

Bazı Uçucu Yağların *P. aeruginosa* PAO1 Virülansında Etkinliği

Ebru ÖNEM¹, Hasan Cumhuri SARISU²

Öz

Amaç: Bitkisel kökenli bazı uçucu yağların antibakteriyel etkinlikleri ile *Pseudomonas aeruginosa*'da, Quorum Sensing-çevreyi algılama (QS) sistemi üzerine inhibisyon etkilerinin araştırılması.

Gereç ve Yöntem: Çalışmada, limon (*Citrus limonum*), bergamot (*Citrus aurantium*), lavanta (*Lavandula angustifolia*) uçucu yağlarının *P. aeruginosa* PAO1'de virülans faktörleri olan elastaz ve pycocyanine pigment üretimi ile kayma hareketi ve biyofilm oluşumu üzerine inhibisyon etkileri anti-QS aktivite testleri ile belirlenmiştir. Ayrıca bazı Gram-pozitif ve Gram-negatif bakteriler üzerinde antibakteriyel etkinlikleri araştırılmıştır.

Bulgular: Çalışmada inhibisyon etkisi araştırılan her üç yağın da virülans faktörleri üzerine farklı oranlarda inhibisyon etkilerinin olduğu, en yüksek aktivitenin biyofilm oluşumu üzerine olduğu görülmüştür. Bergamot %85 oranında en yüksek inhibisyon yeteneğine sahip iken, lavanta %76, limonun ise %65 oranında etkili oldukları saptanmıştır ($p < 0.01$).

Sonuç: Antibiyotik direncine karşı geliştirilen stratejiler arasında QS olarak adlandırılan bakteriler arası iletişimin inhibisyonu ve fitofarmasötiklerin kullanımı yer almakta olup, yapılan bu çalışma ile elde edilen bulgular her iki stratejinin umut vaat ettiğini desteklemektedir.

Anahtar Sözcükler: Bakteriyel iletişim, PAO1, Antibiyofilm, Uçucu yağ

Activities of Some Essential Oils in *P. aeruginosa* PAO1 Virulence

Abstract

Objective: Investigation antibacterial potential of some essential oils and inhibition effect in *Pseudomonas aeruginosa* on Quorum Sensing (QS) system.

Material and Methods: In the study, the inhibition effects of essential oils of lemon (*Citrus limonum*), bergamot (*Citrus aurantium*), lavender (*Lavandula angustifolia*) on elastase and pycocyanine pigment production, which are virulence factors in *P. aeruginosa* PAO1, and swarming motility and biofilm formation were performed by anti-QS activity tests. Also antibacterial activity on some Gram-positive and Gram-negative bacteria were investigated.

Results: As a result, it was seen that all three oils have inhibition effect on virulence factors by different inhibition rate, and the highest activity was on biofilm formation in all three oils. Bergamot had the highest inhibitory ability at 85%, while lavender was 76% and lemon was 65% effective ($p < 0.01$).

Conclusion: Among the strategies developed against antibiotic resistance are the inhibition of communication between bacteria called QS and the use of phytopharmaceuticals most potent ones the findings obtained in this study support the promise of both strategies.

Keywords: Bacterial communication, PAO1, Antibiofilm, Essential oil

¹Süleyman Demirel Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Isparta-Türkiye

²Meyvecilik Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü, Eğirdir, Isparta-Türkiye

Yazışma adresi: Dr. Ebru ÖNEM, Süleyman Demirel Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Isparta-Türkiye Tel: 246 2110329 e-posta: ebruonem@sdu.edu.tr, ORCID ID: 0000-0002-7770-7958

Geliş Tarihi: 27 Nisan 2021 Kabul Tarihi: 14 Haziran 2021

DOI: 10.17932/IAU.TFK.2018.008/TFK_v04i2004

Giriş

Pseudomonas aeruginosa, insan, bitki ve hayvanlarda hastalığa neden olabilen yaygın, fırsatçı bir bakteri olup, çoklu ilaç direnci gösteren, gelişmiş antibiyotik direnç mekanizmaları ve ventilatörle ilişkili pnömone ve çeşitli sepsis sendromları gibi ciddi hastane kaynaklı enfeksiyonlardan sorumludur (1). *Staphylococcus aureus* ve *Streptococcus pyogenes* gibi patojenik bakteri türlerine kıyasla daha düşük virülen özelliğe sahip olsa da geniş çaplı kolonizasyon yapabilme ve kalıcı biyofilm oluşturma yeteneği ile ciddi enfeksiyonlara yol açabilmektedir (2). *P. aeruginosa* kaynaklı enfeksiyon hastalıklarının meydana gelişinde önemli rolü olan virülans faktörlerinin salınımı, çevreyi algılama sistemi olarak adlandırılan sistem kontrolünde gerçekleşmektedir. Sistemin temeli, bakterilerin buldukları ortama sinyal molekülü olarak adlandırılan bir takım maddeleri sentezlemeleri ve bu sayede ortamdaki popülasyon yoğunluklarını algılayarak özel genlerin ekspresyonunu gerçekleştirmelerine dayanmaktadır (3). Bakteriler bu şekliyle yüzlerce kollektif davranış sergilemekte olup, patojen mikroorganizmaların virülansta rol oynayan faktörlerin bu yolla sentezi büyük önem taşımaktadır (4). *P. aeruginosa*, sistem aracılığı ile biyofilm oluşumu başta olmak üzere ekzotoksin A, piyosiyenin ve elastaz B gibi virülans faktörlerini sentezlemektedir. QS sistemi temel olarak Açıl Homoserin Lakton (AHL) sinyal molekülü, AHL sentaz enzimi ve AHL ile bağlandığında hedef genlerin transkripsiyonunu başlatan regülatör proteininden oluşmaktadır (5).

Sistemin keşfi, son yıllarda enfeksiyon hastalıkları ile mücadelede tedaviyi sınırlayan antibiyotik direnci sebebiyle alternatif arayan bilim insanları için umut olmuştur. QS sistemi, AHL sentaz aktivitesinin azaltılması, AHL'lerin üretimini inhibisyonu, AHL'lerin yıkılması gibi farklı yollarla baskılanmaktadır (6). Bu doğrultuda sistemin baskılanmasını hedef alan pek çok sentetik ve doğal molekül

çalışmaların odağı olmuştur. Doğal kaynaklı bileşikler, biyolojik olarak metabolize olmaları, ciddi yan etkilerinin azlığı gibi nedenlerle tıbbi alanlarda her zaman dikkate alınmış ve mikrobiyal çalışmalarda da sıklıkla araştırma konusu olmuştur. Uzun yıllar boyunca doğrudan bitki kısımları kullanılarak yapılan tedaviler gelişen teknoloji eşliğinde tekrar ele alınarak fitofarmasötikler olarak uygulama alanı bulmuştur (7). Bitkisel drog olarak ifade edilen ve bitki yaprak, çiçek, kök, kabuk, meyve, toprak üstü kısımlarından farklı yollarla elde edilen uçucu yağlar sahip oldukları zengin içerikleri ile antiinflamatuvar, antidiyabetik, antioksidan, sedatif, anksiyolitik, antihepatoprotektif, antikanser ve antimikrobiyal pek çok özelliğe sahiptirler (8). Yapılan bu çalışma ile limon, lavanta ve bergamot uçucu yağlarının bazı Gram pozitif ve Gram negatif bakteriler üzerine antibakteriyel etkileri incelenmiştir. Ayrıca, *P. aeruginosa* PAO1'de virülansstan sorumlu olan elastaz, piyosiyenin üretimi ile kayma hareketi ve biyofilm oluşumu üzerine inhibisyon etkileri araştırılmıştır.

Gereç ve Yöntem

Uçucu Yağlar ve Bakteriyel Suşlar

Çalışmada kullanılan limon (*C. limonum*), bergamot (*C. aurantium*) ve lavanta (*L. angustifolia*) uçucu yağları ticari olarak temin edilmiştir. Yağların antibakteriyel aktivitesi Gram pozitif (*B. cereus* ATCC 11778, *E. faecalis* ATCC 29212, *L. monocytogenes* ATCC 7644, *S. aureus* ATCC 25923, MRSA ATCC 43300) ve Gram negatif (*E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *P. aeruginosa* PAO1) bakterileri ile anti-quorum sensing etkisi *P. aeruginosa* PAO1 (PT5 orijinal tip) suşu üzerinde test edilmiştir.

Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK)

Uçucu yağların, antibakteriyel etki gösterdikleri MİK değerlerinin belirlenmesinde mikrodilüsyon yöntemi kullanıldı. Bu yöntemde 96 kuyucuklu mikropalaklar hazırlandı. Mueller Hinton Broth besiyeri bulunan kuyucuklara 100 µL örnek eklenerek

sırasıyla iki kat seri dilüsyonlar yapıldı. 0.5 McFarland (10^8 /mL) bulanıklığına göre hazırlanan bakteri süspansiyonundan 5µL eklenen mikropalaklar 30/35°C'de bir gecelik inkübasyona bırakıldı. İnkübasyonu takiben mikropalaklar değerlendirildi. Üremenin olmadığı en küçük konsantrasyon minimum inhibisyon konsantrasyon (MİK) değeri olarak belirlendi.

QS Aktivite Testleri Elastaz Üretimi

Elastaz üretimi üzerine uçucu yağların inhibisyon etkisi Elastin Kongo Red (ECR) testi ile araştırıldı (9). Yöntem 10 mL LBB (Luria Bertani Broth) besiyerine uçucu yağların 100 µL eklenerek 37°C'de, çalkalamalı inkübatörde 14-16 saat üretilmesi ve inkübasyon sonunda kültürlerin süpernatant kısmından 100 µL üzerine 900 µL ECR tamponu (100 mM Tris, 1 mM $CaCl_2$, pH 7.5, 20 mg ECR) ilave edilerek ve 37°C'de 3 saat 200 rpm'de inkübasyona bırakılmasını içermektedir. İnkübasyon sonucunda çözülmemiş olan ECR'nin santrifüj edilerek uzaklaştırılması ve süpernatantın OD 495 nm'de okunması da yöntemin son basamağı olup, çalışma 3 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir.

Piyosyanin Üretimi

Piyosyanin pigment üretimi üzerine inhibisyon etkisi test edilecek uçucu yağlar LBB besiyerine 100 µL; 600 nm'de OD 0.05 bakteri kültürü ile birlikte eklenerek 37°C'de 16-18 saat çalkalanarak inkübasyona bırakıldı. Süre sonunda kültür ortamına 5 mL kloroform eklenip 30 saniye vortekslendi. Ayrılan faz 2 mL olacak şekilde cam tüplere konuldu ve üzerine 1 mL HCL- H_2O karışımı (0.2 mmol^{-1}) ilave edilerek 30 saniye vortekslendi. Tüplerin üst kısmında oluşan pembe faz OD 520 nm'de okunarak kaydedildi (10).

Kayma Hareketi

Kayma hareketi, 8 g nutrient broth 1^{-1} , 5 g bakto agar 1^{-1} ve %0.5 glikoz içeren besiyeri içerisine inhibisyon etkisi araştırılan yağların 200 µL eklenmesi ve besiyerleri katılaştıktan

sonra merkezine bir gece önce ekilmiş olan bakteri kültürlerinin santrifüj edilerek süpernatant kısmından 5 µL inoküle edilerek, 37°C'de 16-18 saat inkübasyona bırakılması ile gerçekleştirildi. İnkübasyon sonunda kayma hareketi, inokülasyonun yapıldığı noktadan çevreye doğru olan yayılmanın çapının ölçülmesi ile tespit edildi (11). Sonuçlar kayma hareketi özelliğine sahip olan PAO1 suşuyla karşılaştırılarak değerlendirildi.

Biyofilm Oluşumu

Biyofilm oluşumu testinin ilk basamağı 200 µL LBB besiyeri içeren 96-kuyucuklu plaklara uçucu yağların 20 µL ve 0.5 McFarland bulanıklığa eş değer 10 µL PAO1 bakteri kültürünün eklenerek 48 saat inkübasyona bırakılması; ikinci basamağı inkübasyon sonrası plak içeriğinin dökülerek 3 kez saf su ile yıkanması ve yıkama işlemi tamamlandıktan sonra tüplere %0.1'lik kristal viyole çözeltisinden 250 µL eklenerek 30 dakika beklenmesi; üçüncü basamağı ise kristal viyolenin dökülerek plağın 5 kez saf su ile yıkanmasından oluşmaktadır. Son basamakta ise kuyucuklara 250 µL %95'lik etanol ilave edilerek 15 dakika bekletilmiştir ve sonuçlar 570 nm'de (Epoch Microplate Spektrofotometre) okunmuştur (12). Sonuçlar biyofilm oluşturma özelliğine sahip olan *P. aeruginosa* PAO1 suşuyla karşılaştırılarak değerlendirilmiştir.

İstatistiksel Değerlendirme

Deneyler tesadüf parselleri deneme desenine göre yapılmış olup, üç tekerrürlü ve her tekerrürde üç deney tasarlanmıştır. Ortalamalar arasındaki farklılıklar LSD çoklu karşılaştırma testine göre harflendirilmiştir.

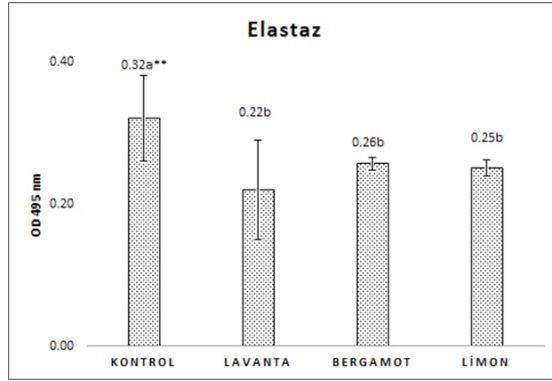
Bulgular

Uçucu yağların farklı bakteriler üzerinde gösterdikleri antibakteriyel etkinlik minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK) değerleri Tablo1'de verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre *B. cereus*'a her üç yağ en düşük konsantrasyonda etki göstermiştir.

Tablo 1. Bergamot, Lavanta, Limon Uçucu Yağların MİK Değerleri

Mikroorganizmalar	Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu		
	Bergamot (µL/mL)	Lavanta (µL/mL)	Limon (µL/mL)
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	3.125	12.5	6.25
MRSA ATCC 43300	1.563	25	6.25
<i>L. monocytogenes</i> ATCC 7644	6.25	12.5	3.125
<i>B. cereus</i> ATCC 11778	0.391	0.781	0.781
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	6.25	25	6.25
<i>E. coli</i> ATCC 25922	3.125	12.5	3.125
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	3.125	6.25	6.25
<i>P. aeruginosa</i> PAO1	6.25	12.5	12.5

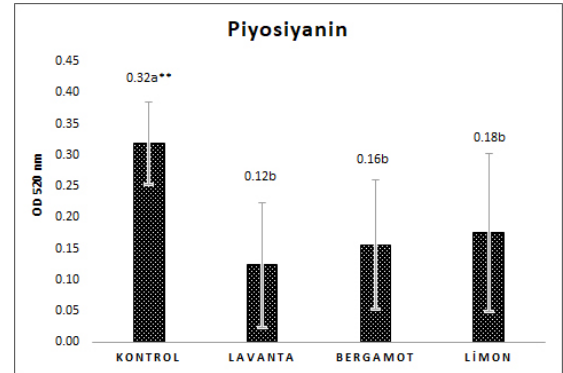
Çalışmaya dahil edilen ve *P. aeruginosa*'da virülanstan sorumlu olan elastaz, piyosiyenin üretimi ile kayma hareketi üzerine etkisi araştırılan limon, bergamot ve lavanta uçucu yağlarının farklı oranlarda inhibisyon etki gösterdiği tespit edilmiştir.



Şekil 1. Farklı uçucu yağların elastaz üretimi. **Farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.01$).

Uçucu yağların elastaz aktivitesi üzerine inhibisyon etkisi, PAO1 in ürettiği elastaz enziminin ortama eklenen ECR içeren tamponda yer alan elastin-boya miktarının spektrofotometrik olarak ölçülmesi prensibine dayanmaktadır. İnhibisyon etkisi araştırılan lavanta, bergamot ve limon yağları elastaz üretimi üzerine sırasıyla %31, %20, %22

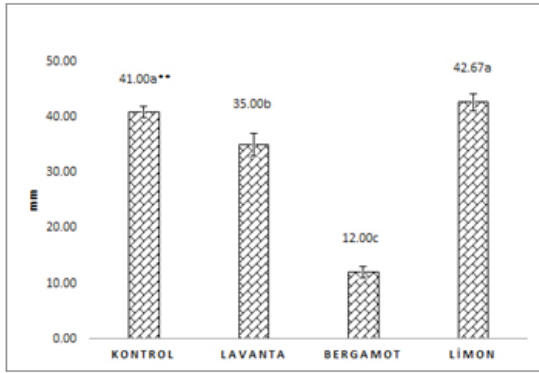
oranında etki göstermiş ve bulunan bu sonuçların istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür ($p<0.01$) (Şekil 1).



Şekil 2. Farklı uçucu yağların piyosiyenin pigmentleri. **Farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0.01$).

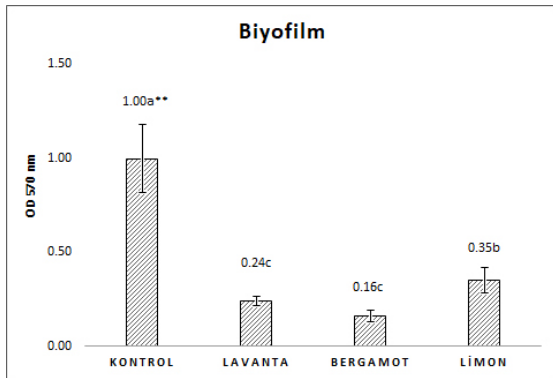
Piyosiyenin pigment üzerine ise lavanta uçucu yağının %61 ile en yüksek inhibisyon oranına sahip olduğu, bergamot uçucu yağının %51, limonun ise %45 etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir (Şekil 2).

Kayma hareketi testine göre ise bergamot uçucu yağının PAO1 in yapmış olduğu kayma hareketi üzerine %71 oranında yüksek inhibisyon etki gösterdiği, limon yağının ise herhangi bir etki göstermediği bulunmuştur (Şekil 3).



Şekil 3. Farklı uçucu yağların kayma hareketi üzerine etkileri. **Farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0.01$).

QS sistemi kontrolünde gerçekleşen biyofilm oluşumu üzerine ise çalışılan uçucu yağların üçünün de güçlü inhibisyon etkisi olduğu görülmüştür. Bu etki en yüksek bergamot uçucu yağında (%84) tespit edilirken, lavanta ve limon yağları sırasıyla %76, %65 oranında inhibisyon göstermiştir (Şekil 4).



Şekil 4. Uçucu yağların biyofilm oluşumu üzerine etkileri. **Farklı harflerle gösterilen ortalamalar arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0.01$).

Tartışma

Bitkilerle tedavi insanlığın varoluşuna dayanmakta olup, son yıllarda gelişen teknoloji ile birlikte içeriklerinin aydınlatılması bitkilere olan güveni arttırmıştır. Farklı yollarla ekstrakt ya da uçucu yağ olarak elde edilen ürünler fitoterapi ve aromaterapinin gelişimine katkı sağlamış ve terapötik amaçlı kullanımı artmıştır. Özellikle de, bitkilerin farklı kısımlarından elde edilen uçucu yağların, çok yoğun uçucu maddeler içeren terapötik etkileri

olduğu bilinmektedir (13). Bu çalışmada bergamot, lavanta ve limon uçucu yağlarının bazı Gram pozitif ve Gram negatif bakteriler üzerine antibakteriyel etkisi araştırılmış ve her üçü de çalışılan mikroorganizmalar üzerinde farklı oranlarda antibakteriyel etki göstermiştir. Bitkilerden elde edilen uçucu yağların aktif madde bileşenlerinin oranı, verimi ve elde edilme yöntemleri, yetiştiği bölge ve toplama zamanına göre değişebilmektedir (14). Bu bilgilerin doğruluğunu gösterir nitelikte olan bir çalışmada, farklı bölgelerden elde edilen ve ticari olarak satın alınan bergamot uçucu yağlarının *L. monocytogenes* suslarında antibakteriyel etkinliğinin 0.625-5 µL/mL aralığında değişen MİK değerlerine sahip olduğu bulunmuştur (15). Yapılan bu çalışmada *L. monocytogenes* için elde edilen MİK değeri 6.25 µL/mL olup, bergamot, lavanta ve limon uçucu yağlarının en düşük MİK değeri Gram-pozitif *B. cereus* üzerinde olduğu gözlenirken, Gram negatif bakteriler üzerinde de 3.25-12.5 µL/mL aralığında değişen MİK değerlerine sahip oldukları görülmüştür.

Patojen mikroorganizmalarda, patojenite de etkili olan virülans faktörlerinin ekspresyonunun QS sistemi ile gerçekleştiğinin keşfi, yapılan çalışmaların sistemin inhibisyonu üzerine yoğunlaşmasına sebep olmuştur. Çünkü bakterilerin birçok antibiyotiği tanıyan olması ve her geçen gün farklı bir mekanizma ile direnç geliştirmesi bakterileri öldürmek yerine hastalık yapma yeteneklerinin baskılanarak bakteriyel enfeksiyonlarla mücadelede yeni ve etkili bir strateji olarak düşünülmektedir. Sistemin inhibisyonu için sentetik ve doğal pek çok bileşen denenmektedir (16-20). *P. aeruginosa* hastalık oluşumundan sorumlu olan elastaz B, piyosiyenin gibi pek çok virülans faktörünün ekspresyonu çevreyi algılama sisteminin kontrolünde gerçekleşir (21, 22). Elastin akciğerlerdeki proteinin yaklaşık %30'unu oluşturan ve bu organa elastikiyet kazandırarak genişleyip daralmasını sağlayan bir proteindir (23). Klinik örneklerden izole edilen birçok *P. aeruginosa* izolatında

elastin hücrelerini parçalayan elastaz üretimi görülmüştür. Böylelikle lokal doku hasarı ve bunun sonucunda enflamatuvar reaksiyona sebep olarak, enfeksiyonun yayılmasına yardımcı olduğu bilinmektedir. Ayrıca kontakt lens ilişkili bakteriyel keratitlerin *P. aeruginosa*'nın ürettiği proteazlarla (alkalin proteaz, Las B elastaz) ilişkili olduğu da düşünülmektedir (24, 25). Dermal elastinin dejenerasyon da rol oynadığı düşünülen elastazın limon uçucu yağı ile inhibisyonunun invitro olarak araştırıldığı bir çalışmada 250 µg/mL konsantrasyonda %95 oranında inhibisyon gözlenmiştir (26). Bu çalışmada ise sub-MİK konsantrasyonunda PAO1'in ürettiği elastaz üretimi üzerinde %21 inhibisyon gözlenmiş ve bu sonuç istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0.01$).

Pek çok *P. aeruginosa* suşu bakteriyel kolonilere mavi-yeşil renk veren çözünebilir fenazin türevi bir pigment olan piyosiyaniyi üretme özelliğine sahiptir. *P. aeruginosa* tarafından üretilen düşük molekül ağırlığına sahip olan piyosiyaniyi molekülü, önemli patojenite faktörlerinden birisidir. Solunum yolları siliyer aktivitesinin kesintiye uğramasından ve akciğerde oksidatif ve nötrofil bağlantılı doku hasarından sorumludur ve üretimi çevreyi algılama sisteminin kontrolü altında gerçekleşir (27). Lavanta, bergamot ve limon uçucu yağlarının piyosiyaniyi üretimi üzerine sırasıyla %61, %51 ve %45 oranında inhibisyon etkisi gözlenirken yapılan literatür taramasında tarçın tıbbi nane yağı gibi uçucu yağların piyosiyaniyi üretimi üzerine etkisinin araştırıldığı görülmüştür (28, 29).

P. aeruginosa'da virülanstan sorumlu iki önemli faktör kayma hareketi ve biyofilm oluşumudur. Kayma hareketi Pseudomonasın yarı katı yüzeylerde hızlı koordineli hareketi olup, biyofilm oluşumunun erken evresinde rol aldığı bilinmektedir (30). *P. aeruginosa* yapmış olduğu biyofilm ile antibiyotik

direncini arttırırken; kistik fibrozis, kronik yara enfeksiyonları, kronik orta kulak iltihabı, kronik obstrüktif akciğer hastalığına bağlı enfeksiyonlar gibi birçok inatçı enfeksiyona neden olmaktadır (31, 32). Pseudomonaslar dışında pek çok Gram-pozitif ve Gram-negatif bakteri biyofilm yapma özelliğine sahip olup, klinik örneklerden izole edilen farklı *Klebsiella* türlerinde limon uçucu yağının inhibisyon etkisi araştırılmış ve *K. oxytoca* üzerinde etki olmazken, *K. ornithinolytica* ve *K. terrigena* üzerinde etkili olduğu görülmüştür. Biyofilm oluşumu, bakterilerin antibakteriyel ajanlara ve radyasyonlara karşı duyarlılığını önemli ölçüde azaltarak bakteriyel dirençte önemli rol oynar. Son yıllarda yapılan çok sayıda çalışma QS sisteminin biyofilm oluşumunda önemli rol oynadığını ve sistemin blokajının, biyofilm oluşumunu önleyerek, antibakteriyel ajanlara duyarlılığın arttırdığını göstermiştir (33). Bu yüzden sistemin inhibisyonu üzerine yapılan çalışmalar ile biyofilmin neden olduğu antibiyotik toleransını azaltarak etkili bir tedavi sürecinin gerçekleşmesine katkı sağlamaktadır. Bu çalışmada biyofilm oluşumu üzerine inhibisyon etkisi araştırılan uçucu yağların yüksek oranda etki gösterdiği, en yüksek inhibisyonun %85 ile bergamot yağında olduğu görülmüştür. Bunu sırasıyla %76 ve %74 oranları ile lavanta ve limon yağlarının takip ettiği tespit edilmiştir.

Sonuç

Antibiyotik direncinin ciddi sağlıktehdiidi olduğu günümüzde, dirençli mikroorganizmalarla mücadelede yeni stratejiler aranmakta ve özellikle bitkilerin kullanımı ile QS sisteminin inhibisyonu üzerinde durulmaktadır. Yapılan bu çalışma ile bergamot, lavanta ve limon uçucu yağının bazı Gram pozitif ve Gram negatif bakteriler üzerinde antibakteriyel etkisi ile çevreyi algılama sistemi üzerine inhibisyon etkisi araştırılmış ve sonuçta antibakteriyel etkilerinin yanı sıra ciddi anti-quorum sensing etkilerinin de olduğu tespit edilmiştir.

KAYNAKLAR

1. Diggle S, Whiteley, M. Microbe Profile: *Pseudomonas aeruginosa*: opportunistic pathogen and lab rat. *Microbiology* 2020; 166:30–33.
2. Høiby N, Ciofu O, Bjarnsholt T. *Pseudomonas aeruginosa* biofilms in cystic fibrosis. *Future Microbiol* 2010; 5(11): 1663–74.
3. Lerat E, Moran, NA. The Evolutionary History of Quorum Sensing Systems in Bacteria. *Mol Biol Evol* 2004; 21(5): 903-913.
4. Henke JM, Bassler BL. Bacterial social engagements. *Trends Cell Biol* 2004; 14(11): 648-656.
5. Altınok Ö, Gürpınar Ö, Eser Ö. Bakteriyel Biyofilmler. *Tıp Fakültesi Klinikleri* 2018; 1(2): 45-51.
6. Hemmati F, Salehi R, Ghotaslou R et al. Quorum Quenching: A Potential Target for Antipseudomonal Therapy. *Infect Drug Resist* 2020; 13: 2989-3005.
7. Ersöz T. Bitkisel İlaçlar ve Gıda Takviyeleri İle İlgili Genel Yaklaşım ve Sorunlar. *MİSED* 2012; 11-21.
8. Saab AM, Gambari R, Sacchetti G, et al. Phytochemical and pharmacological properties of essential oils from Cedrus species. *Nat Prod Res* 2018; 32(12): 1415-1427.
9. Ohman DE, Cryz SJ, Iglewski BH. Isolation and characterization of a *P. aeruginosa* PAO mutant that produces altered elastase. *J Bacteriol Res* 1980; 142: 836-842.
10. Essar DW, Eberly L, Hadero A, et al. Identification and Characterization of genes for a second anthranilate synthase in *P. aeruginosa*: interchangeability of the two anthranilate synthases and evolutionary implications. *J Bacteriol Res* 1990; 172: 884-900.
11. Kohler T, Curty LK, Barja F, et al. Swarming of *Pseudomonas aeruginosa* is dependent on cell-to-cell signaling and requires flagella and pili. *J Bacteriol* 2000; 182 (21): 5990-5996.
12. O'Toole GA. Microtiter Dish Biofilm Formation Assay. *J Vis Exp* 2011; 47:2437.
13. Ghaderinia P, Shapouri R. Assessment of immunogenicity of alginate microparticle containing *Brucella melitensis* 16M oligo polysaccharide tetanus toxoid conjugate in Mouse. *Banats J Biotechnol* 2017; 8(16): 83–92.
14. Fernández-Sestelo M, Carrillo JM. Environmental Effects on Yield and Composition of Essential Oil in Wild Populations of Spike Lavender (*Lavandula latifolia* Medik.). *Agriculture* 2020; 10(12): 626.
15. Marotta SM, Giarratana F, Parco A, et al. Evaluation of the Antibacterial Activity of Bergamot Essential Oils on Different *Listeria Monocytogenes* Strains. *Ital J Food Saf* 2016; 5(4): 6176.
16. Önem E, Tüzün B, Akkoç S. Anti-quorum sensing activity in *Pseudomonas aeruginosa* PA01 of benzimidazolium salts: electronic, spectral and structural investigations as theoretical approach, *J Biomol Struct Dyn* 2021; doi: 10.1080/07391102.2021.1890222.
17. Fuentes-Gutiérrez A, Curiel-Quesada E, Correa-Basurto J, et al. N-Heterocycles Scaffolds as Quorum Sensing Inhibitors. Design, Synthesis, Biological and Docking Studies. *Int J Mol Sci* 2020; 21(24): 9512.
18. Asfour HZ. Anti-Quorum Sensing Natural Compounds. *J Microsc Ultrastruct* 2018; 6(1):1-10.
19. John KMM, Bhagwat AA, Luthria DL. Swarm motility inhibitory and antioxidant activities of pomegranate peel processed under three drying conditions. *Food Chem* 2017; 235: 145–153.
20. Millezi AF, Piccoli RH, Oliveira JM, et al. Anti-biofilm and Antibacterial Effect of Essential Oils and Their Major Compounds. *J*

Essent Oil-Bear Plants 2016; 19: 624-631.

21. Kostylev M, Kima DY, Smalley, et al. Evolution of the *Pseudomonas aeruginosa* quorum sensing hierarchy. PNAS 2019; 116:7027–7032.

22. Donabedian H. Quorum sensing and its relevance to infectious diseases. J Infect 2003; 46(4): 207-214.

23. Mecham RP. Elastin in lung development and disease pathogenesis. Matrix Biol 2018; 73:6-20.

24. Thibodeaux BA, Caballero AR, Marquart ME, Tommassen J, O’Callaghan RJ. Corneal virulence of *Pseudomonas aeruginosa* elastase B and alkaline protease produced by *Pseudomonas putida*. Curr Eye Res 2007; 32(4): 373-86.

25. George M, Pierce G, Gabriel M, et al. Effects of quorum sensing molecules of *Pseudomonas aeruginosa* on organism growth, elastase B production, and primary adhesion to hydrogel contact lenses. Eye Contact Lens 2005; 31(2): 54-61.

26. Mori M, Ikeda N, Kato Y, et al. Inhibition of elastase activity by essential oils in vitro. J Cosmet Dermatol 2002; 1(4): 183-7.

27. Fuqua C, Parsek MR, Greenberg EP. Regulation of gene expression by cell to-cell communication: acyl-homoserine lactone

quorum sensing. Annu Rev Genet 2001; 35:439–468.

28. Husain FM, Ahmad I, Khan MS, et al. Sub-MICs of Mentha piperita essential oil and menthol inhibits AHL mediated quorum sensing and biofilm of Gram-negative bacteria. Front Microbiol 2015; 6:420.

29. Kalia M, Yadav VK, Singh PK, et al. Effect of Cinnamon Oil on Quorum Sensing-Controlled Virulence Factors and Biofilm Formation in *Pseudomonas aeruginosa*. PLoS ONE 2015; 10(8): e0135495.

30. Yeung AT, Torfs EC, Jamshidi F, et al. Swarming of *Pseudomonas aeruginosa* is controlled by a broad spectrum of transcriptional regulators, including MetR. J Bacteriol 2009; 191(18):5592-602.

31. Qvortrup K, Hultqvist LD, Nilsson M, et al. Small Molecule Anti-biofilm Agents Developed on the Basis of Mechanistic Understanding of Biofilm Formation. Front Chem 2019; 7(742): 1-27.

32. Tolker-Nielsen T. *Pseudomonas aeruginosa* biofilm infections: from molecular biofilm biology to new treatment possibilities. APMIS Suppl 2014; 122(138): 1-51.

33. Jiang Q, Chen J, Yang C, et al. Quorum Sensing: A Prospective Therapeutic Target for Bacterial Diseases. Biomed Res Int 2019; 2015978.