



T.C.  
**BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
TR, Balıkesir University, Institute of Health Sciences



**NİSİNİN ANTİBAKTERİYEL VE  
ANTİPARAZİTER İLAÇLAR İLE  
KOMBİNASYONUNUN BAKTERİ VE  
PARAZİTLERE KARŞI AKTİVİTESİNİN  
ARAŞTIRILMASI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**FERİDE ÇETİN**

**Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı**

**Bilim Alan Kodu: 1039.09**



**BALIKESİR**

**2026**

T.C.

**BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**NİSİNİN ANTİBAKTERİYEL VE ANTİPARAZİTER İLAÇLAR İLE**  
**KOMBİNASYONUNUN BAKTERİ VE PARAZİTLERE KARŞI**  
**AKTİVİTESİNİN ARAŞTIRILMASI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**FERİDE ÇETİN**

**TEZ DANIŞMANI**

**DR. ÖĞR. ÜYESİ YENER ÖZEL**

**TIBBİ MİKROBİYOLOJİ ANABİLİMDALI**

**Bilim Alan Kodu: 1039.09**

**Proje No: 2024/015-Balıkesir Üniversitesi BAP**

**BALIKESİR-2026**



T.C.  
**BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



**TEZ KABUL VE ONAY**

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı  
çerçevesinde **Feride ÇETİN** tarafından yürütülmüş ve tamamlanmış olan

**“Nisinin Antibakteriyel ve Antiparaziter İlaçlar ile Kombinasyonunun Bakteri ve  
Parazitlere Karşı Aktivitesinin Araştırılması”**

başlıklı tez çalışması,  
Balıkesir Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin  
ilgili maddeleri uyarınca aşağıdaki jüri tarafından  
**YÜKSEK LİSANS TEZİ**  
olarak kabul edilmiştir.

**Tez Savunma Tarihi: 06 / 05 / 2026**

**TEZ SINAV JÜRİSİ**

Prof. Dr. Aslı Gamze ŞENER  
Balıkesir Üniversitesi  
**(Başkan)**

Dr. Öğr. Üyesi Yener ÖZEL  
Balıkesir Üniversitesi  
Üye **(Danışman)**

Prof. Dr. Ahmet ÖZBİLGİN  
Manisa Celal Bayar Üniversitesi  
Üye

Yukarıdaki Doktora/Yüksek Lisans Tezi,  
sınav jüri üyeleri tarafından imzalanarak 22 / 05 / 2026 tarihinde teslim edilmiştir.

Prof. Dr. Şükrü Metin PANCARCI  
Enstitü Müdürü

## BEYAN

Balıkesir Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde ve ortaya çıkan sonuçlarda herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıpları kabullendiğimi **beyan ederim.**

**06 / 05 / 2026**

**Feride ÇETİN**

## TEŐEKKÜR

Tez çalıŐmam boyunca desteğini esirgemeyen danışman hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi Yener ÖZEL'e, bu araŐtırmaya sağladığı desteklerden dolayı Balıkesir Üniversitesi Bilimsel Araştırma Koordinatörlüęüne, tez dönemim boyunca bana destek olan Balıkesir Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarında bulunan çalışma arkadaşlarıma teŐekkürlerimi sunarım.

YaŐamım boyunca varlıklarını yanımda hissettiğim, yüksek lisans çalıŐmam boyunca yaŐadıęım tüm zorluklara rağmen bana hayallerimi unutturmayan ve sevgilerini hiç esirgemeyen sevgili aileme teŐekkürü borç bilirim.

## İÇİNDEKİLER

<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	i
<b>ÖZET</b> .....	iii
<b>ABSTRACT</b> .....	v
<b>SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ</b> .....	vii
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....	viii
<b>TABLolar DİZİNİ</b> .....	ix
<b>1. GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....	<b>3</b>
<b>2.1. Bakteriyosinler</b> .....	4
<b>2.2. Bakteriyosinlerin Sınıflandırılması</b> .....	<b>6</b>
<b>2.2.1. Grup I Bakteriyosinler</b> .....	8
<b>2.2.2. Grup II Bakteriyosinler</b> .....	10
<b>2.2.3. Grup III Bakteriyosinler</b> .....	12
<b>2.2.4. Grup IV Bakteriyosinler</b> .....	12
<b>2.3. Bakteriyosinlerin Etki Mekanizmaları</b> .....	13
<b>2.4. Bakteriyosinlerin Biyosentezi</b> .....	16
<b>2.5. Bakteriyosinlerin Özellikleri</b> .....	18
<b>2.6. Bakteriyosinlerin Kullanım Alanları</b> .....	20
<b>2.7. Bakteriyosinlerin Antimikrobiyal Aktivite Çalışmaları</b> .....	24
<b>2.8. Direnç Gelişimi ve Bakteriyosinler</b> .....	26
<b>2.9. Bakteriyosin ve Antimikrobiyal İlaç Kombinasyonları</b> .....	27
<b>2.9.1. Antibiyotiklerle Kombinasyon ve Sinerji Çalışmaları</b> .....	27
<b>3. GEREÇ VE YÖNTEMLER</b> .....	<b>30</b>
<b>3.1. Materyaller</b> .....	30
<b>3.1.1 Kullanılan Cihazlar</b> .....	30
<b>3.1.2. Kullanılan Mikroorganizmalar</b> .....	31
<b>3.1.3. Kullanılan Etken Maddeler</b> .....	31
<b>3.1.4. Besiyerlerinin Hazırlanması</b> .....	32
<b>3.2. Yöntemler</b> .....	34
<b>3.2.1. Bakteri ve Parazit Kökenlerinin Canlandırılması</b> .....	34

3.2.2. Nisin, Antibiyotik ve Antiparaziter Etken Madde Solüsyonlarının Stok Çözeltilerinin Hazırlanması.....	35
3.2.3. Antimikrobiyal Aktivitenin Belirlenmesi .....	36
3.2.4. Dama Tahtası (Checkerboard) Yöntemi ile Etkileşimlerin Belirlenmesi .....	39
3.2.5. İstatistiksel Analiz .....	41
4. BULGULAR .....	42
4.1. Antibakteriyel Aktivite Sonuçları .....	42
4.2. Nisinin Antibakteriyel Etkinliği .....	42
4.3. Antiparaziter Aktivite Sonuçları.....	45
4.4. Dama Tahtası (Checkerboard) Yöntemi Sonuçları .....	47
4.4.1 Antibakteriyel Kombinasyon Sonuçları .....	47
4.4.2 Antiparaziter Kombinasyon Sonuçları.....	50
5. TARTIŞMA .....	52
6. SONUÇ VE ÖNERİLER .....	59
KAYNAKLAR.....	62
ÖZGEÇMİŞ.....	69

## ÖZET

### NİSİNİN ANTİBAKTERİYEL VE ANTİPARAZİTER İLAÇLAR İLE KOMBİNASYONUNUN BAKTERİ VE PARAZİTLERE KARŞI AKTİVİTESİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Bu çalışmada, nisin A'nın tek başına ve farklı antibakteriyel ve antiparaziter ilaçlar ile kombinasyon halinde çeşitli bakteri ve parazitler üzerindeki antimikrobiyal ve antiparaziter etkinliği araştırıldı. Çalışma kapsamında *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecium*, *Acinetobacter baumannii* ve *Klebsiella pneumoniae* klinik bakteri kökenleri ile *Leishmania tropica* ve *Trichomonas vaginalis* parazitleri araştırıldı.

Nisinin ve seçilen antimikrobiyal ajanların minimum inhibitör konsantrasyonları (MİK/IC<sub>50</sub>) mikrodilüsyon yöntemi ile belirlendi; kombinasyon çalışmaları ise checkerboard yöntemi kullanılarak gerçekleştirildi ve sonuçlar Fraksiyonel İnhibitör Konsantrasyon İndeksi (FİKİ) üzerinden değerlendirildi.

Elde edilen sonuçlara göre, nisin–tigesiklin kombinasyonu özellikle *Enterococcus faecalis* ve bazı *Pseudomonas aeruginosa* klinik kökenlerinde sinerjik etki gösterdi. *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* kökenlerinde çoğunlukla kısmi sinerji, *Staphylococcus aureus* kökenlerinde ise sınırlı düzeyde etkileşim gözlemlendi. Buna karşın *Acinetobacter baumannii* ve *Enterococcus faecium* kökenlerinde belirgin bir sinerji saptanmadı. Nisin–gentamisin kombinasyonu ise test edilen kökenlerin büyük çoğunluğunda sinerjik etki göstermedi, yalnızca bazı *Pseudomonas aeruginosa* kökenlerinde sinerjik etkileşim ve *Klebsiella pneumoniae* kökenlerinde ise kısmi sinerjik etkileşim belirlendi.

*Leishmania tropica* üzerinde gerçekleştirilen çalışmalarda herhangi bir etki gözlenmedi. Buna karşın, *Trichomonas vaginalis* üzerinde yapılan değerlendirmelerde nisin ve metronidazolün tek başına etkinliklerinin zamana bağlı olarak arttığı ve 48 saatlik inkübasyon süresinde IC<sub>50</sub> ile MPK değerlerinin anlamlı şekilde düştüğü

belirlendi. Ayrıca, *T. vaginalis* suşuna karşı nisin ve metronidazol kombinasyonunda sinerjik etkileşim gözlemlendi.

Sonuç olarak, elde edilen veriler nisinin bazı antibiyotiklerle kombinasyon halinde belirli mikroorganizmalara karşı antibakteriyel etkinliği artırılabilirliğini, ancak bu etkinin mikroorganizma türüne ve kullanılan antibiyotiğe bağlı olarak değişkenlik gösterdiğini ortaya koymuştur. Nisin, özellikle çoklu ilaç direncinin sorun oluşturduğu patojenlerde destekleyici bir ajan olarak potansiyel taşımakla birlikte, her kombinasyon için geliştirilebilir bir sinerjik etki göstermemektedir. Bu nedenle, nisin temelli kombinasyonların klinik uygulamaya geçmeden önce mikroorganizma ve ilaç bazında ayrıntılı olarak değerlendirilmesi gerekmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** *Antimikrobiyal, antiparaziter. bakteriyosin, sinerji*

## ABSTRACT

### EVALUATION OF THE ACTIVITY OF NISIN IN COMBINATION WITH ANTIBACTERIAL AND ANTIPARASITIC AGENTS AGAINST BACTERIA AND PARASITES

In this study, the antimicrobial and antiparasitic activities of nisin A, both alone and in combination with various antibacterial and antiparasitic agents, were investigated against different bacterial and parasitic species. Within the scope of the study, clinical bacterial isolates of *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecium*, *Acinetobacter baumannii* and *Klebsiella pneumoniae* as well as the parasites *Leishmania tropica* and *Trichomonas vaginalis*, were examined.

The minimum inhibitory concentrations (MIC/IC<sub>50</sub>) of nisin and the selected antimicrobial agents were determined using the broth microdilution method. Combination studies were performed using the checkerboard assay, and the results were evaluated based on the Fractional Inhibitory Concentration Index (FICI).

According to the results, the nisin–tigecycline combination exhibited synergistic activity, particularly against *Enterococcus faecalis* and some *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates. Partial synergistic effects were mostly observed in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates, whereas limited interaction was detected in *Staphylococcus aureus* isolates. In contrast, no significant synergy was observed in *Acinetobacter baumannii* and *Enterococcus faecium* isolates. The nisin–gentamicin combination did not demonstrate synergistic activity in the majority of the tested isolates; however, synergistic interactions were identified in some *Pseudomonas aeruginosa* isolates, and partial synergy was observed in *Klebsiella pneumoniae* isolates.

In studies conducted on *Leishmania tropica*, no observable effect was detected. In contrast, evaluations performed on *Trichomonas vaginalis* demonstrated that the individual activities of nisin and metronidazole increased in a time-dependent manner, with IC<sub>50</sub> and MPK values decreasing significantly after 48 hours of incubation. Moreover, a synergistic interaction was observed for the combination of nisin and metronidazole against the *T.*

*vaginalis* strain.

In conclusion, the findings indicate that the antibacterial activity of nisin can be enhanced against certain microorganisms when used in combination with specific antibiotics; however, this effect varies depending on the microorganism and the antibiotic employed. Although nisin holds potential as an adjunctive agent, particularly against pathogens where multidrug resistance poses a significant challenge, it does not exhibit a universally generalizable synergistic effect across all combinations. Therefore, nisin-based combinations should be thoroughly evaluated on a microorganism- and drug-specific basis before being translated into clinical practice.

**Key Words:** *Antimicrobial, Antiparasitic, bacteriocin, synergy*

## SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ

ABD	Amerika Birleşik Devletleri
AMP	Antimikrobiyal peptit
AMR	Antimikrobiyal direnç
ATCC	American Type Culture Collection
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
ÇİD	Çoklu ilaca dirençli
CLSI	The Clinical and Laboratory Standards Institute
DMSO	Dimetil sülfoksit
DNA	Deoksiriboz nükleik asit
DS	Distile su
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
EUCAST	European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
FDA	Food and Drug Administration
FİKİ	Fraksiyonel İnhibisyon Konsantrasyon İndeksi
LAB	Laktik asit bakterileri
MBK	Minimum Bakterisidal Konsantrasyon
MDR	Multiple Drug Resistance
MHB	Mueller Hinton Broth
MİK	Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu
MPK	Minimum Parazitisit Konsantrasyon
mL	Mililitre
µg	Mikrogram
WHO	World Health Organization

## ŞEKİLLER DİZİNİ

	<b>Sayfa No</b>
Şekil 2.1. Lantibiyotik grubu bakteriyosinlerin kimyasal yapısı.....	9
Şekil 2.2. Barrel-Stack Mekanizması .....	14
Şekil 2.3. Bakteriyosinlerin “Wedge modeli” ile hücre membranında por oluşturmaları.....	15
Şekil 2.4. Bakteriyosinlerin Lipit II modeli ile hücre membranında por oluşturmaları.....	16
Şekil 2.5. Bakteriyosin biyosentezi .....	18
Şekil 2.6. Nisin aminoasit sırası .....	24
Şekil 3.1. % Canlılık formülü .....	38
Şekil 4.1. Nisinin 24 ve 48. saatlerdeki antitrikomoniyal etkinliğini gösteren IC <sub>50</sub> değerleri.....	47
Şekil 4.2. Metronidazolün 24 ve 48. saatlerdeki antitrikomoniyal etkinliğini gösteren IC <sub>50</sub> değerleri.....	47

## TABLULAR DİZİNİ

	Sayfa No
<b>Tablo 2.1.</b> Bakteriyosinlerin genel özellikleri.....	19
<b>Tablo 3.1.</b> Çalışmada kullanılan cihaz bilgileri .....	30
<b>Tablo 3.2.</b> Çalışmada kullanılan klinik bakteriyel izolatlar .....	31
<b>Tablo 3.3.</b> Çalışmada kullanılan referans bakteri suşları .....	31
<b>Tablo 3.4.</b> Çalışmada kullanılan referans parazit suşları .....	31
<b>Tablo 3.5.</b> Çalışmada kullanılan antimikrobiyal ilaçlar .....	32
<b>Tablo 3.6.</b> Çalışmada kullanılan antimikrobiyal ilaçlar .....	36
<b>Tablo 3.7.</b> FİKİ değerlendirme tablosu.....	40
<b>Tablo 4.1.</b> Antibiyotiklerin Gram (+) klinik kökenler üzerindeki MİK değerleri.....	43
<b>Tablo 4.2.</b> Antibiyotiklerin Gram (-) klinik kökenler üzerindeki MİK değerleri.....	44
<b>Tablo 4.3.</b> Nisinin klinik bakteri kökenleri üzerindeki MİK değerleri .....	44
<b>Tablo 4.3. (devam)</b> .....	45
<b>Tablo 4.4.</b> Nisinin <i>L. tropica</i> REF1 suşuna karşı IC <sub>50</sub> ve MPK değerleri .....	46
<b>Tablo 4.5.</b> Nisinin <i>T. vaginalis</i> ATCC 50143 suşuna karşı IC <sub>50</sub> ve MPK değerleri .....	46
<b>Tablo 4.6.</b> Gram pozitif bakteri kökenlerine karşı kombinasyon sonuçları .....	49
<b>Tablo 4.7.</b> Gram negatif bakteri kökenlerine karşı kombinasyon sonuçları .....	50
<b>Tablo 4.8.</b> <i>L. tropica</i> ve <i>T. vaginalis</i> parazitlerine karşı kombinasyon sonuçları .....	51

## 1. GİRİŞ

Antimikrobiyal ajanlara karşı gelişen direnç, günümüzde hem bakteriyel hem de paraziter enfeksiyonların tedavisini ciddi şekilde güçleştiren ve küresel ölçekte hızla büyüyen bir halk sağlığı sorunu haline gelmiştir. Özellikle çoklu ilaca dirençli (Multiple Drug Resistance, MDR) bakteriler ile ilaç dirençli parazitlerin neden olduğu enfeksiyonlar, tedavi seçeneklerini sınırlayarak mortalite ve morbidite oranlarını artırmakta; bu durum toplumsal ve ekonomik ölçüde ülkeleri etkilemektedir. Enfeksiyon etkenlerinin antibiyotik ve antiparaziter ilaçlara karşı artan direnç geliştirmesi, çoğu zaman akılcı antimikrobiyal kullanım politikalarının ve sürveyans çalışmalarının yetersizliği ile daha da ağırlaşmaktadır. Bu tablo, klasik tedavi yaklaşımlarına ek ya da alternatif oluşturabilecek yeni antimikrobiyal ajanların araştırılmasını zorunlu kılmaktadır.

Bu gereklilik doğrultusunda, doğal kaynaklı biyoaktif bileşiklerin antimikrobiyal potansiyelleri giderek daha fazla araştırılmaktadır. Bitkisel bileşikler, peptitler ve mikrobiyal kökenli doğal ürünler; geniş etki alanları ve direnç gelişimini diğer ajanlara kıyasla daha yavaş indüklemeleri nedeniyle bilimsel açıdan dikkat çekmektedir. Bu bileşikler arasında özellikle mikrobiyal kökenli antimikrobiyal peptitler, hedef hücre membranında oluşturdukları bozulma yoluyla güçlü bir bakterisidal etki göstermekte ve düşük toksisite ile terapötik kullanım açısından avantaj sunmaktadır. Bu özellikleri, söz konusu peptitleri hem tek başına hem de konvansiyonel ilaçlarla kombinasyon hâlinde kullanılacak güçlü adaylar hâline getirmektedir. Mikrobiyal kökenli antimikrobiyal peptitler arasında yer alan bakteriyosinler, özellikle nisin, geniş spektrumlu aktiviteleri ve düşük toksisite düzeyleri sayesinde değer kazanmıştır. *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Acinetobacter baumannii*, *Enterococcus faecium*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae* klinik açıdan önemli bakteriyel patojenlerin yanı sıra *Leishmania tropica* ve *Trichomonas*

*vaginalis* gibi paraziter etkenlerde artan direnç oranları, hem dünya genelinde hem de ülkemizde giderek daha ciddi bir sağlık problemi oluşturmaktadır. Bu direnç artışı, kullanılan antibiyotik ve antiparaziter ajanların etkinliğini azaltmakta ve tedavi süreçlerini daha karmaşık hâle getirmektedir. Bu nedenle, bakteriyosinlerin konvansiyonel antibiyotik ve antiparaziter ajanlarla birlikte kullanımının sağlayabileceği olası sinerjik etkilerin araştırılması, yeni tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesi açısından büyük önem taşımaktadır. Nitekim yapılan çalışmalarda, bakteriyosin–antibiyotik kombinasyonlarının antimikrobiyal aktiviteyi artırabileceği ve dirençli suşlara karşı yeni tedavi stratejileri sunabileceği bildirilmektedir (Naghmouchi ve ark., 2013; Mathur ve ark., 2017; Soltani ve ark., 2022; Kiouisi ve ark., 2023).

Tüm bu bulgular ışığında, artan ilaç direncine karşı yeni ve etkili yaklaşımların geliştirilmesi bir gereklilik haline gelmiştir. Bu çalışma, söz konusu gereklilikten yola çıkarak, seçilmiş bakteriyosin–antibiyotik ve bakteriyosin–antiparaziter kombinasyonlarının antimikrobiyal ve potansiyel sitotoksik etkilerini değerlendirmeyi amaçlamaktadır. Böylece, dirençli bakteriyel ve paraziter enfeksiyonların tedavisinde kullanılacak yeni kombinasyon stratejilerine bilimsel temel oluşturulması hedeflenmektedir.

## 2. GENEL BİLGİLER

Enfeksiyon hastalıkları, modern tıpta önemli ilerlemeler kaydedilmiş olmasına rağmen, küresel düzeyde morbidite ve mortalitenin başlıca nedenleri arasında yer almaya devam etmektedir. Antimikrobiyal ilaçların keşfi 20. yüzyılda enfeksiyonlarla mücadelede devrim niteliğinde bir gelişme sağlamış olsa da, mikroorganizmaların bu ajanlara karşı geliştirdiği direnç, terapötik başarıyı tehdit eden ciddi bir sorun hâline gelmiştir. Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization, WHO) antimikrobiyal direnci, insan sağlığı, hayvan sağlığı, gıda güvenliği ve çevre sağlığını etkileyen çok boyutlu bir tehdit olarak tanımlamakta ve küresel ölçekte koordineli mücadele gerektiren bir kriz olarak değerlendirmektedir. Bu çerçevede, antimikrobiyal direncin biyolojik kökenleri, yayılım dinamikleri ve mevcut tedavi yöntemlerini etkisiz kılma potansiyeli, alternatif antimikrobiyal stratejilere duyulan ihtiyacı her geçen gün artırmaktadır (Cotter ve ark., 2013; Cavera ve ark., 2015).

Mikroorganizmaların antimikrobiyal ajanlara karşı geliştirdiği direnç, son yıllarda hızla artarak 21. yüzyılda ciddi sağlık sorunlarından biri olmuştur. Antibiyotiklerin yaygın ve çoğu zaman uygunsuz kullanımı, çoklu ilaca dirençli (Multiple Drug Resistance, MDR) mikroorganizmaların ortaya çıkmasına ve bu suşların hızla yayılmasına zemin hazırlamaktadır. MDR mikroorganizmaların neden olduğu enfeksiyonlar, mevcut tedavi seçeneklerini ciddi şekilde kısıtlamakta; tedavi sürelerinin uzaması, mortalite ve morbidite oranlarının artması, sağlık maliyetlerinde belirgin yükseliş gibi sonuçlara yol açmaktadır (WHO).

Direnç gelişiminin bu denli hızlı ilerlemesinde, akılcı antibiyotik kullanımını yönlendiren sürveyans sistemlerinin yetersizliği önemli bir rol oynamaktadır. Etkin bir sürveyans altyapısının olmaması, dirençli suşların geç tespit edilmesine, uygun tedavi stratejilerinin belirlenmemesine ve

dirençli patojenlerin kontrolsüz şekilde yayılmasına yol açmaktadır. Dolayısıyla, hem tedavi etkinliğini artırabilecek hem de direnç gelişimini yavaşlatabilecek yeni antimikrobiyal ajanların geliştirilmesi büyük önem taşımaktadır. Bu nedenle, alternatif yaklaşımlar içerisinde doğal kökenli biyoaktif bileşiklere yönelik ilgi giderek artmaktadır. Bu bileşikler arasında, mikrobiyal kaynaklı antimikrobiyal peptitler olan bakteriyosinler özellikle dikkat çekmektedir. Genellikle ribozomal yolla sentezlenen ve diğer mikroorganizmalar üzerinde güçlü inhibitör etki gösteren bu peptitler; geniş spektrumlu aktiviteleri, hedef hücre membranında hızlı ve etkili yıkıma neden olmaları ve düşük toksisite düzeyleriyle terapötik açıdan önemli bir potansiyel sunmaktadır (Cotter ve ark., 2012; Cavera ve ark., 2015; Darbandi ve ark., 2022).

Nisin, pediocin ve benzeri bakteriyosinler üzerine yapılan çalışmalar, bu bileşiklerin hem gıda güvenliğinde hem de klinik uygulamalarda kullanılabilirliğini desteklemektedir (De Vuyst ve ark., 2007; Darbandi ve ark., 2022). Dirençli bakterilere karşı etkinlik göstermeleri ve konvansiyonel antibiyotiklerle birlikte kullanıldıklarında sinerjik etki oluşturabilmeleri, bakteriyosinleri gelecekteki antimikrobiyal stratejilerin geliştirilmesinde güçlü adaylar hâline getirmektedir (Field ve ark., 2008; Dosler ve ark., 2011; Mathur ve ark., 2018; Sharafi ve ark., 2024).

## **2.1. Bakteriyosinler**

Bakteriyosinler, çeşitli bakteriler tarafından ribozomal olarak sentezlenen, protein veya peptit yapısında antimikrobiyal bileşiklerdir. İlk olarak Jacob ve arkadaşları tarafından “kolisin benzeri türler arası antagonistik proteinler” olarak tanımlanan bakteriyosinler, zamanla farklı bakteri türlerinde benzer yapıda antimikrobiyal moleküllerin keşfedilmesiyle daha geniş bir kavram hâline almıştır (Klaenhammer, 1988; Eckner, 1992). Bakteriyosinler genellikle üretici suşa yakın türler üzerinde etkili olmalarıyla antibiyotiklerden ayrılmakta; yüksek özgüllükleri, çevresel koşullara dirençleri ve ribozomal sentez mekanizmaları ile dikkat çekmektedir (Hryniewicz ve ark., 1976; Klaenhammer, 1993).

Bakteriyosinler çoğunlukla stres koşullarında sentezlenen spesifik toksinlerdir ve üretici suş dışındaki duyarlı bakterilerin eliminasyonunda önemli rol oynarlar. Bu moleküller, hedef hücrede membran bütünlüğünü bozarak, por oluşturarak veya hücre metabolizmasını inhibe ederek etkilerini gösterirler (Pugsley, 1984; Pankey ve ark., 2004). Sahip oldukları bu yüksek özgüllük, üretici bakteriye genetik olarak kodlanan bağışıklık mekanizması sayesinde zarar vermemelerini sağlar. Bakteriyosin üretimi sıklıkla plazmid DNA tarafından kodlanmakta olup, bu özellik üretici suşun ekolojik rekabette avantaj elde etmesine katkıda bulunmaktadır.

Bakteriyosinlerin tanımlanmasına yönelik ilk çalışmalar 1925'te *Escherichia coli* tarafından sentezlenen kolisinin keşfiyle başlamış; ilerleyen yıllarda farklı bakteri gruplarında yüzlerce bakteriyosin tespit edilmiştir (Bactibase). *Pediococcus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Staphylococcus* gibi birçok mikroorganizmanın bakteriyosin ürettiği gösterilmiştir. Klaenhammer, bakteri türlerinin yaklaşık %99'unun en az bir bakteriyosin üretebildiğini, ancak pek çok bakteriyosinin hâlen izole edilemediğini belirtmiştir (Arthur ve ark., 2014; Ahmad ve ark., 2017).

Tarihsel olarak bakıldığında, bakteriyosinlerin insanlar tarafından binlerce yıldır fermente gıdalarda dolaylı olarak kullanıldığı bilinmektedir. Ancak bakteriyosinlerin "gıda biyokoruyucusu" olarak resmî kabulü 1951 yılında gerçekleşmiştir. 1928–1947 yılları arasında çeşitli bakteriyosinler keşfedilmiş; bunlar arasında en önemlileri nisin ve onun 12 amino asitlik dizilim farkı bulunan analogu subtilindir. Nisin, 1953 yılında ticari olarak piyasaya sunulmuş ve 1983'ten itibaren kırktan fazla ülkede yasal olarak gıda koruyucusu olarak kullanıma onaylanmıştır (Joo ve ark., 2012). Günümüzde GRAS (Generally Recognized As Safe) statüsü alan tek bakteriyosin nisin olup FDA tarafından güvenli kabul edilmektedir (Klaenhammer, 1993; Eckner, 1992).

Bakteriyosinler çoğunlukla 30–60 amino asit içeren katyonik ve termostabil peptitlerdir (Field ve ark., 2015). Bu özellikler, bakteriyosinlerin gıda işleme koşullarında stabil kalmasını sağlamaktadır. Protein yapıda

olmaları nedeniyle gastrointestinal sistemde proteazlar tarafından aminoasitlere parçalanabilmeleri, antibiyotiklerden farklı olarak vücutta aktif bileşik olarak absorbe edilmemelerini sağlar. Bu durum, bakteriyosinlerin güvenli kullanım potansiyelini artırır.

Gıda sektöründe bakteriyosinlerin önemli avantajları bulunmaktadır. Uygun koşullarda gıdalara doğrudan eklenebilmeleri, bakteriyosin üreten starter veya koruyucu kültürlerin inokülasyonu ile kullanılabilmesi veya aktif ambalaj materyallerine entegre edilmeleri mümkündür. Özellikle konserve endüstrisinde, domates konserveleri gibi düşük pH'a sahip ısıya duyarlı ürünlerde sporlu bakterilere karşı etkin koruma sağlayabilmektedirler. Bakteriyosinler, Gram pozitif gıda patojenlerini inhibe ederek bozulmayı azaltmakta, fermantasyon süreçlerini kontrol etmekte ve raf ömrünü uzatmaktadır (Chen ve ark., 2003). Bununla birlikte bakteriyosinlerin çoğu Gram negatif bakterilere, maya ve küflere karşı etkili değildir. Bazı bakteriyosinlere karşı dirençli varyant hücrelerin gelişebilmesi nedeniyle antibakteriyel spektrumun genişletilmesi amacıyla birden fazla bakteriyosinin kombine kullanımı önerilmektedir (Ahmad ve ark., 2017).

Sonuç olarak, bakteriyosinler güvenilirlikleri, özgün spektrumları, proteolitik olarak parçalanabilmeleri ve çeşitli uygulama şekillerine uygunlukları nedeniyle hem gıda endüstrisinde hem de potansiyel terapötik alanlarda önemli biyokoruyucu ajanlar olarak değerlendirilmektedir. Bu özellikleri, bakteriyosinleri kimyasal koruyuculara ve antibiyotiklere alternatif olabilecek umut verici biyoaktif bileşikler hâline getirmektedir.

## **2.2. Bakteriyosinlerin Sınıflandırılması**

Bakteriyosinlerin yapısal çeşitliliği, biyolojik aktivite mekanizmaları ve üretici suşlara özgü farklılıkları, bu antimikrobiyal peptitlerin ayrıntılı biçimde sınıflandırılmasını gerekli kılmaktadır. Bakteriyosinlerin etki güçleri, stabiliteyi, hedef mikroorganizmalara bağlı özgüllükleri ve translasyon sonrası modifikasyon düzeyleri, bu moleküller arasındaki önemli ayrımları ortaya koymaktadır. Bu nedenle bakteriyosinlerin kimyasal yapılarına,

moleküler büyüklüklerine ve biyolojik işlevlerine göre yapılan sınıflandırmalar, hem bu bileşiklerin anlaşılması hem de gıda teknolojisi ve terapötik uygulamalarda etkin şekilde kullanılmaları açısından büyük önem taşımaktadır. Aşağıda bakteriyosinlerin bilimsel olarak kabul gören temel sınıflandırmaları özetlenmektedir.

Gram pozitif bakteriler tarafından üretilen bakterisidal proteinler, yapılarında bulunan modifiye amino asitlere göre temel olarak iki ana grupta incelenmektedir. Bu gruplar, translasyon sonrası modifikasyonlar sonucu oluşan özgün amino asit yapıları içeren lantibiyotikler ile bu modifiye amino asitleri taşımayan nonlantibiyotikler (nonlanthionine bakteriyosinler) olarak tanımlanmaktadır.

Lantibiyotikler, yapılarında translasyon sonrası modifikasyonla oluşan lanthionine (Ala-S-Ala) ve methyllanthionine (Abu-S-Ala) gibi tiyol içeren halkalı amino asitlerin yanı sıra dehidroalanin (Dha) ve dehidrobutirik asit (Dhb) gibi dehidre formdaki amino asitleri barındırır. Bu modifiye amino asitler, lantibiyotiklerin biyolojik aktivitesinde ve stabilitesinde önemli rol oynamaktadır. Lantibiyotiklerin en bilinen örneği nisindir.

Buna karşılık nonlantibiyotik bakteriyosinler, bu sıra dışı amino asit modifikasyonlarını içermeyen, genellikle küçük ve ısıya dayanıklı peptitlerdir. Bu gruba örnek olarak pediocin AcH/PA-1, lactococcin A, lactococcin B ve sakacin A verilebilir. Yapısal farklılıklara rağmen, lanthionine içeriğinin bakteriyosinlerin antimikrobiyal spektrumları ile doğrudan ilişkili olmadığı, yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur (Jack ve ark., 1995; Twomey ve ark., 2002).

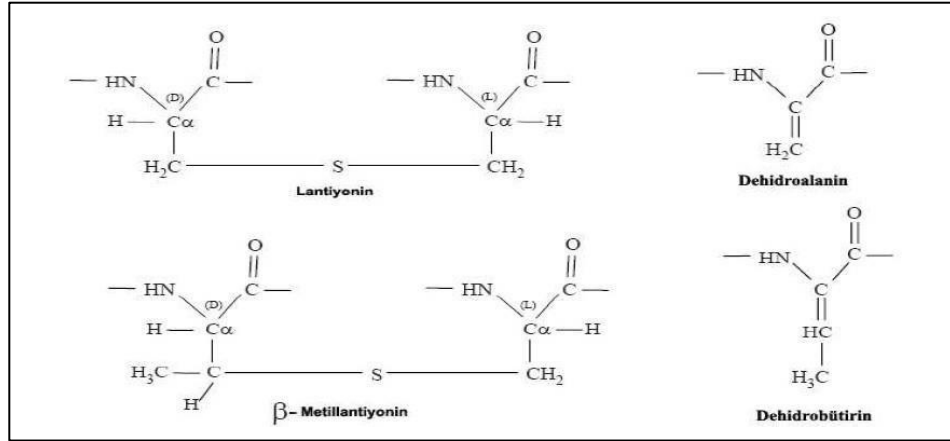
Bakteriyosinler için literatürde çeşitli sınıflandırmalar yapılmış olmakla birlikte, özellikle Gram pozitif bakterilerin ürettiği bakteriyosinleri temel alan Klaenhammer sınıflandırması en yaygın kullanılan sistemdir. Biyokimyasal özellikler esas alınarak yapılan bu sınıflandırmada bakteriyosinler genel olarak dört grupta toplanmaktadır. Sınıflandırmada dikkate alınan kriterler:

- Molekül büyüklüğü
- Kimyasal yapı özellikleri
- Etki mekanizmaları
- Isı stabilitesi olup, biyokimyasal tanımlama açısından özellikle ilk üç sınıfın daha fazla önem taşıdığı belirtilmektedir (Chen ve ark., 2003).

### 2.2.1. Grup I Bakteriyosinler

Bu grupta yer alan bakteriyosinler, yapılarında karakteristik olarak lanthionine (Lan) ve methyllanthionine (MeLan) içermeleri nedeniyle lantibiyotikler olarak adlandırılmaktadır. Lantibiyotikler, bilinen protein yapı taşlarından farklı olarak translasyon sonrası modifikasyonlarla oluşan bu özgün aminoasit türevlerini içermeleriyle dikkat çekerler (bkz. Şekil 2.1.). Genellikle <5 kDa moleküler ağırlığa sahip, membran-aktif peptitlerdir ve yüksek biyolojik etkinlikleri büyük ölçüde bu özel aminoasit modifikasyonlarına bağlanmaktadır. Ayrıca, lantibiyotiklerin yapısında dehidroalanin (Dha) ve dehidrobutyrine (Dhb) gibi dehidre aminoasit kalıntıları da bulunmakta olup (bkz. Şekil 2.1.), bu bileşikler peptitin kimyasal stabilitesi ve antimikrobiyal etkinliği üzerinde önemli rol oynamaktadır (Twomey ve ark., 2002).

Lantibiyotikler kimyasal yapıları ve antimikrobiyal aktiviteleri temel alınarak iki alt sınıfa ayrılmaktadır: Tip IA ve Tip IB lantibiyotikler. Bu sınıflandırma, peptitlerin yapısal organizasyonlarını, hedef mikroorganizmalara etki mekanizmalarını ve biyolojik işlevlerini tanımlamada önemli bir kriter olarak kullanılmaktadır.



Şekil 2.1. Lantibiyotik grubu bakteriyosinlerin kimyasal yapısı (Reunanen, 2007)

### Grup IA Bakteriyosinler

Bu grupta yer alan bakteriyosinler, net pozitif yüke sahip, hidrofobik özellik gösteren polipeptit yapısındaki moleküllerdir. Bu peptitler membran-aktif karakterdedir ve hedef bakterilerin sitoplazmik zarında gözenek (por) oluşturarak antimikrobiyal etkilerini ortaya çıkarırlar. Genellikle lineer ve esnek bir konformasyona sahip olan bu bakteriyosinlerin moleküler ağırlıkları 2–5 kDa arasında değişmektedir. *Lactococcus lactis subsp. lactis* tarafından sentezlenen nisin, bu grubun en iyi tanımlanmış üyesi olup lantibiyotiklerin karakteristik özelliklerini temsil etmektedir. Ayrıca *Staphylococcus gallinarum* tarafından üretilen laktisin 481 de bu gruba ait bir başka örnektir (Bactibase).

### Grup IB Bakteriyosinler

Bu gruptaki bakteriyosinler, yüksüz veya negatif yüklü, genellikle globüler yapıda olan peptitlerdir ve yaklaşık 2 kDa moleküler ağırlığa sahiptirler. Antimikrobiyal etkilerini, hedef hücrelerde belirli enzimatik süreçleri inhibe ederek göstermektedirler (Twomey ve ark., 2002). Bu sınıfa ait örnekler arasında mersacidin (*Bacillus* spp.), actagardine (Gardimycin, *Actinoplanes liguriae*) ve ancovenin (*Streptomyces* spp.) yer almakta olup, bu peptitlerin her biri kendine özgü yapısal özellikler ve inhibitör mekanizmalar sergilemektedir (Koponen, 2004).

## 2.2.2. Grup II Bakteriyosinler

Bu gruptaki bakteriyosinler, Grup I bakteriyosinlerinden farklı olarak lanthionine içermemeleri ile karakterizedir. Genellikle <10 kDa moleküler ağırlığa sahip olan bu peptitler, yüksek sıcaklıklarda dahi kayda değer ısı stabilitesi göstermektedir. Nitekim grubun bazı üyeleri, 100–121°C aralığındaki sıcaklıklarda bile yapısal bütünlüğünü koruyabilmektedir. Antimikrobiyal aktiviteleri temel olarak membran-aktif olmalarından kaynaklanmakta olup, hedef hücre zarında geçirgenlik bozuklukları ve membran potansiyelinde çöküşe neden olarak etkilerini gösterirler. Çok sayıda bakteriyosini kapsayan bu geniş grup, yapısal ve fonksiyonel özelliklerine göre üç alt sınıfa ayrılmaktadır.

### Grup IIA Bakteriyosinler

Bu alt gruptaki bakteriyosinler, özellikle *Listeria* türlerine karşı sergiledikleri güçlü ve seçici antimikrobiyal aktiviteleriyle tanınırlar. Bu bakteriyosinlerin belirleyici yapısal özelliklerinden biri, N-terminal bölgelerinde bulunan ve Class IIA bakteriyosinlerinin karakteristik motifini oluşturan Tyr–Gly–Asn–Gly–Val–Xaa–Cys (YGNGVXC) aminoasit dizisidir. Bu korunmuş motifin, hedef hücre yüzeyinde yer alan mannose fosfotransferaz sistemi (Man-PTS) gibi reseptörlere bağlanmada kritik rol oynadığı ve böylece peptidin membranda gözenek oluşturarak antimikrobiyal aktivite göstermesine katkıda bulunduğu bildirilmektedir (Chen ve ark., 2003). Bu sınıfa örnek olarak pediocin PA-1 (*Pediococcus acidilactici*), enterocin A (*Enterococcus faecium*), sakacin P (*Lactobacillus sakei*) ve leucocin A (Leucocin A-UAL 187, *Leuconostoc gelidum*) gibi bakteriyosinler verilebilir; bu peptitlerin tümü, söz konusu YGNGV motifini taşıyarak *Listeria monocytogenes* üzerine yüksek düzeyde inhibitör etki göstermektedir.

## Grup IIB Bakteriyosinler

Bu gruptaki bakteriyosinler, primer yapıları birbirinden farklı iki ayrı polipeptitten oluşmaktadır. Bu polipeptitler tek başlarına sınırlı düzeyde antimikrobiyal aktivite gösterebilseler de, optimal biyolojik etkinliğin ortaya çıkabilmesi için her iki peptidin de aynı anda aktif olması gerekmektedir. İki peptidin birlikte etkileşime girmesi sonucunda hedef hücre membranında gözenek (por) oluşumu indüklenmekte ve bu por oluşumu bakterisidal etkinliğin temel mekanizmasını oluşturmaktadır (Twomey ve ark., 2002).

Bu alt gruba ilişkin en bilinen örnekler arasında, *Lactococcus lactis* tarafından üretilen lactococcin G ve lactococcin Q, *Carnobacterium piscicola* kökenli carnobacteriocin XY, *Enterococcus faecium* tarafından sentezlenen enterocin L50A/B, ve *Pediococcus acidilactici* kaynaklı pediocin JD yer almaktadır. Bu bakteriyosinlerin her biri, çift-peptit yapıları sayesinde genişletilmiş membran hedefleme kapasitesine sahiptir ve çoğunlukla Gram pozitif patojenler üzerinde güçlü inhibitör aktivite göstermektedir.

## Grup IIC Bakteriyosinler

Bu gruptaki bakteriyosinler, genel yapısal ve fonksiyonel özellikleri bakımından Grup II bakteriyosinlerine benzer ancak Grup IIA ve IIB alt sınıflarına dahil edilmeyen diğer peptitleri kapsamaktadır. Bu peptitlerin önemli bir kısmı yapılarında sistein aminoasidi içerdiği için literatürde “thiolbiotic” veya “cystibiotic” olarak adlandırılır. Tiyo-aktif özellik gösteren bu bakteriyosinlerin antimikrobiyal aktiviteleri, sistein kalıntılarının indirgenmiş (serbest tiol) formda bulunmasına bağlıdır. Bu nedenle peptidin etkinliği, disülfid bağlarının oluşmaması ve tiol grubunun reaktif kalmasıyla ilişkilidir. Bu sınıfa Lactococcin B (*Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*), Lactococcin M (*Lactococcus lactis* MMFII), Leucocin C (*Leuconostoc mesenteroides*) ve Mesentericin Y105 (*Leuconostoc mesenteroides*) gibi bakteriyosinler örnek olarak verilebilir; söz konusu peptitlerin tümü serbest tiol gruplarına bağımlı aktivite göstermeleriyle karakterizedir.

### 2.2.3. Grup III Bakteriyosinler

Bu gruptaki bakteriyosinler, diğerk bakteriyosin sınıflarına kıyasla yüksek molekül ağırlığına sahip (>30 kDa) büyük peptid zincirlerinden oluşmakta ve yapısal olarak ısıya karşı daha duyarlı bir karakter sergilemektedirler (Riley ve ark., 2002). Bununla birlikte, bu gruba ait bakteriyosinlerin büyük bir kısmı henüz tam olarak karakterize edilememiş, dolayısıyla yapısal düzenleri, etki mekanizmaları ve hedef hücre özgüllükleri hakkında sınırlı bilgi bulunmaktadır. Literatürde bu gruba Helveticin J (*Lactobacillus helveticus*), lactocin A ve B (*Lactobacillus acidophilus*) ile enterolysin A (*Enterococcus faecalis*) gibi yüksek molekül ağırlıklı bakteriyosinler örnek olarak gösterilmektedir (Bactibase). Bu bakteriyosinlerin çoğu geniş spektrumlu antimikrobiyal etki potansiyeli taşısa da, biyokimyasal özellikleri ve mekanik işleyişleri üzerine çalışmalar halen devam etmektedir.

### 2.2.4. Grup IV Bakteriyosinler

Bu gruptaki bakteriyosinler, yapısal olarak kompleks makromoleküller olup, biyolojik aktivitelerinin ortaya çıkabilmesi için peptid bileşenine ek olarak belirli karbonhidrat veya lipid yapı taşlarının varlığına gereksinim duyarlar. Bu nedenle bu bakteriyosinlerin glikopeptid veya lipoprotein karakteri taşıdığı düşünülmektedir. Mevcut literatürde bu sınıfa ilişkin bilgiler oldukça sınırlıdır; söz konusu peptitlerin primer yapıları, olası post-translasyonel modifikasyonları, hedef hücre reseptörleriyle etkileşimleri ve antimikrobiyal spektrumları henüz ayrıntılı biçimde tanımlanamamıştır. Bu gruba aday olarak gösterilen bakteriyosinler arasında *Lactobacillus helveticus* tarafından üretilen yüksek molekül ağırlıklı helvetisin benzeri bakteriyosinler ile bazı *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* türlerinden izole edilen, karbonhidrat veya lipid bileşenleri içerdiği bildirilen kompleks antimikrobiyal peptitler bulunmaktadır. Ancak bu peptitlerin büyük bölümü henüz biyokimyasal olarak yeterince karakterize edilmemiştir. Bu nedenle, yapısal ve fonksiyonel özelliklerin net olarak ortaya konulabilmesi için

kapsamlı moleküler, biyofiziksel ve analitik çalışmalar yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır (Chen ve ark., 2003).

### 2.3. Bakteriyosinlerin Etki Mekanizmaları

Bakteriyosinler, üretici bakteriler tarafından sentezlenerek duyarlı mikroorganizmalar üzerinde inhibitör veya öldürücü etki oluşturan ribozomal protein kökenli antimikrobiyal peptitlerdir. Bu moleküllerin hedef hücreler üzerindeki etkileri genel olarak iki aşamalı bir biyolojik süreç kapsamında değerlendirilir. İlk aşamada bakteriyosinler, hedef bakterinin hücre duvarında yer alan spesifik veya spesifik olmayan reseptör bölgelerine bağlanırlar. Bu etkileşim geri dönüşümlü olup antimikrobiyal etkinin başlatıcı basamağını oluşturur. İkinci aşamada ise bakteriyosin, hedef hücrede geri dönüşü olmayan yapısal ve fizyolojik değişikliklere yol açarak hücre ölümünü tetikler. Bu aşamada hücrenin enerji dengesinin bozulması, membran bütünlüğünün kaybı, iyon geçirgenliğinin artması ve metabolik süreçlerin durması gibi etkiler ortaya çıkmaktadır.

Gram pozitif bakteriler tarafından sentezlenen birçok bakteriyosinde bu iki aşamalı mekanizma belirgin bir şekilde görülmekle birlikte Laktik Asit Bakterileri (LAB) tarafından üretilen bakteriyosinlerde bağlanma aşamasının daha çok spesifik olmayan nitelikte olduğu belirtilmektedir. LAB bakteriyosinlerinin, yalnızca duyarlı hücrelere değil aynı zamanda dayanıklı hücre yüzeylerine de bağlanabildiği gösterilmiştir. Bu durumun, bakteriyosinlerin yapısında yer alan hidrofobik karakterdeki aminoasit bölgelerinin, reseptör tanınmasını maskeleyerek bağlanmayı yüzey özelliklerine bağımlı hâle getirmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir (Riley ve ark., 2002). Dolayısıyla LAB bakteriyosinleri ile hedef hücre arasındaki ilk temasın, reseptör-spesifik tanıma mekanizmalarından ziyade hidrofobik ve elektrostatik fiziksel etkileşimlerle ilişkili olduğu kabul edilmektedir. Bakteriyosinlerin antimikrobiyal etkilerinin büyük bir bölümü, hedef hücrenin **sitoplazmik membranında por oluşturma** yeteneklerinden kaynaklanmaktadır. Bu por oluşumu hücre içinde iyon dengesizliği, ATP kaybı, proton motive kuvvetin çökmesi ve sonuç olarak hızlı hücre ölümüne

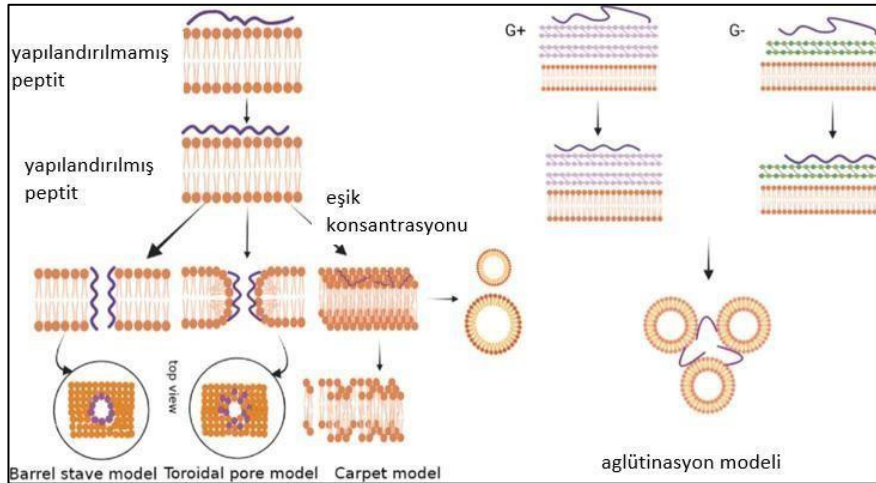
yol açar. Literatürde bakteriyosinlerin membranda por oluşturma süreçlerini açıklamak üzere üç temel model öne sürülmüştür:

1. Barrel-Stave Mekanizması,
2. Wedge Modeli,
3. Lipit II Modeli.

Bu modeller membran-peptit etkileşimlerinin yapısal düzeyde nasıl gerçekleştiğini, peptitlerin konumlanma biçimlerini ve por oluşumunun hangi adımlarla ilerlediğini açıklamaktadır.

### Barrel-Stave Mekanizması

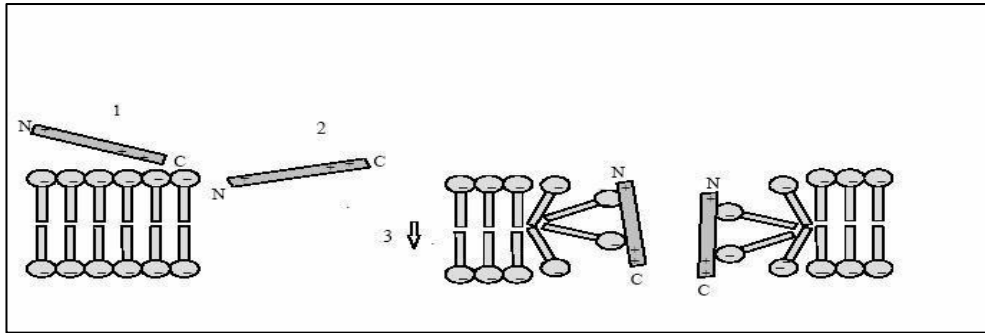
Bu modele göre bakteriyosinlerin por oluşturma süreci, peptidin **katyonik yüklü C-terminal bölgesinin membran fosfolipitlerinin anyonik baş gruplarıyla** elektrostatik etkileşime girmesiyle başlar. Membran potansiyelinin etkisiyle bakteriyosin membran içine yerleşir ve burada oligomerize olarak iyon geçirgen bir por oluşturur (bkz. Şekil 2.2.). Oligomer yapısında peptitlerin hidrofobik yüzeyleri membrana, hidrofilik yüzeyleri ise porun merkezine yönelmiştir. Bu yapı, klasik bir “fıçı çitası modeli” (Barrel-stave) dizilimi oluşturmaktadır (Koponen, 2004; Asutay, 2007; Wu ve ark., 2021). Ortaya çıkan bu iyon geçirgen por, hücrenin iyon homeostazını bozarak hızla ölümcül membran depolarizasyonuna neden olur.



Şekil 2.2. Barrel-Stave Mekanizması (Wu ve ark., 2021)

## Wedge Modeli

Wedge modeli, por oluşumunun membran lipit yapısında meydana gelen **asimetrik bozulmalar** yoluyla gerçekleştiğini öne sürer. Bu modele göre bakteriyosinin **katyonik yüklü C-terminal bölgesi membranın anyonik fosfolipit tabakasıyla** güçlü elektrostatik etkileşim kurarak membran yüzeyine sıkıca bağlanır. Peptidin membrana kısmi penetrasyonu sonucunda fosfolipit düzeni bozulur ve membranda kama şeklinde bir deformasyon oluşur. Bu deformasyon membranın iç kısımlarında bükülmelere ve gerilmelere neden olarak, zamanla por benzeri açıklıkların oluşumuna yol açar (bkz. Şekil 2.3.). Böylece membran geçirgenliği kontrolsüz şekilde artar ve hücre içi homeostaz bozulur (Koponen, 2004; Asutay, 2007).

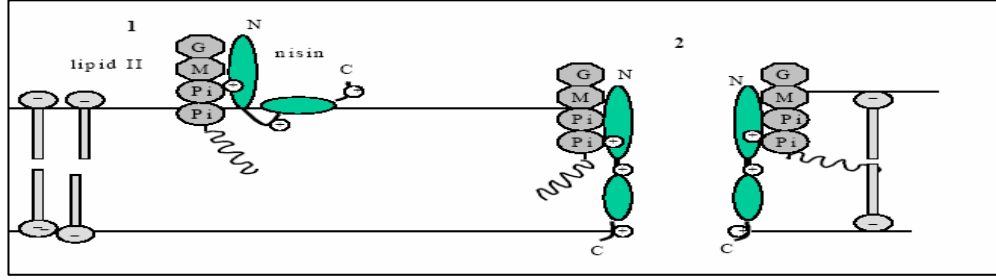


**Şekil 2.3.** Bakteriyosinlerin “Wedge modeli” ile hücre membranında por oluşturması  
(Koponen, 2004)

## Lipit II Modeli

Lipit II modeli, özellikle **lantibiyotiklerin** bakterisidal etkisini açıklamada önemli bir mekanizma olarak kabul edilmektedir. Bu modele göre bakteriyosinler, peptidoglikan sentezinde görevli temel bir prekürsör olan **Lipit II** ile **1:1 oranında** bağlanarak spesifik bir kompleks oluşturur. Bu bağlanmada bakteriyosinin **N-terminal bölgesi** görev almakta olup membran yüzeyinde negatif yük gereksinimi bulunmamaktadır. Daha sonra bakteriyosinin C-terminal kısmı membrana penetre olur ve membranın karşı yüzeyine doğru ilerleyerek por oluşumunu tetikler (bkz. Şekil 2.4.). Ancak bu

mekanizma ile por oluşumunun gerçekleşebilmesi için **birden fazla bakteriyosin–Lipit II kompleksinin birlikte hareket etmesi gerekmektedir** (Koponen, 2004; Asutay, 2007). öylece Lipit II, hem peptidoglikan biyosentezinin inhibisyonunda hem de membran üzerinde işlevsel por oluşumunda kritik bir rol oynamaktadır.



**Şekil 2.4.** Bakteriyosinlerin Lipit II modeli ile hücre membranında por oluşturmaları (Koponen, 2004; Asutay, 2007).

Bu üç model, bakteriyosinlerin membran hedefli etkilerinin yapısal ve biyofiziksel temellerini açıklamakla birlikte, farklı bakteriyosinlerin etkilerinin bu modellerden yalnızca birine veya birkaçının kombinasyonuna dayanabildiği de bildirilmektedir. Dolayısıyla bakteriyosinlerin etki mekanizmaları, peptidin yapısal özelliklerine, hidrofobik/katyonik karakterine, hedef hücre membran kompozisyonuna ve çevresel koşullara bağlı olarak çeşitlilik gösterebilmektedir.

#### 2.4. Bakteriyosinlerin Biyosentezi

Bakteriyosinler, farklı mikroorganizmalar tarafından; plazmit kökenli ve/veya kromozomal kökenli ve ribozomal olarak sentezlenen antimikrobiyal peptitlerdir. Bakteriyosinlerin üretim ve etki mekanizmaları ile aminoasit ve gen dizilişleri belirlenmiş olup, bu moleküllerin birçok ortak özelliğe sahip olduğu gösterilmiştir. Bakteriyosinler RNA aracılığıyla kodlanan genetik bilginin translasyonu sonucunda öncü peptitler olarak sentezlenir; çeşitli post-translasyonel modifikasyonların ardından yapı kazanarak Sec mekanizması (proteinlerin katlanmamış halde hücre zarından geçirilmesini sağlayan salgılama yolu, sec-dependent) aracılığıyla hücre dışına salgılanırlar.

Bakteriyosin üretimi ve immüneyi kodlayan genler kromozom, plazmid, her ikisi ya da transpozonlar üzerinde bulunabilmektedir. Bununla birlikte, her operon tüm genleri içermediği gibi operonlar arasında gen organizasyonu da farklılık göstermektedir (Field ve ark., 2015).

Bir bakterinin bakteriyosin sentezi için; pre-peptidi kodlayan yapısal gen, immüneye geni, ABC-taşıyıcı proteinini kodlayan gen ve bakteriyosinin dışarı taşınmasında görev alan yardımcı proteini kodlayan gen olmak üzere 4 farklı gene ihtiyaç duymaktadır (Field ve ark., 2015; bkz. Şekil 2.5).

İmmüneye proteinleri üretici bakteriyi kendi bakteriyosinine karşı etkin biçimde korurken diğer bakteriyosinlere karşı yalnızca kısmi koruma sağlamaktadır. Bu proteinler arasında amino asit dizi benzerliği düşük olmasına rağmen ortak bazı özellikler bulunmaktadır. Söz konusu proteinler genellikle katyonik ve hidrofilik yapıda olup  $\alpha$ -heliks konformasyonuna sahiptir. Transmembran (hidrofobik) bölgeler içermemeleri, hem hücre dışına salgılanabildiklerini hem de hücre içinde kalabildiklerini göstermektedir (Koponen, 2004).

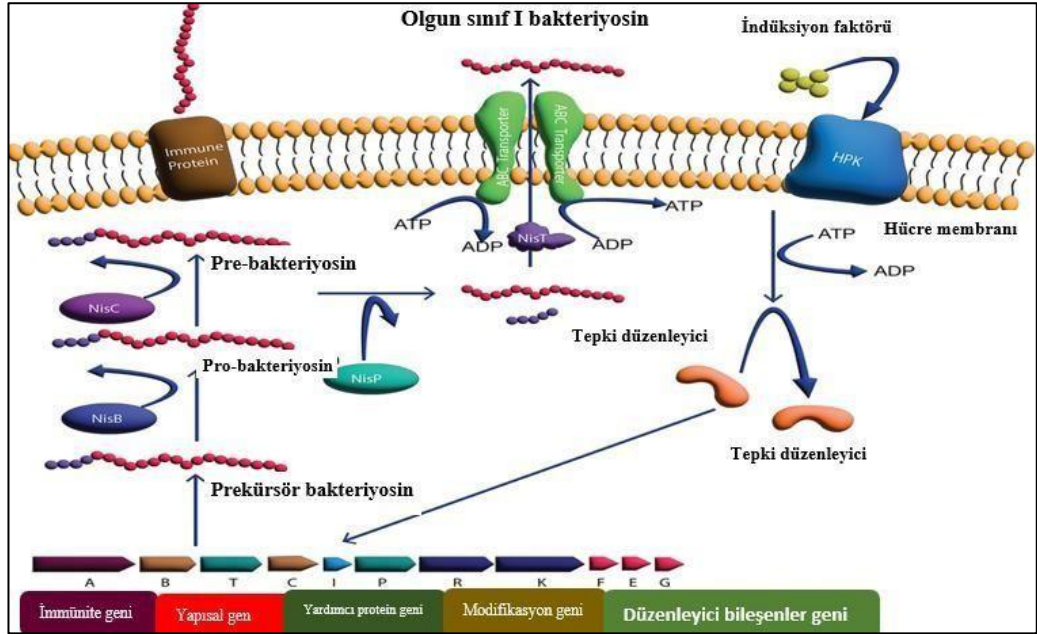
Bakteriyosinlerin biyosentezi gruplar (I, II, III, IV) arasında benzerlik göstermektedir. Sentezleri arasındaki tek fark; grup II ve grup III bakteriyosinleri, grup I bakteriyosinleri gibi kimyasal modifikasyona uğramamakta ve bunun sonucunda anormal aminoasitler içermemektedirler (Koponen, 2004).

Üretilen bakteriyosinin hücre dışına taşınması, membranda yer alan ABC-taşıyıcı protein ve yardımcı protein aracılığıyla gerçekleştirilir. ABC-taşıyıcı proteinler pre-bakteriyosinin translokasyonunda görev almakla birlikte proteolitik aktiviteye de sahiptir ve bu sayede pre-peptidin lider dizisinin uzaklaştırılmasını sağlar. Sonuç olarak lider peptidi ayrılmış olgun bakteriyosin, sitoplazmik membrandan dış ortama taşınır.

Bazı bakteriyosinler ise genel salgılanma yoluyla salgılanırlar. Bu bakteriyosinler sinyal peptid denilen N-terminal lider dizisini içermektedir.

Bu lider dizi; pozitif yüklü N-terminal bölge, hidrofobik bir merkez ve bir kesilme bölgesinden oluşmaktadır. Kesilme bölgesi, bakteriyosinin membrandan taşınması sırasında sinyal peptidaz tarafından proteolitik olarak ayrılır ve böylece olgun bakteriyosinin sitoplazmik membrandan dış ortama taşınması sağlanır (Sahl ve ark., 1995; Riley ve ark., 2002; Koponen, 2004).

Bakteriyosinler sentez sonrasında katlanarak fonksiyonel üç boyutlu yapılarını kazanırlar. Oluşan bu konformasyon; amino asit dizi özellikleri (tür ve sayı) ile çevresel koşullar, özellikle de ortam pH'sı tarafından belirlenir. Söz konusu yapı, bakteriyosinlerin hücre membranındaki spesifik hedef bölgelere bağlanarak etki göstermesi açısından kritik öneme sahiptir. Ortam pH'sı yalnızca katlanma sürecini değil, aynı zamanda etki mekanizmasını da doğrudan etkileyerek bakteriyosinlerin inhibitör aktivitesinin artmasına veya azalmasına yol açabilir.



Şekil 2.5. Bakteriyosin biyosentezi (Bisht ve ark., 2024)

## 2.5. Bakteriyosinlerin Özellikleri

Bakteriyosinler farklı bakteriyel taksonomik dallara ait mikroorganizmalar tarafından ribozomal olarak sentezlenen antimikrobiyal peptitlerdir (bkz. Tablo 2.1.). Bu antimikrobiyal peptitler diğer bakterilere

karşı yaygın bir savunma sistemidir.

Çoğu bakteriyosin bir veya birden fazla proteolitik enzime karşı duyarlıdır (Klaenhammer, 1993). Proteaza duyarlılık, bir inhibitörün bakteriyosin olarak sınıflandırılmasında temel belirleyici kriterlerden biridir. Zira bakteriyosinler protein yapılı moleküller olup  $\alpha$ -kimotripsin, tripsin, proteinaz K ve pepsin gibi çeşitli proteolitik enzimler tarafından parçalanarak inaktive edilir (De Vusyt ve ark., 2007).

Normal şartlarda Gram-negatif bakteriler LAB'nin ürettiği bakteriyosinlere karşı dayanıklıdır. Gerçekleştirilen bazı çalışmalarda EDTA gibi şelatlayıcı maddelere, ısı ve donma işlemlerine maruz bırakılan Gram-negatif bakterilerin nisine karşı duyarlı hale geldikleri belirlenmiştir (De Vusyt ve ark., 2007).

**Tablo 2.1.** Bakteriyosinlerin genel özellikleri.

ÖZELLİK	
<b>Kaynak</b>	Birçok Gram (+) pozitif ve Gram (-) negatif bakteriler tarafından sentezlenirler.
<b>Moleküler ağırlık</b>	Genellikle 10 kDa'dan küçük yapıdadırlar.
<b>Aminoasit sayısı</b>	19 – 80 aminoasit (genellikle 40) içermektedirler.
<b>Özellik</b>	Ekstrasellüler metabolitlerdir. Hidrofobik ve amfifiliktir.
<b>Kimyasal yapıları</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Basit aminoasitler</li><li>• Glikoproteinler (Grup IV)</li><li>• Lipoproteinlerden (Grup IV) oluşurlar.</li></ul>
<b>Aktivite spektrumu</b>	Çoğu bakteriyosin üretici suşa yakın ilişkili suşlara etkili olduğu için dar etki spektrumuna sahiptirler.
<b>Etki mekanizmaları</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Hücre sitoplazmik zarıda gözenek oluşturma</li><li>• DNA, RNA, protein sentezinin inhibisyonu</li><li>• Hücre lizizi</li></ul>
<b>Bakteriyosin kodlayan genlerin bulunduğu yer</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Plazmit</li><li>• Kromozom</li><li>• Transpozon</li></ul>
<b>Enzimlere karşı duyarlılık</b>	Tüm bakteriyosinler proteolitik enzimlere duyarlıdırlar. Bununla birlikte bazı bakteriyosinler amilolitik ve lipolitik enzimlere duyarlılık gösterebilmektedir.
<b>Sıcaklığa karşı duyarlılık</b>	Isıya dayanıklıdırlar.
<b>pH'ya karşı duyarlılık</b>	Çoğu bakteriyosin 3-9 arası pH değerlerine direnç göstermektedirler.

*DNA: Deoksiribonükleik asit ; RNA: Ribonükleik asit*

## 2.6. Bakteriyosinlerin Kullanım Alanları

Bakteriyosinler, geleneksel olarak gıda endüstrisinde biyokoruyucu ajanlar olarak değerlendirilmelerinin yanında, düşük toksisiteleri, biyolojik olarak parçalanabilir yapıları, yüksek stabilite göstermeleri ve çoklu ilaca dirençli mikroorganizmalar üzerindeki etkileri nedeniyle günümüzde sağlık, veterinerlik, tarım, kozmetik ve biyoteknoloji gibi çok farklı disiplinlerde de önemli bir araştırma alanı hâline gelmiştir (Cotter ve ark., 2013; Ahmad ve ark., 2017). Bu özellikler, bakteriyosinleri hem alternatif hem de tamamlayıcı antimikrobiyal stratejiler kapsamında potansiyel terapötik ve endüstriyel ajanlar olarak ön plana çıkarmaktadır.

### Tıp ve Klinik Uygulamalar

Tıbbi uygulamalarda bakteriyosinlerin rolü, özellikle çoklu ilaca dirençli patojenlerle mücadelenin güçleştiği günümüzde giderek artmaktadır. Yapılan çalışmalar, nisin, mersacidin, lacticin ve pediocin gibi bakteriyosinlerin, PRSP (*Penicillin-resistant Streptococcus pneumoniae*), VRE (*Vancomycin-resistant Enterococci*) ve MRSA (*Methicillin-resistant Staphylococcus aureus*) gibi klinik açıdan önemli dirençli bakterilere karşı yüksek etkinlik sergilediğini göstermektedir (Field ve ark., 2015; Shin ve ark., 2016; Ahmad ve ark., 2017). Bu nedenle bakteriyosinler, konvansiyonel antibiyotik tedavilerine destek sağlayabilecek veya belirli durumlarda alternatif antimikrobiyal ajanlar olarak değerlendirilmektedir.

Bakteriyosinlerin yara iyileşmesi ve topikal uygulamalardaki etkinliği de dikkat çekmektedir. Nisin ve diğer lantibiyotiklerin yara yüzeylerinde mikrobiyal yükü azaltma, yanık ve cerrahi alan enfeksiyonlarının kontrolünü destekleme, biyofilm tabakalarının parçalanması ve doku rejenerasyonunu artırma amaçlı hidrojel sistemlerine entegre edilerek kullanılabilceği bildirilmektedir (Shin ve ark., 2016).

Tıbbi cihaz kaynaklı enfeksiyonlar açısından bakıldığında, kateter, protez, stent ve implant, yüzeylerinde biyofilm oluşumu sağlık hizmeti ilişkili

enfeksiyonların en önemli nedenlerinden biridir. Bakteriyosinlerin biyofilm inhibisyonu ve biyofilm bozucu aktiviteleri, tıbbi cihaz kaplama materyallerinde kullanım potansiyelini artırmaktadır (Dosler ve ark., 2011; Shin ve ark., 2016; Ghapanvari, 2022).

Ayrıca bakteriyosinler, ağız ve diş sağlığı alanında da değerli biyomoleküller olarak karşımıza çıkmaktadır. Mutasin ve nisin gibi bazı bakteriyosinlerin, ağız mikroflorasında yer alan *Streptococcus mutans* gibi çürük etkeni patojenlere karşı etkili olduğu, periodontal tedavide, ağız gargaralarında, diş macunlarında ve dental implant kaplamalarında değerlendirilebileceği belirtilmiştir (Bapna, 1988; Kirkup ve ark., 2006). Bu bulgular, bakteriyosinlerin tıbbi alanda yalnızca antimikrobiyal bir ajan değil, aynı zamanda biyofilm yönetimi ve yeni nesil tedavi yaklaşımlarının bir bileşeni olabileceğini göstermektedir.

### **Veterinerlik Uygulamaları**

Veteriner hekimlik alanında bakteriyosinlerin kullanımı, özellikle antibiyotik kullanımının sınırlandırılmasının gerekliliği hayvansal üretim sistemlerinde önem kazanmaktadır. Nisin ve diğer bakteriyosinlerin; mastitis etkeni *Staphylococcus aureus* ve *Streptococcus agalactiae*, gastrointestinal sistem enfeksiyonları ve solunum yolu patojenlerine karşı etkili olduğu gösterilmiştir (Wu ve ark., 2007). Ayrıca, antibiyotiklerin büyütme faktörü olarak kullanımının yasaklanmasıyla birlikte güvenli alternatiflere olan ihtiyaç artmış; bu kapsamda bakteriyosinler, yem hijyeninin iyileştirilmesi, patojen yükünün azaltılması ve hayvan performansının desteklenmesi amacıyla yem katkıları olarak değerlendirilmeye başlanmıştır. Bu doğrultuda bakteriyosinler, direnç gelişimi düşük ve sürdürülebilir yem katkı maddeleri arasında öne çıkmaktadır.

### **Tarım ve Bitki Koruma Uygulamaları**

Tarım alanında bakteriyosinlerin kullanımına olan ilgi, kimyasal pestisitlerin çevresel ve sağlık açısından oluşturduğu risklerin artmasına

paralel olarak hızla genişlemiştir. Bakteriyosinler, *Erwinia amylovora*, *Xanthomonas campestris* ve *Pseudomonas syringae* gibi fitopatojenlere karşı etkili biyolojik mücadele ajanlarıdır (Montesinos, 2007). Bu moleküllerin tohum ve fide dezenfeksiyonunda kullanılarak patojen yükünü azaltması, hastalıkların erken dönem kontrolüne ve ürün verimliliğinin artırılmasına katkı sağlamaktadır. Ayrıca bakteriyosinlerin hedefli etki göstermeleri, kimyasal kalıntı bırakmamaları ve çevreye uyumlu olmaları sürdürülebilir tarım uygulamalarının önemli bir bileşeni hâline gelmelerini sağlamaktadır (Kumar ve ark., 2021).

### **Biyoteknoloji ve Nanoteknoloji Uygulamaları**

Biyoteknoloji ve nanoteknoloji alanlarında bakteriyosinler, kontrollü salım sistemlerinin geliştirilmesi, antimikrobiyal etkinliğin artırılması ve hedefe yönelik tedavi stratejileri açısından değerli moleküllerdir. Nisin yüklü nanopartiküller, lipozomlar ve biyopolimer kapsülasyon sistemleri, bakteriyosinlerin kararlılığını, biyoyararlanımını ve hedef özgüllüğünü artırmak amacıyla geliştirilmektedir (Arthur ve ark., 2014; Zimet ve ark., 2024). Bu sistemler özellikle biyofilm kaynaklı kronik enfeksiyonlarda avantaj sağlamaktadır.

Bakteriyosinler aynı zamanda biyosensör teknolojilerinde seçici biyoreseptör bileşeni olarak kullanılmakta olup *Listeria* ve *Staphylococcus* gibi patojenlerin hızlı tespitinde yüksek duyarlılık sağlamaktadır (Riley ve ark., 2002). Sentetik biyoloji yaklaşımlarıyla da genetiği düzenlenmiş bakteriler kullanılarak daha geniş spektrumlu veya fonksiyonel olarak geliştirilmiş yeni bakteriyosinlerin üretilmesi mümkün hâle gelmiştir.

Tüm bulgular birlikte değerlendirildiğinde bakteriyosinlerin yalnızca gıda endüstrisinde kullanılan doğal antimikrobiyal ajanlar olmaktan çıkıp; tıp, veterinerlik, tarım, kozmetik ve biyoteknoloji ve nanoteknoloji gibi çok çeşitli alanlarda stratejik öneme sahip biyomoleküller hâline geldiği görülmektedir. Çoklu ilaca dirençli mikroorganizmaların artışı, biyofilm kaynaklı enfeksiyonların tedavi zorluğu ve kimyasal antimikrobiyallere

duyulan ihtiyacın azalması, bakteriyosinlerin gelecekte hem terapötik hem de endüstriyel uygulamalarda yenilikçi çözümler sunma potansiyelini daha da güçlendirmektedir. Bu çerçevede bakteriyosinler arasında en geniş uygulama alanına sahip ve en iyi karakterize edilmiş moleküllerden biri olan, *Lactococcus lactis subsp. lactis* tarafından üretilen **nisin**, günümüzde yaygın olarak gıda koruyucusu işleviyle kullanılmaktadır. Bununla birlikte pediyosin de gıda endüstrisinde koruyucu amaçla kullanılan bir diğer önemli bakteriyosindir.

**Nisin**; aralarında *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Lactobacillus*, *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Listeria*, *Leuconostoc* ve *Clostridium* suşlarının da olduğu birçok türe karşı aktivite gösteren antibakteriyel etkiye ve geniş etki spektrumuna sahip bir bakteriyosindir (Hansen 1994; Field ve ark., 2008).

Aktif nisin molekülü, öncü nisin polipeptidinde yer alan serin, treonin ve sistein kalıntılarının post-translasyonel modifikasyonu sonucunda oluşmaktadır. 34 amino asitten oluşan bu yapı dehidro amino asitler ve tioester bağları içermekte (Bkz. Şekil 2.6.) olup yaklaşık 3500 Dalton molekül ağırlığına sahiptir.

Nisinin antibakteriyel etki mekanizması; hücre membranda por oluşumuyla başlamakta; iyonların sitoplazmik membrandan dışarı sızmasıyla ilerlemekte ve hücre lizisi ile sonlanmaktadır (Henning ve ark., 1986; Sahl ve ark., 1987). Nisin ve benzeri bakteriyosinler, çoğunlukla hücre zarını hedef almakta ve spesifik reseptörlere bağlanma gereksinimi göstermemeleri nedeniyle farklı bakteri türleri üzerinde inhibitör etki gösterebilmektedir (Chen ve ark., 2003).

Nisin ABD Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) tarafından kullanımı güvenli kabul edilerek doğal bir gıda koruyucu olarak kullanıma sunulmuştur (Field ve ark., 2008). Nisinin gıdalarda koruyucu katkı maddesi olarak kullanımına ilk kez krem peynirde izin verilmiştir. Günümüzde 47 ülke tarafından güvenli gıda koruyucusu olarak kabul edilerek kullanılmaktadır. Birçok çalışma, nisin

ve nisin varyantlarının, çoklu ilaç dirençli organizmalar da dahil olmak üzere klinik patojenlere karşı etkili olduğunu göstermiştir (Abedon ve ark, 2011; Cotter ve ark., 2012; de Castro ve ark., 2015; Ghosh ve ark., 2019).

<p><b>Nisin A (34 amino asit)</b></p> <p>Ile-Dhb-Ala-Ile-Dha-Leu-Ala-Abu-Pro-Gly-Ala-Lys-Abu-Gly-Ala-Leu-Met-Gly-Ala-Asn-Met-Lys-Abu-Ala-Abu-Ala-His-Ala-Ser-Ile-His-Val-Dha-Lys</p>
--

Şekil 2.6. Nisin aminoasit sırası (NCBI)

## 2.7. Bakteriyosinlerin Antimikrobiyal Aktivite Çalışmaları

Bakteriyosinler, ribozomal olarak sentezlenen, çoğunlukla Gram-pozitif bakteriler tarafından üretilen ve geniş bir mikrobiyal spektruma karşı etkili olabilen antimikrobiyal peptitlerdir. Moleküler yapılarının yüksek stabilite, düşük toksisite ve kolay modifiye edilebilirlik gibi avantajlara sahip olması nedeniyle, antibiyotik direncinin hızla arttığı günümüz koşullarında hem gıda güvenliğinde hem de klinik tedavide potansiyel yeni biyoaktif ajanlar olarak önem kazanmaktadır (Cotter ve ark., 2013).

### Bakteriyosinlerin Antibakteriyel Aktivite Çalışmaları

Bakteriyosinler antibakteriyel aktiviteleri nedeniyle en kapsamlı şekilde araştırılan peptit sınıfları arasında yer almaktadır. Başta lantibiyotikler (nisin, laktisin, mersasidin), pediocin benzeri peptitler ve enterosinler olmak üzere birçok bakteriyosin türü, gıda kökenli patojenlerden yüksek riskli nozokomiyal bakterilere kadar geniş bir yelpazede etkilidir (Delves-Broughton ve ark., 1996).

Güncel araştırmalar, özellikle çoklu antibiyotik direncine sahip *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus faecium*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Acinetobacter baumannii* gibi ESKAPE patojenlerine karşı bakteriyosinlerin umut vaat eden alternatifler olduğunu göstermektedir (Cavera ve ark., 2015).

Nisin, özellikle *Listeria monocytogenes* üzerinde güçlü inhibitör etkiye sahiptir ve gıda endüstrisinde GRAS (Generally Recognized As Safe) statüsü ile yaygın biçimde kullanılmaktadır (Delves-Broughton ve ark., 1996). Pediocin PA-1 ise *Listeria* türlerine karşı pikomolar düzeylerinde aktivite gösterebilmekte ve gıda kaynaklı kontaminasyonun engellenmesinde etkili bir biyokoruyucu olarak kabul edilmektedir (Rodríguez ve ark., 2002).

Gram-negatif bakterilerde dış membranın geçirimsizliği bakteriyosinlerin etki kabiliyetini sınırlasa da, kombinasyon yaklaşımları ile bu engel aşılabilmektedir. EDTA veya organik asitlerle yapılan permeabilizasyon işlemleri, nisin ve diğer lantibiyotiklerin *E. coli* ve *K. pneumoniae* gibi türlere karşı aktivitesini önemli ölçüde artırmıştır (Ghapanvari ve ark., 2022). Yeni nesil çalışmalar, membran modifiye edici peptitler veya nanopartikül taşıyıcı sistemlerle bakteriyosinlerin Gram-negatif patojenlere karşı etkinliğinin daha da artırılabilirliğini göstermektedir (Ghapanvari ve ark., 2022).

### **Bakteriyosinlerin Antiparaziter Aktivite Çalışmaları**

Mevcut tedavi seçeneklerinin çoğunun 20. yüzyılın başlarından ve ortalarından kalma olması, hastalığın ileri evrelerinde sınırlı etkinliğe sahip olması ve spesifik olmaması veya oldukça toksik olması nedeniyle bu hastalıkların geleneksel tedavisi önemli sınırlamalara sahiptir (Martín-Escolano ve ark., 2019). Bu nedenle, bu hastalıkların etkili bir şekilde tedavi edilmesi ve kontrol altına alınması için yeni antiparaziter maddelerin geliştirilmesine yönelik çalışmalar gerçekleştirilmesi ihtiyacı doğmaktadır.

Bakteriyosinlerin antiparaziter aktiviteleri antibakteriyel etkilerine kıyasla daha geç keşfedilmiştir; ancak son yıllarda protozoon ve helmint parazitlere karşı etkili olabilecekleri yönündeki bulgular hızla artmaktadır. Protozoonlarda membran lipid yapısının bakterilere kıyasla farklı olması nedeniyle etki mekanizmaları tam olarak bakteriyel mekanizmalarla örtüşmese de, genel olarak membran bütünlüğünün bozulması, mitokondriyal

fonksiyon kaybı, ROS artışı ve apoptotik benzeri süreçlerin tetiklenmesi üzerinden etki gösterdikleri bilinmektedir (Soltani ve ark.,2022).

Son zamanlarda bakteriyosinlerin antiparaziter özellikleri incelendiğinde hücre membran bütünlüğünün bozunmasında etkili olduğu belirlenmiştir (Martín-Escolano ve ark., 2019; Corman ve ark., 2022; Robledo, 2023).

Bakteriyosinler, hem antibakteriyel hem de antiparaziter aktiviteleri ile geniş terapötik potansiyele sahip doğal biyoaktif moleküllerdir. Dirençli bakterilere karşı etkili olmaları, düşük toksisiteleri, hedefe özgü etki kabiliyetleri ve kombinasyon terapilerinde sinerji sağlamaları onları klasik antibiyotiklere güçlü bir alternatif haline getirmektedir. Antiparaziter etkilerine yönelik çalışmalar henüz gelişme aşamasında olsa da, özellikle *Leishmania*, *Trypanosoma* ve *Trichomonas* gibi klinik açıdan kritik protozoonlara karşı gösterdikleri aktivite bakteriyosinlerin gelecekte antiprotozoal tedavilerin önemli bileşenleri olabileceğine işaret etmektedir. Tüm bu bulgular, bakteriyosinlerin hem medikal hem de biyoteknolojik uygulamalarda daha geniş bir kullanım alanı bulacağını göstermektedir.

## **2.8. Direnç Gelişimi ve Bakteriyosinler**

Bakteriyosinlere karşı gelişen direnç; hücre yüzey yükünde meydana gelen değişiklikler, membran lipid kompozisyonunun modifikasyonu ve reseptör proteinlerinin azalması veya korunması gibi çeşitli adaptasyon mekanizmalarına dayanmaktadır (Cotter ve ark., 2013; Draper ve ark., 2016). Bununla birlikte, bu direnç mekanizmalarının bakteriler üzerinde oluşturduğu fizyolojik yük; hücresel işlevlerde fonksiyonel bozulmaya ve büyüme süreçlerinde olumsuz değişikliklere yol açabilmektedir. Bu nedenle bakteriyosin direncinin genellikle uzun süre sürdürülemediği ve çoğu durumda kalıcı hale gelemediği bildirilmektedir (Mathur ve ark., 2018). Bu özellik, bakteriyosinleri klasik antibiyotiklere kıyasla direnç gelişimi açısından daha avantajlı bir alternatif olarak öne çıkarmaktadır.

## 2.9. Bakteriyosin ve Antimikrobiyal İlaç Kombinasyonları

Enfeksiyonların geleneksel antimikrobiyal tedavi yaklaşımları kullanılarak etkin şekilde kontrol altına alınmasına yönelik stratejiler gelişmeye devam ederken; mevcut tedavi seçenekleri önemli sınırlılıklar içermektedir. Birçok konvansiyonel antimikrobiyal ajanın belirgin toksisiteye sahip olması, özellikle kritik/riskli hastalarda değişen farmakokinetik (PK) parametreler ve birçok birinci basamak ile son çare antimikrobiyal ajan için standartlaştırılmış ve yaygın erişilebilir tedavi sürecinde ilaç düzeyi izleme yöntemlerinin bulunmaması tedavi başarısını olumsuz yönde etkilemektedir. Buna ek olarak, yetersiz antimikrobiyal yönetim uygulamalarının, ilaç direnci ve çoklu ilaca dirençli (MDR) suşların artışında temel faktörlerden biri olduğu bildirilmiştir (Roberts ve ark., 2009; Jain ve ark., 2023).

Bu bağlamda, antimikrobiyal dirençle mücadelede kombinasyon tedavileri önemli bir strateji olarak öne çıkmaktadır. Farklı etki mekanizmalarına sahip ajanların birlikte kullanılması, hem antimikrobiyal etkinliğin artırılmasını hem de direnç gelişiminin baskılanmasını sağlayabilmektedir. Kombinasyon tedavilerinin; daha düşük dozlarda etkinlik sağlama, toksisiteyi azaltma ve bakterisidal aktiviteyi artırma gibi avantajlara sahip olduğu çeşitli çalışmalarla ortaya konmuştur (Dosler ve ark., 2011; Tamma ve ark., 2012; Li ve ark., 2013; Naghmouchi ve ark., 2013; Mathur ve ark., 2017; Sharafi ve ark., 2024).

### 2.9.1. Antibiyotiklerle Kombinasyon ve Sinerji Çalışmaları

Bakteriyosinlerin antibiyotik kombinasyonları son yıllarda yoğun ilgi görmektedir. Literatürde, bakteriyosinlerin çeşitli antibiyotiklerle kombinasyonunda belirgin sinerjik etkiler rapor edilmiştir. Özellikle nisin A gibi lantibiyotiklerin, bakteri hücre membranında por oluşturarak membran bütünlüğünü bozduğu ve bu sayede diğer antimikrobiyal ajanların hücre içine girişini kolaylaştırdığı gösterilmiştir (Cotter ve ark., 2013). Nisinin lipid II'ye bağlanarak hem hücre duvarı sentezini inhibe etmesi hem de membran

geçirgenliğini artırması, onu kombinasyon tedavileri açısından güçlü bir aday haline getirmektedir (Breukink, 2006; Field ve ark., 2015).

Nisin A'nın  $\beta$ -laktamlar, glikopeptidler, florokinolonlar ve aminoglikozidlerle birlikte kullanımı, özellikle dirençli suşlara karşı belirgin bir sinerjik etki oluşturarak antibakteriyel aktivitenin artmasına yol açmaktadır (Naghmouchi ve ark., 2013; Field ve ark., 2016; Mathur ve ark., 2017; Shin ve ark., 2022; Telhig ve ark., 2022).

Nisin ve vankomisin kombinasyonunun, dirençli *Enterococcus faecalis* ve *Enterococcus faecium* suşları üzerinde sinerjik etki gösterdiği bildirilmiştir (Cavera ve ark., 2015). Benzer şekilde, nisin ile gentamisin kombinasyonunun, özellikle membran geçirgenliğinin artırılması yoluyla antibiyotiğin hücre içi hedeflerine daha etkin ulaşmasını sağladığı gösterilmiştir (Field ve ark., 2015).

Pediocin PA-1 ve enterosinlerin, vankomisin ve linezolid ile kullanımı da dirençli *Enterococcus* suşlarında anlamlı sinerji sağlamaktadır (Cavera ve ark., 2015). Bu kombinasyon yaklaşımlarının, antibiyotik dozunun azaltılması, hedef hücre direncinin kırılması ve bakterisidal etkinin hızlanması gibi avantajlar sunduğu bildirilmektedir (Mathur ve ark., 2017; Mathur ve ark., 2018).

Bakteriyosinlerin antimikrobiyal ilaçlarla kombinasyonunun potansiyeli yalnızca antibakteriyel özellikle sınırlı değildir. Antiparaziter ilaç direncinin artması ile bakteriyosin-antiparaziter ilaç kombinasyonlarının araştırılması son dönemde ön plana çıkmaktadır (Martín-Escolano ve ark., 2019; Corman ve ark., 2022; Robledo ve ark., 2023).

Protozoon parazitlere karşı yürütülen çalışmalarda da, membran hedefli ajanların antiparaziter ilaçlarla birlikte kullanımının ilaç etkinliğini artırabileceği öne sürülmektedir. Özellikle *Leishmania tropica* gibi kinetoplastid parazitlerde hücre membranı ve yüzey yapılarının hedeflenmesi, ilaç penetrasyonunun artırılması açısından kritik öneme sahiptir (Croft ve

ark., 2006). Ayrıca, *Trichomonas vaginalis* üzerine yapılan çalışmalar, hücre membranı bütünlüğünü bozan ajanların metronidazol gibi ilaçların etkinliğini artırabileceğini göstermektedir (Upcroft, 2001).

Sonuç olarak, bakteriyosinlerin antimikrobiyal ve antiparaziter ilaçlarla kombinasyonu, artan antimikrobiyal direnç sorununa karşı mekanizma temelli ve rasyonel bir yaklaşım sunmaktadır. Bununla birlikte, bu kombinasyonların etkinliği; hedef mikroorganizmanın biyolojik özelliklerine, kullanılan ajanların farmakodinamik etkileşimlerine ve uygulanan doz rejimlerine bağlı olarak değişkenlik gösterebilmektedir. Bu nedenle, bakteriyosin temelli kombinasyonların klinik uygulamaya aktarılabilmesi için standartlaştırılmış *in vitro* sinerji analizleri, *in vivo* modeller ve klinik çalışmalar ile desteklenmesi gerekmektedir.

### 3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

#### 3.1. Materyaller

##### 3.1.1 Kullanılan Cihazlar

Bu çalışmada kullanılan ve Balıkesir Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı araştırma laboratuvarlarında bulunan cihazlar Tablo 3.1’de gösterilmiştir.

**Tablo 3.1.** Çalışmada kullanılan cihaz bilgileri.

Cihaz Adı	Marka/Model	Ülke
Otoklav	Hiyarama HG-80	Japonya
Etüv	Memmert IN160	Almanya
Hassas terazi	Sartorius TE214S	Almanya
İnverted mikroskop	Olympus	Japonya
Biyogüvenlik kabini	Labonco	ABD
Vorteks	Weightlab WN-V 2800	Türkiye
McFarland cihazı	BD PhoenixSpec, Becton and Dickinson	ABD
Derin dondurucu	Arçelik	Türkiye
Buzdolabı	Regal	Türkiye

### 3.1.2. Kullanılan Mikroorganizmalar

**Tablo 3.2.** Çalışmada kullanılan klinik bakteriyel izolatlar.

Mikroorganizma Adı	Kaynak	Suş Sayısı
<i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA)	Klinik izolat	5
<i>Enterococcus faecalis</i>	Klinik izolat	5
<i>Enterococcus faecium</i>	Klinik izolat	5
<i>Escherichia coli</i>	Klinik izolat	5
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Klinik izolat	5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Klinik izolat	5
<i>Acinetobacter baumannii</i>	Klinik izolat	5

*MRSA: Metisilin dirençli Staphylococcus aureus*

**Tablo 3.3.** Çalışmada kullanılan referans bakteri suşları.

Mikroorganizma Adı	Suş Kodu	Kullanım Amacı
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 29213	Kalite kontrol
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 43300	Kalite kontrol
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC 29212	Kalite kontrol
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922	Kalite kontrol
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC 700603	Kalite kontrol
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853	Kalite kontrol

*ATCC: Amerikan Tıp Kültür Koleksiyonu*

**Tablo 3.4 .** Çalışmada kullanılan referans parazit suşları.

Mikroorganizma Adı	Suş Kodu	KAYNAK
<i>Leishmania tropica</i>	MHOM/AZ/1974/SAF-K27	Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazit Bankası
<i>Trichomonas vaginalis</i>	ATCC 50143	Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazit Bankası

### 3.1.3. Kullanılan Etken Maddeler

Çalışmada kullanılan antimikrobiyal ajanlar için çözücü/sulandırıcı çeşidi ve potens değerleri belirlendi. Stok konsantrasyonları European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) kriterleri doğrultusunda hesaplandı. Hassas terazide tartılan antimikrobiyal ajanlar,

belirlenen uygun çözücüler kullanılarak hazırlandı (bkz. Tablo 3.5.). Hazırlanan stok çözeltiler 1 mL'lik miktarlarda alikotlanarak deneylerde kullanılıncaya kadar  $-20^{\circ}\text{C}$ 'de muhafaza edildi.

**Tablo 3.5.** Çalışmada kullanılan antimikrobiyal ilaçlar

Antimikrobiyal Ajan	Grubu	Etki Mekanizması
Gentamisin	Aminoglikozid	Protein sentez inhibitörü (30S)
Fusidik asit	Steroid antibiyotik	Protein sentez inhibitörü
Klindamisin	Linkozamid	Protein sentez inhibitörü (50S)
Linezolid	Oksazolidinon	Protein sentez inhibitörü (50S)
Mupirosin	Topikal antibiyotik	İzolösil-tRNA sentetaz inhibitörü
Vankomisin	Glikopeptid	Hücre duvarı sentez inhibitörü
Tigesiklin	Glisilsiklin	Protein sentez inhibitörü (30S)
Amfoterisin B	Antiparaziter	Hücre membranı (ergosterol)
Metronidazol	Nitroimidazol	DNA hasarı
Miltefosin	Antiparaziter	Hücre membranı etkisi
Nisin A	Bakteriyosin	Membran por oluşumu

### 3.1.4. Besiyerlerinin Hazırlanması

#### Mueller Hinton Broth Besiyerinin Hazırlanması

Ticari olarak temin edilen Mueller Hinton Broth (Liofilchem, İtalya) toz besiyeri üretici firma yönergeleri doğrultusunda belirtilen miktar distile suda çözüldürüldükten sonra  $121^{\circ}\text{C}$  de 15 dakika otoklavda steril edildi. Sterilizasyonun ardından  $45-50^{\circ}\text{C}$  ye kadar soğutulan besiyeri kullanılacağı zamana kadar  $+4^{\circ}\text{C}$ 'de muhafaza edildi.

#### Mueller Hinton Agar Besiyerinin Hazırlanması

Ticari olarak temin edilen Mueller Hinton Agar (Biocell, Türkiye) besiyeri üretici yönergeleri doğrultusunda kullanılacağı zamana kadar  $+4^{\circ}\text{C}$ 'de muhafaza edildi.

### **Novy-Nicole-McNeal (NNN) Besiyerinin Hazırlanması**

1,4 g agar ve 0,6 g NaCl, 90 mL distile su içerisinde çözüldürülerek 121 °C'de 15 dakika süreyle sterilize edildi. Sterilizasyonun ardından besiyeri 50–55 °C'ye kadar soğutuldu ve aseptik koşullar altında 10 mL defibrine tavşan kanı ile 0,2 mL penisilin/streptomisin solüsyonu eklendi. Hazırlanan besiyeri, steril vidalı kapaklı tüplere 4 mL olacak şekilde dağıtıldı ve tüpler yaklaşık 10° eğimde tutularak besiyerinin katılaşması sağlandı. Elde edilen besiyerleri, kullanım anına kadar +4 °C'de muhafaza edildi.

### **RPMI-1640 Stok Sıvı Besiyerinin Hazırlanması**

Ticari olarak temin edilen RPMI-1640 besiyeri içerisine %10 fetal calf serum (FCS), %1 penisilin/streptomisin ve %1 gentamisin solüsyonları eklenerek stok sıvı besiyeri hazırlandı. Besiyeri kullanılacağı zamana kadar +4°C'de muhafaza edildi.

### **TYM Besiyerinin Hazırlanması**

Ticari olarak temin edilen 0,5 mg L-sistein HCl, 0,1 g askorbik asit, 0,4 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 10 g triptikaz, 2,5 g maltoz ve 10 g maya özütünün 300 mL distile su içinde çözüldürülmesiyle hazırlandı. Karışımdan 90 mL alınarak içine 0,25 g bakto-agar eklendi ve pH 6'ya ayarlandı. Sonrasında 120°C'de 10 dakika sterilize edilen besiyeri, ekim amacıyla tüplere 1,6 mL olacak şekilde dağıtıldı. Besiyeri kullanılacağı zamana kadar +4°C'de muhafaza edildi. Kullanım öncesi 100 IU/mL streptomisin, 100 IU/mL penisilin ve toplam hacim 2 mL olacak şekilde at serumu eklenerek kullanıma hazır hale getirildi.

## 3.2. Yöntemler

### 3.2.1. Bakteri ve Parazit Kökenlerinin Canlandırılması

Bu çalışmada kullanılan bakteri ve parazit kökenlerinin canlandırılması, her mikroorganizmanın optimal büyüme ve çoğalma koşulları göz önünde bulundurularak gerçekleştirilmiştir.

#### **Bakteri kökenlerinin canlandırılması**

Bakteri kökenlerinin canlandırılması amacıyla ticari olarak temin edilen %5 Koyun Kanlı agar (Biocell, Türkiye) ve Mueller Hinton Agar (Biocell, Türkiye) besiyerleri kullanıldı. Besiyerlerine inoküle edilen bakteri kökenleri 37°C'lik etüvde 18-24 saat inkübe edildi.

#### ***Leishmania tropica* süşunun canlandırılması**

Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Parazitoloji Anabilim Dalı Parazit Bankası'nda sıvı azot içerisinde saklanan *L. tropica* promastigotları, 37°C'ye ayarlanmış su banyosunda kısa süre çözündürüldü. Çözülen promastigotlar, steril cam pastör pipeti yardımıyla NNN besiyerine inoküle edildi ve 26°C'de etüvde inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında besiyerinin sıvı fazından cam pastör pipeti ile örnek alınarak direkt preparat hazırlandı. Promastigotların üremesi ve yoğunluğu, ışık mikroskopunda 40× objektif kullanılarak değerlendirildi.

#### ***Leishmania tropica* süşunun RPMI-1640 sıvı besiyerinde çoğaltılması**

NNN besiyerinde logaritmik faza ulaşan promastigotlar, ilaç duyarlılık testlerinde kullanılmak üzere RPMI-1640 (Gibco, ABD) sıvı besiyerine pasajlanarak 26 °C'de inkübe edildi. Kültürlere iki günde bir taze besiyeri eklenerek yeterli sayıda promastigot elde edildi ve testlerde kullanılmak üzere 10<sup>6</sup> promastigot/mL yoğunluğunda parazit süspansiyonu hazırlandı.

### ***Trichomonas vaginalis* suşunun canlandırılması**

*Trichomonas vaginalis* suşu kullanıma hazır hale getirilen modifiye TYM besiyerine üç ardışık pasaj yapılarak adapte edildi ve 35–37 °C’de 24 ve 48 saat inkübe edildi. İnkübasyonu takiben, antibiyotik içermeyen TYM besiyerine alınarak üç ardışık pasaj daha gerçekleştirildi ve aynı inkübasyon koşullarında çoğaltıldı. İnkübasyon sonrası elde edilen kültürler mikroskopik olarak değerlendirilerek kontaminasyon açısından kontrol edildi ve trofozoitlerin aktif hareketliliği gözlemlendi. Hücre yoğunluğu hemositometre kullanılarak belirlendi ve deneylerde kullanılmak üzere logaritmik fazdaki trofozoitler tercih edildi. Elde edilen hücre süspansiyonu, ilaç duyarlılık testlerinde kullanılmak üzere yaklaşık  $1 \times 10^4$  hücre/mL olacak şekilde ayarlandı (Aksoy ve ark., 2016).

### **3.2.2. Nisin, Antibiyotik ve Antiparaziter Etken Madde Solüsyonlarının Stok Çözeltilerinin Hazırlanması**

Antibiyotik ve antiparaziter etken maddelerin stok çözeltileri, üretici firma tarafından önerilen uygun çözücü türleri ve potens değerleri dikkate alınarak hazırlandı ve gerekli ilaç konsantrasyonları EUCAST kriterleri (2025) doğrultusunda belirlendi. Hazırlanan stok çözeltiler Tablo 3.6.’da belirtilmiştir. Nisin, antibiyotik ve antiparaziter ajan stok çözeltileri, tek kullanımlık alikotlar hâlinde düzenlendi. Tekrarlayan donma–çözünme döngülerinin önlenmesi amacıyla deneysel kullanım zamanına kadar –20 °C’de muhafaza edildi.

**Tablo 3.6.** Çalışmada kullanılan antimikrobiyal ilaçlar.

Antimikrobiyal Ajan	Çözücü Madde	Stok
		Konsantrasyonu
Gentamisin	Distile su	5120 µg/mL
Fusidik asit	DMSO	256 µg/mL
Klindamisin	Distile su	256 µg/mL
Linezolid	Distile su	512 µg/mL
Mupirosin	DMSO	256 µg/mL
Vankomisin	Distile su	2560 µg/mL
Tigesiklin	Distile su	2560 µg/mL
Amfoterisin B	DMSO	1000 µg/mL
Metronidazol	Distile su	5000 µg/mL
Miltefosin	Distile su	1024 µg/mL
Nisin A	DMSO	5120 µg/mL

**DMSO:** Dimetil sülfoksit (PanReac AppliChem, İspanya, cell culture grade); **mL:** Mililitre; **µg/mL:** Mikrogram/ Mililitre

### 3.2.3. Antimikrobiyal Aktivitenin Belirlenmesi

Antimikrobiyal aktivite dilüsyon yöntemleri kullanılarak belirlenmektedir. Bu testler antibiyotik duyarlılık testlerinde referans testlerdir. Antibiyotiklerin minimum inhibisyon konsantrasyonlarını saptamak için kullanılmaktadır. Çalışmada kullanılan etken maddelerin *in vitro* antimikrobiyal aktivite analizinde CLSI ve EUCAST önerisi olan sıvı mikrodilüsyon yöntemi kullanıldı. Bakteriyosin, antibiyotik ve antiparaziterlerin etkinlik değerleri (MİK/IC<sub>50</sub>) sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile 96 kuyucuklu steril mikropalakalar kullanılarak belirlendi. Tüm bakteriyel çalışmalar için MHB (Liofilchem, İtalya), *L. tropica* izolatları için RPMI-1640 (Gibco, ABD) ve *T. vaginalis* izolatları için ise modifiye TYM besiyeri kullanıldı.

### Antibakteriyel Aktivitenin Belirlenmesi

İlaç duyarlılık testlerinde; steril, U tabanlı 96 kuyucuklu mikropalakalar kullanılarak sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile MİK değerleri

belirlendi. Tüm çalışmalar Mueller Hinton Broth (MHB) besiyeri kullanılarak yapıldı. Mikroplakalardaki her bir kuyucuğa 50 µL MHB ilave edildi. Mueller Hinton Agar (MHA) besiyerinde üretilmiş her bir bakteri kökeninden Bakteri süspansiyonları, 0,5 McFarland standardına ( $10^8$  kob/mL) eşdeğer olacak şekilde hazırlanmış ve ardından 1/100 oranında seyreltilerek  $10^6$  kob/mL konsantrasyona getirildi. Mikroplakalardaki her bir kuyucuğa son konsantrasyonu  $5 \times 10^5$  kob/mL olacak şekilde bakteri süspansiyonundan 50 µL eklendi. Mikroplaka üzerinde üreme kontrolü (MHB+bakteri), çözücü kontrolü (MHB+bakteri+DMSO/DS), besiyeri kontrolü (MHB) ve sterilite kontrolü (MHB+Antibakteriyel ajan) için birer kuyucuk kullanıldı. Mikroplakaların kapakları kapatılarak 37°C'de 18-24 saat inkübe edildi. Bakteri üremesinin gözle görülemediği en düşük konsantrasyon antibakteriyel ajanlar için MİK değeri olarak belirlendi (EUCAST, 2025). Tüm çalışmalar üç tekrarlı çalışıldı.

### **Antileishmanial Aktivitenin Belirlenmesi**

İlaç duyarlılık testlerinde steril, düz tabanlı 96 kuyucuklu mikroplakalar kullanıldı. Plakadaki 12 sıranın biri pozitif kontrol, biri negatif kontrol olarak ayrıldı; kalan kuyucuklar ise etken maddeler için ikili sıralar halinde düzenlendi. Her bir kuyucuğa RPMI-1640 sıvı besiyerinden (%10 FCS, %1 penisilin/streptomisin ve %1 gentamisin içeren) 100 µL ilave edildi. Etken maddeler için ayrılan bölümlerin ilk kuyucuklarına etken madde süspansiyonundan 100 µL eklendi ve seri dilüsyonlar hazırlandı. Dilüsyon işleminin ardından,  $10^6$  promastigot/mL yoğunluğundaki parazit süspansiyonundan negatif kontrol hariç tüm kuyucuklara 100 µL ilave edildi. Mikroplakaların kapakları kapatılarak parafilm ile sızdırmaz şekilde kaplandı ve 26°C'de inkübasyona alındı. İnkübasyonun 48. ve 72. saatlerinde etken maddelerin  $IC_{50}$  değerleri MTT yöntemi ile belirlendi. İnkübasyon süresi sonunda her bir kuyucuktan 100 µL alınarak aynı düzende yeni, steril bir 96 kuyucuklu mikroplakaya aktarıldı. Ticari olarak temin edilen MTT (Sigma Aldrich, Almanya) solüsyonundan yeni mikroplakanın tüm kuyucuklarına 100 µL eklendi. Mikroplakalar parafilm ile sarıldı ve 26°C'de 4 saat

inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon süresi sonunda mikroplakalar etüvden çıkarıldı ve her bir kuyucuğa formazan kristallerinin çözünmesini sağlamak amacıyla 100 µL DMSO ilave edilerek 30 dakika inkübe edildi. İnkübasyonun ardından mikroplakalar spektrofotometrede 450 nm dalga boyunda okutma yapılarak absorbans değerleri kaydedildi. Elde edilen absorbans verilerinden hesaplanan % canlılık değerlerine (bkz. Şekil 3.1) göre etken maddelerin MPK değerleri, parazit canlılığının gözlenmediği en düşük konsantrasyon olarak belirlendi. Tüm çalışmalar üç tekrarlı çalışıldı.

$$\% \text{Canlılık} = \left( \frac{\text{Canlı Hücre Sayısı}}{\text{Toplam Hücre Sayısı}} \right) \times 100$$

**Şekil 3.1.** % Canlılık formülü

### **Antitrikomonial Aktivitenin Belirlenmesi**

İlaç duyarlılık testlerinde steril, düz tabanlı 96 kuyucuklu mikroplakalar kullanıldı. Plakadaki 12 sıranın biri pozitif kontrol, biri negatif kontrol olarak ayrıldı; kalan kuyucuklar ise etken maddeler için ikili sıralar halinde düzenlendi. Her bir kuyucuğa TYM besiyerinden 100 µL ilave edildi. Etken maddeler için ayrılan bölümlerin ilk kuyucuklarına etken madde süspansiyonundan 100 µL eklendi ve seri dilüsyonlar hazırlandı. Dilüsyon işleminin ardından, 10<sup>4</sup> trofozoit/mL yoğunluğundaki parazit süspansiyonundan negatif kontrol hariç tüm kuyucuklara 100 µL ilave edildi. Mikroplakanın kapağı kapatıldı, etrafı parafilm ile kaplandı ve 37°C'de 48 saat inkübasyona alındı. Etken maddelerin MPK değerleri invert mikroskopta yapılan inceleme ile belirlendi. İnkübasyon sonunda *T. vaginalis* trofozoitlerinin canlılığı ve motilitesi, sayım kamarası (hemositometre) kullanılarak ışık mikroskobunda değerlendirildi. Tamamen parçalanmış/hareketleri durmuş ve morfolojik olarak bozulmuş trofozoitler ölü kabul edildi. Trofozoitlerin tamamının öldüğü en düşük etken madde konsantrasyonu MPK olarak kabul edildi. IC<sub>50</sub> değerlerinin saptanması için ise öncelikle her bir etken madde için kuyucuklardaki trofozoitlerin % canlılık değerleri belirlendi (bkz Şekil 31.). Bunun için etken maddelere ait

tüm kuyucuklarından 50 µL alınıp aynı hacimdeki tripan mavisi boyası ile karıştırıldı ve 10 µL alınıp thoma lamına aktarılarak ışık mikroskobu altında canlı ve ölü trofozitler sayıldı. Her bir etken maddenin yaklaşık %50'sinin canlı olduğu kuyucuk konsantrasyonu IC<sub>50</sub> değeri olarak belirlendi. Tüm çalışmalar üç tekrarlı çalışıldı.

$$\% \text{Canlılık} = \left( \frac{\text{Canlı Hücre Sayısı}}{\text{Toplam Hücre Sayısı}} \right) \times 100$$

**Şekil 3.1.** % Canlılık formülü

### **3.2.4. Dama Tahtası (Checkerboard) Yöntemi ile Etkileşimlerin Belirlenmesi**

Antimikrobiyal ajanlar arasındaki sinerjik etkileşimin belirlenmesinde dama tahtası (Checkerboard) yöntemi kullanılmaktadır. Bakteriyosinler ve antimikrobiyal ilaçlar arasındaki etkileşimi değerlendirmek amacıyla her kombinasyon için 2 adet 96 kuyucuklu steril mikrolakalar kullanıldı.

Birinci mikrolakanın her bir kuyucuğuna besiyerinden 100 µL ilave edildi. MİK(bakteri için)/MPK (prazitler için) değerinin üç sulandırım üstünden başlayıp beş sulandırım altına kadar dikey düzlemde antimikrobiyal ajan dilüe edildi. İkinci mikrolakanın 8. sütununa kadar tüm kuyucuklarına 100 µL besiyeri ilave edildi. 8. sütundaki kuyucuklara 100 µL nisin A solüsyonu eklenerek, yatay düzlemde sağdan sola doğru seri dilüsyonlar hazırlandı. İkinci mikrolakada hazırlanan dilüsyonlar, birinci mikrolakadaki karşılık gelen kuyucuklara 50 µL olacak şekilde aktarıldı ve böylece her kuyucukta iki etken maddenin farklı kombinasyonları elde edildi (Eliopoulos ve ark., 1996). Logaritmik fazda ve yeterli yoğunluğa ulaşmış mikroorganizma süspansiyonundan 100 µL, birinci mikrolakanın besiyeri ve sterilit kontrol kuyucukları hariç tüm kuyucuklarına ilave edildi. Üreme kontrolü (besiyeri + mikroorganizma), besiyeri kontrolü ve sterilit kontrolü (besiyeri + nisin/antimikrobiyal ajan, besiyeri) için üçer kuyucuk kullanıldı. Mikrolakalar antibakteriyel aktivite için 37°C'de 18–20 saat, antileishmanial

aktivite için 26°C’de 18-24 saat, antitrikomonal aktivite için 37°C’de 48 saat inkübe edildi. her satır ve sütunda üremenin gözlenmediği en düşük konsantrasyondaki kuyucuklara ait FİKİ değerleri esas alındı. Tüm çalışmalar iki tekrarlı çalışıldı.

Li ve ark. (2013) tarafından belirtilen formüller yardımıyla fraksiyonel inhibisyon konsantrasyon indeksi (FİKİ) değeri hesaplanarak sinerjik etkileşimler belirlendi.

### **FİKİ değerinin hesaplanması,**

FİKA=Kombinasyondaki antimikrobiyal MİK-MPK/MİK-MPKantimikrobiyal

FİKB = Kombinasyondaki bakteriyosin MİK-MPK / MİK-MPKbakteriyosin

FİKİ = FİKA + FİKB

**Tablo 3.7.** FİKİ değerlendirme tablosu.

<b>FİKİ Değeri</b>	<b>Etkileşim Türü</b>
≤ 0.50	Sinerji
> 0.50-0.75	Kısmi sinerji
> 0.75-1.00	Aditif etki
> 1.00-4.00	Etkisiz
> 4.00	Antagonizma

Dama tahtası testinin sonuçlarının değerlendirilmesi aşağıdaki tanımlarla yapılmaktadır.

**Sinerji:** Maddelerin ayrı olarak test edildiklerinde elde edilen etkilerin toplamından daha büyük bir etkinlik oluşmasıdır.

**Kısmi sinerji/Aditif etki:** İki maddenin kombinasyonda oluşturdukları etki, ayrı ayrı etkilerinin toplamına eşit olduğu durumdur.

**Etkisiz:** İki maddenin kombinasyonundan elde edilen sonuç, bunlardan en etkin olan maddenin sonucundan farklı olmadığı durumdur.

**Antagonizma:** Antimikrobiyal maddeler ayrı olarak test edildiklerinde oluşan etkilerin toplamından belirgin şekilde daha düşük bir etkinlik elde edilen durumdur.

### **3.2.5. İstatistiksel Analiz**

Elde edilen veriler, IBM SPSS Statistic (IBM SPSS Inc., Chicago, IL, USA; Versiyon 25.0) yazılımı kullanılarak analiz edildi. Gruplar arasındaki anlamlı farklılıklar, tek yönlü ANOVA ile analiz edildikten sonra, çoklu karşılaştırmalar Tukey testi ile değerlendirildi.  $p < 0.05$  olduğunda gruplar arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Antibakteriyel Aktivite Sonuçları

Antibiyotiklerin MİK değerleri sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile saptandı. Elde edilen bulgulara göre, özellikle bazı antibiyotik gruplarında karşı direnç varlığı gözlemlendi (bkz. Tablo 4.1. ve Tablo 4.2.). Gentamisin tüm Gram pozitif bakteri kökenlerinde >1280 µg/mL konsantrasyonda dirençli olarak gözlenirken Gram negatif bakteri kökenlerinde *E. coli*, *K. pneumoniae*, *A. baumannii* izolatlarının büyük çoğunluğunda MİK değerleri >1280 µg/mL olarak belirlendi. Bu durum yüksek düzey aminoglikozid direncine işaret etmektedir. *Pseudomonas aeruginosa* izolatlarında ise daha heterojen bir dağılım gözlemlendi. Benzer şekilde daptomisin için de *S. aureus* izolatlarında >64 µg/mL düzeyinde direnç saptandı. Fusidik asit açısından *S. aureus* klinik izolatlarının tamamında >64 µg/mL düzeyinde direnç gözlemlendi. Linezolid *S. aureus* suşlarında genellikle 32 µg/mL düzeyinde duyarlılık gözlenirken, bazı izolatlarda bu değer 64 µg/mL'ye kadar çıkmıştır. Enterokok izolatlarında da benzer şekilde >64 µg/mL sınırında duyarlılık gözlemlendi. Mupirosin *S. aureus* izolatlarının bir kısmında düşük MİK değerleri (8 µg/mL) ile duyarlılık gözlemlendi. Enterokok izolatlarında ise çoğunlukla yüksek düzey direnç (>64 µg/mL) gözlemlendi. Tigesiklin Gram pozitif bakteri kökenleri üzerinde etkili olup genellikle 20–320 µg/mL aralığında duyarlılık gözlenirken; Gram negatif bakteri kökenlerinde MİK değerleri 640 µg/mL olarak belirlendi. Vankomisin açısından ise suşlar arasında heterojen bir dağılım gözlemlendi.

### 4.2. Nisin Antibakteriyel Etkinliği

Nisin antibakteriyel etkinliği referanslar suşlarda *S. aureus* ATCC 29213 için 640 µg/mL, *P. aeruginosa* ATCC 27853 için 640 µg/mL; *E. coli*

ATCC 25922, *K. pneumoniae* ATCC 700603 ve *E. faecalis* ATCC 29212 için 1280 µg/mL olarak belirlendi.

*S. aureus* klinik kökenlerinde MİK değerinin üç köken için 640 µg/mL, bir köken için 320 µg/mL olduğu gözlemlendi (bkz. Tablo 4.3.). Nisinin enterokok klinik kökenleri üzerindeki antibakteriyel etkinliği 1280 µg/mL olarak belirlendi (Tablo 4.3.). Test edilen Gram negatif bakteri kökenlerinde MİK değerleri, *A. baumannii* ve *K. pneumoniae* bakteri kökenlerinin birer kökeninde 640 µg/mL; iki *P. aeruginosa* bakteri kökeninde 640 µg/mL iken bir *P. aeruginosa* bakteri kökeninde ise 320 µg/mL olarak belirlendi. Test edilen diğer bakteri kökenlerinde ise nisinin antibakteriyel etkinliğini ifade eden MİK değeri 1280 µg/mL olarak belirlendi (bkz. Tablo 4.3.).

**Tablo 4.1.** Antibiyotiklerin Gram (+) klinik kökenler üzerindeki MİK değerleri (µg/mL)

Klinik suşlar	ANTİBİYOTİKLER						
	FA	GN	DA	LİN	MUP	TGC	VAN
SA1	>64 (R)	>1280 (R)	>64 (R)	32 (S)	>64 (R)	320 (S)	>625 (R)
SA2	>64 (R)	>1280 (R)	>64 (R)	32 (S)	64 (S)	160 (S)	78,13 (S)
SA3	>64 (R)	>1280 (R)	>64 (R)	32 (S)	8 (S)	320 (S)	19,53 (S)
SA3	>64 (R)	>1280 (R)	>64 (R)	64 (S)	>64 (R)	160 (S)	>625 (R)
SA4	>64 (R)	>1280 (R)	>64 (R)	32 (S)	8 (S)	20 (S)	19,53 (S)
FS1	-	>1280 (R)	-	>64 (S)	>64 (R)	320 (S)	>640 (R)
FS2	-	>1280 (R)	-	>64 (S)	>64 (R)	320 (S)	>640 (R)
FS3	-	>1280 (R)	-	>64 (S)	>64 (R)	320 (S)	>640 (R)
FS4	-	>1280 (R)	-	>64 (S)	>64 (R)	320 (S)	>640 (R)
FS5	-	>1280 (R)	-	>64 (S)	>64 (R)	320 (S)	>640 (R)
FM1	-	>1280 (R)	-	>64 (S)	>64 (R)	>640 (R)	>640 (R)
FM2	-	>1280 (R)	-	>64 (S)	>64 (R)	640 (S)	>640 (R)
FM3	-	>1280 (R)	-	>64 (S)	>64 (R)	>640 (R)	>640 (R)
FM4	-	>1280 (R)	-	>64 (S)	64 (S)	>640 (R)	>640 (R)
FM5	-	>1280 (R)	-	>64 (S)	64 (S)	>640 (R)	>640 (R)
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	>64 (R)	>1280 (R)	>64 (R)	32 (S)	8 (S)	160 (S)	78,13 (S)
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	-	>1280 (R)	-	>64 (S)	>64 (R)	320 (S)	>640 (R)

**FA:** Fusidik asit; **GN:** Gentamisin; **TGC:** Tigesiklin; **DA:** Klindamisin; **LİN:** Linezolid; **R:** Dirençli; **S:** Duyarlı; **MUP:** Mupirosin; **VAN:** Vankomisin; **SA:** *Staphylococcus aureus*; **KP:** *Klebsiella pneumoniae*; **AB:** *Acinetobacter baumannii*; **FM:** *Enterococcus faecium*; **FS:** *Enterococcus faecalis*; **PA:** *Pseudomonas aeruginosa*; **EC:** *Escherichia coli*; **ATCC:** Amerikan Tıp Kültür Koleksiyonu

**Tablo 4.2.** Antibiyotiklerin Gram (-) klinik kökenler üzerindeki MİK değerleri (µg/mL)

Klinik suşlar	ANTİBİYOTİKLER	
	Gentamisin	Tigesiklin
EC1	>1280 (R)	640 (S)
EC2	1280 (S)	640 (S)
EC3	>1280 (R)	640 (S)
EC4	1280 (S)	640 (S)
EC5	>320 (S)	640 (S)
KP1	>1280 (R)	640 (S)
KP2	>1280 (R)	640 (S)
KP3	>1280 (R)	80 (S)
KP4	>1280 (R)	640 (S)
KP5	>1280 (R)	640 (S)
AB1	>1280 (R)	640 (S)
AB2	>1280 (R)	640 (S)
AB3	>1280 (R)	640 (S)
AB4	>1280 (R)	80 (S)
AB5	>1280 (R)	640 (S)
PA1	>1280 (R)	>640 (S)
PA2	320 (S)	>640 (S)
PA3	160 (S)	640 (S)
PA4	640 (S)	>640 (S)
PA5	>1280 (R)	640 (S)
<i>E. coli</i> ATCC 25922	>1280 (R)	640 (S)
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 700603	>1280 (R)	40 (S)
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	640 (S)	> 320 (S)

*R*: Dirençli; *S*: Duyarlı; *SA*: *Staphylococcus aureus*; *KP*: *Klebsiella pneumoniae* *AB*: *Acinetobacter baumannii*; *FM*: *Enterococcus faecium*; *FS*: *Enterococcus faecalis*; *PA*: *Pseudomonas aeruginosa*; *EC*: *Escherichia coli*; *ATCC*: Amerikan Tıp Kültür Koleksiyonu

**Tablo 4.3.** Nisinin klinik bakteri kökenleri üzerindeki MİK değerleri (µg/mL).

Suş No	MİK Değeri
SA1	320
SA2	640
SA3	640
SA4	> 640
SA5	640
FS1	1280
FS2	1280
FS3	1280
FS4	1280
FS5	1280
FM1	1280
FM2	1280
FM3	1280
FM4	1280
FM5	1280

**Tablo 4.3. (devam)**

EC1	1280
EC2	1280
EC3	1280
EC4	1280
EC5	1280
KP1	1280
KP2	1280
KP3	1280
KP4	1280
KP5	1280
AB1	1280
AB2	640
AB3	1280
AB4	1280
AB5	1280
PA1	640
PA2	1280
PA3	1280
PA4	640
PA5	320
<i>S. aureus</i> ATCC 43300	640
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	640
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	1280
<i>E. coli</i> ATCC 25922	1280
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 700603	1280
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	640
<i>SA</i> : <i>Staphylococcus aureus</i> ; <i>KP</i> : <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>AB</i> : <i>Acinetobacter baumannii</i> ; <i>FM</i> : <i>Enterococcus faecium</i> ; <i>FS</i> : <i>Enterococcus faecalis</i> ; <i>PA</i> : <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ; <i>EC</i> : <i>Escherichia coli</i> ; <i>ATCC</i> : Amerikan Tip Kültür Koleksiyonu	

### 4.3. Antiparaziter Aktivite Sonuçları

#### *Leishmania tropica* antileishmanial aktivite sonuçları

Nisinin *L. tropica* promastigotlarına karşı antileishmanial etkinliği zayıf olupetken maddenin çözünebilir en yüksek konsantrasyonu olan 1280 µg/mL konsantrasyonda  $IC_{50}$  ve MPK değerine sahip olduğu belirlendi. Nisin ve konvansiyonel ilaçların *L. tropica* REF1 referans suşu promastigotlarına karşı antileishmanial etkinliği Tablo 4.4. ' de belirtilmiştir. Nisin A için hem  $IC_{50}$  hem de MPK değerlerinin >1280 µg/mL düzeyinde olması, maddenin

test edilen konsantrasyon aralığında anlamlı bir antileishmanial etkinlik göstermediğini ortaya koymaktadır.

**Tablo 4.4.** Nisinin *L. tropica* REF1 suşuna karşı IC<sub>50</sub> ve MPK değerleri (µg/mL).

Etken Maddeler	48. Saat		72. Saat	
	IC <sub>50</sub>	MPK	IC <sub>50</sub>	MPK
Nisin	>1280	>1280	>1280	>1280
Amfoterisin B	0,07	62,5	0,07	31,25
Miltefosin	6,54	16	5,32	16

IC<sub>50</sub>: % 50 inhibisyon konsantrasyonu; MPK: Minimum parazitisit konsantrasyon

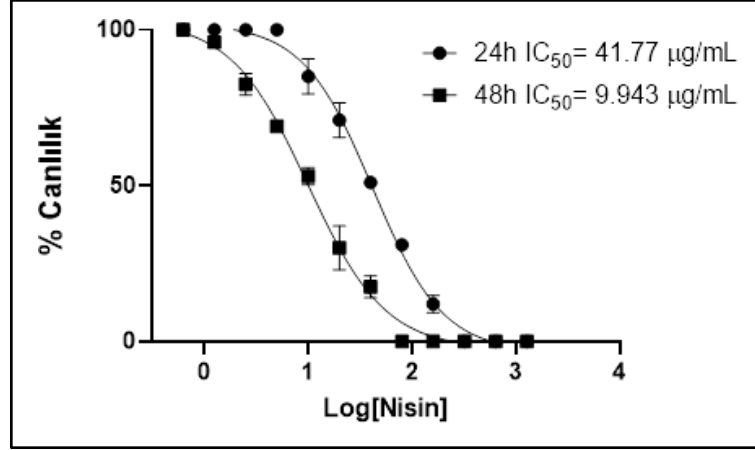
### *Trichomonas vaginalis* antitrikomonal aktivite sonuçları

Nisin ve konvansiyonel antitrikomonal ilaç olan metronidazolün *T. vaginalis* referans suşuna karşı antitrikomonal etkinliğini ifade eden IC<sub>50</sub> değerleri Tablo 4.5. ve Şekil 4.1., 4.2.,' de belirtilmiştir. Bu sonuçlar, nisinin *T. vaginalis* üzerinde yalnızca sınırlı bir inhibisyon oluşturmadığını, aynı zamanda süre uzadıkça daha düşük konsantrasyonlarda etkili hale geldiğini göstermektedir. Özellikle IC<sub>50</sub> değerlerinin her iki zaman noktasında da 100 µg/mL'nin altında bulunması, nisinin *T. vaginalis*'e karşı anlamlı düzeyde antitrikomonal etkinlik gösterdiğini ortaya koymaktadır.

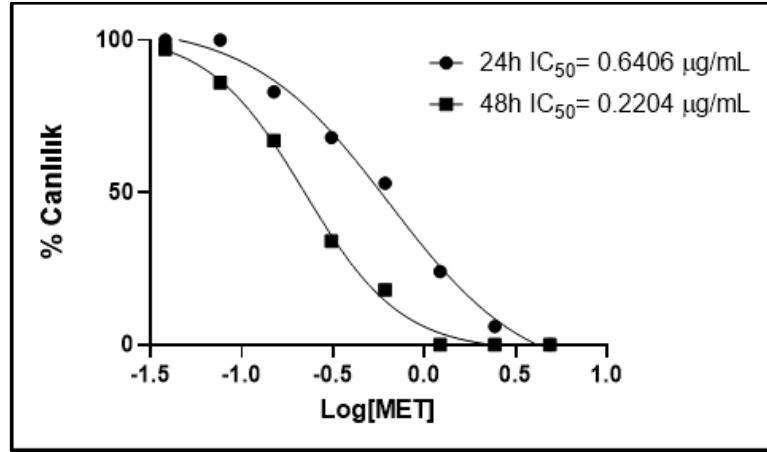
**Tablo 4.5.** Nisinin *T. vaginalis* ATCC 50143 suşuna karşı IC<sub>50</sub> ve MPK değerleri (µg/mL).

Etken Maddeler	24. Saat		48. Saat	
	IC <sub>50</sub>	MPK	IC <sub>50</sub>	MPK
Nisin	41,77	320	9,94	80
Metronidazol	0,64	2,44	0,22	1,22

IC<sub>50</sub>: % 50 inhibisyon konsantrasyonu; MPK: Minimum parazitisit konsantrasyon



Şekil 4.1. Nisin'in 24 ve 48. saatlerdeki antitrikomoniyal etkinliğini gösteren IC<sub>50</sub> değerleri



Şekil 4.2. Metronidazolün 24 ve 48. saatlerdeki antitrikomoniyal etkinliğini gösteren IC<sub>50</sub> değerleri

#### 4.4. Dama Tahtası (Checkerboard) Yöntemi Sonuçları

##### 4.4.1 Antibakteriyel Kombinasyon Sonuçları

Kombinasyon çalışmaları checkerboard yöntemi ile gerçekleştirildi. İnkübasyon sonunda, checkerboard mikropalakasında üremenin gözlenmediği en düşük konsantrasyonlardaki her bir kuyucuk için nisin ve antimikrobiyallere ait fraksiyonel inhibisyon konsantrasyonu (FİK) değerleri hesaplandı ve bu değerlerin toplamı alınarak fraksiyonel inhibisyon konsantrasyon indeksi (FİKİ) belirlendi. En küçük FİKİ değeri baz alınarak bakteriyosin ve test edilen antibiyotik kombinasyon sonuçları

değerlendirildi (bkz. Tablo 4.6. ve Tablo 4.7.). Bu çalışmada nisin A'nın farklı antibakteriyel ajanlarla kombinasyonlarının çeşitli klinik kökenli bakteriler ve referans parazitler üzerindeki etkileşimi değerlendirilmiştir.

Literatürde nisin–antibiyotik kombinasyonlarına yönelik çalışmaların sayısı oldukça sınırlı olup, mevcut araştırmaların büyük bölümü Gram-pozitif bakterilerle sınırlı kalmıştır. Bu çalışmada ise Gram-pozitif ve Gram-negatif bakterilerin yanı sıra referans parazit kökenlerinin de dâhil edilmesiyle, nisin kombinasyonlarının antimikrobiyal ve antiparaziter etkinliğinin kapsamlı bir şekilde değerlendirilmesi hedeflenmiş ve literatürdeki önemli bir boşluğun doldurulması amaçlanmıştır.

Nisin-tigesiklin kombinasyonu değerlendirildiğinde, *S. aureus* klinik kökenlerinin yalnızca birinde kısmi sinerji gözlenirken, *E. faecalis* kökenlerinin tamamında sinerjik etki saptandı. *E. coli* klinik kökenlerinin tamamında kısmi sinerji gözlemlendi, *K. pneumoniae* kökenlerinde bir izolat için sinerji, bir izolat için kısmi sinerji belirlendi. *P. aeruginosa* klinik kökenlerinin üçünde sinerji, birinde ise kısmi sinerji saptandı. Buna karşılık *A. baumannii* ve *E. faecium* klinik kökenlerinde nisin–tigesiklin kombinasyonu ile sinerjik etkileşim gözlenmedi.

Nisin-gentamisin kombinasyonunda *S. aureus*, *E. faecium*, *E. faecalis* ve *E. coli* kökenlerinde sinerjik etkileşim saptanmadı. *P. aeruginosa* kökenlerinden ikisinde sinerji, *K. pneumoniae* ve *A. baumannii* kökenlerinden birer izolat için kısmi sinerji belirlendi.

Nisin-klindamisin, nisin-vankomisin, nisin-linezolid, nisin–mupirosin ve nisin–fusidik asit kombinasyonları özellikle *S. aureus* klinik kökenlerinde belirgin sinerjik etkileşim gösterdiği belirlendi.

Nisin–linezolid kombinasyonunda *E. faecalis* kökenlerinin bir kısmında sinerji, bir kısmında ise kısmi sinerji gözlenirken, *E. faecium* kökenlerinden yalnızca birinde kısmi sinerji saptandı.

Nisin–mupirosin kombinasyonunda *E. faecium* ve *E. faecalis* kökenlerinde sınırlı düzeyde kısmi sinerji gözlemlendi.

Genel olarak elde edilen bulgular, nisin A'nın kombinasyon etkinliğinin bakteri türüne, kökene ve birlikte kullanılan antibakteriyel ajanın etki mekanizmasına bağlı olarak değişkenlik gösterdiğini ortaya koymuştur.

**Tablo 4.6.** Gram pozitif bakteri kökenlerine karşı kombinasyon sonuçları.

Klinik kökenler	TGC+Nisin	GN+Nisin	Van+Nisin	Lin+Nisin	Mup+Nisin	FA+Nisin	DA+Nisin
SA1	Etkisiz	Etkisiz	Sinerji	Sinerji	Sinerji	Sinerji	Sinerji
SA2	Etkisiz	Etkisiz	Sinerji	Sinerji	Sinerji	Sinerji	Sinerji
SA3	Etkisiz	Etkisiz	Sinerji	Sinerji	Sinerji	Sinerji	Sinerji
SA4	Etkisiz	Etkisiz	Sinerji	Sinerji	Sinerji	Sinerji	Sinerji
SA5	Kısmi sinerji	Etkisiz	Sinerji	Sinerji	Sinerji	Sinerji	Sinerji
FM1	Etkisiz	Etkisiz	Etkisiz	Kısmi sinerji	Kısmi sinerji		
FM2	Etkisiz	Etkisiz	Etkisiz	Etkisiz	Etkisiz		
FM3	Etkisiz	Etkisiz	Etkisiz	Etkisiz	Etkisiz		<b>TEST EDİLMEDİ</b>
FM4	Etkisiz	Etkisiz	Etkisiz	Etkisiz	Kısmi sinerji		
FM5	Etkisiz	Etkisiz	Etkisiz	Etkisiz	Kısmi sinerji		
FS1	Sinerji	Etkisiz	Etkisiz	Kısmi sinerji	Etkisiz		
FS2	Sinerji	Etkisiz	Etkisiz	Kısmi sinerji	Etkisiz		
FS3	Sinerji	Etkisiz	Etkisiz	Kısmi sinerji	Etkisiz		<b>TEST EDİLMEDİ</b>
FS4	Sinerji	Etkisiz	Etkisiz	Sinerji	Kısmi sinerji		
FS5	Sinerji	Etkisiz	Etkisiz	Sinerji	Etkisiz		

*FA: Fusidik asit; GN: Gentamisin; TGC: Tigesiklin; DA: Klindamisin; LIN: Linezolid; MUP: Mupirosin; VAN: Vankomisin; SA: Staphylococcus aureus; FM: Enterococcus faecium; FS: Enterococcus faecalis*

**Tablo 4.7.** Gram negatif bakteri kökenlerine karşı kombinasyon sonuçları.

Klinik kökenler	Tigesiklin + Nisin	Gentamisin + Nisin
EC1	Kısmi sinerji	Etkisiz
EC2	Kısmi sinerji	Etkisiz
EC3	Kısmi sinerji	Etkisiz
EC4	Kısmi sinerji	Etkisiz
EC5	Kısmi sinerji	Etkisiz
AB1	Etkisiz	Etkisiz
AB2	Etkisiz	Etkisiz
AB3	Etkisiz	Etkisiz
AB4	Etkisiz	Kısmi sinerji
AB5	Etkisiz	Etkisiz
KP1	Etkisiz	Etkisiz
KP2	Sinerji	Etkisiz
KP3	Etkisiz	Kısmi sinerji
KP4	Kısmi sinerji	Etkisiz
KP5	Etkisiz	Etkisiz
PA1	Kısmi sinerji	Etkisiz
PA2	Etkisiz	Etkisiz
PA3	Sinerji	Etkisiz
PA4	Sinerji	Sinerji
PA5	Sinerji	Sinerji

*KP: Klebsiella pneumoniae AB: Acinetobacter baumannii; PA: Pseudomonas aeruginosa; EC: Escherichia coli*

#### 4.4.2 Antiparaziter Kombinasyon Sonuçları

##### Antileishmanial İlaçlar ve Nisin Kombinasyon Sonuçları

Nisinin çözünebilir en yüksek ve en düşük sulandırma konsantrasyonları uygulanarak gerçekleştirilen denemelere rağmen, etkinliğin yalnızca yüksek konsantrasyonlarda gözlenebilmesi ve net bir MPK değerine ulaşamaması nedeniyle (bkz. Tablo 4.8.), Nisin A'nın antileishmanial ajanlarla kombinasyon çalışmalarına dahil edilmesi uygun bulunmamıştır. Bu bulgular, nisin A'nın promastigot form üzerindeki etkisinin sınırlı olduğunu ve bu formda antileishmanial ajan olarak kullanım potansiyelinin düşük kaldığını göstermektedir.

## Antitrikomonyal İlaç ve Nisin Kombinasyon Sonuçları

*Trichomonas vaginalis* suşuna karşı nisin–metronidazol kombinasyonunun değerlendirildiği deneylerde, hem 24 hem de 48 saatlik inkübasyon sürelerinde sinerjik etkileşim saptanmıştır (bkz. Tablo 4.8.). Ayrıca, nisin tek başına da güçlü bir antitrikomonyal etki göstermiş; bununla birlikte metronidazol dirençli referans *T. vaginalis* suşuna karşı sinerji oluşturması, elde edilen bulguların önemini artırmıştır.

**Tablo 4.8.** *L. tropica* ve *T. vaginalis* parazitlerine karşı kombinasyon sonuçları.

Kombinasyon	24. saat		48. saat	
	FİKİ	Etkileşim	FİKİ	Etkileşim
Nisin-Metronidazol	0,499	Sinerji	0,325	Sinerji
Nisin-Amfoterisin B	TEST EDİLMEDİ			
Nisin-Miltefosin	TEST EDİLMEDİ			

FİKİ: Fraksiyonel İnhibisyon Konsantrasyon İndeksi

## 5. TARTIŞMA

Modern tıbbın sunduğu tüm ilerlemelere rağmen, antibiyotiklerin bilinçsiz, yanlış ve aşırı kullanımı; bakteriyel ve paraziter etkenlerin mevcut tedavilere karşı hızla direnç geliştirmesine yol açarak küresel ölçekte ciddi bir sağlık tehdidi oluşturmaktadır. Antimikrobiyal direnç (AMR), hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelerde morbidite, mortalite ve ekonomik kayıpları artıran, 21. yüzyılın en kritik halk sağlığı sorunlarından biri hâline gelmiştir. Özellikle çoklu ilaca dirençli (Multiple Drug Resistance, MDR) bakteriler ile ilaç dirençli parazitlerin neden olduğu enfeksiyonlar, tedavi seçeneklerinin giderek sınırlanmasına ve klinik yönetimin zorlaşmasına neden olmaktadır (WHO; Roberts ve ark., 2009; Jain ve ark., 2023). Bu kritik tablo, klasik tedavileri tamamlayabilecek veya onların yerine geçebilecek yeni antimikrobiyal ajanların geliştirilmesini zorunlu hâle getirmiştir. Bu doğrultuda, doğal kaynaklı biyoaktif bileşikler—özellikle bitkisel bileşikler, peptitler ve mikrobiyal kökenli doğal ürünler—geniş spektrumlu aktiviteleri, düşük toksisite ve direnç gelişimini göreceli olarak yavaş indüklemeleri nedeniyle giderek daha fazla ilgi görmektedir (Cotter ve ark., 2012; Cavera ve ark., 2015; Darbandi ve ark., 2022).

Bu doğal bileşikler arasında mikrobiyal kökenli antimikrobiyal peptitler (AMP'ler), hedef hücre membranında oluşturdukları yapısal bozulmalar yoluyla etkili bakterisidal aktivite gösteren ve terapötik açıdan umut vadeden ajanlar olarak öne çıkmaktadır (Cleveland ve ark., 2001; Cavera ve ark., 2015; Corman ve ark., 2022). Geniş etki spektrumları, düşük toksisite ve direnç gelişimine karşı daha avantajlı olmaları nedeniyle bakteriyosinler hem tek başına hem de konvansiyonel antimikrobiyal ajanlarla kombinasyon hâlinde kullanılacak potansiyel terapötikler olarak değerlendirilmektedir (Naghmouchi ve ark., 2013; Mathur ve ark., 2017; Soltani ve ark., 2022; Kiouisi ve ark., 2023).

Son yıllarda yapılan çalışmalar, bakteriyosin–antibiyotik ve bakteriyosin–antiparaziter kombinasyonlarının sinerjik etki göstererek antimikrobiyal etkinliği artırabildiğini ve dirençli suşlara karşı alternatif tedavi seçenekleri sağlayabileceğini ortaya koymuştur (Naghmouchi ve ark., 2013; Mathur ve ark., 2017; Soltani ve ark., 2022; Kiouisi ve ark., 2023). Daha düşük dozlarda etkili olmaları, yan etkilerin azaltılması ve direnç gelişiminin sınırlandırılmasına katkıda bulunmaları bu kombinasyonları özellikle değerli kılmaktadır.

Bu bilgiden hareketle çalışmamızda 5 adet *S. aureus*, 5 adet *E. faecalis*, 5 adet *E. faecium*, 5 adet *E. coli*, 5 adet *K. pneumoniae*, 5 adet *P. aeruginosa* ve 5 adet *A. baumannii* bakteri kökenleri ile Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazit Bankası'ndan temin edilen referans *Leishmania tropica* ve *Trichomonas vaginalis* parazit kökenleri kullanılmıştır.

Bu çalışma, nisin temelli kombinasyonların sinerjik potansiyelini ortaya koyan bir ön *in vitro* araştırma niteliğindedir ve *in vivo* çalışmalar için güçlü bir temel oluşturmaktadır.

Çalışmamızda özellikle *S. aureus* klinik kökenlerinde nisin A'nın klindamisin, vankomisin, linezolid, mupirosin ve fusidik asit ile kombinasyonlarında tutarlı biçimde sinerjik etkileşim gözlenmesi dikkat çekici bir bulgudur. Bu durum, nisin A'nın hücre membranı üzerinde oluşturduğu geçirgenlik artışının (lipid II'ye bağlanarak membran üzerinde por oluşumunu tetikleyebilir), protein sentezi veya hücre duvarı sentezini hedefleyen antibakteriyel ajanların hücre içine girişini kolaylaştırmasıyla ilişkili olabilir. Bu yol ile hücre duvar/membran bütünlüğünden dolayı etkilenen antibiyotiklerin etkinliği artırılabilir. Gram-pozitif bakterilerin dış membran bariyerine sahip olmaması, nisin A'nın bu gruptaki bakterilerde daha etkin bir etken madde olarak davranmasını açıklamaktadır.

Nitekim Dosler ve ark. (2011) tarafından gerçekleştirilen çalışmada nisin ile vankomisin/kinolon kombinasyonlarında bazı izolatlarda sinerjik etkileşim gözlenmiş; time-kill analizlerinde nisin varlığının erken dönemde bakterisidal etkiyi güçlendirebildiği gösterilmiştir.

Çalışmamızda *S. aureus*'ta birden çok farklı hedefe sahip antibiyotik sınıfıyla sinerji gözlenmesi, nisin A'nın bu türde "kombinasyon uyumu olan bir etken" gibi davranabildiğini düşündürmektedir. Bu nokta "tek bir antibiyotikle sınırlı sinerji" yerine "birden fazla ajanla sinerji" görüldüğü söylenebilir.

*E. faecalis* kökenlerinde özellikle nisin–tigesiklin ve nisin–linezolid kombinasyonlarında sinerji ve kısmi sinerji gözlenmesi, bu türün hücre duvar yapısı ve ribozomal hedeflere duyarlılığı ile ilişkili olabilir.

Tong ve ark. (2014) *E. faecalis* üzerinde yaptıkları çalışmada, sub-inhibitör düzeyde nisin eklenmesinin (hücreyi duyarlı hale getirmek) çok sayıda antibiyotiğin aktivitesini artırabildiğini; belirli antibiyotiklerle sinerji görülebildiğini ve hücre yapısında belirgin hasar oluştuğunu raporlamıştır.

Buna karşın *E. faecium* kökenlerinde sinerjik etkinin büyük ölçüde sınırlı kalması, bu türün bilinen çoklu direnç mekanizmaları, hücre duvar kalınlığı ve antibiyotik hedeflerine erişimin kısıtlı olması ile açıklanabilir. Bu durum, enterokoklar arasında tür bazlı değerlendirme yapılmasının gerekliliğini ortaya koymaktadır.

VRE izolatlarında nisin'in bazı antibiyotiklerin MIC/MBC değerlerini düşürebildiğini ve belirli antibiyotiklerle sinerji yakalanabildiğini bildiren çalışmalar olsa da, sinerjinin her ajan ve her kökünde ortaya çıkmadığı vurgulanmaktadır. El-Kazzaz ve ark. (2020) VRE üzerinde nisin'in bazı antibiyotiklerin etkinliğini artırabildiğini ve belirli kombinasyonlarda sinerji saptandığını bildirmiştir.

Gram-negatif bakterilerde genel olarak nisin A'nın etkinliğinin sınırlı olduğu bilinmekle birlikte, bu çalışmada *P. aeruginosa* klinik kökenlerinin bir kısmında nisin–tigesiklin ve nisin–gentamisin kombinasyonlarında sinerjik etkileşim gözlenmesi dikkat çekicidir. Bu bulgu, bazı Gram-negatif kökenlerde dış membran geçirgenliğinin artmasına bağlı olarak Gram-negatiflerde “her zaman etkisiz” kalıbını kıran bir durum olduğu söylenebilir (Dosler ve ark., 2014; Ghapanvari ve ark., 2022). Nitekim Dosler ve ark., (2014) nisin ile antibiyotiklerin birlikte kullanımının *P. aeruginosa* biyofilmlerinin inhibisyonu ve eradikasyonunda tek başına kullanılan ajanlara kıyasla daha yüksek antibakteriyel etkinlik gösterdiğini bildirmiştir. Bu sinerjik etkinin, nisin'in hücre membranında por oluşturarak geçirgenliği artırması ve böylece antibiyotiklerin hücre içi hedeflerine erişimini kolaylaştırması ile ilişkili olduğu düşünülmektedir.

Ghapanvari ve ark. (2022) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada nisinin *Pseudomonas aeruginosa* suşlarında biyofilm oluşumunu inhibe ettiğini ve antibiyotik duyarlılığını artırdığını bildirmiştir. Bu bulgular, nisinin doğrudan bakterisidal etkisinin ötesinde, mikroorganizmaların antibiyotiklere karşı hassasiyetini artıran bir adjuvan ajan olarak değerlendirilebileceğini göstermektedir.

Nisin A'nın dolaylı bir membran bozucu etki gösterebileceğini düşündürmektedir. *A. baumannii* kökenlerinde sinerjinin gözlenmemesi ise bu bakterinin güçlü dış membran bariyeri ve çoklu direnç mekanizmaları ile uyumlu olduğu söylenebilir (Li ve ark., 2013).

*A. baumannii* kökenlerinde sinerjinin gözlenmemesi *A. baumannii* suşları güçlü dış membran bariyeri, porin değişimleri ve effluks sistemleri gibi nedenlerle çoklu direnç sergileyebildiğinden, bazı çalışmalar nisin'in Gram-negatiflerde sinerji için ek stratejilere ihtiyaç duyduğunu vurgulamaktadır (Li ve ark., 2013).

Sonuç olarak bu çalışmada nisin A'nın kombinasyon etkinliği Gram-pozitif patojenlerde daha tutarlı bir sinerjik profile işaret etmiş; özellikle *S.*

*aureus* klinik kökenlerinde birden fazla ajanla sinerji göstermesi nisin A'nın etken madde olarak kullanım potansiyelini desteklemiştir. *E. faecalis*'te sinerji eğilimi belirgin iken *E. faecium*'da sınırlı kalması, enterokoklarda tür ve köken bazlı değerlendirme gerekliliğini ortaya koymuştur. Gram-negatiflerde ise özellikle *P. aeruginosa* kökenlerinde gözlenen sinerji/kısmi sinerji, dış membran bariyerine rağmen bazı izolatlarda geçirgenlik temelli bir "duyarlılaşma" olabileceğini düşündürmektedir. Literatürde dış membranda yapısal bütünlüğün bozulması ile nisin duyarlılığının artabildiğini bildiren çalışmalar bu yorumu desteklemektedir.

*L. tropica* promastigot formları üzerindeki etkisi değerlendirildiğinde, nisin A'nın tek başına anlamlı inhibitör etki gösterebilmesi için yüksek konsantrasyonlara ihtiyaç duyduğu belirlenmiştir. Çalışmada nisin A için 48. ve 72. saatlerde IC<sub>50</sub> değerleri hesaplanamazken, MPK değerinin >1280 µg/mL olması, bu ajanın promastigot formlar üzerindeki etkinliğinin oldukça sınırlı olduğunu ortaya koymaktadır. Bu durum, *Leishmania*'nın ökaryotik hücre yapısına bağlı olarak hücre zarının lipid ve sterol kompozisyonunun bakterilerden belirgin şekilde farklı olmasıyla açıklanabilir (Van Meer ve ark., 2008).

Corman ve ark., (2022) tarafından gerçekleştirilen çalışmada bakteriyosin AS-48 ve modifiye edilmiş türevlerinin *Leishmania donovani* amastigotlarına karşı antileishmanial aktivitesi incelenmiş olup güçlü antileishmanial etkinlik gözlenmiştir. Araştırmacılar, peptidlerin yük, hidrofobisite ve membran etkileşim özelliklerinin optimize edilmesinin antiparaziter etkinliği belirgin şekilde artırdığını ortaya koymuştur. Bu bulgular, nisin A'nın doğal formunun sınırlı etkinliğinin, yapısal olarak optimize edilmemiş olmasına bağlı olabileceğini düşündürmektedir. Dolayısıyla, bakteriyosinlerin antiparaziter ajan olarak kullanım potansiyelinin artırılabilmesi için peptid mühendisliği, yapısal modifikasyonlar ve hedefe yönelik tasarım stratejilerinin önemli olduğu değerlendirilmektedir.

Nisin A'nın temel etki mekanizması, bakterilerde fosfolipit açısından zengin ve sterol içermeyen hücre zarında por oluşturarak membran permeabilitesini artırmasıdır (Brogden, 2005). Buna karşılık *Leishmania* türlerinde hücre zarında yer alan ergosterol benzeri steroller ve daha kompleks lipid organizasyonu, membran bütünlüğünü stabilize ederek bu tür antimikrobiyal peptidlerin membrana entegrasyonunu ve por oluşturma kapasitesini kısıtlayabilmektedir (Roberts ve ark., 2003). Bu yapısal farklılıklar göz önünde bulundurulduğunda, nisin A'nın promastigot formlar üzerindeki etkinliğinin bakterilere kıyasla daha düşük düzeyde kalması beklenen bir durum olarak değerlendirilebilir (Corman ve ark., 2022).

Bu doğrultuda elde edilen bulgular da nisin A'nın *L. tropica* promastigot formu üzerindeki etkinliğinin sınırlı olduğunu ortaya koymaktadır; yüksek konsantrasyonlarda dahi belirgin bir öldürücü etkinin gözlenmemesi ve net bir MPK değerine ulaşamaması, bu formda antileishmanial ajan olarak kullanım potansiyelinin düşük olduğunu düşündürmektedir.

*T. vaginalis* üzerine gerçekleştirilen değerlendirmelerde, nisin A'nın tek başına inhibitör etki gösterebildiği, ancak bu etkinliğin klasik antiparaziter ajanlara kıyasla daha yüksek konsantrasyon gerektirdiği belirlenmiştir. Elde edilen bulgular, nisin A'nın *T. vaginalis* üzerinde belirgin bir zaman bağımlı inhibitör ve parazitisidal etki gösterdiğini ortaya koymaktadır. Özellikle 48 saatlik inkübasyon süresinde IC<sub>50</sub> değerlerinde belirgin düşüş gözlenmesi, nisin A'nın parazit üzerinde kümülatif veya gecikmeli bir etki mekanizmasına sahip olabileceğini düşündürmektedir.

Nisin A'nın etkinliğindeki bu artış, hücre zarında oluşturduğu permeabilite değişikliklerinin zamanla birikmesi ve hücresel homeostazın sürdürülememesi ile açıklanabilir. Antimikrobiyal peptidlerin membran üzerinde oluşturduğu porlar aracılığıyla iyon dengesinin bozulması ve metabolik süreçlerin inhibisyonu, hücre ölümüne giden süreci tetiklemektedir (Brogden, 2005). Bununla birlikte, *T. vaginalis*'in ökaryotik hücre yapısı ve kolesterol içeren membran organizasyonu, bu tür peptidlerin etkisini

bakterilere kıyasla sınırlayabilmektedir (Van Meer ve ark., 2008). Tüm bu bulgular birlikte değerlendirildiğinde, nisin A'nın *T. vaginalis* üzerindeki doğrudan antiprotozoal ajan olarak kullanımı değerlendirilebilir.

Son yıllarda bakteriyosinlerin antiparaziter özelliklerine yönelik yapılan çalışmalar, bu moleküllerin özellikle hücre membran bütünlüğünü bozarak etkili olduğunu ortaya koymaktadır (Martín-Escolano ve ark., 2019; Corman ve ark., 2022; Robledo, 2023). Bu durum, nisin A'nın çalışmamızda *T. vaginalis* üzerindeki zaman bağımlı inhibitör etkisini destekler niteliktedir. Nisin A'nın 24. saatten 48. saate IC<sub>50</sub> ve MPK değerlerinde gözlenen belirgin düşüş, membran geçirgenliğinde meydana gelen kademeli artışın hücresel homeostazı bozarak parazit ölümüne yol açabileceğini düşündürmektedir. Bu çerçevede, çalışmamız kapsamında gerçekleştirilen kombinasyon deneylerinde nisin ile metronidazol arasında belirgin bir sinerjik etkileşim saptanmıştır. Mevcut literatürde nisin *T. vaginalis* üzerindeki etkisini inceleyen çalışmaların sınırlı olması ve kombinasyon temelli yaklaşımlara ilişkin verilerin yetersizliği göz önünde bulundurulduğunda, elde edilen bu bulguların özgün ve literatüre katkı sağlayıcı nitelikte olduğu değerlendirilmektedir.

Sonuç olarak bu çalışma, nisin A'nın bakteriler üzerinde belirgin antibakteriyel ve bazı kombinasyonlarda sinerjik etki gösterirken, protozoonlar üzerindeki etkinliğinin daha sınırlı ve organizmaya özgü olduğunu ortaya koymuştur. Bu durum, bakteriyosinlerin esas olarak prokaryotik hedeflere yönelik evrimleşmiş moleküller olduğunu, ökaryotik parazitlerde ise daha yüksek dozlar veya farklı kombinasyon stratejileri gerektirebileceğini göstermektedir.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında elde edilen bulgular, nisin A'nın farklı antibakteriyel ajanlarla kombinasyonlarının bakteri türüne ve klinik kökene bağlı olarak değişken sinerjik etkileşimler gösterebildiğini ortaya koymuştur. Checkerboard yöntemi ile saptanan bu etkileşimlerin doğrulanması amacıyla, özellikle sinerji ve kısmi sinerji gözlenen kombinasyonların zaman-ölüm (time-kill) analizleri ile değerlendirilmesi gerekmektedir. Bu yaklaşım, kombinasyonların yalnızca inhibisyon düzeyinde değil, bakterisidal kinetik üzerindeki etkilerinin de ortaya konulmasına olanak sağlayacaktır.

Elde edilen sonuçlar doğrultusunda, özellikle *S. aureus* klinik kökenlerinde birden fazla antibakteriyel ajan ile sinerji gösteren kombinasyonların biyofilm modellerinde test edilmesi önerilmektedir. Biyofilm yapıları, antibakteriyel ajanlara karşı daha dirençli olduğundan, nisin A'nın bu koşullarda etken madde gibi etki gösterip göstermediğinin değerlendirilmesi klinik açıdan daha anlamlı sonuçlar sağlayacaktır.

Gram-negatif bakterilerde sınırlı ancak dikkat çekici sinerji ve kısmi sinerji gözlenen kombinasyonların mekanizmasının aydınlatılması amacıyla, dış membran geçirgenliği ve bütünlüğünü değerlendiren deneysel yaklaşımların ileri çalışmalara dahil edilmesi gerekmektedir. Bu kapsamda membran geçirgenliği testleri, hücre yüzeyinde meydana gelen yapısal değişikliklerin ve nisin A'nın Gram-negatif bakterilerde olası etken madde rolünün daha net ortaya konmasına katkı sağlayacaktır.

Enterokok türleri arasında gözlenen sinerji farklılıkları dikkate alındığında, özellikle *Enterococcus faecium* kökenlerinde sinerjinin sınırlı kalmasının altında yatan nedenlerin araştırılması önemlidir. Bu doğrultuda, direnç mekanizmalarının moleküler düzeyde incelenmesi, hücre duvar

yapısının ve antibiyotik hedeflerine erişimin değerlendirilmesi, tür ve köken bazlı farklılıkların açıklanmasına katkı sağlayabilir.

Kombinasyonların potansiyel klinik kullanımının değerlendirilebilmesi için, sinerji gösteren nisin A kombinasyonlarının güvenlik profillerinin ortaya konması gerekmektedir. Bu amaçla ileri çalışmalarda sitotoksosite ve hemoliz testlerinin yapılması, ayrıca seçicilik indeksinin hesaplanması gerekmektedir. Böylece elde edilen antibakteriyel etkinliğin konak hücreler üzerindeki olası olumsuz etkileriyle birlikte değerlendirilmesi mümkün olacaktır.

Bu çalışmadan elde edilen bulguların genellenebilirliğinin artırılması için, ileri çalışmalarda daha geniş bir klinik izolat paneli ve farklı direnç profillerine sahip suşların değerlendirilmesi önerilmektedir. Ayrıca nisin A'nın farklı bakteriyosinler ve nisin varyantları ile karşılaştırmalı analizlerinin yapılması, kombinasyon stratejilerinin optimize edilmesine ve daha etkili antimikrobiyal yaklaşımların geliştirilmesine olanak sağlayabilir.

Bu çalışmada elde edilen bulgular doğrultusunda, *L. tropica* üzerine yapılan değerlendirmelerde yalnızca promastigot formun incelenmiş olması, klinik açıdan daha anlamlı olan amastigot form üzerindeki etkinliğin ayrıca araştırılmasını gerekli kılmaktadır. Bu kapsamda, gelecekte gerçekleştirilecek çalışmalarda makrofaj–amastigot model sistemlerinin kullanılması önerilmektedir.

Nisin A'nın *L. tropica* üzerine etkisinin daha kapsamlı değerlendirilebilmesi için, daha yüksek konsantrasyonlarda çözünmesine olanak sağlayan alternatif çözücü maddeler kullanılarak etkinlik ve kombinasyon çalışmalarının yeniden planlanması önerilmektedir.

Nisin A'nın protozoonlar üzerindeki etkinliğinin sınırlı düzeyde kalması, bu ajanın tek başına kullanımından ziyade farklı antiparaziter ajanlar, antimikrobiyal peptitler veya membran geçirgenliğini artırıcı yardımcı bileşenlerle kombinasyonlarının araştırılmasının daha uygun bir

yaklaşım olacağını göstermektedir. Bu doğrultuda, kombinasyonların kantitatif sinerji analizleri ile değerlendirilmesi önerilmektedir.

*T. vaginalis* üzerinde gözlenen zaman bağımlı etkinlik dikkate alındığında, ileri çalışmalarda bu etkinin altında yatan mekanizmaların detaylı olarak aydınlatılması önem arz etmektedir. Özellikle membran bütünlüğü, iyon dengesi ve hücre ölümü mekanizmalarının moleküler düzeyde incelenmesi önerilmektedir. Ayrıca, Metronidazol direnci gelişmiş klinik suşlarda nisin A'nın alternatif veya destekleyici bir ajan olarak değerlendirilmesi potansiyel bir araştırma alanı olarak öne çıkmaktadır.

Bunun yanı sıra, protozoonlara karşı daha etkin sonuçlar elde edilebilmesi amacıyla nisin A'nın nano-taşıyıcı sistemler, lipozomlar veya farklı farmasötik formülasyonlar ile uygulanmasının değerlendirilmesi önerilmektedir. Bu tür yaklaşımlar, ajanın biyoyararlanımını artırarak hedef hücreye ulaşımını kolaylaştırabilir ve terapötik etkinliğini artırabilir.

## KAYNAKLAR

- Abedon S.T., Kuhl S.J., Blasdel B.G., Kutter E.M. Phage treatment of human infections. *Bacteriophage*. 2011;1:66–85. doi: 10.4161/bact.1.2.15845.
- Ahmad, V., Khan, M. S., Jamal, Q. M. S., Alzohairy, M. A., Al Karaawi, M. A., & Siddiqui, M. U. (2017). Antimicrobial potential of bacteriocins: in therapy, agriculture and food preservation. *International journal of antimicrobial agents*, 49(1), 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2016.08.016>
- Aksoy Gökmen, A., Girginkardeşler, N., Kilimcioğlu, A. A., Şirin, M. C., & Özbilgin, A. (2016). *Trichomonas vaginalis*'in metronidazol, ornidazol ve proton pompa inhibitörleri pantoprazol ve esomeprazole karşı in vitro duyarlılığı [In vitro susceptibility of *Trichomonas vaginalis* to metronidazole, ornidazole and proton pump inhibitors pantoprazole and esomeprazole]. *Mikrobiyoloji bulteni*, 50(1), 133–139.
- Aldarhami A. Identification of novel bacteriocin against *Staphylococcus* and *Bacillus* species. *Int J Health Sci (Qassim)*. 2023 Sep-Oct;17(5):15-22. PMID: 37692990; PMCID: PMC10484066.
- Antimicrobial susceptibility testing, In: *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*, 6th edition, Eds: Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC, Lippincott, New York, 1997.
- Arthur, T. D., Cavera, V. L., & Chikindas, M. L. (2014). On bacteriocin delivery systems and potential applications. *Future microbiology*, 9(2), 235–248. <https://doi.org/10.2217/fmb.13.148>
- Asutay D., 2007, Yöresel bir gıdadan izole edilen bakteriyosin üreten bakterinin teşhisi ve bakteriyosin karakterizasyonu, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, 95-89.
- Bapna, M. S., Murphy, R., & Mukherjee, S. (1988). Inhibition of bacterial colonization by antimicrobial agents incorporated into dental resins. *Journal of oral rehabilitation*, 15(5), 405–411. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2842.1988.tb00176.x>
- Berry, E.D., Lieven, R.W., Mandigo, R.W. and Hutkins, R.W. 1990. Inhibition of *Listeria monocytogenes* by bacterocin producing *Pediococcus* during the manufacture of fermented semi-dry sausage. *Journal of Food Protection*, 54; 194-197.
- Bisht, V., Das, B., Hussain, A. *et al.* Understanding of probiotic origin antimicrobial peptides: a sustainable approach ensuring food safety. *npj Sci Food* 8, 67 (2024). <https://doi.org/10.1038/s41538-024-00304-8>
- Breukink, E. (2006), A lesson in efficient killing from two-component lantibiotics. *Molecular Microbiology*, 61: 271-273. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2006.05239.x>
- Brogden, K. Antimicrobial peptides: pore formers or metabolic inhibitors in bacteria?. *Nat Rev Microbiol* 3, 238–250 (2005). <https://doi.org/10.1038/nrmicro1098>
- Cavera, V. L., Arthur, T. D., Kashtanov, D., & Chikindas, M. L. (2015). Bacteriocins and their position in the next wave of conventional antibiotics. *International journal of antimicrobial agents*, 46(5), 494–501. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2015.07.011>
- Chen, H. and Hoover, D.G. 2003. Bacteriocins and their food applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2; 82-100.
- Cleveland, J., Montville, T. J., Nes, I. F., & Chikindas, M. L. (2001). Bacteriocins: safe, natural antimicrobials for food preservation. *International journal of food microbiology*, 71(1), 1–20. [https://doi.org/10.1016/s0168-1605\(01\)00560-8](https://doi.org/10.1016/s0168-1605(01)00560-8)

Clinical and Laboratory Standards Institute. Methods for dilution antimicrobial susceptibility testing for bacteria that grow aerobically. Approved standard M7-A7, Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, 2006.

Corman HN, Ross JN, Fields FR, Shoue DA, McDowell MA, Lee SW. Rationally Designed Minimal Bioactive Domains of AS-48 Bacteriocin Homologs Possess Potent Antileishmanial Properties. *Microbiol Spectr*. 2022 Dec 21;10(6):e0265822. doi: 10.1128/spectrum.02658-22. Epub 2022 Nov 7. PMID: 36342284; PMCID: PMC9769502.

Cotter P.D., Ross R., Hill C. Bacteriocins—A viable alternative to antibiotics? *Nat. Rev. Genet*. 2012;11:95–105. doi: 10.1038/nrmicro2937.

Cotter, P. D., Ross, R. P., & Hill, C. (2013). Bacteriocins - a viable alternative to antibiotics?. *Nature reviews. Microbiology*, 11(2), 95–105. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2937>

Croft, S. L., Sundar, S., & Fairlamb, A. H. (2006). Drug resistance in leishmaniasis. *Clinical microbiology reviews*, 19(1), 111–126. <https://doi.org/10.1128/CMR.19.1.111-126.2006>

Darbandi, A., Asadi, A., Mahdizade Ari, M., Ohadi, E., Talebi, M., Halaj Zadeh, M., Darb Emamie, A., Ghanavati, R., & Kakanj, M. (2022). Bacteriocins: Properties and potential use as antimicrobials. *Journal of clinical laboratory analysis*, 36(1), e24093. <https://doi.org/10.1002/jcla.24093>

de Castro A.P., Franco O.L. Modifying natural antimicrobial peptides to generate bioinspired antibiotics and devices. *Futur. Med. Chem*. 2015;7:413–415. doi: 10.4155/fmc.15.8.

Delves-Broughton, J., Blackburn, P., Evans, R. J., & Hugenholtz, J. (1996). Applications of the bacteriocin, nisin. *Antonie van Leeuwenhoek*, 69(2), 193–202. <https://doi.org/10.1007/BF00399424>

De Vuyst, L., & Leroy, F. (2007). Bacteriocins from lactic acid bacteria: production, purification, and food applications. *Journal of molecular microbiology and biotechnology*, 13(4), 194–199. <https://doi.org/10.1159/000104752>

Dosler, S., & Gerceker, A. A. (2011). In vitro activities of nisin alone or in combination with vancomycin and ciprofloxacin against methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* strains. *Chemotherapy*, 57(6), 511–516. <https://doi.org/10.1159/000335598>

Dosler, S., & Karaaslan, E. (2014). Inhibition and destruction of *Pseudomonas aeruginosa* biofilms by antibiotics and antimicrobial peptides. *Peptides*, 62, 32–37. <https://doi.org/10.1016/j.peptides.2014.09.021>

Draper L.A., Cotter P.D., Hill C., Ross R. Lantibiotic Resistance. *Microbiol. Mol. Biol. Rev*. 2015;79:171–191. doi: 10.1128/MMBR.00051-14.

Eckner, K.F. 1992 Bacteriocins and food applications. *Dairy, Food and Environmental Sanitation* 12, 204–209.

El-Gendy, Ahmed & Essam, Tamer & Amin, Magdy & Ahmed, Shaban. (2012). Clinical Screening for Bacteriocinogenic *Enterococcus faecalis* Isolated from Intensive Care Unit Inpatient in Egypt. *Journal of Microbial & Biochemical Technology*. 4. 161-167. 10.4172/1948-5948.1000089.

Eliopoulos G, Moellering R. 1996. Antimicrobial combinations, p 330–396. In Lorian V (ed), *Antibiotics in laboratory medicine*. The Williams & Wilkins Co, Baltimore, MD.

El-Kazzaz, S. S., & Abou El-Khier, N. T. (2020). Effect of the lantibiotic nisin on inhibitory and bactericidal activities of antibiotics used against vancomycin-resistant enterococci. *Journal of global antimicrobial resistance*, 22, 263–269. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2020.02.031>

EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 13.0, 2023. <http://www.eucast.org>.

Field D., Connor P.M.O., Cotter P.D., Hill C., Ross R.P. The generation of nisin variants with enhanced activity against specific Gram-positive pathogens. *Mol. Microbiol.* 2008;69:218–230. doi: 10.1111/j.1365-2958.2008.06279.x

Field, D., Cotter, P. D., Ross, R. P., & Hill, C. (2015). Bioengineering of the model lantibiotic nisin. *Bioengineered*, 6(4), 187–192. <https://doi.org/10.1080/21655979.2015.1049781>

Garcia, L. S. (Ed.). 2007. *Clinical microbiology procedures handbook* (3rd ed.). ASM Press.

Ghapanvari, P., Taheri, M., Jalilian, F. A., Dehbashi, S., Dezfuli, A. A. Z., & Arabestani, M. R. (2022). The effect of nisin on the biofilm production, antimicrobial susceptibility and biofilm formation of *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. *European journal of medical research*, 27(1), 173. <https://doi.org/10.1186/s40001-022-00804-x>

Ghosh C., Sarkar P., Issa R., Haldar J. Alternatives to Conventional Antibiotics in the Era of Antimicrobial Resistance. *Trends Microbiol.* 2019;27:323–338. doi: 10.1016/j.tim.2018.12.010

Hansen, J.N. 1994. Nisin as a model food preservative. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 34 (1); 69-93.

Henning, S., Metz, R. and Hammes, W.P. 1986. Studies on the mode of action of nisin. *International Journal of Food Microbiology*, 3; 121-134.

Hernández-González, J. C., Martínez-Tapia, A., Lazcano-Hernández, G., García-Pérez, B. E., & Castrejón-Jiménez, N. S. (2021). Bacteriocins from Lactic Acid Bacteria. A Powerful Alternative as Antimicrobials, Probiotics, and Immunomodulators in Veterinary Medicine. *Animals : an open access journal from MDPI*, 11(4), 979. <https://doi.org/10.3390/ani11040979>

<https://www.who.int/initiatives/glass>

<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>

Hryniewicz, W., & Tagg, J. R. (1976). Bacteriocin production by group a streptococcal L-forms. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 10(6), 912–914. <https://doi.org/10.1128/AAC.10.6.912>

Jack, R. W., Tagg, J. R., & Ray, B. (1995). Bacteriocins of gram-positive bacteria. *Microbiological reviews*, 59(2), 171–200. <https://doi.org/10.1128/mr.59.2.171-200.1995>

Jain M, Stitt G, Son L, Enioutina EY. Probiotics and Their Bioproducts: A Promising Approach for Targeting Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* and Vancomycin-Resistant *Enterococcus*. *Microorganisms*. 2023 Sep 25;11(10):2393. doi: 10.3390/microorganisms11102393. PMID: 37894051; PMCID: PMC10608974.

Joo, N. E., Ritchie, K., Kamarajan, P., Miao, D., & Kapila, Y. L. (2012). Nisin, an apoptogenic bacteriocin and food preservative, attenuates HNSCC tumorigenesis via CHAC1. *Cancer medicine*, 1(3), 295–305. <https://doi.org/10.1002/cam4.35>

Kassambara A MF. 2017. Practical guide to principal component methods in R: PCA, M (CA), FAMD, MFA, HCPC, factoextra.

Kastin A. J. 2006. *Handbook of Biologically Active Peptides* (1st ed.). Academic Press.

Kastin, A. J. (Ed.). (2013). *Handbook of biologically active peptides* (2nd ed.). Academic Press.

Kioui DE, Efstathiou C, Tzampazlis V, Plessas S, Panopoulou M, Koffa M and Galanis A (2023) Genetic and phenotypic assessment of the antimicrobial activity of three potential

probiotic lactobacilli against human enteropathogenic bacteria. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 13:1127256. doi: 10.3389/fcimb.2023.1127256

Kirkup B. C., Jr (2006). Bacteriocins as oral and gastrointestinal antibiotics: theoretical considerations, applied research, and practical applications. *Current medicinal chemistry*, 13(27), 3335–3350. <https://doi.org/10.2174/092986706778773068>

Klaenhammer, T.R. 1988. Bacteriocins of lactic acid bacteria. *Biochemie*, 70; 337-349.

Koponen, O. 2004, Studies of producer self-protection and nisin biosynthesis of *Lactococcus lactis*, Doctoral Dissertation, Institute of Biotech., Department of Applied Chemistry and Microbiology, Helsinki, 69 p.

Kumar, A., Singh, S. K., Kant, C., Verma, H., Kumar, D., Singh, P. P., Modi, A., Droby, S., Kesawat, M. S., Alavilli, H., Bhatia, S. K., Saratale, G. D., Saratale, R. G., Chung, S. M., & Kumar, M. (2021). Microbial Biosurfactant: A New Frontier for Sustainable Agriculture and Pharmaceutical Industries. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 10(9), 1472. <https://doi.org/10.3390/antiox10091472>

Li YJ, Pan CZ, Zhao ZW, Zhao ZX, Chen HL, Lu WB. Effects of a combination of amlodipine and Imipenem on 42 clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* obtained from a teaching hospital in Guangzhou, China. *BMC Infect Dis*, 2013, 13:1-9.

Martín-Escolano R, Cebrián R, Martín-Escolano J, Rosales MJ, Maqueda M, Sánchez-Moreno M, Marín C. Insights into Chagas treatment based on the potential of bacteriocin AS-48. *Int J Parasitol Drugs Drug Resist.* 2019 Aug;10:1-8. doi: 10.1016/j.ijpddr.2019.03.003. Epub 2019 Mar 29. PMID: 30953804; PMCID: PMC6447751.

Mathur H, Field D, Rea MC, Cotter PD, Hill C, Ross RP. Bacteriocin-Antimicrobial Synergy: A Medical and Food Perspective. *Front Microbiol.* 2017 Jun 29;8:1205. doi: 10.3389/fmicb.2017.01205. PMID: 28706513; PMCID: PMC5489601.

Mathur, H., Field, D., Rea, M. C., Cotter, P. D., Hill, C., & Ross, R. P. (2018). Fighting biofilms with lantibiotics and other groups of bacteriocins. *NPJ biofilms and microbiomes*, 4, 9. <https://doi.org/10.1038/s41522-018-0053-6>

Montesinos E. (2007). Antimicrobial peptides and plant disease control. *FEMS microbiology letters*, 270(1), 1–11. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2007.00683.x>

Motlagh, A.M., Johnson, M.C. and Ray, B. 1991. Viability loss of food-borne pathogens by starter culture metabolites. *Journal of Food Protection*, 54; 873-878.

Naghmouchi K, Baah J, Hober D, Jouy E, Rubrecht C, Sané F, Drider D. Synergistic effect between colistin and bacteriocins in controlling Gram-negative pathogens and their potential to reduce antibiotic toxicity in mammalian epithelial cells. *Antimicrob Agents Chemother.* 2013 Jun;57(6):2719-25. doi: 10.1128/AAC.02328-12. Epub 2013 Apr 9. PMID: 23571533; PMCID: PMC3716138.

Navarro, L., Zarazaga, M., Sáenz, J., Ruiz-Larrea, F., & Torres, C. (2000). Bacteriocin production by lactic acid bacteria isolated from Rioja red wines. *Journal of applied microbiology*, 88(1), 44–51. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2000.00865.x>

Ovchinnikov KV, Kranjec C, Thorstensen T, Carlsen H, Diep DB. Bacteriocins Revitalize Non-Effective Penicillin G to Overcome Methicillin-Resistant *Staphylococcus pseudintermedius*. *Antibiotics (Basel)*. 2022 Nov 24;11(12):1691. doi: 10.3390/antibiotics11121691. PMID: 36551348; PMCID: PMC9774949.

Quintana, V. M., Torres, N. I., Wachsmann, M. B., Sinko, P. J., Castilla, V., & Chikindas, M. (2014). Antiherpes simplex virus type 2 activity of the antimicrobial peptide subtilisin. *Journal of applied microbiology*, 117(5), 1253–1259. <https://doi.org/10.1111/jam.12618>

Pankey GA, Sabath LD. 2004. Clinical relevance of bacteriostatic versus bactericidal mechanisms of action in the treatment of Gram-positive bacterial infections. *Clin Infect Dis* 38:864–870. <https://doi.org/10.1086/381972>.

Pugsley A. P. (1984). The ins and outs of colicins. Part I: Production, and translocation across membranes. *Microbiological sciences*, 1(7), 168–175.

Reunanen, Justus. (2007). Lantibiotic Nisin and Its Detection Methods.

Riley, M. A., & Wertz, J. E. (2002). Bacteriocins: evolution, ecology, and application. *Annual review of microbiology*, 56, 117–137. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.56.012302.161024>

Roberts, C. W., McLeod, R., Rice, D. W., Ginger, M., Chance, M. L., & Goad, L. J. (2003). Fatty acid and sterol metabolism: potential antimicrobial targets in apicomplexan and trypanosomatid parasitic protozoa. *Molecular and biochemical parasitology*, 126(2), 129–142. [https://doi.org/10.1016/s0166-6851\(02\)00280-3](https://doi.org/10.1016/s0166-6851(02)00280-3)

Roberts, J. A., & Lipman, J. (2009). Pharmacokinetic issues for antibiotics in the critically ill patient. *Critical care medicine*, 37(3), 840–859. <https://doi.org/10.1097/CCM.0b013e3181961bff>

Robledo, S. M., Pérez-Silanes, S., Fernández-Rubio, C., Poveda, A., Monzote, L., González, V. M., Alonso-Collado, P., & Carrión, J. (2023). Neglected Zoonotic Diseases: Advances in the Development of Cell-Penetrating and Antimicrobial Peptides against Leishmaniasis and Chagas Disease. *Pathogens (Basel, Switzerland)*, 12(7), 939. <https://doi.org/10.3390/pathogens12070939>

Rodríguez, J. M., Martínez, M. I., & Kok, J. (2002). Pediocin PA-1, a wide-spectrum bacteriocin from lactic acid bacteria. *Critical reviews in food science and nutrition*, 42(2), 91–121. <https://doi.org/10.1080/10408690290825475>

Sahl, H.G., Kordel, M. and Benz, R. 1987. Voltage-dependent depolarization of bacterial membranes and artificial lipid bilayers by the peptide antibiotic nisin. *Archives of Microbiology*, 149; 120–124.

Sahl, H-G., Jack, R.W. and Bierbaum, G. 1995. Biosynthesis and biological activities of lantibiotics with unique post translation modifications. *European Journal of Biochemistry*, 230; 827-853.

Schwalbe, R., Steele-Moore, L., & Goodwin, A. C. (Eds.). (2007). Antimicrobial susceptibility testing protocols. CRC Press.

Severina, E., Severin, A., & Tomasz, A. (1998). Antibacterial efficacy of nisin against multidrug-resistant Gram-positive pathogens. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, 41(3), 341–347. <https://doi.org/10.1093/jac/41.3.341>

Sharafi T, Ghaemi EA, Rafiee M, Ardebili A. Combination antimicrobial therapy: in vitro synergistic effect of anti-staphylococcal drug oxacillin with antimicrobial peptide nisin against *Staphylococcus epidermidis* clinical isolates and *Staphylococcus aureus* biofilms. *Ann Clin. Microbiol Antimicrob.* 2024 Jan 20;23(1):7. doi: 10.1186/s12941-024-00667-6. PMID: 38245727; PMCID: PMC10800071.

Shin, J. M., Gwak, J. W., Kamarajan, P., Fenno, J. C., Rickard, A. H., & Kapila, Y. L. (2016). Biomedical applications of nisin. *Journal of applied microbiology*, 120(6), 1449–1465. <https://doi.org/10.1111/jam.13033>

Soltani S, Biron E, Ben Said L, Subirade M, Fliess I. Bacteriocin-Based Synergetic Consortia: a Promising Strategy to Enhance Antimicrobial Activity and Broaden the Spectrum of Inhibition. *Microbiol Spectr.* 2022 Feb 23;10(1):e0040621. doi: 10.1128/spectrum.00406-21. Epub 2022 Feb 16. PMID: 35170996; PMCID: PMC8849083.

- Sugrue, I., Ross, R. P., & Hill, C. (2024). Bacteriocin diversity, function, discovery and application as antimicrobials. *Nature reviews. Microbiology*, 22(9), 556–571. <https://doi.org/10.1038/s41579-024-01045-x>
- Sutyak, K. E., Anderson, R. A., Dover, S. E., Feathergill, K. A., Aroutcheva, A. A., Faro, S., & Chikindas, M. L. (2008). Spermicidal activity of the safe natural antimicrobial peptide subtilisin. *Infectious diseases in obstetrics and gynecology*, 2008, 540758. <https://doi.org/10.1155/2008/540758>.
- Tamma, P. D., Cosgrove, S. E., & Maragakis, L. L. (2012). Combination therapy for treatment of infections with gram-negative bacteria. *Clinical microbiology reviews*, 25(3), 450–470. <https://doi.org/10.1128/CMR.05041-11>
- Telhig S, Ben Said L, Torres C, Rebuffat S, Zirah S, Fliss I. Evaluating the Potential and Synergetic Effects of Microcins against Multidrug-Resistant *Enterobacteriaceae*. *Microbiol Spectr*. 2022 Jun 29;10(3):e0275221. doi: 10.1128/spectrum.02752-21. Epub 2022 May 11. PMID: 35543514; PMCID: PMC9241698.
- Teuber, M. 1995. The genus *Lactococcus*, in the lactic acid bacteria, the genera of lactic acid bacteria. Blackie Academics and Professionals, 2; 173-235.
- Todorov, S. D., Popov, I., Weeks, R., & Chikindas, M. L. (2022). Use of Bacteriocins and Bacteriocinogenic Beneficial Organisms in Food Products: Benefits, Challenges, Concerns. *Foods (Basel, Switzerland)*, 11(19), 3145. <https://doi.org/10.3390/foods11193145>
- Tong, Z., Zhang, Y., Ling, J., Ma, J., Huang, L., & Zhang, L. (2014). An in vitro study on the effects of nisin on the antibacterial activities of 18 antibiotics against *Enterococcus faecalis*. *PloS one*, 9(2), e89209. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0089209>
- Twomey, D., Ross, R.P., Ryan, M., Meany, B., Hill, C. 2002. Lantibiotics produced by lactic acid bacteria: structure, function and application. *Antonie van Leeuwenhoek*, 82; 165-185.
- Upcroft, P., & Upcroft, J. A. (2001). Drug targets and mechanisms of resistance in the anaerobic protozoa. *Clinical microbiology reviews*, 14(1), 150–164. <https://doi.org/10.1128/CMR.14.1.150-164.2001>
- Vaara M. (1992). Agents that increase the permeability of the outer membrane. *Microbiological reviews*, 56(3), 395–411. <https://doi.org/10.1128/mr.56.3.395-411.1992>
- Van Meer, G., Voelker, D. R., & Feigenson, G. W. (2008). Membrane lipids: where they are and how they behave. *Nature reviews. Molecular cell biology*, 9(2), 112–124. <https://doi.org/10.1038/nrm2330>
- Wu, J., Hu, S., & Cao, L. (2007). Therapeutic effect of nisin Z on subclinical mastitis in lactating cows. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 51(9), 3131–3135. <https://doi.org/10.1128/AAC.00629-07>
- Wu, R., Patocka, J., Nepovimova, E., Oleksak, P., Valis, M., Wu, W., & Kuca, K. (2021). Marine Invertebrate Peptides: Antimicrobial Peptides. *Frontiers in microbiology*, 12, 785085. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.785085>
- Zgheib H, Drider D, Belguesmia Y. Broadening and Enhancing Bacteriocins Activities by Association with Bioactive Substances. *Int J Environ Res Public Health*. 2020 Oct 26;17(21):7835. doi: 10.3390/ijerph17217835. PMID: 33114656; PMCID: PMC7663325.
- Zhang, H., Lv, J., Ma, Z., Ma, J., & Chen, J. (2025). Advances in Antimicrobial Peptides: Mechanisms, Design Innovations, and Biomedical Potential. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 30(7), 1529. <https://doi.org/10.3390/molecules30071529>

Zimet, Patricia & Raffaelli, Sofia & Faccio, Ricardo & Alborés, Silvana & Pardo, Helena. (2024). Development of Nisin-Loaded PEO Electrospun Nanofibers with Antibacterial Activity. *Journal of the Brazilian Chemical Society*. 36. 10.21577/0103-5053.20240210.

## ÖZGEÇMİŞ

<b>Kişisel Bilgiler</b>	
<b>Adı Soyadı</b>	Feride ÇETİN
<b>Eğitim</b>	
<b>Lise</b>	Anadolu Turgutlu Lisesi (2012-2016)
<b>Lisans</b>	Aksaray Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoteknoloji ve Moleküler Biyoloji (2016-2020)
<b>Yüksek Lisans</b>	Balıkesir Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı (2023-2026)
<b>Yabancı Dil Bilgisi</b>	
<b>İngilizce</b>	Orta seviye
<b>Üye Olunan Mesleki Kuruluşlar</b>	
<b>Kuruluş Adı</b>	-



Eğitimde, bilimde, sanatta çağdaş...



Balıkesir Üniversitesi  
Tıp Fakültesi Dekanlık Binası  
Çağış Yerleşkesi/BALIKESİR



(0 266) 612 14 62  
sagbilen@balikesir.edu.tr  
<http://www.balikesir.edu.tr>

