



Bu makaleye şu şekilde atıf yapılır: Güneş E.ve Alkan S. (202). *Ramaria aurea* Ekstraktlarının Anti-MRSA ve Antimikrobiyal Aktivitesinin Belirlenmesi, *Mantar Dergisi*, 15(2), 79-86.

Geliş(Received) :11.07.2024

Kabul(Accepted) :07.08.2024

Araştırma Makalesi


Doi: 10.30708/mantar.1514853

***Ramaria aurea* Ekstraktlarının Anti-MRSA ve Antimikrobiyal Aktivitesinin Belirlenmesi**

Erdoğan GÜNEŞ^{1*}, Sinan ALKAN²

*Sorumlu yazar: erdogangunes@selcuk.edu.tr

¹ Selçuk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü/ erdogangunes@selcuk.edu.tr 

² Selçuk Üniversitesi, Çumra UBYO, Organik Tarım İşletmeciliği Bölümü/
sinanalkan@selcuk.edu.tr 

Öz: Bulaşıcı hastalıklar yıllardan beri dünya çapında ölümlerin önde gelen nedenlerinden biridir. Özellikle çoklu ilaç direncine sahip Metisiline Dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) suşları, dünya çapında halk sağlığını tehdit eden en önemli unsurların başında gelir. *Basidiomycetes* grubu mantarlar umut verici bir antibakteriyel bileşik kaynağı olarak bilinmektedirler. Bu çalışmada *Ramaria aurea* (Schaeff.) Quél.'nın metanol ve etanol ekstraktlarının patojen standart mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal ve klinik örneklerden izole edilen MRSA suşlarına karşı anti-MRSA aktivitesinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Antimikrobiyal aktiviteyi belirlemek için sıvı mikrodilüsyon metodu kullanılmıştır. Kullanılan suşlara ekstraktların 12.5-0.006 mg/ml arasındaki konsantrasyonları uygulanmıştır. Metanol ve etanol ekstraktlarının, standart bakteri suşlarına karşı 0.19-6.25 mg/ml aralığındaki dozlarda antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu tespit edilirken, her iki ekstraktın da en etkili olduğu suşun 0.19 mg/ml dozla *Bacillus cereus* suşu olduğu görülmüştür. Ayrıca metanol ve etanol ekstraktlarının her ikisinin de antifungal bir etkisi belirlenmemiştir. Metanol ekstraktının çalışılan tüm MRSA suşlarına karşı 0.04-6.25 mg/ml aralığındaki dozlarda anti-MRSA aktivitesi gösterdiği belirlenirken, etanol ekstraktının bu suşların tamamına karşı 0.19-3.12 mg/ml aralığındaki dozlarda anti-MRSA aktivitesine sahip olduğu tespit edilmiştir. Sonuç olarak çalışılan *Ramaria aurea* ekstraktlarının antibakteriyel ve anti-MRSA etkiye sahip olduğu belirlenmiş olup bu türün antimikrobiyal ajanların doğal bir kaynağı olabileceği ve farmakoloji endüstrisinde kullanılabileceği söylenebilir.

Anahtar kelimeler: Antifungal, Antimikrobiyal, Anti-MRSA aktivite, *Basidiomycota*, Metisilin dirençli *Staphylococcus aureus*,

Determination of Anti-MRSA and Antimicrobial Activity of *Ramaria aurea* Extracts

Abstract: Infectious diseases have been one of the leading causes of death worldwide for years. Especially multidrug-resistant Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) strains are among the most important threats to public health worldwide. *Basidiomycetes* group fungi are known as a promising source of antibacterial compounds. This study aimed to determine the antimicrobial activity of methanol and ethanol extracts of *Ramaria aurea* (Schaeff.) Quél. against pathogenic standard microorganisms and anti-MRSA activity against MRSA strains isolated from clinical samples. Broth microdilution method was used to determine the antimicrobial activity. Concentrations between 12.5-0.006 mg/ml of the extracts were applied to the strains used. While methanol and ethanol extracts were found to have antibacterial activity against standard bacterial

strains at doses ranging from 0.19 to 6.25 mg/ml, the most effective strain of both extracts was *Bacillus cereus* at a dose of 0.19 mg/ml. In addition, no antifungal effect was determined for both methanol and ethanol extracts. While methanol extract was found to have anti-MRSA activity against all studied MRSA strains at doses ranging from 0.04 to 6.25 mg/ml, ethanol extract was found to have anti-MRSA activity against all these strains at doses ranging from 0.19 to 3.12 mg/ml. As a result, it was determined that the studied *Ramaria aurea* extracts had antibacterial and anti-MRSA activity, and it can be said that this species may be a natural source of antimicrobial agents and may be used in the pharmaceutical industry.

Keywords: Antifungal, Antimicrobial, Anti-MRSA activity, *Basidiomycota*, Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*,

Giriş

Mantarlar aleminin üyeleri yaşam formlarıyla diğer alemdeki canlılara benzerlik gösterse de yaşama şekilleri yeri diğer canlılardan oldukça farklıdır. Örneğin saprofit (çürükçül) yaşam formlarıyla bakterilere, parazit yaşam formlarıyla bitkiler ve hayvanlara, simbiyotik yaşam formunun farklı bir versiyonu olan mikorhizal yaşam formlarıyla ise hem bitkilere hem de hayvanlara benzerlik gösterebilir de diğer alemlerden mantarlar alemi oldukça farklıdır (Kaşık, 2010).

Özellikle makromantarlar diğer hayvanlar ve bakteriler gibi herdem Dünya üzerinde fruitbody olarak tabir edilen, doğada gözle görülebilir şekilleriyle tespit edilmeleri mümkün değildir. Özel yaşam koşulları (sıcaklık, nem, ışık, nisbi nem, vb...) diğer canlılarınkine oranla daha dar bir skala içerisinde yer almaktadır.

Canlılar aleminin diğer üyeleri ekstrem koşullarda bile yaşamlarını sürdürmeye devam ederken mantarların çoğu form değişikliği göstererek gözle görülebilir formdan misel ya da spor gibi zor koşullarda hayatta kalabilecekleri formlara dönüşürler. Bu nedenle doğada her mevsim çeşit çeşit makromantar üyelerini tespit etmek mümkün değildir. Özellikle bahar aylarında mantarların yaşamalarına olanak sağlayan nemli ve ılık havalar sayesinde makromantar üyelerini doğada görmek mümkündür.

Mantarlar vitaminler, mineraller ve protein gibi pek çok besin ögesi açısından önemli bileşenler içerdiğinden uzun yıllardan beri gıda, ilaç, baharat ve hatta doğal kaynak olarak birçok kültürel ve dini kullanımları vardır (Bal ve ark., 2023). Son yıllarda özellikle tıbbi özelliği olan gıdalarda yaygın olarak tüketilmeye başlanmıştır. Yapılarında barındırdıkları aktif bileşiklerin sahip oldukları kimyasal ve besinsel özellikleri sayesinde özellikle uzakdoğu ülkelerinde sağlıklı ve uzun ömürlü bir hayat sürmek için yıllardan beri halk tıbbında kullanıla gelmiştir (Kalač, 2009; Sevindik ve ark., 2021).

Mantarlar, birçoğu önemli farmasötik ürünlere dönüştürülmüş, çeşitli biyoaktivitelere sahip, zengin sekonder metabolit kaynaklarıdır. Bugüne kadar keşfedilen 15.000'den fazla sekonder metabolit ile mantarlar, biyoaktif doğal ürünler araştırmalarında önemli

bir grup olarak öne çıkmaktadır (Betts ve Wareham, 2014). *Ascomycota* ve *Basidiomycota* filumlarının saprotrofik ve kolayca yetiştirilebilen mantarlarından elde edilen sekonder metabolitler yoğun bir şekilde incelenmiştir (Stodůlková ve ark., 2015). Önceki çalışmalar, basidiomisetlerden elde edilen sekonder metabolitlerin, antimikrobiyaller de dahil olmak üzere çok çeşitli farmakolojik aktivitelere sahip olduğunu göstermiştir (Bala ve ark., 2011). Geleneksel olarak biyoaktif bileşenler, mantarların meyve veren gövdelerinden veya misel ekstraktlarından ekstrakte edilmiş ve antimikrobiyal, antioksidan, anti-anjiyogenez, antikanser, immünomodülatör ve antiinflamatuvar dahil olmak üzere bir dizi farmakolojik aktiviteye sahip oldukları çeşitli araştırmalarda bildirilmiştir (Alves ve ark., 2012; De Silva ve ark., 2013; Kaur ve ark., 2015; Vallavan ve ark., 2020).

Bulaşıcı hastalıklar yıllardan beri dünya çapında ölümlerin önde gelen nedenidir ve küresel yıllık ölümlerin %25'inden fazlasını oluşturmaktadır. Çoklu ilaca dirençli bakteriler, bir veya daha fazla antimikrobiyal maddeye dirençli mikroorganizmalardır. Genellikle ticari olarak temin edilebilen antimikrobiyal ajanların bir veya ikisi dışında hepsine dirençlidirler. *Staphylococcus aureus*, furunkül, apse, sepsis, pnömoni ve toksik şok sendromu gibi birçok hastalıkta endike olan önemli bir fırsatçı patojendir. Metisilin dirençli *S. aureus* (MRSA) ise çoklu ilaç direncine sahip bakterilerin başında gelmektedir (Ogbole ve ark., 2019).

Antimikrobiyal direncin zorlukları hem sağlık hizmetlerinde hem de toplum ortamlarında karşılaşılmaktadır ve bu nedenle en çok üstünde durulması gereken konulardan biridir. Son yıllarda antimikrobiyal kemoterapi alanında önemli ilerlemeler kaydedilmiş olmasına rağmen, küresel mikrobiyal yayılım, özellikle gelişmekte olan ülkelerdeki kötü sağlık koşulları, dünya çapında seyahatlerin artması, antibiyotiklerin gelişigüzel ve aşırı kullanımı ve yeni patojenik organizmaların ortaya çıkışı nedeniyle daha da kötüleşmiştir. Bu durum göz önüne alındığında, enfeksiyon hastalıklarının önlenmesi ve tedavisi için yeni

anti-enfektif ajanların araştırılması zorunlu hale gelmiştir (Mahady, 2005; Fernandes ve ark., 2008).

Yapılan bu çalışmada *Ramaria aurea*'nın etanol ve metanol ekstraktlarının standart bazı mikroorganizmalar üzerine antimikrobiyal etkisinin ve özellikle klinik kaynaklı MRSA suşları üzerine anti-MRSA aktivitesinin tespit edilmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Mantar tespiti ve ekstraksiyon

Çalışma kapsamında kullanılan *Ramaria aurea* örnekleri yapılan arazi çalışmaları sırasında Yenice (Karabük) ilçesinden yoğun ormanlık alandan toplanmıştır. Toplama sırasında örneklerin teşhisini kolaylaştırmak için resimleri çekilmiştir. Örnek numarası verilerek ekolojik ve morfolojik özellikleri not edilmiştir. Bu bilgilerle birlikte mantarlar aliminyum folyo içine sarılarak zarar görmeden taze olarak laboratuvara getirilmiştir. Mantar toplama tekniğinde aliminyum folyo kullanmamızın amacı mantarların su ve nem kaybı aza indirerek mantarların zarar görmeden laboratuvara getirilip kurutulması sağlanmaktadır.

Laboratuvara getirilen mantarlar sırasıyla önce özel olarak sanayide yaptırılmış kurutma dolabı içinde

kurutulmuştur. Daha sonra kuruyan örnekler uygun büyüklükteki poli etilen kilitli torbalara konularak teşhisleri yapılmıştır. Teşhis işlemi sırasında mantarların makro ve mikro yapısal özellikleri tespit edilerek uygun resimli kitaplar ve literatür kontrol edilmiştir (Breitenbach ve Kränzlin, 1986; Ellis ve Ellis, 1990). İncelemeler sonucunda mantar örneklerinin Latince ve Türkçe bilimsel adları literatüre göre tespit edilmiştir (Sesli ve ark. 2020, URL-1). Çalışmamızda kullandığımız makro mantarın sistematik kategorisi, Latince ismi, otör ismi, Türkçe ismi, lokalitesi, koordinatları, yüksekliği ve toplama tarihi aşağıda sırasıyla verilmiştir. Ayrıca mantara ait makroskopik ve mikroskopik özellikleri Tablo 1'de verilmiştir.

Fungi

Basidiomycota

Agaricomycetes

Gomphales

Gomphaceae

Ramaria aurea (Schaeff.) Quél. (Türkçe Bilimsel İsmi: Gelintellicesi)

Seyir tepesi, 41° 09' 20.00" K – 32° 21' 34.24" D
Yükseklik 508m, 19.11.2022.

Tablo-1: *Ramaria aurea*'nın makroskopik ve mikroskopik özellikleri

Tür	Habitat	Spor	Basidium	Makroskopisi
<i>Ramaria aurea</i>	Genellikle Kayın ağaçlarının altında, toprak ve döküntüler arasında	Eliptik, ince siğilli, hiyalin, 9-11*3.5-5µm	Silindir klavat, 4 sterigmalı, 40-50*8-10µm	Altın sarısı, çok dallanmış, mercan şeklinde,

Mantar örneğinin teşhis işleminden sonra ekstraksiyon işlemi için çalışmalar başlamıştır. Kuru mantar örneklerinin dokularındaki nemi tam olarak atabilmek için 24 saat boyunca etüvde 45-50°C de kurutma işlemi yapılmıştır. Kuruyan örnekler mekanik öğütücülerde un haline gelinceye kadar öğütülmüştür. Öğütülen mantarlardan ayrı ayrı 10 g tartılarak soxhlet ekstraksiyon kartuşları içerisine doldurulmuştur. Kartuşlar uygun şekilde soxhlet cihazına yerleştirildikten sonra 110 ml etanol (C₂H₆O) ve 110 ml metanol (CH₃OH) ayrı balon jöjelere ilave edilerek aynı anda ekstraksiyon işlemi başlatılmıştır. 8 saat boyunca ekstraksiyon işlemi yapıldıktan sonra kartuşların içerisinde bulunan çözücünün şeffaflaştığı tespit edilince damıtma işlemi sonlandırılıp Rotary Evaporatörde çözücüler uzaklaştırılmıştır. Elde edilen ekstraktlarda çözücülerin tamamen uzaklaştırılması için steril petri kapları içerisinde 45°C sıcaklıktaki etüvde bir gün daha bekletilerek çözücü kimyasallardan arındırılmıştır.

Mikroorganizma suşları

Çalışma kapsamında antimikrobiyal aktiviteyi belirlemek için; *Escherichia coli* ATCC 25922,

Pseudomonas aeruginosa ATCC, 27853, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 70603, Metisilin dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) ATCC 43300, *Salmonella enteritidis* ATCC 13076, *Sarcina lutea* ATCC 9341, *Bacillus cereus* ATCC 11778, standart bakteri suşları ve *Candida albicans* NRLL Y-417 maya suşu kullanılmıştır. Ayrıca anti-MRSA aktiviteyi belirlemek için de klinik örneklerden izole edilen 14 adet MRSA suşu kullanılmıştır. Bu suşlar Selçuk Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Mikrobiyoloji Araştırma Laboratuvarından temin edilmiştir.

Antimikrobiyal aktivite

Çalışmada mantar ekstraktlarının antimikrobiyal ve anti-MRSA aktivitelerinin belirlenmesi için CLSI (Clinical and Laboratory of Standards Institute) (2011) önerileri doğrultusunda bazı modifikasyonlarla sıvı mikrodilüsyon metodu kullanılmıştır (Zengin ve ark., 2014). Metanol ve etanol ekstraktlarının standart bakteri, maya ve klinik MRSA suşlarına karşı Minimum İnhibisyon Konsantrasyonları (MİK) belirlenmiştir. Stok halde bulunan tüm mikroorganizma suşları Brain Hearth İnfüzyon besiyerine ekilerek taze kültürleri hazırlandı. Hazırlanan kültürlerin süspansiyonları 0.5 McFarland standart

bulanıklığında (10^8 kob/ml) hazırlandı ve daha sonra her kuyucuktaki inokulumun son konsantrasyonu 5×10^5 Kob/ml olacak şekilde ayarlandı. Steril 96 kuyucuklu pleytin her bir kuyucuğuna 100 µl Müller Hinton Broth besiyeri ilave edildi. Başlangıçta 50 mg/ml konsantrasyonda hazırlanan mantar ekstrakt solüsyonları, mikropleytlerin ilk kuyucuklarına 100 µl olarak eklendi ve kalan kuyucuklara ekstraktların iki kat dilüsyonu (12.5-0.006 mg/mL) yapıldı. Daha sonra her kuyucuğa 100 µl kültür süspansiyonu inoküle edildi. Negatif kontrol olarak DMSO ve pozitif kontrol olarak Gentamisin kullanıldı. Son olarak pleytlar 37°C 'de 18-24 saat süreyle inkübe edildi. İnkübasyon süresinin sonunda

kuyucuklara 20 µl 2,3,5-trifeniltetrazolyum klorit eklendi ve 30 dakika daha inkübe edildi. İnkübasyon sonunda pleytlerde gözle görülür bir üremenin olmadığı yani pembe veya kırmızı renkte olmayan son kuyucuk ise MİK olarak belirlendi.

Bulgular

Çalışmada sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle *Ramaria aurea* mantarının metanol ve etanol ekstraktlarının standart mikroorganizmalara ve klinik MRSA suşlarına karşı elde edilen Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK) değerleri Tablo 2'de gösterilmiştir.

Tablo-2. Sıvı Mikrodilüsyon yöntemiyle elde edilen MİK değerleri

Test Mikroorganizmaları	<i>Ramaria aurea</i> ekstraktlarının MİK değerleri (mg/ml)		Gentamisin (µg/ml)	Oksasilin (µg/ml)
	Metanol	Etanol		
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	-	-	2.44	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	3.12	3.12	9.76	
<i>Klebsiella pneumonia</i> ATCC 70603	-	-	2.44	
Metisilin dirençli <i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA) ATCC 43300	3.12	6.25	78.12	
<i>Salmonella enteritidis</i> ATCC 13076	6.25	6.25	4.88	
<i>Sarcina lutea</i> ATCC 9341	1.56	3.12	4.88	
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 11778	0.19	0.19	2.44	
<i>Candida albicans</i> NRRL Y-417	-	-	312.5	
MRSA suşu 1 (ES 16)	1.56	3.12	156.25	16
MRSA suşu 2 (ES 25)	0.78	0.19	312.5	≥128
MRSA suşu 3 (ES 29)	0.09	0.19	312.5	32
MRSA suşu 4 (ES 67)	3.12	0.39	156.25	32
MRSA suşu 5 (ES 68)	6.25	3.12	156.25	≥128
MRSA suşu 6 (ES 69)	3.12	3.12	312.5	≥128
MRSA suşu 7 (ES 75)	3.12	3.12	156.25	≥128
MRSA suşu 8 (ES 93)	0.19	0.19	78.12	≥128
MRSA suşu 9 (ES 100)	3.12	0.78	78.12	≥128
MRSA suşu 10 (ES 107)	1.56	1.56	156.25	8
MRSA suşu 11 (ES 110)	3.12	3.12	156.25	≥128
MRSA suşu 12 (ES 123)	3.12	3.12	78.12	16
MRSA suşu 13 (ES 124)	3.12	3.12	78.12	≥128
MRSA suşu 14 (ES 128)	0.04	0.19	156.25	≥128

Ramaria aurea'nın metanol ekstraktı değerlendirildiğinde, standart bakteri suşlarına karşı 0.19 -6.25 mg/ml dozlarında antibakteriyal aktivite sahip olduğu tespit edilmiştir (Tablo 2). En etkili olduğu bakteri suşu 0.19 mg/ml MİK değeriyle *Bacillus cereus* suşu olmuştur. Bu suşa karşı metanol ekstraktı önemli bir antibakteriyal aktivite göstermiştir. *Salmonella enteritidis*'e karşı 6.25 mg/ml dozda zayıf antibakteriyal etki gösterdiği tespit edilmiştir. *Pseudomonas aeruginosa* ve metisilin dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA)

suşuna karşı ise 3.12 mg/ml dozunda aktiviteye sahip olduğu saptanmıştır. Metanol ekstraktının çalışılan suşlardan Gram negatif *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae* suşlarına karşı herhangi bir antibakteriyal aktivite belirlenmemiştir.

Metanol ekstraktının MRSA suşları üzerindeki anti-MRSA aktivitesine baktığımızda, çalışılan tüm MRSA suşlarına karşı 0.04 – 6.25 mg/ml dozlarında değişen oranlarda aktivite gösterdiği belirlenmiştir (Tablo 2). En yüksek anti-MRSA aktivitesi 0.04 mg/ml MİK değeriyle

MRSA 14 (ES 128) nolu suşu karşı tespit edilirken, en zayıf etki ise 6.25 mg/ml dozuyla MRSA 5 (ES 68) nolu suşu karşı tespit edilmiştir. Yapılan çalışmadan elde edilen verilere göre 2, 3 ve 8 nolu MRSA suşlarına karşı da yüksek oranda anti-MRSA aktivitesi saptanmıştır. Metanol ekstraktının 4, 6, 7, 9, 11, 12 ve 13 nolu MRSA suşların karşı ise 3.12 mg/ml dozunda anti-MRSA aktivitesi gösterdiği saptanmıştır.

Ramaria aurea'nın etanol ekstraktının standart suşlar üzerine antibakteriyal etkisine baktığımızda ise metanol ekstraktına benzer şekilde 0.19 -6.25 mg/ml dozlarında antibakteriyal aktivite sahip olduğu tespit edilmiştir (Tablo 2). En yüksek aktivitenin olduğu bakteri suşu 0.19 mg/ml MİK değeriyle *B. cereus* suşu olmuştur. Bu suşa karşı etanol ekstraktı da kayda değer bir antibakteriyal aktivite göstermiştir. Metanol ekstraktına benzer şekilde etanol ekstraktı *S. enteritidis*'e karşı da 6.25 mg/ml dozda zayıf antibakteriyal etki gösterdiği tespit edilmiştir. *P. aeruginosa* bakterisine karşı 3.12 mg/ml, metisilin dirençli *S. aureus* (MRSA) suşuna karşı ise 6.25 mg/ml MİK değerleri belirlenmiştir. Çalışılan suşlardan gram negatif *E. coli* ve *K. pneumoniae* suşlarına karşı herhangi bir antibakteriyal aktivite saptanamamıştır.

Etanol ekstraktının MRSA suşları üzerindeki anti-MRSA aktivitesi sonuçlarına baktığımızda, çalışılan tüm MRSA suşlarına karşı 0.19 – 3.12 mg/ml dozunda değişen oranlarda anti-MRSA aktivitesi gösterdiği belirlenmiştir. En etkili olduğu suşlar 0.19 mg/ml MİK değeri ile 2, 3, 8 ve 14 nolu MRSA suşları olmuştur. MRSA 1, 5, 6, 7, 11, 12 ve 13 nolu suşlar üzerinde ise 3.12 mg/ml dozunda anti-MRSA aktivitesi tespit edilmiştir.

Metanol ve etanol ekstraktını karşılaştırdığımızda elde edilen verilere göre standart bakteri suşları ve klinik MRSA suşlarına karşı benzer oranlarda aktiviteye sahip oldukları tespit edilmiştir. Ayrıca yapılan çalışmada metanol ve etanol ekstraktının *Candida albicans* maya suşuna karşı herhangi bir antifungal aktiviteye sahip olmadıkları belirlenmiştir (Tablo 2).

Tartışma

Günümüzde birçok hastalığın temel nedenleri arasında mikroorganizmalar yer almaktadır ve bu mikrobiyal hastalıkların tedavisinde ise antimikrobiyal ilaçlar kullanılmaktadır. Ancak kullanılan sentetik ilaçların olası yan etkileri ve dikkatsizce kullanılan antibiyotiklere bağlı olarak her geçen gün dirençli mikroorganizmaların ortaya çıkması nedeniyle günümüzde kullanılan antimikrobiyal ilaçlar yetersiz kalmaktadır (Bal ve ark.; Eraslan ve ark., 2021). Bu olumsuz sonuçlar araştırmacıları yeni antimikrobiyal ilaç arayışlarına yöneltmiştir. Çalışmamızda *R. aurea*'nın etanol ve metanol ekstraktlarının standart bakteri suşları ve maya

suşuna karşı antimikrobiyal potansiyeli belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar Tablo 2'de gösterilmiştir.

Literatürde *Ramaria* türleri ile yapılan antimikrobiyal çalışmalara bakıldığında, Pala ve ark. (2019) *Ramaria formosa* türünün etil asetat ekstraktının en etkili olduğu suşun 3.2 mg/ml dozuyla *B. cereus* suşu olduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca araştırmacılar *K. pneumoniae*, *S. aureus* ve *P. aeruginosa* suşlarına karşı da 6.4 mg/ml dozunda aktivite tespit etmişler, *Candida albicans* maya suşuna karşı herhangi bir antifungal etki saptamamışlardır. Araştırmacıların çalışmasına benzer şekilde çalışmamızdaki metanol ve etanol ekstraktının en etkili olduğu suşun 0.19 mg/ml'lik dozla *B. cereus* suşu bulunmuş olup maya suşuna karşı da antifungal aktivite tespit edilememiştir. *P. aeruginosa* ve *S. aureus* suşlarına karşı da çalışılan ekstraktların aktivitesinin belirlenmesi araştırmacıların bulgularıyla uyumludur. *Ramaria flava* türüyle yapılan bir çalışmada etanol ekstraktının Gram pozitif suşlar üzerine antibakteriyal etkisinin Gram negatif suşlara göre daha yüksek olduğu belirtilmiştir ve yine *Candida albicans* suşuna karşı antifungal aktivite tespit edilememiştir (Gezer ve ark., 2006). Yaptığımız çalışmada etanol ekstraktının gram negatif *E. coli* ve *K. pneumoniae* üzerinde hiç etki göstermemesi ve en yüksek etkinin Gram pozitif *B. cereus* suşuna karşı olması ayrıca antifungal bir etkinin görülmemesi araştırmacının bulgularını destekler niteliktedir. Yine *Ramaria* türleriyle yapılan farklı bir çalışmada su ekstraktının Gram pozitif bakterilere etkisi bulunurken Gram negatif bakterilere etkisi tespit edilememiştir (Bala ve ark., 2011).

Ramaria flava'nın etanol ekstraktının incelendiği bir çalışmada *S. aureus*'a 6.25, *E. coli*'ye karşı ise 100 mg/ml dozunda etki belirlenmiştir (Liu ve ark., 2013). Çalışmamızda standart suş *S. aureus*'a karşı 3.12 oranında belirlenen MİK değeri araştırmacılarıkiyle benzerlik göstermesine rağmen *E. coli* üzerinde herhangi bir aktivite görülmemiştir. Aktivite görülmemesinin nedeni stok konsantrasyonumuzun 50 mg/ml olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir, çünkü araştırmacılar 100 mg/ml konsantrasyonda etkiyi ancak tespit edebilmişlerdir. Bu oldukça yüksek bir değerdir bu da etkinin çok zayıf olduğu anlamına gelmektedir. MİK değeri ne kadar düşük olursa etki o derece yüksek demektir. *Ramaria largenti*'nin metanol ekstraktının antimikrobiyal etkisinin araştırıldığı bir çalışmada *E. coli* ve *E. faecalis* suşlarına karşı herhangi bir aktivite tespit edilememiş, *S. aureus* ve *P. aeruginosa* suşlarına karşı aktivite tespit edilmiştir (Janeš ve ark., 2007). Çalışmamızda araştırmacıların bulgularına benzer şekilde metanol ekstraktının *E. coli*'ye etkisiz olduğu, *S. aureus* ve *P. aeruginosa* suşlarına karşı aktiviteye sahip olduğu görülmüştür. Ülkemizde Gaziantep yöresinden toplanan *Ramaria flava* mantarının metanol ekstraktının değerlendirildiği bir çalışmada ise

yine yaptığımız çalışmayla benzer şekilde *S. aureus* ve *Bacillus cereus* suşları üzerine aktivite tespit edilirken, *E. coli* bakterisi üzerine herhangi bir aktivite saptanamamıştır (Belyurt, 2014).

S. aureus insanlarda, hafif cilt enfeksiyonlarından gıda zehirlenmesine, yaşamı tehdit eden enfeksiyonlara kadar çeşitli enfeksiyonlara neden olabilen önemli bir patojendir. *S. aureus*'un metisiline direnci ilk olarak 1961'de antibakteriyel maddenin klinik olarak kullanılmaya başlanmasından kısa bir süre sonra gözlemlenmiştir ve o zamandan bu yana hem sağlık hem de toplum ortamlarında Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) suşlarının küresel bir salgını yaşanmaktadır (Okwu ve ark., 2019). MRSA suşlarında görülen çoklu antibiyotik direnci ve tedavide etkili antibakteriyel ilaçların az ve pahalı olması nedeniyle MRSA dünya çapında önemli bir halk sağlığı sorunu olmaya devam etmekte ve terapötik bir zorluk oluşturmaktadır (Rodvold ve McConeghy, 2014). Bu nedenle, yeni antibiyotiklerin ve kombinasyon ilaçlarının geliştirilmesi, potansiyel antibakteriyel doğal bileşiklerin biyolojik olarak araştırılması MRSA gibi bakterilerde her geçen gün artan direnç gelişimine karşı acil bir ihtiyaçtır (Vallavan ve ark., 2020).

Basidiomycetes grubu mantarların sahip oldukları sekonder metabolitler, doğal ürünlerin keşfinde Gram-pozitif bakterilere karşı aktiviteye sahip olmasından dolayı, bu gruptaki mantarlar umut verici bir antibakteriyel bileşik kaynağı olarak bilinmektedirler. Doğal ürünlerin ham ekstraktlarının, antibakteriyel etki mekanizmaları olarak hücre duvarı biyosentezini ve hücre zarı geçirgenliğini hedeflediği rapor edilmiştir (Hemaiswarya ve ark., 2008) Makromantarların yapılarında bulunan aktif bileşikler ve çok sayıda sekonder metabolitler sayesinde her geçen gün yeni çalışmalarla bahsedilen problemlere alternatif çözüm olmaktadır. Yaptığımız çalışmada ayrıca hastane ve toplumda büyük sorun teşkil eden klinik kaynaklı MRSA suşlarına karşı *Ramaria aurea* mantarının metanol ve etanol ekstraktının anti-MRSA aktivitesi de değerlendirilmiştir. Metanol ve etanol ekstraktlarının, çalışılan tüm MRSA suşlarına karşı 0.04 – 6.25 mg/ml

dozlarında değişen oranlarda aktivite gösterdiği belirlenmiştir (Tablo 2). *Ramaria* türleriyle yapılan çalışmalarda antistafilokokkal etki sonuçları değerlendirildiğinde; Pala ve ark. (2019) *R. formosa*'nın etil asetat ekstraktının 6.4 mg/ml dozunda antistafilokokkal etki gösterdiğini, Kim ve ark. (2017) *R. botrytis*'in etil asetat ekstraktının 15 mg/ml dozunda, Liu ve ark. (2013) *R. flava*'nın etanol ekstraktının 6.5 mg/ml dozunda antistafilokokkal etki gösterdiğini tespit etmişlerdir. Promphet ve ark (2018) farklı *Ramaria* türleriyle yaptıkları çalışmalarında türlerin sahip olduğu antistafilokokkal etkinin 7.5-27.4 mg/ml gibi değişen oranlarda olduğunu saptamışlardır. *R. botrytis*, *R. rubripermanens*, *R. flava*, *R. flavescens* ve *R. stricta* türlerinin metanol ekstraktının aktivitesinin değerlendirildiği bir başka çalışmada ise yine çalışılan türlerin tümünün farklı konsantrasyonlarda antistafilokokkal etkiye sahip olduğu bildirilmiştir (Kumar Sharma ve Gautam, 2017).

Sonuç olarak yaptığımız çalışmada *Ramaria aurea*'nın metanol ve etanol ekstraktlarının özellikle gram pozitif suşlar üzerinde daha yüksek etkiye sahip olduğu, klinik MRSA suşlarının tümüne karşı da anti-MRSA aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. Elde ettiğimiz veriler ışığında ileriki çalışmalarda çalışılan mantar örneğinin aktif sekonder metabolitlerinin izole edilerek gün geçtikçe zorlaşan MRSA tedavisinde alternatif tedavi olarak kullanılabileceği öne sürülebilir.

Yazar Katkıları

Tüm yazarlar eşit katkıya sahiptir.

Çıkar Çatışması

Yazarlar çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

Etik Beyanı: Bu çalışmanın hazırlanma sürecinde bilimsel ve etik ilkelere uyulduğu ve yararlanılan tüm çalışmaların kaynakçada belirtildiği beyan olunur (Erdoğan GÜNEŞ, Sinan ALKAN)

Kaynaklar

- Alves, M. J., Ferreira, I. C., Martins, A. ve Pintado, M., (2012). Antimicrobial activity of wild mushroom extracts against clinical isolates resistant to different antibiotics, *Journal of Applied Microbiology*, 113 (2), 466-475.
- Bal, C., Eraslan, E. C. ve Sevindik, M., (2023). Antioxidant, antimicrobial activities, total phenolic and element contents of wild edible mushroom *bovista nigrescens*, *Prospects in Pharmaceutical Sciences*, 21 (2), 37-41.
- Bala, N., Aitken, E. A., Fehner, N., Cusack, A. ve Steadman, K. J., (2011). Evaluation of antibacterial activity of Australian basidiomycetous macrofungi using a high-throughput 96-well plate assay, *Pharmaceutical biology*, 49 (5), 492-500.
- Belyurt, S. Ç., (2014). Gaziantap yöresinde yetişen bazı makromantar türlerinin antioksidan ve antimikrobiyal etkilerinin incelenmesi, Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi.
- Betts, J. W. ve Wareham, D. W., (2014). In vitro activity of curcumin in combination with epigallocatechin gallate (EGCG) versus multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*, *BMC microbiology*, 14, 1-5.
- Breitenbach J., Kränzlin F., (1986). *Fungi of Switzerland (Volume 2)*. Andrag Mykologia.
- De Silva, D. D., Rapior, S., Sudarman, E., Stadler, M., Xu, J., Aisyah Alias, S. ve Hyde, K. D., (2013). Bioactive metabolites from macrofungi: ethnopharmacology, biological activities and chemistry, *Fungal Diversity*, 62, 1-40.
- Ellis M.B., Ellis J.P., (1990). *Fungi Without Gills (Hymenomycetes and Gasteromycetes)*, Chapman and Hill, London.
- Eraslan, E. C., Altuntas, D., Baba, H., Bal, C., Akgül, H., Akata, I. ve Sevindik, M., (2021). Some biological activities and element contents of ethanol extract of wild edible mushroom *Morchella esculenta*, *Sigma Journal of Engineering and Natural Sciences*, 39 (1), 24-28.
- Fernandes, J. C., Tavaría, F. K., Soares, J. C., Ramos, O. S., Monteiro, M. J., Pintado, M. E. ve Malcata, F. X., (2008). Antimicrobial effects of chitosans and chitoooligosaccharides, upon *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*, in food model systems, *Food microbiology*, 25 (7), 922-928.
- Gezer, K., Duru, M. E., Kivrak, I., Turkoglu, A., Mercan, N., Turkoglu, H. ve Gulcan, S., (2006). Free-radical scavenging capacity and antimicrobial activity of wild edible mushroom from Turkey, *African journal of Biotechnology*, 5 (20).
- Hemaiswarya, S., Kruthiventi, A. K. ve Doble, M., (2008). Synergism between natural products and antibiotics against infectious diseases, *Phytomedicine*, 15 (8), 639-652.
- Janeš, D., Kreft, S., Jurc, M., Seme, K. ve Štrukelj, B., (2007). Antibacterial activity in higher fungi (mushrooms) and endophytic fungi from Slovenia, *Pharmaceutical biology*, 45 (9), 700-706.
- Kalač, P., (2009). Chemical composition and nutritional value of European species of wild growing mushrooms: A review, *Food chemistry*, 113 (1), 9-16.
- Kaşık, G. (2010). Mantar Bilimi: Marifet Matbaa ve Kâğıtçılık.
- Kaur, H., Sharma, S., Khanna, P. ve Kapoor, S., (2015). Evaluation of *Ganoderma lucidum* strains for the production of bioactive components and their potential use as antimicrobial agents, *Journal of Applied and Natural Science*, 7 (1), 298-303.
- Kim, K.-H., Han, S.-R., Kim, B.-L., Jung, S.-H. ve Oh, T.-J., (2017). Antimicrobial activities of *Ramaria botrytis* (Fr.) against oral bacteria, *Journal of Korean society of dental hygiene*, 17 (3), 493-504.
- Kumar Sharma, S. ve Gautam, N., (2017). Chemical and bioactive profiling, and biological activities of coral fungi from northwestern Himalayas, *Scientific reports*, 7 (1), 46570.
- Liu, K., Wang, J., Zhao, L. ve Wang, Q., (2013). Anticancer, antioxidant and antibiotic activities of mushroom *Ramaria flava*, *Food and chemical toxicology*, 58, 375-380.
- Mahady, G. B., (2005). Medicinal plants for the prevention and treatment of bacterial infections, *Current pharmaceutical design*, 11 (19), 2405-2427.
- Ogbole, O. O., Adebisi, P. ve Segun, P. A., (2019). Medicinal mushrooms with methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) inhibitory activity, *Journal of Pharmacy & Bioresources*, 16 (1), 41-46.
- Okwu, M. U., Olley, M., Akpoka, A. O. ve Izevbuwa, O. E., (2019). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and anti-MRSA activities of extracts of some medicinal plants: A brief review, *AIMS microbiology*, 5 (2), 117.
- Pala, S. A., Wani, A. H. ve Ganai, B. A., (2019). Antimicrobial potential of some wild *Macromycetes* collected from Kashmir Himalayas, *Plant Science Today*, 6 (2), 137-146.
- Promphet, N., Prostri, C., Khaeng-raeng, R., Pringsulaka, O. ve Suwannasai, N., (2018). Antioxidant, Antibacterial and Anti-alpha Glucosidase Activities of Coral Mushroom *Ramaria* spp, *SWU Sci. J.*, 34 (2), 175-191.
- Rodvold, K. A. ve McConeghy, K. W., (2014). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* therapy: past, present, and future, *Clinical infectious diseases*, 58 (suppl_1), S20-S27.
- Sesli, E., Asan, A., Selçuk, F., Abacı Günyar, Ö., Akata, I., Akgül, S., Alkan, S., Allı, H., Aydoğdu, H., Berikten, D., Demirel, K., Demirel, R., Doğan, H. H., Erdoğan, M., Ergül, C. C., Eroğlu, G., Giray, G., Halikî Uztan, A., Kabaktepe, Ş., Kadaifçiler, D., Kalyoncu, F., Karaltı, İ., Kaşık, G., Kaya, A., Keleş, A., Kırbağ, S., Kıvanç, M., Ocak, İ., Ökten, S., Özkale, E., Öztürk, C., Sevindik, M., Şen, B., Şen, İ., Türkel, İ., Ulukapı, M., Uzun, Y., Uzun, Y. ve Yoltaş, A. (2020). *Türkiye mantarları listesi*. İstanbul, Türkiye: ANG Vakfı Yayınları.
- Sevindik, M., Ozdemir, B., Bal, C. ve Selamoglu, Z., (2021). Bioactivity of EtOH and MeOH extracts of *Basidiomycetes* mushroom (*Stereum hirsutum*) on atherosclerosis, *Archives of Razi Institute*, 76 (1), 87.

- Stodůlková, E., Císařová, I., Kolařík, M., Chudíčková, M., Novák, P., Man, P., Kuzma, M., Pavlů, B., Černý, J. ve Flieger, M., (2015). Biologically active metabolites produced by the *basidiomycete* *Quambalaria cyanescens*, *PLoS One*, 10 (2), e0118913.
- URL-1: <http://www.indexfungorum.org/names/names.asp> (erişim tarihi: 11.07.2024)
- Vallavan, V., Krishnasamy, G., Zin, N. M. ve Abdul Latif, M., (2020). A review on antistaphylococcal secondary metabolites from basidiomycetes, *Molecules*, 25 (24), 5848.
- Wayne, P., (2011). Clinical and laboratory standards institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing.
- Zengin, G., Uysal, A., Gunes, E. ve Aktumsek, A., (2014). Survey of phytochemical composition and biological effects of three extracts from a wild plant (*Cotoneaster nummularia* Fisch. et Mey.): A potential source for functional food ingredients and drug formulations, *PLoS One*, 9 (11), e113527.