994). Wood rotting fungi: *Fomes fomentarius* (L.: Fr.) Fr. Hoof or tinder fungus. *Mycologist, 8*(1), 32-34.

Sevindik, M., Rasul, A., Hussain, G., Anwar, H., Zahoor, M.K., Sarfraz, I., Kamran, K.S., Akgul, H., Akats, I., & Selamoglu, Z. (2018). Determination of anti-oxidative, anti-microbial activity and heavy metal contents of *Leucoagaricus leucothites. Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences, 31,* 2163-2168.

Sevindik, M. (2018). Investigation of antioxidant/oxidant status and antimicrobial activities of *Lentinus tigrinus*. Advances *in pharmacological sciences, 2018*,1718025.

Shade, C. N., Peters-Diaz, K., & Ruffell, S. E. (2020). Mullein and red clover extracts are effective antibacterial agents against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and four skin and soft tissue infection (SSTI)-associated bacteria. *Bios, 91*(1), 42-47.

Shameem, N., Kamili, A.N., Ahmad, M., Masoodi, F.A., & Parray, J.A. (2017). Antimicrobial activity of crude fractions and morel compounds from wild edible mushrooms of north western Himalaya. *Microbial Pathogenesis*, *105*, 356-360. doi: 10.1016/j.micpath.2017.03.005.

Sheena, N., Ajith, T.A., Mathew, A.T., & Janardhanan, K.K. (2003). Antibacterial activity of three macrofungi, *Ganoderma lucidum*, *Navesporus floccosa* and *Phellinus rimosus* occurring in South India. *Pharm Biol*, *41*(8), 564-567.

Skinner, D., & Keefer, C. S. (1941). Significance of bacteremia caused by *Staphylococcus aureus*: a study of one hundred and twenty-two cases and a review of the literature concerned with experimental infection in animals. *Archives of internal medicine*, *68*(5), 851-875.

Solak, M. H., Kalmis, E., Saglam, H., & Kalyoncu, F. (2006). Antimicrobial activity of two wild mushrooms *Clitocybe alexandri* (Gill.) Konr. and *Rhizopogon roseolus* (Corda) TM Fries collected from Turkey. *Phytotherapy Research 20*(12), 1085-1087.

SR, J., & Singaravadivel, K. (2014). Screening of Phytochemical and GC-MS Analysis of some Bioactive constituents of *Asparagus racemosus. Screening*, *6*(2), 428-432.

Stepanović, S., Vuković, D., Hola, V., Bonaventura, G.D., Djukic, S., Cirkovic, I., & Ruzicka, F. (2007). Quantification of biofilm in microtiter plates: Overview of testing conditions and practical recommendations for assessment of biofilm production by staphylococci. *APMIS*, *115* (8), 891-9. doi: 10.1111/1600-04632007.

Steward, P.R. (2014). *Fomes fomentarius* - Hoof Fungus or Tinder Bracket, Office Field-trip, Strensall Common NR, Aug 2014" by Peter R Steward is licensed under CC BY-NC 2.0. https://search.openverse.engineering/image/b869de2d-89fa-473b-82d9-f3459f34093e, Erişim tarihi:31/05/2022.

Sullivan, R., Smith, J.E. & Rowan, N.J. (2006). Medicinal Mushrooms and Cancer Therapy translating a traditional practice into Western Medicine. *Perspect. Biol. Med.*, *49*(2), 159-170.

Suvorov, P. A. (1967). Biological characteristics of *Fomes fomentarius*, found on spruce and birch. *Canadian Journal of Botany*, *45*(10), 1853-1857.

Sümerkan, B., & Gökahmetlioğlu, S. (1998). MİK, MBK testleri, rutindeki önemi ve uygulamaları. *Flora*, *3*(2), 91-95.

Şöhretoğlu, D. & Huang, S. (2018). *Ganoderma lucidum* polysaccharides as an anti-cancer agent. *Anticancer Agents Med Chem*, *18*(5), 667- 674.

Taofiq, O., Heleno, S.A., Calhelha, R.C., Alves, M.J., Barros, L., Barreiro, M.F., Gonzales- Paramas, A.M., & Ferreira, I. C. (2016). Development of mushroom-based cosmeceutical formulations with anti-inflammatory, anti-tyrosinase,

antioxidant, and antibacterial properties. *Molecules. 21*(10), E1372. doi: 10.3390/ molecules21101372.

Temel, A., & Eraç, B. (2018). Bakteriyel biyofilmler: saptama yöntemleri ve antibiyotik direncindeki rolü. *Türk Mikrobiyol Cem Derg*, *48*(1), 1-13.

Tilton, R.C., & Howard, B.J. (1987). Antimicrobial susceptibility testing. B.J. Howard, (Eds). *Clinical and Pathogenic Microbiology*. First edition, (pp. 121-156). St. Louis: The C.V. Mosby Company.

Töreci, K. (1992). Bakterilerde antibiyotik toleransı. S. Çalangu, H. Eraksoy, & H. Özsüt, (Eds.), *İnfeksiyon Hastalıkları 9*. Birinci baskı, (pp.39-58). İstanbul: Yüce Yayınları.

Üstün, O. (2011). Makrofungusların besin değeri ve biyolojik etkileri. *Turk Hij Den Biyol Derg*, *68*(4), 223-240.

Vyas, D., Chaubey, A., & Dehariya, P. (2014). Biodiversity of mushrooms in Patharia forest of Sagar (MP)-III. *Int J Biodivers Conserv*, *6*(8), 600-607.

Wachtel-Galor, S.,Yuen, J., Buswell, J.A., & Benzie, I.F.F. (2011). *Herbal Medicine: Biomolecular and Clinical Aspects*. Boca Raton: CRC Press/Taylor & Francis.

Wang, Y. N., Wang, H. X., Shen, Z. J., Zhao, L. L., Clarke, S. R., Sun, J. H., Du, Y.Y., & Shi, G. L. (2009). Methyl palmitate, an acaricidal compound occurring in green walnut husks. *Journal of Economic Entomology*, *102*(1), 196-202.

Wasser, P. S. (2011). Current findings, future trends, and unsolved problems in studies of medicinal mushrooms. *Appl Microbiol Biotechnol*, *89*(5), 1323-1332.

Xie, Y., Peng, Q., Ji, Y., Xie, A., Yang, L., Mu, S., Li, Z., He, T., Xiao, Y., Zhao, J., & Zhang, Q. (2021). Isolation and identification of antibacterial bioactive compounds from *Bacillus megaterium* L2. *Frontiers in microbiology*, 12, 645484.

Yang, Z., Du, R., Chang, A., Zhang, J., & Li, Q. (2013). The in vitro anti-biofilm activity of the etoac extract of poria cocos against *escherichia coli*. *Asian Journal of Pharmaceutical Research and Development*, *1*(4), 152-156.

Yıldız, S., Gürgen, A., Tabbouche, S., Kılıç, A., & Sökmen, M. (2017). Trabzon'dan Toplanan Bazı Mantarların Anti-Mikrobiyal Özellikleri Ve Mikroorganizmalar Arası Çoğunluğu Algılama (Quorum Sensing) Mekanizmasını Engelleme Kapasitelerinin Belirlenmesi. *İnsan-Doğa Etkileşiminde Orman Ve Ormancılık IV. Ulusal Ormancılık Kongresi*,85-96, Antalya.

Yowaphui, P., & Kanjanaruch, W. (2019). Antioxidant, antimicrobial and cytotoxicity activities of Phellinus spp. crude polysaccharide extract. Doktora Tezi, *Mahasarakham University*. Tayland.

Zameer, F., & Gopal, S. (2010). Evaluation of antibiotic susceptibility in mixed culture biofilms. *International Journal of Biotechnology and Biochemistry*, *6*(1), 93-99.

Zapora, E., Wolkowycki, M., Bakier, S., & Zjawiony, J. K. (2016). *Phellinus igniarius*: A pharmacologically active polypore mushroom. *Natural product communications, 11*(7), 1043-1046.

Zhang, B.-B., Guan, Y.-Y., Hu, P.-F., Chen, L., Xu, G.-R., Liu, L., & Cheung, P. C. K. (2019). Production of bioactive metabolites by submerged fermentation of the medicinal mushroom *Antrodia cinnamomea*: Recent advances and future development. *Critical Reviews in Biotechnology*, *39*(4), 541-554. doi:10.1080/07388551.2019.1577798

Zurnacı, M., Şenturan, M., Şener, N., Gür, M., Altınöz, E., Şener, İ., & Altuner, E. M. (2021). Studies on Antimicrobial, Antibiofilm, Efflux Pump Inhibiting, and ADMET Properties of Newly Synthesized 1, 3, 4-Thiadiazole Derivatives. *ChemistrySelect*, *6*(45), 12571-12581.

URL-1, Enhanced Recovery After Surgery in Orthopaedic Spine Surgery (2022). https://clinicaltrials.gov/, Erişim tarihi:08/06/2022.

EKLER

EKLER

EK A Optimum Biyofilm Parametrelerinin İstatistik Sonuçları

E. coli 3'e ait 24 saatlik sonuçların karşılaştırılması

Varyans Analizi Tablosu

H_0: Üç tekrarlı sonuç istatistiksel olarak benzerdir.

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
*E. coli*_3_24_Saat	2	0,0008514	0,00042572	0,979	0,3985
Residuals	15	0,0065228	0,00043486		

p-değeri ≥ 0,05 olduğundan dolayı, H_0 hipotezi kabul edilmiştir.

E. coli 3'e ait 48 saatlik sonuçların karşılaştırılması

Varyans Analizi Tablosu

H_0: Üç tekrarlı sonuç istatistiksel olarak benzerdir.

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
*E. coli*_3_48_Saat	2	0,007219	0,0036095	1,4817	0,2587
Residuals	15	0,036541	0,0024361		

p-değeri ≥ 0,05 olduğundan dolayı, H_0 hipotezi kabul edilmiştir.

***E. coli* 3'e ait 24 saat ile 48 saatlik sonuçların karşılaştırılması**

Varyans Analizi Tablosu

H_0: 24 saat ve 48 saat verileri istatistiksel olarak benzerdir.

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
*E. coli*_3_24_48_Saat	1	0,035208	0,035208	29,418	0,0002914***
Residuals	10	0,011968	0,001197		

Signif. codes:,0,'***',0,001,'**',0,01,'*',0,05,'.',0,1,',',1

p-değeri ≤ 0,05 olduğundan dolayı, H_0 hipotezi reddedilmiştir.

***E. coli* 7'ye ait 24 saatlik sonuçların karşılaştırılması**

Varyans Analizi Tablosu

H_0: Üç tekrarlı sonuç istatistiksel olarak benzerdir.

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
*E. coli*_7_24_Saat	2	0.0033444	0.00167222	4.377	0.03182*
Residuals	15	0.0057307	0.00038204		

Signif. codes:,0,'***',0.001,'**',0.01,'*',0.05,'.',0.1,',',1

p-değeri ≤ 0,05 olduğundan dolayı, H_0 hipotezi reddedilmiştir.

***E. coli* 7'ye ait 48 saatlik sonuçların karşılaştırılması**

Varyans Analizi Tablosu

H_0: Üç tekrarlı sonuç istatistiksel olarak benzerdir.

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
*E. coli*_7_48_Saat	2	0,0064408	0,0032204	2,6818	0,101
Residuals	15	0,0180122	0,0012008		

p-değeri ≥ 0,05 olduğundan dolayı, H_0 hipotezi kabul edilmiştir.

E. coli 7'ye ait 24 saat ile 48 saatlik sonuçların karşılaştırılması

Varyans Analizi Tablosu

H_0: 24 saat ve 48 saat verileri istatistiksel olarak benzerdir.

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
*E. coli*_7_24_48_Saat	1	0,0312120	0,031212	82,144	3,885e-06***
Residuals	10	0,0037997	0,000380		

Signif. codes:,0,'***',0,001,'**',0,01,'*',0,05,',',0,1,',',1

p-değeri ≤ 0,05 olduğundan dolayı, H_0 hipotezi reddedilmiştir.

E. coli 8'e ait 24 saatlik sonuçların karşılaştırılması

Varyans Analizi Tablosu

H_0: Üç tekrarlı sonuç istatistiksel olarak benzerdir.

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
*E. coli*_8_48_Saat	2	0,0043508	0,00217539	2,7368	0,09699,
Residuals	15	0,0119228	0,00079486		

Signif. codes:,0,'***',0,001,'**',0,01,'*',0,05,',',0,1,',',1

p-değeri ≤ 0,05 olduğundan dolayı, H0 hipotezi reddedilmiştir.

E. coli 8'e ait 48 saatlik sonuçların karşılaştırılması

Varyans Analizi Tablosu

H_0: Üç tekrarlı sonuç istatistiksel olarak benzerdir.

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
*E. coli*_8_48_Saat	2	0,0089621	0,0044811	2,2112	0,144
Residuals	15	0,0303975	0,0020265		

p-değeri ≥ 0,05 olduğundan dolayı, H_0 hipotezi kabul edilmiştir.

E. coli 8'e ait 24 saat ile 48 saatlik sonuçların karşılaştırılması

Varyans Analizi Tablosu

H_0: 24 saat ve 48 saat verileri istatistiksel olarak benzerdir.

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
*E. coli*_8_24_48_Saat	1	0,040136	0,040136	45,319	5,156e-05***
Residuals	10	0,008856	0,000886		

Signif. codes:,0,'***',0,001,'**',0,01,'*',0,05,'.',0,1,',',1

p-değeri ≤ 0,05 olduğundan dolayı, H_0 hipotezi reddedilmiştir.

E. coli 9'a ait 24 saatlik sonuçların karşılaştırılması

Varyans Analizi Tablosu

H_0: Üç tekrarlı sonuç istatistiksel olarak benzerdir.

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
*E. coli*_9_24_Saat	2	0,010426	0,0052132	2,577	0,1091
Residuals	15	0,030344	0,0020229		

p-değeri ≥ 0,05 olduğundan dolayı, H_0 hipotezi kabul edilmiştir.

E. coli 9'a ait 48 saatlik sonuçların karşılaştırılması

Varyans Analizi Tablosu

H_0: Üç tekrarlı sonuç istatistiksel olarak benzerdir.

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
*E. coli*_9_48_Saat	2	0,002958	0,0014791	0,5512	0,5875
Residuals	15	0,040249	0,0026833		

p-değeri ≥ 0,05 olduğundan dolayı, H_0 hipotezi kabul edilmiştir.

***E. coli* 9'a ait 24 saat ile 48 saatlik sonuçların karşılaştırılması**

Varyans Analizi Tablosu

H_0: 24 saat ve 48 saat verileri istatistiksel olarak benzerdir.

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
*E. coli*_9_24_48_Saat	1	0,018487	0,0184867	10,139	0,009751**
Residuals	10	0,018234	0,0018234		

Signif. codes:,0,'***',0,001,'**',0,01,'*',0,05,',',0,1,',',1

p-değeri ≤ 0,05 olduğundan dolayı, H_0 hipotezi reddedilmiştir.

***E. coli* 10'a ait 24 saatlik sonuçların karşılaştırılması**

Varyans Analizi Tablosu

H_0: Üç tekrarlı sonuç istatistiksel olarak benzerdir.

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
*E. coli*_10_24_Saat	2	0,001141	0,0005704	0,1597	0,8539
Residuals	15	0,053589	0,0035726		

p-değeri ≥ 0,05 olduğundan dolayı, H_0 hipotezi kabul edilmiştir.

***E. coli* 10'a ait 48 saatlik sonuçların karşılaştırılması**

Varyans Analizi Tablosu

H_0: Üç tekrarlı sonuç istatistiksel olarak benzerdir.

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
*E. coli*_10_48_Saat	2	0,007945	0,0039727	0,6576	0,5324
Residuals	15	0,090622	0,0060415		

p-değeri ≥ 0,05 olduğundan dolayı, H_0 hipotezi kabul edilmiştir.

***E. coli* 10'a ait 24 saat ile 48 saatlik sonuçların karşılaştırılması**

Varyans Analizi Tablosu

H_0: 24 saat ve 48 saat verileri istatistiksel olarak benzerdir.

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
*E. coli*_10_24_48_Saat	1	0,037969	0,037969	12,38	0,005551**
Residuals	10	0,030668	0,003067		

Signif. codes:,0,'***',0,001,'**',0,01,'*',0,05,'.',0,1,',',1

p-değeri ≤ 0,05 olduğundan dolayı, H_0 hipotezi reddedilmiştir.

***E. coli* 11'e ait 24 saatlik sonuçların karşılaştırılması**

Varyans Analizi Tablosu

H_0: Üç tekrarlı sonuç istatistiksel olarak benzerdir.

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
*E. coli*_11_24_Saat	2	0,006572	0,0032861	0,6048	0,559
Residuals	15	0,081500	0,0054333		

p-değeri ≥ 0,05 olduğundan dolayı, H_0 hipotezi kabul edilmiştir.

***E. coli* 11'e ait 48 saatlik sonuçların karşılaştırılması**

Varyans Analizi Tablosu

H_0: Üç tekrarlı sonuç istatistiksel olarak benzerdir.

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
*E. coli*_11_48_Saat	2	0,007675	0,0038377	0,2633	0,772
Residuals	15	0,218608	0,0145739		

p-değeri ≥ 0,05 olduğundan dolayı, H_0 hipotezi kabul edilmiştir.

***E. coli* 11'e ait 24 saat ile 48 saatlik sonuçların karşılaştırılması**

Varyans Analizi Tablosu

H_0: 24 saat ve 48 saat verileri istatistiksel olarak benzerdir,

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
*E. coli*_11_24_48_Saat	1	0,059784	0,059784	8,0624	0,01757*
Residuals	10	0,074152	0,007415		

Signif. codes:,0,'***',0,001,'**',0,01,'*',0,05,'.',0,1,',',1

p-değeri ≤ 0,05 olduğundan dolayı, H_0 hipotezi reddedilmiştir.

***E. coli* 12'ye ait 24 saatlik sonuçların karşılaştırılması**

Varyans Analizi Tablosu

H_0: Üç tekrarlı sonuç istatistiksel olarak benzerdir.

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
*E. coli*_12_24_Saat	2	0,037651	0,0188254	4,1917	0,0358*
Residuals	15	0,067367	0,0044911		

Signif. codes:,0,'***',0,001,'**',0,01,'*',0,05,'.',0,1,',',1

p-değeri ≤ 0,05 olduğundan dolayı, H_0 hipotezi reddedilmiştir.

***E. coli* 12'ye ait 48 saatlik sonuçların karşılaştırılması**

Varyans Analizi Tablosu

H_0: Üç tekrarlı sonuç istatistiksel olarak benzerdir.

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
*E. coli*_12_48_Saat	2	0,001216	0,000608	0,0319	0,9687
Residuals	15	0,286028	0,019068		

p-değeri ≥ 0,05 olduğundan dolayı, H_0 hipotezi kabul edilmiştir.

E. coli 12'ye ait 24 saat ile 48 saatlik sonuçların karşılaştırılması

Varyans Analizi Tablosu

H_0: 24 saat ve 48 saat verileri istatistiksel olarak benzerdir.

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
*E. coli*_12_24_48_Saat	1	0,220594	0,22059	28,76	0,0003178***
Residuals	10	0,076703	0,00767		

Signif. codes:,0,'***',0,001,'**',0,01,'*',0,05,'.',0,1,',',1

p-değeri ≤ 0,05 olduğundan dolayı, H_0 hipotezi reddedilmiştir.

S. aureus'a ait 24 saatlik sonuçların karşılaştırılması

Varyans Analizi Tablosu

H_0: Üç tekrarlı sonuç istatistiksel olarak benzerdir.

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
M7_24_Saat	2	0,011966	0,0059829	1,9542	0,1761
Residuals	15	0,045924	0,0030616		

p-değeri ≥ 0,05 olduğundan dolayı, H0 hipotezi kabul edilmiştir.

S. aureus'a ait 48 saatlik sonuçların karşılaştırılması

Varyans Analizi Tablosu

H_0: Üç tekrarlı sonuç istatistiksel olarak benzerdir.

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
M7_48_Saat	2	0,017475	0,0087377	0,4533	0,644
Residuals	15	0,289148	0,0192765		

p-değeri ≥ 0,05 olduğundan dolayı, H_0 hipotezi kabul edilmiştir.

***S. aureus*'a ait 24 saat ile 48 saatlik sonuçların karşılaştırılması**

Varyans Analizi Tablosu

H_0: 24 saat ve 48 saat verileri istatistiksel olarak benzerdir.

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
M7_24_48_Saat	1	0,121605	0,121605	19,124	0,001392**
Residuals	10	0,063587	0,006359		

Signif. codes:,0,'***',0,001,'**',0,01,'*',0,05,',',0,1,',',1

p-değeri ≤ 0,05 olduğundan dolayı, H_0 hipotezi reddedilmiştir.

***S. aureus* MRSA'ya ait 24 saatlik sonuçların karşılaştırılması**

Varyans Analizi Tablosu

H_0: Üç tekrarlı sonuç istatistiksel olarak benzerdir.

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
M8_24_Saat	2	0,025792	0,0128960	3,8861	0,04367*
Residuals	15	0,049778	0,0033185		

Signif. codes:,0,'***',0,001,'**',0,01,'*',0,05,'.',0,1,',',1

p-değeri ≤ 0,05 olduğundan dolayı, H_0 hipotezi reddedilmiştir.

***S. aureus* MRSA'ya ait 48 saatlik sonuçların karşılaştırılması**

Varyans Analizi Tablosu

H_0: Üç tekrarlı sonuç istatistiksel olarak benzerdir.

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
M8_48_Saat	2	0,013747	0,0068736	0,3646	0,7005
Residuals	15	0,282791	0,0188527		

p-değeri ≥ 0,05 olduğundan dolayı, H_0 hipotezi kabul edilmiştir.

S. aureus MRSA'ya ait 24 saat ile 48 saatlik sonuçların karşılaştırılması

Varyans Analizi Tablosu

H_0: 24 saat ve 48 saat verileri istatistiksel olarak benzerdir.

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
M8_24_48_Saat	1	0,040950	0,040950	5,1819	0,04607*
Residuals	10	0,079025	0,007902		

Signif. codes:,0,'***',0,001,'**',0,01,'*',0,05,'.',0,1,',',1

p-değeri ≤ 0,05 olduğundan dolayı, H_0 hipotezi reddedilmiştir.

C. albicans'a ait 24 saatlik sonuçların karşılaştırılması

Varyans Analizi Tablosu

H_0: Üç tekrarlı sonuç istatistiksel olarak benzerdir.

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
M9_24_Saat	2	0,0056903	0,0028452	2,6132	0,1062
Residuals	15	0,0163317	0,0010888		

p-değeri ≥ 0,05 olduğundan dolayı, H_0 hipotezi kabul edilmiştir.

C. albicans'a ait 48 saatlik sonuçların karşılaştırılması

Varyans Analizi Tablosu

H_0: Üç tekrarlı sonuç istatistiksel olarak benzerdir.

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
M9_48_Saat	2	0,004937	0,0024684	0,1367	0,8733
Residuals	15	0,270784	0,0180523		

p-değeri ≥ 0,05 olduğundan dolayı, H_0 hipotezi kabul edilmiştir.

C. albicans'a ait 24 saat ile 48 saatlik sonuçların karşılaştırılması

Varyans Analizi Tablosu

H_0: 24 saat ve 48 saat verileri istatistiksel olarak benzerdir.

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
M9_24_48_Saat	1	0,13739	0,137388	16,571	0,002248**
Residuals	10	0,08291	0,008291		

Signif. codes:,0,'***',0,001,'**',0,01,'*',0,05,'.',0,1,',',1

p-değeri ≤ 0,05 olduğundan dolayı, H_0 hipotezi reddedilmiştir.

EK B Ekstraktların Antibiyofilm Etkilerinin İstatistiksel Analiz Hesaplamaları

Fomes fometarius-EtOH Ekstraktının - *S. aureus* MRSA (M8) Üzerine Antibiyofilm Etkisine Ait Sonuçların Karşılaştırılması

Varyans Analizi Tablosu

H_0: Üç tekrarlı sonuç istatistiksel olarak benzerdir.

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
*F. fomentarius*_EtOH_M8	2	0,20337	0,101686	1,9685	0,1646
Residuals	21	1,08476	0,051655		

p-değeri ≥ 0,05 olduğundan dolayı, H_0 hipotezi kabul edilmiştir.

Phellinus hartigii-EtOH Ekstraktının - *E. coli* 7 Üzerine Antibiyofilm Etkisine Ait Sonuçların Karşılaştırılması

Varyans Analizi Tablosu

H_0: Üç tekrarlı sonuç istatistiksel olarak benzerdir.

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
*P. hartigii*_EtOH_*E. coli* 7	2	0,00342	0,0017102	0,0982	0,9069
Residuals	21	0,36579	0,0174186		

p-değeri ≥ 0,05 olduğundan dolayı, H_0 hipotezi kabul edilmiştir.

Phellinus hartigii-EtOH Ekstraktının - *E. coli* 9 Üzerine Antibiyofilm Etkisine Ait Sonuçların Karşılaştırılması

Varyans Analizi Tablosu

H_0: Üç tekrarlı sonuç istatistiksel olarak benzerdir.

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
*P. hartigii*_EtOH_*E. coli* 9	2	0,000099	0,0000493	0,0068	0,9932
Residuals	21	0,151616	0,0072198		

p-değeri ≥ 0,05 olduğundan dolayı, H_0 hipotezi kabul edilmiştir.

Phellinus hartigii-EtOH Ekstraktının - *E. coli* 11 Üzerine Antibiyofilm Etkisine Ait Sonuçların Karşılaştırılması

Varyans Analizi Tablosu

H_0: Üç tekrarlı sonuç istatistiksel olarak benzerdir.

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
*P. hartigii*_EtOH_*E. coli* 11	2	0,00599	0,0029949	0,3528	0,7068
Residuals	21	0,17827	0,0084893		

p-değeri ≥ 0,05 olduğundan dolayı, H_0 hipotezi kabul edilmiştir.

***Phellinus hartigii*-EtOH Ekstraktının - *E. coli* 12 Üzerine Antibiyofilm Etkisine Ait Sonuçların Karşılaştırılması**

Varyans Analizi Tablosu

H_0: Üç tekrarlı sonuç istatistiksel olarak benzerdir.

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
*P. hartigii*_EtOH_*E. coli* 12	2	0.0427	0.021350	0.4882	0.6205
Residuals	21	0.9184	0.043734		

p-değeri ≥ 0,05 olduğundan dolayı, H_0 hipotezi kabul edilmiştir.

***Phellinus hartigii*-EtOH Ekstraktının - *S. aureus* (M7) Üzerine Antibiyofilm Etkisine Ait Sonuçların Karşılaştırılması**

Varyans Analizi Tablosu

H_0: Üç tekrarlı sonuç istatistiksel olarak benzerdir.

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
*P. hartigii*_EtOH_M7	2	0.08318	0,041592	0,5734	0,5722
Residuals	21	1,52321	0,072534		

p-değeri ≥ 0,05 olduğundan dolayı, H_0 hipotezi kabul edilmiştir.

***Phellinus hartigii*-Kloroform, *S. aureus* MRSA Üzerine Antibiyofilm Etkisine Ait Sonuçların Karşılaştırılması**

Varyans Analizi Tablosu

H_0: Üç tekrarlı sonuç istatistiksel olarak benzerdir.

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
*P. hartigii*_Kloroform_M8	2	0,1665	0,08323	0,0615	0,9406
Residuals	21	28,4386	1,35422		

p-değeri ≥ 0,05 olduğundan dolayı, H_0 hipotezi kabul edilmiştir.

***Phellinus hartigii*-Kloroform, *C. albicans* (M9) Üzerine Antibiyofilm Etkisine Ait Sonuçların Karşılaştırılması**

Varyans Analizi Tablosu

H_0: Üç tekrarlı sonuç istatistiksel olarak benzerdir.

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
*P. hartigii*_Kloroform_M9	2	0,09707	0,048536	2,5702	0,1004
Residuals	21	0,39657	0,018884		

p-değeri ≥ 0,05 olduğundan dolayı, H_0 hipotezi kabul edilmiştir.

EK C Ekstraktların Antioksidan Etkilerinin İstatistiksel Analiz Hesaplamaları

C Vitamini DPPH Paralelleri Sonuçlarının Karşılaştırılması

Varyans Analizi Tablosu

H_0: Üç tekrarlı sonuç istatistiksel olarak benzerdir.

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
C_Vitamini_DPPH	2	0,015014	0,0075068	0,5998	0,558
_Residuals	21	0,262804	0,0125145		

p-değeri ≥ 0,05 olduğundan dolayı, H_0 hipotezi kabul edilmiştir.

F. fomentarius-EtOH Ekstraktının DPPH Paralelleri Sonuçlarının Karşılaştırılması

Varyans Analizi Tablosu

H_0: Üç tekrarlı sonuç istatistiksel olarak benzerdir.

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
*F_fomentarius*_EtOH	2	0,00332	0,0016583	0,093	0,9116
_DPPH	21	0,37446	0,0178314		
Residuals					

p-değeri ≥ 0,05 olduğundan dolayı, H_0 hipotezi kabul edilmiştir.

F. fomentarius-Kloroform Ekstraktının DPPH Paralelleri Sonuçlarının Karşılaştırılması

Varyans Analizi Tablosu

H_0: Üç tekrarlı sonuç istatistiksel olarak benzerdir.

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
*F_fomentarius_* Kloroform_DPPH _Residuals	2 21	0,009219 0,022117	0,0046095 0,0010532	4,3767	0,02577 *

Signif. codes: 0 '***' 0,001 '**' 0,01 '*' 0,05 '.' 0,1 ' '

p-değeri ≤ 0,05 olduğundan dolayı, H_0 hipotezi reddedilmiştir.

F. pinicola-EtOH Ekstraktının DPPH Paralelleri Sonuçlarının Karşılaştırılması

Varyans Analizi Tablosu

H_0: Üç tekrarlı sonuç istatistiksel olarak benzerdir.

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
*F_pinicola*_EtOH_ DPPH _Residuals	2 21	0,01393 1,11016	0,006967 0,052865	0,1318	0,8773

p-değeri ≥ 0,05 olduğundan dolayı, H_0 hipotezi kabul edilmiştir.

F. pinicola-Kloroform Ekstraktının DPPH Paralelleri Sonuçlarının Karşılaştırılması

Varyans Analizi Tablosu

H_0: Üç tekrarlı sonuç istatistiksel olarak benzerdir.

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
*F_pinicola*_Kloroform DPPH_Residuals	2 21	0,02985 0,37787	0,014925 0,017994	0,8294	0,4501

p-değeri ≥ 0,05 olduğundan dolayı, H_0 hipotezi kabul edilmiştir

P. hartigii-EtOH Ekstraktının DPPH Paralelleri Sonuçlarının Karşılaştırılması

Varyans Analizi Tablosu

H_0: Üç tekrarlı sonuç istatistiksel olarak benzerdir.

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
*P_hartigii*_EtOH_DP	2	0,05215	0,026075	0,3622	0,7004
PH	21	1,51198	0,071999		
_Residuals					

p-değeri ≥ 0,05 olduğundan dolayı, H_0 hipotezi kabul edilmiştir.

P. hartigii-Kloroform Ekstraktının DPPH Paralelleri Sonuçlarının Karşılaştırılması

Varyans Analizi Tablosu

H_0: Üç tekrarlı sonuç istatistiksel olarak benzerdir.

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
*P_hartigii*_kloroform	2	0,015096	0,0075480	7,5853	0,003316 **
_DPPH_Residuals	21	0,020897	0,0009951		

Signif. codes: 0 ‘***’ 0,001 ‘**’ 0,01 ‘*’ 0,05 ‘,’ 0,1 ‘ ’ 1

p-değeri ≤ 0,05 olduğundan dolayı, H_0 hipotezi reddedilmiştir.

P. hartigii- EtOH Ekstraktı ile C Vitamini DPPH Sonuçlarının Karşılaştırılması

Varyans Analizi Tablosu

H_0: C vitamini ve *P. hartigii*-EtOH sonuçları istatistiksel olarak benzerdir.

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
C_Vitamini_	1	1,32538	1,32538	32,989	5,081e-
*P_hartigii*_EtOH					05***
DPPH	14	0,56247	0,04018		
_Residuals					

Signif. codes: 0 ‘***’ 0,001 ‘**’ 0,01 ‘*’ 0,05 ‘.’ 0,1 ‘ ’ 1

p-değeri ≤ 0,05 olduğundan dolayı, H_0 hipotezi reddedilmiştir.

F. fomentarius-Kloroform Ekstraktı ile C Vitamini DPPH Sonuçlarının Karşılaştırılması

Varyans Analizi Tablosu

H_0: C vitamini ve *F. Fomentarius*-kloroform sonuçları istatistiksel olarak benzerdir.

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
C_Vitamini_*F*_	1	2,01924	2,01924	142,83	9,857e-09 ***
*fomentarius*_kloroform_	14	0,19792	0,01414		
DPPH					
Residuals					

Signif. codes: 0 '***' 0,001 '**' 0,01 '*' 0,05 ',' 0,1 ' ' 1

p-değeri ≤ 0,05 olduğundan dolayı, H_0 hipotezi reddedilmiştir.

EK D Halamid Pozitif Kontrolünün Antibiyofilm Etkilerinin İstatistiksel Analiz Hesaplamaları

Halamidin (Pozitif Kontrol) - *E. coli* 7 Üzerine Antibiyofilm Etkisine Ait Sonuçların Karşılaştırılması

Varyans Analizi Tablosu

H_0: Üç tekrarlı sonuç istatistiksel olarak benzerdir.

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Halamid_*E.coli*7	2	0,010108	0,0050538	1,501	0,2495
Residuals	18	0,060604	0,0033669		

p-değeri ≥ 0,05 olduğundan dolayı, H_0 hipotezi kabul edilmiştir.

Halamidin (Pozitif Kontrol) - *E. coli* 9 Üzerine Antibiyofilm Etkisine Ait Sonuçların Karşılaştırılması

Varyans Analizi Tablosu

H_0: Üç tekrarlı sonuç istatistiksel olarak benzerdir.

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Halamid_*E.coli*9	2	0,000728	0,0003640	0,1097	0,8967
Residuals	18	0,059716	0,0033176		

p-değeri ≥ 0,05 olduğundan dolayı, H_0 hipotezi kabul edilmiştir.

Halamidin (Pozitif Kontrol) - *E. coli* 11 Üzerine Antibiyofilm Etkisine Ait Sonuçların Karşılaştırılması

Varyans Analizi Tablosu

H_0: Üç tekrarlı sonuç istatistiksel olarak benzerdir.

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Halamid_*E.coli*11	2	0,017855	0,0089275	13,841	4,315e-05 ***
Residuals	33	0,021285	0,0006450		

Signif. codes: 0 '***' 0,001 '**' 0,01 '*' 0,05 '.' 0,1 ' ' 1

p-değeri ≤ 0,05 olduğundan dolayı, H_0 hipotezi reddedilmiştir.

Halamidin (Pozitif Kontrol) - *E. coli* 12 Üzerine Antibiyofilm Etkisine Ait Sonuçların Karşılaştırılması

Varyans Analizi Tablosu

H_0: Üç tekrarlı sonuç istatistiksel olarak benzerdir.

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Halamid_*E.coli*12	2	0,010121	0,0050606	4,0131	0,02754 *
Residuals	33	0,041614	0,0012610		

Signif. codes: 0 '***' 0,001 '**' 0,01 '*' 0,05 ',' 0,1 ' ' 1

p-değeri ≤ 0,05 olduğundan dolayı, H_0 hipotezi reddedilmiştir.

Halamidin (Pozitif Kontrol) - *S. aureus* Üzerine Antibiyofilm Etkisine Ait Sonuçların Karşılaştırılması

Varyans Analizi Tablosu

H_0: Üç tekrarlı sonuç istatistiksel olarak benzerdir.

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Halamid_*S.aureus*	2	0,001211	0,00060536	0,5514	0,5814
Residuals	33	0,036230	0,00109787		

p-değeri ≥ 0,05 olduğundan dolayı, H_0 hipotezi kabul edilmiştir.

Halamidin (Pozitif Kontrol) - *S. aureus* MRSA Üzerine Antibiyofilm Etkisine Ait Sonuçların Karşılaştırılması

Varyans Analizi Tablosu

H_0: Üç tekrarlı sonuç istatistiksel olarak benzerdir.

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Halamid_*S.aureus* MRSA	2	0,03031	0,0151549	3,0575	0,06051
Residuals	33	0,16357	0,0049566		

p-değeri ≥ 0,05 olduğundan dolayı, H_0 hipotezi kabul edilmiştir.

Halamidin (Pozitif Kontrol) – *C, albicans* Üzerine Antibiyofilm Etkisine Ait Sonuçların Karşılaştırılması

Varyans Analizi Tablosu

H_0: Üç tekrarlı sonuç istatistiksel olarak benzerdir.

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Halamid_*C.albicans*	2	0,0031247	0,00156233	1,9018	0,1653
Residuals	33	0,0271093	0,00082149		

p-değeri ≥ 0,05 olduğundan dolayı, H_0 hipotezi kabul edilmiştir.