

T.C.
ORDU ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Ornithogalum sigmoideum ve *Trachystemon orientalis'* in
Acanthamoeba castellanii KİSTLERİ ve TROFOZOİTLERİ
ÜZERİNE İN VİTRO AMOEBİSİDAL AKTİVİTELERİNİN
ARAŞTIRILMASI

BÜLENT KAYNAK

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ORDU 2017

TEZ ONAY

Ordu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü öğrencisi Bülent KAYNAK tarafından hazırlanan ve Doç. Dr. Zeynep KOLÖREN danışmanlığında yürütülen “*Ornithogalum sigmoideum* ve *Trachystemon orientalis*’in *Acanthamoeba castellanii* Kistleri ve Trofozoitleri Üzerine İn Vitro Amoebisidal Aktivitelerinin Araştırılması” adlı bu tez, jürimiz tarafından 27/ 11 / 2017 tarihinde oy birliği / oy çokluğu ile Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Doç. Dr. Zeynep KOLÖREN

Başkan : Doç. Dr. Cihangir AKDEMİR
Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Tıp
Fakültesi, Giresun Üniversitesi



Üye : Doç. Dr. Zeynep KOLÖREN
Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim
Dalı, Ordu Üniversitesi



Üye : Yrd. Doç. Dr. Ülkü KARAMAN
Parazitoloji Anabilim Dalı, Tıp Fakültesi,
Ordu Üniversitesi



ONAY:

27/ 11 / 2017 tarihinde enstitüye teslim edilen bu tezin kabulü, Enstitü Yönetim Kurulu’nun 23/ 12 / 2017 tarih ve 2017/576 sayılı kararı ile onaylanmıştır.



Yrd. Doç. Dr. Mehmet Sami GÜLER

TEZ BİLDİRİMİ

Tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu tezin yazılmasında bilimsel ahlak kurallarına uyulduğunu, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, tezin içerdiği yenilik ve sonuçların başka bir yerden alınmadığını, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, tezin herhangi bir kısmının bu üniversite veya başka bir üniversitedeki başka bir tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.

İmza

Bülent KAYNAK



Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZET

***Ornithogalum sigmoideum* ve *Trachystemon orientalis*' in *Acanthamoeba castellanii* KİSTLERİ ve TROFOZOİTLERİ ÜZERİNE İN VİTRO AMOEBİSİDAL AKTİVİTELERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Bülent KAYNAK

Ordu Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, 2017

Yüksek Lisans Tezi, 69s.

Danışman: Doç. Dr. Zeynep KOLÖREN

Serbest yaşayan amiplerden *Acanthamoeba* türleri, *Acanthamoeba keratiti*, Granülomatöz amibik ensefalit, Kutanöz acanthamoebiasis gibi önemli hastalıkların etkenidir. Serbest yaşayan amip kaynaklı enfeksiyon olgularının tamamen tedavi edilmesi oldukça zordur. Trofozoitler, olumsuz şartlarda kistleştiklerinden yeterli ve etkili olmayan tedavilerde enfeksiyon genellikle tekrarlayabilmektedir. Günümüze kadar aşılğelen tedavi yöntemlerine karşı kistlerin trofozoitlerden daha fazla direnç göstermesi, *Acanthamoeba* enfeksiyonlarında etkili ilaç kombinasyonlarının uygulandığı tedavilerde ciddi yan etkilerin görülmesi, mevcut ilaçların istenilen aktivite ve selektiviteye sahip olmaması gibi nedenler tıp dünyasını yeni ve daha etkili ilaç arayışına yönlendirmiştir. Bu çalışmada, *O. sigmoideum* ve *T. orientalis* bitkilerinden elde edilen ringer ve metanol özütlerinin *Acanthamoeba castellanii* kist ve trofozoitleri üzerindeki yüzde (%) canlılık etkisi ve IC50 değeri araştırılmıştır. *A. castellanii* trofozoit formu üzerindeki IC50 değeri 72., 48., 24., 8., 6., 3. ve 1. saatlerde sırasıyla, *O. sigmoideum*'un metanol özütünde, 2.9, 6.6, 8.3, 10.1, 12.1, 15.6 ve 23.2 mg/ml, *O. sigmoideum*'un ringer özütünde, 7.3, 8.4, 8.9, 11.9, 13.3, 16.7 ve 24.2 mg/ml, *T. orientalis*'in metanol özütünde, 4, 7.2, 8.7, 11.1, 14.1, 21.4 ve 23.8 mg/ml, *T. orientalis* ringer özütünde, 8.5, 11.1, 14.4, 15.9, 20.9, 23.9 ve 25.8 mg/ml olarak saptanmıştır. *O. sigmoideum*'un 40 mg/ml metanol özütü 48. ve 72. saatlerde tüm trofozoitleri öldürmüştür. *O. sigmoideum*'un ringer özütünde ise 72. saatte % canlılık oranı 2.0 ± 0.0 olarak tespit edilmiştir. *T. orientalis*'in 80 mg/ml'deki metanol özütü 72. saatte tüm trofozoitleri öldürmüştür. *T. orientalis*'in ringer özütünde ise 72. saatte % canlılık oranı 1.6 ± 0.3 olarak bulunmuştur. Çalışmanın sonucunda, *O. sigmoideum* ve *T. orientalis* bitki özütlerinin *A. castellanii* trofozoit ve kistleri üzerinde sitotoksik aktiviteye sahip olduğu ve bu aktivitenin konsantrasyonlara bağlı olarak değiştiği vurgulanmıştır. Ayrıca, *O. sigmoideum* özütünün, trofozoitler ve kistler için *T. orientalis*'e göre daha güçlü amoebisidal etki gösterdiği belirlenmiştir. *O. sigmoideum* ve *T. orientalis* bitkilerinden elde edilen özütlerin *Acanthamoeba* enfeksiyonlarında fitoterapi amacıyla kullanılabilir alternatif ürünler olabileceği ortaya konulmuştur. Ayrıca, kullanılan özütlerin sitotoksik aktiviteye neden olan etken maddelerinin tespiti ve biyolojik etkinliğinin doğrulanması için bu çalışmanın temel oluşturacağı düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: *Acanthamoeba castellanii*, Amoebisidal etki, *Ornithogalum sigmoideum*, *Trachystemon orientalis*.

ABSTRACT

INVESTIGATION of IN VITRO AMOEBICIDAL ACTIVITIES of *Ornithogalum sigmoideum* and *Trachystemon orientalis* on *Acanthamoeba castellanii* CYSTS and TROPHOZOITES

Bülent KAYNAK

University of Ordu

Institute for Graduate Studies in Science and Technology

Department of Molecular Biology and Genetics, 2017

MSc. Thesis, 69p.

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Zeynep KOLÖREN

Acanthamoeba species, which are free living amoebas, cause important diseases such as *Acanthamoeba keratiti*, Granulomatous amoebic encephalitis, Cutaneous acanthamoebiasis. Completely treatment of free-living amoebic infections is very difficult. Because trophozoites convert to cysts in adverse conditions, infections can often recur in adequate and ineffective treatments. The medical world have led to the search for new and more effective medicines for reasons such as cysts show more resistance than trophozoites against treatment methods coming up to nowand serious adverse reactions in the treatment of effective drug combinations for *Acanthamoeba* infections and lack of desired activity and selectivity of existing drugs for *Acanthamoeba*. In this study, the percent (%) viability and IC50 values of *Acanthamoeba castellanii* cysts and trophozoites exposed to ringer and methanol extracts obtained from *O. sigmoideum* and *T. orientalis* plants were investigated. The IC50 value of *A. castellanii* trofozoit form at 72., 48., 24., 8., 6., 3. and 1. hours were determined in methanol extract of *O. sigmoideum* with 2.9, 6.6, 8.3, 10.1, 12.1, 15.6 and 23.2 mg/ml, in the ringer extract of *O. sigmoideum* with 7.3, 8.4, 8.9, 11.9, 13.3, 16.7 and 24.2 mg/ml, in the methanol extract of *T. orientalis* with 4, 7.2, 8.7, 11.1, 14.1, 21.4 23.8 mg/ml and in the ringer extract of *T. orientalis* extract with 8.5, 11.1, 14.4, 15.9, 20.9, 23.9 and 25.8 mg/ml, respectively. *O. sigmoideum* 40 mg/ml methanol extract showed lethal effect for the all trophozoites at 48. and 72. hours. The viability (%) of the ringer extract of *O. sigmoideum* at 72. hours was 2.0 ± 0.0 . *T. orientalis* 80 mg/ml methanol extract showed lethal effect for the all trophozoites at 72. hours. The viability (%) of the ringer extract of *T. orientalis* at 72. hours was found to be 1.6 ± 0.3 . As a result of the study, it was emphasized that *O. sigmoideum* and *T. orientalis* plant extracts had cytotoxic activity on *A. castellanii* trophozoites and cysts, and this activity changed depending on the concentrations. In addition, it has been determined that *O. sigmoideum* extract has a stronger amoebicidal activity for trophozoites and cysts than *T. orientalis*. The extracts from *O. sigmoideum* and *T. orientalis* plants have been shown to be alternative products for phytotherapy in *Acanthamoeba* infections. It is thought that this work will be the basis for the identification of the cytotoxic activity of the causative agents of the used plant extracts and the validation of their biological activity.

Keywords: *Acanthamoeba castellanii*, Amoebicidal effect, *Ornithogalum sigmoideum*, *Trachystemon orientalis*.

TEŞEKKÜR

BY-1705 Kodlu Yüksek Lisans Tez Projem'i destekleyen Ordu Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne (BAP) teşekkür ederim.

Tüm çalıőmalarım boyunca her zaman bilgi ve deneyimleriyle yolumu aan değerli hocam Doç. Dr. Zeynep KOLÖREN'e en içten teőekkürlerimi sunarım.

Benden her türlü desteğini, sabrını ve sevgisini hiçbir zaman esirgemeyen sevgili eőim Meliha KAYNAK'a ve ocuklarım Berk ile Zeynep'e sonsuz teőekkürlerimi sunarım.

Ayrıca laboratuvar çalıőmalarımda her zaman yanımda olan değerli arkadaşlarım İlknur KOYUN, Kasım DEMİR ve Hami YEŐİLTAŐ'a teőekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
TEZ BİLDİRİMİ	I
ÖZET	II
ABSTRACT	III
TEŞEKKÜR	IV
İÇİNDEKİLER	V
ŞEKİLLER LİSTESİ	VII
ÇİZELGELER LİSTESİ	IX
SİMGELER ve KISALTMALAR	X
1. GİRİŞ	1
1.1. Bitkilerin Tedavi Amaçlı Kullanımlarına Genel Bakış.....	1
1.2. Çalışmada Kullanılan Bitkiler.....	8
1.2.1. <i>Ornithogalum sigmoideum</i>	8
1.2.2. <i>Trachystemon orientalis</i>	10
1.3. Çalışmada Kullanılan Mikroorganizmalar.....	13
1.3.1. <i>Acanthamoeba castellanii</i>	13
1.3.1.1. <i>Acanthamoeba</i> Türlerinin Dağılımı ve Hayat Döngüsü.....	14
1.3.1.2. <i>Acanthamoeba</i> Türlerinin Neden Olduğu Önemli Hastalıklar.....	17
1.3.2. <i>Escherichia coli</i>	19
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	21
3. MATERYAL ve YÖNTEM	26
3.1. Bitki Materyalleri.....	26
3.2. Çalışmada Kullanılan Besiyerleri ve Solüsyonların Hazırlanması.....	27
3.2.1. İzotonik (% 0.85) Solüsyonunun Hazırlanması.....	27
3.2.2. Ringer Solüsyonunun Hazırlanması.....	27
3.2.3. Ringer Agar Besiyerinin Hazırlanması.....	27
3.2.4. EMB (Eosin Methylene Blue) Agar Besiyerinin Hazırlanması.....	28
3.3. <i>E.coli</i> Kültürünün Hazırlanması.....	28

3.4.	<i>A. castellanii</i> Kültürünün Hazırlanması, Sayımı ve Canlılık Kontrolü.....	29
3.4.1.	<i>A. castellanii</i> Trofozoit.....	29
3.4.2.	<i>A. castellanii</i> Kist.....	29
3.5.	Bitki Özütlelerinin Hazırlanması.....	30
3.6.	Deneysel Tasarım.....	31
3.6.1.	Özütlerden Metanol/Ringer ile Konsantrasyon Serilerinin Hazırlanması.....	31
3.6.2.	Bitki Özütlelerinin Amöbisidal Aktivitelerinin Test Edilmesi.....	32
3.7.	İstatistiksel Veriler.....	33
4.	BULGULAR ve TARTIŞMA.....	35
4.1.	<i>O. sigmoideum</i> Özütünün Metanol ile Hazırlanan Konsantrasyon Serilerinin <i>A. castellanii</i> Trofozoitleri Üzerine Amöbisidal Etkisi.....	35
4.2.	<i>O. sigmoideum</i> Özütünün Metanol ile Hazırlanan Konsantrasyon Serilerinin <i>A. castellanii</i> Kistleri Üzerine Amöbisidal Etkisi.....	38
4.3.	<i>O. sigmoideum</i> Özütünün Ringer Solüsyon ile Hazırlanan Konsantrasyon Serilerinin <i>A. castellanii</i> Trofozoitleri Üzerine Amöbisidal Etkisi.....	39
4.4.	<i>O. sigmoideum</i> Özütünün Ringer Solüsyon ile Hazırlanan Konsantrasyon Serilerinin <i>A. castellanii</i> Kistleri Üzerine Amöbisidal Etkisi.....	42
4.5.	<i>T. orientalis</i> Özütünün Metanol ile Hazırlanan Konsantrasyon Serilerinin <i>A. castellanii</i> Trofozoitleri Üzerine Amöbisidal Etkisi.....	43
4.6.	<i>T. orientalis</i> Özütünün Metanol ile Hazırlanan Konsantrasyon Serilerinin <i>A. castellanii</i> Kistleri Üzerine Amöbisidal Etkisi.....	46
4.7.	<i>T. orientalis</i> Özütünün Ringer Solüsyon ile Hazırlanan Konsantrasyon Serilerinin <i>A. castellanii</i> Trofozoitleri Üzerine Amöbisidal Etkisi.....	47
4.8.	<i>T. orientalis</i> Özütünün Ringer Solüsyon ile Hazırlanan Konsantrasyon Serilerinin <i>A. castellanii</i> Kistleri Üzerine Amöbisidal Etkisi.....	50
5.	SONUÇ ve ÖNERİLER.....	57
6.	KAYNAKLAR.....	59
	ÖZGEÇMİŞ.....	69

ŞEKİLLER LİSTESİ

<u>Şekil No</u>		<u>Sayfa</u>
Şekil 1.1.	<i>O. sigmoideum</i> 'un genel görünüşü.....	8
Şekil 1.2.	<i>O. sigmoideum</i> 'un Türkiye'deki yayılış alanı.....	9
Şekil 1.3.	<i>T. orientalis</i> 'in genel görünüşü.....	10
Şekil 1.4.	<i>T. orientalis</i> 'in Türkiye'deki yayılış alanı.....	12
Şekil 1.5.	<i>Acanthamoeba</i> türlerinin habitatları.....	14
Şekil 1.6.	<i>Acanthamoeba</i> türlerinin yaşam döngüsü.....	16
Şekil 3.1.	Kaldirik bitkisinin (<i>T. orientalis</i>) görüntüsü.....	26
Şekil 3.2.	Sakarca bitkisinin (<i>O. sigmoideum</i>) görüntüsü.....	26
Şekil 3.3.	Ringer tablet ve ringer agar besiyeri.....	27
Şekil 3.4.	EMB besiyeri stok ve EMB besiyerinde üremiş <i>E.coli</i>	28
Şekil 3.5.	<i>O. sigmoideum</i> 'un ve <i>T. orientalis</i> 'in öğütülmesi.....	30
Şekil 3.6.	Çalkalayıcı mikroklima cihazı.....	30
Şekil 3.7.	Kaba filtrasyon ve vakumlu filtrasyon uygulamaları.....	31
Şekil 3.8.	Bitki özütü ile metanol (%1) ve ringer konsantrasyon serilerinin hazırlanması.....	32
Şekil 3.9.	Işık mikroskopunda (40X) ölen <i>A. castellanii</i> trofozoitin (a), kistin (b) görüntüsü.....	33
Şekil 4.1.	Metanol ile farklı konsantrasyonlarda hazırlanan <i>O. sigmoideum</i> özütünün farklı saatlerde <i>A. castellanii</i> trofozoitleri üzerine amoebisidal etkisinin grafiği.....	37
Şekil 4.2.	Metanol ile farklı konsantrasyonlarda hazırlanan <i>O. sigmoideum</i> özütünün farklı saatlerde <i>A. castellanii</i> kistleri üzerine amoebisidal etkisinin grafiği.....	39
Şekil 4.3.	Ringer ile farklı konsantrasyonlarda hazırlanan <i>O. sigmoideum</i> özütünün farklı saatlerde <i>A. castellanii</i> trofozoitüzerine amoebisidal etkisinin grafiği.....	40
Şekil 4.4.	Ringer ile farklı konsantrasyonlarda hazırlanan <i>O. sigmoideum</i> özütünün farklı saatlerde <i>A. castellanii</i> kistleri üzerine amoebisidal etkisinin grafiği.....	43
Şekil 4.5.	Metanol ile farklı konsantrasyonlarda hazırlanan <i>T. orientalis</i> özütünün farklı saatlerde <i>A. castellanii</i> trofozoit üzerine amoebisidal etkisinin grafiği.....	44

Şekil 4.6.	Metanol ile farklı konsantrasyonlarda hazırlanan <i>T. orientalis</i> özütünün farklı saatlerde <i>A. castellanii</i> kistleri üzerine amoebisidal etkisinin grafiği.....	47
Şekil 4.7.	Ringer ile farklı konsantrasyonlarda hazırlanan <i>T. orientalis</i> özütünün farklı saatlerde <i>A. castellanii</i> trofozoitleri üzerine amoebisidal etkisinin grafiği.....	48
Şekil 4.8.	Ringer ile farklı konsantrasyonlarda hazırlanan <i>T. orientalis</i> özütünün farklı saatlerde <i>A. castellanii</i> kistleri üzerine amoebisidal etkisinin grafiği.....	51

ÇİZELGELER LİSTESİ

<u>Çizelge No</u>		<u>Sayfa</u>
Çizelge 1.1.	<i>O. sigmoideum</i> 'un genel özellikleri.....	8
Çizelge 1.2.	<i>O. sigmoideum</i> 'un sistematığı.....	9
Çizelge 1.3.	<i>T. orientalis</i> 'in genel özellikleri.....	11
Çizelge 1.4.	<i>T. orientalis</i> 'in sistematığı.....	11
Çizelge 1.5.	<i>A. castellanii</i> 'nin sistematığı.....	13
Çizelge 1.6.	<i>Acanthamoeba</i> genotipleri ve neden olduğu hastalıklar.....	17
Çizelge 1.7.	<i>E. coli</i> 'nin sistematığı.....	20
Çizelge 4.1.	Farklı konsantrasyonlardaki <i>O. sigmoideum</i> metanol özütünün <i>A.castellanii</i> trofozoit ve kist formu üzerindeki yüzde (%) canlılık etkisi.....	36
Çizelge 4.2.	Farklı konsantrasyonlardaki <i>O. sigmoideum</i> metanol özütünün <i>A.castellanii</i> trofozoit formu üzerindeki IC50 değeri.....	38
Çizelge 4.3.	Farklı konsantrasyonlardaki <i>O. sigmoideum</i> ringer özütünün <i>A.castellanii</i> trofozoit ve kist formu üzerindeki yüzde (%) canlılık etkisi.	41
Çizelge 4.4.	Farklı konsantrasyonlardaki <i>O. sigmoideum</i> ringer özütünün <i>A.castellanii</i> trofozoit formu üzerindeki IC50 değeri.....	42
Çizelge 4.5.	Farklı konsantrasyonlardaki <i>T. orientalis</i> metanol özütünün <i>A.castellanii</i> trofozoit ve kist formu üzerindeki yüzde (%) canlılık etkisi.....	45
Çizelge 4.6.	Farklı konsantrasyonlardaki <i>T. orientalis</i> metanol özütünün <i>A.castellanii</i> trofozoit formu üzerindeki IC50 değeri.....	46
Çizelge 4.7.	Farklı konsantrasyonlardaki <i>T. orientalis</i> ringer özütünün <i>A.castellanii</i> trofozoit ve kist formu üzerindeki yüzde (%) canlılık etkisi.....	49
Çizelge 4.8.	Farklı konsantrasyonlardaki <i>T. orientalis</i> ringer özütünün <i>A.castellanii</i> trofozoit formu üzerindeki IC50 değeri.....	50

SİMGELER ve KISALTMALAR

°C	:	Santigrat Derece
g	:	Gram
m	:	Metre
AK	:	<i>Acanthamoeba Keratiti</i>
mg	:	Miligram
ml	:	Mililitre
mm	:	Milimetre
µl	:	Mikrolitre
µm	:	Mikrometre
Atm	:	Atmosfer
GAE	:	Granüloamatöz Amibik Ensefalit
GLA	:	γ-linolenik asit
HIV	:	Human Immunodeficiency Virus
MSS	:	Merkezi Sinir Sistemi
rpm	:	Dakikada Devir Sayısı
WHO	:	Dünya Sağlık Örgütü
AIDS	:	Acquired Immune Deficiency Syndrome
NaCl	:	Sodyum Klorür

1. GİRİŞ

1.1. Bitkilerin Tedavi Amaçlı Kullanımlarına Genel Bakış

Bitkiler, insanoğlunun temel besin ihtiyaçlarını karşılayabilen primer makromoleküllerin (protein, karbonhidrat, yağ, vb.) ana kaynağı durumunda (Cox, 1990; Aydın, 2008) olup, biyolojik etkilere sahip primer ve sekonder metabolitleri içerirler (Njume ve ark., 2009; Berber ve ark., 2013).

İnsanoğlu ve bitkiler arasındaki bağ yüzyıllara dayanmaktadır. İnsanlar, doğayı her zaman tabii bir eczane olarak görmüş ve bitkileri gıda, baharat, ilaç ve şifa amaçlı kullanmışlardır (Mindell, 2003; Özçelik ve Balabanlı, 2005; Gül ve Seçkin Dinler, 2016).

İlk çağlardan kaldığı belirlenen arkeolojik bulgulara göre insanlar, besin elde etmek ya da sağlık sorunlarını gidermek için öncelikli olarak bitkilerden yararlanmışlardır (Koçyiğit, 2005; Faydaoğlu ve Sürücüoğlu, 2011). Kuzey Irak'taki Şanidar Mağarası'nda 1957-1961 yılları arasında yapılan kazılarda Neandertal insan kalıntılarıyla beraber mezarda bulunanlar, insan-bitki ilişkisinin başlangıcına ait ilk veri olarak kabul edilmektedir. 60 bin yıl öncesinden günümüze kadar gelen ve bir şamana ait olduğu tahmin edilen bu mezarda, kanarya otu, civanperçemi, gül hatmi, mor sümbül, peygamber çiçeği ve efedra gibi bitki türlerinin bulunduğu tespit edilmiştir. Ölülerini gömmeye başlamış olan bir toplumda, ölmüş kişinin yeniden hayata döndüğünde kullanacağı düşüncesiyle mezara konulduğu tahmin edilen bu bitkilerin, yenilebilenler ve şifalı olanlar diye ayrılmaya başlandığının da bir göstergesi olabileceği düşünülmektedir. Çünkü bu bitki türleri günümüzde de özellikle tıbbi bitki olarak hala önemini korumaktadır (Lewin, 2000; Heinrich ve ark., 2004; Faydaoğlu ve Sürücüoğlu, 2011).

Öte yandan hastalıkların tedavisinde tıbbi bitkilerin kullanımı, insanoğlunun yerleşik hayata geçmesiyle eş zamanlı gerçekleşmiştir. Bitkisel ilaçlar, gelişmekte olan ülkelerde kırsal toplulukların kültür ve geleneklerinin önemli bir parçasını oluşturmaktadır (Njume ve ark., 2009; Berber ve ark., 2013).

Bitkilere ait öğrenilen bilgiler yazının icadından sonra M.Ö. 2000 başlarından itibaren kaydedilmiş ve nesilden nesile zenginleştirilerek aktarılmıştır. Sümerler tarafından M.Ö. 3000-700 yıllarında Mezopotamya'da kullanılan bitkilere ait ilk yazılı bilgiler, Asur Kralı Assurbanipal'in (M.Ö. 668-627) kitaplığında çivi yazısıyla yazılmış olan 800 kil tablette bulunmuştur. Yüz yirmi mineral maddeye karşılık 250 bitkisel madde adının geçtiği kil tabletlerdeki bilgiler aynı zamanda en eski eczacılık kayıtları olarak kabul edilmektedir (Brian, 2002; Aslantürk, 2010). Nesilden nesile aktarılan bu bilgilerle çoğu insan sağlıklı yaşamayı başarırken, hastalananlar da bu bilgilerden yararlanarak yeniden sağlıklarına kavuşmuşlardır (Çırak ve Kevseroğlu, 2004; Aslantürk, 2010).

Tedavi amacıyla kullanılan bitki sayısı, antik çağdan bu yana, sürekli artış göstermektedir. Mezopotamya Uygarlığı döneminde kullanılan bitkisel madde miktarı 250 civarındayken Grekler döneminde 600 kadar tıbbi bitki tanınmaktaydı. Arap-Fars uygarlığı döneminde ise bu miktar 4.000 civarına kadar artmaktadır. Ondokuzuncu yüzyılın başlarında ise bilinen tıbbi bitki miktarı 13.000'e ulaşmıştır (Tan, 1992; Arslan, 2006).

Geçmişte, bitkilerle hastalıkları tedavi etmede oldukça başarılı olan insanoğlu, bu özelliğini bir gelenek halinde günümüze kadar devam ettirmiştir. Çoğu tesadüfen ya da merak sonucu, bazen de deneme-yanılma yoluyla etkileri anlaşılan bitkilerden elde edilen doğal ilaçlar, kulaktan kulağa yayılarak herkes tarafından tanınmıştır. Bu bitkilerin zamanla daha farklı dertlere de deva oldukları anlaşılmıştır. Şifalı bitkilerin özellikleri ve kullanımları hakkındaki ilk bilimsel eser, 'De Materia Medica' (Şifalı Bitkiler), Kilikya'lı bir hekim olan Pedanios Dioscorides (M.S. 30-90) tarafından M.S. 1. yüzyılda derlenmiş ve 17. yüzyıla kadar 500'den fazla kataloğu yetkin bir başvuru kaynağı olarak kalmıştır (Jain ve ark., 2007; Kopar ve Rencüzoğulları, 2012).

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) verilerine göre, gelişmekte olan ülkelerdeki nüfusun % 80'i temel sağlık ihtiyaçları için genellikle bitkisel kökenli geleneksel ilaçlara güvenmektedirler. Modern farmakolojik tekniklerle üretilen ilaçların etken maddelerinin en az % 25'i bitkilerden elde edilmektedir. Bununla beraber, sentetik olarak üretilen çoğu ilacın etken maddeleri de ilk defa bitkilerden izole edilen

kimyasalların yapısal benzerleridir. Bitkilerin ilaç olarak kullanılması; maliyetinin düşük olması, toksik etkilerin az oluşu, yan etkilerinin hafif olması ve doğal olarak üretilmiş olmasından dolayı hem gelişmiş ülkelerde hem de gelişmekte olan ülkelerde artış göstermektedir (Sekar ve Kandavel, 2010; Berber ve ark., 2013).

Tıbbi bitkiler, günümüzde birçok hastalıkların tedavisinde kullanılabilen bileşimlerin doğal kaynağıdır (Vital ve ark., 2010; Berber ve ark., 2013). Bitkiler tarafından sentezlenen alkaloidler, flavonoidler, taninler, terpenoidler, kininler, berberinler ve emetinler gibi kimyasallar, enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Hussain ve ark., 2011; Berber ve ark., 2013). Doğal olarak yetişen bitkilerin kök, gövde, yaprak ve tohumlarında birçok mikroorganizmanın çoğalmasını baskılayan maddeler izole edilmiştir (Ertürk ve Demirbağ, 2003; Berber ve ark., 2013). Bitkilerin birçoğunun antioksidan, antihipertansif, antimikrobiyal ve antitümöral aktivitelerine sahip oldukları belirtilmektedir (Patrakar ve ark., 2010; Berber ve ark., 2013). Dünya Sağlık Örgütü, tıbbi amaçlı kullanılan 20.000 civarında bitki türü olduğunu bildirmektedir (Maregesi ve ark., 2008; Berber ve ark., 2013).

Geleneksel halk hekimliğinde kullanılan bitkiler zamanla bilimin süzgecinden geçirilerek yeniden değerlendirilmiş ve bitkisel tedavi anlamına gelen fitoterapi denilen yeni bir bilim dalı doğmuştur. Fitoterapi terimi ilk kez, Fransız hekim Henri Leclerc (1870-1955) tarafından 'La Presse Medical' adlı dergide 1939 yılında kullanılmıştır. İnsanlık tarihinin bilinen en eski doğal tedavi yöntemlerinden olan fitoterapi, bitkilerin tümünün veya bazı bölümlerinin kullanılmasıyla hazırlanarak elde edilen doğal ilaçlarla hastalıkları bilimsel temele dayalı, akılcı yaklaşımlarla önlemeyi ve tedavi etmeyi amaçlamaktadır. Günümüzde de bu bilim dalı giderek gelişmekte ve daha fazla önem kazanmaktadır (Çelik ve Çelik, 2007; Aslantürk, 2010).

Türkiye, üç önemli Fitocoğrafik bölgeyi (Avrupa-Sibirya, İran-Turan ve Akdeniz) bünyesinde barındırması, çeşitli iklim ve toprak özellikleri, farklı coğrafi bölgeleri, güçlü tarımsal potansiyeli ve zengin bitki çeşitliliği bakımından dünyanın en önemli gen merkezlerinden biridir (Kendir ve Güvenç, 2010; Gül ve Seçkin Dinler, 2016).

Türkiye'nin, sahip olduğu 12 bin civarındaki bitki taksonununun 3800 kadarı endemik türlerden oluşurken, Avrupa'da ise 11 bin bitki taksonununun 2600 kadarı endemik

bitki türlerinden oluşmaktadır (Malyer, 1996; Karagöz ve ark., 2010; Gül ve Seçkin Dinler, 2016).

Ülkemizde tıbbi amaçlı kullanılmakta olan bitki sayısı kesin olarak bilinmemekle birlikte bu sayının 500-1.000 civarında olduğu tahmin edilmektedir. Ayrıca, 200 kadar tıbbi ve aromatik bitkinin ihraç potansiyelinin de olduğu belirtilmektedir (Tarakçı, 2006; Berber ve ark., 2013).

Bütün Dünya ülkelerinde olduğu gibi, Türkiye'de de tıbbi açıdan önemli olan bitkiler, yüzyıllardan bu yana halk arasında çay, baharat olarak ve hastalıkların tedavisi amacıyla kullanılmıştır. Ayrıca çeşitli boya, süs eşyası, koku ve tat endüstrileri, parfüm, gıda katkıları, temizlik ürünleri ve kozmetik sanayisinde yaygın olarak kullanılmakta ve gün geçtikçe yeni faydaları keşfedilmektedir (İlçim ve ark., 1998; Başer, 2000; Dülger ve ark., 2002; Draughon, 2004; Toroğlu ve Çenet, 2006; Çopuroğlu, 2013).

Türkiye; coğrafi konumu, bitki çeşitliliği ve geniş yüzölçümü sayesinde tıbbi ve aromatik bitkilerin ticaretinde önde gelen ülkelerden biridir. Türkiye'nin bu önemi; gelişmiş ülkelerdeki bitkisel ilaç, bitki kimyasalları, gıda ve katkı maddeleri, kozmetik ve parfümeri sanayilerinin girdisini oluşturan çoğu bitkisel ürünü sunabilen bitkileri kendi florasında bulundurmasından kaynaklanmaktadır. Tıbbi ve aromatik bitkiler ağırlıklı olarak; Marmara, Ege, Doğu Karadeniz, Akdeniz ve Güneydoğu Anadolu Bölgelerinden toplanmaktadır. Tıbbi ve aromatik bitkilerde sürdürülebilir üretim ve pazar potansiyelini yeterince değerlendirebilmek için bu ürünlerin istenen miktar ve kalitede olması gerekmektedir. Tüketici ve sanayici taleplerine yanıt veren kaliteli ve standart ürün için ıslah edilmiş çeşitlerin geliştirilmesi, uygun ekolojik şartların belirlenmesi, doğal bitkilerin doğaya zarar vermeden zamanında toplanması, hasat sonrası işlemler ve işleme teknolojisinin belirlenmesi tıbbi ve aromatik bitkilerin üretim ve pazar imkanlarını artırabileceği bildirilmiştir (Bayram ve ark., 2010; Faydaoğlu ve Sürücüoğlu, 2011).

Tıbbi ve aromatik bitkilerden elde edilen, modern ilaç formları kullanılarak yapılan preparatlar diğer ülkelerde geleneksel ilaç ya da bitkiseller gibi çeşitli isimlerle adlandırılmaktadır. Fakat son zamanlarda Avrupa Birliği ülkelerinde Avrupa İlaç Değerlendirme Ajansı (EMA) tarafından ortak terim olarak Tıbbi Bitkisel Ürünler

“Herbal Medicinal Products” teriminin kullanılması uygun bulunmuştur (Kartal, 2004; Aslan Öz, 2017).

Son yıllarda tıbbi ve aromatik bitkiler üzerindeki çalışmalar ve bu bitkilere karşı olan ilgi oldukça artmıştır, bunun nedenleri;

- Kalkınma aşamasındaki ülkelerin maddi imkânlarının yetersizliği ve kimya endüstrisinin gelişmemiş olması sebebiyle bu bitkilerle kolay ve ucuz tedavi yöntemi aramaları.
- Sentetik bileşiklerin bazılarında görülen tehlikeli ve ciddi yan etkiler.
- Bazı ilkel ilaç maddelerinin, bitkisel droglardan, sentetik olanlara göre daha ucuz ve kolay elde edilmesi.
- Bitkisel drogların geniş etki alanlarına sahip olmalarıdır (Abay, 2006; Aslan Öz, 2017).

Ayrıca; bakterilerin bu sentetik ilaçlara kolayca direnç geliştirmeleri gibi sebeplerle doğal bitkisel kaynakların ve bu maddeleri taşıyan tıbbi bitkilerin önemini daha çok arttırmıştır (Nakipoğlu ve Otan, 1992; Nigg ve Seigler, 1992; Dağcı ve ark., 2002; Çopuroğlu, 2013).

Günümüzde, bulaşıcı hastalık etkeni ve hastane enfeksiyonlarına sebep olan çoğu mikroorganizma türü tedavi amacıyla kullanılan birçok antibiyotiğe direnç kazanmıştır (Davis, 1994; Janovská ve ark., 2003; Hussain ve ark., 2011; Berber ve ark., 2013). Ayrıca, bazı antifungal, antiparaziter ve antiviral ilaçların yüksek toksik etkisinden dolayı kullanımları sınırlandırılmıştır. Bu doğrultuda bağışıklık sistemini baskılayan kemoterapiye bağımlı bireyler ve özellikle AIDS hastalarında görülen fırsatçı enfeksiyonlar açısından durum daha dramatiktir (Maregesi ve ark., 2008; Berber ve ark., 2013).

Tedavi amacıyla kullanılan antimikrobiyal ilaçlara karşı mikroorganizmaların geliştirdiği direncin artması ve yeni nesil ilaçların üretilmesinin yüksek maliyeti, ilaç sektörünü alternatif antimikrobiyal maddeler keşfetmeye ve daha çok araştırma yapmaya zorunlu kılmaktadır (Singh ve ark., 2011; Berber ve ark., 2013).

Türkiye’de bitkisel zenginlik açısından sahip olduğu eşsiz konum göz önüne alındığında, Türkiye’nin, aydınlatılmayı bekleyen pek çok bitkisel türü bulunmaktadır.

Tüm dünyada en yaygın halk sağlığı problemi olmasına karşın çeşitli sebeplerle ihmal edilmiş paraziter hastalıkların, insan sağlığına verdiği zararın yanında özellikle endemik bölgelerde devlete verdiği ekonomik kayıplar ileri boyutlara varmaktadır. Paraziter hastalıkların kontrolünde en temel faktör hastaların etkin ve başarılı bir şekilde tedavisidir. Günümüzde kullanılan antiparaziter ilaçlar sınırlı sayıda bulunmaktadır ve bu ilaçlara karşı da direnç gelişimi bildirilmektedir. Ayrıca etkili antiparazitik aşular da geliştirilememiştir. Paraziter infeksiyonların tedavisi için ilaç geliştirme çalışmaları da azdır. Daha çok gelişmekte olan ülkelerde ve gelişmiş ülkelerin sosyoekonomik düzeyi düşük kesimlerinde yaygın olan bu hastalıklara karşı ilaç geliştirilmesinin ticari değeri sınırlıdır. İlaçların birçoğunun etki mekanizmasının tamamen aydınlatılamamış olması da çalışmaların maliyetini yükseltmektedir. Parazitlerin insan hücreleri gibi ökaryot yapıda olmaları, seçici toksisite gösteren ilaçların geliştirilmesini zorlaştırmaktır (Liu ve Weller, 1996; Leder ve Weller, 2003; Ergüven, 2012).

Serbest yaşayan amipler içerisinde *Acanthamoeba* türleri diğer türlere kıyasla çevresel ortamlarda daha fazla bulunmaktadır. Toprak, su ve havayla sıkı temas halinde olan bireylerde yerleşip hastalık oluşturabilme ihtimali oldukça yüksektir. Bununla beraber immün sistemi baskılanmış kişilerde, AIDS hastalarında, kanserli bireylerde, organ transplantasyonu yapılan kişilerde, immün sistemi baskılayan ilaçların kullananlarda, yetersiz beslenme ve devamlı stres altında kalan bireylerde, serbest yaşayan amiplerin vücuda girerek patojen etki oluşturabilme riski artmaktadır (Marciano-Cabral ve Cabral, 2003; Yünlü ve ark., 2015).

Son yıllarda yaygın lens kullanımının artmasına paralel olarak artan AK’ne karşı yeni ilaç arayışları hız kazanmaktadır. Bu bağlamda da ihtiva ettikleri pek çok madde grupları sebebiyle ilaç hammaddesi potansiyeli yüksek olan bitkisel kaynaklardan faydalanılmaktadır.

Acanthamoeba infeksiyonlarına karşı kullanılan çoğu ilacın toksik etkileri görülebilmekte ya da mikroorganizmalarda bu ilaçlara karşı direnç gelişebilmektedir.

Bu sebeple yeni, etkili ve daha güvenilir ilaçların geliştirilmesi için farklı doğal kaynaklara ihtiyaç duyulmaktadır. Doğal bitkilerin bu amaçla taranması yeni aktif bileşenlerin bulunması için en etkili yoldur.

Kapsamlı literatür araştırması neticesinde ve ulaşılan kaynak bilgilerine göre, *O. sigmoideum* ve *T. orientalis* bitkilerinin amoebisidal aktivitesi daha önce çalışılmamıştır. Bu doğrultuda, *O. sigmoideum* ve *T. orientalis*'in *A. castellanii* kistleri ve trofozoitleri üzerinde in vitro amoebisidal aktivitesinin araştırılması amaçlanmıştır.

Bu çalışmadan elde edilecek yaygın etkiler; çalışma sonucunda elde edilecek verilerin, ülkemizde bitkisel kaynak kullanımına önemli ölçüde katkı sağlaması beklenmektedir. Öte yandan, yıllarca amoebisidal ve antimikrobiyal etkinlikleri klinik olarak ispatlanmış çeşitli ilaçların uzun süre kullanılmasına bağlı olarak görülen problemleri (ciddi yan etkiler, toksisite, mikroorganizmaların gösterdiği direnç, amoebostatik etki, vb.) ortadan kaldırabilecek alternatif çözüm yolları sunulabilecektir. Ayrıca paraziter enfeksiyonların tedavisinde istenilen aktivite ve selektiviteye ulaşılması sağlanacaktır. Bu çalışma ile özellikle bitkisel kaynak kullanımına ek olarak, amibik enfeksiyonların tedavisinde kullanılacak alternatif bitki özüt konsantrasyonlarının azami dozları da belirlenebilecektir. Bu çalışmadan elde edilecek olan bulguların, farmasötik endüstri alanı için önemli olabileceği düşünülmektedir.

1.2. Çalışmada Kullanılan Bitkiler

1.2.1. *Ornithogalum sigmoideum*

Sakarca, *O. sigmoideum* L. (Liliaceae) ve buna benzer türlerin taze yumrusudur. 20-30 cm yükseklikte, otsu, beyaz çiçekli ve çok yıllık bir bitkidir (Şekil 1.1). Çiçekler gövdenin ucunda olup 8-20 adedi bir arada bulunmaktadır (Baytop, 1984; Heves, 2008).



Şekil 1.1. *O. sigmoideum*'un genel görünüşü (Heves, 2008; Anonim, 2016a)

O. sigmoideum'un genel özellikleri hakkında bilgiler Çizelge 1.1'de gösterilmiştir.

Çizelge 1.1. *O. sigmoideum*'un genel özellikleri (Anonim 2016b)

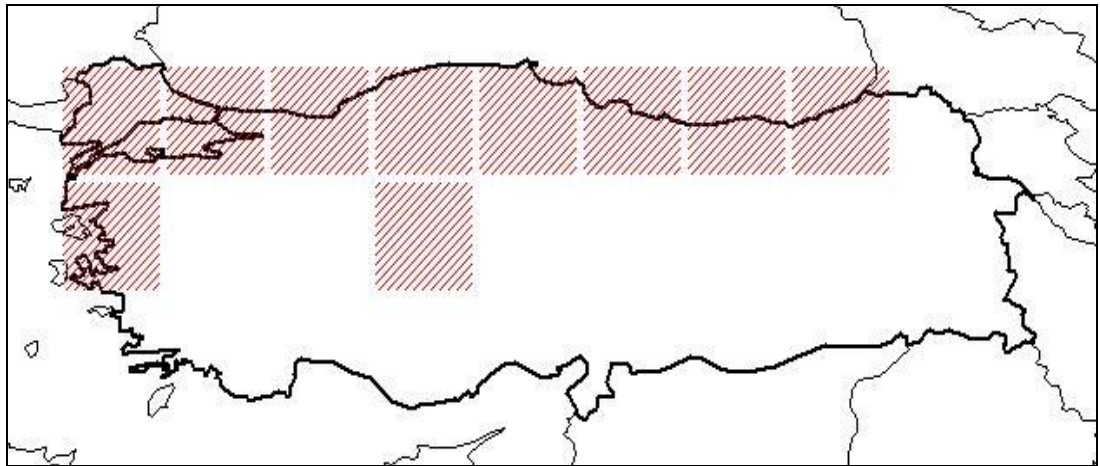
Ömür:	Çok yıllık
Yapı:	Otsu
İlk çiçeklenme zamanı:	Mart
Son çiçeklenme zamanı:	Haziran
Habitat:	Ormanlar, çayırıklar, açık taşlı yamaçlar
Yükseklik(metre):	0-2600
Endemik:	Endemik değil
Element:	Avrupa-Sibirya
Türkiye dağılımı:	K. Anadolu
Genel dağılımı:	Balkanlar, Romanya, K. İran, Kafkasya

Sakarca bitkisi Karadeniz Bölgesinde özellikle mısır ve fındık bahçelerinde doğal olarak yetişmekte ve yöre halkı tarafından sebze olarak tüketilmektedir (Heves, 2008).

Çizelge 1.2. *O. sigmoideum*'un sistematığı (Anonim, 2016b)

Domain: Eukarya
Kingdom: Plantae (Bitkiler)
Divisio: Magnoliophyta (Kapalı tohumlular)
Class: Liliopsida
Subclass: Liliidae
Ordo: Liliales
Familya: Liliaceae (Zambakgiller)
Genus: <i>Ornithogalum</i>
Species: <i>Ornithogalum sigmoideum</i> (Frey Et Sint)

O. sigmoideum'un sistematığı hakkındaki bilgiler Çizelge 1.2'de, Türkiye'deki yayılış alanı ise Şekil 1.2'de gösterilmektedir.



Şekil 1.2. *O. sigmoideum*'un Türkiye'deki yayılış alanı (Anonim, 2016b)

Akyıldız soğanı, tükürük otu, köpek soğanı, karga soğanı, çöplüce ve kurt soğanı gibi isimleri de bulunan sakarca, Anadolu'da yaygın olarak bulunan bir türdür. Anadolu'nun bazı yörelerinde (Konya) sakarca soğanının yumruları kurutulup toz hale getirildikten sonra dondurma yapımında kullanılmaktadır. Bitki yumrularının içerdiği müsilaj, dondurmaya kıvam vermektedir. Sakarca yumruları ilk çağdan bu yana kusturucu ve çıban açıcı olarak tanınmaktadır. Taze ya da pişmiş yumru çıban üzerine sarılınca çıbanın olgunlaşım açılmasını sağlar. Kalbin kasılmasını da kuvvetlendirmektedir. Yüksek dozda tüketildiğinde toksik etki gösterebilmektedir.

Ayrıca sakarca yumruları çok miktarda iğne biçiminde kristaller ve az miktarda, küçük taneler halinde (çapları 18-28 mikron) nişasta taşımaktadır (Heves, 2008).

1.2.2. *Trachystemon orientalis*

Trachystemon D. Don cinsi Türkiye’de tek tür ile temsil edilmektedir. Rizomu yumru şeklinde, siyah ve 6-10 cm’dir. Gövde 20-60 cm ve diktir. Asıl boyuna ulaşması 2-3 yıl almaktadır. Alt yapraklar dağınık, yapışkan, sert tüylü ve saplı, yürek şeklinde, ayası sivri uçludur. Üst yapraklar sapsız ve gövdeyi kavramış, eliptik ya da mızrak biçiminde olup yapışkandır. Çiçekler kırmızımsı-mavi renkli tüp şeklindedir (Şekil 1.3) (Anşin ve Okatan, 1994; Akçin ve ark., 2004; Birinci, 2008; Döğer, 2010; Gladıs ve Pıstrick, 2011; Alıcı, 2012; Yılar ve ark., 2014).



Şekil 1.3. *T. orientalis*'in genel görünüşü (Anonim, 2016c)

T. orientalis, pH değeri 6’dan (hafif asidik) 8’e (hafif bazik) değişen topraklarda yetişmekte olup kireçli, killi ve kumlu topraklara da adapte olabilmektedir (Alıcı, 2012).

Bitki çok yıllık ve orman altı bitkisi olup Türkiye’de 50-1000 m yükseklikte, gölgeli nehir kıyılarında, kayın ormanlarında, nemli bölgelerde yetişmektedir. Düşük ışık şiddetine sahip bölgeleri sevdiği için yeterince tohum oluşturamazlar. Bu yüzden rizomlarla çoğalmaktadırlar. Arıların sevdiği bir bitkidir. Süs bitkisi olmak için uygundur ancak bu amaçla yetiştirilmez (Anşin ve Okatan, 1994; Akçin ve ark., 2004; Birinci, 2008; Döğer, 2010; Gladis ve Pıstrick, 2011; Alıcı, 2012; Yılar ve ark., 2014).

Çizelge 1.3. *T. orientalis*’in genel özellikleri (Anonim 2016b)

Ömür:	Çok yıllık
Yapı:	Otsu
İlk çiçeklenme zamanı:	Mart
Son çiçeklenme zamanı:	Mayıs
Habitat:	Fagus ormanı, gölgeli nehir kıyıları, nemli koyaklar
Yükseklik(Metre):	50-1000
Endemik:	Endemik değil
Element:	Karadeniz
Türkiye dağılımı:	K.Türkiye
Genel dağılımı:	D.Bulgaristan, B.Kafkasya

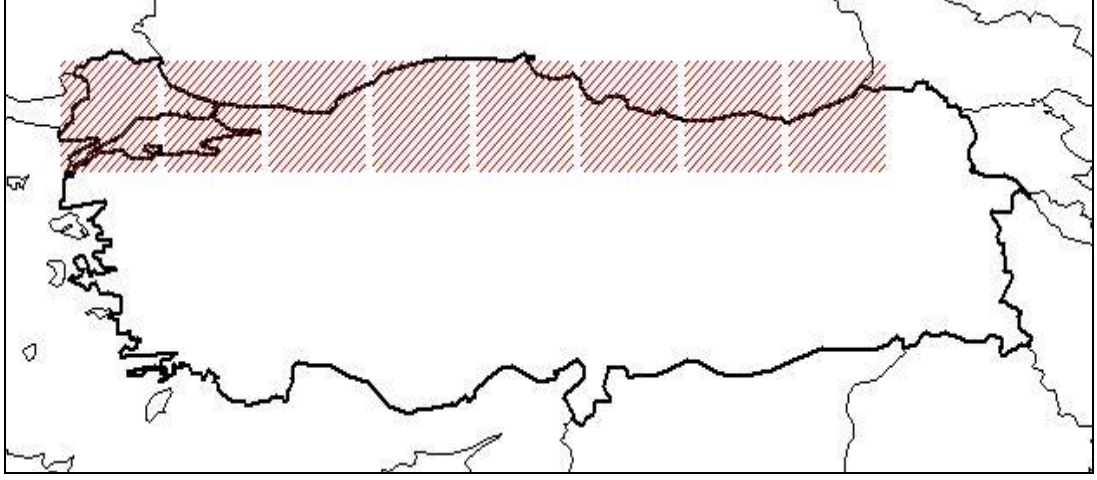
T. orientalis’in genel özellikleri hakkında bilgiler Çizelge 1.3’te, sistematigi hakkındaki bilgiler ise Çizelge 1.4’te gösterilmiştir.

Çizelge 1.4. *T. orientalis*’in sistematigi (Anonim, 2016d)

Domain: Eukarya
Kingdom: Plantae (Bitkiler)
Divisio: Magnoliophyta (Kapalı tohumlular)
Class: Magnoliopsida (İki çenekliler)
Ordo: Boraginales
Familya: Boraginaceae (Hodangiller)
Genus: *Trachystemon*
Species: *Trachystemon orientalis* (L.) G. Don

Dünyada Doğu Bulgaristan ve Batı Kafkasya’da dağılım göstermektedir. Türkiye’ de ise Kuzey Anadolu Bölgesinde, kayın ormanları altında ve Karadeniz Bölgesinin gölgeli habitatlarında dağılım göstermektedir (Anşin ve Okatan, 1994; Akçin ve ark., 2004; Birinci, 2008; Döğer, 2010; Gladis ve Pıstrick, 2011; Alıcı, 2012; Yılar ve ark., 2014).

T. orientalis bitkisinin Türkiye'deki yayılış alanı, Şekil 1.4'te verilmiştir.



Şekil 1.4. *T. orientalis*'in Türkiye'deki yayılış alanı (Anonim, 2016b)

Yöresel isimlerinden bazıları; kaldırık, hodan, galdirek, ve kalduruk (Bolu); burğu (Artvin); tamara (Trabzon); ve zılbıt (Karadeniz Ereğlisi, Zonguldak), balıkotu, acı hodan, doğu hodanı'dır (Baytop, 1994; Karagöz ve ark., 2002; Döğer, 2010).

Bulgaristan'da Lopoch, İngilizce'de Abraham-Isaac-Jacob, Almanca'da Rauling denmektedir. Bahar mevsiminin ilk aylarında hasat edilir (Gladis ve Pistrick, 2011; Alıcı, 2012).

Mart-mayıs ayları arasında çiçeklenen *T. orientalis*'in çiçekleri, yaprakları, sapları ve rizomları besin maddesi olarak kullanılmaktadır (Hilger ve ark., 2004; Tanker ve ark., 2004; Döğer, 2010).

Bitkinin çiçek, tomurcuklu gövdeleri ve yaprakları Karadeniz Bölgesinin çeşitli illerinde yoğun bir şekilde sebze olarak kullanılmaktadır. Ayrıca kök ve petiolleri turşu olarak tüketilmektedir (Baytop, 1994; Yıldırım, 1994; Yılar ve ark., 2014).

Bitki, bünyesinde uçucu yağ, tanen, nitrat tuzları, saponin, müsilaj ve rezin taşımaktadır. İdrar arttırıcı, yumuşatıcı ve ateş düşürücü etkilerine sahiptir. Depresyona (antidepresif etkiye sahiptir) iyi gelmektedir (Gül ve Seçkin Dinler, 2016). Halk arasında kan temizleyici olarak bilinir. Dahilen (% 5) infüzyon halinde kullanılmaktadır (Baytop, 1994; Döğer, 2010; Yılar ve ark., 2014).

T. orientalis tohumları yüksek oranda γ -linolenik asit (GLA) içermektedir. Doğada bazı bitki, mantar ve mikroorganizmalarda bulunan GLA sağlık açısından önemli bir

maddedir. GLA'nın kullanım alanları, bebek mamaları, diabetik nöropati, atropik egzema, yüksek tansiyon, romatoid artrit ve genel enfeksiyonlardır (Türkay ve ark., 2005; Döğer, 2010).

1.3. Çalışmada Kullanılan Mikroorganizmalar

Doğada serbest yaşayan amipler, insanlarda ve hayvanlarda ölümcül seyreden parazitozlara sebep olmaları nedeniyle 1960'lı yıllardan beri tıp ve veterinerlik alanlarında çalışanların uğraş alanı olmuştur (Saygı ve Polat, 2003).

1.3.1. *Acanthamoeba castellanii*

Acanthamoeba cinsi amipleri, ilk defa 1930 yılında Castellanii, *Cryptococcus pararoseus* kültürlerinde bulmuş ve tanımlamıştır. Sınıflandırılmasını ise 1931 yılında Volkonsk yapmış, ancak gerçek sınıflandırma son yıllarda yapılan araştırmalarla ortaya konulmuştur (John, 1998; Aydın, 2008). *A.castellanii*'nin sistematığı Çizelge 1.5'te verilmiştir.

Çizelge 1.5. *A.castellanii*'nin sistematığı (Marciano-Cabral ve Cabral, 2003; Aydın, 2008)

Kingdom: Protista

Phylum: Rhizopoda

Class: Lobosea

Subclass: Gymnamoebia

Ordo: Centramoebia

Familya: Acanthamoebidae

Genus: *Acanthamoeba*

Species: *Acanthamoeba castellanii*

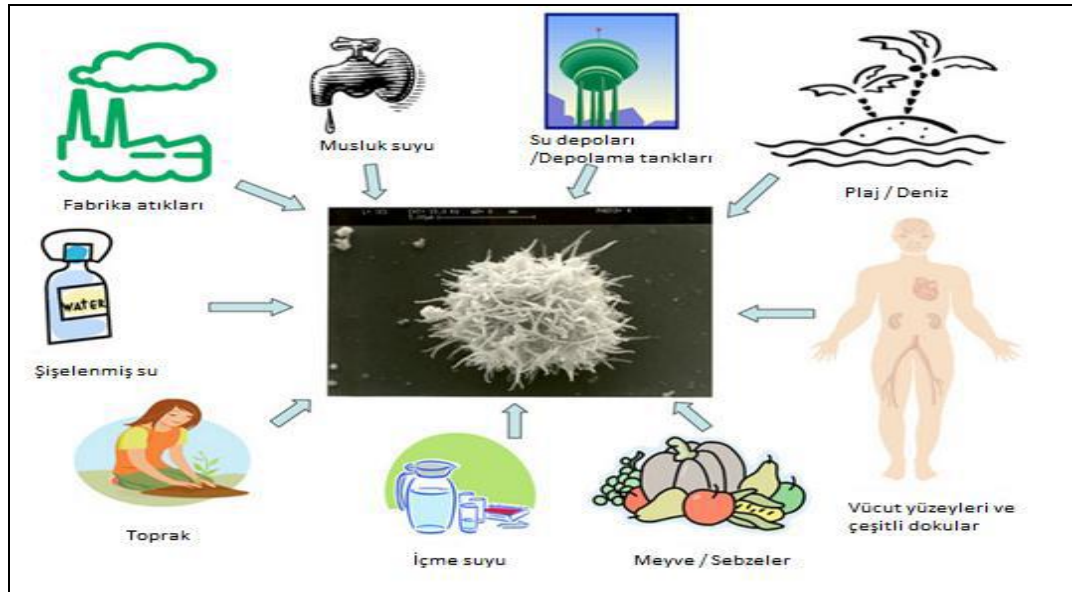
Acanthamoeba cinsinin ayrımı, bu cinse has olan, trofozoitler üzerindeki, acanthapoda denen, diken biçimindeki yüzey çıkıntıları sayesinde kolayca yapılmaktadır (John, 1998; Saygı ve ark., 2000; Aydın, 2008).

Morfolojik olarak tür düzeyinde ayırım yapmak oldukça zordur. *Acanthamoeba* türleri, morfolojik olarak kist büyüklüğü ve biçimine göre 3 gruba ayrılırlar:

1. Grup; diğer gruptaki türlere oranla oldukça büyük kistlere sahiptirler. Ektokistle, endokist arasında belirgin bir biçimde açıklık görülür ve yıldız biçimindeki endokist, uçlardan ektokistle bağlantılıdır. 2. Grup; ektokistleri buruşuk görünümdeyken endokist poligonal, yıldız, üçgen veya oval biçiminde görülür. 3. Grup; kistleri küçüktür, kist duvarı ince ve düz yapıdadır, ektokist düz çeperi ile endokisti çevreler. Ektokistle, endokist arasındaki mesafe azdır (Illingworth ve Cook, 1998; John, 1998; Marciano-Cabral ve Cabral, 2003; Aydın, 2008).

1.3.1.1. *Acanthamoeba* Türlerinin Dağılımı ve Hayat Döngüsü

Acanthamoeba türleri çevrede yaygın olarak bulunan protozoonlar arasında yer almaktadır. Dünyada geniş bir dağılım gösterirler (Şekil 1.5). Toprak, toz, çamur, hava, kaplıcalar, deniz suyu, yüzme havuzları, lağımalar, hava temizleme üniteleri, musluk (şebeke) ve şişe suları, hastaneler, diş tedavi üniteleri, diyaliz üniteleri, kontakt lensler, lens saklama kapları ve lens temizleme solüsyonları, bakteri ve mantar kültürleri ile memeli hücre kültürleri *Acanthamoeba* türlerinin habitatlarıdır (Larkin ve ark., 1990; Gray ve ark., 1995; John ve Howard, 1995; John ve Howard, 1996; Dağcı ve ark., 2001; Madencioğlu, 2014).



Şekil 1.5. *Acanthamoeba* türlerinin habitatları (Anonim, 2017e)

Bununla beraber *Acanthamoeba* türleri, bitkilerden, balık, amfibi, sürüngen ve memeliler grubundaki hayvanlardan, sağlıklı görünen insanların nazal mukoza, boğazlarından, torakslarından, enfekte beyin ve akciğer dokusundan, bağışıklığı baskılanmış kişilerin deri lezyonlarından ve keratitli hastaların korneal dokusundan izole edilmiştir (De Jonckheere ve Michel, 1988; Dykova ve ark., 1999; Kong ve ark., 2000; Madencioğlu, 2014).

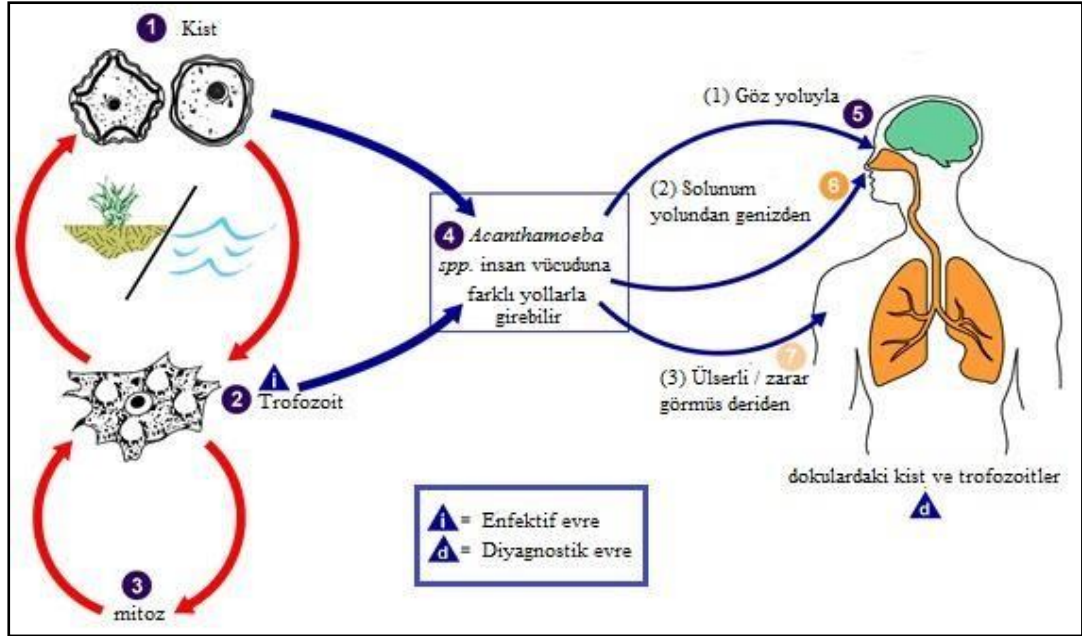
Acanthamoeba cinsi amiplerin hayat döngüsünde iki evre vardır: Birinci evre, aktif olarak beslenen, büyüyen, hareket eden ve çoğalan trofozoit formu, ikinci evre ise, olumsuz çevre şartlarına daha dayanıklı olan kist formudur (Marciano-Cabral ve Cabral, 2003; Saygı ve Polat, 2003; Aydın, 2008).

Trofozoit ve kist formunun boyutları türler arasında farklılık göstermektedir. Hem trofozoit hem de kist formu büyük, yoğun, merkezi bir çekirdekçiğe sahip tek bir çekirdek ile karakterizedir. Trofozoit form olumsuz çevre şartlarında hücre farklılaşmasıyla çift duvarlı kist forma dönüşür. Çevre koşulları uygun olduğunda da kistlerden trofozoitler ortaya çıkar (Marciano-Cabral ve Cabral, 2003; Khan, 2006; Madencioğlu, 2014).

Trofozoit Formu: Trofozoitlerin büyüklükleri 25-56 µm arasında değişiklik göstermekle beraber çoğunlukla yavaş olan hareketlerini, parmak biçimindeki lopopod ve akantopod (*acanthopodium*) adı verilen dikensi yalancı ayaklarla sağlamaktadırlar (Polat ve ark., 2007a). Sitoplazması 2 bölümden oluşan trofozoitin ilk bölümü olan ektoplazma, yumurta akı kıvamında, hiyalen görünümde olup, canlılık hareketinde ve savunmasında rol oynar. İkinci bölüm olan endoplazma ise granüler bir yapıdadır ve beslenme ve kontraktıl vakuelleri ile çekirdek gibi amibin hayati organlarının yer aldığı bölümdür (Saygı ve Polat, 2003). Besinleri çevredeki bakteri, alg ve mantarlardır. Partikül halindeki besinleri fagositozla, sıvı ortamda erimiş haldeki besinleri de pinositozla alarak beslenmektedirler (John, 1998; Aydın, 2008; Madencioğlu, 2014).

Acanthamoeba türlerinin organelleri, tipik bir ökaryotik hücredeki gibi olmakla beraber, düzgün ve kıvrımlı endoplazmik retikulum, golgi kompleksi, serbest ribozomlar, besin vakuelleri, mitokondri ve mikrotubullerdir. Sitoplazmik içerik, üç katlı plazma membranıyla çevrilidir. Sitoplazmada, hücrenin su dengesini kontrol

eden kontraktıl vakuoller bulunmaktadır. Çekirdek tek olup, büyük ve merkezi bir çekirdekçiğe sahiptir. Üreme, eşeysiz olarak, ikiye bölünme şeklindedir (Saygı, 2002; Aydın, 2008).



Şekil 1.6. *Acanthamoeba* türlerinin yaşam döngüsü (Ergüden, 2015; Anonim, 2017g)

Kist Formu: Yuvarlak ve tek çekirdekli olan kistlerin, çeperleri endokist ve ektokist denen çift tabakadan oluşmaktadır. Dış tabaka hafifçe kıvrık, iç tabaka polihedral görünmektedir. Büyüklüğü 13-20 µm arasında değişen kistler, dezenfektanlara, klora, antibiyotiklere karşı dirençlidirler. Düşük sıcaklıklarda (0-2°C) canlı kalabilmektedirler. Çevre şartları uygun olduğunda, kistlerden trofozoitler çıkar (John, 1998; Polat ve ark., 2007a; Aydın, 2008). Kistler, hava yoluyla taşınarak çevrede *Acanthamoeba* türlerinin yayılmasına ve bu patojenlerin uygun konaklara taşınmasına yardımcı olurlar. Birçok çalışma, kistlerin uzun yıllar boyunca patojenitesini sürdürerek canlı kalabildiğini göstermiştir (Madencioğlu, 2014). Şekil 1.6'da *Acanthamoeba* türlerinin yaşam döngüsü verilmiştir.

1.3.1.2. *Acanthamoeba* Türlerinin Neden Olduğu Önemli Hastalıklar

Acanthamoeba türlerinin neden olduğu önemli hastalıkların başında, özellikle kontakt lens takanlarda görülen *Acanthamoeba Keratiti* (AK), çoğu zaman öldürücü olan Granümatöz Amibik Ensefalit (GAE) ve Kutanöz *Acanthamoebiasis* gelmektedir. Ayrıca bağışıklık sistemi zayıflamış kişilerde görülen birçok yayılım enfeksiyonu, cilt lezyonları ve pnömoni, *Acanthamoeba* türlerinin neden olduğu diğer hastalıklardır. *Legionella pneumophila*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Mycobacterium avium* gibi çeşitli bakteriyel patojenler de dahil olmak üzere bir çok virüs ve bakteri kaynaklı hastalıkları bulaştırmada aracı olduğundan, *Acanthamoebae* türleri klinik açıdan önemlidir (Barker ve Brown, 1994; Marciano-Cabral ve Cabral, 2003; Horn ve Wagner, 2004; Schuster ve Visvesvara, 2004; Ertabaklar ve ark., 2007). Çizelge 1.6'da *Acanthamoeba* genotipleri ve neden olduğu hastalıklar verilmiştir.

Çizelge 1.6. *Acanthamoeba* genotipleri ve neden olduğu hastalıklar (Siddiqui ve Khan, 2012; Ergüden, 2015)

<i>Acanthamoeba</i> genotipleri	Neden olduğu hastalık
T1	GAE
^T2a	AK, GAE
^T2b	Henüz ilişkisi bulunmamıştır
T3	AK
T4	AK, GAE
T5	AK, GAE
T6	AK
T7	Henüz ilişkisi bulunmamıştır
T8	Henüz ilişkisi bulunmamıştır
T9	Henüz ilişkisi bulunmamıştır
T10	AK, GAE
T11	AK
T12	GAE
T13	Henüz ilişkisi bulunmamıştır
T14	Henüz ilişkisi bulunmamıştır
T15	AK
T16	Henüz ilişkisi bulunmamıştır

AK; ağrılı, ilerleyebilen, görme sağlığını tehdit eden korneal bir hastalıktır. Hastalık etkeni; bazı *Acanthamoeba* türleri olup çabucak tedavi edilmediği takdirde korneada ülserasyon, görme kaybı hatta körlük görülebilmektedir (Marciano-Cabral ve Cabral, 2003; Ertabaklar ve ark., 2009; Madencioğlu, 2014).

AK, ilk olarak 1974 yılında Nagington tarafından İngiltere'de keşfedilmiştir. 1980 ortalarında kontakt lens kullanımının artışı ve kötü lens hijyeniyle ilişkili olarak

salgınlar görülmüştür. O yıllardan sonra bu hastalığın insidansında önemli bir artış görülmüştür (Marciano-Cabral ve Cabral, 2003; Khan, 2006; Ertabaklar ve ark., 2009; Madencioğlu, 2014).

AK, bağışıklık sistemi baskılanmış kişilerde görülebileceği gibi sağlıklı kişilerde de görülebilen bir hastalıktır. Bununla beraber hastalığı geçirmiş bireylerde bağışıklık gelişmez ve enfeksiyon tekrarlayabilir (Marciano-Cabral ve Cabral, 2003; Madencioğlu, 2014).

AK, korneanın amiplerle direkt teması sonucunda gelişmektedir. Bu hastalık kontakt lens kullanmayan bireylerde de görülebmesine rağmen, çoğunlukla kontakt lens kullanımıyla ilişkilendirilmiştir. Hastalık için ana risk faktörleri; lenslerin zamanından fazla kullanılması, kişisel hijyen eksikliği, uygunsuz kontakt lens temizliği, kontakt lenslerdeki biyofilm şekli, korneal travma, kontamine sulara maruz kalma gibi faktörlerdir (Saygı ve Polat, 2003; Siddiqui ve Khan, 2012; Madencioğlu, 2014).

Hastalığın belirtileri; gözlerde kızarıklık ve ağrı, ışığa karşı hassasiyet, bulanık görme, gözlerde yaşarma/sulanma, göz kapağında ödem ve göz kapağının düşmesi, korneada oluşan beyaz görünümde olan leke, gözün saydamlığını kaybetmesi, gözlerde batma ve yanma, gevşek kornea epiteli ve kornea içi halka oluşumudur (Marciano-Cabral ve Cabral, 2003; Madencioğlu, 2014).

GAE; ender görülen bir enfeksiyon olmasına rağmen neredeyse her zaman ölümcül seyreder. Hastalık ilk defa 1972 yılında Jager ve Stamm tarafından tanımlanmıştır. GAE, bazı *Acanthamoeba* türlerinin neden olduğu, kronik, yavaş ilerleyen, akciğerleri de tutan Merkezi Sinir Sistemi (MSS) enfeksiyonu ile karakterize bir hastalık olup bağışıklık sistemini baskılayan ya da zayıflatan şartlarla ilişkilendirilse de bağışıklık sistemi güçlü olan çocuk ve yetişkinlerde de görülebilmektedir. Enfeksiyon etkeni, nazal yolla ve solunum yoluyla vücuda girerek kan damarlarını istila eder ve kan yoluyla yayılıp, kan-beyin bariyerini de aşarak MSS'ye ulaşır (Marciano-Cabral ve Cabral, 2003; Khan, 2006; Siddiqui ve Khan, 2012; Madencioğlu, 2014).

Hastalığın belirtileri; baş ağrısı, bulantı-kusma, görme bozuklukları, ateş, uyuşukluk, halüsinasyonlar, konfüzyon, boyun tutulması, fokal nörolojik defisit, koma ve kafa basıncı artışıdır (Marciano-Cabral ve Cabral, 2003; Madencioğlu, 2014).

Kutanöz Acanthamoebiasis; çoğunlukla AIDS hastalarında MSS tutulumu ile beraber ya da tek başına görülen, sert eritamatöz nodüller veya deri ülserleriyle karakterize bir hastalıktır. Hastalık, HIV olmayan amebik ensefalitli hastalarda, organ nakli için immünespresif tedavi gören hastalarda ya da immün sistem rahatsızlığı olan bireylerde de görülebildiği rapor edilmiştir. Sağlıklı bireylerde ender görülen ve kendisini sınırlayan Kutanöz Acanthamoebiasis, MSS'nin tutulumu gerçekleştiği zaman haftalar içinde ölüme neden olmaktadır. Hastalığın erken belirtisi sert papülonodüllerin oluşmasıdır. Bu papülonodüller, irinli bir materyal toplayarak daha sonra iyileşmeyen sert ülserlere dönüşmektedir (Marciano-Cabral ve Cabral, 2003; Khan, 2006; Madencioğlu, 2014).

Klinik ve çevresel *Acanthamoeba* suşları in vitro olarak ksenik veya aksenik kültür ortamlarında üretilebilir. Ksenik kültür; ölü veya canlı bakteri ilave edilmiş herhangi bir besleyici madde ihtiva etmeyen agar ya da daha az düzeyde besin içeren agarlı (% 0.05 pepton % 0.05 yeast extract ve % 0.1 glukoz) plaklar üzerine amiplerin ekilmesi ile gerçekleştirilmektedir. Genellikle ksenik kültürler için mukoid özellikte olmayan *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter* spp. (*Enterobacter aerogenes* ve *Enterobacter cloacae*) veya *Escherichia coli* bakterileri tercih edilmektedir (Schuster, 2002; Berberoğlu, 2017). Aksenik kültürlerde bakteri kullanılmaz ve temel besiyeri bileşenleri proteose pepton/pepton, yeast extract ve glukozdur. Bakteri kontaminasyonunu önlemek amacıyla besiyerine gentamisin, penisilin ya da streptomisin ilave edilebilir (Schuster, 2002; Zeybek ve ark., 2010; Berberoğlu, 2017).

1.3.2. *Escherichia coli*

E. coli 2-6 µm boyunda, düz, uçları yuvarlak, çomak şeklinde bir bakteridir (Bilgihan, 1996). *Escherichia* cinsinin üyeleri, genel olarak insanlar ve sıcakkanlı hayvanların sindirim kanallarında bulunan mikroorganizmalardır. *Escherichia*, bulunduğu sindirim kanalında özellikle K vitamini başta olmak üzere birçok vitaminleri üretmek suretiyle içinde yaşadığı canlıya yarar sağlamaktadır. Fakültatif

anaerop bakteri olduğundan bu organizma bulunmuş olduğu ortamdaki oksijenin tüketimine yardımcı olur ve böylece sindirim kanalında anaerop ortam oluşturulmasını sağlar. Bazı türleri patojendir. Enteropatojen olan bu türler K antijen adı verilen bir antijene sahiptir. Bu antijen sayesinde ince bağırsak yüzeyine yerleşirler ve hatta burada kolonize olurlar. Ayrıca ürettikleri bir enterotoksinle de bebek ve çocuklarda dizanteriye benzer öldürücü bir ishale neden olmaktadır. Bununla beraber yaşlı bireylerde veya vücut direnci zayıf insanlarda idrar yolları enfeksiyonlarında neden olabilmektedirler (Hasenekoğlu ve Yeşilyurt, 2007).

Çizelge 1.7. *E. coli*'nin sistematigi (Anonim, 2017f)

Kingdom: Bacteria
Phylum: Proteobacteria
Class: Gamma Proteobacteria
Ordo: Enterobacteriales
Familya: Enterobacteriaceae
Genus: *Escherichia*
Species: *Escherichia coli*

E. coli'nin sistematigi Çizelge 1.7'de verilmiştir. Bu çalışmada, *A. castellanii* (ATCC 30010) suşunu ksenik kültür ortamında in vitro üretebilmek için *Escherichia coli* (ATCC 25922) kullanılmıştır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Tez konusunu oluşturan; *O. sigmoideum*'un ve *T. orientalis*' in *A. castellanii* kistleri ve trofozoitleri üzerine in vitro amoebisidal aktivitelerinin araştırıldığı bu çalışmaya benzer çalışmalar aşağıda kronolojik sırayla verilmiştir.

Polat ve ark., (2007b), tarafından yapılan bir çalışmada *Thymus sipyleus* subsp. *sipyleus* var. *sipyleus* bitkisinin metanol özütünün *A. castellanii* kist ve trofozoitleri üzerine etkili olduğu, memeli hücreleri üzerinde en yüksek konsantrasyonda bile sitotoksik etkisinin olmadığı bildirilmiştir.

Polat ve ark., (2007c), tarafından yapılan başka bir çalışmada, *A. castellanii*'ye karşı Türkiye'den dört *Allium* türünün metanol özütünün in vitro etkinliğini ve korneal hücreler üzerindeki sitotoksitesini araştırmışlardır. *Allium* türlerinin 1.0 - 32.0 mg/ml arasında değişen konsantrasyonlarda *A. castellanii* trofozoitlerin ve kistlerin proliferasyonu üzerindeki etkisini in vitro olarak incelemişlerdir. *Allium* türlerinin korneal hücreler üzerindeki sitotoksitesinin belirlenmesi için agar difüzyon testleri uygulamışlardır. Testlerden elde edilen sonuçlara göre, *Allium scrodoprosu* subsp. *Rotundum*, *A. castellanii* üzerinde belirgin amoebisidal etki gösterirken, diğerlerinin etkili olmadıklarını saptamışlardır. Araştırmacılar, *A. scrodoprosu*'un metanol özütünü *Acanthamoeba*'ya karşı yeni bir doğal ajan olarak kullanılabileceğini bildirmişlerdir. Ayrıca, biyolojik etkinliğini doğrulamak için, in vivo test sistemleri ile değerlendirilmesi gerektiğini de saptamışlardır.

Rodio ve ark., (2008), yaptıkları çalışmada, *Pterocaulon polystachyum*'un (Asteraceae) toprak üstü kısımlarından elde edilen hekzan, diklorometan ve metanol özütlerini *A. castellanii*'ye karşı denemişlerdir. *P. polystachyum* özütlerinin *A. castellanii*'ye karşı amoebisidal aktivitesinin sırasıyla 48. ve 72. saatte trofozoitlerin yaklaşık % 66'sı ve % 70'inin öldürüldüğü hekzan özütü olduğunu belirtmişlerdir.

Polat ve ark., (2008), tarafından yapılan başka bir çalışmada, *Allium sativum*'un metanol özütünün *A. castellanii* trofozoitleri ve kistleri üzerindeki in vitro etkisini ve in vitro korneal hücreler üzerindeki sitotoksitesini araştırmışlardır. *A. castellanii* trofozoitlerinin çoğalmasında doza (0.78 - 62.5 mg/ml) ve zamana (0 - 72 saat) bağımlı olarak inhibe ettiği sonucuna ulaşmışlardır. Özütün 3.90 mg/ml konsantrasyonda

kornea hücreleri için herhangi bir sitotoksitesinin görülmediği araştırmacılar tarafından bildirilmiştir.

Derda ve ark., (2009), *Rubus chamaemorus*, *Pueraria lobata*, *Solidago virgaurea* ve *Solidago graminifolia* bitki özütlerinin amoebisidal aktivitesini incelemişlerdir. Bitkilerin çiçek, kök ve yapraklarını kullanmışlardır. *Acanthamoebiasis* için kombine bir tedavi durumunda, bitki özütlerinin hem harici hem de dahili olarak kullanılabilmesi belirlenmiştir. Ayrıca test ettikleri özütlerin hayvanlar için de toksik olmadığını saptamışlardır.

Göze ve ark., (2009), tarafından yapılan çalışmada da *A. castellanii* trofozoit ve kistleri üzerine *Salvia* türlerinin (*S. caespitosa* ve *S. staminea*) in vitro etkilerini incelemişler, *S. caespitosa*'nın metanol özütünün etkisini *S. staminea*'ya göre daha az bulduklarını, ilk 24 saat içinde 32 mg/ml'lik konsantrasyonda kistlere karşı herhangi bir etki gözlemediklerini ve 72 saat boyunca 1-8 mg/ml konsantrasyonlarda kistlerin ölmediğini bildirmişlerdir.

Nakisah ve ark., (2010), Malezya'da, Kapas, Perhentian ve Redang Adaları ve Terengganu olmak üzere üç ayrı lokaliteden topladıkları bir deniz süngeri olan *Aaptos aaptos*'un metanol özütlerini *A. castellanii* üzerinde anti-amoebik potansiyelini incelemek için in vitro test etmişlerdir. Gerçekleştirilen sitotoksite ve genotoksite araştırmalarından elde edilen sonuçlar, *A. aaptos*'un tüm metanol özütlerinin *A. castellanii*'ye karşı anti-amoebik özelliğe sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Zahir ve ark., (2010), Güney Brezilya yerli bitkileri olan *Croton pallidulus*, *Croton isabelli* ve *Croton ericoides*'in (Euphorbiaceae) toprak üstü kısımlarından elde edilen uçucu yağları *Acanthamoeba polyphaga*'ya karşı test etmişlerdir. *Croton ericoides*'in esansiyel yağı, 0.5 mg/ml konsantrasyonunun trofozoitlerin % 87'sini öldüren en aktif konsantrasyon olduğunu belirtmişlerdir. *C. pallidulus*'un uçucu yağı, aynı konsantrasyonda trofozoitlerin sadece % 29'unu, *C. isabelli*'nin uçucu yağı, 10 mg/ml konsantrasyonda trofozoitlerin yalnızca % 4'ünü öldürdüğünü belirtmişlerdir. *Croton ericoides*'in yağının en yüksek amoebisidal etkinliğe sahip olduğunu saptamışlardır.

Malatyalı ve ark., (2011a), yaptıkları çalışmada, Türkiye florasında endemik olan *Peucedanum caucasicum*, *Peucedanum palimbioides*, *Peucedanum chryseum* ve

Peucedanum longibracteolatum'un metanol özütlerinin in vitro amoebisidal etkinliğini değerlendirmişlerdir. Metanol özütlerin (1.0 - 32.0 mg/ml konsantrasyonlarda) *A. castellanii* trofozoitleri ve kistleri üzerinde belli bir zaman ve doza bağımlı amoebisidal etki gösterdiğini saptamışlardır. Test edilen özütler arasında, *P. longibracteolatum*'un, trofozoitler ve kistler üzerinde en güçlü amoebisidal etkiyi gösterdiğini belirtmişlerdir. Ayrıca kistlerin özütlere karşı trofozoitlerden daha dirençli olduklarını da bildirmişlerdir.

Malatyalı ve ark., (2011b), *Satureja cuneifolia* ve *Melissa officinalis* metanol özütlerinin in vitro amoebisidal etkinliğini değerlendirmişlerdir. Metanol özütlerinin deneysel süreç boyunca *A. castellanii* trofozoitlerinin ve kistlerinin sayılarını zamanla azalttığını görmüşlerdir. Böylece her iki özütün de zamana ve doza bağımlı amoebisidal etki gösterdiğini ortaya koymuşlardır. Test edilen özütler arasında *S. cuneifolia*'nın, trofozoitler ve kistler üzerinde en güçlü amoebisidal etkiyi gösterdiğini belirtmişlerdir. Bunun yanısıra, *M. officinalis*'in ise orta dereceli amoebisidal etki gösterdiğini saptamışlardır.

Değerli ve ark., (2011a), *Pastinaca armenea* ve *Inula oculus-christi* bitkilerinden deiyonize su kullanarak hazırlanan özütlerini (1.0-32.0 mg/ml konsantrasyonlarda) in vitro amoebisidal etkinliğini değerlendirmişlerdir. Deneysel işlem sırasında canlı *A. castellanii* trofozoit ve kist sayılarının zamanla azaldığını görmüşlerdir. Test edilen özütler arasında *Inula oculus-christi*'nin, trofozoitler ve kistler üzerinde en güçlü amoebisidal etki gösterdiğini saptamışlardır.

Değerli ve ark., (2011b), Türkiye florasında endemik bir bitki türü olan *Allium sivasicum*'un toprak üstü kısımlarının ve rizomlarının metanol özütlerini *Entamoeba histolytica* üzerinde in vitro amoebisidal aktivitesini değerlendirmişlerdir. Her iki özütün de trofozoitler üzerinde zamana ve doza bağımlı olarak amoebisidal etki gösterdiğini ortaya koymuşlardır. Test edilen özütler arasında, *A. sivasicum*'un rizomları, trofozoitler üzerinde en güçlü amoebisidal etkiyi gösterdiğini belirtmişlerdir. Araştırmacılar bitki türünün, *Entamoeba* enfeksiyonlarının tedavisi için potansiyel bir terapötik ajan olduğunu tespit etmiş ve aktif fitokimyasalların saptanması için nicel olarak değerlendirilmeye ihtiyaç duyulduğunu bildirmişlerdir.

Tepe ve ark., (2011), *Teucrium polium* ve *Teucrium chamaedrys*'in metanol özütlerinin in vitro amoebisidal etkinliğini değerlendirmişlerdir. Metanol özütler (1.0 - 32.0 mg/ml konsantrasyonlarında) varlığında, canlı *A. castellanii* trofozoitleri ve kistlerinin sayısının deney işlemi sırasında zamanla azaldığını görmüşlerdir. Her iki özütte de trofozoitler ve kistler üzerinde zamana ve doza bağımlı amoebisidal etki tespit etmişlerdir. Test edilen özütler arasında *T. chamaedrys*'in, trofozoitler üzerinde en güçlü amoebisidal etkiyi gösterdiğini belirtmişlerdir.

Nagwa ve ark., (2011), *Arachis hypogaea* L. (yer fıstığı), *Curcuma longa* L. (zerdeçal) ve *Pancratium maritimum*'un L. (deniz daffodil) bitkilerinden elde edilen etanol özütlerinin *A. castellanii* kistleri üzerinde in vitro amoebisidal etkinliğini değerlendirmişlerdir. Sonuç olarak, *A. hypogaea*, *C. longa* ve *P. maritimum*'un etanol özütlerinin ilaç kontrolü Klorheksidin ile karşılaştırıldığında; *Acanthamoeba* kistlerine karşı tüm özütlerin, Klorheksidin'den daha etkili olduğunu bulmuşlardır.

Sauter ve ark., (2011), *Pterocaulon polystachyum* bitkisinden elde edilen uçucu yağını *A. polyphaga*'ya karşı amoebisidal etkisinin değerlendirildiği araştırmada uçucu yağın (10 ve 20 mg/ml konsantrasyonlarda), *A. polyphaga* trofozoitlerinin tamamını 24. saatte öldürdüğünü rapor etmişlerdir. Ayrıca uçucu yağın memeli hücresi üzerine sitotoksik etki gösterdiği bildirmişlerdir.

Jiménez-Arellanes ve ark., (2012), *Aristolochia elegans* rizomlarının heksan özütlerinin antimikrobiyal ve antiprotozoal aktivitelerini analiz etmişlerdir. Bu özütleri bir grup ilaca dirençli *Mycobacterium tuberculosis* suşuna karşı test etmişlerdir. *A. elegans* türündeki iki bileşiğin (fargesin ve kübebin), antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu, ilaveten heksan özütündeki eupomatenoid-1 bileşiğinin ise *Entamoeba histolytica* ve *Giardia lamblia*'ya karşı önemli antiprotozoal aktiviteye sahip olduğunu saptamışlardır.

Vunda ve ark., (2012), *Croton pallidulus*, *Croton isabelli* ve *Croton ericoides* (Euphorbiaceae) bitkilerinden elde edilen uçucu yağların *A. polyphaga* trofozoitlerine etkilerinin değerlendirildiği bir çalışmada, en yüksek amoebisidal etkinin *C. ericoides* uçucu yağına ait olduğu, bu uçucu yağın memeli hücreleri üzerinde sitotoksik etki gösterdiğini bildirmişlerdir.

Değerli ve ark., (2012), yaptığı bir başka çalışmada da, *Origanum* türlerinin (*Origanum syriacum* ve *Origanum laevigatum*) metanol özütlerinin (1.0 - 32.0 mg/ml konsantrasyonlarda) *A. castellanii* trofozoitlerinin ve kistlerinin sayılarını azalttığı, *O. syriacum*'un trofozoitler ve kistler üzerinde daha etkili olduğu, 24 saat içinde en yüksek konsantrasyonda tüm trofozoitleri öldürdüğü, kistlere karşı da etkili olduğunu gözlemişlerdir. *O. laevigatum*'un ise 72 saat içinde 16 ve 32 mg/ml'lik konsantrasyonlarda tüm trofozoitleri öldürdüğünü bildirmişlerdir.

Badria ve ark., (2014) , Amibik keratitten izole edilen *A. castellanii* kistlerine karşı *Helianthemum lippii*'nin (L.) (güneş gülleri) etil asetat ve metanol özütlerinin in vitro ölümcül potansiyelini incelemişlerdir. Her iki özütün de, *A. castellanii* kistleri üzerindeki ölümcül etkileri açısından, klorheksidin ile karşılaştırılabilir sonuçlar veren güçlü özütler olduğunu vurgulamışlardır. Etil asetat özütlerinin de metanol özütlerine göre daha etkili olduğunu belirtmişlerdir.

Derda ve ark., (2015), *Artemisia annua* L. bitkisinin deiyonize su, alkol ve kloroform özütlerinin genel ve lokal tedavide veya acanthamoebiasis tedavisinde antibiyotiklerle kombine terapide uygulanabileceğini belirtmişlerdir. Bu bitki özütlerinin sadece in vitro değil, aynı zamanda in vivo etkilerinin de olduğunu vurgulamışlardır. Amiple enfekte deneysel hayvanlar üzerinde yapılan araştırmalar, bu özütlerin uygulanmasının hayvanlarda sağ kalımı önemli ölçüde uzattığını göstermişlerdir.

Hafiz ve ark., (2016), *Peganum harmala*'nın metanol tohum özütünü *A. castellanii* kistleri üzerindeki aktivitesini in vitro incelemişlerdir. Sonuç olarak, metanol özütün, *Acanthamoeba*'ya karşı güçlü amoebisidal etkiyi gösterdiğini vurgulamışlardır.

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Bitki Materyalleri

Bu çalışmada kullanılan Sakarca bitkisi (*O. sigmoideum*) 17.02.2017 tarihinde Ordu ilinde Rus Pazarı'ndan alınmıştır. Kaldirik bitkisi (*T. orientalis*) ise 22.03.2017 tarihinde Ordu ilinde Çarşamba Pazarı'ndan alınmıştır.



Şekil 3.1. Kaldirik bitkisinin (*T. orientalis*) görüntüsü



Şekil 3.2. Sakarca bitkisinin (*O. sigmoideum*) görüntüsü

Şekil 3.1'de Kaldirik bitkisinin görüntüsü, Şekil 3.2'de ise Sakarca bitkisinin görüntüsü verilmiştir.

3.2. Çalışmada Kullanılan Besiyerleri ve Solüsyonların Hazırlanması

3.2.1. İzotonik (% 0.85) Solüsyonunun Hazırlanması

Stok kabından 8.5 g Sodyum klorür (NaCl) temiz bir spatül yardımıyla alınarak kalibre hassas terazide (Radwag AS220/C/2) tartılmıştır. Total hacim 1000 ml olacak şekilde saf suda çözülürülerek hazırlanıp 121 °C sıcaklıkta 20 dakika otoklavlanmıştır (Nüve OT23B). Kullanılmaya kadar 4 °C’de buzdolabında saklanmıştır. (Hazırlanan izotonik solüsyon, kullanılına kadar 4 °C’de buzdolabında 1 ay saklanabilir).

3.2.2. Ringer Solüsyonunun Hazırlanması

Ringer (Katalog no:1155250001, Merck) 2 tablet alınmış ve total hacim 1000 ml olacak şekilde saf suda çözülürülerek hazırlanmıştır. Otoklavda 121 °C sıcaklıkta 20 dakika steril edildikten sonra kullanılmaya kadar 4 °C’de buzdolabında saklanmıştır. (Hazırlanan Ringer solüsyonu kullanılına kadar 4 °C’de buzdolabında 1 ay saklanabilir).



Şekil 3.3. Ringer tablet ve ringer agar besiyeri

3.2.3. Ringer Agar Besiyerinin Hazırlanması

Temiz bir spatül yardımıyla 3 g agar stok kabından (Katalog no: MC002, Lab M) alınarak hassas terazide tartılmıştır. Total hacim 200 ml olacak şekilde önceden hazırlanan steril Ringer solüsyonu ilave edilerek ısıtıcılı manyetik karıştırıcıda (Heidolph MR3001K) çözülürülmüştür. Otoklavda 121 °C sıcaklıkta 15 dakika steril edildikten sonra 50 °C civarındaki sıcaklığa gelince kalibre biyogüvenlik kabini (Bilser Class 2A) içerisinde 90 mm’lik steril petrilere dökülmüştür (Şekil 3.3).

Ringer agar besiyeri oda ısısında katılaştıktan sonra petrilerin etrafı parafilm ile sarılarak 4 °C buzdolabına bırakılmıştır.

3.2.4. EMB (Eosin Methylene Blue) Agar Besiyerinin Hazırlanması

Stok kabından (Katalog no: CM0069B, OXOID) temiz bir spatül yardımıyla 18.75 g dehidre besiyeri alınarak hassas terazide tartılmıştır. Total hacim 500 ml olacak şekilde saf su eklenerek ısıtıcılı manyetik karıştırıcıda çözdürülmüştür. Otoklavda 121 °C sıcaklıkta 15 dakika steril edilerek, 50 °C civarındaki sıcaklığa gelince biyogüvenlik kabini içerisinde 90 mm'lik steril petrilere dökülmüştür. Kullanılincaya kadar 4 °C buzdolabına saklanmıştır.



Şekil 3.4. EMB besiyeri stok ve EMB besiyerinde üremiş *E.coli*

3.3. *Escherichia coli* Kültürünün Hazırlanması

E. coli (ATCC 25922) suşundan EMB besiyerine steril öze kullanılarak biyogüvenlik kabini içerisinde ekim yapılmıştır. Etüvde (36 ± 1 °C) 24 saat inkübasyona bırakılarak, sarı-yeşil metalik refle veren koloniler önceden hazırlanan steril serum fizyolojik (% 0.85) yardımıyla ependorf tüplerine toplanmıştır. Şekil 3.4'te EMB besiyeri ve EMB besiyerinde üremiş *E.coli* kolonileri verilmiştir.

3.4. *Acanthamoeba castellanii* Kültürünün Hazırlanması, Sayımı ve Canlılık Kontrolü

3.4.1. *A. castellanii* Trofozoitlerinin Ringer Agar Besiyerinde Üretilmesi ve Toplanması

A. castellanii (ATCC 30010) suşunun önceden hazırlanan Ringer agar besiyerlerine biyogüvenlik kabini içerisinde ekilmiştir. Bunun için, her bir Ringer agar besiyerlerine ilk olarak önceden hazırlanan 1 ml *E. coli* süspansiyonu eklenerek steril öze yardımıyla besiyerine dağıtılmıştır. Daha sonra *A. castellanii* trofozoit suşundan aynı besiyerine 300 µl ilave edilerek steril öze kullanılarak ekimi yapılmıştır. Etüvde (Binder BD56) 26 ± 1 °C'de 3 gün inkübasyona bırakılmıştır. Bu süre sonunda trofozoitler zedelenmeden biyogüvenlik kabini içerisinde her bir petri, steril Ringer solüsyonu ile 3 kez yıkanıp, steril öze ile yüzeyi hafifçe süpürülerek 15 ml'lik steril falcon tüpüne toplanmış ve 10 °C ve 3000 rpm' de 5 dakika santrifüj (eppendorf centrifuge 5810R) edilmiştir. Santrifüj sonrası süpernatantlar atılıp kalan sediment steril eppendorf tüplerine alınarak deneyde kullanılmıştır.

Trofozoit sayımı için Thoma lamı kullanılmıştır. Santrifüj sonrası sedimentten 10 µl Thoma lamına preparat hazırlanarak ve 40x büyütmede ışık mikroskopunda (LEİCA, DM500) trofozoit sayımı yapılmıştır. Thoma lamında ml'deki trofozoit sayısı hesaplanmıştır. Thoma lamında sayım formülle (16 büyük kare x sulandırma faktörü x 10.000) hesaplanmıştır. Trofozoitin canlılığını test etmek için sedimentten 10 µl başka bir sterileppendorf tüpüne alınarak üzerine % 0.4'lük trypan blue (Sigma T-8154) boyasından 10 µl eklenip vortekslendikten sonra oda sıcaklığında 3 dakika bekletilmiştir. Sonra bu tüpten 10 µl alınarak lam-lamel arasında preparat hazırlanmış ve 40x büyütme kullanılarak ışık mikroskopunda incelenmiştir. Boyayı içerisine alarak mavi görünen trofozoitler ölü olarak değerlendirilmiştir.

3.4.2. *A. castellanii* Trofozoitlerinin Kist Formuna Dönüştürülmesi ve Kistlerin Toplanması

Ringer agar besiyerine daha önceden ekimi yapılan trofozoit formunda bulunan petrilerin bir kısmı 2 hafta boyunca 30 ± 1 °C de etüvde inkübe edilerek kist şekli alması beklenmiştir. Bu süre sonunda, yukarıda anlatıldığı gibi trofozoitler için uygulanan tüm işlemlerin aynısı kistler için de yapılmıştır.

3.5. Bitki Özütlerinin Hazırlanması

Toplanan bitkiler (yaprak, çiçek ve gövde kısımları) laboratuvarında steril saf suyla yıkanarak kurutma kağıtları ile kurutulmuştur. Bitkinin gövde, yaprak ve çiçek kısımlarından 60 g olacak şekilde hassas terazide tartılarak 250 ml Metanol (Sigma-Aldrich 24229) ile bir öğütücü yardımıyla öğütülmüştür (Şekil 3.5).



Şekil 3.5. *O.sigmoideum*'un ve *T.orientalis*'in öğütülmesi

Elde edilen karışım ışık izolasyonu sağlamak amacıyla alüminyum folyo ile sarılı 500 ml'lik steril payrex şişesine alınarak, 100 rpm hız, % 40 \pm 5 nem ve 20 \pm 1 $^{\circ}$ C'deki kalibre çalkalayıcılı (shaker) mikroklima cihazında (GROTECH GP08) 72 saat bekletilmiştir (Şekil 3.6).



Şekil 3.6. Çalkalayıcılı mikroklima cihazı

72 saat sonunda çalkalayıcı mikroklima cihazından alınan alüminyum folyo ile sarılı payrex şişesindeki metanol-bitki karışımı önce filtre kâğıdından süzülerek kaba filtrasyon yapılmıştır. Sonra içerisinde bakteri filtresi bulunan (por çapı: 0.22 µm) vakumlu filtreden geçirilerek bakteri izolasyonu sağlanmıştır (Şekil 3.7). 200 ml'lik filtrat iki ayrı steril balon jojeye alınıp Evaporatörde (Heidolph HB Digital) 40 °C'de bekletilerek metanol uçurulmuştur. Daha sonra çözücü olarak metanol (% 1'lik) ve ringer solüsyon kullanılarak özütlerin son konsantrasyonları hesaplanmıştır. Özütlerin son konsantrasyonları, *O. sigmoideum* için 40 mg/ml, *T. orientalis* için 80 mg/ml olarak hesaplanmıştır. Bitki özütleri daha sonra kullanılmak üzere 4 °C'deki buzdolabında saklanmıştır (Bitki özütü 4 °C'de 1 hafta -80 °C'de 1 yıl saklanabilir).



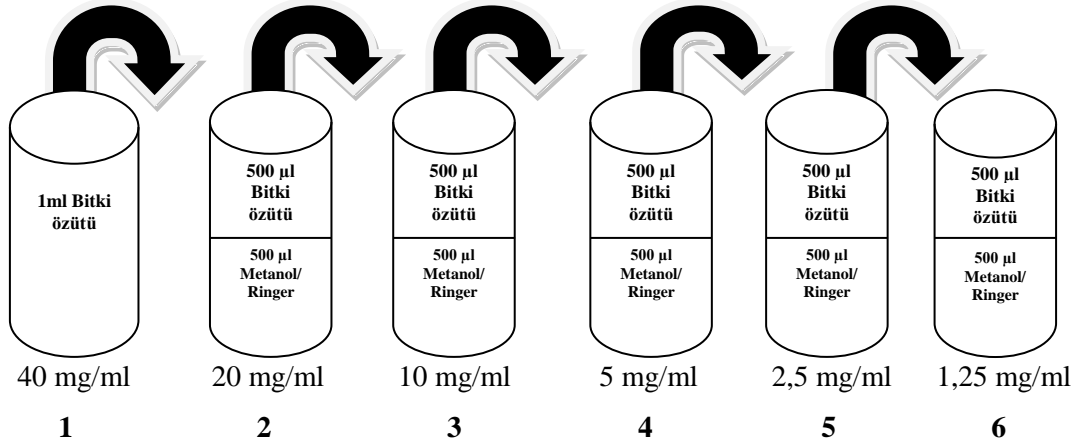
Şekil 3.7. Kaba filtrasyon ve vakumlu filtrasyon uygulamaları

3.6. Deneysel Tasarım

3.6.1. Bitki Özütlerinden Metanol (%1) ve Ringer Solüsyonu Kullanılarak Konsantrasyon Serilerinin Hazırlanması

Alüminyum folyo ile sarılı payrex şişesindeki bitki özütlerinden (*O. sigmoideum* 40 mg/ml, *T. orientalis* 80 mg/ml) 1'er ml alınarak steril bir ependorf tüpüne konulmuştur. Şekil 3.8 'de gösterildiği gibi *T. orientalis* için 7 adet, *O. sigmoideum* için 6 adet seri seyreltme yapılarak farklı bitki özütü konsantrasyonları belirlenmiştir.

T. orientalis için 1.25 - 80 mg/ml arasında *O. sigmoideum* için 1.25 - 40 mg/ml arasında bitki özütü konsantrasyonları elde edilmiştir (Şekil 3.8).

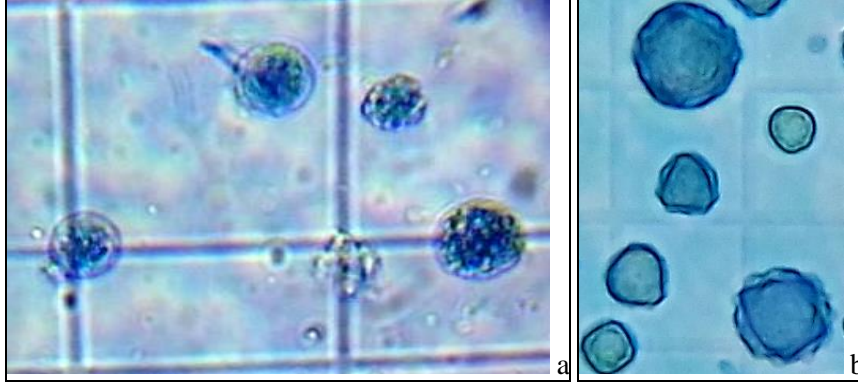


Şekil 3.8. Bitki özütü ile metanol (% 1) ve ringer konsantrasyon serilerinin hazırlanması

3.6.2. Bitki Özütlerinin *A. castellanii* Trofozoitleri ve Kistleri Üzerinde Amoebisidal Aktivitesinin Test Edilmesi

Steril ependorf tüplerinin her birine 100'er µl *A. castellanii* trofozoit/kist konulmuştur. Sonra daha önceden hazırlanan bitki özütü metanol (% 1)/ringer solüsyonu konsantrasyon serilerinden 100'er µl alınarak bunların üzerine ilave edilmiştir. Daha sonra vortekslenerek 26 ± 1 °C'deki etüve inkübasyona bırakılmıştır. Ependorf tüpleri sırasıyla 1., 3., 6., 8., 24., 48. ve 72. saatlerde etüvden alınarak sayımları yapılmıştır. Sayım yapılmadan önce % 0.4'lük trypan blue boyası ile canlılık test edilmiştir. Yedi adet (*T.orientalis* için sekiz tüp kullanılmıştır) steril ependorf tüplerinin her birine 20'şer µl % 0.4'lük trypan blue boyasından konulmuştur. Sonra bu boyanın üzerine konsantrasyon serilerinden sırayla (80 mg/ml, *T.orientalis* için), 40 mg/ml, 20 mg/ml, 10 mg/ml, 5 mg/ml, 2.5 mg/ml, 1.25 mg/ml ve kontrolden (sadece metanol (%1)/ringer solüsyonu ile *A.castellanii* içeren ve bitki özütü içermeyen tüp) 20'şer µl konularak vortekslenmiştir. Oda ısısında 3 dakika bekletildikten sonra sırasıyla en büyük olandan başlanarak her tüpteki canlı hücre sayısı thoma lamında tespit edilmiştir. Trofozoit ve kist sayımları hem ringer hem de metanol(% 1) konsantrasyon serileri için ayrı ayrı yapılmıştır. Tüm deneyler 3 tekrarlı yapılarak her birine ait canlılık yüzdesi için istatistik analizleri uygulanmıştır.

Işık mikroskopunda (40x) ölen *A. castellanii* trofozoitlerin görüntüsü Şekil 3.9 (a)'da, ölen kistlerin görüntüsü ise Şekil 3.9 (b)'de verilmiştir.



Şekil 3.9. Işık mikroskopunda (40X) ölen *A. castellanii* trofozoitin (a), kistin (b) görüntüsü

3.7. İstatistiksel Analiz

Bitki özütlerinin ilave edilmediği kontrol grubu ile bitki özütlerinin 6 farklı konsantrasyonunun eklendiği test gruplarındaki hüresel değişiklikler karşılaştırmalı olarak incelenmiştir. Kontrol grubu ve bitki özütlerinin bulunduğu test gruplarının 1., 3., 6., 8., 24., 48. ve 72. saatlerdeki değişikliklerine ait verilerin girişi Microsoft Excel ve SPSS programları kullanılarak yapılmıştır. Tanımlayıcı veri analizi ve grafikler SPSS 18 paket programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Veriler ortalama \pm standart hata (SH) olarak ifade edilmiştir. SPSS 18 paket programında, “p” değeri, (“probability” yani “olasılık”) % 5 hatayı kabul ederek karşılaştırma yapılmıştır. % 95 olasılıkla (yani % 5 hata ile) güven aralıkları belirlenmiştir. Elde edilen özütlerin amoebisidal etkisini gösteren % canlılık sayım sonuçları SPSS 18 kullanılarak çoklu karşılaştırma testi (Post-Hock) ile değerlendirilmiştir. Sonuçların ikili grup karşılaştırılmasında ise Tukey analizi kullanılmıştır. Böylece, kullanılan özüt konsantrasyonları ve uygulanan saatlere göre % canlılık oranları arasındaki farklar tespit edilmiştir. 1., 3., 6., 8., 24., 48. saatin 72. saate göre istatistiksel farkları sırasıyla a, b, c, d, e, f şeklinde gösterilmiştir.

IC50 (trofozoitlerin yarısı için letal etki gösteren bitki özütlerinin konsantrasyonları; % 50 inhibitör konsantrasyon) değerlerinin hesaplanmasında ise Logaritmik regresyon analizinden yararlanılmıştır. Logaritmik regresyon analiziyle çizilen grafik yardımıyla % 50 hücre ölümüne karşılık gelen bitki özütlerinin konsantrasyon

değerleri hesaplanmıştır.Kullanılan bitki özüt konsantrasyonları ve uygulanan saatlere göre amoebisidal etki gösteren sonuçlar kontrol hücrelerine kıyasla yüzde inhibisyon (% hücre ölümü) olarak ifade edilmiştir. Farklı konsantrasyonlardaki bitki özütlerinin % 50 inhibitör konsantrasyonu üç tekrarlı yapılan denemelerde bulunmuştur.

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

O. sigmoideum ve *T. orientalis* bitkilerinin özütlerinden hazırlanan metanol (% 1) ve ringer konsantrasyon serilerinin *A. castellanii* trofozoit ve kist formları üzerine etkilerinin izlendiği bu çalışmadan elde edilen sonuçlar sekiz grup halinde sunulmaktadır. Buna göre gruplar: *O. sigmoideum* özütünün metanol-trofozoit, metanol-kist, ringer-trofozoit ve ringer-kist karışımlarının bulguları ile *T. orientalis* özütünün metanol-trofozoit, metanol-kist, ringer-trofozoit ve ringer-kist karışımlarının bulguları şeklindedir. Trofozoitlerin ve kistlerin yüzde (%) canlılık oranlarının özüt konsantrasyonları ve saatlere göre değerlendirilmesi Çizelge 4.1 - 4.8'e ve Şekil 4.1- 4.8'e kadar gösterilmiştir.

4.1. *O. sigmoideum* özütünün metanol (% 1) ile hazırlanan konsantrasyon serilerinin *A. castellanii* trofozoitleri üzerine amoebisidal etkisi

Çizelge 4.1 ve Şekil 4.1'de görüldüğü gibi, *O. sigmoideum* metanol (% 1) özütünün 40 mg/ml konsantrasyonda 24. saatin sonunda trofozoitlerin büyük bir kısmı için (0.6 ± 0.6) letal etki gösterdiği, aynı konsantrasyonda 48. ve 72. saatlerde herhangi bir canlı trofozoite rastlanılmadığı ve 20 mg/ml konsantrasyonda ise 6. saatten sonra canlı trofozoit sayısında hızlı bir azalma tespit edilmiştir. 40 mg/ml metanol (% 1) özüt konsantrasyonu ile uygulanan saatlere göre % canlılık oranları arasındaki farklılık Çizelge 4.1.'de gösterilmiştir. Buna göre 1.(a), 3.(b), 6.(c), 8.(d), 24.(e), 48.(f), saat ile 72. saat arasında anlamlı istatistiksel farklılıklar ($p < 0.05$) bulunmuştur.

Çizelge 4.1. Farklı konsantrasyonlardaki *O. sigmoideum* metanol özütünün *A.castellanii* trofozoit ve kist formu üzerindeki yüzde (%) canlılık etkisi

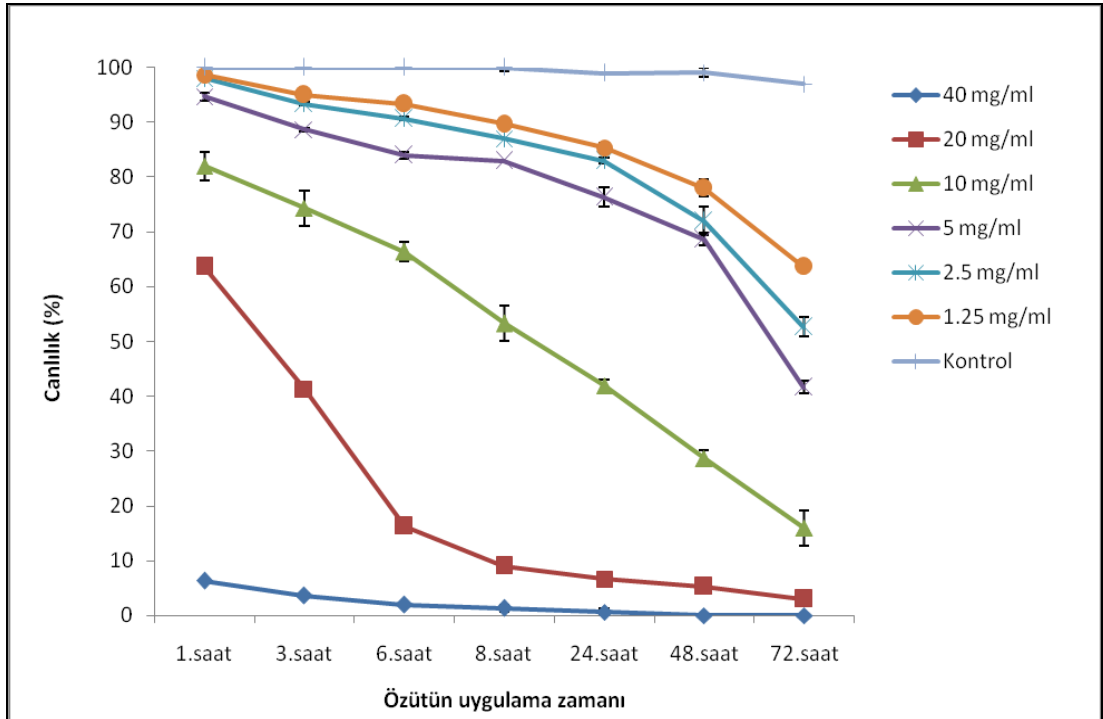
Konsantrasyon	Yaşam formu	Deney periyodu						
		1. saat	3. saat	6. saat	8. saat	24. saat	48. saat	72. saat
40 mg/ml	Trofozoit	6.3±0.3	3.6±0.3	2.0±0.0	1.3±0.6	0.6±0.6	0.0±0.0	0.0±0.0
	Kist	94.3±0.3 ^a	92.3±0.3 ^b	90.0±0.0 ^c	89.0±0.5 ^d	88.3±0.3 ^e	87.0±0.5 ^f	85.0±0.0
20 mg/ml	Trofozoit	63.6±0.8 ^a	41.3±0.8 ^b	16.3±1.2 ^c	9.0±0.5	6.6±0.3	5.3±0.3	3.0±0.0
	Kist	95.3±0.3 ^a	93.6±0.3 ^b	92.0±0.0 ^c	91.0±0.0 ^d	89.3±0.3 ^e	87.6±0.3	87.0±0.0
10 mg/ml	Trofozoit	82.0±2.5 ^a	74.3±3.1 ^b	66.3±1.7 ^c	53.3±3.1 ^d	42.0±1.1 ^e	28.6±1.4 ^f	16.0±3.2
	Kist	96.3±0.3 ^a	94.6±0.3 ^b	93.0±0.0 ^c	91.3±0.3 ^d	90.3±0.3 ^e	88.6±0.3	87.6±0.3
5 mg/ml	Trofozoit	94.6±0.6 ^a	88.6±0.3 ^b	84.0±0.5 ^c	83.0±0.0 ^d	76.3±1.7 ^e	68.6±1.2 ^f	41.6±1.2
	Kist	97.0±0.0 ^a	96.0±0.0 ^b	93.3±0.3 ^c	92.3±0.3 ^d	92.3±0.3 ^e	90.6±0.3 ^f	89.0±0.0
2.5 mg/ml	Trofozoit	98.0±0.0 ^a	93.3±0.3 ^b	90.6±0.3 ^c	87.0±0.0 ^d	83.0±0.5 ^e	72.0±2.5 ^f	52.6±1.7
	Kist	98.0±0.0 ^a	96.6±0.3 ^b	95.3±0.3 ^c	93.3±0.3 ^d	92.6±0.3 ^e	91.6±0.3 ^f	90.0±0.0
1.25 mg/ml	Trofozoit	98.6±0.6 ^a	95.0±0.0 ^b	93.3±0.3 ^c	89.6±0.6 ^d	85.3±0.8 ^e	78.0±1.5 ^f	63.6±0.3
	Kist	99.0±0.0 ^a	97.6±0.3 ^b	95.6±0.3 ^c	94.6±0.3 ^d	93.6±0.3 ^e	91.6±0.3	90.6±0.3
Kontrol	Trofozoit	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0±0.0	99.0±0.0	98.0±0.8	97.0±0.0
	Kist	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0±0.0	99.3±0.3	99.3±0.3	99.0±0.0

Veriler ortalama ± standart hata olarak ifade edilmiştir.

a, b, c, d, e, f: 72. saatten farklı istatistiksel değerlerdir, p (0.05).

a: 1. - 72. saat; b: 3. - 72. saat; c: 6. - 72. saat; d: 8. - 72. saat; e: 24. - 72. saat; f: 48. - 72. saat.

A. castellanii trofozoitleri üzerine amoebisidal etkilerin ölçüldüğü 1., 3., 6., 8., 24., 48. saatler ile 72. saatteki % canlılık oranları arasındaki istatistiksel farklar incelendiğinde Çizelge 4.1’ de görüldüğü gibi *O. sigmoideum* 40 mg/ml konsantrasyonundaki metanol özütünde 72 saatte gözlenen % canlılık oranları ile diğer tüm saatler arasında anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir. Yine aynı bitkinin 20 mg/ml konsantrasyonundaki metanol özütünde 8., 24., 48. saatler ile 72. saat arasında % canlılık oranları bakımından herhangi bir farklılık gözlenmemiştir. *O. sigmoideum* metanol özütlerinin diğer konsantrasyonlarında (10, 5, 2.5, 1.25 mg/ml) uygulanan tüm saatler ile 72. saat arasında % canlılık oranları bakımından anlamlı farklılık gözlenmiştir (Çizelge 4.1).



Şekil 4.1. Metanol ile farklı konsantrasyonlarda hazırlanan *O. sigmoideum* özütünün farklı saatlerde *A. castellanii* trofozoitleri üzerine amoebisidal etkisinin grafiği

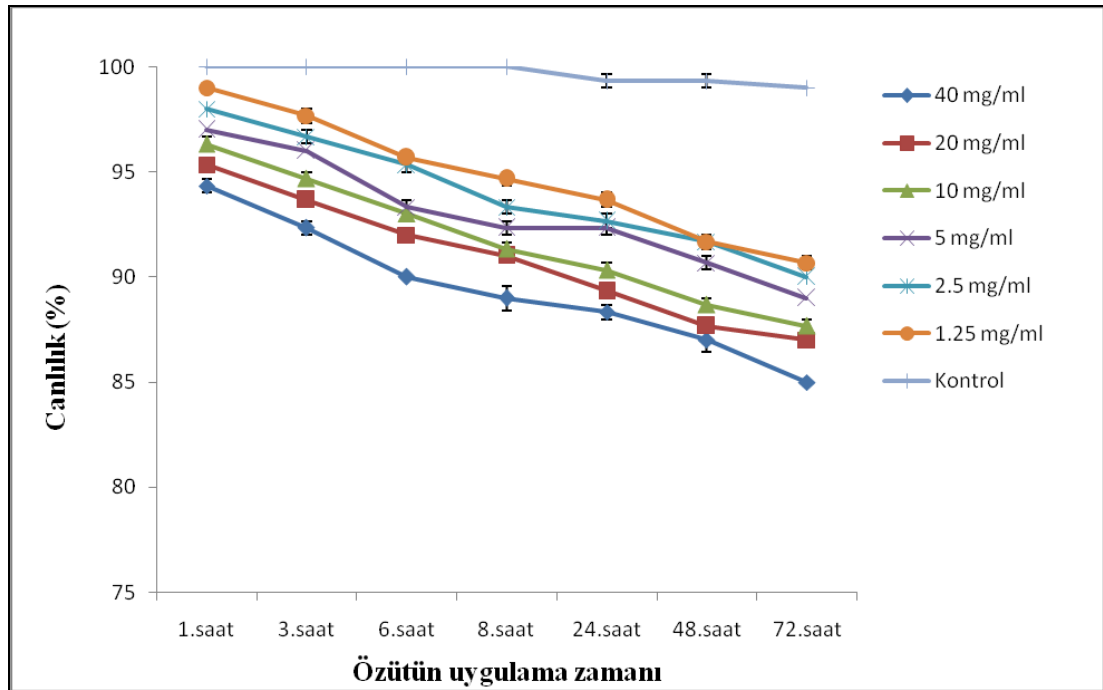
O. sigmoideum metanol özütünün *A. castellanii* trofozoit formu üzerindeki yaklaşık IC50 değeri sırasıyla 72., 48., 24., 8., 6., 3. ve 1. saatlerde 2.9, 6.6, 8.3, 10.1, 12.1, 15.6 ve 23.2 mg/ml olarak bulunmuştur (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.2. Farklı konsantrasyonlardaki *O. sigmoideum* metanol özütünün *A.castellani* trofozoit formu üzerindeki IC50 değeri

<i>A. castellanii</i>	Uygulanan saat	% 50 inhibitör konsantrasyon (IC50)
Trofozoit	72	2.9 mg/ml
	48	6.6 mg/ml
	2	8.3 mg/ml
	8	10.1 mg/ml
	6	12.1 mg/ml
	3	15.6 mg/ml
	1	23.2 mg/ml

4.2. *O. sigmoideum* özütünün metanol (% 1) ile hazırlanan konsantrasyon serilerinin *A. castellanii* kistleri üzerine amoebisidal etkisi

Çizelge 4.1’de görüldüğü gibi, *O. sigmoideum* metanol özütünün 40 mg/ml konsantrasyonunda 72. saatin sonunda *A.castellani* kist formu üzerindeki % canlılık etkisi (85 ± 0.0) olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.1; Şekil 4.2).



Şekil 4.2. Metanol ile farklı konsantrasyonlarda hazırlanan *O. sigmoideum* özütünün farklı saatlerde *A. castellanii* kistleri üzerine amoebisidal etkisinin grafiği

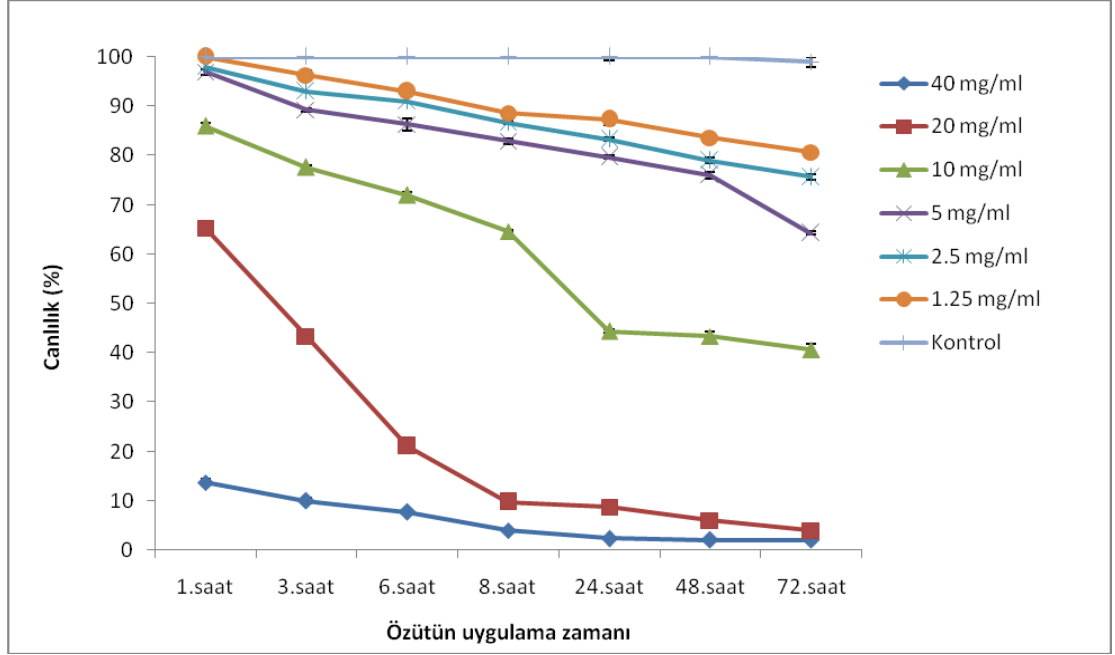
A. castellanii kistleri üzerine amoebisidal etkilerin ölçüldüğü 1., 3., 6., 8., 24., 48. saatler ile 72. saatteki % canlılık oranları arasındaki istatistiksel farklılıklar

incelendiğinde Çizelge 4.1' de görüldüğü gibi *O. sigmoideum* 40 mg/ml konsantrasyonundaki metanol özütünde 72 saatte gözlenen % canlılık oranları ile diğer tüm saatler arasında anlamlı farklılık olduğu tespit edilmiştir. Yine aynı bitkinin 20, 10 ve 1.25 mg/ml konsantrasyonlarındaki metanol özütlerinde 48. saat ile 72. saat arasında % canlılık oranları bakımından herhangi bir farklılık gözlenmemiştir. *O. sigmoideum* metanol özütlerinin diğer konsantrasyonlarında (5 ve 2.5) uygulanan tüm saatler ile 72. saat arasında % canlılık oranları bakımından anlamlı farklılık gözlenmiştir (Çizelge 4.1).

4.3. *O. sigmoideum* özütünün ringer solüsyon ile hazırlanan konsantrasyon serilerinin *A. castellanii* trofozoitleri üzerine amoebisidal etkisi

Çizelge 4.3'te ve Şekil 4.3' te görüldüğü gibi, *O. sigmoideum* özütünün ringer solüsyon ile hazırlanan konsantrasyon serilerinden 40 mg/ml konsantrasyonda 1. saatte trofozoitlerin çoğu ölmüş olup 72. saatin sonunda çok az miktarda canlı trofozoite rastlanmıştır. *O. sigmoideum* ringer özütü (40 mg/ml) 72. saatin sonunda *A. castellanii* trofozoit formu üzerindeki % canlılık etkisi (2.0 ± 0.0) olarak tespit edilmiştir 20 mg/ml konsantrasyonda ise 8. saaten sonra canlı trofozoit sayısında hızlı bir azalma olmuş ve 72. saat sonunda trofozoitler üzerindeki % canlılık etkisi (4.0 ± 0.0) olarak bulunmuştur. Kontrol grubunda bitki özütü bulunmayıp sadece *A. castellanii* trofozoit ile ringer solüsyon içermektedir. Kontrol grubuna Çizelge 4.3'e bakıldığında 72. saatin sonunda canlı trofozoit sayısı yaklaşık % 1'lik hücre ölümüyle neredeyse hiç azalmamıştır. Oysa sadece *A. castellanii* trofozoitleri ile metanol (%1) solüsyonu içeren Çizelge 4.1'deki Kontrol grubuna bakıldığında 72. saatin sonunda % 3'lük hücre ölümü gözlenmiştir.

40 mg/ml ringer özüt konsantrasyonu ile uygulanan saatlere göre % canlılık oranları arasındaki farklılıklar Çizelge 4.3'te gösterilmiştir. Buna göre 1.(a), 3.(b), 6.(c), 8.(d), 24.(e), 48.(f) saat ile 72. saat arasında anlamlı istatistiksel farklılıklar ($p < 0.05$) bulunmuştur.



Şekil 4.3. Ringer ile farklı konsantrasyonlarda hazırlanan *O. sigmoideum* özütünün farklı saatlerde *A. castellanii* trofozoit üzerine amoebisidal etkisinin grafiği

A. castellanii trofozoitleri üzerine amoebisidal etkilerin ölçüldüğü 1., 3., 6., 8., 24., 48. saatler ile 72. saatteki % canlılık oranları arasındaki istatistiksel farklılıklar incelendiğinde Çizelge 4.3' de görüldüğü gibi *O. sigmoideum* 40 mg/ml konsantrasyonundaki ringer özütünde 72 saatte gözlenen % canlılık oranları ile 8., 24. ve 48. saatler arasında anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir. Yine aynı bitkinin 20, 10, 2.5, 1.25 mg/ml konsantrasyonundaki ringer özütünde 48. saat ile 72. saat arasında % canlılık oranları bakımından herhangi bir farklılık gözlenmemiştir. *O. sigmoideum* ringer özütlerinden 5 mg/ml konsantrasyonunda uygulanan tüm saatler ile 72. saat arasında % canlılık oranları bakımından anlamlı farklılık gözlenmiştir (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.3. Farklı konsantrasyonlardaki *O. sigmoideum* ringer özütünün *A.castellani* trofozoit ve kist formu üzerindeki yüzde (%) canlılık etkisi

Konsantrasyon	Yaşam formu	Deney periyodu						
		1. saat	3. saat	6. saat	8. saat	24. saat	48. saat	72. saat
40 mg/ml	Trofozoit	13.6±0.6 ^a	10.0±0.5 ^b	7.6±0.3 ^c	4.0±0.0	2.3±0.3	2.0±0.0	2.0±0.0
	Kist	95.0±0.0 ^a	92.0±0.0 ^b	91.0±0.0 ^c	90.0±0.0 ^d	89.6±0.3 ^e	89.0±0.0 ^f	87.0±0.0
20 mg/ml	Trofozoit	65.3±1.2 ^a	43.3±0.3 ^b	21.0±0.5 ^c	9.6±0.6 ^d	8.6±0.8 ^e	6.0±0.5	4.0±0.0
	Kist	96.0±0.0 ^a	94.6±0.3 ^b	93.0±0.0 ^c	92.0±0.5 ^d	91.6±0.3 ^e	90.0±0.0	89.0±0.0
10 mg/ml	Trofozoit	86.0±0.5 ^a	77.6±0.3 ^b	72.0±0.5 ^c	64.6±0.3 ^d	44.3±0.3 ^e	43.3±0.8	40.6±1.2
	Kist	97.3±0.3 ^a	95.6±0.3 ^b	94.6±0.3 ^c	92.6±0.3 ^d	92.0±0.0 ^e	91.6±0.3	90.3±0.3
5 mg/ml	Trofozoit	97.0±0.5 ^a	89.3±0.3 ^b	86.3±1.2 ^c	83.0±0.5 ^d	79.6±0.3 ^e	76.0±0.5 ^f	64.3±0.3
	Kist	98.0±0.0 ^a	96.3±0.3 ^b	95.3±0.3 ^c	94.0±0.5 ^d	93.3±0.0 ^e	92.0±0.0	91.0±0.0
2.5 mg/ml	Trofozoit	98.0±0.0 ^a	93.0±0.0 ^b	91.0±0.0 ^c	86.6±0.3 ^d	83.3±0.3 ^e	79.0±0.5	75.6±0.8
	Kist	98.3±0.3 ^a	96.6±0.3 ^b	96.0±0.0 ^c	94.6±0.3 ^d	93.6±0.3 ^e	92.6±0.3	92.0±0.0
1.25 mg/ml	Trofozoit	100.0±0.0 ^a	96.3±0.8 ^b	93.0±0.0 ^c	88.6±0.8 ^d	87.3±1.2 ^e	83.6±0.3	80.6±0.3
	Kist	99.0±0.0 ^a	98.0±0.0 ^b	97.0±0.0 ^c	95.6±0.3 ^d	94.6±0.3 ^e	94.0±0.0	93.0±0.0
Kontrol	Trofozoit	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0±0.0	99.0±0.6
	Kist	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0±0.0

Veriler ortalama ± standart hata olarak ifade edilmiştir.

a, b, c, d, e, f: 72. saatten farklı istatistiksel değerlerdir, p (0.05).

a: 1.- 72. saat; b: 3. - 72. saat; c: 6. - 72. saat; d: 8. - 72. saat; e: 24.-72. saat; f: 48. - 72. saat.

O. sigmoideum ringer özütünün *A.castellanii* trofozoit formu üzerindeki yaklaşık IC50 değeri sırasıyla 72., 48., 24., 8., 6., 3. ve 1. saatlerde 7.3, 8.4, 8.9, 11.9, 13.3, 16.7 ve 24.2 mg/ml olarak bulunmuştur (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.4. Farklı konsantrasyonlardaki *O. sigmoideum* ringer özütünün *A.castellanii* trofozoit formu üzerindeki IC50 değeri

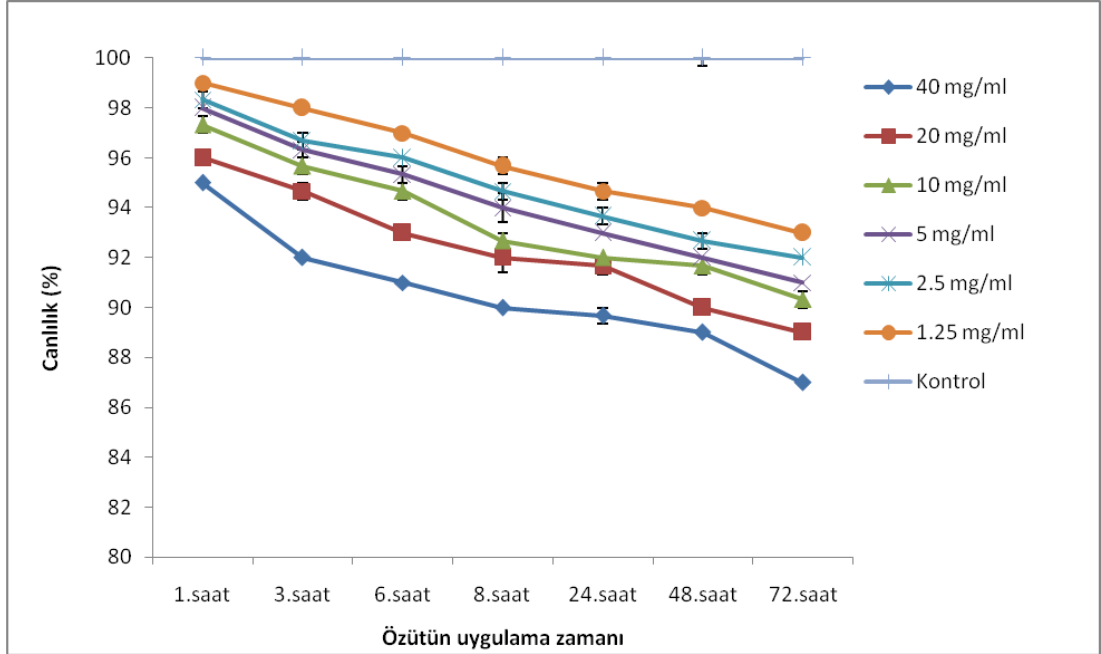
<i>A. castellanii</i>	Uygulanan saat	% 50 inhibitör konsantrasyon (IC50)
Trofozoit	72	7.3 mg/ml
	48	8.4 mg/ml
	24	8.9 mg/ml
	8	11.9 mg/ml
	6	13.3 mg/ml
	3	16.7 mg/ml
	1	24.2 mg/ml

4.4. *O. sigmoideum* özütünün ringer solüsyon ile hazırlanan konsantrasyon serilerinin *A. castellanii* kistleri üzerine amoebisidal etkisi

Çizelge 4.3'te ve Şekil 4.4'de görüldüğü gibi, *O. sigmoideum* özütünün ringer solüsyon ile hazırlanan konsantrasyon serilerinin tüm konsantrasyonlarında, beklendiği gibi canlı kist sayısında çok fazla miktarda azalma görülmemiş hatta metanol ile hazırlanan konsantrasyon serilerine göre daha az miktarda azalmanın söz konusu olduğu farkedilmiştir. *O. sigmoideum* ringer özütünün 40 mg/ml konsantrasyonunda 72. saatin sonunda *A.castellanii* kist formu üzerindeki % canlılık etkisi (87 ± 0.0) olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.3; Şekil 4.4). Kontrol grubunda bitki özütü bulunmayıp sadece *A. castellanii* kist ile ringer solüsyon içermektedir. Kontrol grubuna Çizelge 4.3'e bakıldığında, 72. saatin sonunda canlı kist sayısı hiç azalmamıştır.

A. castellanii kistleri üzerine amoebisidal etkilerin ölçüldüğü 1., 3., 6., 8., 24., 48. saatler ile 72. saatteki % canlılık oranları arasındaki istatistiksel farklılıklar incelendiğinde Çizelge 4.3' te görüldüğü gibi *O. sigmoideum* 40 mg/ml konsantrasyonundaki ringer özütünde 72 saatte gözlenen % canlılık oranları ile diğer tüm saatler arasında anlamlı farklılık olduğu tespit edilmiştir.

Yine aynı bitkinin 20, 10, 5, 2.5 ve 1.25 mg/ml konsantrasyonlarındaki metanol özütlerinde 48. saat ile 72. saat arasında % canlılık oranları bakımından herhangi bir farklılık gözlenmemiştir (Çizelge 4.3).

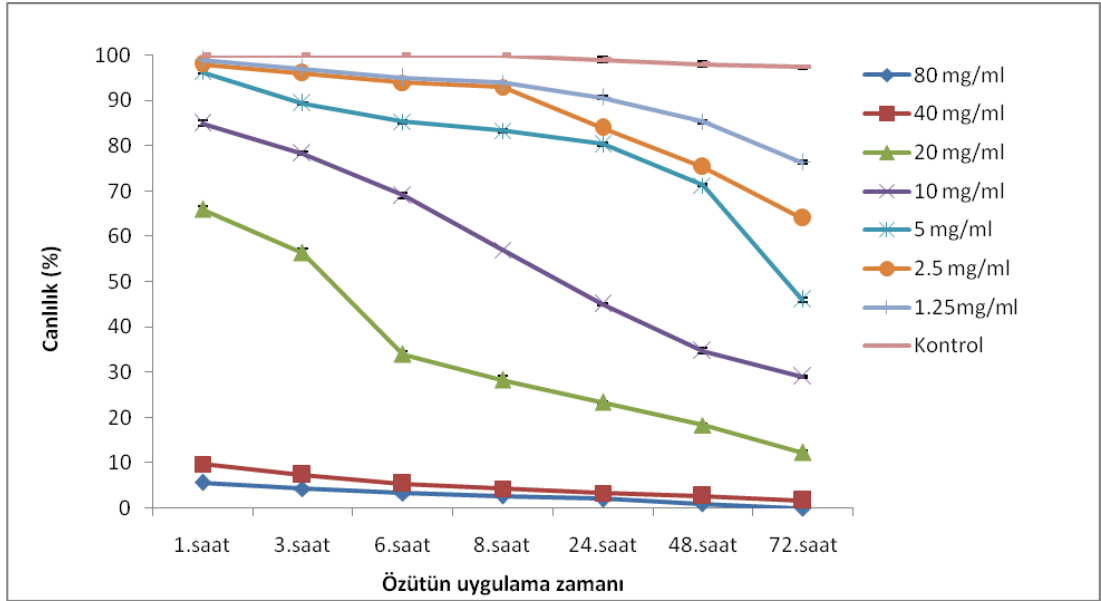


Şekil 4.4. Ringer ile farklı konsantrasyonlarda hazırlanan *O. sigmoideum* özütünün farklı saatlerde *A. castellanii* kistleri üzerine amoebisidal etkisinin grafiği

4.5. *T. orientalis* özütünün metanol (% 1) ile hazırlanan konsantrasyon serilerinin *A. castellanii* trofozoitleri üzerine amoebisidal etkisi

Çizelge 4.5 ve Şekil 4.5'te görüldüğü gibi, *T. orientalis* özütünün metanol ile hazırlanan konsantrasyon serilerinden 80 mg/ml konsantrasyonu 72. saatin sonunda trofozoitlerin tamamı üzerinde letal etki göstermiştir. 40 mg/ml konsantrasyonda ise canlı trofozoit sayısında hızlı bir düşüş olmuş, *A. castellanii* trofozoit formu üzerindeki % canlılık oranı 72. saatte (1.6 ± 0.3) olarak bulunmuştur. Ayrıca 20 ve 10 mg/ml konsantrasyonda ise 24. saatten sonra canlı trofozoit sayısında hızlı bir azalma tespit edilmiştir. 80 mg/ml metanol özüt konsantrasyonu ile uygulanan saatlere göre % canlılık oranları arasındaki farklılıklar Çizelge 4.5'te gösterilmiştir. Buna göre 1.(a), 3.(b), 6.(c), 8.(d), 24.(e), 48.(f), saat ile 72. saat arasında anlamlı istatistiksel farklılık ($p < 0.05$) bulunmuştur. Kontrol grubunda bitki özütü bulunmayıp sadece *A. castellanii* trofozoitleri ile metanol (%1) içermektedir. Kontrol grubuna

Çizelge 4.5'e bakıldığında metanolün toksik etkisinden dolayı 72. saatin sonunda canlı trofozoit sayısında yaklaşık % 3'lük bir azalma görülmüştür.



Şekil 4.5. Metanol ile farklı konsantrasyonlarda hazırlanan *T. orientalis* özütünün farklı saatlerde *A. castellanii* trofozoit üzerine amoebisidal etkisinin grafiği

A. castellanii trofozoitleri üzerine amoebisidal etkilerin ölçüldüğü 1., 3., 6., 8., 24., 48. saatler ile 72. saatteki % canlılık oranları arasındaki istatistiksel farklılıklar incelendiğinde, Çizelge 4.5'te görüldüğü gibi *T. orientalis*'in 80 mg/ml ve 40 mg/ml konsantrasyonundaki metanol özütünde 72 saat ile sadece 24. ve 48. saatler arasında anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir. *T. orientalis* metanol özütünün diğer konsantrasyonlarında (20, 10, 5, 2.5, 1.25 mg/ml) uygulanan tüm saatler ile 72. saat arasında % canlılık oranları bakımından anlamlı farklılık gözlenmiştir (Çizelge 4.5).

T. orientalis metanol özütünün *A. castellanii* trofozoit formu üzerindeki yaklaşık IC50 değeri sırasıyla 72., 48., 24., 8., 6., 3. ve 1. saatlerde 4, 7.2, 8.7, 11.1, 14.1, 21.4 ve 23.8 mg/ml olarak bulunmuştur (Çizelge 4.6).

Çizelge 4.5. Farklı konsantrasyonlardaki *T. orientalis* metanol özütünün *A.castellani* trofozoit ve kist formu üzerindeki yüzde (%) canlılık etkisi

Konsantrasyon	Yaşam formu	Deney periyodu						
		1. saat	3. saat	6. saat	8. saat	24. saat	48. saat	72. saat
80 mg/ml	Trofozoit	5.6±0.3 ^a	4.3±0.3 ^b	3.3±0.3 ^c	2.6±0.3 ^d	2.0±0.0	1.0±0.0	0.0±0.0
	Kist	93.6±0.3 ^a	93.3±0.3 ^b	91.6±0.6 ^c	89.6±0.6 ^d	87.6±0.3 ^e	86.6±0.3 ^f	84.6±0.3
40 mg/ml	Trofozoit	9.6±0.3 ^a	7.3±0.3 ^b	5.3±0.3 ^c	4.3±0.3 ^d	3.3±0.3	2.6±0.3	1.6±0.3
	Kist	95.3±0.3 ^a	94.0±0.0 ^b	92.6±0.3 ^c	91.3±0.3 ^d	89.6±0.3 ^e	88.0±0.0 ^f	86.0±0.0
20 mg/ml	Trofozoit	66.0±0.5 ^a	56.3±0.8 ^b	34.0±0.5 ^c	28.3±0.8 ^d	23.3±0.3 ^e	18.3±0.3 ^f	12.3±0.3
	Kist	96.3±0.3 ^a	94.6±0.3 ^b	93.6±0.3 ^c	92.3±0.3 ^d	90.0±0.5 ^e	88.6±0.3	87.6±0.3
10 mg/ml	Trofozoit	85.0±0.5 ^a	78.3±0.3 ^b	69.0±0.5 ^c	57.0±0.0 ^d	45.0±0.5 ^e	34.6±0.3 ^f	29.0±0.5
	Kist	96.6±0.3 ^a	95.3±0.3 ^b	94.3±0.3 ^c	92.6±0.3 ^d	90.6±0.3 ^e	89.6±0.3	88.6±0.3
5 mg/ml	Trofozoit	96.3±0.3 ^a	89.3±0.3 ^b	85.3±0.3 ^c	83.3±0.3 ^d	80.3±0.3 ^e	71.3±0.3 ^f	46.0±0.5
	Kist	97.6±0.3 ^a	96.6±0.3 ^b	95.3±0.3 ^c	93.6±0.3 ^d	92.6±0.3 ^e	91.3±0.3	89.6±0.3
2.5 mg/ml	Trofozoit	98.0±0.0 ^a	96.0±0.0 ^b	94.0±0.0 ^c	93.0±0.0 ^d	84.0±0.0 ^e	75.3±0.3 ^f	64.0±0.0
	Kist	98.6±0.3 ^a	97.3±0.3 ^b	96.0±0.0 ^c	94.6±0.3 ^d	93.6±0.3 ^e	92.3±0.3 ^f	90.3±0.3
1.25 mg/ml	Trofozoit	99.0±0.0 ^a	97.0±0.0 ^b	95.0±0.0 ^c	94.0±0.0 ^d	90.6±0.3 ^e	85.3±0.3 ^f	76.3±0.3
	Kist	99.6±0.3 ^a	98.3±0.3 ^b	96.6±0.3 ^c	95.3±0.3 ^d	94.3±0.3 ^e	92.3±0.3	91.3±0.3
Kontrol	Trofozoit	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0±0.0	99.0±0.5	98.0±0.5	97.3±0.3
	Kist	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0±0.0	99.3±0.3	99.3±0.0	99.0±0.3

Veriler ortalama ± standart hata olarak ifade edilmiştir.

a, b, c, d, e, f: 72. saatten farklı istatistiksel değerlerdir, p (0.05).

a: 1.- 72. saat; b: 3.- 72. saat; c: 6. - 72. saat; d: 8. - 72. saat; e: 24. - 72. saat; f: 48. - 72. saat.

Çizelge 4.6. Farklı konsantrasyonlardaki *T. orientalis* Metanol özütünün *A.castellanii* trofozoit formu üzerindeki IC50 değeri

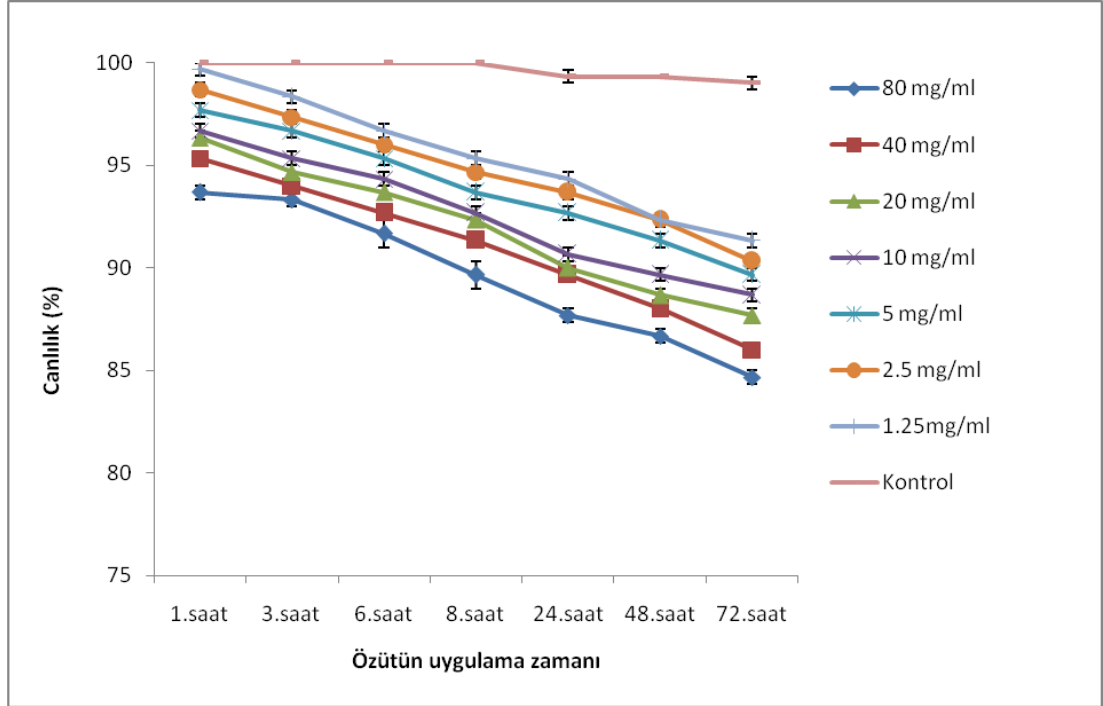
<i>A. castellanii</i>	Uygulanan saat	% 50 inhibitör konsantrasyon (IC50)
Trofozoit	72	4 mg/ml
	48	7.2 mg/ml
	24	8.7 mg/ml
	8	11.1 mg/ml
	6	14.1 mg/ml
	3	21.4 mg/ml
	1	23.8 mg/ml

4.6. *T. orientalis* özütünün metanol (% 1) ile hazırlanan konsantrasyon serilerinin *A. castellanii* kistleri üzerine amoebisidal etkisi

Çizelge 4.5 ve Şekil 4.6’da görüldüğü gibi, *T. orientalis* özütünün metanol ile hazırlanan konsantrasyon serilerinden 80 mg/ml konsantrasyonu 72. saatin sonunda kistlerin % canlılık oranı (84.6 ± 0.3) şeklinde bulunmuştur. Kontrol grubunda bitki özütü bulunmayıp sadece *A. castellanii* kist ile metanol (%1) solüsyon içermektedir. Şekil 4.6’ya bakıldığında, kontrol grubunda 72. saatin sonunda canlı kist sayısında % 1’lik hücre ölümü görülmüştür. Bu durum metanolün oluşturduğu toksik etkiye bağlanmaktadır.

A. castellanii kistleri üzerine amoebisidal etkilerin ölçüldüğü 1., 3., 6., 8., 24., 48. saatler ile 72. saatteki % canlılık oranları arasındaki istatistiksel farklılıklar incelendiğinde Çizelge 4.5’ te görüldüğü gibi *T. orientalis*’in 80, 40, 2.5 mg/ml konsantrasyonundaki metanol özütünde 72 saatte gözlenen % canlılık oranları ile diğer tüm saatler arasında anlamlı farklılıklar olduğu tespit edilmiştir.

Yine aynı bitkinin 20, 10, 5 ve 1.25 mg/ml konsantrasyonlarındaki metanol özütlerinde 48. saat ile 72. saat arasında % canlılık oranları bakımından herhangi bir farklılık gözlenmemiştir (Çizelge 4.5).

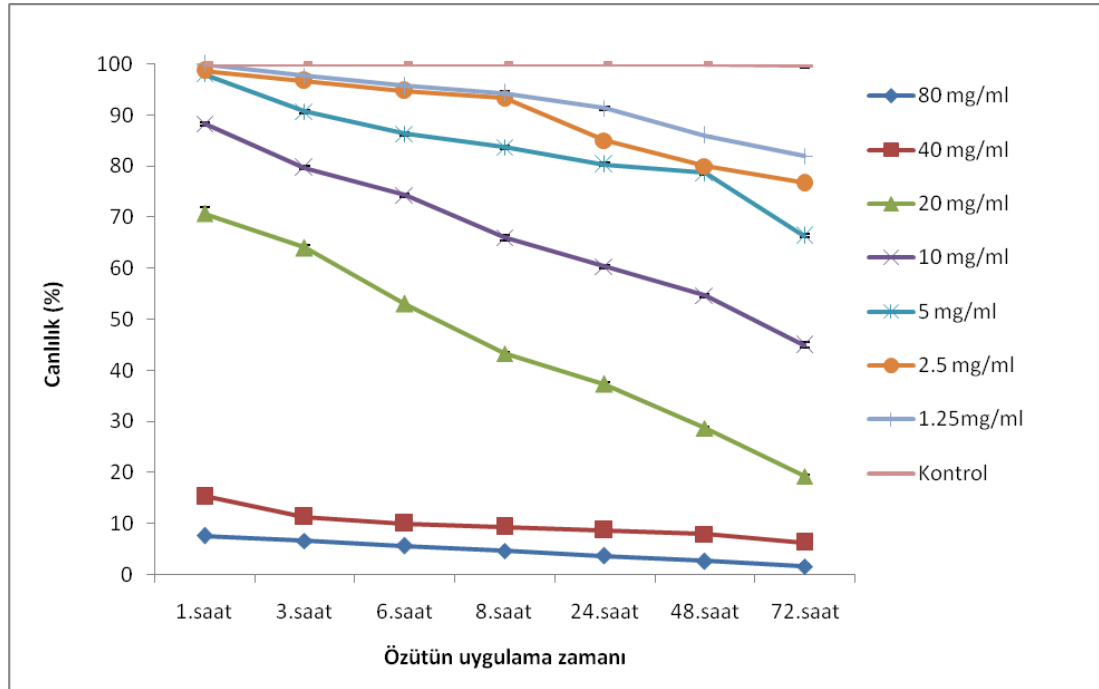


Şekil 4.6. Metanol ile farklı konsantrasyonlarda hazırlanan *T. orientalis* özütünün farklı saatlerde *A. castellanii* kistleri üzerine amoebisidal etkisinin grafiği

4.7. *T. orientalis* özütünün ringer solüsyon ile hazırlanan konsantrasyon serilerinin *A. castellanii* trofozoitleri üzerine amoebisidal etkisi

Çizelge 4.7’de görüldüğü gibi, *T. orientalis* özütünün ringer solüsyonu ile hazırlanan konsantrasyon serilerinden 80 mg/ml ve 40 mg/ml konsantrasyonlarında canlı trofozoit sayısında 1. saatte hızlı bir azalma olmakla beraber 72. saatin sonunda trofozoitlerin % canlılık oranı sırasıyla (1.6 ± 0.3) ve (6.3 ± 0.3) şeklinde bulunmuştur. 20 mg/ml ve 10 mg/ml konsantrasyonlarında ise, canlı trofozoit sayısında azalma devam ederek 72. saatin sonunda trofozoitlerin % canlılık oranı sırasıyla (19.3 ± 0.3) ve (45 ± 0.5) olarak gözlenmiştir. Kontrol grubunda bitki özütü bulunmayıp sadece *A. castellanii* trofozoit ile ringer solüsyon içermektedir. Kontrol grubuna Şekil 4.7’ye bakıldığında 72. saatin sonunda canlı trofozoit sayısında neredeyse hiç azalma görülmemiştir.

A. castellanii trofozoitleri üzerine amoebisidal etkilerin ölçüldüğü 1., 3., 6., 8., 24., 48. saatler ile 72. saatteki % canlılık oranları arasındaki istatistiksel farklılıklar incelendiğinde, Çizelge 4.7’de görüldüğü gibi *T. orientalis*’in 80 mg/ml konsantrasyonundaki ringer özütünde 72 saat ile sadece 24. ve 48. saatlerde, 40 mg/ml konsantrasyonunda ise 72 saat ile 48. saat arasında anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir.



Şekil 4.7. Ringer ile farklı konsantrasyonlarda hazırlanan *T. orientalis* özütünün farklı saatlerde *A. castellanii* trofozoitleri üzerine amoebisidal etkisinin grafiği

T. orientalis ringer özütünün diğer konsantrasyonlarında (20, 10, 5, 2.5, 1.25 mg/ml) uygulanan tüm saatler ile 72. saat arasında % canlılık oranları bakımından anlamlı farklılık gözlenmiştir (Çizelge 4.7).

Çizelge 4.7. Farklı konsantrasyonlardaki *T. orientalis* ringer özütünün *A.castellani* trofozoit ve kist formu üzerindeki yüzde (%) canlılık etkisi

Konsantrasyon	Yaşam formu	Deney periyodu						
		1. saat	3. saat	6. saat	8. saat	24. saat	48. saat	72. saat
80 mg/ml	Trofozoit	7.6±0.3 ^a	6.6±0.3 ^b	5.6±0.3 ^c	4.6±0.3 ^d	3.6±0.3	2.6±0.3	1.6±0.3
	Kist	95.3±0.3 ^a	94.3±0.3 ^b	93.0±0.0 ^c	91.6±0.3 ^d	90.0±0.0 ^e	88.3±0.3	87.0±0.5
40 mg/ml	Trofozoit	15.3±0.3 ^a	11.3±0.3 ^b	10.0±0.5 ^c	9.3±0.3 ^d	8.6±0.3 ^e	8.0±0.5	6.3±0.3
	Kist	96.0±0.0 ^a	95.0±0.0 ^b	93.3±0.3 ^c	92.0±0.5 ^d	90.6±0.3 ^e	89.6±0.3	88.0±0.0
20 mg/ml	Trofozoit	70.6±1.2 ^a	64.0±0.5 ^b	53.0±0.0 ^c	43.3±0.3 ^d	37.3±0.3 ^e	28.6±0.3 ^f	19.3±0.3
	Kist	97.0±0.0 ^a	96.0±0.0 ^b	94.6±0.3 ^c	94.0±0.0 ^d	92.3±0.3 ^e	90.6±0.3	89.6±0.3
10 mg/ml	Trofozoit	88.3±0.3 ^a	79.6±0.3 ^b	74.3±0.3 ^c	66.0±0.5 ^d	66.3±0.3 ^e	54.6±0.3 ^f	45.0±0.5
	Kist	98.3±0.6 ^a	96.6±0.3 ^b	95.3±0.3 ^c	94.3±0.3 ^d	93.0±0.0 ^e	92.0±0.0	91.0±0.0
5 mg/ml	Trofozoit	98.0±0.0 ^a	90.6±0.3 ^b	86.3±0.3 ^c	83.6±0.3 ^d	80.3±0.3 ^e	78.6±0.3 ^f	66.3±0.3
	Kist	99.0±0.0 ^a	97.0±0.0 ^b	96.0±0.0 ^c	94.6±0.3 ^d	94.0±0.0 ^e	93.0±0.5	92.0±0.0
2.5 mg/ml	Trofozoit	98.6±0.3 ^a	96.6±0.3 ^b	94.6±0.3 ^c	93.3±0.3 ^d	85.0±0.0 ^e	80.0±0.0 ^f	76.6±0.6
	Kist	99.3±0.3 ^a	98.3±0.6 ^b	96.6±0.3 ^c	95.3±0.3 ^d	94.6±0.3 ^d	93.3±0.3	93.0±0.0
1.25 mg/ml	Trofozoit	100.0±0.0 ^a	97.6±0.3 ^b	95.6±0.3 ^c	94.3±0.3 ^d	91.3±0.3 ^e	86.0±0.0 ^f	82.0±0.0
	Kist	99.6±0.3 ^a	99.0±0.0 ^b	97.0±0.0 ^c	96.6±0.3 ^d	95.6±0.3 ^e	94.6±0.3	93.6±0.3
Kontrol	Trofozoit	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0±0.0	99.6±0.3
	Kist	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0±0.0

Veriler ortalama ± standart hata olarak ifade edilmiştir.

a, b, c, d, e, f: 72. saatten farklı istatistiksel değerlerdir, p (0.05).

a: 1.- 72. saat; b: 3.- 72. saat; c: 6. - 72. saat; d: 8. - 72. saat; e: 24. - 72. saat; f: 48. - 72. saat

T. orientalis ringer özütünün *A.castellani* trofozoit formu üzerindeki yaklaşık IC50 değeri sırasıyla 72., 48., 24., 8., 6., 3. ve 1. saatlerde 8.5, 11.1, 14.4, 15.9, 20.9, 23.9 ve 25.8 mg/ml olarak bulunmuştur (Çizelge 4.8).

Çizelge 4.8. Farklı konsantrasyonlardaki *T. orientalis* ringer özütünün *A.castellanii* trofozoit formu üzerindeki IC50 değeri

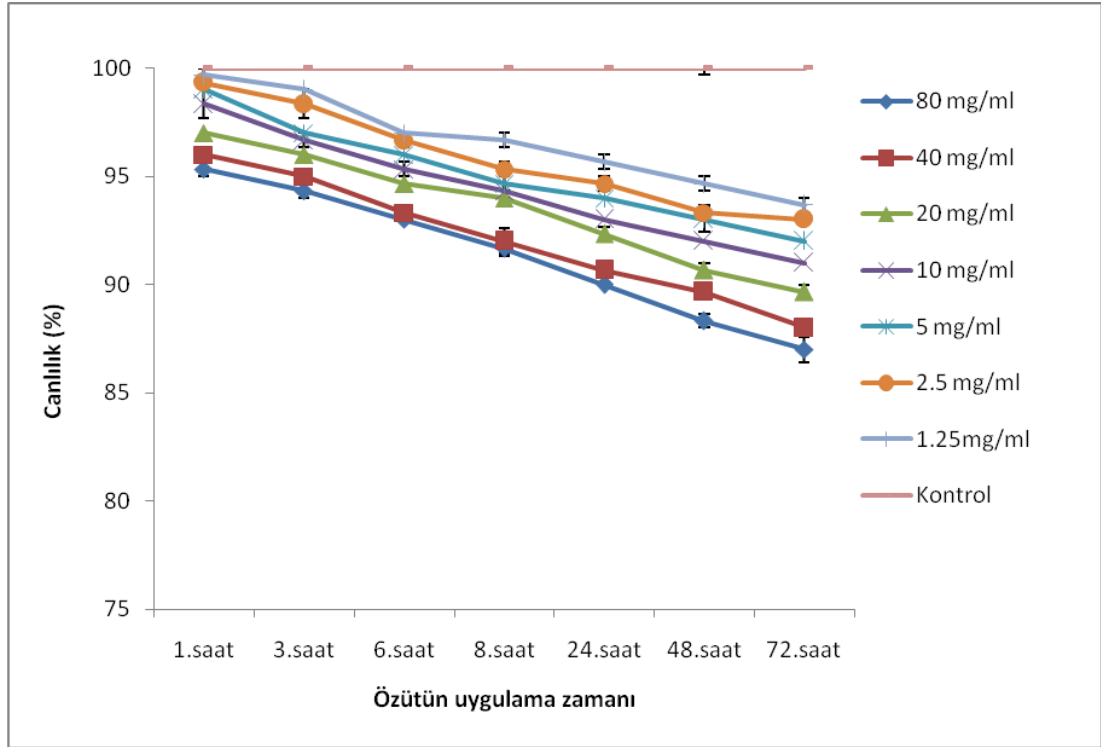
<i>A. castellanii</i>	Uygulanan saat	% 50 inhibitör konsantrasyon (IC50)
Trofozoit	72	8.5 mg/ml
	48	11.1 mg/ml
	24	14.4 mg/ml
	8	15.9 mg/ml
	6	20.9 mg/ml
	3	23.9 mg/ml
	1	25.8 mg/ml

4.8. *T. orientalis* özütünün ringer solüsyon ile hazırlanan konsantrasyon serilerinin *A. castellanii* kistleri üzerine amoebisidal etkisi

Çizelge 4.7 ve Şekil 4.8’de görüldüğü gibi, *T. orientalis* özütünün ringer ile hazırlanan konsantrasyon serilerinden 80 mg/ml konsantrasyonu 72. saatin sonunda kistlerin % canlılık oranı (87.0 ± 0.5) şeklinde bulunmuştur. Kontrol grubunda bitki özütü bulunmayıp sadece *A. castellanii* kist ile Ringer solüsyonu içermektedir. Çizelge 4.7’ye bakıldığında, kontrol grubunda 72. saatin sonunda canlı kist sayısı hiç azalmamıştır.

Çizelge 4.7’de görüldüğü gibi, *T. orientalis* özütünün ringer solüsyon ile hazırlanan konsantrasyon serilerinin tüm konsantrasyonlarında, canlı kist sayısında istenilen miktarda bir azalma görülmeyip hatta metanol ile hazırlanan konsantrasyon serilerine göre daha az miktarda azalma söz konusudur. Özütün ringer solüsyonu ile hazırlanan konsantrasyon serilerinin tamamı, 72. saatin sonunda kistlerin tümünü bertaraf edememiştir. Kontrol grubunda bitki özütü bulunmayıp sadece *A. castellanii* kist ile ringer solüsyon içermektedir. Kontrol grubuna Şekil 4.8’e bakıldığında, 72. saatin sonunda canlı kist sayısı hiç azalmamıştır.

A. castellanii kistleri üzerine amoebisidal etkilerin ölçüldüğü 1., 3., 6., 8., 24., 48. saatler ile 72. saatteki % canlılık oranları arasındaki istatistiksel farklılık incelendiğinde Çizelge 4.7’ te görüldüğü gibi *T. orientalis*’in 80, 40, 20, 10, 5, 2.5 ve 1.25 mg/ml konsantrasyonlarındaki ringer özütünde sadece 48. saat ile 72. saat arasında % canlılık oranları bakımından herhangi bir farklılık gözlenmemiştir (Çizelge 4.7).



Şekil 4.8. Ringer ile farklı konsantrasyonlarda hazırlanan *T. orientalis* özütünün farklı saatlerde *A. castellanii* kistleri üzerine amoebisidal etkisinin grafiği

Acanthamoeba türleri, serbest yaşayan amipler arasında olup doğada, toprak ve sularda yaygın olarak bulunmaktadır (Maghsood ve ark., 2005; Winck ve ark., 2011; Siddiqui ve Khan, 2012; Ergüden, 2015). *Acanthamoeba* türlerinin sebep olduğu *Acanthamoeba keratiti* (AK), Granülomatöz amibik ensefalit (GAE), Kutanöz acanthamoebiasis gibi önemli enfeksiyonlar son yıllarda artış göstermektedir (Siddiqui ve Khan, 2012; Ergüden, 2015). Bu enfeksiyonların eradikasyonunda, erken tanı ve etkili tedavi büyük önem taşımaktadır.

Günümüzde kullanılan antiparaziter ilaçlar, MSS ve göz gibi bazı anatomik bölgelerde yeterince etkili olmadıklarından *Acanthamoeba* türlerine bağlı enfeksiyonların tedavisinde yetersiz kalmaktadır. Ayrıca AK tedavisi günümüzde, klorheksidin ve polihexametilen biguanid gibi katyonik antiseptiklerin ya tek başına ya da ikisinin kombinasyonu şeklinde uygulanmaktadır. GAE, AK'ne göre daha az görüldüğü için GAE'nin standart tedavi şeması henüz bulunmamaktadır (Fiori ve ark., 2006; Ergüden, 2015). Katyonik antiseptikler, antifungaller ve makrolid grubu antibiyotikler, in vitro ve in vivo olarak test edilmiş ancak tedavide her zaman başarılı sonuçlar alınamamıştır (Mattana ve ark., 2004; Ergüden, 2015). Bazı anti-ameobik ilaçlar sadece amoebastatik etki göstermekte ve tedavide kullanılan moleküller, konak için sitotoksik etki gösterebilmektedir. Anti-ameobik ilaç tedavileri, uzun süre uygulandıklarında hasta tarafından iyi tolere edilememekte, ve bu ilaçlara zamanla mikroorganizmalar tarafından direnç gelişebilmektedir (Fiori ve ark., 2006; Aydın, 2008). Bu problemler sebebiyle trofozoitler ve kistler üzerinde etkili, iyi tolere edilebilen ve sitotoksik olmayan ilaç arayışları halen devam etmektedir (Saygı ve Polat, 2003; Ergüden, 2015). Mevcut tedavilerin istenilen aktivite ve selektiviteye sahip olmaması, tedavi sürelerinin uzun olması ve buna bağlı yan etkilerin ortaya çıkması, kronik enfeksiyonlarda gözlenen kist formlarının ilaçlara dirençli oluşu gibi problemlerin ortadan kaldırılması için alternatif tedavi yöntemlerine ihtiyaç duyulmaktadır. Bu bağlamda bitkisel kimyasallara doğru bir eğilim söz konusu olmaktadır. Modern tıpta ve ilaç endüstrisinde, bitkisel kaynaklı kimyasalların kullanılması yönündeki eğilim artarak devam etmektedir (Vidal ve ark., 2007; Inbaneson ve ark., 2012).

Bitkilerden elde edilen uçucu yağların veya özütlerin amoebisidal aktivitelerinin araştırıldığı çalışmalar son yıllarda hızla artış göstermektedir. *Acanthamoeba* türleriyle ilgili bu alanda yapılan çalışmalarda buna paralel olarak devam etmektedir. Ancak, yapılan çalışmalarda etkili bulunan uçucu yağların ya da bitkisel özütlerin biyolojik aktivitesinden sorumlu olan bileşenlerin etki mekanizmaları hakkındaki bilgiler sınırlı kalmaktadır.

Birçok çalışmada farklı bitki türlerinin metanol ile hazırlanmış özütleri kullanılarak *A. castellanii* trofozoitleri ve kistleri üzerinde in vitro amoebisidal etkileri karşılaştırma yapılarak araştırılmıştır. Örneğin, Polat ve ark., (2007c), *A. castellanii*'ye karşı Türkiye'den dört *Allium* türünün (*Allium sivasicum*, *Allium dictyoprosom*, *Allium scrodoprosom* subsp. *rotundum*, ve *Allium atroviolaceum*) metanol özütlerinin in vitro amoebisidal etkinliğini ve korneal hücrelerdeki sitotoksitesini araştırmışlardır. Çalışmalarının sonucunda *Allium scrodoprosom* subsp. *Rotundum*'un en güçlü amoebisidal etki gösterdiğini vurgulamışlardır. Göze ve ark., (2009), *A. castellanii* trofozoitleri ve kistleri üzerine *Salvia* türlerinin (*S. caespitosa* ve *S. staminea*) metanol özütlerinin in vitro etkilerini incelemişler ve *S. staminea*'nın metanol özütünün daha güçlü amoebisidal etkisinin olduğunu belirtmişlerdir. Malatyalı ve ark., (2011a), *Peucedanum caucasicum*, *Peucedanum palimbioides*, *Peucedanum chryseum* ve *Peucedanum longibracteolatum*'un metanol özütlerini *A. castellanii* trofozoitleri ve kistleri üzerine in vitro amoebisidal etkinliğini değerlendirmişlerdir. *P. longibracteolatum*'un, en güçlü amoebisidal etkiyi gösterdiğini belirtmişlerdir. Malatyalı ve ark., (2011b), *Satureja cuneifolia* ve *Melissa officinalis* metanol özütlerini *A. castellanii* trofozoitleri ve kistleri üzerine in vitro amoebisidal etkinliğini değerlendirmişlerdir. *S. cuneifolia*'nın, daha güçlü amoebisidal etkiyi gösterdiğini belirtmişlerdir. Tepe ve ark., (2011), *Teucrium polium* ve *Teucrium chamaedrys*'in metanol özütlerini *A. castellanii* trofozoitleri ve kistleri üzerine in vitro amoebisidal etkinliğini değerlendirmişlerdir. *T. chamaedrys*'in en güçlü amoebisidal etkiyi gösterdiğini belirtmişlerdir. Değerli ve ark., (2012), *Origanum syriacum* ve *Origanum laevigatum* metanol özütlerini *A. castellanii* trofozoitleri ve kistleri üzerinde amoebisidal etkinliğini incelemişlerdir. *O. syriacum*'un en güçlü amoebisidal etkiyi gösterdiğini belirtmişlerdir.

Sunulan çalışmada da, *O. sigmoideum*'un ve *T. orientalis*'in farklı konsantrasyonlardaki metanol (%1) özütleri *A. castellanii* trofozoitleri ve kistleri üzerinde amoebisidal aktivitesi in vitro olarak incelenmiştir. *O. sigmoideum*'un metanol (%1) özütünün *A. castellanii* trofozoitleri ve kistleri üzerinde amoebisidal aktivitesinin *T. orientalis*'in metanol (%1) özütüne göre daha etkili olduğu gözlenmiştir.

Araştırmada; *O. sigmoideum* ile *T. orientalis* metanol (%1) özütlerinin *A. castellanii* trofozoitleri üzerine amoebisidal etkileri karşılaştırıldığında, *O. sigmoideum*'dan elde edilen metanol (%1) özütü, *Acanthamoeba* trofozoitleri üzerinde *T. orientalis*'in metanol (%1) özütünden daha etkili olduğu bulunmuştur.

O. sigmoideum ile *T. orientalis* metanol (%1) özütlerinin *A. castellanii* kistleri üzerine amoebisidal etkileri karşılaştırıldığında, *A. castellanii* kistlerinin her iki özüte karşı duyarlılığı birbirinden çok farklı olmayıp *Acanthamoeba* trofozoitleriyle karşılaştırıldıklarında, trofozoitlerin özütlere olan duyarlılığının kistlerden daha fazla olduğu görülmüştür. Bu durum, *O. Sigmoideum*'da bulunan farklı sekonder metabolitlerin amoebisidal etkisinden kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir.

Birçok araştırmacı tarafından metanol dışında farklı çözücüler kullanılarak da bitki özütlerinin hazırlandığı araştırmalar yapılmıştır. Örneğin, Topalkara ve ark., (2007), propolisin etanol özütünü, *A. castellanii* trofozoitleri ve kistleri üzerindeki in vitro amoebisidal etkilerini araştırmışlar ve güçlü bir amoebisidal etkisinin olduğunu vurgulamışlardır. Rodio ve ark., (2008), *Pterocaulon polystachyum*'un hekzan, diklorometan ve metanol özütlerini *A. castellanii*'ye karşı denemişlerdir. *A. castellanii*'ye karşı en etkili amoebisidal aktiviteyi hekzan ile hazırlanan özütün gösterdiğini belirtmişlerdir. Değerli ve ark., (2011a), *Pastinaca armenea* ve *Inula oculus-christi* bitkilerinden deiyonize su kullanarak hazırlanan özütlerini *A. castellanii*'ye karşı in vitro amoebisidal etkinliğini değerlendirmişlerdir. *Inula oculus-christi*'nin, trofozoitler ve kistler üzerinde en güçlü amoebisidal etkiyi gösterdiğini vurgulamışlardır. Nagwa ve ark., (2011), *Arachis hypogaea* L. , *Curcuma longa* L. ve *Pancreatium maritimum* L. bitkilerinden etanol ile hazırlanan özütlerin *A. castellanii* kistleri üzerinde in vitro amoebisidal etkinliğini değerlendirmişlerdir. Sonuç olarak, *A. hypogaea*, *C. longa* ve *P. maritimum*'un

etanol özütlerinin *Acanthamoeba* kistlerine karşı tüm özütlerin, Klorheksidin'den daha etkili olduğunu bulmuşlardır. Sifaoui ve ark., (2013), Tunus'taki beş farklı zeytin ağaçlarından (*Chemlali Tataouine, Zarrazi, Toffehi, Dhokkar ve Limouni*) üç farklı çözücü (metanol, etanol ve her ikisinin karışımı) kullanılarak elde edilmiş yaprak özütlerini *A. castellanii*'ye karşı amoebisidal etkinliğini incelemiştir. *Dhokkar* yaprağının metanol özütü en güçlü amoebisidal etkiyi göstermiştir. Badria ve ark., (2014), amibik keratitten izole edilen *A. castellanii* kistlerine karşı *Helianthemum lippii* (L.) 'nin etil asetat ve metanol özütlerinin amoebisidal etkilerini in vitro incelemiştir. Etil asetat özütlerinin metanol özütlerinden daha etkili olduğunu belirtmişlerdir. Derda ve ark., (2015), *Artemisia annua L* bitkisinin deiyonize su, alkol ve kloroform özütlerinin acanthamoebiasis tedavisinde antibiyotiklerle kombine olarak in vivo test etmişlerdir. Kloroform ile hazırlanan özütleri daha etkili bulmuşlardır. Mahboob ve ark., (2016), *Lonicera japonica* bitkisinin kurutulmuş çiçek tomurcuklarından etil asetat, su ve bütanol ile hazırlanan özütlerini *Acanthamoeba triangularis*'e karşı in vitro amoebisidal aktivitesini incelemiştir. Etil asetat ile hazırlanan özütün en güçlü amoebisidal etkiyi göstermiş olduğunu belirtmişlerdir. Dodangeh ve ark., (2017), *Ziziphus vulgaris*'in sulu özütlerini (kloroform, su ve alkol) *Acanthamoeba* trofozoit ve kistlerine karşı in vitro amoebisidal etkilerini araştırmışlardır. Ek olarak, fare peritoneal makrofajları üzerinde de sitotoksitesini test etmişlerdir. Kloroform özütünün diğer özütlerle göre daha yüksek bir amoebisidal aktivitesi olduğunu ortaya koymuşlar ve özütlerin herhangi bir sitotoksite göstermediğini de vurgulamışlardır. Bu örneklerden anlaşılacağı gibi, farklı özütlerin amoebisidal etkileri karşılaştırmalı olarak incelendiğinde her bir çalışmadan alınan sonuçlar birbirine benzer bulunmamıştır.

Çalışmada da *O. sigmoideum* ve *T. orientalis* özütleri, metanol (%1) dışında ringer solüsyonu kullanılarak da hazırlanmıştır. Farklı konsantrasyonlardaki metanol (%1) ve ringer özütlerinin *A. castellanii* trofozoitleri ve kistleri üzerinde in vitro amoebisidal aktivitesi araştırılmıştır. Ringer özütünün *A. castellanii* trofozoitleri ve kistleri üzerinde amoebisidal aktivitesinin metanol (%1) özütüne göre daha az etkili olduğu gözlenmiştir. Ancak, sadece metanol (%1) içeren kontrol gruplarında 24. saatten başlayıp 72. saate kadar yaklaşık olarak 0.7-3 % arasında hücre ölümü gözönüne alındığında kullanılan bitkilerin dışında metanolün kendisinin de

trofozoitler ve kistler için az da olsa toksik etkiye sahip olduğu ortaya konulmuştur. Bununla beraber, sadece ringer içeren kontrol gruplarında uygulanan farklı saatlerin neredeyse hiçbirinde trofozoitlerin ve kistlerin ölümü sözkonusu değildir.

O. sigmoideum ile *T. orientalis* ringer özütlerinin *A. castellanii* trofozoitleri üzerine amoebisidal etkileri karşılaştırıldığında, *O. sigmoideum*'dan elde edilen ringer özütünün de *Acanthamoeba* trofozoitleri üzerinde *T. orientalis*'in ringer özütünden daha etkili olduğu gözlenmiştir.

O. sigmoideum ile *T. orientalis* ringer özütlerinin *A. castellanii* kistleri üzerinde amoebisidal etkileri karşılaştırıldığında, *A. castellanii* kistlerinin her iki özüte karşı duyarlılığı birbirinden çok farklı olmayıp *Acanthamoeba* trofozoitleriyle karşılaştırıldıklarında, trofozoitlerin özütlere olan duyarlılığının kistlerden daha fazla olduğu görülmüştür. Bu durum, ringer solüsyonunun parazitin besiyerinde kullanıyor olmasından da kaynaklanmış olabilir.

Bitkisel özütlerin ve uçucu yağların, *A. castellanii* kistleri ve trofozoitleri üzerine etkisi ve memeli hücreleri üzerinde sitotoksik etkileriyle ilgili farklı sonuçlar elde edildiği görülmektedir. Memeli hücrelerinde sitotoksik etkinin varlığını bildiren çalışmaların yanında en yüksek konsantrasyonlarda bile herhangi bir sitotoksitenin görülmediğini bildiren çalışmalar da bulunmaktadır. Sunulan çalışmada ise *O. sigmoideum* ve *T. orientalis* bitki özütlerinin *A. castellanii* kistleri ve trofozoitleri üzerinde amoebisidal etkisi in vitro olarak incelenmiş ve her iki özüt için farklı oranlarda amoebisidal etki gözlenmiştir. Böylece, *O. sigmoideum* ve *T. orientalis* bitki özütlerinin *A. castellanii* trofozoitleri ve kistleri üzerinde sitotoksik aktiviteye sahip olduğu ve bu aktivitenin konsantrasyonlara bağlı olarak değiştiği vurgulanmıştır. *O. sigmoideum* özütünün, trofozoitler ve kistler için *T. orientalis*'e göre daha güçlü amoebisidal etki gösterdiği belirlenmiştir. *O. sigmoideum* ve *T. orientalis* bitkilerinden elde edilen özütlerin *Acanthamoeba* enfeksiyonlarında fitoterapi amacıyla kullanılabilir alternatif ürünler olabileceği ortaya konulmuştur. Ayrıca, kullanılan özütlerin sitotoksik aktiviteye neden olan etken maddelerinin tespiti ve biyolojik etkinliğinin doğrulanması için bu çalışmanın temel oluşturacağı düşünülmektedir.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Son yıllarda, sentetik bileşikli ilaçların kullanımına bağlı yaşanan problemlerin giderilebilmesi için bitkisel potansiyelin açığa çıkarılması büyük önem taşımaktadır. Yüzyıllar boyunca halk arasında gıda, baharat, çay veya şifa gibi amaçlarda da kullanılan bitkiler, yakın zamana kadar gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerin sentetik bileşimli ilaçlara karşı alternatif doğal kaynaklarını oluşturmaktadırlar. Türkiye’de bitkisel bileşenlerin biyolojik aktivite potansiyellerinin ortaya çıkarılması 1990’lı yılların ilk yıllarında başlamıştır.

Sunulan çalışmada, *O. sigmoideum* ve *T. orientalis* bitkilerinden elde edilen ringer ve metanol (% 1) özütlerinin *Acanthamoeba castellanii* kistleri ve trofozoitleri üzerindeki yüzde (%) canlılık etkisi ve IC50 değeri araştırılmıştır. Ulaşılan kaynak bilgilerde bu bitkilerin anti-amoebik aktivitelerinin incelendiği bir araştırmaya rastlanılmamıştır. Bu çalışmanın da paraziter hastalıkların tedavisinde alternatif olarak bitkisel kaynakların kullanımına katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

O. sigmoideum’un 40 mg/ml metanol (% 1) özütü çok güçlü amoebisidal etki göstererek 48. saatte canlı parazite rastlanılmamıştır. Bitkinin aynı saatteki IC50 değeri 6.6 mg/ml olarak bulunmuştur. *T.orientalis*’in 80 mg/ml metanol (% 1) özütü de çok güçlü amoebisidal etki göstererek 72. saatte benzer sonuç elde edilmiştir. Yine aynı saatteki IC50 değeri 4 mg/ml olarak bulunmuştur.

Çalışmada *O. sigmoideum* ve *T. orientalis* metanol (% 1) özütlerinin *A. castellanii* kistlerine ve trofozoitlerine karşı amoebisidal etkileri karşılaştırıldığında ise, *O. sigmoideum*’dan elde edilen metanol (% 1) özütünün, *Acanthamoeba* trofozoitleri üzerinde *T. orientalis*’den daha etkili olduğu bulunmuştur. Ayrıca, *O. sigmoideum* ve *T.orientalis* metanol (% 1) özütlerine karşı *A. castellanii* trofozoitlerin duyarlılığının kistlerden daha fazla olduğu görülmüştür. Kistlerin özütlere karşı duyarlılığı ise benzer olarak saptanmıştır.

O. sigmoideum’un 40 mg/ml ringer özütü de güçlü amoebisidal etki göstererek 72. saatte % canlılık oranı 2.0 ± 0.0 şeklinde gösterilmiştir. *O. sigmoideum* ringer özütünün *A.castellanii* trofozoit formu üzerindeki IC50 değeri 72. saatte 7.3 mg/ml olarak bulunmuştur. *T.orientalis*’in 80 mg/ml ringer özütü de güçlü amoebisidal etki göstererek 72. saatte % canlılık oranı 1.6 ± 0.3 şeklinde gösterilmiştir. Bitkinin

parazitin trofozoit formu üzerindeki IC50 değeri de 72. saatte 8.5 mg/ml olarak bulunmuştur.

Çalışmada *O. sigmoideum*'dan elde edilen ringer özütünün de *Acanthamoeba* trofozoitleri üzerinde *T. orientalis*'den daha etkili olduğu gözlenmiştir. *O. sigmoideum* ve *T.orientalis* ringer özütlerine karşı *A. castellanii* trofozoitlerinin duyarlılığının kistlerden daha fazla olduğu görülmüştür. Kistlerin özütlere karşı duyarlılığı ise benzer olarak saptanmıştır.

Çalışmada *A. castellanii* canlı kistleri ve trofozoitleri bitki özütlerinin artan konsantrasyonlarına ve zamana bağlı olarak azalma göstermiştir. Alınan sonuçlara göre, *O. sigmoideum*'un metanol (% 1) ve ringer özütlerinin, *Acanthamoeba* trofozoitleri ve kistleri üzerinde *T. orientalis*'den elde edilen metanol (% 1) ve ringer özütlerine göre daha çok letal etkiye sahip olduğu görülmüştür.

Araştırmadan elde edilen bulgular doğrultusunda;

- Ringer özütlerinin de metanol (% 1) özütlerine alternatif olarak kullanılabilceği ortaya konulmuştur.
- Kontrollü koşullar altında *O. sigmoideum* ve *T. orientalis* bitkilerinden elde edilen özütlerin *Acanthamoeba* enfeksiyonlarının tedavisinde alternatif veya kombine tedavi olarak kullanılabilceği kanısına varılmıştır.
- Kullanılan bitki özütlerinin *A. castellanii* kistlerine ve trofozoitlerine karşı amoebisidal etkili olduğu saptanmıştır.
- Araştırmada etkili bulunan konsantrasyonların memeli hücresinde sitotoksik olup olmadığının tespit edilmesi, deney hayvanları için toksik olmadığını gösteren in vivo çalışmaların yapılması ve bu özütlerin biyolojik aktivitesini sağlayan etken maddelerin etki mekanizmalarının araştırılması gerektiği önerileri sunulmuştur.

6. KAYNAKLAR

- Abay, E. 2006. Bazı bitki ekstraktlarının antibakteriyal etkilerinin disk difüzyon yöntemiyle araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Kafkas Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Kars.
- Akçin, Ö. A., Kandemir, N., Akçin, Y. 2004. A morphological and anatomical study on a medicinal and edible plant *Trachystemon orientalis* L. G. Don (Boraginaceae) in the Black Sea Region, Turkish Journal of Botany, 28: 435-442.
- Alıcı, E.H. 2012. Kaldirik (*Trachystemon orientalis*) bitkisinden polifenol oksidaz enziminin kısmi saflaştırılması ve karakterizasyonu. Yüksek Lisans Tezi, Sakarya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Sakarya.
- Anonim, 2016a. *Ornithogalum sigmoideum*'un (Sakarca) genel görünüşü. <http://www.pacificbulbsociety.org>-(Erişim Tarihi:10.12.2016).
- Anonim, 2016b. *Ornithogalum sigmoideum*'un (Sakarca) genel özellikleri, Türkiye'deki yayılış alanı ve sistematigi. <http://www.tubives.com>-(Erişim Tarihi:11.12.2016).
- Anonim, 2016b. *Trachystemon orientalis* 'in (Kaldirik) L. G. Don genel özellikleri ve Türkiye'deki yayılış alanı. <http://www.tubives.com>-(Erişim Tarihi:11.12.2016).
- Anonim, 2016c. *Trachystemon orientalis* 'in (Kaldirik) L. G. Don genel görünüşü. <https://tr.wikipedia.org/>-(Erişim Tarihi: 29.12.2016).
- Anonim, 2016d. *Trachystemon orientalis* 'in (Kaldirik) L. G. Don sistematigi. <http://uni.boldsystems.org/>-(Erişim Tarihi: 30.12.2016).
- Anonim, 2017e. *Acanthamoeba* türlerinin çevredeki dağılımı (habitatları). <http://www.caister.com/supplementary/acanthamoeba/a5.html>-(Erişim Tarihi: 04.09.2017).
- Anonim, 2017f. *Escherichia coli*'nin sistematigi. http://bioweb.uwlax.edu/bio203/s2008/moder_just/classification.html-(Erişim Tarihi:14.09.2017).
- Anonim, 2017g. *Acanthamoeba* türlerinin yaşam döngüsü. <http://www.cdc.gov/parasites/acanthamoeba/biology.html>-(Erişim Tarihi:14.10.2017).
- Anşin, R., Okatan, A. 1994. Doğu Karadeniz Bölgesinin önemli yan ürün veren odunsu ve otsu bitkileri. TOAG-903 nolu Proje Raporu, Trabzon.
- Arslan, İ. 2006. Denizli ve çevresinde doğal yayılış gösteren bazı adaçayı bitki türlerinin (*Salvia Fruticosa* Miller., *S. cedronella* Boiss. ve *S. chrysophylla* Stapf.) antistafilokokkal etkilerinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Denizli.
- Aslan Öz, M.N. 2017. Balıkesir yöresinde doğal olarak yetişen biberiye ve fesleğen bitkilerine ait uçucu yağların antioksidan ve antimikotik özelliklerinin belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Namık Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarımsal Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Tekirdağ.

- Aslantürk, Ö.S. 2010. Aydın yöresinde kullanılan bazı tıbbi bitkilerin antioksidant ve sitotoksik etkilerinin araştırılması. Doktora Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Aydın.
- Aydın, E. 2008. Bazı *Salvia* genusu üyelerinin *Acanthamoeba castellanii* tedavisindeki kullanım potansiyelleri ve sitotoksik aktivitelerinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Cumhuriyet Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Sivas.
- Badria, F.A., Hetta, M.H., Sarhan, R.M., Ezz El-Din, M.H. 2014. Lethal effects of *Helianthemum lippii* (L.) on *Acanthamoeba castellanii* cysts in vitro. Korean J Parasitol, 52(3): 243–249.
- Barker, J., Brown, M.R. 1994. Trojan horses of the microbial world: protozoa and the survival of bacterial pathogens in the environment. Microbiology, 140:1253–1259
- Başer, K. H. C. 2000. Uçucu yağların parlak geleceği. Anadolu Üniversitesi Tıbbi ve Aromatik Bitki ve İlaç Araştırma Merkezi, Eskişehir, Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Bülteni, (15): 20-33
- Bayram, E., Kırıcı, S., Tansı, S., Yılmaz, G., Arabacı, O., Kızıl, S., Telci, İ. 2010. Tıbbi ve aromatik bitkiler üretiminin artırılması olanakları. Türkiye Ziraat Mühendisliği VII. Teknik Kongresi, 11– 15 Ocak 2010, Ankara.
- Baytop, T. 1984. Türkiye’de bitkiler ile tedavi (geçmişte ve bugün). İstanbul Üniversitesi Yayınları, No: 3255, İstanbul, Türkiye, 161s.
- Baytop, T. 1994. Türkçe Bitki Adları Sözlüğü. Atatürk Kültür, Dil ve Tarih Yüksek Kurumu, Türk Dil Kurumu Yayınları, No: 578, Ankara, Türkiye, 512s.
- Berber, İ., Avşar, C., Çine, N., Bozkurt, N., Elmas, E. 2013. Sinop’ta yetişen bazı bitkilerin metanolik ekstraktlarının antibakteriyal ve antifungal aktivitelerinin belirlenmesi. Karaelmas Fen ve Mühendislik Dergisi / Karaelmas Science and Engineering Journal, 3(1): 10-16.
- Berberoğlu, U. 2017. Solunum yolu enfeksiyonlarına neden olan bakterilerin *Acanthamoeba hatchetti* ile etkileşimlerinin araştırılması. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara.
- Bilgihan, H. 1996. Klinik Mikrobiyoloji. Barış Yayınları, No: 9, İzmir, Türkiye, 832 s.
- Birinci, S. 2008. Doğu Karadeniz Bölgesinde doğal olarak bulunan faydalı bitkiler ve kullanım alanlarının araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarla Bitkileri Anabilim Dalı, Adana.
- Brian W.R. 2002. Isolation and structure elucidation of cytotoxic natural products from Suriname and Madagascar. Master thesis, Virginia Polytechnic Institute and State University.
- Cox, P.A. 1990. Ethnopharmacology and the search for new drugs in bioactive compounds from plants, CIBA Foundation Symposium 154., pp. 40-55. Chichester, New York Brisbane, Toronto, Singapore: John Wiley, Sons.

- Çelik, E., Çelik, G.Y. 2007. Bitki uçucu yağlarının antimikrobiyal özellikleri. Orlab Online Mikrobiyoloji Dergisi, 5(2): 1-6.
- Çırak, C., Kevseroğlu, K. 2004. Kantaron bitkisinin eski çağlardan günümüze kullanım şekilleri ile modern tıptaki yeri ve önemi. OMÜ Ziraat Fakültesi Dergisi,19: 74-84.
- Çopuroğlu, Ö. 2013. Niğde yöresindeki bazı endemik bitki türlerinin antimikrobiyal aktiviteleri. Yüksek Lisans Tezi, Niğde Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Niğde.
- Dağcı, H., Gül, S., Emre, S., Türk, M., Sönmez, G., Tünger, A., Yağcı, A. 2001. Planlı değişimli yumuşak kontakt lenslerin *Acanthamoeba* ve bakteriyel kontaminasyon yönünden değerlendirilmesi. İnfeksiyon Dergisi, 15: 357-362
- Dağcı, E.K., İzmirli, M., Dığrak, M. 2002. Kahramanmaraş ilinde yetişen bazı ağaç türlerinin antimikrobiyal aktivitelerinin araştırılması. KSÜ Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi, 5: 38-46.
- Davis, P.H. 1994. Flora of Turkey and East Aegean Islands. Cilt 1-9, University Press, Edinburg.
- De Jonckheere, J.F., Michel, R. 1988. Species identification and virulence of *Acanthamoeba* strains from human nasal mucosa. Parasitol Research, 74: 314-316.
- Değerli, S., Berk, S., Malatyali, E., Tepe, B. 2011a. Screening of the in vitro amoebicidal activities of *Pastinaca armena* (Fisch., C.A.Mey.) and *Inula oculus-christi* (L.) on *Acanthamoeba castellanii* cysts and trophozoites. Parasitol Research, 110: 565–570.
- Değerli, S., Berk, S., Tepe, B., Malatyali, E. 2011b. Amoebicidal activity of the rhizomes and aerial parts of *Allium sivasicum* on *Entamoeba histolytica*. Parasitol Research, 111: 59–64.
- Değerli, S., Tepe, B., Çeliksöz, A., Berk, S. 2012. In vitro amoebicidal activity of *Origanum syriacum* and *Origanum laevigatum* on *Acanthamoeba castellanii* cysts and trophozoites. Experimental Parasitology, 131(1):20–24.
- Derda, M. Hadas, E., Theim, B. 2009. Plant extracts as natural amoebicidal agents. Parasitol Res., 104(3): 705-708.
- Derda, M., Hadas, E., Cholewinski, M., Skrzypczak, L., Grzondziel, A., Wojtkowiak-Giera, A. 2015. *Artemisia annua* L. as a plant with potential use in the treatment of acanthamoebiasis. Parasitol Research, 115:1635–1639.
- Dodangeh, S., Niyyati, M., Kamalinejad, M., Lorenzo-Morales, J., Haghghi, A., Azargashb, E. 2017. The amoebicidal activity of *Ziziphus vulgaris* extract and its fractions on pathogenic *Acanthamoeba* trophozoites and cysts. Tropical Biomedicine, 34(1): 127-136.
- Döger, M.M. 2010. Ispit'ın (*Trachystemon orientalis* L. G. Don antioksidan aktivitesi. Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Biyokimya Programı, İstanbul.

- Draughon, F.A. 2004. Use of botanicals as biopreservatives in foods. *Food Technol.* 58(2):20–28.
- Dülger, B., Uğurlu, E., Gücin F. 2002. *Vitex agnus-castus*'un L. (Hayıt) antimikrobiyal aktivitesi, *Ekoloji Çevre Dergisi*, 11(45): 1-5.
- Dykova, I., Lom, J., Schroeder-Diedrich, J.M., Booton, G.C., Byers, T.J. 1999. *Acanthamoeba* strains isolated from organs of freshwater fishes. *Journal of Parasitology*, 85: 1106-1113.
- Ergüden, C. 2015. Uçucu yağların *acanthamoeba* spp. kist ve trofozoitleri üzerine etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Dokuz Eylül Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı, İzmir.
- Ergüven, S. 2012. Kan ve doku protozoonlarına karşı kullanılan yeni ilaçlar, *Ankem Dergisi* 26(Ek 2):108-115.
- Ertabaklar, H., Dayanır, V., Apaydın, P., Ertuğ, S., Walochnik, J. 2009. Olgu sunumu: *Acanthamoeba Keratiti*. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 33 (4): 283-285.
- Ertabaklar, H., Türk, M., Dayanır, V., Ertuğ, S., Walochnik, J. 2007. *Acanthamoeba* keratitis due to *Acanthamoeba* genotype T4 in a non-contact-lens wearer in Turkey. *Parasitol Research*, 100:241–246
- Ertürk, Ö., Demirbağ, Z. 2003. *Scorzonare mollis* Bieb. (Compositae) bitkisinin antimikrobiyal aktivitesi. *Ekoloji ve Çevre Koruma Dergisi*, 12: 27-31.
- Faydaoğlu, E., Sürücüoğlu, M.S. 2011. Geçmişten günümüze tıbbi ve aromatik bitkilerin kullanılması ve ekonomik önemi. *Kastamonu Üniversitesi, Orman Fakültesi Dergisi*, 11 (1): 52 – 67.
- Fiori, P.L., Mattana, A., Dessì, D., Conti, S. 2006. In vitro acanthamoebicidal activity of a killer monoclonal antibody and a synthetic peptide. *J. Antimicrob Chemother*, 57(5):891–898.
- Gladis, T., Pistrick, K. 2011. *Chaerophyllum byzantinum* Boiss. and *Trachystemon orientalis* (L.) G. Don recently introduced from Turkish wild flora as new crop species among other interesting findings from immigrant gardens in western Germany. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 58: 165–174.
- Göze, I., Alim, A., Dağ, S., Tepe, B., Polat, Z.A. 2009. In vitro amoebicidal activity of *Salvia staminea* and *Salvia caespitosa* on *Acanthamoeba castellanii* and their cytotoxic potentials on corneal cells. *Journal of Ocular Pharmacology and Therapeutics*, 25(4):3–8.
- Gray, T.B., Cursons, R.T.M., Sherwan, J.F., Rose, P.R. 1995. *Acanthamoeba*, bacterial and fungal contamination of contact lens storagecases. *British Journal of Ophthalmology*, 79: 601-605.
- Gül, V., Seçkin Dinler, S.B. 2016. Kumru (Ordu) yöresinde doğal olarak yetişen bazı tıbbi ve aromatik bitkiler. *Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 11 (1):146-156.
- Hafız, M.S., Salik, N., Abdul, M. 2016. Methanolic extract of *Peganum harmala* exhibit potent activity against *Acanthamoeba castellanii* cysts and its

- encystment in vitro. Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences, 29 (6): 1993-1996.
- Hasenekoğlu, İ., Yeşilyurt, S. 2007. Mikrobiyoloji. Atatürk Üniversitesi, 263-296, Erzurum.
- Heinrich, M., Barnes, J., Gibbons, S., Williamson, E.M. 2004. Fundamentals of pharmacognosy and phytotherapy, Churchill Livingstone, Edinburgh.
- Heves, D.M. 2008. Akyıldız'ın (*Ornithogalum sigmoideum* Freyn Et Sint.) antioksidan aktivitesi. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Biyokimya Programı, İstanbul.
- Hilger, H.H., Selvi, F., Papını, A., Bigazzi, M. 2004. Molecular systematics of Boraginaceae tribe boragineae based on ITS1 and trnL sequences, with special reference to *Anchusa s.l.*, Annals of Botany, 94: 201-212.
- Horn, M., Wagner, M. 2004. Bacterial endosymbionts of free-living amoebae. J Eukaryot Microbiol, 51: 509–514
- Hussain, T., Arshad, M., Khan, S., Satar, H., Qureshi, MS. 2011. In vitro screening of methanol plant extracts for their antibacterial activity. Pak. J. Bot., 43:531-538.
- İlçim, A., Dıġrak, M., Baġcı, E. 1998. Bazı bitki ekstralarının antimikrobiyal etkilerinin araştırılması. Tr. J. of Biology, 22: 119-125.
- Illingworth, C.D., Cook, S.D. 1998. *Acanthamoeba* keratitis. Surv. Ophthalmol, 42: 493-508.
- Inbaneson, S.J., Ravikumar, S., Suganthi, P. 2012. In vitro antiplasmodial effect of ethanolic extracts of traditional medicinal plant *Ocimum* species against *Plasmodium falciparum*. Asian Pac J Trop Med., 5(2):103–106.
- Jain, S., Shrivastava, S., Nayak, S., Sumbhate, S. 2007. Phcog mag. plant review, recent trends in *Curcuma longa* Linn. Pharmacognosy Reviews, 1: 119-128.
- Janovská, D., Kubíková, K., Kokoška, L. 2003. Screening for antimicrobial activity of some medicinal plants species of traditional Chinese Medicine. Czech J. Food Sci., 21:107-110.
- Jiménez-Arellanes, A., León-Díaz, R., Meckes, M., Tapia, A., Molina-Salinas, G. M., Luna-Herrera, J., Yépez-Mulia, L. 2012. Antiprotozoal and antimycobacterial activities of pure compounds from *Aristolochia elegans* rhizomes. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 7s
- John, D.T., Howard, M.J. 1995. Seasonal distribution of pathogenic free-living amoebae in Oklahoma waters. Parasitol Research, 81: 193-201.
- John, D.T., Howard, M.J. 1996. Techniques for isolating thermotolerant and pathogenic free-living amoebae. Folia Parasitology, 43: 267-271.
- John, D.T. 1998. Opportunistic amoebae. Topley, Wilson's Microbiology and Microbial Infections. 9th ed. Vol. 5. Edward Arnold Ltd., London, UK, Pp. 179-192.

- Karagöz, A., Cevahir, G., Özcan, T., Sadıkoğlu, N., Yentür, S., Kuru, A. 2002. Bazı yüksek bitkilerden hazırlanan sulu ekstraların antiviral aktivite potansiyellerinin değerlendirilmesi, XIV. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, 29-31 Mayıs, 318-321 Eskişehir, Eds. K.H.C. Başer, N. Kırimer.
- Karagöz, A., Zencirci, N., Tan, A., Taşkın, T., Köksel, H., Sürek, M., Toker, C., Özbek, K. 2010. Bitki genetik kaynaklarının korunması ve kullanımı, TMMOB Ziraat Mühendisleri Odası, Ziraat Mühendisliği VII. Teknik Kongresi, 11-15 Ocak, 2010, Ankara.
- Kartal, M. 2004. Avrupa Birliği ülkelerinde tıbbi bitkisel ürünlerin ruhsatlandırılması: Turhan Baytop Anma Kitabı, İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Yayın No: 81, İstanbul, 109-124.
- Kendir, G., Güvenç, A. 2010. Etnobotanik ve Türkiye’de yapılmış etnobotanik çalışmalara genel bir bakış. Hacettepe Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi Dergisi, 30 (1):49-80.
- Khan, N.A. 2006. *Acanthamoeba*: biology and increasing importance in human health. FEMS Microbiol Rev., 30: 564-595.
- Koçyiğit, M. 2005. Yalova ilinde etnobotanik bir araştırma. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmasötik Botanik Anabilim Dalı, İstanbul.
- Kong, H.H., Kim, T.H., Chung, D.I. 2000. Purification and characterization of a secretory serine proteinase of *Acanthamoeba healyi* isolated from GAE. Journal of Parasitology, 86: 12-17
- Kopar, N., Rencüzoğulları, E. 2012. *Salvia fruticosa* yaprak ekstraktının insan periferik lenfositlerinde sitotoksik etkisi. Çukurova Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi, 28(4):21-31.
- Larkin, D.F.P., Kilvington, S., Easty, D.L. 1990. Contamination of contact lens storage cases by *Acanthamoeba* and bacteria. British Journal of Ophthalmology, 74: 133-135.
- Leder, K., Weller, P.F. 2003. Antiparasitic agents, “Murray, P.R., Baron, E.J., Jorgensen, J.H., Tenover, M.A., Tenover, R.H. (eds): Manual of Clinical Microbiology” kitabında s. 2081-97 ASM Press, Washington.
- Lewin, R. 2000. Modern insanın kökeni, TÜBİTAK popüler bilim kitapları, Çeviri: N. Özüaydın, 7. basım, TÜBİTAK, Ankara.
- Liu, L.X., Weller, P.F. 1996. Drug therapy: Antiparasitic drugs, N Engl J Med, 334(18):1178-84.
- Madencioğlu, D. 2014. Endemik *Dorystoechas hastata* boiss., heldr. ex bentham uçucu yağının bazı *Acanthamoeba* türleri üzerine amebisid etkisi. Yüksek Lisans Tezi. Ege Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmasötik Botanik Anabilim Dalı, İzmir.
- Mahboob, T., Azlan, A.M., Tan, T.C., Samudi, C., Sekaran, S.D., Nissapatorn, V., Wiart, C. 2016. Anti-encystment and amoebicidal activity of *Lonicera japonica* Thunb. and its major constituent chlorogenic acid in vitro. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine, 9(9): 866-871.

- Maghsood, A.H., Sissons, J., Rezaian, M., Nolder, D. 2005. *Acanthamoeba* genotype T4 from the UK and Iran and isolation of the T2 genotype from clinical isolates. *J Med Microbiol*, 54(8):755-759.
- Malatyali, E., Tepe, B., Degerli, S., Berk, S., Akpulat, H.A. 2011a. In vitro amoebicidal activity of four *Peucedanum* species on *Acanthamoeba castellanii* cysts and trophozoites. *Parasitol Research*, 110:167–174.
- Malatyali, E., Tepe, B., Degerli, S., Berk, S. 2011b. In vitro amoebicidal activities of *Satureja cuneifolia* and *Melissa officinalis* on *Acanthamoeba castellanii* cysts and trophozoites. *Parasitol Res.*, 110:2175–2180.
- Malyer, H. 1996. A new record for the flora of Turkey. *Turkish Journal of Botany*, 20 (0):473-475.
- Marciano-Cabral, F., Cabral, G. 2003. *Acanthamoeba spp.* as agents of disease in humans. *Clinical Microbiology Reviews*, 16(2): 273-307.
- Maregesi, S.M., Pieters, L., Ngassapa, O.D., Apers, S., Vingerhoets, R., Cos, P., Berghe, D.A., Vlietinck, A.J. 2008. Screening of some Tanzanian medicinal plants from bunda district for antibacterial, antifungal and antiviral activities. *J. Ethnopharmacol.*, 119:58-66.
- Mattana, A., Biancu, G., Alberti, L., Accardo, A. 2004. In vitro evaluation of the effectiveness of the macrolide rokitamycin and chlorpromazine against *Acanthamoeba castellanii*. *Antimicrob Agents Chemother*, 48(12):4520–4527.
- Mindell, E. 2003. Mucize Bitkiler. Prestij yayımları, İstanbul, Türkiye, 336s.
- Nagwa, M.E., Khadiga, A.I., Sabah, A., Ghany, A., Mona, H.H. 2011. In vitro amoebicidal activity of ethanol extracts of *Arachis hypogaea* L., *Curcuma longa* L. and *Pancreatium maritimum* L. on *Acanthamoeba castellanii* cysts, *Parasitol Research*, 110:1985–1992.
- Nakipoğlu, M., Otan, H. 1992. Tıbbi bitkilerin flavonoidleri, Anadolu. *Journal of AARI*, 4(1):70-93.
- Nakisah, M.A., Ida Muryany, M.Y., Fatimah, H., Nor Fadilah, R., Zalilawati, M.R., Khamsah, S., Habsah, M. 2010. Anti-amoebic properties of a Malaysian marine sponge *Aaptos sp.* on *Acanthamoeba castellanii*, *World J Microbiol Biotechnol*, 28:1237–1244.
- Nigg, H.N., Seigler, D. 1992. *Phytochemical resources form edicine and agriculture*, New York, Plenum Pres., 76-363.
- Njume, C., Afolayan, A.J., Ndip, R.N. 2009. An overview of antimicrobial resistance and the future of medicinal plants in the treatment of *Helicobacter pylori* infections. *Afr. J. Pharm. Pharmacol.*, 3:685-699.
- Özçelik, H., Balabanlı, C. 2005. Burdur ilinin tıbbi ve aromatik bitkileri, I. Burdur Sempozyumu, 16–19 Kasım, 2005, Burdur.
- Patrakar, R., Gond, N., Jadge, D. 2010. Flower extract of *Jacaranda acutifolia* used as a natural indicator in acid base titration. *Int. J. Pharm. Tech. Res.*, 2:1954-1957.

- Polat, Z.A., Özçelik, S., Vural, A., Saygı, G. 2007a. Akselik kültürlerde *Acanthamoeba* trofozoitleri üzerindeki gözlemler ve bunların farklı boyalarla boyanma özellikleri. Türkiye Parazitoloji Dergisi, 31 (1): 7-13.
- Polat, Z.A., Tepe, B., Vural, A. 2007b. In vitro effectiveness of *Thymus sipyleus* subsp. *sipyleus* var. *sipyleus* on *Acanthamoeba castellanii* and its cytotoxic potential on corneal cells. Parasitol Res., 101 (6):1551–1555.
- Polat, Z.A., Vural, A., Tepe, B., Çetin, A. 2007c. In vitro amoebicidal activity of four *Allium* species on *Acanthamoeba castellanii* and their cytotoxic potentials on corneal cells. Parasitol Res., 101:397-402.
- Polat, Z.A., Vural, A., Ozan, F., Tepe, B. 2008. In vitro evaluation of the amoebicidal activity of garlic (*Allium sativum*) extract on *Acanthamoeba castellanii* and its cytotoxic potential on corneal cells. J Ocul Pharmacol Ther., 24 (1):8-14.
- Rodio, C., Vianna, D.R., Kowalski, K.F., Panatieri, L.F., Poser, G.V., Rott, M.B. 2008. In vitro evaluation of the amoebicidal activity of *Pterocaulon polystachyum* (Asteraceae) against trophozoites of *Acanthamoeba castellanii*. Parasitology Research , 104(1): 191–194.
- Sauter, I.P., Dos Santos, J.C., Apel M. A., Cibulski, S.P., Roehe, P.M., Von Poser, G.L., Rott, M.B. 2011. Amoebicidal activity and chemical composition of *Pterocaulon polystachyum* (Asteraceae) essential oil. Parasitol Res., 109(5): 1367–1371.
- Saygı, G., Akın, Z., Tecer, H. 2000. Sivas'ta toprak ve termal su örneklerinden *Acanthamoeba* ve *Naegleria* türlerinin soyutulması. Türkiye Parazitol. Dergisi, 24: 237-242.
- Saygı, G. 2002. Temel Tıbbi Parazitoloji. II. Baskı. Esnaf Ofset Matbaası, Sivas.
- Saygı, G., Polat, Z. 2003. Özgür yaşayan amipler ve neden oldukları parazitozlar (Primer Amibik Meningoensefalit - Granüloamatöz Amibik Ensefalit – Keratit), Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi, 25 (3):140 – 149.
- Schuster, F.L. 2002. Cultivation of pathogenic and opportunistic free-living amoebas. Clin Microbiol Rev., 15: 342-354.
- Sekar, S., Kandavel, D. 2010. Interaction of plant growth promoting Rhizobacteria (PGPR) and endophytes with medicinal plants - new avenues for phytochemicals. J. Phytology, 2: 91-100.
- Siddiqui, R., Khan, N.A. 2012. Biology and pathogenesis of *Acanthamoeba*. Parasites, Vectors, 5: 6.
- Sifaoui, I., Atteneri, L.A., Carmen, M.M.N., Chammem, N., Mejri, M., Jacob, L.M., Manef, A., Piñero, J.E. 2013. Activity assessment of Tunisian olive leaf extracts against the trophozoite stage of *Acanthamoeba*. Parasitol Res, 112:2825–2829.
- Singh, B., Dutt, N., Kumar, D., Singh, S., Mahajan, R. 2011. Taxonomy, ethnobotany and antimicrobial activity of *Croton bonplandianum*, *Euphorbia hirta* and *Phyllanthus fraternus*. J. Adv. Develop. Res., 2:21-29.

- Tan, A. 1992. Türkiye’de bitkisel çeşitlilik ve bitki genetik kaynakları. J. of AARI, 2: 50-64.
- Tanker, N., Kovuncu, M., Coşkun, M. 2004. Farmasötik Botanik. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, No: 88, Ankara, Türkiye, 434s.
- Tarakçı, S. 2006. Beykoz civarındaki tıbbi özellik taşıyan bitkiler üzerine araştırmalar. Doktora Tezi, Marmara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul.
- Tepe, B., Malatyalı, E., Degerli, S., Berk, S. 2011. In vitro amoebicidal activities of *Teucrium polium* and *T. chamaedrys* on *Acanthamoeba castellanii* trophozoites and cysts. Parasitol Research, 110:1773–1778.
- Topalkara, A., Vural, A., Polat, Z., Toker, M.I., Arici, M.K., Ozan, F., Çetin, A. 2007. In vitro amoebicidal activity of Propolis on *Acanthamoeba castellanii*. Journal of Ocular Pharmacology and Therapeutics, 23(1): 40-45.
- Toroğlu, S., Çenet, M. 2006. Tedavi amaçlı kullanılan bazı bitkilerin kullanım alanları ve antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi için kullanılan metodlar. Kahramanmaraş Sütçü imam Üniversitesi. Fen ve Mühendislik Dergisi, 9(2): 12-19.
- Türkay, S., Özgül-Yücel, S., Üstün, G. 2005. Türkiye’nin gamma linolenik asid kaynakları ve potansiyeli üzerine bir çalışma. 4. GAP Tarım Kongresi, 21-23 Eylül. 2005, Şanlıurfa.
- Vidal, F., Vidal, J.C., Gadelha, A.P.R., Lopes, C.S. 2007. *Giardia lamblia*: The effects of extracts and fractions from *Mentha piperita* Lin. (Lamiaceae) on trophozoites. Exp Parasitol, 115(1):25-31.
- Vital, P.G., Velasco, J.R.N., Demigillo, J.M., Rivera, W.L. 2010. Antimicrobial activity, cytotoxicity and phytochemical screening of *Ficus septica* burm and *Sterculia foetida* L. leaf extracts. J. Med. Plants Res., 4:58-63.
- Vunda, S.L.L., Sauter, I.P., Cibulski, S.P., Roehe, P.M., Bordignon, S.A.L., Rott, M.B., Apel, M.A., Poser, G.L.V. 2012. Chemical composition and amoebicidal activity of *Croton pallidulus*, *Croton ericoides* and *Croton isabelli* (Euphorbiaceae) essential oils. Parasitol Res., 111(3):961–966.
- Winck, M.A.T., Caumo, K., Rott, M.B. 2011. Prevalence of *Acanthamoeba* from tap water in rio grande do Sul, Brazil. Curr Microbiol, 63(5):464–469.
- Yılar, M., Onaran, A., Yanar, Y., Belgüzar, S., Kadioğlu, İ. 2014. *Trachystemon orientalis*’in L. G. Don (Kaldırık) herbisidal ve antifungal potansiyeli. Iğdır Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi / Iğdır Univ. J. Inst. Sci., Tech., 4(4): 19-27
- Yıldırım, Ş., 1994. Karadeniz Bölgesinin bir tıbbi ve besin bitkisi *Trachystemon orientalis*. OT Sistemik Botanik Dergisi, 1(2):7-12.
- Yünlü, Ö., Özçelik, S., Arıcı, M.K. 2015. Göz kapaklarından ve konjunktivadan alınan sürüntü örneklerinde *Acanthamoeba* ve diğer serbest yaşayan amiplerin araştırılması. Türkiye Parazitoloji Dergisi, 39: 194-199.

- Zahir, A.A., Rahuman, A.A., Bagavan, A., Santhoshkumar, T., Mohamed, R.R., Kamaraj, C., Marimuthu, S. 2010. Evaluation of botanical extracts against *Haemaphysalis bispinosa* Neumann and *Hippobosca maculata* Leach. Parasitology research, 107(3): 585-592.
- Zeybek, Z., Üstüntürk, M., Binay, A.R. 2010. Morphological characteristics and growth abilities of free living amoeba isolated from domestic tap water samples in Istanbul. IUFS J. Biol., 69: 17-23.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Bülent KAYNAK
Doğum Yeri : Çumra/KONYA
Doğum Tarihi : 26.02.1980
Yabancı Dili : İngilizce
E-mail : bulent_2004@mynet.com
İletişim Bilgileri : Ordu Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi

Öğrenim Durumu:

Derece	Bölüm/ Program	Üniversite	Yıl
Lisans	Sağlık Memurluğu	Kocaeli Üniversitesi	2003
Önlisans	Tıbbi Laboratuvar	Kocaeli Üniversitesi	2010
Önlisans	Adalet	Anadolu Üniversitesi (AÖF)	2013
Lisans	Biyoloji	Ordu Üniversitesi	2013
Lisans	Kamu Yönetimi	Anadolu Üniversitesi (AÖF)	2015
Y. Lisans	Moleküler Biyoloji ve Genetik	Ordu Üniversitesi	2017

İş Deneyimi:

Görev	Görev Yeri	Yıl
Sağlık Memuru	Kandıra 1 No'lu 112 Acil Sağlık Hizmetleri İstasyonu /Kocaeli	2003
Sağlık Memuru	İzmit Kadın Doğum ve Çocuk Hastanesi/Kocaeli	2008
Sağlık Memuru	Ordu Devlet Hastanesi/Ordu	2010
Biyolog	Ordu Halk Sağlığı Laboratuvarı/Ordu	2015

Yayımlar:

- 1.
- 2.