

**TRICHOPHYTON TÜRLERİ ÜZERİNE
PROPOLİS VE KURKUMİN
EKSTRAKTLARININ ANTİFUNGAL
AKTİVİTESİNİN VE SİNERJİSTİK ETKİSİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Zehra Özlem ÜNAL

Yüksek Lisans Tezi

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğretim Üyesi Berna ERDAL

2019

T.C.

NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

***TRICHOPHYTON* TÜRLERİ ÜZERİNE PROPOLİS VE
KURKUMİN EKSTRAKTLARININ ANTİFUNGAL
AKTİVİTESİNİN VE SİNERJİSTİK ETKİSİNİN
ARAŞTIRILMASI**

**Zehra Özlem ÜNAL
1158208103**

**TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

DANIŞMAN: Dr. Öğretim Üyesi Berna ERDAL

2019-TEKİRDAĞ

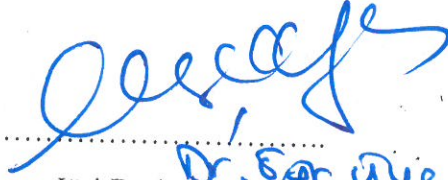
Her hakkı saklıdır.

KABUL ve ONAY

Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı çerçevesinde Dr.Öğretim Üyesi Berna ERDAL danışmanlığında yürütülmüş bu çalışma , aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi

14/06/2019



Jüri Başkanı

Dr. Öğr. Üyesi Dr. Arslan Şafak

prof. Dr. Dinal Özkalya
Üye

Dr. Öğr. Üyesi Berna ERDAL
Üye

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı öğrencisi Zehra Özlem ÜNAL'ın "*Trichophyton* Türleri Üzerine Propolis ve Kurkumin Ekstratlarının Antifungal Aktivitesinin ve Sinerjistik Etkilerinin Araştırılması" başlıklı tezi 14.06.2019 günü saat 13:30 da Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Lisansüstü Eğitim- Öğretim ve Sınav Yönetmeli'nin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.


Prof. Dr. Nilda TURGUT
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca yanımda olan, tez çalışmamın planlanması ve yürütülmesi sırasında desteğini esirgemeyen değerli danışmanım

Dr. Öğrenim Üyesi Berna ERDAL'a,

Çalışmalarımı destekleyen ve her türlü yardımda bulunan

Arş. Gör.Dr. Mine AYDIN KURÇ'a,

Her koşulda yanımda olup desteğiyle beni yalnız bırakmayan sevgili eşim

Alper ÜNAL'a,

Yüksek lisans eğitimim süresince hiçbir özveriden kaçınmayarak bana her türlü maddi ve manevi destek olan

biricik aileme,

Sonsuz sevgi ve teşekkürlerimi sunarım

ÖZET

Zehra Özlem Ünal, *Trichophyton* türleri üzerine propolis ve kurkumin ekstratlarının antifungal aktivitesinin ve sinerjistik etkisinin araştırılması, Namık Kemal Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Tekirdağ, 2019.

Dermatofitler, yüzeysel mantar infeksiyonları içerisinde en çok karşılaşılan infeksiyonlar olan dermatofit infeksiyonuna sebep olurlar. Besin kaynağı olarak keratini kullanırlar ve deri, saç, tırnakta yaygın olarak bulunurlar. Dermatofitler içerisinde en sık karşılaşılan türler *Trichophyton* türleridir. *Trichophyton* türleri deri, saç ve tırnaklarda infeksiyona sebep olurlar, eşeysiz üreme özelliğine sahiptir ve antropofilik özellik gösterirler. *Trichophyton* türlerinin tedavisinde bir çok antifungal görev almaktadır. Bu antifungallerin tedavide bazen yetersiz olması mantar öldürücü etkisi olan daha iyi terapötik ajanların araştırılmasına yol açmıştır. Yakın zamanda yapılmış çalışmalarda kurkumin ve propolisin bu tür uygulamalar için uygun maddeler olduğu öne sürülmüş ve araştırmalar bu yönde hız kazanmıştır. Bu çalışmada 100 *Trichophyton* izolatının kurkumin ve propolisin antifungal etkisinin ve sinerjistik etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır. Çalışmaya 11 Ekim 2011 – 08 Nisan 2017 tarihleri arasında Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarına gönderilen deri, tırnak ve saç örneklerinden izole edilerek saklanan 100 *Trichophyton* izolatı dahil edildi. 100 *Trichophyton* türünün izole edildiği örneklerin 61'i erkek, 39'u ise kadın hastalara aitti. Bu örneklerin 91'i deriden, 8'i tırnaktan, 1'i ise saçtan izole edildi. İlk olarak izolatların propolis ve kurkumin minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile belirlendi. Sinerjistik çalışma için sıvı mikrodilüsyon dama tahtası yöntemi kullanıldı. Çalışma sonucunda kurkumin ve propolisin hem ayrı ayrı hem de birlikte antifungal etkisi olduğu belirlendi. Bu çalışma literatürde tarayabildiğimiz kadarıyla *Trichophyton* izolatlarının kurkumin ve propolisin sinerjistik etkisinin çalışıldığı ilk çalışmadır.

Anahtar Kelimeler: *Trichophyton* türleri, MİK, MFK, Kurkumin, Propolis, Sinerjistik etki

ABSTRACT

Zehra Özlem Ünal, Investigation of the antifungal activity and synergistic effect of propolis and curcumin extracts on Trichophyton species, Master Thesis, Department of Medical Microbiology, Institute of Health Sciences, Namık Kemal University, Tekirdağ, 2019.

Dermatophytes cause dermatophyte infections which are the most common infections among superficial fungal infections. They use keratin as a food source and are commonly found in skin, hair and nails. Trichophyton species are the most common species among dermatophytes. Trichophyton species cause infection in skin, hair and nails, have asexual reproductive properties and show anthropophilic properties. Many antifungal agents are involved in the treatment of Trichophyton species. The inadequacy of these antifungals in treatment has led to the search for better therapeutic agents with fungicidal effects. In recent studies, it has been suggested that curcumin and propolis are suitable substances for such applications and research has accelerated in this direction. The aim of this study was to investigate the antifungal and synergistic effects of curcumin and propolis of 100 Trichophyton isolates. 100 Trichophyton isolates which were isolated from skin, nail and hair samples sent to Tekirdag Microbiology Laboratory Medical Microbiology Laboratory between 11 October 2011 - 08 April 2017 were included in the study. Of the 100 Trichophyton species isolated, 61 were male and 39 were female. Of these samples, 91 were isolated from the skin, 8 from the nail and 1 from the hair. Firstly, the minimum inhibitory concentration (MIC) values of the isolates were determined by liquid microdilution method. Liquid microdilution checkerboard method was used for synergistic study. At the end of the study, it was determined that curcumin and propolis had antifungal effects both separately and together. This study is the first to investigate the synergistic effect of curcumin and propolis of Trichophyton isolates.

Keywords: *Trichophyton* species, MİK, MFK, Curcumin, Propolis, Synergistic effect

İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	iv
TEŞEKKÜR	v
ÖZET	vi
ABSTRACT	vii
İÇİNDEKİLER	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİSİ	ix
ŞEKİLLER DİZİSİ	x
ÇİZELGE DİZİSİ	xi
TABLO DİZİNİ	xii
RESİM DİZİNİ	xiv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Dermatofitler	5
2.2. Propolis.	6
2.3. Kurkumin	9
2.4. Dermatofot Tedavisi.....	10
2.5. Antifungal Duyarlılık Testleri.....	11
2.5.1. Mikrodilüsyon Yöntemi.....	13
2.5.1.1. Sıvı Dilüsyon Yöntemi.....	13
2.5.1.2. Agar Dilüsyon Yöntemi.....	14
2.5.2. Difüzyon Yöntemi.....	15
2.5.2.1. Disk Difüzyon Yöntemi.....	14
2.5.2.2. Gradyent Difüzyon Yöntemi	15
2.6. Sinerjistik Etki Yöntemleri.....	16
2.6.1. Checkerboard (Dama Tahtası) Yöntemi.....	16
2.6.1.1. Mikrodilüsyon Yöntemi.....	16
2.6.1.2. Makrodilüsyon Yöntemi.....	17
2.6.1.3. Agar Dilüsyon Yöntemi.....	17
2.6.2. Zamana Bağlı Öldürme (Time-Kill) Yöntemi.....	17
3. GEREÇ ve YÖNTEM	18
3.1. Materyal	18
3.1.1. Kullanılan cihazlar	18
3.1.2. Kullanılan Besiyerleri, Sarf Malzemeler ve Antifungal Ajanlar.....	18
3.1.3. Kullanılan çözelti ve tamponlar	19
3.1.4. Kullanılan Mikroorganizma Suşları.....	19
3.2. Yöntem	20
3.2.1. Sabouraud dekstroz agar'ın (SDA) hazırlanması.....	20
3.2.2. Mikroorganizmaların Üretilebilirliği	19
3.2.3. RPMI 1640 Hazırlanması.....	20
3.2.4. Kurkumin Hazırlanması	21

3.2.5. Propolis Hazırlanması	21
3.2.6. İtrakonazol ve Terbinafin Antifungal İlaç Dilüsyonlarının Hazırlanması	21
3.2.7. Thoma Lamı (Hemositometre) Yöntemi İle Spor Sayımı.....	24
3.2.8. 96 Kuyucuklu U Tabanlı Plakta Mikrodilüsyon Yöntemi	25
3.2.9. Sinerjistik Etki Çalışması için Mikrodilüsyon Checkerboard Yöntemi.....	27
3.2.10. Fraksiyonel İnhibitör Konsantrasyonunu İndeksi (FİKİ) Değerlendirilmesi.....	28
3.2.11. SDA Besiyeri Kullanılarak MFK Değerinin Belirlenmesi	29
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	30
4.1. Çalışma Grubu	30
4.2. <i>Trichophyton</i> Suşlarının Kurkumin Antifungal Aktivite Sonuçları.....	30
4.3. <i>Trichophyton</i> Suşlarının Propolis Antifungal Aktivite Sonuçları.....	47
4.4. <i>Trichophyton</i> Suşlarının Propolis ve Kurkumin Sinerjistik Etki Sonuçları.....	63
4.5. İtrakonazol ve Terbinafinin <i>Trichophyton rubrum</i> Suşu Üzerine Sonuçları	72
5. TARTIŞMA	74
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	80
KAYNAKLAR	81
ÖZGEÇMİŞ.....	91

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

T. mentagrophytes: Trichophyton mentagrophytes

T. tonsurans: Trichopyton tonsurans

T. schoenleinii: Trichopyton schoenleinii

T. rubrum: Trichopyton rubrum

Mg: Magnezyum

Ca: Kalsiyum

I: İyot

K: Potasyum

Na: Sodyum

Cu: Bakır

Zn: Çinko

Mn: Manganez

Fe: Demir

NCCLS: National Committee for Clinical Laboratory Standards

CLSI : Clinical and Laboratory Standard Institute

FDA: Food and Drug Administration

MİK: Minimum İnhibitör Konsantrasyon

MEK: Minimum Etkin Konsantrasyon

MBK: Minimal Letal Konsantrasyonu

PBS: Phosphate Buffered Saline

MOPS:, 3-N-Morfolino-Propan-Sülfonik Asit

NaOH: Sodyum Hidroksit

SDA: Sabouraud Dextrose Agar

RPMI: Roswell Park Memorial Institute

DMSO: Dimetil sülfoksit

MFK: Minimum Fungisidal Konsantrasyon

FİKİ: Fraksiyonel İnhibitör Konsantrasyonunu İndeksi

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1: Kurkuminin yapısı (Yalçın ve ark. 2017).....	10
Şekil 3.1: Antifungal Dilüsyon Hazırlığı.....	23
Şekil 3.2: Thoma lamı sayım kareleri (https://drive.google.com/file/d/0B0jZ3Z62Gq2qdFluOHFH0HM1aHc/view).....	24
Şekil 3.3: 96 Kuyucuklu U Tabanlı Plak (https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/cls2509?lang=en&region=TR)	25

ÇİZELGE DİZİNİ

Çizelge 3.1: 96 kuyucuklu u tabanlı mikropleytle propolis ve kurkumin ekstratlarının sinerjistik çalışması	28
Çizelge 4.1: Kurkumin ekstratı 1. mikropleyt MİK değerleri.....	31
Çizelge 4.2: Kurkumin ekstratı 2. mikropleyt MİK değerleri.....	32
Çizelge 4.3: Kurkumin ekstratı 3. mikropleyt MİK değerleri.....	33
Çizelge 4.4: Kurkumin ekstratı 4. mikropleyt MİK değerleri.....	34
Çizelge 4.5: Kurkumin ekstratı 5. mikropleyt MİK değerleri.....	35
Çizelge 4.6: Kurkumin ekstratı 6. mikropleyt MİK değerleri.....	36
Çizelge 4.7: Kurkumin ekstratı 7. mikropleyt MİK değerleri.....	37
Çizelge 4.8: Kurkumin ekstratı 8. mikropleyt MİK değerleri.....	38
Çizelge 4.9: Kurkumin ekstratı 9. mikropleyt MİK değerleri.....	39
Çizelge 4.10: Kurkumin ekstratı 10. mikropleyt MİK değerleri.....	40
Çizelge 4.11: Kurkumin ekstratı 11. mikropleyt MİK değerleri	41
Çizelge 4.12: Kurkumin ekstratı 12. mikropleyt MİK değerleri.....	42
Çizelge 4.13: Kurkumin ekstratı 13. mikropleyt MİK değerleri.....	43
Çizelge 4.14: Propolis ekstratı 1. mikropleyt MİK değerleri	48
Çizelge 4.15: Propolis ekstratı 2. mikropleyt MİK değerleri	49
Çizelge 4.16: Propolis ekstratı 3. mikropleyt MİK değerleri	50
Çizelge 4.17: Propolis ekstratı 4. mikropleyt MİK değerleri	51
Çizelge 4.18: Propolis ekstratı 5. mikropleyt MİK değerleri	52
Çizelge 4.19: Propolis ekstratı 6. mikropleyt MİK değerleri	53
Çizelge 4.20: Propolis ekstratı 7. mikropleyt MİK değerleri	54
Çizelge 4.21: Propolis ekstratı 8. mikropleyt MİK değerleri	55
Çizelge 4.22: Propolis ekstratı 9. mikropleyt MİK değerleri	56

Çizelge 4.23: Propolis ekstratı 10. mikropleyt MİK değerleri	57
Çizelge 4.24: Propolis ekstratı 11. mikropleyt MİK değerleri	58
Çizelge 4.25: Propolis ekstratı 12. mikropleyt MİK değerleri	59
Çizelge 4.26: Propolis ekstratı 13. mikropleyt MİK değerleri	60

TABLO DİZİNİ

Tablo 2.1: Propolis Kimyasal Bileşimi (Doğanyiğit, 2013).....	8
Tablo 2.2: Maya ve küflerde kullanılan CLSI (Clinical and Laboratory Standard Institute) standart yöntemlerinin özellikleri (CLSI 2008).....	12
Tablo 4.1: Kurkumin ekstratı 1. mikropleyt MİK değerleri	31
Tablo 4.2: Kurkumin ekstratı 2. mikropleyt MİK değerleri	32
Tablo 4.3: Kurkumin ekstratı 3. mikropleyt MİK değerleri	33
Tablo 4.4: Kurkumin ekstratı 4. mikropleyt MİK değerleri	34
Tablo 4.5: Kurkumin ekstratı 5. mikropleyt MİK değerleri	35
Tablo 4.6: Kurkumin ekstratı 6. mikropleyt MİK değerleri	36
Tablo 4.7: Kurkumin ekstratı 7. mikropleyt MİK değerleri	37
Tablo 4.8: Kurkumin ekstratı 8. mikropleyt MİK değerleri	38
Tablo 4.9: Kurkumin ekstratı 9. mikropleyt MİK değerleri	39
Tablo 4.10: Kurkumin ekstratı 10. mikropleyt MİK değerleri	40
Tablo 4.11: Kurkumin ekstratı 11. mikropleyt MİK değerleri	41
Tablo 4.12: Kurkumin ekstratı 12. mikropleyt MİK değerleri	42
Tablo 4.13: Kurkumin ekstratı 13. mikropleyt MİK değerleri	43
Tablo 4.14: Propolis ekstratı 1. mikropleyt MİK değerleri	48
Tablo 4.15: Propolis ekstratı 2. mikropleyt MİK değerleri	49
Tablo 4.16: Propolis ekstratı 3. mikropleyt MİK değerleri	50
Tablo 4.17: Propolis ekstratı 4. mikropleyt MİK değerleri	51
Tablo 4.18: Propolis ekstratı 5. mikropleyt MİK değerleri	52
Tablo 4.19: Propolis ekstratı 6. mikropleyt MİK değerleri	53
Tablo 4.20: Propolis ekstratı 7. mikropleyt MİK değerleri	54
Tablo 4.21: Propolis ekstratı 8. mikropleyt MİK değerleri	55
Tablo 4.22: Propolis ekstratı 9. mikropleyt MİK değerleri	56
Tablo 4.23: Propolis ekstratı 10. mikropleyt MİK değerleri	57

Tablo 4.24: Propolis ekstratı 11. Mikropleyt MİK değerleri	58
Tablo 4.26: Propolis ekstratı 12. mikropleyt MİK değerleri	59
Tablo4.27: CLSI M38-A2 yöntemi ile saptanan Kurkumin MİK değerlerinin türlere göre dağılımı	62
Tablo4.28: CLSI M38-A2 yöntemi ile saptanan Propolis MİK değerlerinin türlere göre dağılımı	62
Tablo 4.29: 1. ve 2. mikropleyt MİK değerleri	63
Tablo 4.30: 3. ve 4. mikropleyt MİK değerleri	64
Tablo 4.31: 5. ve 6. mikropleyt MİK değerleri	65
Tablo 4.32: 7. ve 8. mikropleyt MİK değerleri	66
Tablo 4.33: 9. ve 10. mikropleyt MİK değerleri	67
Tablo 4.34: 11. ve 12. mikropleyt MİK değerleri	68
Tablo 4.35: 13.mikropleyt MİK değerleri	69
Tablo 4.36: Dermatofit Türlerine göre FİKİ değerleri	69
Tablo 4.37: <i>T.rubrum</i> kontrol suşunun sinerjistik çalışma sonuçları.....	70
Tablo 4.38: İtrakonazol, Terbinafin ve Sinerjistik Etki MİK değerleri.....	70

RESİM DİZİNİ

Resim 4.1: <i>Trichophyton</i> suşları üzerine kurkumin ekstratının antifungal aktivitesinin araştırılması için 96 kuyucuklu U tabanlı mikropleyde ekimi (Çalışmamızdan)	44
Resim 4.2: 96 kuyucuklu U tabanlı mikropleyden SDA besiyerine yapılan pasaj (Çalışmamızdan).....	45
Resim 4.3: 96 kuyucuklu U tabanlı mikropleyden SDA besiyerine yapılan pasaj (Çalışmamızdan).....	46
Resim 4.4: <i>Trichophyton</i> suşları üzerine propolis ekstratının antifungal aktivitesinin araştırılması için 96 kuyucuklu U tabanlı mikropleyde ekimi (Çalışmamızdan)	61
Resim.4.5: <i>Trichophyton</i> suşları üzerine propolis ve kurkumin ekstratlarının sinerjistik etkisinin incelenmesi için 96 kuyucuklu U tabanlı mikropleyde ekimi (Çalışmamızdan).....	70

1.GİRİŞ

Trichophyton türleri ilk kez 1845 yılında Malmsten tarafından tanımlanmıştır. *Trichophyton* sporları deri, saç, tüy, kıl, deri ve tırnaklarda lokalize olurlar. Besin kaynakları keratin yapılar olduğu için genel olarak kıl, deri, tüy olan bölgelerde görülürler. Hayvandan hayvana/insana veya insandan insana bulaşabilirler. Solunum sistemi ile bulaşmazlar. Hastalığın gerçekleşmesinde çevreye, konakçıya ait predispoze edici faktörlerin belirleyici rolleri mevcuttur. (Matsumoto ve Ajello, 1987).

Dermatofitler neden olduğu kutanöz enfeksiyonlar için “tinea” terimi de kullanılmaktadır (Gül, 2014.) Enfeksiyon bulunduğu anatomik bölgeye göre Tinea capitis, tinea corporis, tinea pedis, tinea cruris, tinea manum, tinea unguium, tinea barbae olarak isimlendirilir.

a. Tinea Capitis: Enfeksiyon saç ve saçlı deridedir. Kafa derisinde kabuklanma ve kaşıntı tinea kapitisin temel klinik özelliğidir. Eritem, inflamasyon ve alopesi eşlik edebilir. Saç gövdesinin invazyonuna göre ikiye ayrılır. Sporlar saç gövdesinin etrafında ise ektotriks, saç gövdesinin içinde ise endotriks enfeksiyon olarak adlandırılır. Genellikle *Trichophyton* türlerinin (*T. mentagrophytes*, *T. tonsurans*) neden olduğu endotriks enfeksiyonlarda saç deri seviyesinden kırılır ve enfekte kıl follikülünün kafa derisi içinde kalan bölümü siyah leke olarak kalır. Bazı endotriks enfeksiyonlarda kerion olarak adlandırılan püstüler form gelişir, saçlı deri ince kabuklu eksüdatif krutla kaplanır. Favus, *T. schoenleinii*'nin neden olduğu özel bir klinik tablodur. Yoğun miçel ve epitel artıklarından oluşan sarı renkli, kötü kokulu skutulum olarak adlandırılan kabuklanmalar tanı koydurucudur. Yıllar sonra kelliğe neden olabilir (Dicle ve Özkesici, 2013).

b. Tinea Corporis: Saçlı deri, avuç içi-ayak tabanı ve kıvrım bölgeleri hariç derinin diğer alanlarında görülen dermatofitozların ortak adıdır. İnfeksiyona

verilen reaksiyon, konağın immun yanıtına, mantarın virülansına, infeksiyonun anatomik lokalizasyonuna ve çevresel faktörlere bağlı olarak hafif veya yaygın şiddette gelişebilir. Dermatofitozların görülme sıklığı etkenin tipi, bireyin yaşı, immunitesi, sosyoekonomik durumu, bölgenin coğrafi ve iklimsel özellikleri gibi birçok faktöre bağlı olarak değişim göstermektedir. Anuler, etrafı kırmızımsı ve soluk yapıdadır. *Trichophyton*, *Microsporum*, *Epidermophyton floccosum* etken olan mikroorganizmalardır (Günaydın ve Aytimur, 2013).

c. Tinea Pedis: Sıklıkla *T. mentagrophyte* ve *T. rubrum* neden olur. Ayak parmak aralarında kaşıntılı, veziküler lezyonlar oluşur. Selülit gibi komplikasyonlara neden olabilir. Dermatofit enfeksiyonu kasıkta olursa Tinea kruris, elde olursa Tinea manum, tırnakta olursa Tinea unguium (onikomikoz), sakallı bölgede olursa Tinea barbae olarak adlandırılır.(Gül, 2014)

Klinik Örneklerin Alınarak İncelenmesi;

%70 etil alkol ile bölge iyice temizlenir. Lezyon bölgesinde yer alan diğer mikroorganizmaların bölgeden uzaklaşması sağlanır. Saçlı deride bölgede kıl hücreleri cımbız ile çekilerek yüzey steril bir bistüri ile kazınarak örnek alınır. Tırnak içindeki beyaz kısım alınarak inceleme yapılır. Saçsız deride yine bölge bistüri ile kazınarak inceleme yapılır (Gül, 2014).

Mikroskop ile İncelenmesi;

Hızlı ve kolay bir yöntemdir. %15-20'lik KOH (Potasyum hidroksit) çözeltisi kullanım için uygun bir çözeltilidir. Lamın üzerine numune alındıktan sonra lam ile kapatılır. Alevde tespit işlemi yapılır. Daha sonra mikroskop altında sporlarına göre incelenir (Bayar ve Güven , 2014).

Propolis, ağaçların kabukları, yaprakları ve bitki salgılarından bal arıları (*Apis mellifera*) tarafından toplanan yapışkan bir maddedir. Bal arıları propolisi kovan

girişini davetsiz misafirlerden korumak ve kovanda istenmeyen mikroorganizmaların gelişmesini önlemek amacıyla kullanır (Güney ve Yılmaz 2013).

Bilimsel araştırmalar, arıların dünyasında birçok farklı yerde kullanılan bu maddenin insanlar için de çok önemli olduğunu ortaya çıkarmıştır. Propolis fenolik asitler, esterler ve flavonoidler gibi çok sayıda aktif bileşik içermektedir. Bu sayede antibakteriyel, antifungal, antiviral, antiprotozoa, antitümoral, anti ülser ve anti inflamatuvar gibi birçok farklı biyolojik ve farmakolojik özellikler göstermektedir. Propolis sahip olduğu bu biyolojik ve iyileştirici özellikleri nedeniyle, doğal bir ilaç olarak, antik zamanlardan bu yana yaygın olarak kullanılmıştır.

Propolis, içerisindeki flavanoid seviyesinin yüksek olmasından dolayı, insanlarda oksijen radikallerine karşı yakalayıcı olarak görev görür. Ayrıca ilginç olarak vitamin C'nin oksidasyonunu engeller (Güney ve Yılmaz, 2013).

Yapılan klinik çalışmalar propolisin antiinflamatuvar, antibakteriyel, antifungal, antioksidan özelliğinin olduğunu göstermektedir (Gatea ve ark. 2015), (Marghitas ve ark. 2010), (Yarfani ve ark. 2010).

Çin, Arjantin, Uruguay, Şili, Brezilya, Kanada ve bazı Doğu Avrupa ülkeleri propolisin üretici ülkeler içerisinde başlarda yer almaktadır. Japonya, Brezilya ve Çin fazla miktarda propolis ithal etmektedir. Birçok alanda kullanılan propolis yaygın olarak ilaç sanayinde kozmetik sanayinde ve gıda sanayinde kullanılmaktadır (Sanpa ve ark. 2017).

Kurkumin Asya ülkelerinde yaygın olarak kullanılan bir baharatın bileşiminde bulunan ve zerdeçal (*Curcuma longa*) bitkisinden izole edilen sarı renkli bir bileşiktir. Geleneksel tıpta yaygın olarak kullanılan kurkuminin pek çok kullanım alanı vardır. (Yalçın ve ark. 2017)

Son 30 yılda kurkumin üzerine yapılmış çok sayıda çalışma mevcuttur. Kurkuminin daha antiinflamatuvar ve antikanser etkilerinin üzerinde durulmuştur. Kanser tedavisinde hem ilaç direnci hem de oluşturduğu birçok dezavantaj sebebiyle,

kurkumin kemoterapi yerine kullanılabilir anti-kanser ajan olarak ilgi çekmektedir (Maheshwari RK ve ark 2006).

Kurkumin doğal yolla oluşan bir fenolik bileşiktir ve *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* vb. mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (Yun DG, 2016).

Dermatofitozların mevcut antifungal ajanlarla tedavisi çoğu zaman yetersiz kalmaktadır. Mantar öldürücü etkisi olan daha iyi terapötik yöntemlerin araştırılması, alternatif olarak umut vaat eden fotodinamik prosedürlerin kullanımına yol açmıştır. Yakın zamanda kurkumin ve propolis bu tür uygulamalar için uygun bir madde olabileceği ileri sürülmüş ve araştırmalar bu yönde hız kazanmıştır (Brasch ve ark. 2017).

Çalışmamızda Namık Kemal Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi Mikrobiyoloji Laboratuvarında çeşitli örneklerden izole edilen 100 *Trichophyton* türü üzerinde propolis ve kurkuminin antifungal etkisinin yanı sıra sinerjistik etkilerinin incelenmesini amaçladık. Ayrıca çalışmamızın *Trichophyton* izolatları üzerinde propolis ve kurkuminin sinerjistik etkilerinin araştırıldığı ilk çalışma olması sebebiyle literatüre katkı sağlayacağı kanısındayız.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Dermatofitler

Mantar hastalıkları insan sağlığına etki eden önemli infeksiyonlardan biridir. Yüzeysel mikozlar ve allerjik mantar hastalıklarına ek olarak, fırsatçı mikozlar, immün sistemi baskılanmış bireylerde artış göstermekte, tanı ve tedavide zorluklara sebep olmaktadır. Dermatofitler yüzeysel mikozlar içerisinde yer almaktadır. Dermatofitoz dermatofitler tarafından oluşturulan enfeksiyonlara verilen isimdir ve infeksiyonları deri, tırnaklar ve mukoz membranlar ile sınırlıdır. İnfeksiyon olduğu bölgeye, konakçının immün yanıtına ve fungus türüne bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Dermatofitler infeksiyon kaynaklarına göre jeofilik, zoofilik ve antropofilik olarak 3'e ayrılırlar. Antropofilik türler nadiren diğer hayvanları infekte eder ve genellikle vücudun bir bölümünü (skalp, tırnak gibi) hedef alırlar. Genellikle iyi prognozlu infeksiyonlar cansız dokuda kolonize olduklarından doku hasarı çok az olup genellikle konakta hücresel immün yanıtı neden olurlar (Moriello KA ve ark. 2017). Dermatofit keratin dokuda yaşayabilmektedir. Deri tutulumunda deride kepeklenme, vezikül oluşumu ve iltihaplanma; kıl ve saç tutulumunda saçlarda kırılma ve dökülme, tırnak tutulumunda şekil ve yapıların bozulması söz konusu olup 'tinea' adı verilen tipik lezyonlar oluştururlar. Dermatofit infeksiyonuna neden olan türler *Trichophyton*, *Microsporum*, ve *Epidermophyton*'dur. *Trichophyton* türleri; deri, saç ve tırnaklarda, *Microsporum* türleri deri ve saçta; *Epidermophyton* türleri ise deri ve tırnaklarda infeksiyon oluştururlar. *Trichophyton* türleri eşeysiz üreme ile çoğalırlar ve antropofilikler.

Trichophyton rubrum: Keşfi 1910'lu yıllara uzanmaktadır. İnsan kökenlidir. Çok sayıda mikrokonidiyumlara sahiptir. Makroskobik olarak pamuksu ve kabarık

bir yapısı vardır.Tırnak ve saçsız deride yaygın olarak görülür. Eşeyli üreme gözlemlenmemiştir (Graser ve ark, 2007).

Trichophyton mentagrophytes: Makroskobik olarak pamuksu, kadifemsi ve granüllü yapıdadır. Mikrokonidiyum yapısı üzüm salkımı şeklindedir (Oyeka ve ark, 2007).

Dünyada en sık karşılaşılan dermatofit *Trichophyton rubrum*'dur. Dünya nüfusunun yaklaşık %10-20'sinin *Trichophyton rubrum*'dan infekte olduğu tahmin edilmektedir (İlkit, 2008). Türkiye'de yapılan çalışmalarda son yıllarda yaygın görülen dermatofit *Trichophyton* türüdür. *Trichophyton* türleri, bağışıklık sistemini baskılayan çok sayıda enzim salgılamaktadır (Solgun, 2008).

2.2.Propolis

Arı ürünü olan bal yüzyıllardır birçok hastalığı tedavi etmek için halk arasında yaygın bir biçimde kullanılmaktadır. Son gelişmeler ile birlikte bilim dünyasında da 'Apiterapi' adıyla arı ürünleri ile tedavi yapılmaya başlamıştır. Özellikle Çin başta olmak üzere tüm dünyada Apiterapi kabul görmektedir (Ulusoy, 2012). Türkiye arı ve ürünleri konusunda çok zengin bir habitata sahiptir. İnsanların ilgisini yıllar öncesinden çekmeyi başaran propolis eski çağlarda Avrupa ve Kuzey Afrika, Mısır, Yunan ve Roma ülkelerinde çeşitli hastalıkların tedavisinde yaygın olarak kullanılmıştır (Castolda ve ark. 2002). Propolisi ilk keşfedenler Yunanlılar olmuştur ve doğal antibiyotik şeklinde kullanmışlardır (Kurtuca ve ark. 2006). Propolis geleneksel tıpta kullanılmasına karşın sentetik ilaç kullanımının yaygınlaşması sebebiyle önemini yıllar içinde yitirmiştir. Ancak, son 20 yıl içerisinde sentetik ilaçların yan etkisindeki artış ve ilaca karşı mikroorganizmaların direnç kazanması sebebiyle doğal propolisin kullanımına karşı eğilim artmıştır (Kurtuca ve ark. 2006).

Arılar kovanda oyuk kapamak, kovayı mikroorganizmalardan korumak, kovan iç duvarlarını sıvamak ve kovayı istila etmek isteyen davetsiz misafirleri mumyalamak için propolis kullanmaktadır. Propolis, kovanın içini mikrobiyal kontaminasyona karşı korumak için güçlü bir savunma oluşturur. Kovan içerisinde kapalı bir ortamda 50.000-80.000 ergin arı, bir o kadar da yavru (yumurta, larva, pupa) bulunmaktadır. Kovan iç sıcaklığının (34 °C) ve rutubetin (%40-65) de virüsler, bakteriler ve funguslar için ideal bir ortam oluşturmalarına rağmen propolisin koruyucu özelliğinden dolayı bu hastalık etkenleri üreme imkanı bulamamaktadır (Albayrak, 2008).

Propolisin yapısında çok sayıda bileşik bulunmaktadır. Propolisin, polifenoller (flavonoidler, fenolik asit ve esterleri), terpenoidler, steroidler, aminoasitler ve inorganik bileşikler ve çeşitli kimyasal bileşikler içermektedir. (Moreno ve ark. 2000). Propolisin yapısında pinosebrin, akasetin, krisin, rutin, katesin, naringenin, galangin, luteolin, kamferol, apigenin, mirisetin, kuarsetin gibi flavonoidlerin yanı sıra kafeik asit ve sinamik asit gibi fenolik asitler de saptanmıştır. Bununla birlikte propoliste magnezyum (Mg), kalsiyum (Ca), iyot (I), potasyum (K), sodyum (Na), bakır (Cu), çinko (Zn), manganez (Mn) ve demir (Fe) gibi mineraller ile A, B1, B2, B6, C ve E vitaminleri ile çok sayıda yağ asidi tanımlanmıştır (Doğanyigit ve ark. 2013). Propolis örneklerinde saptanan en yoğun bileşen grubu flavonoid pigmentleridir ve bitki grubunda yaygın olarak bulunmaktadır. Flavonoidler, bitkisel kökenli, flavon çekirdeğine sahip bir bileşendir. Bu bileşikler, sekonder bitki metabolitidir bu sebeple insan yapısında sentezlenemezler. (Atik ve Gümüş 2017). Bileşen ve yapıları tablo 2.1'de gösterilmektedir. (Doğanyigit, 2013).

Bileşenler	Ana Maddeler	Miktar (%)
Reçine	Flavonoidler	45-55
	Terpenler	
	Kumarinler	
	Fenolik asitler ve esterleri	
Mum ve yağ asitleri	Arılardan veya bitkilerden mum	25-35
	Bitkilerden çoklu doymamış yağ asitleri	
Esansiyel yağlar	Uçucu bileşenler	10
Polen	Proteinler	5
	Eser elementler	
	Serbest aminoasitler	
	Vitaminler (A, B, C, E, PP, vs)	
Diğer Maddeler	Eser elementler (Cu, Mn, Fe, Zn, Al, Ag, Ca, Mg, Co, vs)	5
	Ketonlar	
	Laktonlar	
	Kuionlar	
	Steroidler	
	Şekerler	

Tablo 2.1: Propolisin Kimyasal Bileşenleri (Doğanyığıt, 2013).

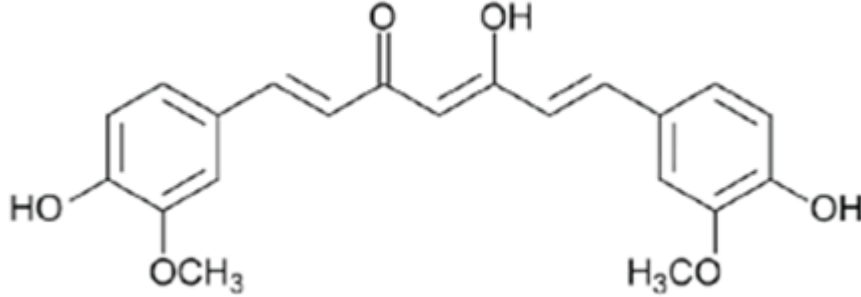
Propolisin antibakteriyel, antifungal, antiviral, antitripanosomal, lokalanestetik, antiinflamatuvar, antioksidan, hepatoprotektif immunostimulating, antitümoral ve sitostatik aktivite olmak üzere birçok özelliği bilinmektedir. Bu nedenle propolis; diabet, kalp rahatsızlıkları ve kanser olmak üzere başlıca hastalıkların önüne geçebilmek adına birçok gıda ve içecekte kullanılmaktadır (Banskota ve ark. 2001), (Badria1 ve ark. 2017).

Propolisin en çok araştırılan özelliklerinden biri antimikrobiyal aktivitesidir. Propolisin bakteri, mantar, virus ve diğer mikroorganizmalara karşı etkisini araştıran çokça bilimsel çalışma mevcuttur (Silici ve Kutluca, 2005).

Propolisin antimikrobiyal ve antifungal aktivitesi ile ilgili yapılan çalışmalarda Gram (+) bakteriler ve bazı funguslara karşı aktif olduğu (Badria1 ve ark. 2017), bazı çalışmalarda ise Gram (-) bakterilere karşı zayıf aktiviteye sahip olduğu belirtilmiştir (Akça ve ark. 2016). Yapılan bir başka çalışmada ise propolisin yine Gram (+) bakterilere karşı, Gram (-) bakterilere göre aktivitesinin daha fazla olduğu bildirilmiştir (Endoa ve ark. 2017).

2.3.Kurkumin

Kurkumin; Zencefilgiller (Zingiberaceae) familyasından sarı çiçekli, büyük yapraklı, çok yıllık otsu bir bitki cinsi olan Zerdeçal (*Curcuma longa*) bitkisinin rizomlarından (*Rhizoma Curcumae*) elde edilen major biyoaktif bileşendir (Çöteli ve Karataş, 2017). Genellikle Asya ülkelerinde kullanılmaktadır. Kurkuminin yapısında iki adet fenolik halka vardır, bunlar orta konumlarında birer metoksi eter içerir ve para konumlarından bir alifatik doymamış hepten bağlayıcı ile birleştirilmiştir. Kurkumin hidrofobik ve tautomer yapıya sahip bileşiktir (Yalçın ve ark. 2017). Yapısal özelliği Şekil 2.1'de gösterilmiştir (Yalçın ve ark. 2017).



Şekil 2.1: Kurkuminin yapısı (Yalçın ve ark. 2017).

Kurkumin inflamasyon, enfeksiyon hastalıkları ve kronik hastalıkların tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Ayrıca antihelmintik, antidepresan, safra taşı tedavisinde de kullanılmaktadır. Kurkuminin patojen funguslarla ilişkili enfeksiyonların tedavisinde olumlu sonuçlar verdiği ileri sürülmüştür. Son 30 yılda kurkumin üzerine çok sayıda araştırma yapılmıştır. Özellikle anti-inflamatuvar ve anti-kanser etkileri uzunca incelenmiştir (İçen ve Güneş 2017).

Doğal olarak oluşan bir fenolik bileşik olan Kurkuminin; *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* vb. mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal aktivite gösterdiği çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (Moghadamtousi ve ark 2014)

2.4. Dermatofit Tedavisi

Tinea infeksiyonlarının tedavisinde genellikle topikal ilaçlar kullanılmaktadır. Topikal ilaçlar çoğu zaman uygun kullanım gerçekleşirse etkili olmaktadır. Terbinafin ve naftifin yüksek oranda iyileşme göstermektedir.

Tolnaftat pudra tinea pedis tedavisinde uygun bir etken olarak görev alır (Larone DH, 2002). Sistemik tedavi; topikal tedavide başarısız olan hastalara, baş saçlı derisi ve sakal bölgesinde enfeksiyona sahip olanlar, avuç veya ayak bölgelerinde lezyon olan hastalara, enfeksiyonu yaygınlaşmış ve immün yetmezliği olan hastalara uygulanmaktadır İtrakonazol, terbinafin ve griseofulvin sistemik tedavide etkin rol almaktadır. Lezyonlar ortadan kaldırılana kadar tedavi devam ettirilmektedir. Genelde tırnak hastalığının tedavisinde itrakonazol veya terbinafin kullanılmaktadır.. İtrakonazol ve terbinafin ile pulse tedavisi de yapılabilir. Bu enfeksiyonlar bağışıklık sistemi baskılanmış bireylerde daha kötü sonuçlar vermektedir (Larone DH, 2002).

2.5.Antifungal Duyarlılık Testleri

Mantar enfeksiyonlarında görülen artış nedeniyle antifungallerin kullanımında da artış gözlenmektedir. Dünden bugüne mantar hastalıklarına karşı yeni arayış içine girilen ve yeni gelişim gösteren ilaç türevlerinin in vitro etkilerini belirlemek, ilaca karşı mantarların direnç gösterip göstermediğini saptamak ve elde edilen bu klinik izolatlardan antifungallere karşı duyarlı olup olmadıklarını in vitro şekilde incelemek için antifungal duyarlılık testleri yapılmaktadır. Antifungal duyarlılık testi mantarlara karşı geliştirilmiş ilaçların duyarlı popülasyonu içinde dirençli olanların saptanması şeklinde gerçekleştirilir. Bu yöntem ile hastaya en uygun antifungalın belirlenmesi amaçlanmaktadır. Antifungal duyarlılık testlerinde rutin mikoloji laboratuvarlarında makrodilüsyon, mikrodilüsyon, kolorimetrik mikrodilüsyon, gradient difüzyon, disk difüzyon, agar difüzyon ve spektrofotometrik mikrodilüsyon yöntemleri kullanılır (Koç 2012), (Espinel-Ingroff 2007). Gerçekleştirilecek olan bu testlerin standardizasyonu için 1992 yılından bugüne eski adı NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) yeni adı CLSI (Clinical and Laboratory Standard Institute) olan maya ve küfler için standart yöntemleri tanımlayan raporlar yayınlamışlardır. Yayımlanan raporlar Food and

Drug Administration (FDA) kapsamında kullanılmak için değerlendirilmiştir. Bu yöntemlerden M27-A3 Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts; Approved Standard 04/28/2008' mayaların antifungal ilaçlara duyarlılıklarını belirlemek için geliştirilmiş mikrodilüsyon yöntemidir . (CLSI 2008) Mikrodilüsyon metodunun sonuncu versiyonu olan M27-A3 dokümanı maya mantarlarının antifungal ilaçlara yönelik oluşturabileceği duyarlılık veya dirençliliğini tanımlamak için kullanılmak üzere standardize edilmiştir. M38-A2 Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Filamentous Fungi; Approved Standard 04/28/2008' ise küf mantarlarının antifungal ilaçlara duyarlılıklarını belirlemek için geliştirilmiş mikrodilüsyon yöntemidir (CLSI 2008)

M38-A2 dokümanına dermatofit grubu küf mantarları için hazırlanmiş parametreler de dahil edilmiş ve minimum inhibüsyon konsantrasyonu (MIK) değerine ek olarak minimum efektif konsantrasyon (MEK, µg/ml) betimlemesi ve önemide eklenmiştir. CLS 2008'de mantarların ilaçlara karşı duyarlılıklarını belirlemek için kullanılan yöntemler Tablo 2.2 'de verilmiştir (CLSI 2008).

	CLSI M27-A3	CLSI M38-A2	CLSI M44-A	CLSI M51-A
Uygulama alanı	Candida ve Cryptococcus	Küf mantarları	Candida	Zygomycetes, A.flavus, A.fumigatus, A.niger, Aspergillus spp., Alternaria, Bipolaris, Fusarium, Paecilomyces, P.boydii, S.prolificans
İnokulum	0.5-2.5x10 ³ CFU/ml (Spektrofotometrik)	0.4-5x10 ⁴ CFU/ml (Spektrofotometrik) 0.5 McFarland	1x10 ⁶ -5x10 ⁶ CFU/ml (Spektrofotometrik) 0.5 McFarland	0.4-5x10 ⁶ CFU/ml (Spektrofotometrik) 0.5 McFarland
Besiyeri	RPMI 1640 (MOPS, pH 7.0±0.1)	RPMI 1640 (MOPS, pH 7.0±0.1)	Mueller-Hilton agar+% 2 dektroz+0.6 µg metilen mavisi	Mueller-Hilton agar+% 2 dektroz+0.6 µg metilen mavisi (pH: 7.2-7.4)
Yöntem	Mikrodilüsyon	Mikrodilüsyon	Disk difüzyon	Disk difüzyon
Değerlendirme	Görsel	Görsel	Görsel	Görsel
Isı	35°C	35°C	35°C	35°C
İnkübasyon süresi	24-48 saat (C. neoformans 72 saat)	46-50 saat	20-24 saat	16-24 saat. (Zygomycetes), 24 (A. flavus, A. fumigatus, A. niger), 48 (diğer Aspergillus spp.), 48-72 (Alternaria, Bipolaris, Fusarium, Paecilomyces, P. boydii, S. prolificans)
Sınır değeri	Amfoterisin B için üreme olmayan kuyucuk, azoller, ekinokandinler için ≥ % 50 inhibisyon	Azol ve polienler için üreme olmayan kuyucuk MİK, ekinokandinler için MEK	Zon çapını içindeki küçük kolonileri göz arda edip büyük kolonilerden zonu ölçülür	Triazol ve ekinokandin için zonu çapını içindeki küçük kolonileri göz arda edip büyük kolonilerden zonu ölçülür. Amfoterisin B için küçük koloniler direnci gösterir.

Tablo 2.2: Maya ve küflerde kullanılan CLSI (Clinical and Laboratory Standard Institute) standart yöntemlerinin özellikleri (CLSI 2008)

Tablo 2.2’de tüm küf ve mayalar için CLSI tarafından belirlenen küf ve mayalar için uygulama alanları, inokülömleri, besiyerleri, yöntemleri, değerlendirme ve ısı dereceleriyle birlikte inkübasyon süreleri ve sınır değerleri detaylı olarak gösterilmiştir.

2.5.1. Mikrodilüsyon Yöntemi

Bir mikroorganizma üzerine antifungal ajanın ne kadar etkili olduğunu, inhibe edip etmediğini ve mikroorganizmayı öldürüp öldürmediğini belirlememizi sağlayan minimum konsantrasyonu saptama amacıyla mikrodilüsyon testleri kullanılır. Sıvı ve agar dilüsyonu olmaz üzere iki gruba ayrılır (CLSI M27-A3 2008).

2.5.1.1 Sıvı Dilüsyon Yöntemi

Bu yöntem ile MBK (minimum letal konsantrasyonu) ve MİK (minimum inhibitör konsantrasyonu) değerleri belirlenir. Bu değerlerin belirlenmesinin amacı mikrobiyal türlerin tedavisinde kullanılan ilaç türevlerinin konsantrasyonlarının etkinliğinin değerlendirilmesidir. Bu yöntemde sıvı besiyeri kullanılarak ilaç içeren 2 ve 10 katı dilüsyonlar yapılır. Kullanılacak olan ilaç içeriğinden 1 ml alındığında elde edilen değeri birinci MİK değeridir. Sonrasında ikili sulandırma yapılarak seri dilüsyonlar hazırlanır. Başlangıç dilüsyonu 512 µg'dan olduğunu varsayılırsa 512, 256, 128, 64, 32, 16, 8, 4, 2, 1, 0.5, 0.25, 0.12 µg/ml olacak şekilde seri dilüsyonlar yapılmış olur. Bu hazırlanan dilüsyonlar üremeli sıvı besiyeri içeriğine 0.1 ml olacak şekilde ekilir ve 24-48 saat 37 °C' de inkube edilir. Tüpte oluşan üreme gözle değerlendirilir. Üremenin gözlenmediği son dilüsyon MİK değeri olarak kabul görür. Ayrıca üremenin olmadığı son dilüsyondan 0,1 mL alınarak 10 ml sıvıbesiyerine eklenerek uygun ortamda inkübasyona bırakılır. Süre sonunda üremenin gözlemlenmemesi MİK değerini gösterir. Böylece MİK değerinin kesinliği belirlenir.

2.5.1.2 Agar Dilüsyon Yöntemi

Agar dilüsyon yöntemi sıvı dilüsyon yöntemi ile aynı amaca sahiptir. Tek bir fark mevcuttur. Bu da hazırlanan ilaç sulandırmalarının petrilere eklenerek üzerlerine agar dökülmesidir. Her petride dilüsyonları sonuçları gözlenebilmektedir. Test edilecek mikroorganizma uygun bulanıklıkta ayarlandıktan sonra istenen koloni sayısı elde edilinceye kadar dilüsyon yapılarak agar üzerine inoküle edilir. İnoküle edilen petrilere 35°C'de 18-24 saat inkübe edilir. Üremenin görülmediği son petri MİK değerini gösterir.

2.5.2 Difüzyon Yöntemi

2.5.2.1 Disk Difüzyon Yöntemi

Bu yöntem Kirby-Bauer tarafından geliştirilmiştir ve bu isimlerle de anılmaktadır. Bu test, kağıt disklere yerleştirilmiş olan antibiyotiğin, mikroorganizma üzerine etki etmesi ve besiyerine difüze olması temeline dayanmaktadır. Bu sayede mikroorganizmanın antibiyotiğe karşı duyarlı veya dirençli olup olmadığı belirlenmektedir. Mikroorganizma trypticase soy buyyonda 37°C'de 2 saat inkübe edilir. Süre sonunda McFarland 0.5 (108 mikroorganizma / ml)'e göre ayarlanarak standart bir bulanıklık oluşturulur. (McFarland standartları, sıvı besiyerindeki bakteri miktarını belirlemede kullanılır. McFarland bu standartları sülfirik asit ile baryum klorür kullanarak hazırlamıştır. (EUCAST 2014) Hazırlanan standarttan Mueller-Hinton agar yüzeyine ekim yapılır test edilmek istenen diskler besiyerine üzerine steril pens ile aktarılır. Belli miktarlarda antibiyotik içeren diskler katı besiyerine yerleştirilir. Diskler yerleştirilerken birbirine değmemesi için dikkat edilmelidir. Diskler arasında 22 mm, petri kenarından ise 14 mm uzaklık olmasına önemlidir. Diskler besiyerine teması ile birlikte besiyerinde difüze olur.- Mikroorganizmada aynı anda üremeye başlar. İnkübasyon sonunda (18-24 saat, 35°C) diskin sonunda diskin çevresinde üremenin olmadığı inhibisyon zonu görülür. İlaça karşı mikroorganizma ne kadar duyarlı olur ise disk genişliği o oranda fazladır. Zon çapları mm cinsinden ölçülerek değerlendirme yapılır (Hudzicki 2016).

2.5.2.2. Gradyent Difüzyon Yöntemi

Kantitatif bir sonuç vermektedir. Disk difüzyon testine benzemektedir. Mikroorganizma inoküle edilmiş olan agar besiyeri üzerine strip eklenerek inkübasyona kaldırılır ve inkübasyon sonucunda sribin etrafındaki oluşan zon strip üzerinden okunarak kantitaif sonuçlar belirlenir. Bu striplerde gittikçe artan konsantrasyonlarda antibiyotik veya antifungal bulunmaktadır. Üzerindeki rakamlar

ile MİK değeri gözle okunabilir. Oluşan inhibisyon zonu ile sribin kesiştiği nokta MİK değerini verir (Alastruey Izquierdo ve ark. 2015).

2.6.Sinerjistik Etki Yöntemleri

Antibiyotik ve antifungal ajanların birlikte kombinasyonlarının mikroorganizma enfeksiyonları üzerine olumlu ve daha iyileştirici yönde etkilerinin olup olmadığını incelemek adına birçok sinerjistik etki yöntemleri uygulanmaktadır.

2.6.1.Checkerboard (Dama Tahtası) Yöntemi

In vitro koşullarda en kolay ve anlaşılır olarak bilinen ve bu sebeple çokça tercih edilen bir yöntemdir. Bu yöntem kendi içinde 3'e ayrılmaktadır.

2.6.1.1.Mikrodilüsyon Yöntemi

96 kuyucuklu u tabanlı mikropaklar kullanılır. Sinerjistik etkisi incelenecek olan antibiyotik veya antifungaller için çift katlı seri dilüsyonlar yapılır. 2 katlı olarak hazırlanan 1. antibiyotik veya antifungal dilüsyonlarından soldan sağa 1.sütuna sırasıyla ekim yapılır, 2. ajan ise sol 1. kuyucuktan aşağıya doğru ilk kuyucuklara 2. ajanın seri dilüsyonları eklendikten sonra sırasıyla her kuyucuğa 2 antifungal veya antibiyotik eklenerek ikisinin kombinasyonunun sonuçları değerlendirilir. Sonuçların değerlendirilebilmesi için her iki antifungalın de ayrı ayrı fraksiyonel inhibisyon konsantrasyonu (FİK) değeri hesaplanır. FİK antifungal ajanın kombinasyondaki mik değerinin tek başına belirlenen mik değerine bölümü ile bulunur. FİK indeksi her iki antifungal ajanın toplanması ile belirlenir. Sonuç ≤ 0.5 ise sinerjistik etki göstermiştir şeklinde yorumlanır. (Aguar ve ark. 2016)

2.6.1.2.Makrodilüsyon Yöntemi

Mikrodilüsyon yöntemi basamakları burada da geçerlidir. Yöntem steril tüpler kullanılarak yapılmaktadır.

2.6.1.3.Agar Dilüsyon Yöntemi

Hazırlanan dilüsyonların hepsi boş petrilere 20 kat olacak şekilde aktarılır. Üzerlerine agar eklenir ve uygun ortamda üremeye bırakılarak sonuçlar değerlendirilir.

2.6.2.Zamana Bağlı Öldürme (Time-Kill) Yöntemi

Antifungal veya antibiyotiklerin seri dilüsyonlarından mikroorganizma üzerine eklenir, belirlenmiş saatlerde petrilere alınır ve sonuçlar değerlendirilir. (Thomson ve ark 2016)

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Kullanılan Araç ve Gereçler

3.1.1. Kullanılan Cihazlar

Buzdolabı +4⁰C (Liebherr, İsviçre)

Derin Dondurucu -20⁰C (Liebherr, İsviçre)

Hassas terazi (Sartorius, Almanya)

Isıticılı manyetik karıştırıcı (SI Analytics, Almanya)

Otoklav (Fedegari Group, Almanya)

Otomatik pipet seti (Eppendorf, ABD)

pH metre (Mettler Toledo, ABD)

Vorteks (Benchmark, ABD)

Biogüvenlik Kabini (Airtech, ABD)

Etüv (Binder, Türkiye)

Mikroskop (Olympus, Japonya)

3.1.2. Kullanılan Besiyerleri, Sarf Malzeme ve Antifungal Ajanlar

Sabouraud Dextrose Agar (Merck, Almanya)

RPMI 1640- L-glutaminli, bikarbonatsız (Sigma, ABD)

Tüp (Kırgen, Türkiye)

Pipet ucu (Kırgen, Türkiye)

Toma lamı (Orlab, Türkiye)

Lam (Marienfeld, Almanya)

Lamel (Marienfeld, Almanya)

96 kuyucuklu U tabanlı mikrodilüsyon mikropleyt (Orlab, Türkiye)

Kurkumin (Türkiye)

Propolis (Türkiye)

İtrakonazol (Sigma Chemical, ABD)

Terbinafin (Sigma Chemical, ABD)

Petri (Isolab, Almanya)

Steril filtre (Merck, Almanya)

Balon joje (Isolab, Almanya)

3.1.3. Kullanılan Çözelti ve Tamponlar

Serum fizyolojik (Merck, Almanya)

Steril Saf Su (Sartorius Saf Su Cihazı, Almanya)

Etanol (Merck, Almanya)

Phosphate Buffered Saline (Santa Cruz Biotechnology, ABD)

3-N-Morfolino-Propan-Sülfonik Asit (Santa Cruz Biotechnology, ABD)

NaOH, (Merck, Almanya)

3.1.4. Çalışmada Kullanılan Mikroorganizma Suşları

Etik kurul numarası 2017/37/03/08 olan bu çalışmada 11.10.2011-08.04.2013 tarihleri arasında Namık Kemal Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi Mikrobiyoloji Laboratuvarında bulunan 100 *Trichophyton* izolatu kullanıldı. Çalışmada kullanılan *Trichophyton* izolatlarının 61'i erkek 39'u kadın hastalardan izole edilmiştir. Deriden izole edilen *T.rubrum* suşlarının 43'ü erkek hastalara 26'sı ise kadın hastalara aittir. Deriden izole edilen 22 *T.mentagrophytes* suşlarının 15'ini erkek hastalar 7'sini kadın hastalar oluşturmaktadır. Saçtan izole edilen *T.rubrum* suşu erkek hastadan izole edilmiştir. Üç tanesi erkek, 3 tanesi kadın hastadan olmak üzere toplam 6 hastanın tırnağından *T.rubrum* suşu izole edilmiştir. Ayrıca 2 kadın

hastanın tırnağından izole edilen *T.mentagrophytes* suşları da çalışmaya dahil edilmiştir.

3.2. Yöntem

3.2.1. Sabouraud dekstroz agar'ın (SDA) hazırlanması

Alınan klinik örnekler, mantarların üretilmesinde kullanılan bir genel üretim besiyeri olan SDA besiyerine ekildi.

Besiyerinin içeriği:

Pepton 10 g/L

Glikoz 40 g/L

Agar 15 g/L

pH 5,6±0,2

Toz besiyerinden 65 g tartılmış ve üzerine 1 L'ye tamamlayacak şekilde distile su eklenerek otoklavda 121°C'de 15 dakika 1 atm basınçta sterilize edildi. 9 cm çapında steril petri kaplarına kalınlığı 4 mm olacak şekilde 25'er ml dökülerek katılaşıncaya kadar bekletildi ve kullanılıncaya kadar +4°C'de buzdolabında saklandı.

3.2.2. Mikroorganizmaların Üretilirliği

100 *Trichophyton* izolatından hazırlanmış olan SDA besiyerlerine biogüvenlik kabini altında steril iğne öze ile ekimler yapıldı. Üreyip gelişebilmeleri için 30-35°C etüvde 7 gün inkübasyona bırakıldı.

3.2.3. RPMI 1640 Hazırlanması

100 mL RPMI 1640 besiyeri (L-glutaminli, bikarbonatsız) içerisine 3,4 gr 3-N-Morfolino-propan-sülfonik asit (MOPS) eklendi ve vorteks ile karıştırıldı. Üzerine

500 mL NaOH eklenerek pH 7.00±1 olarak ayarlandı. Daha sonra biogüvenlik kabini altında steril 0,2 mikronluk filtreden geçirilerek steril hale getirildi.

3.2.4. Kurkumin Hazırlanması

Kurkuminden 7,31 gram tartıldı ve üzerine 500 µL NaOH eklendi. Vortexleme işleminden sonra üzerine 3,5 mL PBS (Phosphate Buffered Saline) eklenerek kurkumin ekstratının hazırlanması sağlandı.

3.2.5. Propolis Hazırlanması

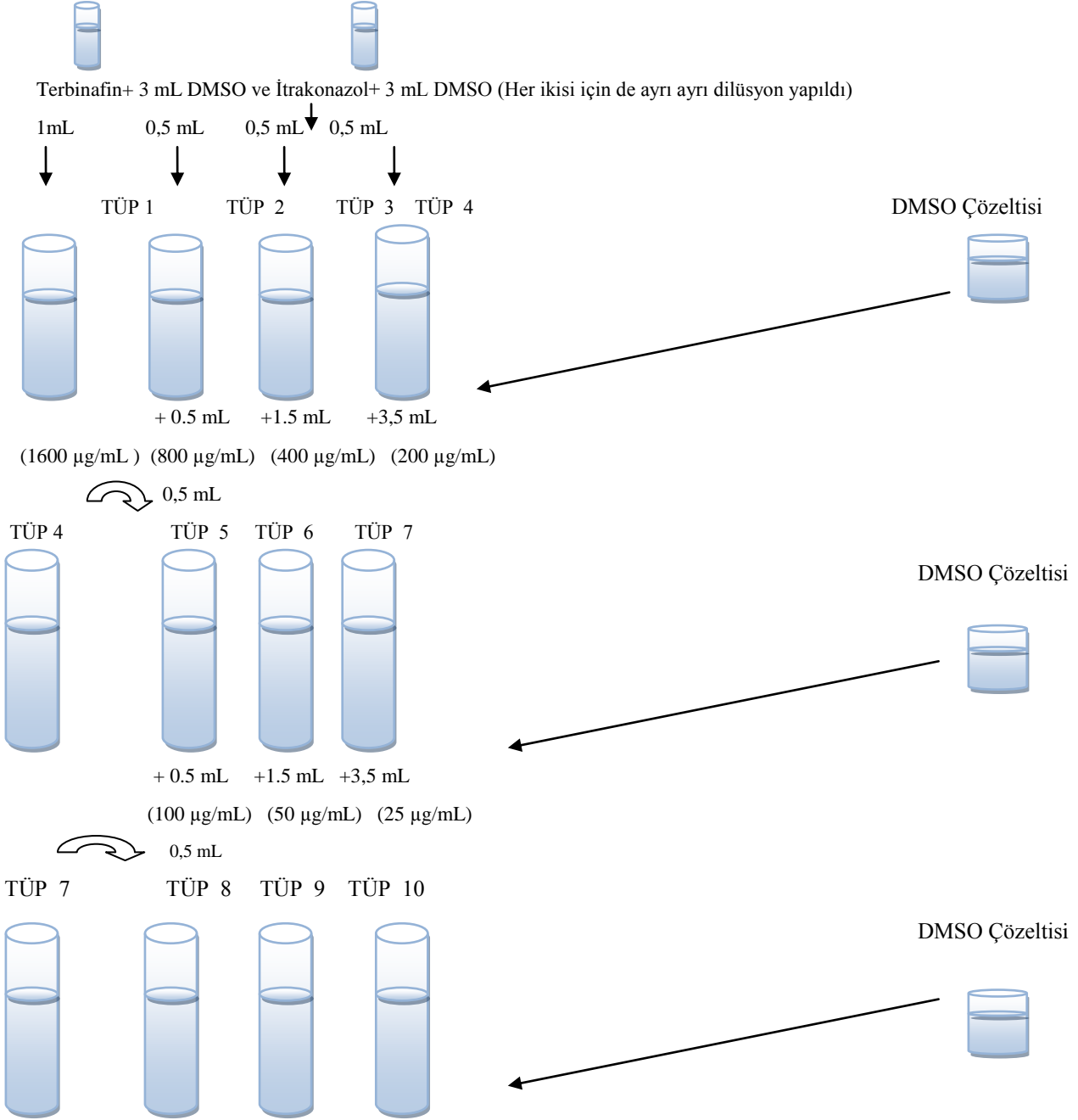
Kuru halde temin edilmiş olan Propolis havanda ezildikten sonra %70'lik etanol ile oda sıcaklığında etüvde çalkalanarak bekletildi. Üç günün sonunda kurutularak toz haline getirildi. Toz halindeki Propolisten 0,00160 g/mL tartıldı. 250 µL etanol ve 4750 µL PBS ile çözdürülerek ekstrat hazırlanmış oldu.

3.2.6. İtrakonazol ve Terbinafin Antifungal İlaç Dilüsyonlarının Hazırlanması

Çalışmamızda kullanılan itrakonazol ve terbinafin antifungalleri ticari olarak elde edildi. Ticari olarak temin edilmiş olan itrakonazol, 1 mL DMSO için 1,63 mg olarak tartıldı. Ticari olarak temin edilmiş olan terbinafin 1 mL DMSO için 1,60 mg olarak tartıldı. Her iki antifungalde 3 mL DMSO içerisinde çözdürüldü ve stok solüsyon 1600 µg/ml olarak hesaplandı. Stok solüsyondan seri dilüsyonlar yapıldı. 1. tüpe 1ml, 2. tüpe 0.5 ml, 3. tüpe 0.5 ml, 4. tüpe 0.5 ml hazırlanmış olduğumuz stok solüsyondan eklendi. Sonra 2. tüpe 0.5 ml, 3. tüpe 1.5 ml, 4. tüpe 3.5 ml DMSO çözeltisi eklendi. Konsantrasyonlar sırasıyla 1. tüpte 1600 µg/ml, 2. tüpte 800 µg/ml, 3. tüpte 400 µg/ml ve 4. tüpte 200µg/ml olarak ayarlanmış oldu. Bu işlemlerin ardından 5. , 6. ve 7.tüplere 4. tüpten vortexlenerek 0.5 ml aktarıldı. 5. tüpe 0.5 ml, 6. tüpe 1.5 ml, 7. tüpe 3.5 ml DMSO çözeltisi eklendi. Bu sayede 5. tüpte 100 µg/ml, 6. tüpte 50 µg/ml, 7. tüpte 25 µg/ml olacak şekilde konsantrasyonlar ayarlandı. Daha

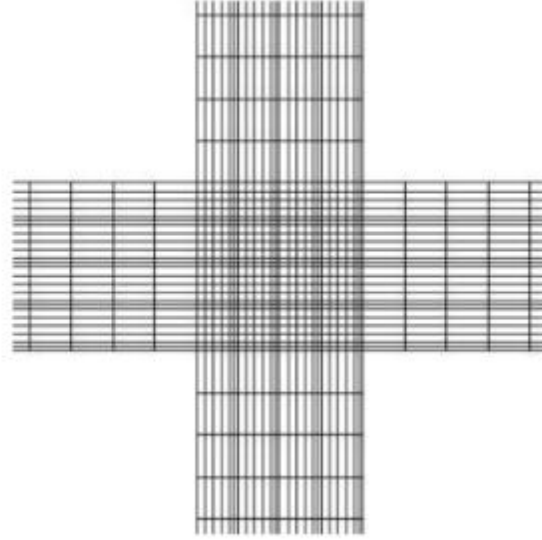
sonra 7. tüpten 8. , 9. ve 10. tüplere 0.5 ml aktarıldı. Bir önceki dilüsyonda olduğu gibi sırasıyla 8. tüpe 0.5 ml, 9. tüpe 1.5 ml, 10. tüpe 3.5 ml DMSO çözeltisi ilave edildi. Hazırlanan dilüsyonların konsantrasyonları 8. tüp için 12.5 µg/ml, 9. tüp için 6.25 µg/ml, 10. tüp için 3.13 µg/ml olarak ayarlanmış oldu. 1. tüpten 10.tüpe kadar konsantrasyon 1600 ile 3.13 µg/ml aralığında olacak şekilde seri dilüsyonlar hazırlanmış oldu. Bu dilüsyon serilerinden sırasıyla 0.2 ml alındı ve üzerlerine 9.8 ml RPMI 1640 besiyeri konuldu. Böylece *RPMI* da 1/ 100 oranında dilüsyon yapıldı. Hazırlanan dilüsyonlar sırasıyla 96 kuyucuklu U tabanlı mikroye aktarıldı. Aktarımda her bir dilüsyon serisinin 100 µL'si kuyucuklara alındığı için dilüsyonların yarıya inmesi sağlandı. Son konsantrasyon aralığı 0.0313-16 µg/ml olarak ayarlandı. Yapılan işlem Şekil 3.1'de şematik olarak gösterildi.

Şekil 3.1. Antifungal Dilüsyon Hazırlığı



+ 0.5 mL +1.5 mL +3,5 mL
(12.5 µg/ml) (6.25 µg/ml) (3.13 µg/ml)

3.2.7. Thoma Lamı (Hemositometre) Yöntemi İle Spor Sayımı



Şekil 3.2 Thoma lamı sayım kareleri

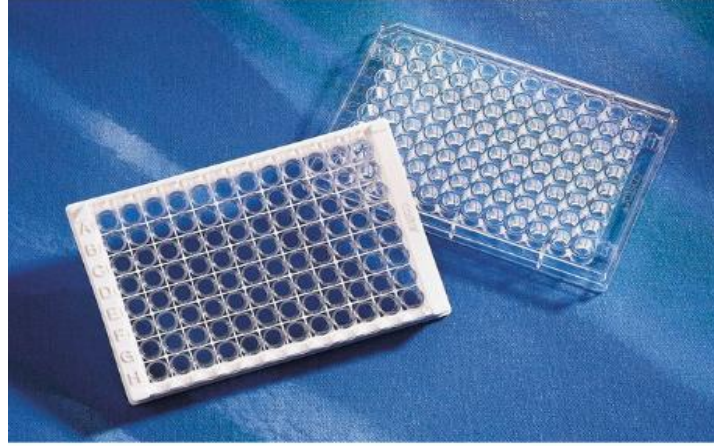
(<https://drive.google.com/file/d/0B0jZ3Z62Gq2qdFluOHFH0HM1aHc/view>)

Çalışmamızda spor sayımı thoma lamı ile yapıldı. Taze pasajı alınmış olan dermatofit suşlarının bulunduğu petriyeler kullanıldı. 2 mL serum fizyolojik dermatofit bulunan petriye eklendi. Steril öze yardımı ile sporların kazınması sağlandı. Bu karışımın içinden sıvı kısım çekilerek steril tüpe aktarıldı. 20 dakika hif yapılarının çökmesi beklendi. Daha sonra üst kısmın 1 mL'si alınarak steril tüpe koyuldu. Üzerine 2 mL RPMI 1640 besiyeri eklendi. Hazırlanmış olan örnekten 10 µL alınarak thoma lamına aktarıldı ve lam ile kapatıldı. 4+4 şeklinde spor sayımları yapıldı.

Sayım formülü 2 (Sulandırma oranı) x 2 (Toma sayımı) x Bulunan spor sayısı x 10^4 . Toma sayımı: 16 kareden 8 karesi sayıldığı için 2 ile çarpıldı. $0,1 \times 10^4$ - 5×10^4 arasındaki sayımlar geçerli kabul edildi. Çalışmada yeterli miktarda mikroorganizma kullanılabilmesi için 3 katı kullanıldı. 30 μ L mikroorganizma 1470 μ L RPMI 1640 steril bir tüpe çalışma için alındı.

3.2.8. 96 Kuyucuklu U Tabanlı Mikropleyt Mikrodilüsyon Yöntemi

Çalışmamızda CLSI M38-A2 Doğrultusunda mikrodilüsyon yöntemi olarak dermatofitler için U tabanlı 96 kuyucuklu mikropleyt kullanıldı.



Şekil 3.3 96 Kuyucuklu U Tabanlı Plak

(<https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/cls2509?lang=en®ion=TR>)

100 *Trichophyton* izolatının her biri için önce kurkumin ile mikrodilüsyon çalışması yapıldı. Daha sonra propolis ile aynı çalışma tekrarlandı. İkisinin snerjistik etkilerini belirlemek için de ayrı bir çalışma yapıldı. Her kuyucuğa hazırlanmış olduğumuz RPMI 1640 besiyeri (L-glutaminli, bikarbonatsız) besiyerinden 100'er μ L eklendi. Son kuyucuğa negatif kontrol amacıyla 200 μ L besiyeri eklendi. 1. sıra kuyucuklarına hazırlanmış ve kullanıma kadar -20°C 'de bekletilmiş kurkumin

extratından 100'er µL eklendi. Daha sonra 2.sıradan başlayarak (negatif kuyucukları ve pozitif kuyucukları hariç) tüm kuyucuklara sırasıyla bir önceki kuyucuktan 100'er µL alınarak kurkuminin seri dilüsyonlarının yapılması sağlandı. Negatif kuyucuğundan bir önceki kuyucuk sırasına pozitif kontrol amacıyla kurkumin eklenmedi. Thoma lamında sayımları yapılmış ve steril tüplere aktarılmış olan *Trichophyton* izolatlarından her kuyucuğa 100'er µL eklendi. 1. kuyucuktaki kurkumin konsantrasyonu 2560 µg/mL olarak hesaplandı. Seri dilüsyon yapıldığı için her bir sonraki dilüsyonda konsantrasyon yarıya indirildi. Bir 96 kuyucuklu U tabanlı plakta 8 adet dermatofit türü çalışıldı. Kurkumin için 13 adet, 96 kuyucuklu U tabanlı mikropleyt kullanıldı. Bu çalışmanın propolis için de aynısı gerçekleştirildi. Her bir kuyucuğa RPMI 1640 besiyeri (L-glutaminli, bikarbonatsız) besiyerinden 100'er µL eklendi. Son kuyucuğa negatif kontrol olacak şekilde 200 µL besiyeri eklendi. Son kuyucuktan bir önceki kuyucuğa pozitif kontrol amacıyla 100 µL besiyeri 100 µL hazırlanan mikroorganizma dilüsyonundan 100 µL eklendi. İlk kuyucuk sırasına 100'er µL propolis extratından eklendi. Seri dilüsyon yapılarak son 2 sıralı kuyucuklar hariç diğer kuyucuklara bir önceki kuyucuklardan alınarak 100'er µL propolis eklenerek propolisin dilüsyonları yapılmış oldu. Propolis için 13 adet 96 kuyucuklu U tabanlı mikropleyt kullanıldı. Propolisin 1.kuyucuktaki konsantrasyonu 320 µg/mL olarak hesaplandı. Sırasıyla her dilüsyon sonrası konsantrasyon yarıya indirilmiş oldu. Kurkumin ve propolisin sinerjistik etkisini gözlemlemek için 100 adet 96 kuyucuklu u tabanlı mikropleyt kullanıldı. Aynı çalışma kontrol suşu olarak kullanılan *Trichophyton rubrum* (NCPF 0419) ile hem propolis hem kurkumin hem de ikisinin sinerjistik etkisinin incelenmesi için tekrarlandı. Hazırlanan mikropleytlar 46-50 saat 35°C etüvde inkübasyona bırakıldı.

3.2.9. Sinerjistik Etki Çalışması için Mikrodilüsyon Checkerboard Yöntemi

Mikrodilüsyon checkboard yöntemi American Society for Microbiology standartları doğrultusunda çalışıldı. Bu çalışmada stok solüsyonu 320 µg/ mL olan propolis için 0,625-320 µg/ mL, stok solüsyonu 2560 µg/ mL olan kurkumin için 5-640 µg/ mL dilüsyon aralığı belirlendi. 2560 µg/ mL Kurkumin 1:2 oranında dilüsyon yapılarak konsantrasyonu 640 µg/ mL'ye ayarlandı. 96 kuyucuklu U tabanlı mikroyeylemlere 100 µL steril RPMI 1640 besiyeri dağıtıldı. Yatay sıradaki (A1-A10) ilk kuyucuklarına 100 µL kurkumin eklendi. İlk eklenen kurkumin solüsyonu 640 µg/ mL olacak şekilde ayarlandı. Yukarıdan aşağı doğru seri dilüsyonlar yapıldı. Son kuyucukta kurkumin solüsyon konsantrasyonu 5 µg/mL olması sağlandı. 10 adet tüp alındı. 1.tüpe 320 µg/mL'nin 2 katını oluşturacak şekilde propolis eklendi ve diğer tüplere sıralı bir şekilde 1:2 oranında dilüsyonları yapıldı. Son tüpün propolis konsantrasyonunu 0,625 µg/mL'nin 2 katını içermesi sağlandı. 96 kuyucuklu u tabanlı mikroyeylemlere eklendiğinde yarıya incekleri için dilüsyonlar 2 katı olacak şekilde ayarlandı. Daha sonra bu tüplere dermatofit izolatları eklendi. Bu tüplerden sırasıyla her bir sütunun 1.dilüsyonu içermesi şekilde paylaşımları yapıldı. Vorteksleme işlemi sonrası 96 kuyucuklu U tabanlı mikroyeylemlerin dikey sırasına (A1-H1) hazırlanan tüplerin 1. tüpünden (320 µg/ mL) sırasıyla 100'er µL alınarak aktarıldı. Her bir satır için bir sonraki dilüsyon tüpünden alınarak aktarımlar yapıldı. Bu işlem çizelge 3.1 gösterilmiştir.Son kuyucuklarında kalan miktarlar pipet ucu ile birlikte dışarıya atıldı. 11 numaralı sütun negatif kontrol olarak kullanıldı ve sadece 200 µL besiyeri ilave edildi. 12 numaralı sütun pozitif kontrol olarak kullanıldı ve 100 µL besiyeri ile 100 µL dermatofit izolatu eklendi. Dermatofit final

konsantrasyonu 5×10^5 cfu/mL oldu. Hazırlanan mikroyepler 46-50 saat 35°C etüvede inkübasyona bırakıldı.

96 kuyucuklu u tabanlı mikroyepte Propolis ve Kurkumin ekstratlarının sinerjistik etki çalışması

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	A640 + B320	A640 + B160	A640 + B80	A640 + B40	A640 + B20	A640 + B10	A640 + B5	A640 + B2,5	A640 + B1,25	A640 + B0,625	PK	NK
B	A320 + B320	A320 + B160	A320 + B80	A320 + B40	A320 + B20	A320 + B10	A320 + B5	A320 + B2,5	A320 + B1,25	A320 + B0,625	PK	NK
C	A160 + B320	A160 + B160	A160 + B80	A160 + B40	A160 + B20	A160 + B10	A160 + B5	A160 + B2,5	A160 + B1,25	A160 + B0,625	PK	NK
D	A80 + B320	A80 + B160	A80 + B80	A80 + B40	A80 + B20	A80 + B10	A80 + B5	A80 + B2,5	A80 + B1,25	A80 + B0,625	PK	NK
E	A40 + B320	A40 + B160	A40 + B80	A40 + B40	A40 + B20	A40 + B10	A40 + B5	A40 + B2,5	A40 + B1,25	A40 + B0,625	PK	NK
F	A20 + B320	A20 + B160	A20 + B80	A20 + B40	A20 + B20	A20 + B10	A20 + B5	A20 + B2,5	A20 + B1,25	A20 + B0,625	PK	NK
G	A10 + B320	A10 + B160	A10 + B80	A10 + B40	A10 + B20	A10 + B10	A10 + B5	A10 + B2,5	A10 + B1,25	A10 + B0,625	PK	NK
H	A5 + B320	A5 + B160	A5 + B80	A5 + B40	A5 + B20	A5 + B10	A5 + B5	A5 + B2,5	A5 + B1,25	A5 + B0,625	PK	NK

A:Kurkumin Ekstratının MİK değerleri, B: Propolis Ekstratının MİK değerleri, PK: Pozitif Kontrol, NK: Negatif Kontrol

Çizelge 3.1. 96 kuyucuklu u tabanlı mikroyepte sinerjistik propolisin ve kurkumin ekstratlarının sinerjistik çalışması

3.2.10. Fraksiyonel İnhibitör Konsantrasyonunu İndeksi (FİKİ) Değerlendirilmesi

Propolis ve kurkumin sinerjistik etkilerinin etkinliğini belirlemek için FİKİ aşağıdaki formüle göre hesaplandı. (Zhang ve ark. 2019)

A: Kombinasyonda kullanılan propolis

B: Kombinasyonda kullanılan Kurkumin

$$FİK A = \frac{\text{B'nin varlığında A'nın MİK sayısal değeri}}{\text{Tek başına A'nın MİK sayısal değeri}}$$

$$FİK B = \frac{\text{A'nın varlığında B'nin MİK sayısal değeri}}{\text{Tek başına B'nin MİK sayısal değeri}}$$

$$\sum FİKİ = FİK A + FİK B$$

$$\sum FİKİ \leq 0,5 \text{ ise sinerji}$$

$$\sum FİKİ > 0,5 \text{ ve } 4 \leq \text{ ise etkisiz (indifens)}$$

$$\sum FİKİ \geq 4 \text{ ise antagonist}$$

3.2.11. SDA Besiyeri Kullanılarak MFK Değerinin Belirlenmesi

Minimal fungisidal konsantrasyonunun belirlenmesi için 96 kuyucuklu u tabanlı plaklarda yapılan mikrodilüsyon çalışması sonuçlarının doğrultusunda gözlemlenen en son üremenin gözlenmediği kuyucuğu MİK olarak kabul edebilmek için mikropleyten pozitif ve negatif kontrol haricindeki tüm kuyucuklarından 0,1'er mL alınarak SDA besiyerine pasaj yapıldı. 30-35°C'lik etüve inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası petilerin üzerinde üreme olup olmadığı incelendi ve üreme olmayan kuyucuğun pasajı MFK (Minimum Fungisidal Konsantrasyon) değeri olarak belirlendi.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Çalışma Grubu

Çalışmamızda 11 Ekim 2011 – 08 Nisan 2017 tarihleri arasında Tekirdağ Namık Kemal Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarında bulunan 61'i erkek 39'u kadın hastalardan izole edilen 100 Trichophyton izolatu kullanılmıştır. *T.rubrum* suşlarının 44'ü erkek derisinden, 26'sı kadın derisinden, 1'i erkek saçından, 3'ü erkek tırnağından, 3'ü kadın tırnağından izole edilmiştir. *T.mentagrophytes* suşlarının 15'i erkek derisinden, 7'si kadın derisinden, 2'si kadın tırnağından izole edilmiştir. Kullanılan 100 Trichophyton izolatu'nun 76'sını *T. rubrum*, 24'ünü *T. mentagrophytes* oluşturmaktadır. Ayrıca standart suş olarak Trichophyton rubrum ATCC MYA-4438 suşu kullanılmıştır.

4.2. Trichophyton Suşlarının Kurkumin Antifungal Aktivite Sonuçları

96 kuyucuklu U tabanlı mikropleytlere ekimi yapılmış olan Trichophyton izolatlarının kurkumine karşı duyarlılığını belirlemek için suşlara inkübasyon sonrası görsel olarak inceleme yapıldı. MİK değerini belirleyebilmek için, inceleme sonucunda üremenin görülmediği kuyucuklardan SDA besiyerine ekimler yapıldı. Ekilen koloniler 24-48 saat sonra değerlendirildi. Her bir 96 kuyucuklu U tabanlı mikropleytle 8 *Trichophyton* izolat değerlendirmeye alındı. Değerlendirme sonuçları her bir mikropleyt için tablo 4.1-4.13'te verildi. Her dermatofit suşu için kurkuminin antifungal aktivite sonuçları standart suş sonucu ile karşılaştırılarak çizelge 4.1- 4.13 gösterildi.

1. MİKROPLEYT	KUYUCUK NUMARASI	MİK DEĞERİ
A- <i>T.rubrum</i>	4	160 µg/mL
B- <i>T.rubrum</i>	6	40 µg/mL
C- <i>T.rubrum</i>	8	10 µg/mL
D- <i>T.rubrum</i>	6	40 µg/mL
E- <i>T.rubrum</i>	4	160 µg/mL
F- <i>T.rubrum</i>	7	20 µg/mL
G- <i>T.rubrum</i>	7	20 µg/mL
H- <i>T.rubrum</i>	5	80 µg/mL

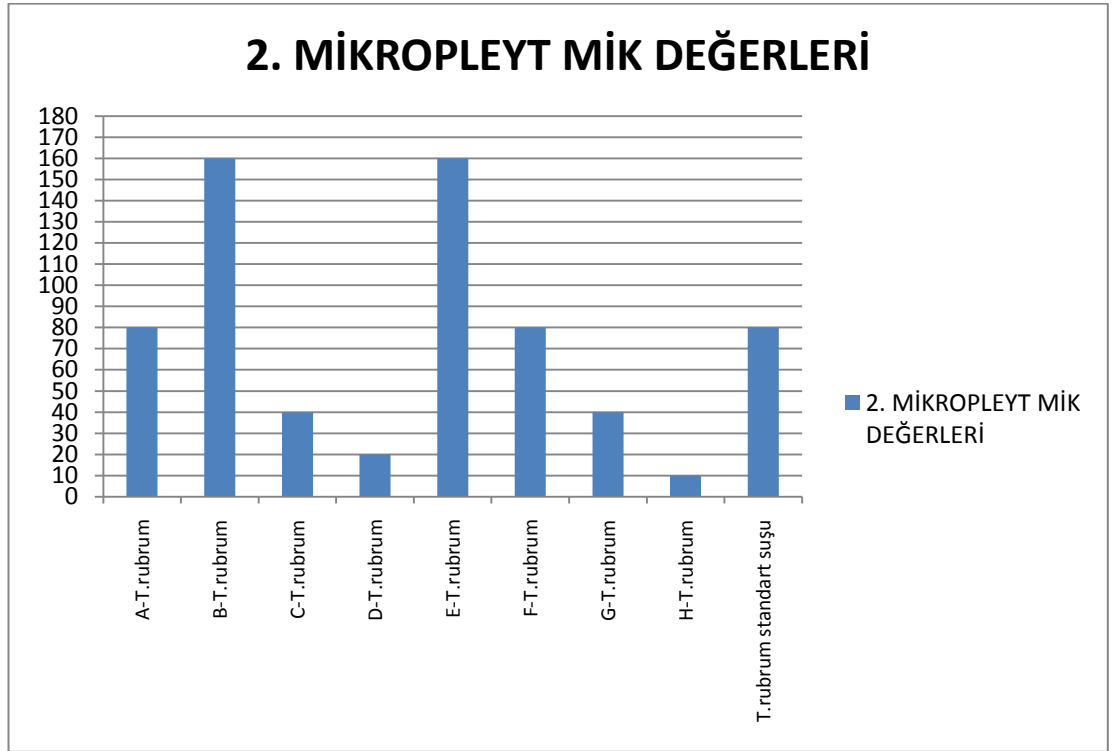
Tablo 4.1. Kurkumin ekstratı 1. mikropleyt MİK değerleri



Çizelge 4.1 Kurkumin ekstratı 1. mikropleyt MİK değerleri

2. MİKROPLEYT	KUYUCUK NUMARASI	MİK DEĞERİ
A- <i>T.rubrum</i>	5	80 µg/mL
B- <i>T.rubrum</i>	4	160 µg/mL
C- <i>T.rubrum</i>	6	40 µg/mL
D- <i>T.rubrum</i>	7	20 µg/mL
E- <i>T.rubrum</i>	4	160 µg/mL
F- <i>T.rubrum</i>	5	80 µg/mL
G- <i>T.rubrum</i>	6	40 µg/mL
H- <i>T.rubrum</i>	8	10 µg/mL

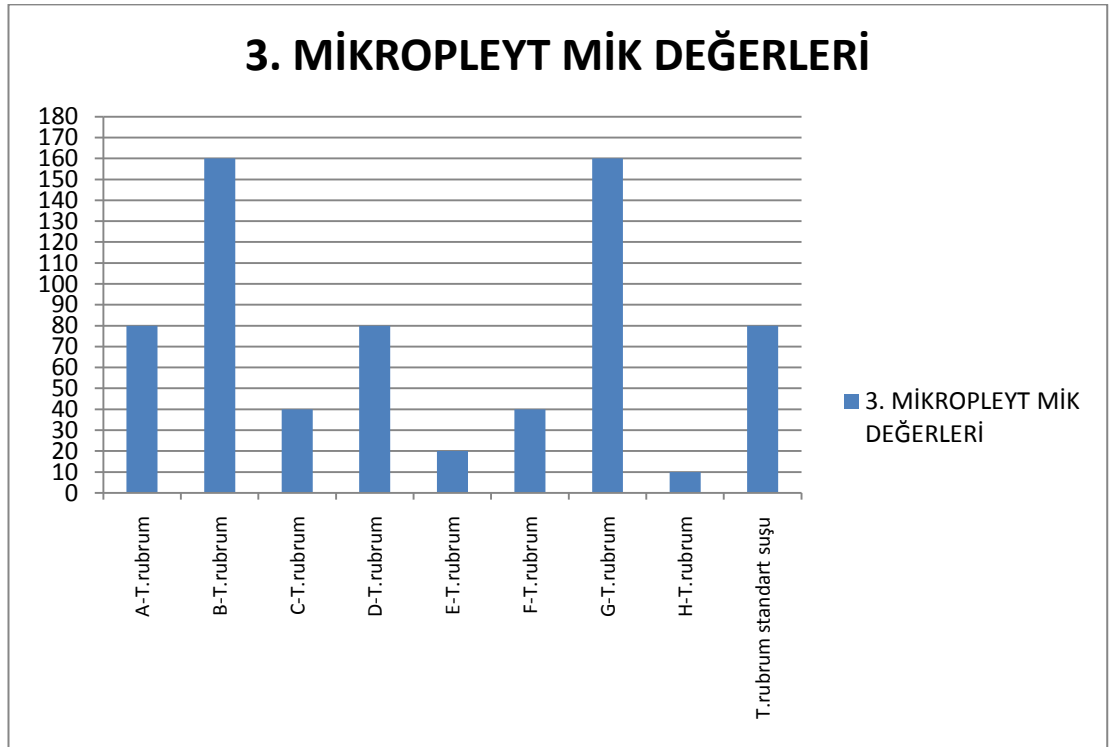
Tablo 4.2. Kurkumin ekstratı 2. mikropleyt MİK değerleri



Çizelge 4.2. Kurkumin ekstratı 2. mikropleyt MİK değerleri

3. MİKROPLEYT	KUYUCUK NUMARASI	MİK DEĞERİ
A- <i>T.rubrum</i>	5	80 µg/mL
B- <i>T.rubrum</i>	4	160 µg/mL
C- <i>T.rubrum</i>	6	40 µg/mL
D- <i>T.rubrum</i>	5	80 µg/mL
E- <i>T.rubrum</i>	7	20 µg/mL
F- <i>T.rubrum</i>	6	40 µg/mL
G- <i>T.rubrum</i>	4	160 µg mL
H- <i>T.rubrum</i>	8	10 µg/mL

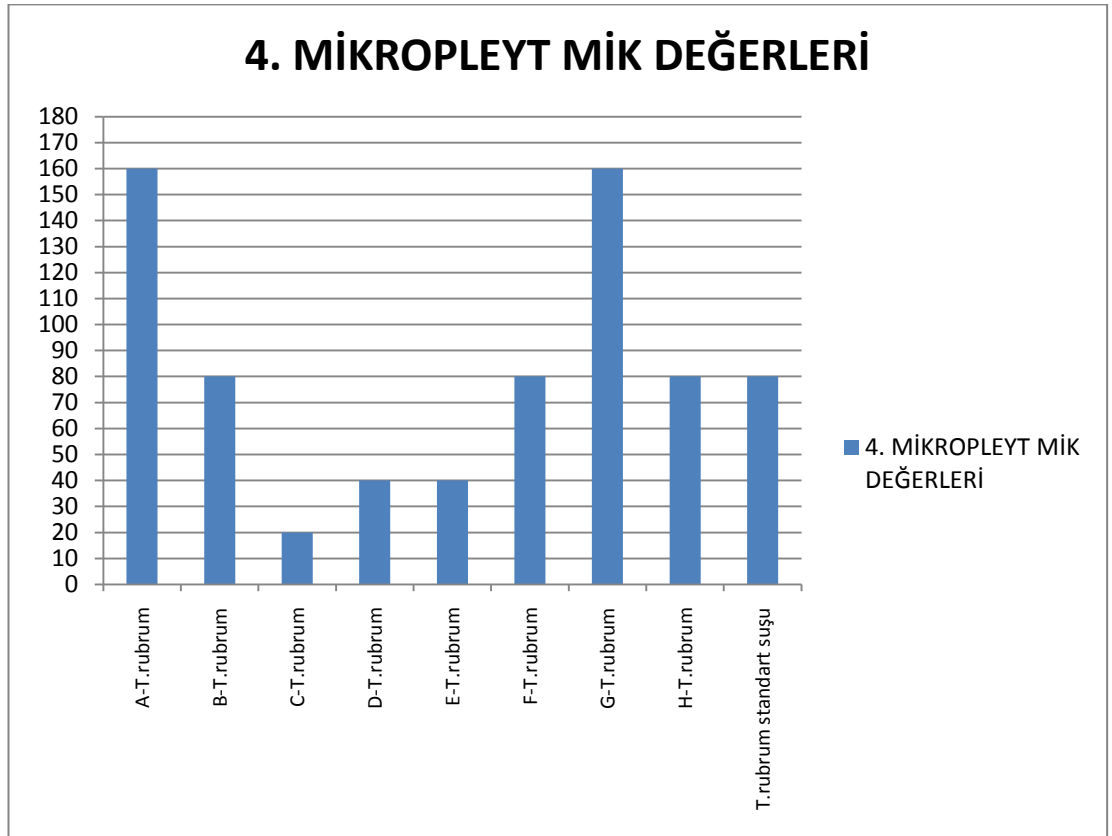
Tablo 4.3. Kurkumin ekstratı 3. mikropleyt MİK değerleri



Çizelge 4.3. Kurkumin ekstratı 3. mikropleyt MİK değerleri

4. MİKROPLEYT	KUYUCUK NUMARASI	MİK DEĞERİ
A- <i>T.rubrum</i>	4	160 µg/mL
B- <i>T.rubrum</i>	5	80 µg/mL
C- <i>T.rubrum</i>	7	20 µg/mL
D- <i>T.rubrum</i>	6	40 µg/mL
E- <i>T.rubrum</i>	6	40 µg/mL
F- <i>T.rubrum</i>	5	80 µg/mL
G- <i>T.rubrum</i>	4	160 µg/mL
H- <i>T.rubrum</i>	5	80 µg/mL

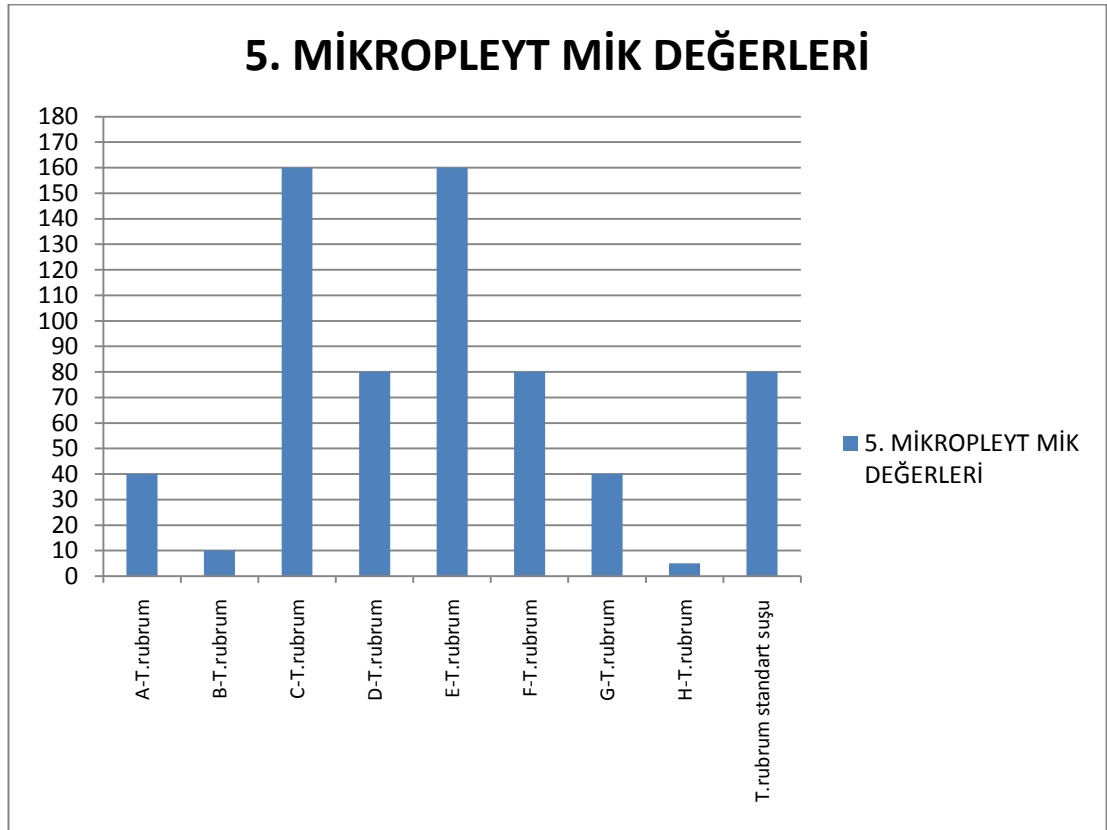
Tablo 4.4. Kurkumin ekstratı 4. mikropleyt MİK değerleri



Çizelge 4.4. Kurkumin ekstratı 4. mikropleyt MİK değerleri

5. MİKROPLEYT	KUYUCUK NUMARASI	MİK DEĞERİ
<i>A-T.rubrum</i>	6	40 µg/mL
<i>B- T.rubrum</i>	8	10 µg/mL
<i>C- T.rubrum</i>	4	160 µg/mL
<i>D- T.rubrum</i>	5	80 µg/mL
<i>E- T.rubrum</i>	5	160 µg/mL
<i>F- T.rubrum</i>	9	80 µg/mL
<i>G- T.rubrum</i>	6	40 µg/mL
<i>H- T.rubrum</i>	9	5 µg/mL

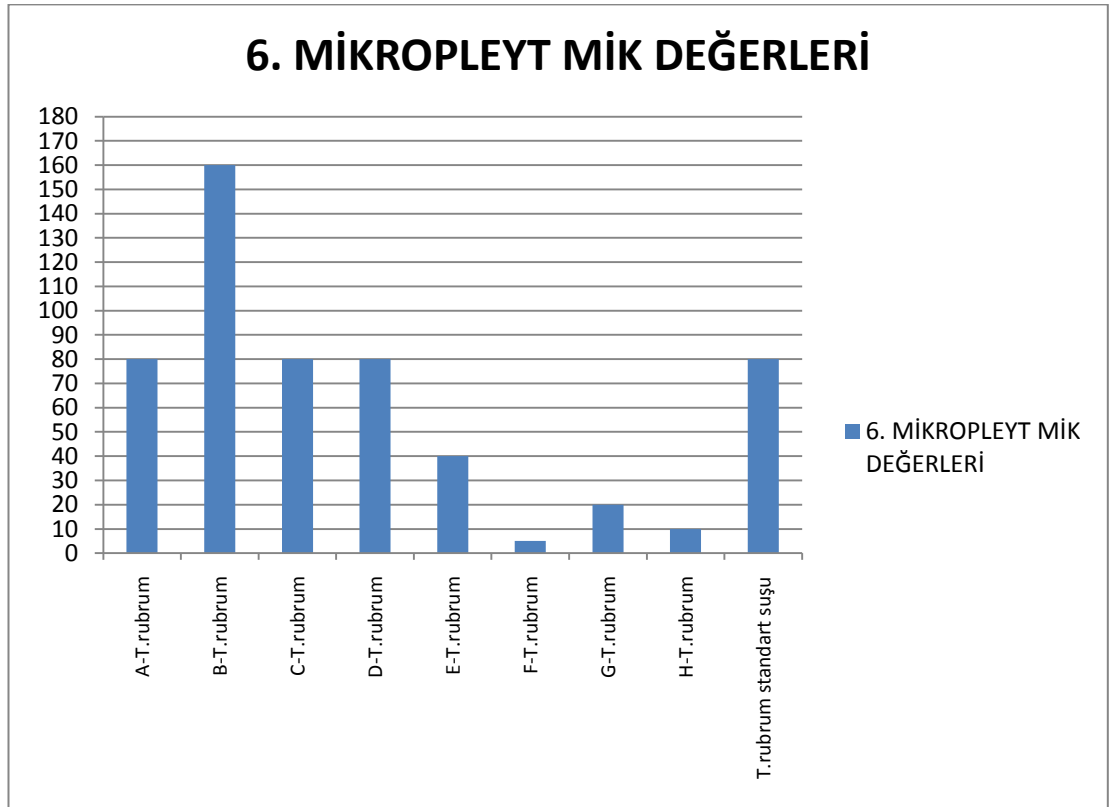
Tablo 4.5. Kurkumin ekstratı 5. mikropleyt MİK değerleri



Çizelge 4.5. Kurkumin ekstratı 5. mikropleyt MİK değerleri

6. MİKROPLEYT	KUYUCUK NUMARASI	MİK DEĞERİ
<i>A-T.rubrum</i>	5	80 µg/mL
<i>B- T.rubrum</i>	4	160 µg/mL
<i>C- T.rubrum</i>	5	80 µg/mL
<i>D- T.rubrum</i>	5	80 µg/mL
<i>E- T.rubrum</i>	9	5 µg/mL
<i>F- T.rubrum</i>	6	40 µg/mL
<i>G- T.rubrum</i>	7	20 µg/mL
<i>H- T.rubrum</i>	8	10 µg/mL

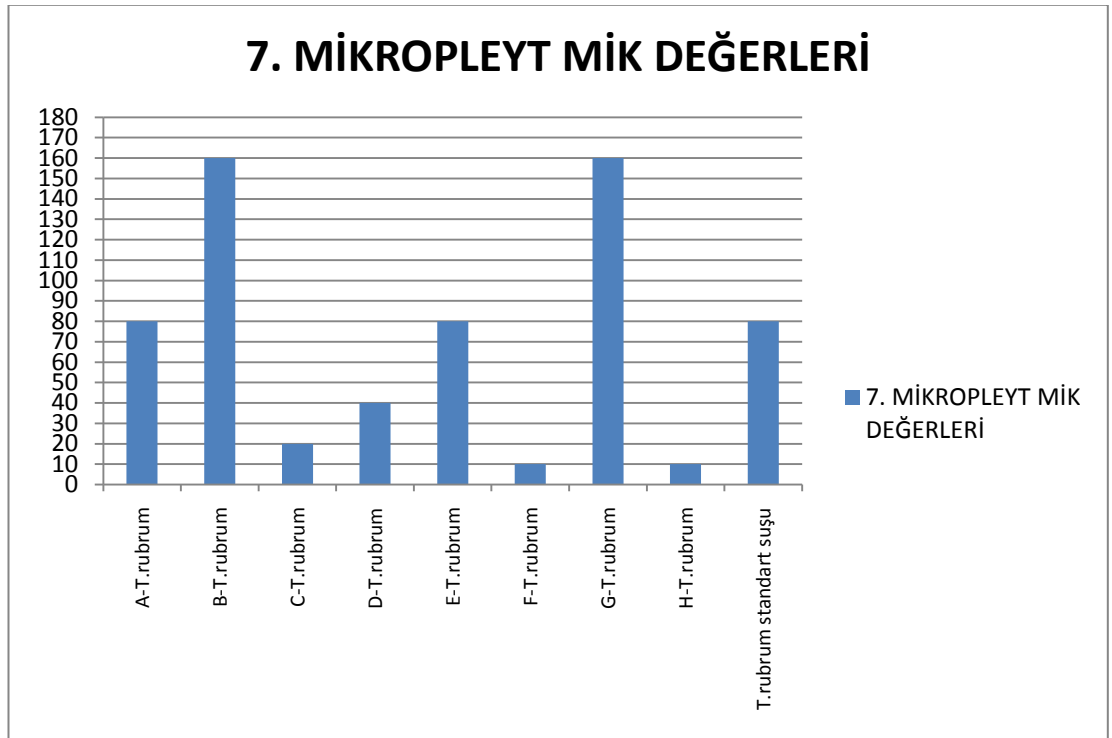
Tablo 4.6. Kurkumin ekstratı 6. mikropleyt MİK değerleri



Çizelge 4.6. Kurkumin ekstratı 6. mikropleyt MİK değerleri

7.MİKROPLEYT	KUYUCUK NUMARASI	MİK DEĞERİ
A- <i>T.rubrum</i>	5	80 µg/mL
B- <i>T.rubrum</i>	4	160 µg/mL
C- <i>T.rubrum</i>	7	20 µg/mL
D- <i>T.rubrum</i>	6	40 µg/mL
E- <i>T.rubrum</i>	5	80 µg/mL
F- <i>T.rubrum</i>	8	10 µg/mL
G- <i>T.rubrum</i>	4	160 µg/mL
H- <i>T.rubrum</i>	8	10 µg/mL

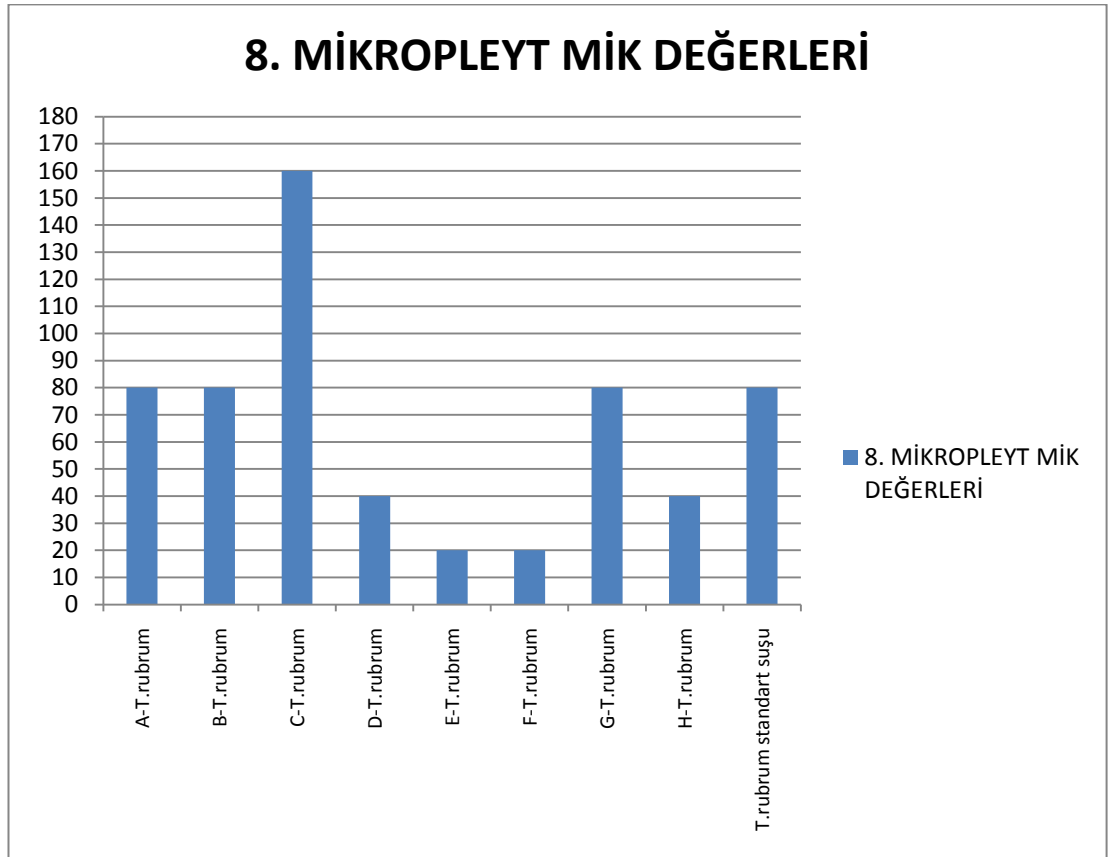
Tablo 4.7. Kurkumin ekstratı 7. mikropleyt MİK değerleri



Çizelge 4.7. Kurkumin ekstratı 7. mikropleyt MİK değerleri

8. MİKROPLEYT	KUYUCUK NUMARASI	MİK DEĞERİ
A- <i>T.rubrum</i>	5	80 µg/mL
B- <i>T.rubrum</i>	5	80 µg/mL
C- <i>T.rubrum</i>	4	160 µg/mL
D- <i>T.rubrum</i>	6	40 µg/mL
E- <i>T.rubrum</i>	7	20 µg/mL
F- <i>T.rubrum</i>	7	20 µg/mL
G- <i>T.rubrum</i>	5	80 µg/mL
H- <i>T.rubrum</i>	6	40 µg/mL

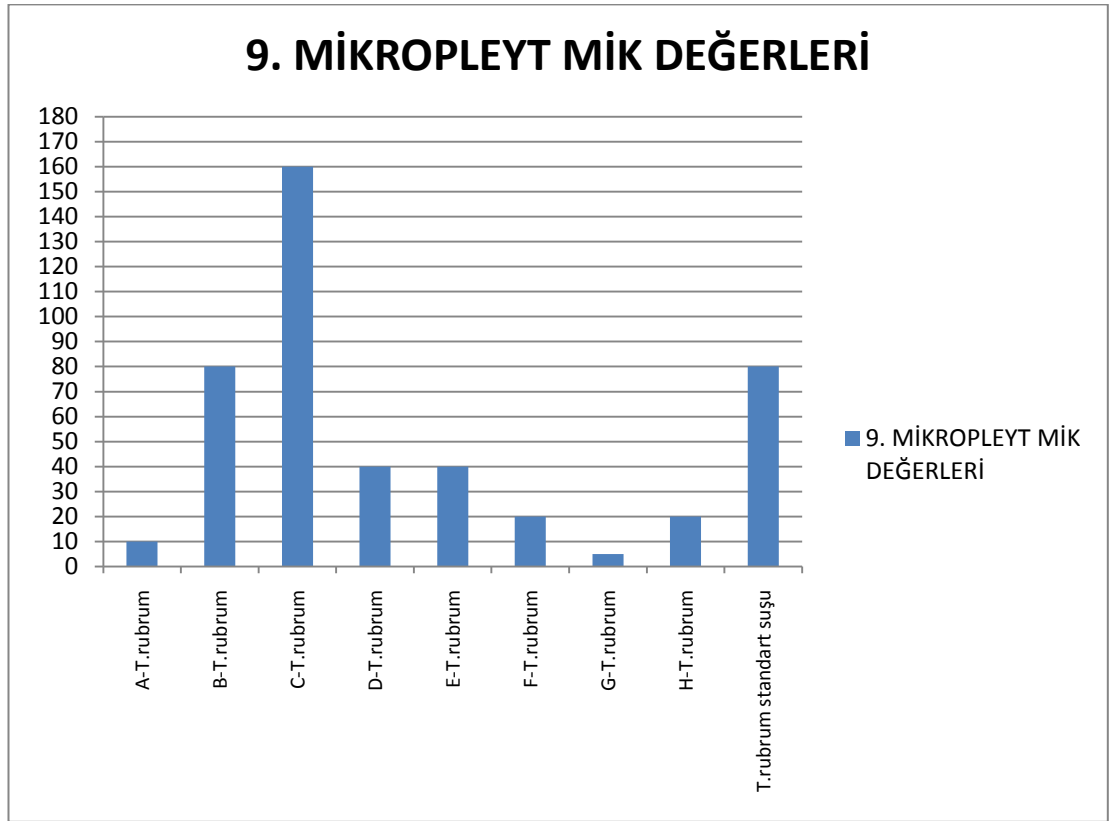
Tablo 4.8. Kurkumin ekstratı 8. mikropleyt MİK değerleri



Çizelge 4.8. Kurkumin ekstratı 8. mikropleyt MİK değerleri

9. MİKROPLEYTT	KUYUCUK NUMARASI	MİK DEĞERİ
A- <i>T.rubrum</i>	8	10 µg/mL
B- <i>T.rubrum</i>	5	80 µg/mL
C- <i>T.rubrum</i>	4	160 µg/mL
D- <i>T.rubrum</i>	6	40 µg/mL
E- <i>T.rubrum</i>	6	40 µg/mL
F- <i>T.rubrum</i>	7	20 µg/mL
G- <i>T.rubrum</i>	9	5 µg/mL
H- <i>T.rubrum</i>	7	20 µg/mL

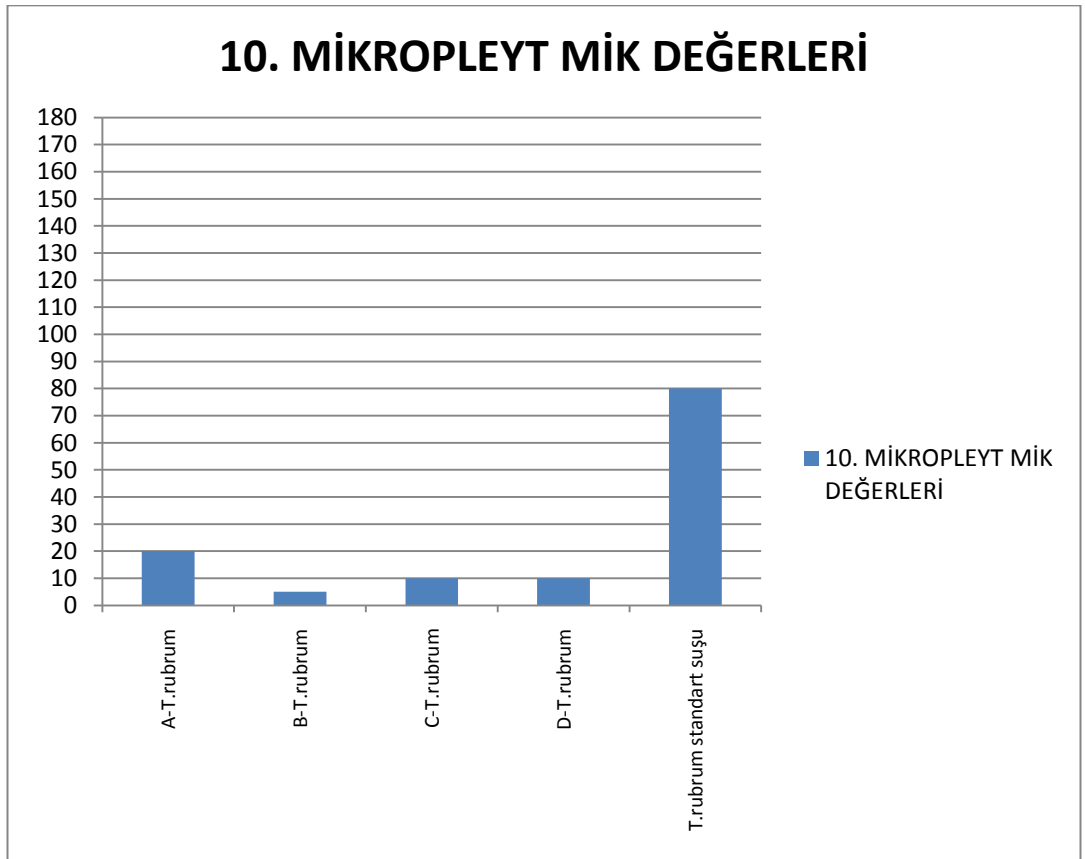
Tablo 4.9. Kurkumin ekstratı 9. mikropleyt MİK değerleri



Çizelge 4.9. Kurkumin ekstratı 9. mikropleyt MİK değerleri

10. MİKROPLEYT	KUYUCUK NUMARASI	MİK DEĞERİ
A- <i>T.rubrum</i>	7	20 µg/mL
B- <i>T.rubrum</i>	9	5 µg/mL
C- <i>T.rubrum</i>	8	10 µg/mL
D- <i>T.rubrum</i>	8	10 µg/mL

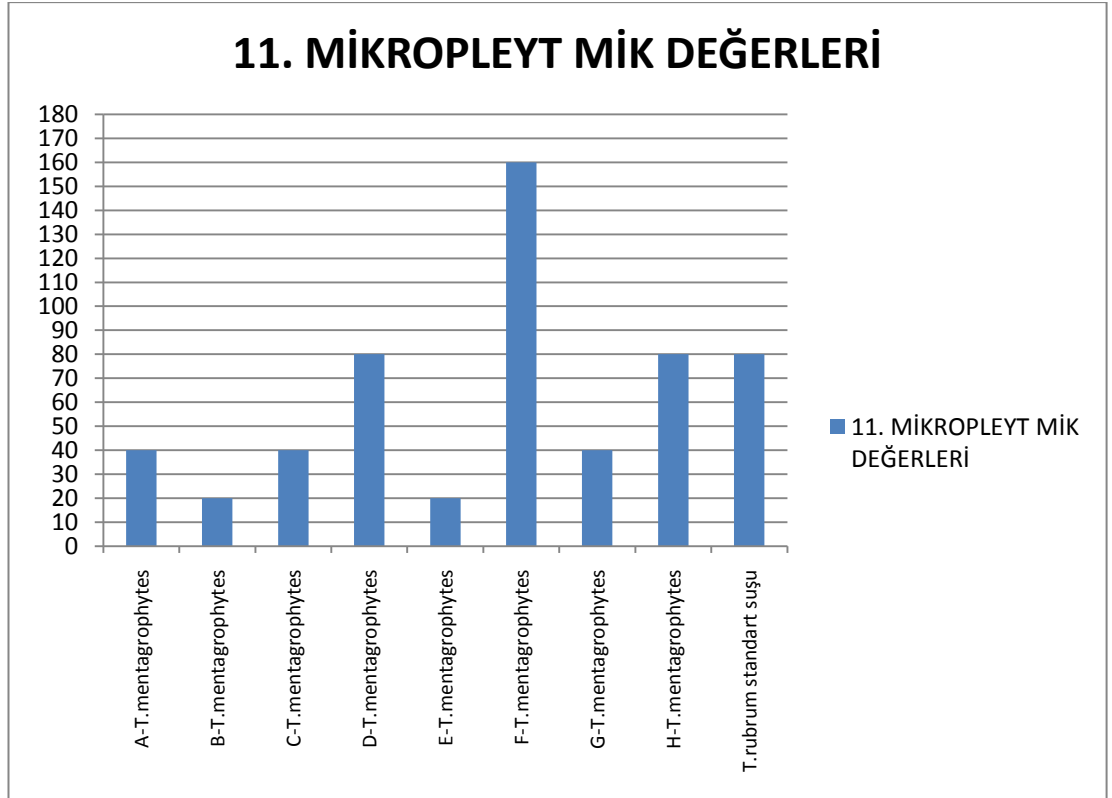
Tablo 4.10. Kurkumin ekstratı 10. mikropleyt MİK değerleri



Çizelge 4.10. Kurkumin ekstratı 10. mikropleyt MİK değerleri

11. MİKROPLEYT	KUYUCUK NUMARASI	MİK DEĞERİ
A- <i>T.mentagrophytes</i>	6	40 µg/mL
B- <i>T.mentagrophytes</i>	7	20 µg/mL
C- <i>T.mentagrophytes</i>	6	40 µg/mL
D- <i>T.mentagrophytes</i>	5	80 µg/mL
E- <i>T.mentagrophytes</i>	7	20 µg/mL
F- <i>T.mentagrophytes</i>	4	160 µg/mL
G- <i>T.mentagrophytes</i>	6	40 µg/mL
H- <i>T.mentagrophytes</i>	5	80 µg/mL

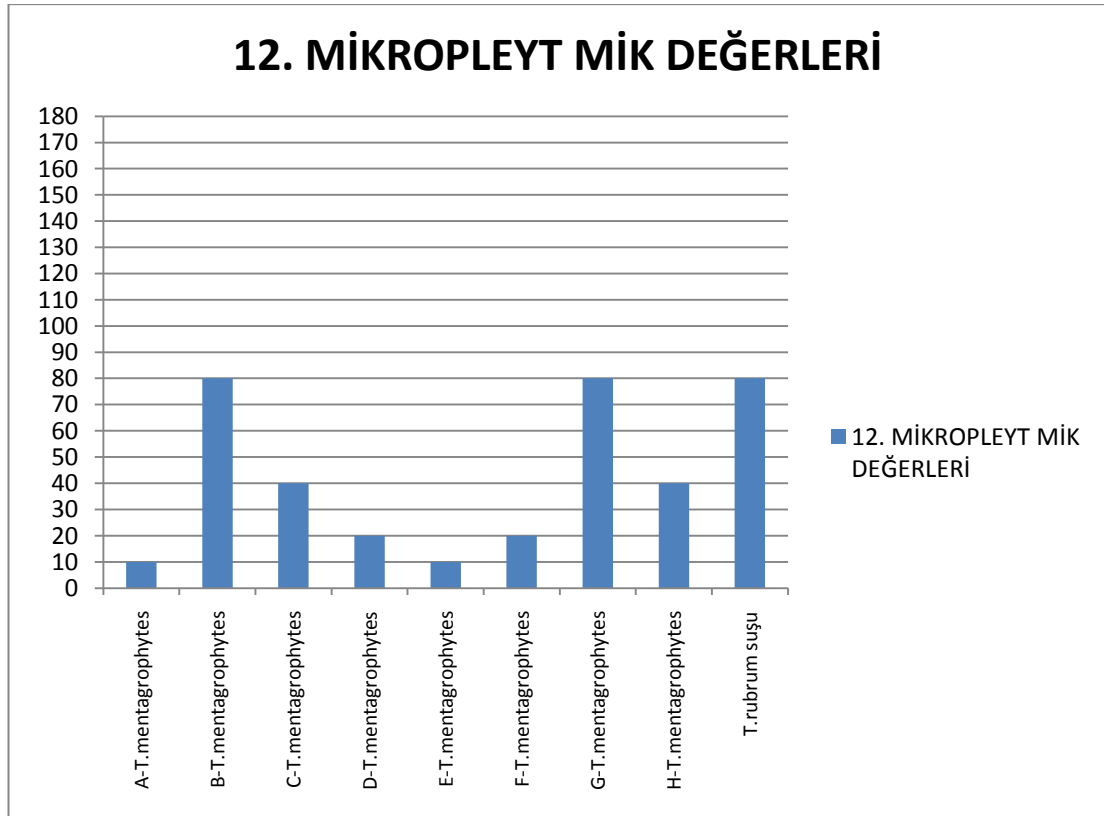
Tablo 4.11. Kurkumin ekstratı 11. mikropleyt MİK değerleri



Çizelge 4.11. Kurkumin ekstratı 11. mikropleyt MİK değerleri

12. MİKROPLEYT	KUYUCUK NUMARASI	MİK DEĞERİ
A- <i>T.mentagrophytes</i>	8	10 µg/mL
B- <i>T.mentagrophytes</i>	5	80 µg/mL
C- <i>T.mentagrophytes</i>	6	40 µg/mL
D- <i>T.mentagrophytes</i>	7	20 µg/mL
E- <i>T.mentagrophytes</i>	8	10 µg/mL
F- <i>T.mentagrophytes</i>	7	20 µg/mL
G- <i>T.mentagrophytes</i>	5	80 µg/mL
H- <i>T.mentagrophytes</i>	6	40 µg/mL

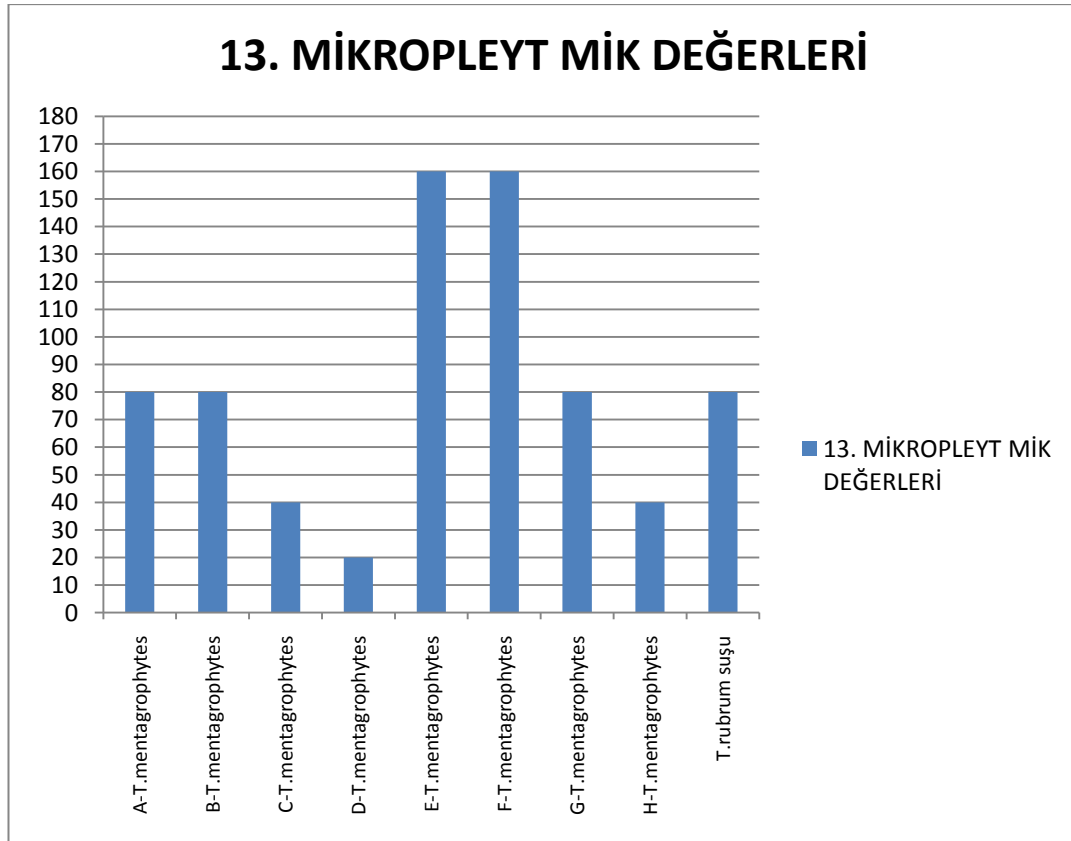
Tablo 4.12. Kurkumin ekstratı 12. mikropleyt MİK değerleri



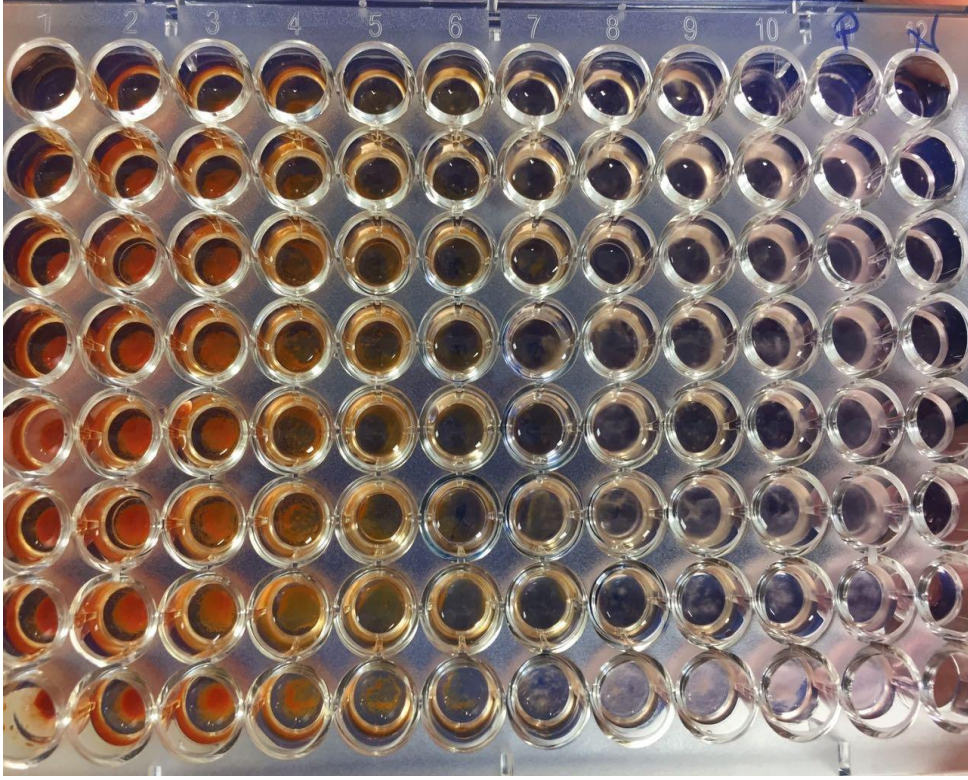
Çizelge 4.12. Kurkumin ekstratı 12. mikropleyt MİK değerleri

13. MİKROPLEYT	KUYUCUK NUMARASI	MİK DEĞERİ
A- <i>T.mentagrophytes</i>	5	80 µg/mL
B- <i>T.mentagrophytes</i>	5	80 µg/mL
C- <i>T.mentagrophytes</i>	6	40 µg/mL
D- <i>T.mentagrophytes</i>	7	20 µg/mL
E- <i>T.mentagrophytes</i>	4	160 µg/mL
F- <i>T.mentagrophytes</i>	4	160 µg/mL
G- <i>T.mentagrophytes</i>	5	80 µg/mL
H- <i>T.mentagrophytes</i>	6	40 µg/mL

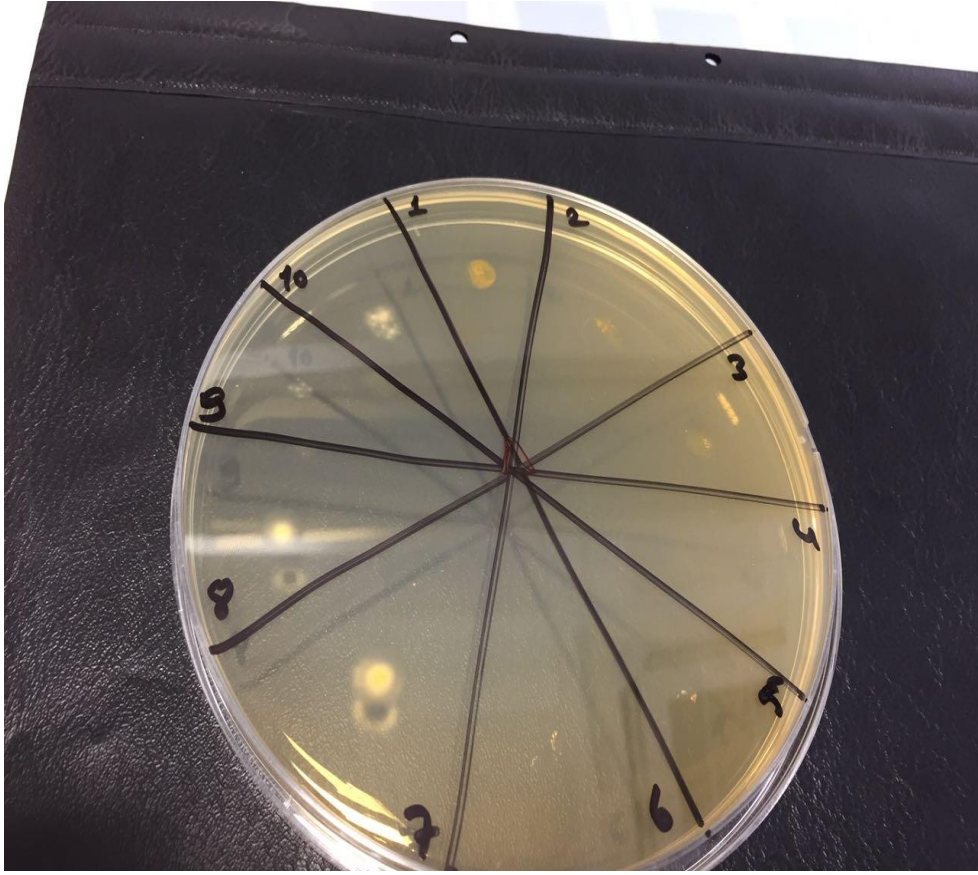
Tablo 4.13. Kurkumin ekstratı 13. mikropleyt MİK değerleri



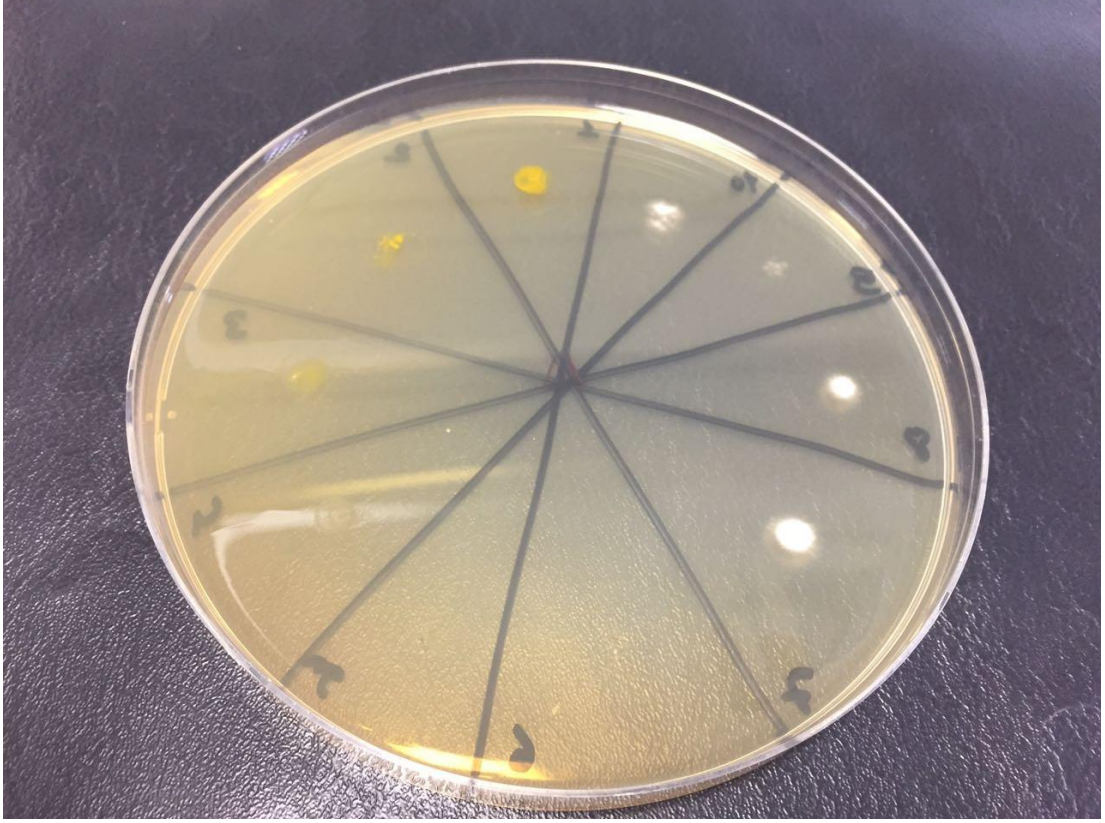
Çizelge 4.13. Kurkumin ekstratı 13. mikropleyt MİK değerleri



Resim 4.1 *Trichophyton* suşları üzerine kurkumin ekstratının antifungal aktivitesinin araştırılması için 96 kuyucuklu U tabanlı mikropleyde ekimi (Çalışmamızdan)



Resim 4.2 96 kuyucuklu U tabanlı mikropleytten SDA besiyerine yapılan pasaj (Çalışmamızdan)



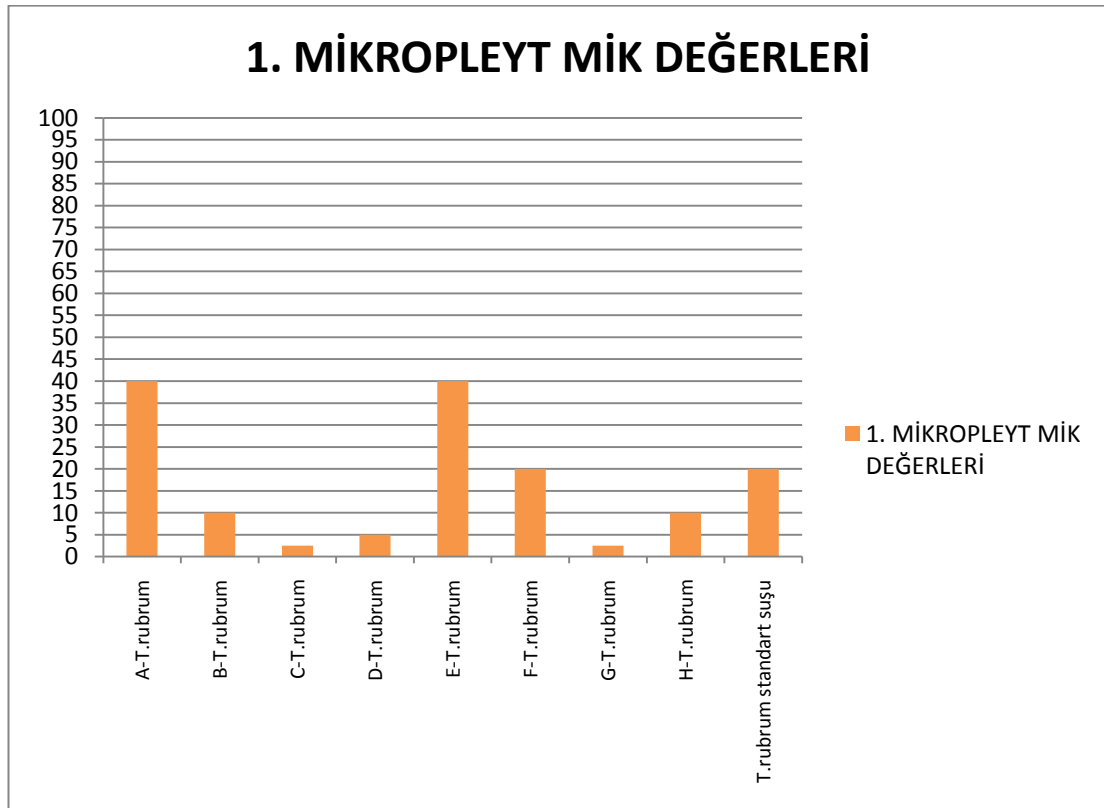
Resim 4.3 96 kuyucuklu U tabanlı mikroyeyten SDA besiyerine yapılan pasaj (Çalışmamızdan)

4.3. Propolisin *Trichophyton* Türlerine Üzerine Antifungal Aktivite Sonuçları

96 kuyucuklu U tabanlı mikropleytlere ekimi yapılmış olan *Trichophyton* izolatlarının propolise karşı duyarlılığını belirlemek için suşlara inkübasyon sonrası görsel olarak inceleme yapıldı. MİK değerini belirleyebilmek için, inceleme sonucunda üremenin görülmediği kuyucuklardan SDA besiyerine ekimler yapıldı. Ekilen koloniler 24-48 saat sonra değerlendirildi. Her bir 96 kuyucuklu u tabanlı mikropleytle 8 adet dermatofit değerlendirildi. Değerlendirme sonuçları her bir mikropleyt için tablo 4.14-4.26'da gösterildi. Her dermatofit suşu için kurkuminin antifungal aktivite sonuçları standart suş sonucu ile karşılaştırılarak şekil 4.14-4.26'da gösterildi.

1.MİKROPLEYT	KUYUCUK NUMARASI	MİK DEĞERİ
<i>A-T.rubrum</i>	3	40 µg/mL
<i>B- T.rubrum</i>	5	10 µg/mL
<i>C- T.rubrum</i>	7	2,5 µg/mL
<i>D- T.rubrum</i>	6	5 µg/mL
<i>E- T.rubrum</i>	3	40 µg/mL
<i>F- T.rubrum</i>	4	20 µg/mL
<i>G- T.rubrum</i>	7	2,5 µg/mL
<i>H- T.rubrum</i>	5	10 µg/mL

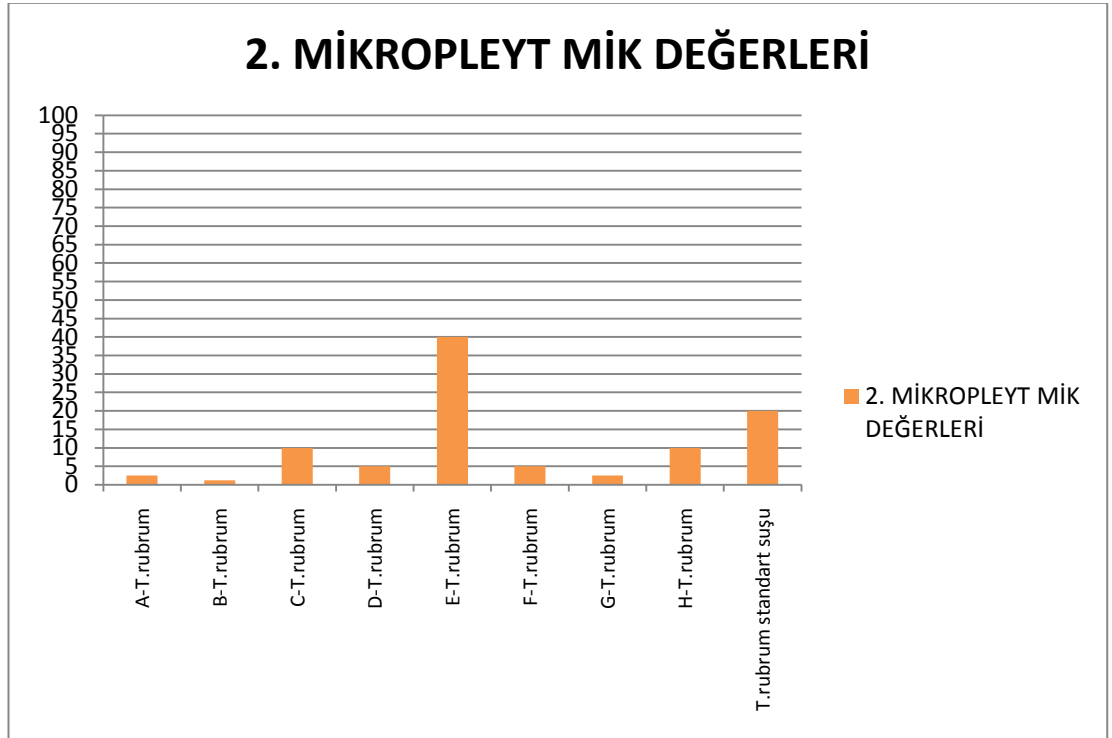
Tablo 4.14. Propolis ekstratı 1. mikropleyt MİK değerleri



Çizelge 4.14. Propolis ekstratı 1. mikropleyt MİK değerleri

2.MİKROPLEYT	KUYUCUK NUMARASI	MİK DEĞERİ
A- <i>T.rubrum</i>	4	20 µg/mL
B- <i>T.rubrum</i>	8	1,25 µg/mL
C- <i>T.rubrum</i>	5	10 µg/mL
D- <i>T.rubrum</i>	6	5 µg/mL
E- <i>T.rubrum</i>	3	40 µg/mL
F- <i>T.rubrum</i>	6	5 µg/mL
G- <i>T.rubrum</i>	7	2,5 µg/mL
H- <i>T.rubrum</i>	5	10 µg/mL

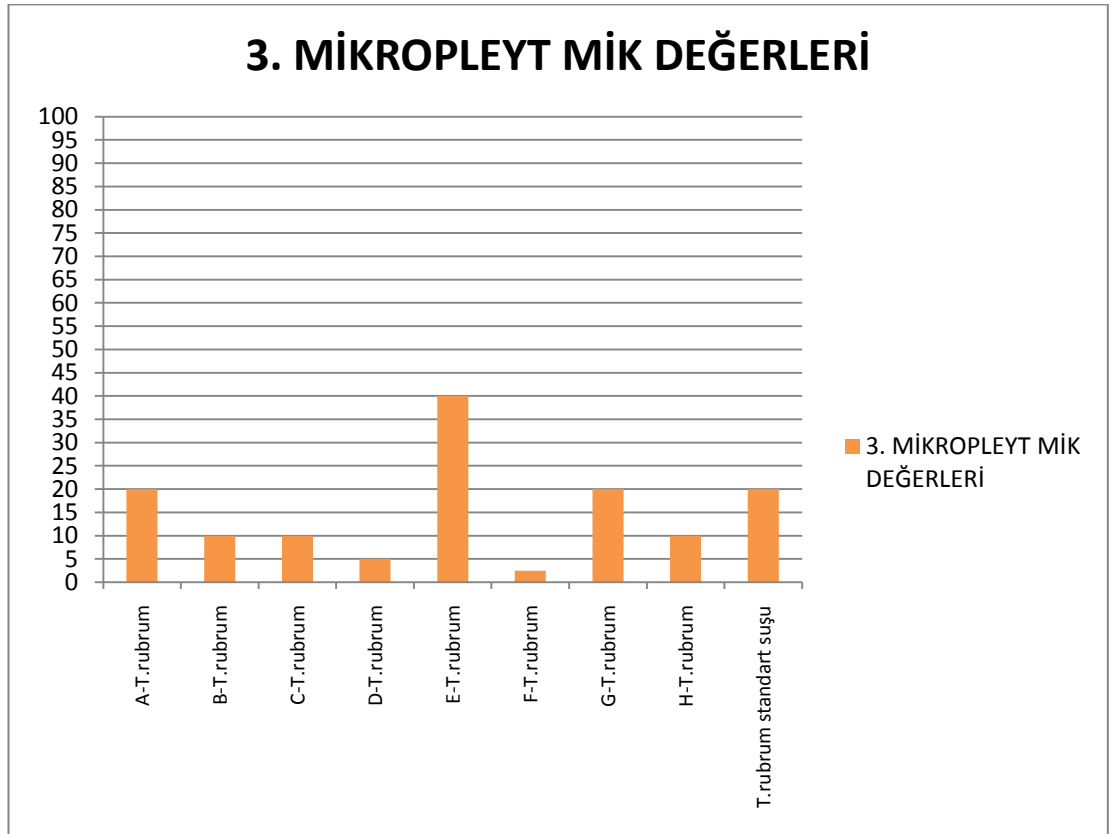
Tablo 4.15. Propolis ekstratı 2. mikropleyt MİK değerleri



Çizelge 4.15. Propolis ekstratı 2. mikropleyt MİK değerleri

3.MİKROPLEYT	KUYUCUK NUMARASI	MİK DEĞERİ
<i>A-T.rubrum</i>	4	20 µg/mL
<i>B- T.rubrum</i>	5	10 µg/mL
<i>C- T.rubrum</i>	5	10 µg/mL
<i>D- T.rubrum</i>	6	5 µg/mL
<i>E- T.rubrum</i>	3	40 µg/mL
<i>F- T.rubrum</i>	7	2,5 µg/mL
<i>G- T.rubrum</i>	4	20 µg/mL
<i>H- T.rubrum</i>	5	10 µg/mL

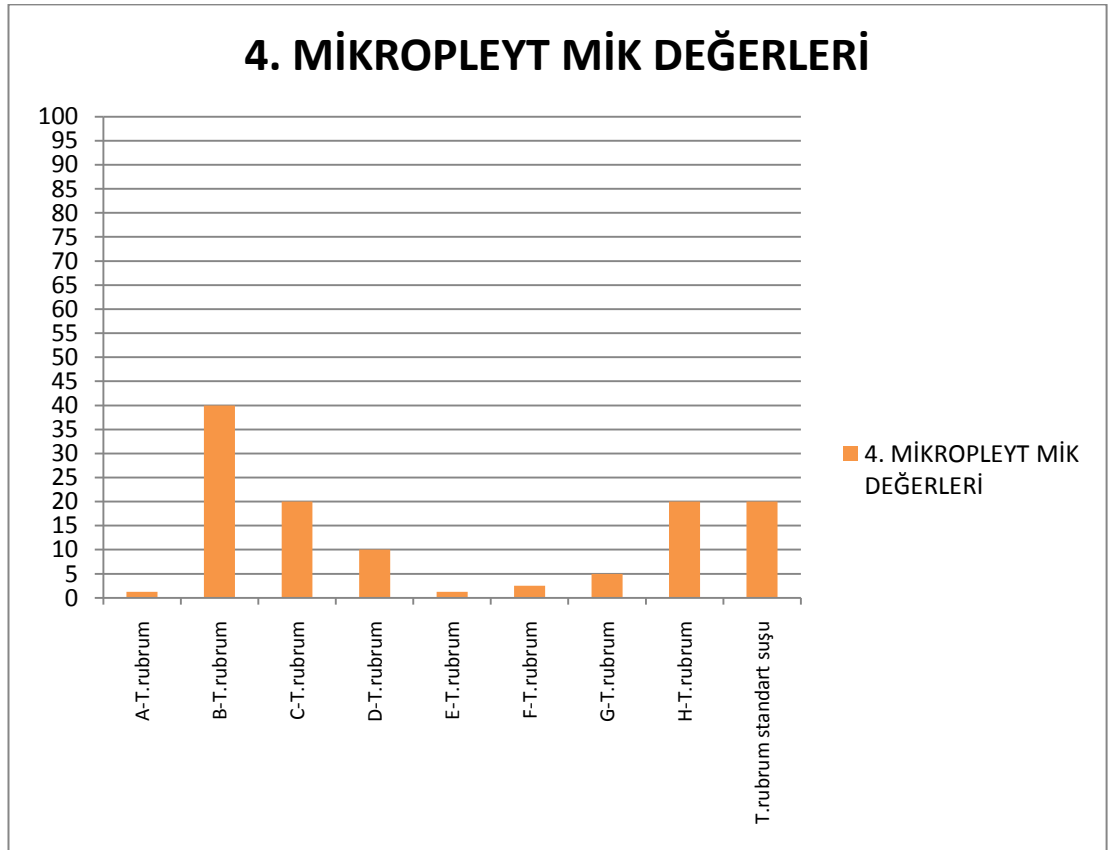
Tablo 4.16. Propolis ekstratı 3. mikropleyt MİK değerleri



Çizelge 4.16. Propolis ekstratı 3. mikropleyt MİK değerleri

4.MİKROPLEYT	KUYUCUK NUMARASI	MİK DEĞERİ
A- <i>T.rubrum</i>	8	1,25 µg/mL
B- <i>T.rubrum</i>	3	40 µg/mL
C- <i>T.rubrum</i>	4	20 µg/mL
D- <i>T.rubrum</i>	5	10 µg/mL
E- <i>T.rubrum</i>	8	1,25 µg/mL
F- <i>T.rubrum</i>	7	2,5 µg/mL
G- <i>T.rubrum</i>	6	5 µg/mL
H- <i>T.rubrum</i>	4	20 µg/mL

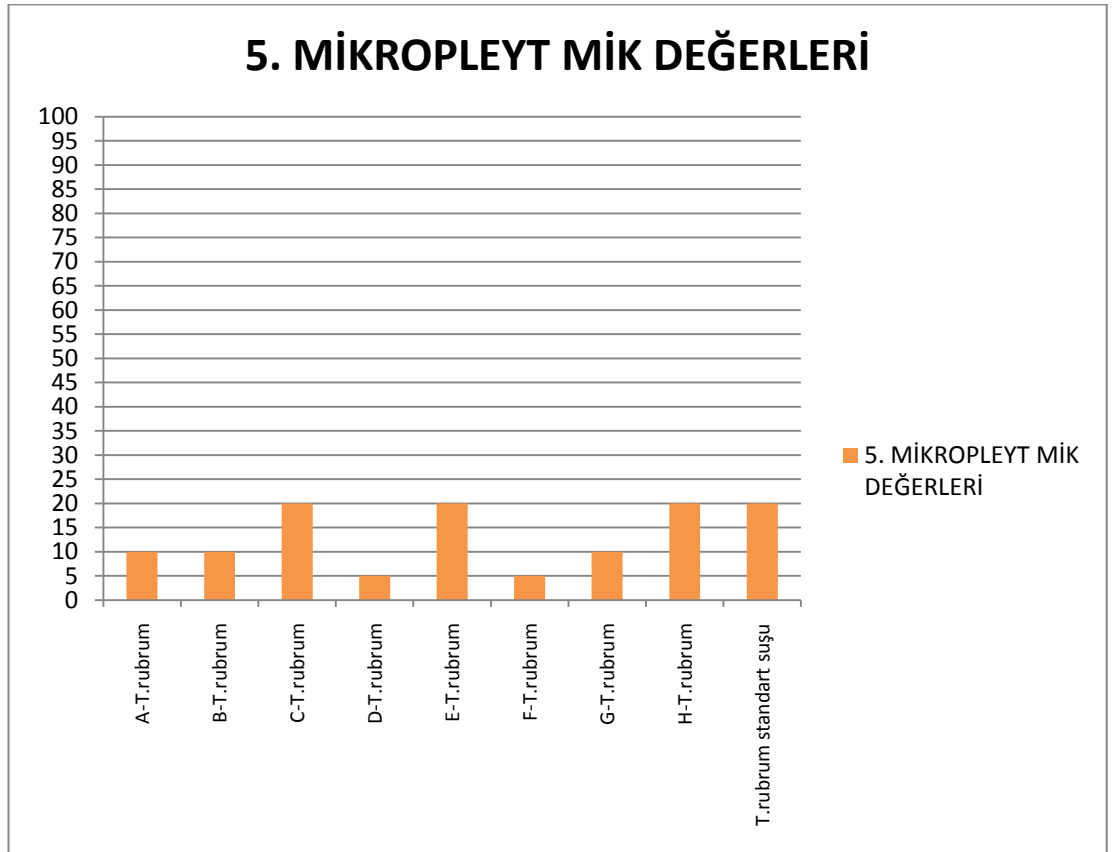
Tablo 4.17. Propolis ekstratı 4. mikropleyt MİK değerleri



Çizelge 4.17. Propolis ekstratı 4. mikropleyt MİK değerleri

5.MİKROPLEYT	KUYUCUK NUMARASI	MİK DEĞERİ
A- <i>T.rubrum</i>	5	10 µg/mL
B- <i>T.rubrum</i>	5	10 µg/mL
C- <i>T.rubrum</i>	4	20 µg/mL
D- <i>T.rubrum</i>	6	5 µg/mL
E- <i>T.rubrum</i>	4	20 µg/mL
F- <i>T.rubrum</i>	6	5 µg/mL
G- <i>T.rubrum</i>	5	10 µg/mL
H- <i>T.rubrum</i>	4	20 µg/mL

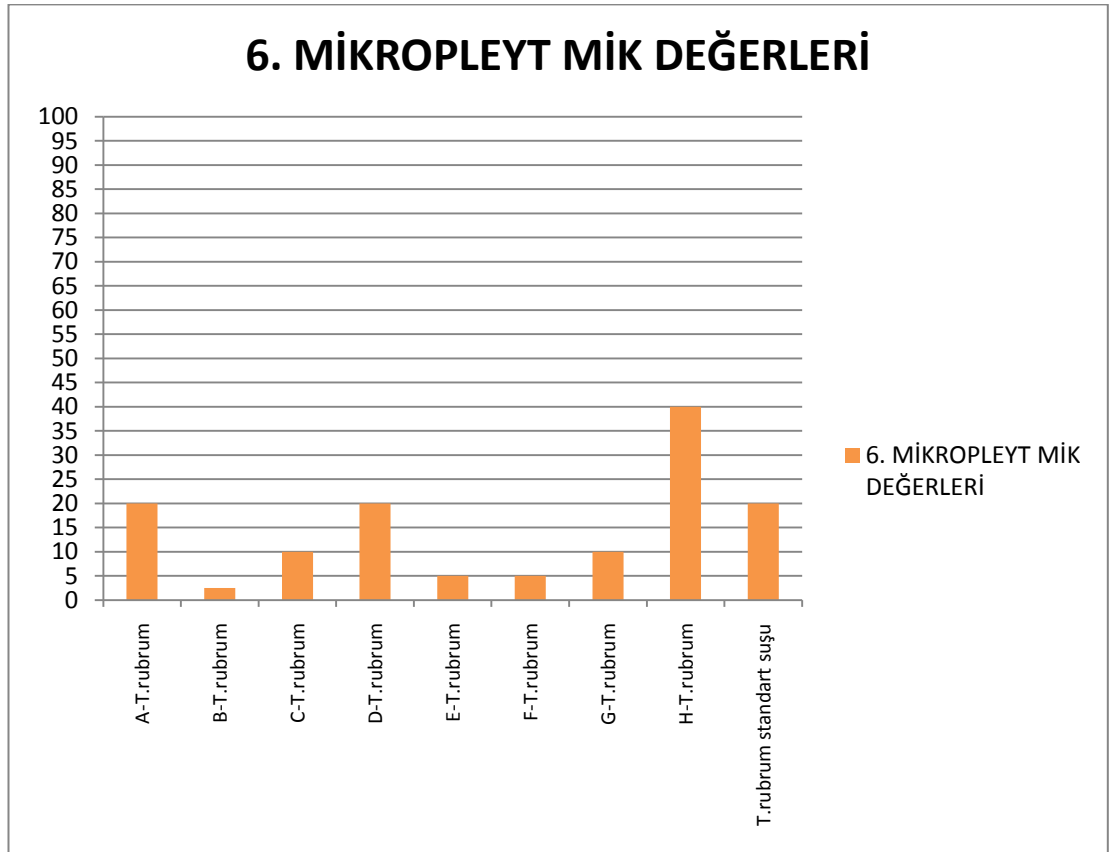
Tablo 4.18. Propolis ekstratı 5. mikropleyt MİK değerleri



Çizelge 4.18. Propolis ekstratı 5. mikropleyt MİK değerleri

6.MİKROPLEYT	KUYUCUK NUMARASI	MİK DEĞERİ
A- <i>T.rubrum</i>	4	20 µg/mL
B- <i>T.rubrum</i>	7	2,5 µg/mL
C- <i>T.rubrum</i>	5	10 µg/mL
D- <i>T.rubrum</i>	4	20 µg/mL
E- <i>T.rubrum</i>	6	5 µg/mL
F- <i>T.rubrum</i>	6	5 µg/mL
G- <i>T.rubrum</i>	5	10 µg/mL
H- <i>T.rubrum</i>	3	40 µg/mL

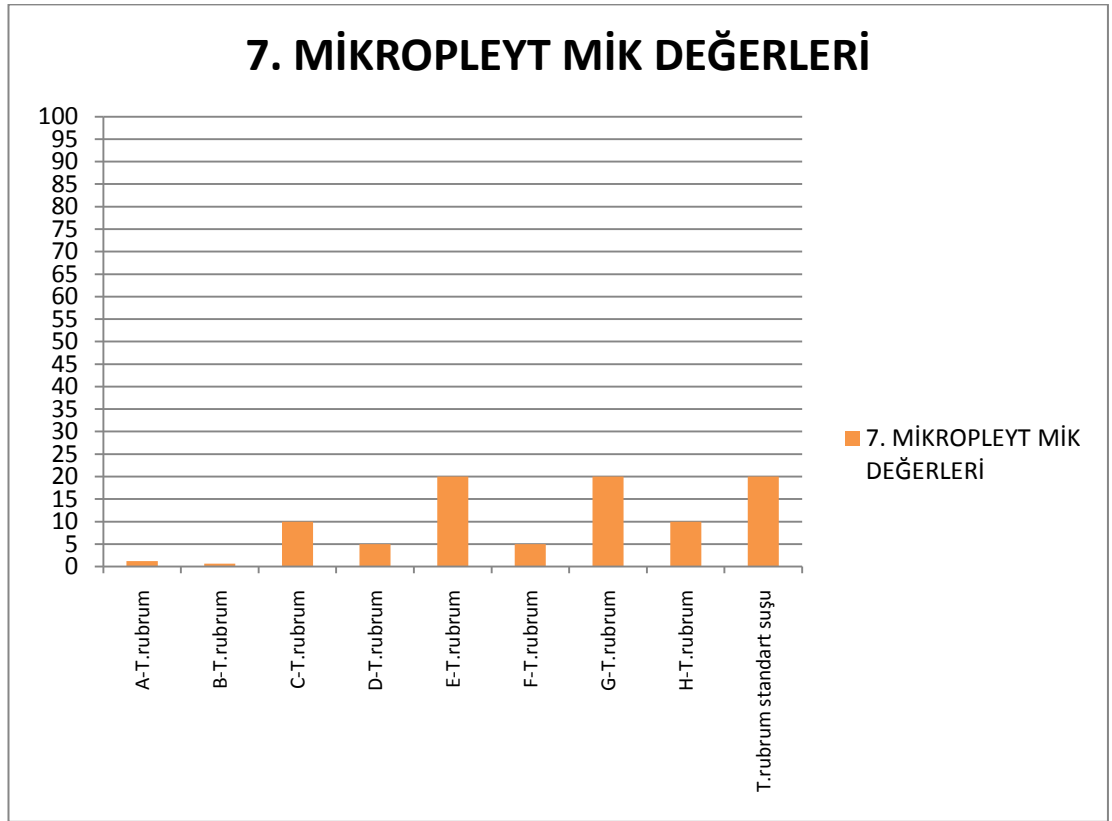
Tablo 4.19. Propolis ekstratı 6. mikropleyt MİK değerleri



Çizelge 4.19. Propolis ekstratı 6. mikropleyt MİK değerleri

7.MİKROPLEYT	KUYUCUK NUMARASI	MİK DEĞERİ
A- <i>T.rubrum</i>	8	1,25 µg/mL
B- <i>T.rubrum</i>	9	0,625 µg/mL
C- <i>T.rubrum</i>	5	10 µg/mL
D- <i>T.rubrum</i>	6	5 µg/mL
E- <i>T.rubrum</i>	4	20 µg/mL
F- <i>T.rubrum</i>	6	5 µg/mL
G- <i>T.rubrum</i>	4	20 µg/mL
H- <i>T.rubrum</i>	5	10 µg/mL

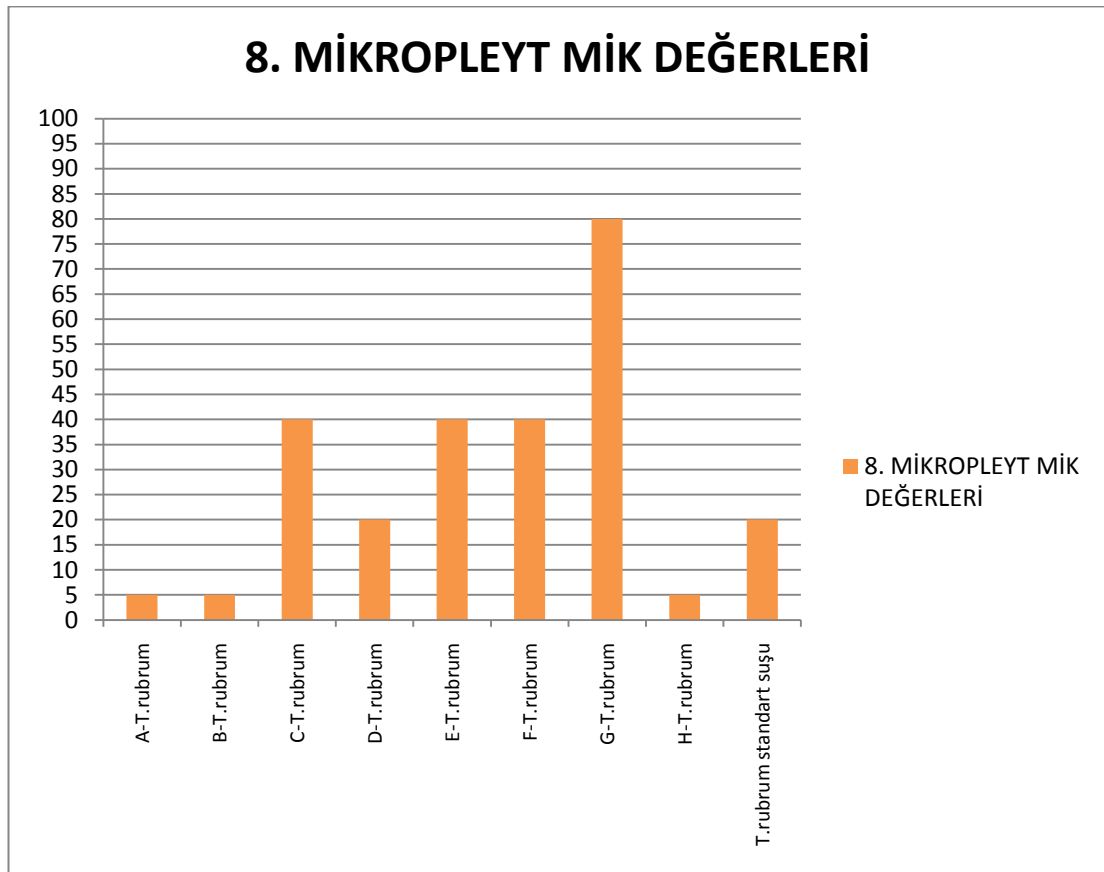
Tablo 4.20. Propolis ekstratı 7. mikropleyt MİK değerleri



Çizelge 4.20. Propolis ekstratı 7. mikropleyt MİK değerleri

8.MİKROPLEYT	KUYUCUK NUMARASI	MİK DEĞERİ
<i>A-T.rubrum</i>	6	5 µg/mL
<i>B- T.rubrum</i>	6	5 µg/mL
<i>C- T.rubrum</i>	3	40 µg/mL
<i>D- T.rubrum</i>	4	20 µg/mL
<i>E- T.rubrum</i>	3	40 µg/mL
<i>F- T.rubrum</i>	3	40 µg/mL
<i>G- T.rubrum</i>	2	80 µg/mL
<i>H- T.rubrum</i>	6	5 µg/mL

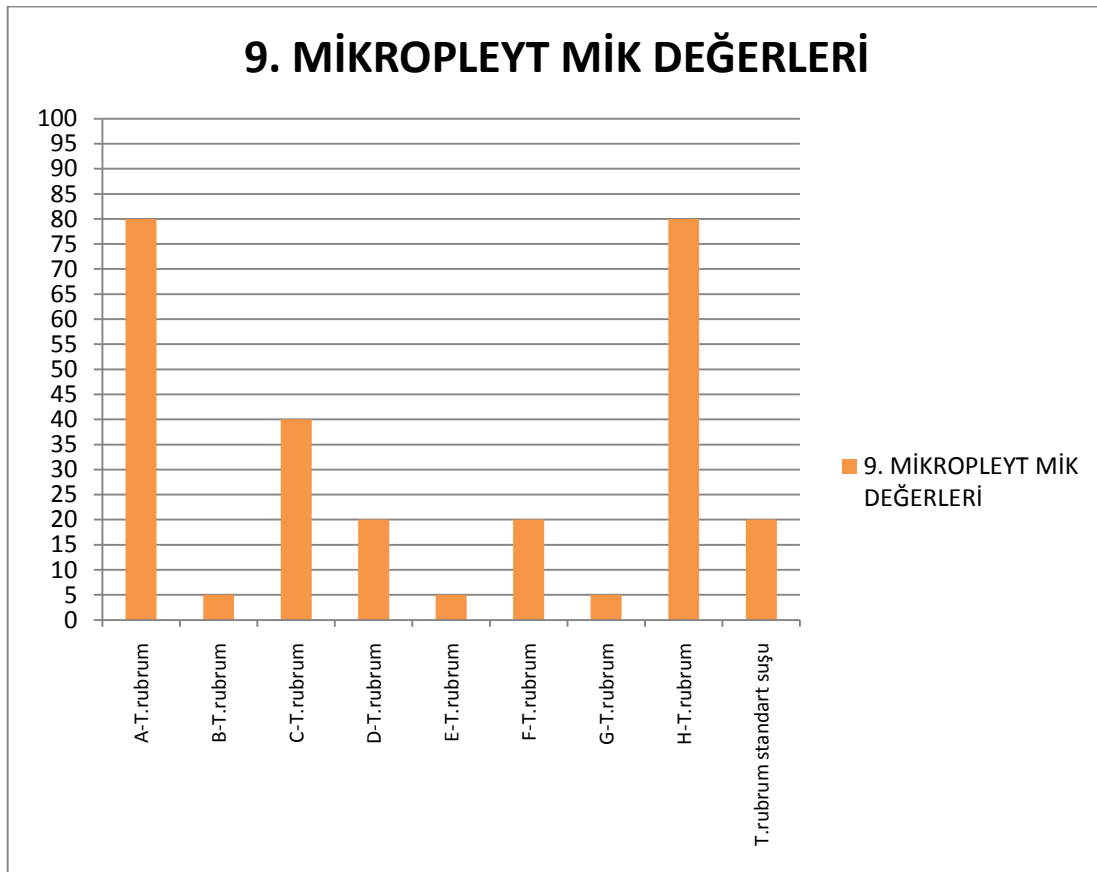
Tablo 4.21. Propolis ekstratı 8. mikropleyt MİK değerleri



Çizelge 4.21. Propolis ekstratı 8. mikropleyt MİK değerleri

9.MİKROPLEYT	KUYUCUK NUMARASI	MİK DEĞERİ
A-<i>T.rubrum</i>	2	80 µg/mL
B- <i>T.rubrum</i>	7	5 µg/mL
C- <i>T.rubrum</i>	3	40 µg/mL
D- <i>T.rubrum</i>	4	20 µg/mL
E- <i>T.rubrum</i>	6	5 µg/mL
F- <i>T.rubrum</i>	4	20 µg/mL
G- <i>T.rubrum</i>	7	5 µg/mL
H- <i>T.rubrum</i>	2	80 µg/mL

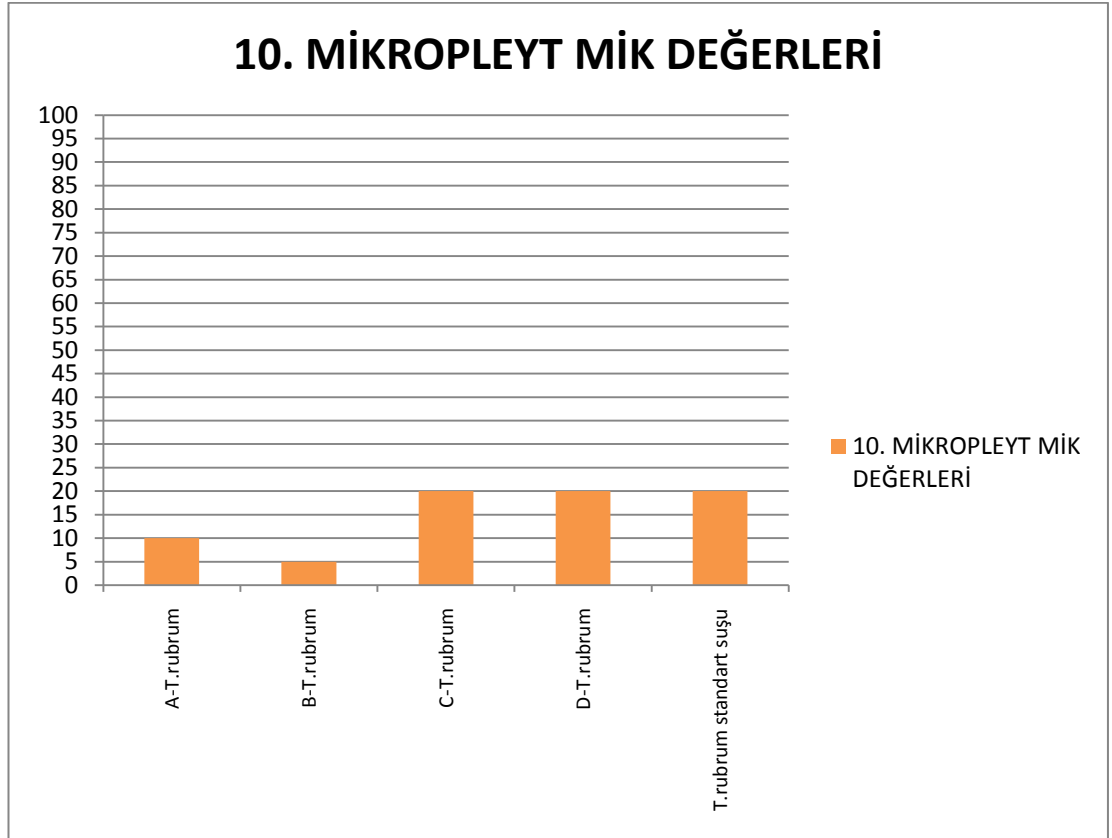
Tablo 4.22. Propolis ekstratı 9. mikropleyt MİK değerleri



Çizelge 4.22. Propolis ekstratı 9. mikropleyt MİK değerleri

10.MİKROPLEYT	KUYUCUK NUMARASI	MİK DEĞERİ
<i>A-T.rubrum</i>	5	10 µg/mL
<i>B- T.rubrum</i>	6	5 µg/mL
<i>C- T.rubrum</i>	4	20 µg/mL
<i>D- T.rubrum</i>	4	20 µg/mL

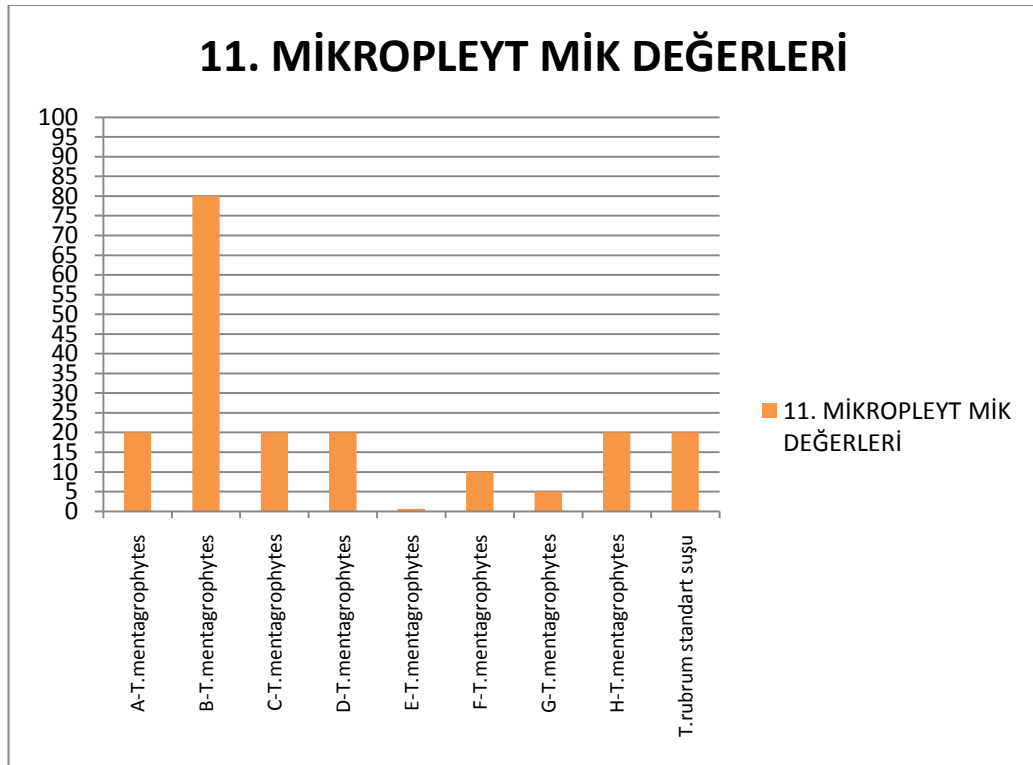
Tablo 4.23. Propolis ekstratı 10. mikropleyt MİK değerleri



Çizelge 4.23. Propolis ekstratı 10. mikropleyt MİK değerleri

11. MİKROPLEYT	KUYUCUK NUMARASI	MİK DEĞERİ
A- <i>T.mentagrophytes</i>	4	20 µg/mL
B- <i>T.mentagrophytes</i>	2	80 µg/mL
C- <i>T.mentagrophytes</i>	4	20 µg/mL
D- <i>T.mentagrophytes</i>	4	20 µg/mL
E- <i>T.mentagrophytes</i>	9	0,625 µg/mL
F- <i>T.mentagrophytes</i>	5	10 µg/mL
G- <i>T.mentagrophytes</i>	6	5 µg/mL
H- <i>T.mentagrophytes</i>	4	20 µg/mL

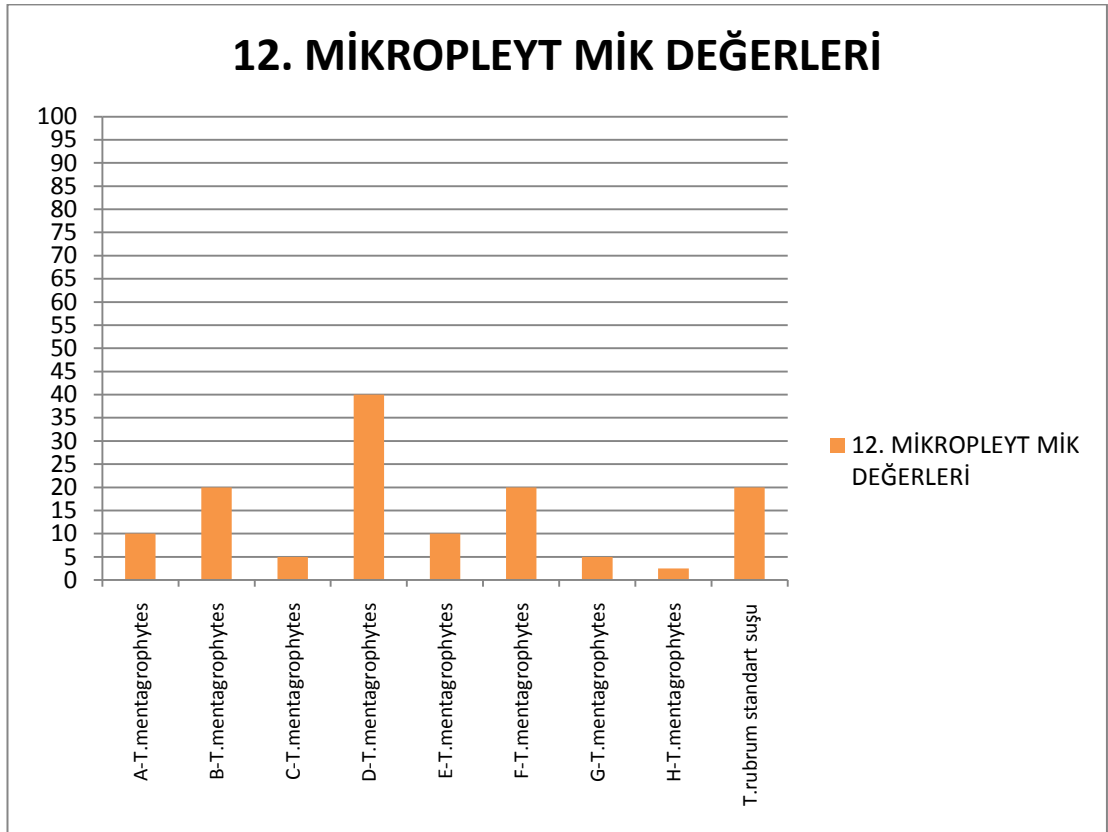
Tablo 4.24. Propolis ekstratı 11. mikropleyt MİK değerleri



Çizelge 4.24. Propolis ekstratı 11. mikropleyt MİK değerleri

12.MİKROPLEYT	KUYUCUK NUMARASI	MİK DEĞERİ
<i>A-T.mentagrophytes</i>	5	10 µg/mL
<i>B- T.mentagrophytes</i>	4	20 µg/mL
<i>C- T.mentagrophytes</i>	6	5 µg/mL
<i>D- T.mentagrophytes</i>	3	40 µg/mL
<i>E- T.mentagrophytes</i>	5	10 µg/mL
<i>F- T.mentagrophytes</i>	4	20 µg/mL
<i>G- T.mentagrophytes</i>	6	5 µg/mL
<i>H- T.mentagrophytes</i>	7	2,5 µg/mL

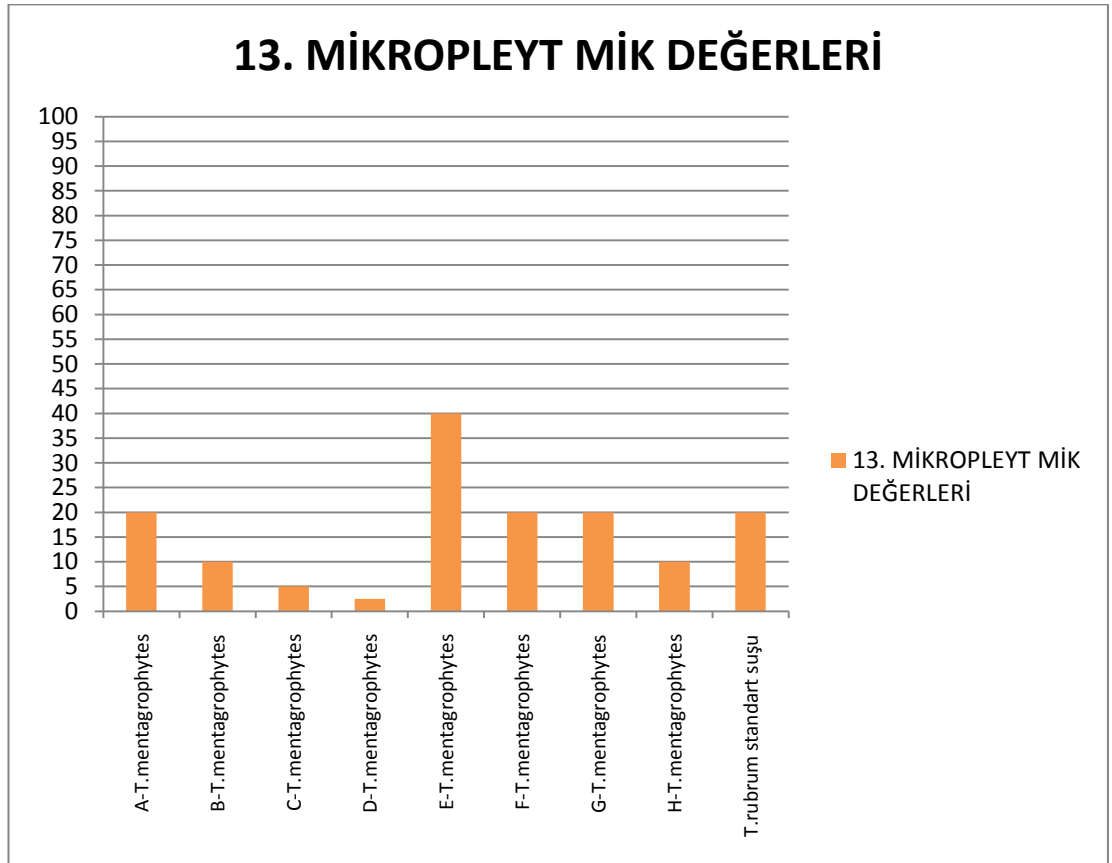
Tablo 4.25. Propolis ekstratı 12. mikropleyt MİK değerleri



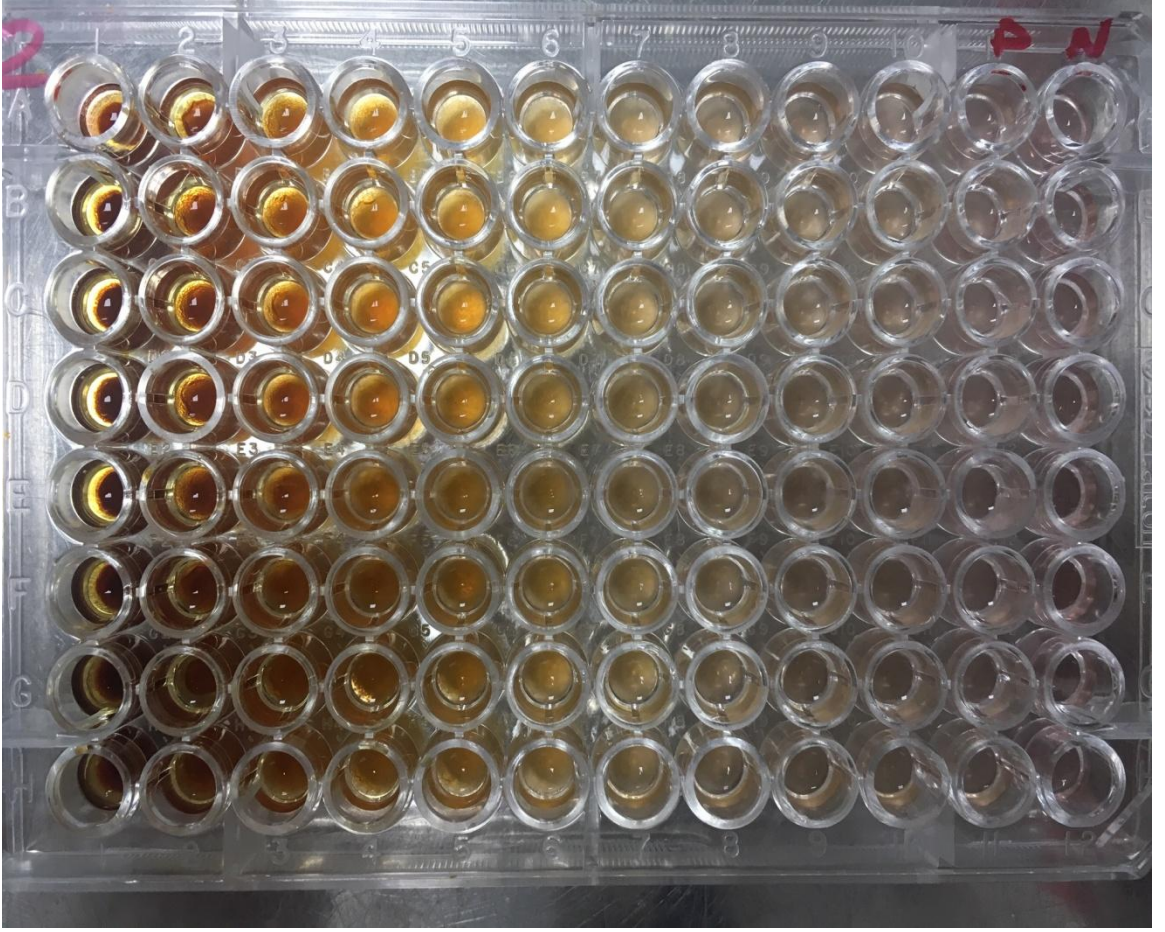
Çizelge 4.25. Propolis ekstratı 12. mikropleyt MİK değerleri

13.MİKROPLEYT	KUYUCUK NUMARASI	MİK DEĞERİ
A- <i>T.mentagrophytes</i>	4	20 µg/mL
B- <i>T.mentagrophytes</i>	5	10 µg/mL
C- <i>T.mentagrophytes</i>	6	5 µg/mL
D- <i>T.mentagrophytes</i>	7	2,5 µg/mL
E- <i>T.mentagrophytes</i>	3	40 µg/mL
F- <i>T.mentagrophytes</i>	4	20 µg/mL
G- <i>T.mentagrophytes</i>	4	20 µg/mL
H- <i>T.mentagrophytes</i>	5	10 µg/mL

Tablo 4.26. Propolis ekstratı 13. mikropleyt MİK değerleri



Çizelge 4.26. Propolis ekstratı 13. mikropleyt MİK değerleri



Resim 4.4 *Trichophyton* suşları üzerine propolis ekstratının antifungal aktivitesinin araştırılması için 96 kuyucuklu U tabanlı mikropleyde ekimi (Çalışmamızdan

Propolis ve kurkumin ekstratlarının MİK değerlerinin *Trichophyton* türlerine göre dağılımı tablo.4.27 ve tablo 4.28’de belirtilmiştir.

Tablo.4.27 CLSI M38-A2 yöntemi ile saptanan kurkumin MİK değerlerinin türlere göre dağılımı

Tür	MİK değerleri (µg/mL)										TOPLAM	
	1280	640	320	160	80	40	20	10	5	2,5		
<i>T. rubrum</i>				15	19	16	12	10	4			76
<i>T. mentagrophytes</i>				3	7	7	5	2				24
Toplam				18	26	23	17	12	4			100

CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute, MİK: Minimum inhibitör konsantrasyon.

Tablo4.27.CLSI M38-A2 yöntemi ile saptanan Kurkumin MİK değerlerinin türlere göre dağılımı

Tablo.4.28 CLSI M38-A2 yöntemi ile saptanan propolis MİK değerlerinin türlere göre dağılımı

Tür	MİK değerleri (µg/mL)										TOPLAM	
	160	80	40	20	10	5	2,5	1,25	0,625	0,312		
<i>T. rubrum</i>		3	10	18	17	16	6	4	2			76
<i>T. mentagrophytes</i>		1	2	9	5	4	2		1			24
Toplam		4	12	27	22	20	8	4	3			100

CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute, MİK: Minimum inhibitör konsantrasyon.

Tablo4.28.CLSI M38-A2 yöntemi ile saptanan propolis MİK değerlerinin türlere göre dağılımları

4.4. Trichophyton Suşlarının Propolis ve Kurkumin Sinerjistik Etki Sonuçları

Dama tahtası yöntemi ile yapılan bu çalışmada kullanılan kurkumin için 640-5 µg/mL, propolis için 320-0,625 µg/mL dilüsyon aralığı belirlendi. Yapılan mikropleyt çalışması sonrası sonuçlar incelendi ve FİK değerleri belirlendi. MİK değerini belirleyebilmek için, inceleme sonucunda üremenin görülmediği kuyucuklardan SDA besiyerine ekimler yapıldı. Ekilen koloniler 24-48 saat sonra değerlendirildi. Her bir izolat için MİK değerleri tablo 4.29-4.35’de gösterilmiştir.

1. MIKROPLEYT	SİNERJİSTİK ÇALIŞMA ÖNCESİ MİK DEĞERLERİ		SİNERJİSTİK ÇALIŞMA SONRASI MİK DEĞERLERİ	
	KURKUMİN MİK DEĞERİ	PROPOLIS MİK DEĞERİ	KURKUMİN MİK DEĞERİ	PROPOLIS MİK DEĞERİ
A- <i>T. rubrum</i>	160 µg/mL	40 µg/mL	40 µg/mL	5 µg/mL
B- <i>T. rubrum</i>	40 µg/mL	10 µg/mL	10 µg/mL	2,5 µg/mL
C- <i>T. rubrum</i>	10 µg/mL	2,5 µg/mL	5 µg/mL	2,5 µg/mL
D- <i>T. rubrum</i>	40 µg/mL	5 µg/mL	10 µg/mL	1,25 µg/mL
E- <i>T. rubrum</i>	160 µg/mL	40 µg/mL	40 µg/mL	10 µg/mL
F- <i>T. rubrum</i>	20 µg/mL	20 µg/mL	5 µg/mL	2,5 µg/mL
G- <i>T. rubrum</i>	20 µg/mL	2,5 µg/mL	5 µg/mL	0,625 µg/mL
H- <i>T. rubrum</i>	80 µg/mL	10 µg/mL	20 µg/mL	2,5 µg/mL

2. MIKROPLEYT	SİNERJİSTİK ÇALIŞMA ÖNCESİ MİK DEĞERLERİ		SİNERJİSTİK ÇALIŞMA SONRASI MİK DEĞERLERİ	
	KURKUMİN MİK DEĞERİ	PROPOLIS MİK DEĞERİ	KURKUMİN MİK DEĞERİ	PROPOLIS MİK DEĞERİ
A- <i>T. rubrum</i>	80 µg/mL	20 µg/mL	20 µg/mL	2,5 µg/mL
B- <i>T. rubrum</i>	160 µg/mL	1,25 µg/mL	40 µg/mL	1,25 µg/mL
C- <i>T. rubrum</i>	40 µg/mL	10 µg/mL	10 µg/mL	2,5 µg/mL
D- <i>T. rubrum</i>	20 µg/mL	5 µg/mL	5 µg/mL	1,25 µg/mL
E- <i>T. rubrum</i>	160 µg/mL	40 µg/mL	40 µg/mL	10 µg/mL
F- <i>T. rubrum</i>	80 µg/mL	5 µg/mL	20 µg/mL	1,25 µg/mL
G- <i>T. rubrum</i>	40 µg/mL	2,5 µg/mL	10 µg/mL	0,625 µg/mL
H- <i>T. rubrum</i>	10 µg/mL	10 µg/mL	5 µg/mL	5 µg/mL

Tablo 4.29. 1. ve 2. mikropleyt MİK değerleri

3.MİKROPLEYT	SİNERJİSTİK ÇALIŞMA ÖNCESİ MİK DEĞERLERİ		SİNERJİSTİK ÇALIŞMA SONRASI MİK DEĞERLERİ	
	KURKUMİN MİK DEĞERİ	PROPOLİS MİK DEĞERİ	KURKUMİN MİK DEĞERİ	PROPOLİS MİK DEĞERİ
A- <i>T.rubrum</i>	80 µg/mL	20 µg/mL	20 µg/mL	5 µg/mL
B- <i>T.rubrum</i>	160 µg/mL	10 µg/mL	40 µg/mL	2,5 µg/mL
C- <i>T.rubrum</i>	40 µg/mL	10 µg/mL	10 µg/mL	2,5 µg/mL
D- <i>T.rubrum</i>	80 µg/mL	5 µg/mL	20 µg/mL	2,5 µg/mL
E- <i>T.rubrum</i>	20 µg/mL	40 µg/mL	5 µg/mL	10 µg/mL
F- <i>T.rubrum</i>	40 µg/mL	2,5 µg/mL	10 µg/mL	0,625 µg/mL
G- <i>T.rubrum</i>	160 µg/mL	20 µg/mL	40 µg/mL	5 µg/mL
H- <i>T.rubrum</i>	10 µg/mL	10 µg/mL	5 µg/mL	5 µg/mL

4.MİKROPLEYT	SİNERJİSTİK ÇALIŞMA ÖNCESİ MİK DEĞERLERİ		SİNERJİSTİK ÇALIŞMA SONRASI MİK DEĞERLERİ	
	KURKUMİN MİK DEĞERİ	PROPOLİS MİK DEĞERİ	KURKUMİN MİK DEĞERİ	PROPOLİS MİK DEĞERİ
A- <i>T.rubrum</i>	160 µg/mL	1,25 µg/mL	40 µg/mL	1,25 µg/mL
B- <i>T.rubrum</i>	80 µg/mL	40 µg/mL	20 µg/mL	10 µg/mL
C- <i>T.rubrum</i>	20 µg/mL	20 µg/mL	5 µg/mL	5 µg/mL
D- <i>T.rubrum</i>	40 µg/mL	10 µg/mL	10 µg/mL	2,5 µg/mL
E- <i>T.rubrum</i>	40 µg/mL	1,25 µg/mL	10 µg/mL	1,25 µg/mL
F- <i>T.rubrum</i>	80 µg/mL	2,5 µg/mL	20 µg/mL	0,625 µg/mL
G- <i>T.rubrum</i>	160 µg/mL	5 µg/mL	40 µg/mL	1,25 µg/mL
H- <i>T.rubrum</i>	80 µg/mL	20 µg/mL	20 µg/mL	5 µg/mL

Tablo 4.30. 3. ve 4. mikropleyt MİK değerleri

5.MİKROPLEYT	SİNERJİSTİK ÇALIŞMA ÖNCESİ MİK DEĞERLERİ		SİNERJİSTİK ÇALIŞMA SONRASI MİK DEĞERLERİ	
	KURKUMİN MİK DEĞERİ	PROPOLİS MİK DEĞERİ	KURKUMİN MİK DEĞERİ	PROPOLİS MİK DEĞERİ
A- <i>T.rubrum</i>	40 µg/mL	10 µg/mL	10 µg/mL	2,5 µg/mL
B- <i>T.rubrum</i>	10 µg/mL	10 µg/mL	5 µg/mL	2,5 µg/mL
C- <i>T.rubrum</i>	160 µg/mL	20 µg/mL	40 µg/mL	5 µg/mL
D- <i>T.rubrum</i>	80 µg/mL	5 µg/mL	20 µg/mL	1,25 µg/mL
E- <i>T.rubrum</i>	160 µg/mL	20 µg/mL	40 µg/mL	5 µg/mL
F- <i>T.rubrum</i>	80 µg/mL	5 µg/mL	20 µg/mL	1,25 µg/mL
G- <i>T.rubrum</i>	40 µg/mL	10 µg/mL	10 µg/mL	2,5 µg/mL
H- <i>T.rubrum</i>	5 µg/mL	20 µg/mL	5 µg/mL	5 µg/mL

6.MİKROPLEYT	SİNERJİSTİK ÇALIŞMA ÖNCESİ MİK DEĞERLERİ		SİNERJİSTİK ÇALIŞMA SONRASI MİK DEĞERLERİ	
	KURKUMİN MİK DEĞERİ	PROPOLİS MİK DEĞERİ	KURKUMİN MİK DEĞERİ	PROPOLİS MİK DEĞERİ
A- <i>T.rubrum</i>	80 µg/mL	20 µg/mL	20 µg/mL	5 µg/mL
B- <i>T.rubrum</i>	160 µg/mL	2,5 µg/mL	40 µg/mL	0,625 µg/mL
C- <i>T.rubrum</i>	80 µg/mL	10 µg/mL	20 µg/mL	2,5 µg/mL
D- <i>T.rubrum</i>	80 µg/mL	20 µg/mL	40 µg/mL	5 µg/mL
E- <i>T.rubrum</i>	5 µg/mL	5 µg/mL	5 µg/mL	1,25 µg/mL
F- <i>T.rubrum</i>	40 µg/mL	5 µg/mL	10 µg/mL	1,25 µg/mL
G- <i>T.rubrum</i>	20 µg/mL	10 µg/mL	5 µg/mL	2,5 µg/mL
H- <i>T.rubrum</i>	10 µg/mL	40 µg/mL	5 µg/mL	10 µg/mL

Tablo 4.31. 5. ve 6.mikropleyt MİK değerleri

7.MİKROPLEYT	SİNERJİSTİK ÇALIŞMA ÖNCESİ MİK DEĞERLERİ		SİNERJİSTİK ÇALIŞMA SONRASI MİK DEĞERLERİ	
	KURKUMİN MİK DEĞERİ	PROPOLİS MİK DEĞERİ	KURKUMİN MİK DEĞERİ	PROPOLİS MİK DEĞERİ
A- <i>T.rubrum</i>	80 µg/mL	1,25 µg/mL	20 µg/mL	0,625 µg/mL
B- <i>T.rubrum</i>	160 µg/mL	0,625 µg/mL	40 µg/mL	0,625 µg/mL
C- <i>T.rubrum</i>	20 µg/mL	10 µg/mL	5 µg/mL	2,5 µg/mL
D- <i>T.rubrum</i>	40 µg/mL	5 µg/mL	10 µg/mL	1,25 µg/mL
E- <i>T.rubrum</i>	80 µg/mL	20 µg/mL	20 µg/mL	5 µg/mL
F- <i>T.rubrum</i>	10 µg/mL	5 µg/mL	5 µg/mL	1,25 µg/mL
G- <i>T.rubrum</i>	160 µg/mL	20 µg/mL	40 µg/mL	2,5 µg/mL
H- <i>T.rubrum</i>	10 µg/mL	10 µg/mL	5 µg/mL	1,25 µg/mL

8.MİKROPLEYT	SİNERJİSTİK ÇALIŞMA ÖNCESİ MİK DEĞERLERİ		SİNERJİSTİK ÇALIŞMA SONRASI MİK DEĞERLERİ	
	KURKUMİN MİK DEĞERİ	PROPOLİS MİK DEĞERİ	KURKUMİN MİK DEĞERİ	PROPOLİS MİK DEĞERİ
A- <i>T.rubrum</i>	80 µg/mL	5 µg/mL	10 µg/mL	1,25 µg/mL
B- <i>T.rubrum</i>	80 µg/mL	5 µg/mL	20 µg/mL	0,625 µg/mL
C- <i>T.rubrum</i>	160 µg/mL	40 µg/mL	20 µg/mL	5 µg/mL
D- <i>T.rubrum</i>	40 µg/mL	20 µg/mL	10 µg/mL	0,625 µg/mL
E- <i>T.rubrum</i>	20 µg/mL	40 µg/mL	5 µg/mL	10 µg/mL
F- <i>T.rubrum</i>	20 µg/mL	40 µg/mL	5 µg/mL	5 µg/mL
G- <i>T.rubrum</i>	80 µg/mL	80 µg/mL	20 µg/mL	20 µg/mL
H- <i>T.rubrum</i>	40 µg/mL	5 µg/mL	5 µg/mL	1,25 µg/mL

Tablo 4.32. 7. ve 8.mikropleyt MİK değerleri

9.MIKROPLEYT	SINERJİSTİK ÇALIŞMA ÖNCESİ MİK DEĞERLERİ		SINERJİSTİK ÇALIŞMA SONRASI MİK DEĞERLERİ	
	KURKUMİN MİK DEĞERİ	PROPOLİS MİK DEĞERİ	KURKUMİN MİK DEĞERİ	PROPOLİS MİK DEĞERİ
A- <i>T.rubrum</i>	10 µg/mL	80 µg/mL	5 µg/mL	20 µg/mL
B- <i>T.rubrum</i>	80 µg/mL	5 µg/mL	20 µg/mL	1,25 µg/mL
C- <i>T.rubrum</i>	160 µg/mL	40 µg/mL	40 µg/mL	10 µg/mL
D- <i>T.rubrum</i>	40 µg/mL	20 µg/mL	10 µg/mL	5 µg/mL
E- <i>T.rubrum</i>	40 µg/mL	5 µg/mL	5 µg/mL	1,25 µg/mL
F- <i>T.rubrum</i>	20 µg/mL	20 µg/mL	5 µg/mL	5 µg/mL
G- <i>T.rubrum</i>	5 µg/mL	5 µg/mL	5 µg/mL	0,625 µg/mL
H- <i>T.rubrum</i>	20 µg/mL	80 µg/mL	5 µg/mL	20 µg/mL

□

10.MIKROPLEYT	SINERJİSTİK ÇALIŞMA ÖNCESİ MİK DEĞERLERİ		SINERJİSTİK ÇALIŞMA SONRASI MİK DEĞERLERİ	
	KURKUMİN MİK DEĞERİ	PROPOLİS MİK DEĞERİ	KURKUMİN MİK DEĞERİ	PROPOLİS MİK DEĞERİ
A- <i>T.rubrum</i>	20 µg/mL	10 µg/mL	5 µg/mL	2,5 µg/mL
B- <i>T.rubrum</i>	5 µg/mL	5 µg/mL	5 µg/mL	1,25 µg/mL
C- <i>T.rubrum</i>	10 µg/mL	20 µg/mL	5 µg/mL	0,625 µg/mL
D- <i>T.rubrum</i>	10 µg/mL	20 µg/mL	5 µg/mL	2,5 µg/mL
E- <i>T.rubrum</i>	20 µg/mL	10 µg/mL	5 µg/mL	2,5 µg/mL

Tablo 4.33. 9. ve 10.mikropleyt MİK değerleri

11. MIKROPLEYT	SINERJİSTİK ÇALIŞMA ÖNCESİ MİK DEĞERLERİ		SINERJİSTİK ÇALIŞMA SONRASI MİK DEĞERLERİ	
	KURKUMİN MİK DEĞERİ	PROPOLİS MİK DEĞERİ	KURKUMİN MİK DEĞERİ	PROPOLİS MİK DEĞERİ
A- <i>T. mentagrophytes</i>	40 µg/mL	20 µg/ mL	10 µg/mL	0,625 µg/mL
B- <i>T. mentagrophytes</i>	20 µg/mL	80 µg/ mL	5 µg/mL	20 µg/mL
C- <i>T. mentagrophytes</i>	40 µg/mL	20 µg/ mL	5 µg/mL	5 µg/mL
D- <i>T. mentagrophytes</i>	80 µg/mL	20 µg/ mL	20 µg/mL	5 µg/mL
E- <i>T. mentagrophytes</i>	20 µg/mL	0,625 µg/ mL	5 µg/mL	0,625 µg/mL
F- <i>T. mentagrophytes</i>	160 µg/mL	10 µg/ mL	40 µg/mL	2,5 µg/mL
G- <i>T. mentagrophytes</i>	40 µg/mL	5 µg/ mL	10 µg/mL	1,25 µg/mL
H- <i>T. mentagrophytes</i>	80 µg/mL	20 µg/ mL	5 µg/mL	5 µg/mL

12. MIKROPLEYT	SINERJİSTİK ÇALIŞMA ÖNCESİ MİK DEĞERLERİ		SINERJİSTİK ÇALIŞMA SONRASI MİK DEĞERLERİ	
	KURKUMİN MİK DEĞERİ	PROPOLİS MİK DEĞERİ	KURKUMİN MİK DEĞERİ	PROPOLİS MİK DEĞERİ
A- <i>T. mentagrophytes</i>	10 µg/mL	10 µg/mL	5 µg/mL	2,5 µg/mL
B- <i>T. mentagrophytes</i>	80 µg/mL	20 µg/mL	10 µg/mL	1,25 µg/mL
C- <i>T. mentagrophytes</i>	40 µg/mL	5 µg/mL	10 µg/mL	0,625 µg/mL
D- <i>T. mentagrophytes</i>	20 µg/mL	40 µg/mL	5 µg/mL	10 µg/mL
E- <i>T. mentagrophytes</i>	10 µg/mL	10 µg/mL	5 µg/mL	5 µg/mL
F- <i>T. mentagrophytes</i>	20 µg/mL	20 µg/mL	5 µg/mL	2,5 µg/mL
G- <i>T. mentagrophytes</i>	80 µg/mL	5 µg/mL	20 µg/mL	1,25 µg/mL
H- <i>T. mentagrophytes</i>	40 µg/mL	2,5 µg/mL	5 µg/mL	0,625 µg/mL

Tablo 4.34. 11. ve 12.mikropleyt MİK değerleri

13.MİKROPLEYT	SİNERJİSTİK ÇALIŞMA ÖNCESİ MİK DEĞERLERİ		SİNERJİSTİK ÇALIŞMA SONRASI MİK DEĞERLERİ	
	KURKUMİN MİK DEĞERİ	PROPOLİS MİK DEĞERİ	KURKUMİN MİK DEĞERİ	PROPOLİS MİK DEĞERİ
A- <i>T. mentagrophytes</i>	80 µg/mL	20 µg/mL	20 µg/mL	5 µg/mL
B- <i>T. mentagrophytes</i>	80 µg/mL	10 µg/mL	10 µg/mL	2,5 µg/mL
C- <i>T. mentagrophytes</i>	40 µg/mL	5 µg/mL	10 µg/mL	1,25 µg/mL
D- <i>T. mentagrophytes</i>	20 µg/mL	2,5 µg/mL	5 µg/mL	0,625 µg/mL
E- <i>T. mentagrophytes</i>	160 µg/mL	40 µg/mL	20 µg/mL	10 µg/mL
F- <i>T. mentagrophytes</i>	160 µg/mL	20 µg/mL	40 µg/mL	5 µg/mL
G- <i>T. mentagrophytes</i>	80 µg/mL	20 µg/mL	20 µg/mL	5 µg/mL
H- <i>T. mentagrophytes</i>	40 µg/mL	10 µg/mL	20 µg/mL	5 µg/mL

Tablo 4.35. 13. mikropleyt MİK değerleri

Her bir kuyucuktaki izolat için FİK değerleri ayrı ayrı hesaplandı. *T. rubrum* ve *T. mentagrophytes* izolatları için belirlenen sonuçlar tablo 4.36’de gösterildi. *T. rubrum* için %73,8 ve *T. mentagrophytes* için ise %80.8 sinerjistik etki belirlenmiştir. Aynı çalışma *T. rubrum* standart suşu ile de gerçekleştirilmiş ve sonuçlar tablo 4.37’de gösterilmiştir.

Tablo 4.36 Dermatofit Türlerine göre FİK değerleri

	$\leq 0,5$	$0,5 \text{ ve } 4 \leq$	≥ 4	TOPLAM
<i>T. rubrum</i>	59	17		76
<i>T. mentagrophytes</i>	21	3		24
Toplam	80	20		100

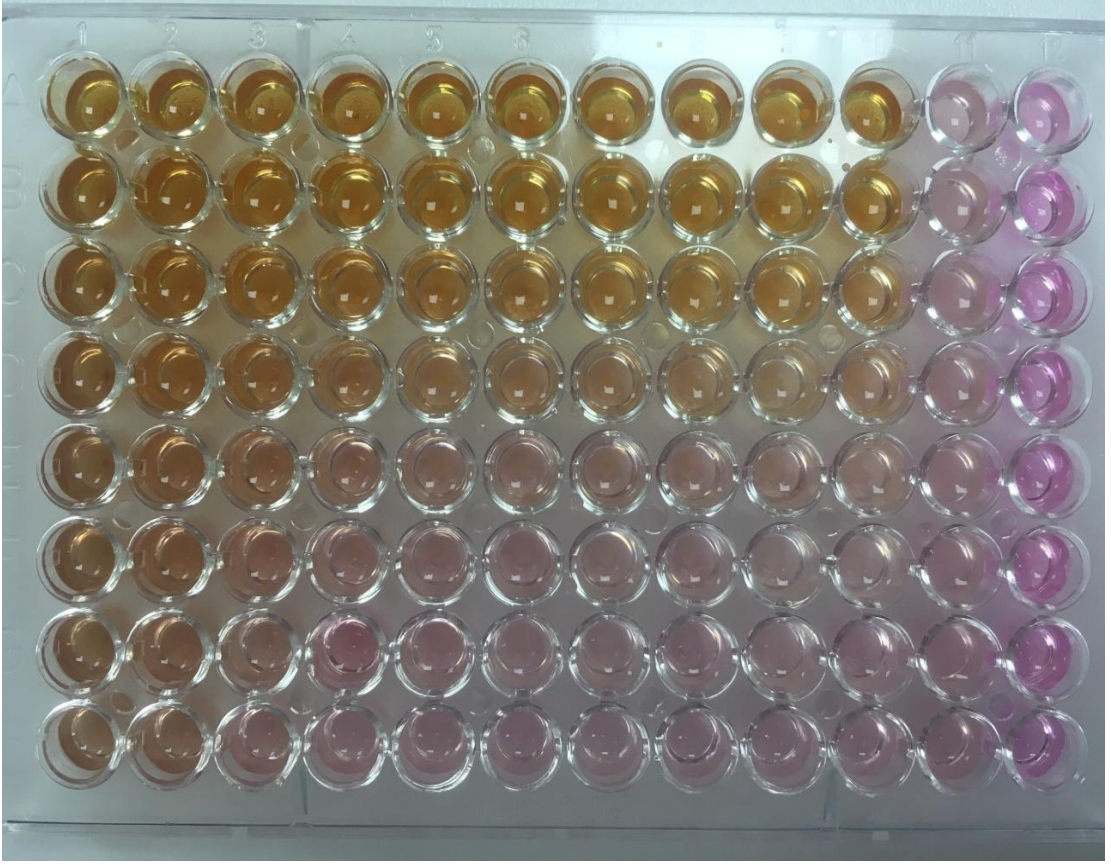
$\Sigma \text{FİKİ} \leq 0,5$ ise sinerji, $0,5 \text{ ve } 4 \leq$ ise etkisiz (indiferan), ≥ 4 ise antagonist

Tablo 4.36. Dermatofit Türlerine göre FİK değerleri**Tablo 4.37. *Trichophyton rubrum* standart suşunun sinerjistik çalışma sonuçları**

	SİNERJİSTİK ÇALIŞMA ÖNCESİ MİK DEĞERLERİ		SİNERJİSTİK ÇALIŞMA SONRASI MİK DEĞERLERİ		FİK SONUÇLARI
	KURKUMİN MİK DEĞERİ	PROPOLİS MİK DEĞERİ	KURKUMİN MİK DEĞERİ	PROPOLİS MİK DEĞERİ	
					$\leq 0,5$
<i>T. rubrum</i>	80 $\mu\text{g/ mL}$	20 $\mu\text{g/ mL}$	10 $\mu\text{g/ mL}$	5 $\mu\text{g/ mL}$	0,375

FİK değeri $\leq 0,5$ ise sinerji

Tablo 4.37. *T. rubrum* kontrol suşunun sinerjistik çalışma sonuçları



Resim.4.5. *Trichophyton* suşları üzerine propolis ve kurkumin ekstratlarının sinerjistik etkisinin incelenmesi için 96 kuyucuklu U tabanlı mikropleyde ekimi (Çalışmamızdan)

4.5. İtrakonazol ve Terbinafinin *Trichophyton rubrum* Suşu Üzerine Sonuçları

Trichophyton rubrum standart suşunun hem itrakonazol hem terbinafin için ayrı ayrı MİK değerleri belirlendi. Hem de her iki antifungalın sinerjistik etkisini incelemek için çalışma yapıldı. Bu çalışmada itrakonazolün ve terbinafinin hazırlanmış olan dilüsyonlarından 96 kuyucuklu mikropleyte 100'er µL alındı. 1-10 kuyucuklarına her bir tüpten aktarım yapıldı. 11. kuyucuk pozitif kontrol olarak kullanıldı ve 100'er µL RPMI 1640 besiyeri ile 100 µL *Trichophyton rubrum* suşu eklendi. 12. kuyucuk ise negatif kontrol olarak kullanıldı ve 200'er µL besiyeri ilave edilerek 46- 50 saat 35°C etüvde inkübasyona kaldırıldı. Sonuçlar incelendi ve tablo 4.38'de gösterildi.

Tablo 4.38. İtrakonazol , Terbinafin ve Sinerjistik Etki MİK Değerleri (µg/ mL)

	SİNERJİSTİK ÇALIŞMA ÖNCESİ MİK DEĞERLERİ		SİNERJİSTİK ÇALIŞMA SONRASI MİK DEĞERLERİ		FİK SONUÇLARI
	İTRAKONAZOL MİK DEĞERİ	TERBİNAFİN MİK DEĞERİ	İTRAKONAZOL MİK DEĞERİ	TERBİNAFİN MİK DEĞERİ	≤ 0.5
<i>T. rubrum</i>	0,25	0,0625	0,0625	0,008	0,38

FİK değeri ≤ 0.5 ise sinerji

Tablo 4.38 İtrakonazol, Terbinafin ve Sinerjistik Etki MİK değerleri

Çalışmamızda *Trichophyton* izolatları üzerine Propolis ekstratının antifungal aktivitesi, Kurkumin ekstratının antifungal aktivitesi, her iki ekstratın birlikte sinerjistik etkisi araştırıldı. Çalışma sonucunda MİK aralığı 160- 0, 312 µg/mL olan Propolis için 4 *Trichophyton* izolatında 80 µg/mL, 12 *Trichophyton* izolatında 40 µg/mL, 27 *Trichophyton* izolatında 20 µg/mL, 22 *Trichophyton* izolatında 10 µg/mL, 20 *Trichophyton* izolatında 5 µg/mL, 8 *Trichophyton* izolatında 2,5 µg/mL, 4 *Trichophyton* izolatında 1,25 µg/mL, 3 *Trichophyton* izolatında 0,625 µg/mL MİK değeri saptandı. MİK aralığı 1280- 2,5 µg/mL olan Kurkumin için 18 *Trichophyton* izolatında 160 µg/mL, 26 *Trichophyton* izolatında 80 µg/mL, 23 *Trichophyton* izolatında 40 µg/mL, 17 *Trichophyton* izolatında 20 µg/mL, 12 *Trichophyton* izolatında 10 µg/mL, 4 *Trichophyton* izolatında 5 µg/mL MİK değeri saptandı. *Trichophyton* izolatları üzerine Propolis ve Kurkumin ekstratlarının sinerjistik etki çalışması sonucundan 80 *Trichophyton* izolatının sinerjistik, 20 *Trichophyton* izolatının etkisiz olduğu saptandı. *Trichophyton rubrum* standart suşu üzerine yapılan kurkumin antifungal etki ve Propolis antifungal etki çalışması sonucunda Kurkumin için 80 µg/mL MİK değeri, Propolis için 20 µg/mL MİK değeri belirlendi. *Trichophyton rubrum* standart suşu üzerine yapılan Kurkumin ve Propolis ekstratlarının sinerjistik etki çalışması sonucu *Trichophyton rubrum* standart suşunun sinerjistik olduğu saptandı. *Trichophyton rubrum* standart suşu üzerine İtrakonazol ve Terbinafin sinerjistik etki çalışma sonucunda da sinerjistik etki saptandı.

5. TARTIŞMA

Dermatofitler, insan ve hayvanlarda saçlı ve saçsız deride ve tırnakta infekte olurlar. Oluşturdukları infeksiyonlara dermatofitoz denir. İnsanda keratinize dokulara yerleşirler. Derinin stratum corneum katmanında bulunan dermatofitleri keratin doku içinde kalarak daha iç katmanlara ilerleyemezler. Dermatofitler büyük çok hücreli makrokonidiyumlar ile küçük tek hücreli mikrokonidiyum olmak üzere iki çeşit konidiyuma sahiptirler. Dermatofitler, eşeysiz büyük sporlarının (makrokonidiyum) oluştururlar.(İlkit. 2006)

İnsanda bulunan dermatofit türlerinin çoğu *Trichophyton* türü içinde yer almaktadır ve saçlı, saçsız deri ile tırnakta infekte olurlar. Bu türe ait makrokonidiyumlar uzun, çomağımsı veya lobut şeklinde olup ince duvarlı (2 mm), düz ve 1-10 bölmeye sahiplerdir. Makrokonidiyumların sayısı daha az olmakla birlikte görülmesi zor ve 4.8-8.5 mm büyüklüğündedir. Mikrokonidiyumları ise küre ve armut şeklinde , 2.5-4 mm çapındadır. Mikrokonidiyumları *T. rubrum*'da gözyaşı damlası, *T. mentagrophytes*'de ise kısa, düzgün yüzeyle ve üzüm salkımı şeklindedir. SDA besiyerinde koloni morfolojileri incelendiğinde ise *T. rubrum*'un yünümsü , beyaz renkli , *T. mentagrophytes*'in pudramsı ve sarı-krem renge sahip olduğu gözlemlenmektedir.(Shangal ve ark. 2006)

Son zamanlarda yapılan çalışmalar hız kazanmış ve farklı ekstratlar ile *Trichophyton* türleri üzerine yapılan çalışmalar dahada yoğunluk göstermiştir. Koç ve arkadaşlarının *T.rubrum* ve *T.mentagrophytes* türleri üzerine yaptıkları çalışmada propolis ekstratının ve antifungal ilaçların bu türler üzerine etkili olup olmadığını araştırmış ve araştırmada 25 adet *T.rubrum* ile 4 adet *T.mentagrophytes* türünü kullanmıştır. Flukozanol, terbinafin, itrakonazol, ketakonazol antifungalleri ile propolis ekstratının MIC değerleri hesaplamıştır. Propolisin flukonazol ve

ketakonazolden daha aktif olduğunu ama itrakonazol ile terbinafinden daha az aktif olduğunu belirlemiştir. (Koç ve ark, 2005). Afshari ve arkadaşları yaptıkları çalışmada Koç ve arkadaşlarına benzerlik gösterecek şekilde *T.rubrum* ve *T.mentagrophytes* türleri üzerine itrakonazol ve terbinafin antifungallerinin etkin olduğu belirlemiştir. Bizde çalışmamızda benzer sonuçlar elde ettik. (Afshari ve ark. 2016) Çalışmamızda 76 adet *T.rubrum* türü kullandık, Propolis, itrakonazol ve terbinafin üzerine yaptığımız çalışma anlamlı olarak Koç ve arkadaşlarının ile Afsari ve arkadaşlarının yaptıkları çalışma ile benzerlik göstermiştir. Koç ve Silici yaptıkları çalışmada *T.rubrum* ve *T.mentagrophytes* türleri üzerine propolisin antifungal etkilerini araştırmıştır. Çalışmada kullanılan metot, besiyeri ve antifungal ajan olarak kullandıkları itrakonazol ajanı bizim çalışmamızla benzerlik göstermiştir. Propolisin bu dermatofit türleri üzerine antifungal olarak etkili olduklarını belirlemiştir. Çalışmamız bu yönüyle de benzerlik göstermiştir. Bizim çalışmamızda kullanılan tüm dermatofit türleri propolise karşı duyarlılık göstermiştir.. (Koç ve Silici, 2008). Cho ve arkadaşları sistemik dermatofitli bir hasta kadın üzerinde yaptıkları bir araştırmada kadının deri tedavisinde propolis kullanmıştır ve propolisin dermatitisli hastanın dersinde gözle görülür etki oluşturduğunu belirlemiştir.. (Cho ve ark. 2011). Al-Daamy ve arkadaşları da propolisin dermatofit ve bunun yanı sıra *Candida albicans* türü üzerine etkilerini araştırmış, propolisin 6 konsantrasyonunu kullanmıştır (0,5, 10, 15, 20, and 25 mg/ml) ve kullanmış olduğu *Trichopyton* türlerinin her ikisinin de anlamlı olarak propolise karşı duyarlı olduğunu saptamıştır. (Al-Daamy ve ark. 2015). Bizim çalışmamızda propolisin 160, 80, 40, 20, 10, 5, 2,5, 1,25, 0,625 ve 0,312 µg/ mL'lik konsantrasyonlarını kullanılmıştır ve tüm dermatofit izolatlarının propolise karşı duyarlılığı olduğunu beirlenmiştir. Farghaly yapmış olduğu bir araştırmada propolisin tüm mikroorganizma türleri üzerine etkisi olduğunu ve doğal bir antimikrobiyal ilaç olarak kullanım gösterebileceğini belirtmiştir. (Farghaly, 2016) Moghadamtousi ve arkadaşları kurkuminin antifungal,

antiviral ve antibakteriyal aktivitesini araştırdıkları bir çalışmada kurkuminin *T.rubrum* ve *T.mentagrophytes* türleri üzerinde anlamlı bir şekilde antifungal ajan olarak etkin bulunduğunu bildirmişlerdir. (Moghadamtousi ve ark. 2014). Bizde alışmamızda 76 adet *T.rubrum* ve 24 adet *T.mentagrophytes* türü üzerinde yaptığımız kurkumin ekstratının antifungal etki araştırmasında kurkuminin bu türler üzerinde anlamlı ölçüde etkin olduğunu belirledik. Park ve arkadaşlarının *T.rubrum* türü üzerine yapmış oldukları çalışmada arı zehrinin yanı sıra propolisin ve kurkuminin antifungal olarak etkinliğininin olduğunu belirlemiş ve olumlu sonuçlar almıştır. Fungiler zerine antifungal ajan olarak görev yapabileceğini not etmişlerdir. (Park ve ark. 2018). Biz de çalışmamızda test etmiş olduğumuz 100 dermatofit türünün tümünün üzerinde propolis ve kurkuminin antifungal ajan olarak etkinliğini gösterdik. Tuyet ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada kurkuminin deri-ilişkili hastalıkların tedavisinde antifungal ajan olarak kullanılabileceğini belirtmişlerdir. (Tuyet ve ark. 2013). Rath ve Mohanty 2013 yılında dermatofitler üzerinde kurkuminin antifungal etkisinin olup olmadığını araştırmıştır. Çalışmada *Trichophyton mentagrophytes* türünü kullanmıştır. Sonuç olarak kurkuminin dermatofitler üzerine %100 inhibe edici etkisinin olduğunu göstermiştir. (Rath ve Mohanty 2013). Bizim çalışmamız gerek kullanılan dermatofit türü gerekse kurkuminin %100 inhibe edici etkisinin olması yönleri ile bu çalışmayla benzerlik göstermektedir. Martins ve arkadaşları CLSI klavuzu doğrultusunda broth mikrodilüsyon yöntemini kullanarak fungaller üzerine etkilerini araştırmış ve *Candida* türü üzerinde antifungal ajan olan flukozanolden daha etkili olduğunu saptamış. Biz de alışmamızda CLSI kılavuzunu yol gösterici olarak aldık fakat yöntem olarak 96 kuyucuklu u tabanlı mikropleytte mikrodilüsyon yöntemini kullandık ve kurkuminin etkinliğini araştırdık. (Martins ve ark. 2009) Shetty ve arkadaşları fungal enfeksiyon tedavisinde kurkuminin kullanılabilenine dair çalışma yapmış ve çalışmaya *Trichophyton mentagrophytes* türünü de dahil etmiştir.

Bu türün kurkumine karşı antifungal duyarlık gösterdiğini belirlemiştir. Biz de çalışmamızda kullanılan 24 *Trichophyton mentagrophytes* türünün kurkumine karşı duyarlı olduğunu gösterdik. (Shetty ve ark. 2017). Rufatto ve arkadaşları propolisin *T. rubrum* ve *T. mentagrophytes* türleri üzerine antifungal duyarlılığı araştırmış ve duyarlı olduğunu bildirmiştir. (Rufatto ve ark. 2017) Bizim çalışmamızdaki MİK değerleri bu çalışmadaki MİK değerleriyle benzerlik göstermektedir. Gavanji ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmalarında propolis ekstatının dermatofitler üzerindeki etkilerini incelemiştir. Propolis ekstratının her dilüsyonun dermatofitler üzerinde çokça etkilerinin olduğunu açıkça görmüşlerdir. (Gavanji ve ark. 2011) Bu yönüyle Gavanjinin çalışması bizim çalışmamızla benzerlik göstermektedir. Çalışmamızda kullandığımız tüm dermatofit türlerinin propolise karşı duyarlılık olduğunu belirledik. Siqueira ve arkadaşları kırmızı ve yeşil propolisin *Trichophyton* türleri üzerine ne düzeyde ve hangisinin daha etkili olduğuna dair yaptıkları çalışmada propolisin antifungal etkisini belirlemiştir. Bu bulgular çalışmamızla benzerlik göstermektedir. Bizde çalışmamızı itraconazol ve terbinafin kullandık ve benzer mik değerlerini belirledik. (Siqueira ve ark. 2008) Anjum ve arkadaşları yakın bir tarihte propolisin etkileri üzerine bir çalışma gerçekleştirmiş ve bu çalışma sonucunda propolisin antifungal etkisinin olduğunu bildirmiştir. (Anjum ve ark. 2018) Wuthiudomlert ve arkadaşları kurkuminin antifungal etkisini araştırmıştır. Kurkumini farklı çözücülerle çözdürerek antifungal etkilerini incelemiş ve tüm çözücülerden aynı şekilde kurkuminin antifungal olarak etkin bir rol aldığını belirlemiştir. (Wuthiudomlert ve ark. 2000) Propolisin, kurkumin ve antifungal ajanların *Trichophyton* türleri üzerine antifungal etkilerinin araştırıldığı çalışmalara ek olarak sinerjistik etkileri üzerine de araştırmaları yapılmıştır. Biancalana ve arkadaşları itraconazol ve terbinafin antifungallerinin kombinasyonlarının sinerjistik etkilerini checkerboard mikrodilüsyon yöntemi ile araştırmıştır. Biz de çalışmamızda checkerboard mikrodilüsyon yöntemini kullanarak FİK değerlerini belirledik ve sonuçlar MİK ve

FİK değerleri bakımında benzerlikler göstermektedir. (Biancalana ve ark. 2011). Zhang ve arkadaşları itrakonazol ve terbinafinin ayrı ayrı ve kombinasyonunun MİK değerlerini ve FİK değerini değerlerini çalışmış ve itrakonazol ile terbinafinin kombinasyonun belirgin bi şekilde sinerjistik bi etkiye sahip olduğunu kanıtlamıştır. (Zhang ve ark. 2009). Argenta ve arkadaşları da checkerboard mikrodilüsyon yöntemini kullanarak anlamlı bir şekilde itrakonazol ile terbinafin kombinasyonunun sinerjistik bir etkiye sahip olduğunu bildirmiştir. (Argenta ve ark. 2008). Biz de çalışmamızda checkerboard mikrodilüsyon yöntemini kullanarak itrakonazol ve terbinafin için sinerjistik çalışması gerçekleştirdik ve çalışma sonucunda *Trichopyton rubrum* suşu için bu kombinasyonun sinerjistik etkiye sahip olduğu belirledik. Yapılan literatür taramaları sonucunda *Trichopyton rubrum* suşu için itrakonazol ve terbinafin kombinasyonunun sinerjistik etki çalışmasına dair bir veriye rastlanmaması da bizim çalışmamızın bu alanda ilk başarılı çalışma olması bakımından önem taşımaktadır. Propolisin sinerjistik etkileri üzerine yapılan çok çalışmalar mevcuttur. Takzaree ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada deri yaralarının iyileşmesinde bal ve propolisin birlikte daha etkili olduğunu bildirmişlerdir. (Takzaree ve ark. 2015). Runyoro ve arkadaşları 96 kuyucuklu mikrodilüsyon yöntemi ile yaptıkları propolis ve çeşitli antimikrobiyal ajanların kombinasyonun sinerjistik etki çalışmasında propolisin sinerjistik etkiye sahip olduğunu bildirmişlerdir. (Runyoro ve ark. 2017) Kurkuminin sinerjistik etkileri üzerine yapılan çalışma sayısı azdır. Ranjbar ve Mohammadi yaptıkları bir çalışmada kurkumin ve antibiyotik kombinlerinin birlikte daha etkili olduğunu göstermişlerdir. (Ranjbar ve Mohammadi, 2018) alışmalarını elisa testi üzerinden gerçekleştirmişlerdir. Biz alışmamızda checkerboard mikrodilüsyon yöntemini kullandık ve anlamlı sonuçları elde ettik. Sharma ve arkadaşları kurkumin ile çeşitli antifungal ajanların sinerjistik etkilerini araştırarak birlikte iken daha güçlü antifungal etki gösterebilecek olan çeşitli kombinasyonlar yapmıştır. Çalışmayı

checkerboard mikrodilüsyon test yöntemi ile gerçekleştirmiş ve kurkuminin tüm antifungal ajanlar ile birlikte sinerjistik olarak etkili olduğunu gözlemlemiştir. (Sharma ve ark. 2010) Biz de çalışmamızda checkerboard mikrodilüsyon yöntemini kullandık ve kurkuminin sinerjistik olarak etkisinin olduğunu belirledik. Pippi ve arkadaşları ise propolisin flukonazol ile sinerjistik etkisini araştırmıştır. Yöntem olarak mikrodilüsyon test yöntemini kullanmış propolisin sinerjistik etkisinin olduğunu saptamıştır. Çalışmayı *Candida* türleri üzerinde gerçekleştirmiştir. Biz ise *Trichophyton* türleri üzerinde gerçekleştirdik ve propolisin sinerjistik olarak etkisini saptadık. (Pippi ve ark. 2015). Azucena ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada kurkuminin antimikrobiyal ajanlar ile sinerjistik etkilerini disk difüzyon yöntemi ile araştırmıştır. Çalışma sonucunda kurkuminin antimikrobiyaller ile birlikte sinerjistik etki gösterdiği kanıtlamıştır. (Azucena ve ark. 2019) Çalışmamızda 76 adet *T.rubrum* ve 24 adet *T.mentagrophytes* olmak üzere 100 adet *Trichophyton* türü kullandık. Her bir tür için ayrı ayrı hem kurkumin hem propolis hem de her ikisinin kombini için çalışma gerçekleştirdik. Her bir çalışma için ayrı ayrı konsantrasyonlar hazırladık. Çalışmada *Trichophyton rubrum* kontrol suşu kullandık ve hem propolis hem kurkumin hem de her ikisinin sinerjistik etkisi üzerine aynı çalışmayı bu kontrol suşu üzerinde de gerçekleştirdik. Ek olarak kontrol suşu üzerinde itrakonazol ve terninafin antifungallerinin hem ayrı ayrı hem de ikisinin sinerjistik etkisi olmak üzere çalışmamızı gerçekleştirdik ve hepsinde uygun sonuçlar aldık. Propolis ve kurkumin *T.rubrum* ve *T.mentagrophytes* dermatofitler üzerine antifungal olarak inhibe edici etkisinin olduğunu gösterdik

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Trichophyton türleri üzerine propolis ve kurkumin ekstratlarının antifungal aktivitesinin ve sinerjistik etkisinin araştırılması konulu tezimizde bulduğumuz sonuçlar aşağıdaki gibidir;

1. Kurkumin ekstratının 76'sını *Trichophyton rubrum* 24'dünü *Trichophyton mentagrophytes*'in oluşturmuş olduğu *Trichophyton* türlerinin tümü üzerinde %100 oranında antifungal etkiye sahip olduğu bulunmuştur.
2. Propolis ekstratının 76'sını *Trichophyton rubrum* 24'dünü *Trichophyton mentagrophytes*'in oluşturmuş olduğu *Trichophyton* türlerinin tümü üzerinde %100 oranında antifungal etkiye sahip olduğu bulunmuştur.
3. Kurkumin ve Propolis ekstratlarının çalışmada kullanılan *Trichophyton* türlerini üzerinde %80 sinerjistik etkiye sahip olduğu bulunmuştur.

Sonuç olarak *Trichopyton* türleri üzerinde kurkumin ve propolisin antifungal ajan olarak etkili olduğu gösterilmiştir. *Trichopyton* türleri üzerinde sinerjistik etkisinin anlamlı olarak yüksek olduğu ortaya konulmuştur. Son zamanlarda propolis ve kurkumin ile *Trichopyton* türleri üzerine yapılmış çok fazla çalışmanın mevcut olmaması ve bununla beraber yaptığımız bu çalışmanın kurkumin ve propolisin sinerjistik etki çalışması adına yapılan ilk çalışma olması çalışmamız adına büyük önem taşımaktadır. Başarılı bulunan sonuçlarımız ileri ki çalışmalara destek sağlayacağı kanısındayız.

KAYNAKLAR

- AFSHARİ, M., SHAMS-GHAHFAROKHİ, M., RAZZAGHİ-ABYANEH, M. 2016. Antifungal susceptibility and virulence factors of clinically isolated dermatophytes in Tehran, Iran. *Iran J Microbiol.* 8(1):36-46.
- ALBAYRAK, S., ALBAYRAK, S. 2008. Propolis: Doğal antimikrobiyal madde. *Ecz. Fak. Derg.* 37 (3): 201 – 215.
- AL-DAAMY, A., ABD-AL AMEER, H., ZUHER, H. 2015. Antifungal activity of propolis against dermatophytes and *Candida albicans* isolated from human mouth. *Journal of Contemporary Medical Sciences.* V. 1, N. 3, P. 4-8.
- AGUIAR, F., MORAIS, S., SANTOS, H ALBUQUERQUE, M., BANDEIRA, P, BRITO, H., ROCHA M., FONTENELLE, R. 2016. Antifungal activity and synergistic effect of acetophenones isolated from species *Croton* against dermatophytes and yeasts. *Journal of Medicinal Plants Research.* Vol. 10(17), pp. 216-222.
- ARGENTA, JS., SANTURIO, JM., ALVES, SH., PEREIRA, DI., CAVALHEIRO, AS., SPANAMBERG, A., FERREIRO, L. 2008. In Vitro Activities of Voriconazole, Itraconazole, and Terbinafine Alone or in Combination against *Pythium insidiosum* Isolates from Brazil. *Antimicrob Agents Chemother.* 52(2):767-9.
- AKCA, A., AKCA G., TOPÇU, F., MACİT, E., PİKDÖKEN, L., ÖZGEN, I. 2016. The Comparative Evaluation of the Antimicrobial Effect of Propolis with Chlorhexidine against Oral Pathogens: An In Vitro Study. *BioMed Research International.* Volume 2016, Article ID 3627463, 8 pages.

- ANJUM, S., ULLAH, A., KHAN, K., ATTAULLAH, M., KHAN, H., ALÌ, H., BASHİR, M., TAHİR, M., ANSARİ, M., GHRAMH, H., ABGADA, N., DASH, C. 2018. Composition and functional properties of propolis (bee glue): A review . Saudi Journal of Biological Sciences. 08: 013-016
- ATİK, A., GÜMÜŞ, T. 2017. Propolisin Gıda Endüstrisinde Kullanım Olanakları. Akademik Gıda. 15(1) : 60-65
- AZUCENA, RC., ROBERTO, CL., MARTİN, ZR., RAFAEL, CZ., LEONARDO, HH., GABRIELA, TP., ARACELI, CR. 2019. Drug Susceptibility Testing and Synergistic Antibacterial Activity of Curcumin with Antibiotics against Enterotoxigenic Escherichia coli. Antibiotics. 8(2): 43
- BADRİA, F., FATHY, H., FATEHE, H., ELİMAM, D., GHAZY, M. 2017. Evaluate the cytotoxic activity of honey, propolis, and bee venom from different localities in Egypt against liver, breast, and colorectal cancer. Journal of Apitherapy. Vol 2, Issue 1.
- BAYAR, F., GÜVEN, Ş. 2014. Terbinafine kullanımına bağlı tat duyusu bozukluğu ; bir olgu sunumu. Diş Hek. Fak. Derg.: 8: 27-29.
- BANSKOTA, A.H., TEZUKA, Y., KADOTA, S., 2001. Recent progress in pharmacological research of propolis. Phytotherapy Res. 15(7):561-71.
- BRASCH, J., FREİTAG-WOLF, S., BECK-JENDROSCHEK, V., HUBER, M. 2017. Inhibition of dermatophytes by photodynamic treatment with curcumin. Med Mycol. 1;55(7):754-762

- BIANCALANA, F., LYRA, L., SCHREIBER, A. .2011. In Vitro Evaluation of the Type of Interaction Obtained by the Combination of Terbinafine and Itraconazole, Voriconazole, or Amphotericin B against Dematiaceous Molds, Antimicrobial agents and chemotherapy. *Antimicrob Agents Chemother.* 55(9): 4485–4487.
- CASTOLDA, S., AND CAPASSO, F., 2002. Propolis an old remedy used in modern medicine. *Fitoterapia*, 73; 51-56.
- EUJİN CHO, M.D., JEONG DEUK LEE, M.D., SANG HYUN CHO, M.D. 2011. Systemic Contact Dermatitis from Propolis Ingestion. *Ann Dermatol* 23(1): 85–88.
- CLSI, 2008. Clinical and Laboratory Standards Institute. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Filamentous Fungi, Approved Standard-Second Edition, CLSI Document M38-A2, Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne PA.
- ÇÖTELİ, E., KARATAŞ, F. 201. Zerdeçal (*Curcuma longa* L.) Bitkisindeki Antioksidan Vitaminler ve Glutasyon Miktarları ile Total Antioksidan Kapasitesinin Belirlenmesi *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi Cilt 33, Sayı 2.*
- DİCLE, Ö., ÖZKESİCİ, B. 2013. Tinea Kapitis. *Turk J Dermatol.* 7: 1-8
- DOĞANYIĞIT, Z., KÜP, FÖ., SİLİCİ, S., DENİZ, K., YAKAN, B., ATAYOĞLU, T. 2013. Protective effects of propolis on female rats histopathological, biochemical and genotoxic changes during LPS induced endotoxemia. *Phytomedicine.* 20(7):632-9
- DOĞANYIĞIT, Z. 2013. Propolis ve Karaciğere Koruyucu Etkisi. *U. Arı Drg.* 13(2): 70-78

- ENDOA, M., ESTRELAB, C., ALENCARC, A., DECURCİOC, D., SİLVAC, D., ESTRELAC, C. 2017. Antibacterial action of red and green propolis extract in infected root canal . Rev Odonto Cienc. 32(2):99-103
- MURRAY, PR., BARON, EJ., JORGENSEN, HJ., PFALLER, MA., ESPİNEL-INGROFF, A., PFALLER, M. 2007. Susceptibility tests methods: yeasts and filamentous fungi. Manual of Clinial Microbiology. 9. baskı s.1972-86.
- FARGHALY, D.S. 2016. Effect of some Honey Bee and Wasp Products on some Pathogenic Bacteria and Fungi: In vitro Study. Middle East J. 6(3): 468-473.
- GATEA, F., MATEI, G.O., TEODOR, E.D, RADU, G,L. 2015. Antioxidant properties and polyphenols composition of some Romanian propolis samples. Rev. Roum. Chim., 60 (1); 65, 74.
- GAVANJİ, S., LARKİ, B., Zand, A.J., TARAGHİAN, A.H. 2011. Antifungal effect of the extract of propolis on the growth of three species of Epidermophyton flucosum, Trichophyton violaseum and Trichophyton tonsorans in laboratory environment, African Journal of Pharmacy and Pharmacology Vol. 5(24), pp. 2642-2646.
- GÜL, Ü. 2014. Derinin Yüzeysel Dermatofit Enfeksiyonları. Ankara Med J. 14(3): 107 – 113.
- Güney, F., Yılmaz, M. 2013. Propolisin Kimyasal İçeriği ile Antibakteriyel, Antiviral, Antitümör, Antifungal ve Antioksidan Aktivitesi. Arıcılık Araştırma Dergisi, 25-28 pp.
- GRÄSER, Y., KUİJPERS, A.F., PRESBER, W., DE HOOG, GS. 2000. Molecular taxonomy of the Trichophyton rubrum complex. J Clin Microbiol. 38:3329-3336.

- HUDZICKI, J. 2016. Kirby-Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol. American Society for Microbiology. 1-23 pp.
- İÇEN, H., GÜNEŞ F. 2017. Kutkumin ve İmmun Sistem Üzerine Etkileri. Uluslararası Hakemli Beslenme Araştırmaları Dergisi. Sayı 2; 2148-8150
- İLKİT M. Türkiye’de dermatofitlerin epidemiyolojisi. XXXII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi (12-16 Eylül 2006, Antalya). Ankara: Sim Matbaacılık, 2006: 243-258.
- İLKİT M. 2008. Türkiye’de Dermatofitlerin Epidemiyolojisi, XXXII. Türk Mikrobiyoloji Kongresi Kongre Kitabı, (ed) Ustaçelebi Ş, Sim Matbaacılık Ltd, 243-58
- KARABULUT, B., ÇOMOĞLU, T. 2010. Influence of some process and formulation variables on the formation of polymeric microspheres of itraconazole, J. Fac. Pharm. 39 (3) 163-172.
- KOÇ, A.N. 2012. ANTİFUNGAL DUYARLILIK TESTLERİ VE KLİNİK ÖNEMİ. ANKEM Derg. 26(Ek 2):270-276.
- KOC, A.N., SİLİCİ, S., AYANGİL, D., FERAHBAŞ, S., ÇANKAYA, S. 2005. Comparison of in vitro activities of antifungal drugs and ethanolic extract of propolis against *Trichophyton rubrum* and *T. mentagrophytes* by using a microdilution. Mycoses. 48(3): 205-10.
- KOC, A.N., SİLİCİ, S, 2008. Comparative study of in vitro methods used to analyse the antifungal activity of propolis against *Trichophyton rubrum* and *Trichophyton mentagrophytes*. Annals of Microbiology. 58 (3): 543-547.

- KUTLUCA, S., GENÇ, F., KORKMAZ, A., 2006. Propolis. Samsun Tarım İl Müdürlüğü Çiftçi Eğitimi ve Yayım Şubesi. P. 57.
- LARONE DH. Medically Important Fungi, Aguide to identification. 4th ed., Printed in the United States of America 2002: 11–180.
- MAHESHWARİ, R.K., SİNGH, A.K, GADDİPATİ, J., SRİMÄL, R.C. 2006. Multiple biological activities of curcumin: A short review. *Life Sci.* 78: 2081-7
- MARGHİTAS, L.A., MIHAL, C.M., CHIRILA, F.C., DEZMİREN, D.S. 2010. The study of the antimicrobial activity of Transylvanian propolis. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici.* 38 (3); 40-44.
- MARTİNS, CV., DA SİLVA, DL., NERES, A.T., MAGALHÃES, T.F., WATANABE, G.A., MODOLO, L.V., SABİNO, A.A., DE FÁTIMA, A., DE RESENDE, M.A. 2009. Curcumin as a promising antifungal of clinical interest. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy.* Volume 63, Issue 2, Pages 337–339.
- MATSUMOTO, T., AJELLO, L. 1987. Current taxonomic concepts pertaining to the dermatophytes and related fungi (Review). *Int J Dermatol.* 26: 491-499.
- MOGHADAMTOUSİ, S.Z, KADİR, HA., HASSANDARVİSH, P., TAJİK, H., ABUBAKAR, S., ZANDİ, K. 2014. A Review on Antibacterial, Antiviral, and Antifungal Activity of Curcumin. *BioMed Research International.* 2014:186864.
- MORİELLO, KA., COYNER, K., PATERSON, S., MİGNON, B. 2017. Diagnosis and treatment of dermatophytosis in dogs and cats. *BMJ Publ.* 28: 266–e68.

- MORENO, M.I.N., ISLA, M.I., SAMPIETRO, A.R., VATTUONE, M.A.. 2000. Comparison of the free radical-scavenging activity of propolis from several regions of Argentina. *J.Ethnopharmacol.* 71(1-2):109-14.
- NGUYEN, TA., FRIEDMAN, A.J. 2013. Curcumin: A Novel Treatment for Skin-Related Disorders. *J Drugs Dermatol.* 12(10): 1131-1137.
- OYEKA, CA. 2000. *Trichophyton mentagrophytes* a keratinophilic fungus. *Rev Iberoam Micol*, 2000; 2:60-65.
- PARK, J., KWON, O., AN, H.J., PARK, K.K. 2018. Antifungal Effects of Bee Venom Components on *Trichophyton rubrum*: A Novel Approach of Bee Venom Study for Possible Emerging Antifungal Agent. *Ann Dermatol* . 30(2): 202-210.
- PIPPÌ, B., LANA, A.J., MORAES, R.C., GÜEZ, C.M., MACHADO, M., DE OLIVEIRA, L.F., LINO VON POSER, G., FUENTEFRÍA, A.M. 2015. In vitro evaluation of the acquisition of resistance, antifungal activity and synergism of Brazilian red propolis with antifungal drugs on *Candida* spp. *Journal of Applied Microbiology.* 118(4):839-50.
- RANJBAR, R., MOHAMMADI, A. 2018. Synergistic effects of combined curcumin and antibiotic in ameliorating an animal model of *Helicobacter pylori* infection. *Biomedical Research.* 29 (8): 1702-1707.
- RATH, S., MOHANTY, R.C. 2013. Antifungal Screening Of *Curcuma Longa* and *Cassia Tora* On Dermatophytes. *Int. J. LifeSc. Bt & Pharm. Res.* 2013, Vol. 2, No. 4.
- ALVES, F.A.R., MORAIS, S.M., SOBRINHO, A.C.N., SILVA, I.N.G.M., SILVA, A.A.S., FONTENELLE, R.O.S. 2018. Chemical composition, antioxidant and antifungal

activities of essential oils and extracts from *Plectranthus* spp. against dermatophytes fungi. *Rev. Bras. Saúde Prod. Anim. Salvador.* v.19, n.1, p.105-115

RUFATTO, L.C., SANTOS, D.A., MARINHO, F., HENRIQUES, J.A.P, ELY, M.R., MOURA, S. 2017. Red propolis: Chemical composition and pharmacological activity. *Asian Pac J Trop Biomed.* 7(7): 591–598.

RUNYORO, D.K.B., NGASSAPA, O.D., KAMUGISHA, A. 2017. Antimicrobial Activity of Propolis from Tabora and Iringa Regions, Tanzania and Synergism with Gentamicin. *Journal of Applied Pharmaceutical Science* Vol. 7 (01), pp. 171-176.

SANPA, S., POPOVA, P., TUNKASIRI, T., EITSSAYEAM, S., BANKOVA, V., CHANTAWANNAKUL, P. 2017. Chemical profiles and antimicrobial activities of Thai propolis collected from *Apis mellifera*. *Chiang Mai J. Sci.* 44(2); 438-448.

SAHGAL N, MONK B, WASIL M, MAGAN N. Trichophyton species: use of volatile fingerprints for rapid identification and discrimination. *Br J Dermatol*, 155:1209-1216.

SHARMA, M., MANOHARLAL, R., NEGÍ, A.S., PRASAD, R. 2010. Synergistic anticandidal activity of pure polyphenol curcumin I in combination with azoles and polyenes generates reactive oxygen species leading to apoptosis. *FEMS Yeast Res.* 10(5):570-8

SHETTY, T., DUBEY, A., RAVI, G.S., HEBBAR, S., SHASTRY, C.S., CHARYULU, N. 2017. Antifungal and Antioxidant Therapy for the Treatment of Fungal Infection with Microemulsion Gel Containing Curcumin and Vitamin C. *Asian Journal of Pharmaceutics.* 11 (4); 717

- SİLİCİ, S., KUTLUCA, S., 2005. Chemical composition and antibacterial activity of propolis collected by three different races of honeybees in the same region. *Journal of Ethnopharmacology*, 99; 69-73.
- SIQUEIRA, A.B., GOMES, B.S., CAMBUIM, I., MAIA, R., ABREU, S., SOUZA-MOTTA, C.M., DE QUEIROZ, L.A., PORTO, A.L. 2008. Trichophyton species susceptibility to green and red propolis from Brazil. *Letters in Applied Microbiology*. 48(1):90-6.
- SOLGUN, G., FINDIK, D., TÜRK DAĞI, H., ARSLAN, U. 2008. Trichophyton rubrum Klinik İzolatlarının Hemolitik Aktivitesi ve Antifungal İlaçlara İn Vitro Duyarlılığının Saptanması. *Mikrobiyol Bul.* 45(1): 159-167
- TAKZAREE, N., HADJIAKHONDI, A., HASSANZADEH, G., ROUINI, M.R., MANAYI, A. 2015. Synergistic Effect of Honey and Propolis on Cutaneous Wound Healing in Rats. *Acta Med Iran.* 54(4):233-239.
- THOMSON, K.S., THOMSON, G.K., BIEHLE, J., DEEB, A., CRAWFORD, J., HERRERA, R. 2016. A Novel Topical Combination Ointment with Antimicrobial Activity against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*, Gram-Negative Superbugs, Yeasts, and Dermatophytic Fungi. *Curr Ther Res Clin Exp.* 83:8-12.
- ULUSOY, E., 2012. BAL VE APİTERAPİ. *U. Arı Drg.* 12(3): 89-97
- WUTHI-UDOMLERT, M., GRISANAPAN, W., LUANRATANA, O., CAICHOMPOO, W. 2000. Antifungal activity of Curcuma longa grown in Thailand. *Southeast Asian J Trop Med Public Health.* 31 Suppl 1:178-82.

- YALÇIN, A.S, YILMAZ, A.M., ALTUNDAĞ, E.M., KOÇTÜRK, S. 2017. Kurkumin, Kuersetin ve Çay Kateşinlerinin Anti-Kanser Etkileri. *Marmara Pharmaceutical Journal*. 21: 19-29.
- YARFANI, R., KHOSRAVI, A.R., SHOKRI, H. 2010. The antifungal activity of Iranian propolis samples against fluconazole-resistant *Candida albicans* strains isolated from HIV+ patients with oropharyngeal candidiasis. *Journal of Api Product and ApiMedical Science*. 2 (4);160- 165.
- YUN, D.G., LEE, D.G. 2016. Antibacterial activity of curcumin via apoptosis-like response in *Escherichia coli*. *Microbiol Biotechnol*. 100(12):5505-14
- ZHANG, X., WANG, L., MU, H., WANG, D., YU, Y. 2018. Synergistic antibacterial effects of *Buddleja albiflora* metabolites with antibiotics against *Listeria monocytogenes*. *Lett Appl Microbiol*. 68(1):38-47.
- ZHANG, J.M., XI, L.Y., ZHANG, H., XIE, Z., SUN, J.F., LI, X.Q., LU, S. 2009. Synergistic effects of terbinafine and itraconazole on clinical isolates of *Fonsecaea monophora*. *Eur J Dermatol*. 19 (5): 451-5.

ÖZGEÇMİŞ

Zehra Özlem ÜNAL 28.03.1992 tarihinde Kırklareli’nde doğdu. İlköğrenimini Cumhuriyet İlköğretim Okulu ve Mithatpaşa İlköğretim Okulunda, lise eğitimini Plevne Lisesi’nde tamamladı. Lisans eğitimini Namık Kemal Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü’nde 2015 yılında tamamladı. 2015 yılından günümüze Namık Kemal Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Mikrobiyoloji alanında yüksek lisans eğitimine devam etmektedir.