

İdrar Örneklerinden İzole Edilen *Candida* Suşlarına Karşı *Viburnum opulus* L. (Gilaburu) Meyve Ekstraktlarının Antifungal Aktivitesi

Fikriye MİLLETLİ SEZGİN¹, Ali SEVİM², Ömer KARAKAMIŞ³, Neslihan ŞAHİN³,
Buket ÖZDEMİR⁴, Elif SEVİM^{2*}

¹Ahi Evran Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Kırşehir, Türkiye

²Ahi Evran Üniversitesi, Mühendislik-Mimarlık Fakültesi, Genetik ve Biyomühendislik Bölümü,
Kırşehir, Türkiye

³Ahi Evran Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Kırşehir, Türkiye

⁴Ahi Evran Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Kırşehir, Türkiye

(GelişTarihi/Received:12/05/2017 , Kabul Tarihi/Accepted: 13/10/2017)

ÖZ

Bu çalışmanın amacı *Viburnum opulus* L. (Gilaburu) meyvesinin etanol, metanol, etil asetat, kloroform ve aseton ekstraktlarının idrar örneklerinden izole edilen 45 *Candida* suşu üzerine antifungal etkinliğinin değerlendirilmesidir. 45 *Candida* suşu Ahi Evran Üniversitesi, Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarına enfeksiyon şüphesi ile gönderilen idrar örneklerinden izole edilmiştir. *V. opulus* (Gilaburu) meyveleri Kayseri ilinden toplanmış ve etil asetat, etanol, metanol, aseton, kloroform ve sulu ekstraktları hazırlanmıştır. Ekstraktların antifungal aktiviteleri oyuk agar yöntemi ile tespit edilmiştir. Oyuk agar yöntemi ile etkili olduğu tespit edilen ekstraktların minimal inhibisyon konsantrasyonları (MİK) broth mikrodilüsyon metodu ile belirlenmiştir. İdrar örneklerinden izole edilen 45 *Candida* suşunun 23'ü *C. albicans*, 22'si ise non-albicans olarak tanımlanmıştır. Yapılan çalışmada, etil asetat ve metanol ekstraktları 45 *Candida* suşunun 29'u üzerinde, etanol ekstraktları ise 35'i üzerinde etkili olduğu tespit edilmiştir. Etil asetat, etanol ve metanol ekstraktlarının MIC değerlerinin 500 µg/ml ile 1500 µg/ml olduğu tespit edilmiştir. Yapılan çalışma sonucunda *Viburnum opulus* L. meyvelerinin etanol, metanol ve etil asetat ekstraktlarının idrar yolu enfeksiyonuna neden olan *Candida* suşları üzerinde oldukça iyi antifungal aktivitesinin olduğu tespit edilmiştir. Sonuç olarak, *V. opulus* 'un fermente ürünlerinin antifungal ilaçlara alternatif olarak idrar yolu enfeksiyon şüpheli veya potansiyeli yüksek olan kişiler için doğal bir koruyucu olarak önerilebileceği düşünülmektedir.

Anahtar kelimeler *Viburnum opulus* L., *Candida albicans*, Non-albicans, Antifungal aktivite

Antifungal Activity of *Viburnum opulus* L. (Gilaburu) Fruit Extracts Against *Candida* Strains Isolated from Urine Samples

ABSTRACT

The purpose of the present study was to evaluate the antifungal activity of ethanol, methanol, ethyl-acetate, chloroform and acetone extracts of *Viburnum opulus* L. (Gilaburu) fruits against 45 *Candida* strains isolated from urine samples. 45 *Candida* strains were isolated from urine specimens that were sent to Ahi Evran University, Training and Research Hospital, Microbiology Laboratory with infection doubt. *V. opulus* fruits were collected from Kayseri province and their extracts were prepared using ethyl acetate, ethanol, methanol, acetone, chloroform and aqueous as solvent. The antifungal activities of the extracts were determined by the agar-well diffusion method. Minimal inhibitory concentrations

(MIC) of extracts were determined by broth microdilution method. Among 45 *Candida* strains isolated from urine specimens, 23 of them were identified as *C. albicans* and 22 of them were identified as non-*albicans*. In the study, while ethyl acetate and methanol extracts were effective against 29 of 45 *Candida* strains, ethanol extracts were effective against 35 *Candida* strains. The MIC values of ethyl acetate, ethanol and methanol extracts were found to be ranging from 500 µg / ml to 1500 µg / ml. As a result of the study, it was determined that ethanol, methanol and ethyl acetate extracts of *V. opulus* fruits had quite good antifungal activity against *Candida* strains causing urinary tract infection. In conclusion, it was thought that the fermented products of *V. opulus* may be offered as an alternative to antifungal drugs as a natural preservative for people with suspected or potentially high urinary tract infections.

Keywords: *Viburnum opulus* L., *Candida albicans*, Non-*albicans*, Antifungal activity

1. Giriş

Mantar enfeksiyonlarının en yaygın etmeni *Candida* cinsi maya mantarlarıdır. *Candida* türleri arasında ise *Candida albicans* en sık rastlanılan patojen olma özelliğindedir (Achkar ve Fries, 2010). Kandidüri, çeşitli *Candida* türlerinin neden olduğu idrar yolu enfeksiyonlarında yaygın görülen bir bulgudur. *C. albicans* ise kandidürinin önce gelen etkenlerindendir. Ancak son yıllarda hastane enfeksiyonları içerisinde *C. glabrata* ve *C. tropicalis* gibi non-*albicans* türlerinin insidansında bir artış gözlemlenmiştir (Mahmoudabadi vd., 2013). Son yıllarda *Candida* türlerine bağlı idrar yolu enfeksiyonlarının insidansında oluşan dünya çapındaki artışın, kısmen geniş spektrumlu antibiyotiklerin yaygın olarak kullanılması ve bağışıklığı baskılanmış hasta sayısının artmasından dolayı olduğu düşünülmektedir. Küresel bulaşıcı hastalıklar topluluğu sınırlı tedavi seçenekleri nedeniyle Kandidüri alarmlarını yükseltmiştir. Kandidürinin önlenmesi ve kontrolünde son on yıldaki sınırlı başarı, enfeksiyonun olduğu anda önlenmesinin zorluğunu vurgulamaktadır. Bu

enfeksiyonlar yetersiz tedavi edildiğinde ise ciddi komplikasyonlar ortaya çıkabilmektedir (Alshami ve Alharbi, 2014). *Candida* türlerine karşı etkili olan amfoterisin B, itrakonazol, flukonazol, ketokonazol, ekonazol ve nistatin gibi çeşitli antifungal etmenler bulunmaktadır. Bu antifungal maddelerden bazıları (flukonazol, amfoterisin B, ketokonazol, ekonazol ve itrakonazol) idrar yolu enfeksiyonlarının tedavisinde sıklıkla kullanılmaktadır (Fisher vd., 2011). Flukonazol ise tedavide en sık kullanılan antifungal ilaç olup ve son yıllarda bu ilaca karşı bir direnç gelişimi söz konusudur. Diğer ilaçlarla yapılan tedavilerde de aynı problemle karşılaşmaktadır. Dolayısıyla, mevcut antifungal ilaçların doğal ürünlerle kombinasyon şeklinde kullanılması veya yeni ilaçların geliştirilmesi mantar enfeksiyonlarının geleceği ve günümüzdeki tedavisi için kritik öneme sahiptir (Pfaaller, 2012). Bu nedenle, araştırmacılar antimikrobiyal özelliklere sahip şifalı bitki maddeleri aramak için halk ilaçları ve doğal ürünler üzerine yoğunlaşmıştır (Cesoniene vd., 2014). *Caprifoliaceae* familyası

içerisinde bulunan *Viburnum* cinsi süs amaçlı ve yenilebilir meyveleri için büyütülen 230'dan fazla bitki türünü içermektedir. Bu cins ülkemizde yaprak döken çalı olarak 4 tür ile temsil edilmektedir (*V. opulus*, *V. orientale*, *V. lantana* ve *V. tinus*) (Eryılmaz vd., 2013). *Viburnum* türlerinin çoğu endemik olmasına rağmen *Viburnum opulus* L. (Gilaburu) türü Güney Amerika'dan Güneydoğu Asya'ya kadar uzanan geniş bir yayılıma sahiptir (Karaujalyte vd., 2013). Bu cinse ait türler kırsal alanlarda yaşayan insanlar arasında oldukça popülerdir. Örneğin *V. lantana*'nın rubefiant ve analjezik olarak kullanıldığı rapor edilmiştir. *V. tinus*'un ise nöroprotektif, hepatoprotektif, sedatif ve spazmolitik etkisi olduğu bildirilmiştir (Saltan vd., 2016). Ülkemizde İç Anadolu bölgesinde (özellikle Kayseri ve civarında) *V. opulus*'un meyvelerinden hazırlanan gilaburu ise yöresel bir içecek olarak tüketilmektedir. *V. opulus*'un gıda ve içecek olarak kullanımının yanı sıra yüksek tansiyon, kalp rahatsızlıkları, tüberküloz, mide ağrısı, sindirim bozuklukları, duodenal ülser ve kanamalar, böbrek ve mesane tutkuları, diyabetik ve jinekolojik hastalıklarda halk ilacı olarak kullanımı mevcuttur (Eryılmaz vd., 2013; Saltan vd., 2016; Zayachkivska vd., 2006; Kalyoncu vd., 2013; Sağdıç vd., 2006; Altun vd., 2008; Yılmaz vd., 2006). *V. opulus* meyvesinin içerdiği yüksek miktardaki fenolik bileşikler, antioksidanlar ve organik asitler vasıtasıyla antimikrobiyal özellik gösterdiği bir çok

çalışmada bildirilmiştir (Rop vd., 2010; Velioglu vd., 2006; Cesoniene vd., 2012). Yapılan bu çalışmadaki amacımız, Kayseri ilinden toplanan *V. opulus* meyvelerinin etanol, metanol, etil asetat, kloroform ve aseton ekstraktlarının hazırlanarak kandidüri etkeni olan *C. albicans* ve non-*albicans* türleri üzerindeki antifungal etkisinin araştırılmasıdır. Bu çalışma *V. opulus* meyvelerinin *Candida* türlerine karşı test edildiği ilk çalışmadır.

2. Materyal ve Metot

2.1. *Candida* suşlarının tanımlanması

Bu çalışmaya 2016 yılı içerisinde Ahi Evran Üniversitesi, Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji laboratuvarına çeşitli kliniklerden üriner sistem enfeksiyonu ön tanısı ile gönderilen idrar örneklerinden izole edilmiş 45 *Candida* suşu dahil edilmiştir. Dahil edilen suşların seçimine, piyüri varlığı ve tekrarlayan örneklerde *Candida* spp. üremesi göz önüne alınarak karar verilmiştir. Suşların tanımlanması Vitek-2 Kompakt Otomatize Sistemi ile yapılmıştır. Çalışmaya dâhil edilen 45 *Candida* suşu Tablo 1'de verilmiştir.

2.2. *Viburnum opulus* L. Meyve Ekstraktlarının Hazırlanması

V. opulus meyveleri 2016 yılının Eylül-Ekim aylarında Kayseri ilinden toplanmıştır. Meyveler 45 °C'de kurutulmuş olup kurutulan meyveler öğütücü yardımı ile toz haline getirilmiştir. Toz haline getirilen materyalden 10 g tartılıp, etanol, metanol, etil asetat, aseton, kloroform ve su olmak üzere 6 farklı çözücü, 100 ml hacim olacak

şekilde örnek üzerine eklenmiş ve manyetik karıştırıcıda 24 saat karıştırılarak ekstraktlar hazırlanmıştır (Altuner vd., 2014). Hazırlanan ekstraktlar Whatman No 1 kağıdı ile süzölmüş ve evaporatör yardımı ile basınç altında konsantre edilmiştir. Antifungal aktivitenin belirlemesi için 0,5 g konsantre edilmiş ekstraktlardan tartılarak 10 ml çözücü içerisinde (su, % 25 etanol, %25 metanol, %25 aseton, kloroform ve etil asetat) çözülmüş ve böylece 50 mg/ml test solüsyonları hazırlanmıştır (Altuner vd., 2014). Kullanılan çözücülerin antifungal aktivitelerinin kontrolü oyuk agar yönteminde test edilmiştir.

2.3. *In vitro* antifungal aktivitenin belirlenmesi

Çeşitli çözücülerde çözülerek elde edilen *V. opulus* meyve ekstraktlarının antifungal özelliği üriner sistem enfeksiyonuna neden olan *C. albicans* ve non-*albicans*'lara karşı oyuk agar yöntemi ile test edilmiştir (Magaldi vd., 2004). *Candida* suşları Sabouraud Dextrose Agar (SDA) besiyerinde büyütölmüştür ve üreyen kolonilerden steril serum fizyoloji (0,9% NaCl) içerisinde MacFarland 0,5 bulanık değeriine sahip hücre süspansiyonları hazırlanmıştır. Daha sonra taze hazırlanmış Potato Dextrose Agar (PDA) besiyerleri 55 °C'ye kadar soğutulmuştur ve içerisine 1 ml hücre süspansiyonu eklenerek karışması sağlanmıştır. Hücre süspansiyonu eklenen PDA besiyerleri 9 cm çapında petri kaplarına dökölmüş ve kuruması sağlanmıştır. Kuruyan besiyeri üzerinde 4 mm çapında kuyucuklar steril cork-borer yardımı ile açılmıştır. Açılan kuyucukların içerisi 50 µl

(her bir kuyucuğa 2500 µg/ml olacak şekilde) test solüsyonları ile doldurulmuş ve petri kapları 35°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Kullanılan çözücüler kontrol olarak test edilmişlerdir. İnkübasyon sonunda oluşan zon çapları ölçölerek antifungal aktivite belirlenmiştir. Deneyler 3 tekrarlı olarak yapılmıştır. Oyuk agar yöntemine göre etkili bulunan ekstraktların minimal inhibisyonkonsantrasyon (MİK) değeri Broth mikrodilüsyon metodu ile 96 kuyucuklu plaklarda gerçekleştirilmiştir (Balouiri vd. 2016). *V. opulus* meyvesinin etanol, metanol, etil asetat ve sulu ekstraktlarının Yeast Peptone Dextrose (YPD) sıvı besiyeri içerisinde dilüsyonları yapılarak 3000 µg/ml-15.625 µg/ml (3000, 2000, 1500, 1000, 750, 500, 250, 125, 62,5, 31,25, 15,625) arasındaki konsantrasyonlar hazırlanmıştır. Kuyucuklarının içerisine 0,5 MacFarland bulanıklığa ayarlanmış hücre süspansiyonlarından 20 µl ilave edilmiştir. Mikroplaytler 35°C'de 24 saat inkübe edilmiş ve MİK değeri mikrobiyal üremenin olmadığı en düşük konsantrasyon olarak belirlenmiştir.

2.4. İstatistiksel analizler

Yapılan çalışmada etkili olan ekstraksiyon grupları arasındaki farklılık One-way ANOVA (varyans analizi) ile test edilmiştir. Post-hoc testi olarak LSD çoklu karşılaştırma yöntemi kullanılmıştır (p<0.05). Varyans analizinden önce veriler Levene'nin istatistiği kullanılarak varyans homojenitesi bakımından test edilmiştir. Çalışmadaki *C. albicans* ve non-*albicans*'lar üzerine ekstraktların etkisi Ki-kare testi kullanılarak belirlenmiştir. Çalışmadaki istatistiksel

analizler SPSS 16.0 programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

3. Bulgular

Bu çalışmada, Ahi Evran Üniversitesi, Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarına gelen idrar örneklerinden üretilen *Candida* suşları kullanılmıştır. İzole edilen 45 *Candida* suşunun 23'ü *C. albicans*, 22'si ise non-albicans (5'i *C. famata*, 8'i *C. glabrata*, 8'i *C. tropicalis* ve 1'i *C. lusitanea*) olarak tanımlanmıştır. İzole edilen 23 *C. albicans* suşundan 10'unun flukanazol ilacına karşı dirençli olduğu tespit edilmiştir. İzole edilen *Candida* suşları ve özellikleri Tablo 1'de verilmiştir. *V. opulus* meyvesinin aseton, etil asetat, etanol, metanol ve kloroform ekstraktlarının antifungal etkileri oyuk agar yöntemi ile incelenmiştir. Oyuk agar yöntemi sonucunda, aseton ve kloroform ekstraktlarının hiçbir *Candida* suşunun üremesini inhibe etmediği tespit edilmiştir. Etil asetat ve metanol ekstraktları ise 45 *Candida* suşunun 29'u üzerinde, etanol ekstraktları ise 35'i üzerinde etkili olmuştur. *V. opulus* meyvesinin sulu ekstraktının ise sadece 5 *Candida* suşunun üremesini inhibe ettiği tespit edilmiştir (Tablo 1). *Candida* suşları üzerinde etkili olduğu tespit edilen ekstraktların minimal inhibisyon konsantrasyon değerleri broth mikrodilüsyon tekniği ile belirlenmiştir. *V. opulus* L. meyvesinin etil asetat, etanol ve metanol ekstraktlarının MİK değerleri 500 µg/ml ile 1500 µg/ml arasında değişen konsantrasyonlarda belirlenirken, sulu ektraksiyonun herhangi bir antifungal aktivite göstermediğini tespit etmişlerdir.

ekstratın MİK değeri ise beş izolatta da 1500 µg/ml olarak belirlenmiştir (Tablo 2). Çalışmada *Candida* suşları üzerinde antifungal aktivite gösteren etil asetat, etanol, metanol ve sulu ekstrakt grupları arasında istatistiksel olarak belirgin bir farklılık olduğu tespit edilmiştir. En etkili ekstrakt 45 suşun 35'i üzerinde etkili olan etanol ekstraktı olarak belirlenmiştir (F=90.99, df=6, P<0.05). *C. albicans* ve non-albicans suşları üzerine ekstraktların etkisinin farklı olmadığı, tüm ekstraktların her iki grupta aynı etkiye sahip oldukları tespit edilmiştir (P>0.05).

4. Tartışma

Bu çalışmada kandidürü etkeni olarak tespit edilen *Candida* türleri üzerinde *V. opulus* meyvesinin çeşitli ekstraktlarının antifungal özelliğinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Sonuç olarak etanol, metanol, etil asetat ve bazı sulu ekstraktların *Candida* türleri üzerinde oldukça etkili olduğu tespit edilmiştir. Bazı çalışmalarda *V. opulus* 'un antimikrobiyal özelliği incelenmiş olmasına rağmen, bu bitkinin meyvelerinin idrar yolu enfeksiyonuna neden olan *C. albicans* ve non-albicans'lar üzerine ayrıntılı antimikrobiyal etkisi incelenmemiştir. Cesoniene vd. (2012) *V. opulus* meyve suyunun ve ekstraktlarının antimikrobiyal özelliğini araştırmışlardır. Bakteriler ve bazı mantarlar üzerinde belirgin aktivite görmelerine rağmen *Candida parapsilosis* üzerinde ne meyve suyunun nede etanol

Tablo 1. *Viburnum opulus* L. meyve ekstraktlarının *Candida* suşları üzerine antifungal etkisi ve *Candida* suşlarının özellikleri*.

Suş No	Tür	Klinik	Antifungal direnç profili				V. <i>opulus</i> meyve ekstraktlarının oluşturdukları zon çapı (mm)					
			AMB	5FC	FLC	VRC	AE	EAE	EE	ME	SE	KE
Ca-1	<i>C. albicans</i>	Yoğun Bakım	H	H	D	H	-	19	19	17	-	-
Ca-2	<i>C. tropicalis</i>	Yoğun Bakım	H	H	H	H	-	13	15	13	-	-
Ca-3	<i>C. albicans</i>	Enfeksiyon	H	H	D	H	-	13	17	13	-	-
Ca-4	<i>C. famata</i>	Kroner Y.B	H	H	H	H	-	16	17	16	-	-
Ca-5	<i>C. glabrata</i>	Yoğun Bakım	H	H	H	H	-	17	17	16	-	-
Ca-6	<i>C. glabrata</i>	Yoğun Bakım	H	H	H	H	-	-	-	-	-	-
Ca-7	<i>C. albicans</i>	Yoğun Bakım	H	H	D	H	-	12	16	12	-	-
Ca-8	<i>C. tropicalis</i>	Yoğun Bakım	H	H	H	H	-	-	-	-	-	-
Ca-9	<i>C. albicans</i>	Yoğun Bakım	H	H	H	H	-	12	16	16	-	-
Ca-10	<i>C. albicans</i>	Nöroşirurji	H	H	H	H	-	-	14	-	-	-
Ca-11	<i>C. tropicalis</i>	Yoğun Bakım	H	H	H	H	-	14	14	-	-	-
Ca-12	<i>C. albicans</i>	Yoğun Bakım	H	H	H	H	-	-	15	-	-	-
Ca-13	<i>C. albicans</i>	Yoğun Bakım	H	H	H	H	-	14	15	-	-	-
Ca-14	<i>C. glabrata</i>	Yoğun Bakım	H	H	H	H	-	15	16	-	-	-
Ca-15	<i>C. albicans</i>	Yoğun Bakım	H	H	D	H	-	18	19	17	-	-
Ca-16	<i>C. glabrata</i>	Ortopedi	H	H	H	H	-	12	13	12	-	-
Ca-17	<i>C. albicans</i>	Yoğun Bakım	H	H	H	H	-	-	-	-	-	-
Ca-18	<i>C. albicans</i>	Yoğun Bakım	H	H	H	H	-	-	-	-	-	-
Ca-19	<i>C. glabrata</i>	Yoğun Bakım	H	H	H	H	-	-	-	-	-	-
Ca-20	<i>C. albicans</i>	Yoğun Bakım	H	H	D	H	-	15	17	15	14	-
Ca-21	<i>C. famata</i>	Yoğun Bakım	H	H	H	H	-	17	17	16	-	-
Ca-22	<i>C. albicans</i>	Yoğun Bakım	H	H	D	H	-	19	19	20	-	-
Ca-23	<i>C. famata</i>	G. Cerrahi	H	H	H	H	-	16	18	16	-	-
Ca-24	<i>C. albicans</i>	Ortopedi	H	H	D	H	-	16	15	16	-	-
Ca-25	<i>C. glabrata</i>	Yoğun Bakım	H	H	H	H	-	-	-	-	-	-
Ca-26	<i>C. albicans</i>	Yoğun Bakım	H	H	H	H	-	-	12	12	-	-
Ca-27	<i>C. albicans</i>	Yoğun Bakım	H	H	H	H	-	-	14	-	-	-
Ca-28	<i>C. tropicalis</i>	Yoğun Bakım	H	H	H	H	-	-	12	12	-	-
Ca-29	<i>C. albicans</i>	Yoğun Bakım	H	H	D	H	-	17	16	17	-	-
Ca-30	<i>C. tropicalis</i>	Yoğun Bakım	H	H	H	H	-	-	19	15	-	-
Ca-31	<i>C. glabrata</i>	Yoğun Bakım	H	H	H	H	-	-	-	-	-	-
Ca-32	<i>C. tropicalis</i>	Yoğun Bakım	H	H	H	H	-	18	17	19	-	-
Ca-33	<i>C. tropicalis</i>	Yoğun Bakım	H	H	H	H	-	15	16	16	15	-
Ca-34	<i>C. albicans</i>	Yoğun Bakım	H	H	D	H	-	13	16	14	-	-
Ca-35	<i>C. lusitanea</i>	Yoğun Bakım	H	H	H	H	-	20	17	18	16	-
Ca-36	<i>C. albicans</i>	Yoğun Bakım	H	H	H	H	-	16	15	15	-	-
Ca-37	<i>C. famata</i>	Yoğun Bakım	H	H	H	H	-	15	14	14	-	-
Ca-38	<i>C. glabrata</i>	Yoğun Bakım	H	H	H	H	-	14	14	14	-	-
Ca-39	<i>C. albicans</i>	Yoğun Bakım	H	H	H	H	-	-	-	-	-	-

Ca-40	<i>C. famata</i>	Yoğun Bakım	H	H	H	H	-	-	-	-	-	-
Ca-41	<i>C. albicans</i>	Yoğun Bakım	H	H	H	H	-	16	15	14	-	-
Ca-42	<i>C. albicans</i>	Yoğun Bakım	H	H	H	H	-	15	15	16	-	-
Ca-43	<i>C. albicans</i>	Yoğun Bakım	H	H	H	H	-	-	-	-	-	-
Ca-44	<i>C. albicans</i>	Yoğun Bakım	H	H	D	H	-	19	17	20	16	-
Ca-45	<i>C. tropicalis</i>	G. Cerrahi	H	H	H	H	-	19	20	20	16	-

* AMB: Amfoterisin-B, 5FC: Flusitosine, FLC: flukanazol, VRC: vorikanozol, AE: Aseton ekstrakt, EAE: Etil asetat ekstrakt, EE: Etanol ekstrakt, ME: Metanol ekstrakt, KE: Kloroform ekstrakt; SE: Sulu ekstrakt.

Tablo 2. Etkili bulunan *V. opulus* meyveekstraktlarının minimal inhibisyon konsantrasyon (MİK) değerleri*

Suş No	Minimal inhibisyon konsantrasyon (MİK) değeri (µg/ml)			
	Etil asetat ekstrakt	Etanol ekstrakt	Metanol ekstrakt	Sulu ekstrakt
Ca-1	750	750	750	-
Ca-2	1000	1000	1000	-
Ca-3	1000	750	1000	-
Ca-4	750	750	750	-
Ca-5	750	750	750	-
Ca-7	1500	750	1500	-
Ca-9	1500	750	750	-
Ca-10	-	1000	-	-
Ca-11	1000	1000	-	-
Ca-12	-	1000	-	-
Ca-13	1000	1000	-	-
Ca-14	1000	750	-	-
Ca-15	500	500	750	-
Ca-16	1500	1000	1500	-
Ca-20	1000	750	1000	1500
Ca-21	750	750	750	-
Ca-22	500	500	500	-
Ca-23	750	500	750	-
Ca-24	750	500	750	-
Ca-26	-	1500	1500	-
Ca-27	-	1000	-	-
Ca-28	-	1500	1500	-
Ca-29	750	750	750	-
Ca-30	-	500	1000	-
Ca-32	500	750	500	-
Ca-33	1000	750	750	1500
Ca-34	1000	750	1000	-
Ca-35	500	750	500	1500
Ca-36	1000	1000	1000	-

Ca-37	1000	1000	1000	-
Ca-38	1000	1000	1000	-
Ca-41	1000	1000	1000	-
Ca-42	1000	1000	750	-
Ca-44	500	750	500	1500
Ca-45	500	500	500	1500

C. parapsilosis, klinik örneklerden en yaygın izole edilen ikinci fungal patojen olarak karşımıza çıkmakta ve yaygın olarak da kandidüri etkeni olduğu literatürde belirtilmiştir (Trofa vd., 2008; Kauffman, 2005). Yaptığımız çalışmada örnek toplama periyodu boyunca kandidüri etkeni olarak *C. parapsilosis* izole edilememiştir. Fakat *V. opulus* meyve ekstraktlarının (özellikle etanol, metanol ve etil asetat) kandidüri etkeni olarak izole edilen diğer *Candida* türleri üzerine oldukça güçlü antifungal aktiviteye sahip oldukları tespit edilmiştir. Eryılmaz vd. (2013), Türkiye’de bulunan dört *Viburnum* türünün (*V. opulus*, *V. orientale*, *V. tinus* ve *V. lantana*) kök, çiçek ve yapraklarından hazırlanan sulu ve etanol ekstraktlarının bazı bakteriler ve *C. albicans* ATCC 10231 tip suşu üzerine olan antimikrobiyal etkisini incelemişlerdir. Yaptıkları çalışmada *V. opulus* bitkisinin tüm ekstraktlarının *C. albicans* ATCC 10231 üzerine herhangi bir antifungal aktivite göstermediği belirlenmiştir. Bir başka çalışmada Türkiye’de bulunan üç *Viburnum* türünden (*V. opulus*, *V. orientale* ve *V. lantana*) uçucu yağların ekstraksiyonu yapılmış ve bu ekstraksiyonların bazı bakteriyel tip suşları ve *C. tropicalis* ATCC 13803 üzerine antimikrobiyal etkileri araştırılmıştır. Bu çalışmada da uçucu yağ

ekstraksiyonların *C. tropicalis* ATCC 13803 üzerine herhangi bir antifungal aktivitesi tespit edilememiştir (Yılmaz vd., 2006). Oysaki bizim çalışmamızda kandidüri etkeni olan 23 *C. albicans* ve 8 *C. tropicalis* suşu kullanılmış ve gilaburu etanol ekstraksiyonun %83 (19 suş) oranında *C. albicans* ve %88 (7 suş) oranında *C. tropicalis* üzerine etkili olduğu tespit edilmiştir. Bu sonuçlar göz önüne alındığında *V. opulus* meyvesinin diğer bitki kısımlarından ve uçucu yağ asitlerine göre daha güçlü antifungal aktivite özelliği gösterdiği söylenebilir. Bunun sebebi olarak da meyve içerisinde oldukça yüksek oranda bulunan fenolik bileşikler olduğu düşünülmektedir. *V. opulus* meyvesinin ve gilaburu olarak isimlendirilen meyve suyunun kimyasal içeriğinin çok zengin olduğu literatürde belirtilmiştir (Boyacı vd., 2006). Son yıllarda fenolik bileşikler, terpenoidler, iridoidler, flavinoidler, antosiyaninler ve karotenoid içerdiği belirlenen gilaburu giderek daha çok ilgi kazanmıştır. Ayrıca son yıllardaki araştırmalar gilaburunun yüksek miktarda askorbik asit gibi antioksidan bileşikleri içerdiğini göstermiştir (Kalyoncu vd., 2013; Kraujalyte vd., 2012; Altun ve Yılmaz 2007). Antimikrobiyal özelliğe sahip bitki özütlerinin tanımlanması, klinik

enfeksiyonların kontrol altına alınmasında güvenli ve etkili bir yolu olarak önem kazanmaktadır (Savoia, 2012). *Candida* türlerinin sebep olduğu kandidüri enfeksiyonlarının tedavisinde en sık kullanılan antifungal ilaç flukanozoldur. Bu antifungal ilaca karşı oluşan direnç nedeniyle kandidürinin tedavisi gittikçe zorlaşmaktadır. Bu durum diğer antifungal ilaçlar içinde geçerliliğini sürdürmektedir. Dolayısıyla, mevcut antifungal ilaçların doğal ürünlerle kombinasyon halinde kullanılması veya yeni ilaçların geliştirilmesi mantar enfeksiyonlarının geleceği ve günümüzdeki tedavisi için kritiktir (Alshami ve Alharbi, 2014). Çalışmamızda izole edilen 23 *C. albicans* suşundan 10'unun flukanazole karşı dirençli olduğu tespit edilmiştir.

Bu çalışmada, *V. opulus* meyvelerinin etil asetat, etanol ve metanol ekstraktlarının flukanazol dirençli tüm *C. albicans*'lar üzerine etkili olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca MİK değerleri incelendiğinde özellikle etanol ekstraktlarının 500-750 µg/ml gibi bir değerde flukanazol dirençli suşlarda etkili olduğu görülmektedir. Bu sonuçlar *V. opulus* meyve ekstraktlarının (özellikle etanol, metanol ve etil asetat) antifungal direncinin gelişmesini önlemek için alternatif olarak kullanılabileceğini düşündürmektedir.

Candida türlerinin neden olduğu idrar yolu enfeksiyonlarının son yıllarda hızlı artışı ve tedavide kullanılan antifungal ilaçlara karşı hızlı gelişen dirençten dolayı yan etkileri sınırlı veya yan etkisi olmayan, alternatif, güvenli ve etkili doğal antifungal ajanların

aranması ilgi çekici konular arasında yer almaktadır. Bu çalışmanın sonuçları değerlendirildiğinde gilaburu içeceğinin kandidüri etkenlerine karşı alternatif bir antifungal ajan olarak kullanılabileceği düşünülmektedir.

5. Teşekkür

Bu çalışma Ahi Evran Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimince desteklenmiştir (Proje No: MMF.A4.17.001).

6. Kaynaklar

- Achkar, J.M., Fries, B.C. 2010. *Candida* infections of the genitourinary tract. *Clinical Microbiology Reviews*, 23, 253-73.
- Alshami, I., Alharbi, A.E. 2014. Antibacterial effect of *Hibiscus sabdariffa* (Roselle) extract in synergism with voriconazole and fluconazole against fluconazole-resistant *Candida albicans* isolates: An in vitro study. *Biomedical Research*, 25, 401-404.
- Altun, M.L., Yılmaz, B.S. 2007. HPLC method for the analysis of salicin and chlorogenic acid from *Viburnum opulus* and *V. lantana*. *Chemistry of Natural Compounds*, 43, 205-207.
- Altun, M.L., Çitoğlu, G.S., Yılmaz, B.S., Çoban, T. 2008. Antioxidant properties of *Viburnum opulus* and *Viburnum lantana* growing in Turkey. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 59, 175-180.
- Altuner, E.M., Canlı, K., Ilgaz, A. 2014. Antimicrobial Screening of

- Calliergonella cuspidata*, *Dicranum polysetum* and *Hypnum cupressiforme*. Journal of Pure and Applied Microbiology, 8(1), 539-545.
- Balouiri, M., Sadiki, M., Ibnsouda, S.K. 2016. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. Journal of Pharmaceutical Analysis, 6, 71-79.
- Boyacı, H., Çöteli, E., Karataş, F. 2016. Gilaburu (*Viburnum opulus* L.) meyvesindeki A, E vitamini, beta karoten, likopen, redükte ve okside glutatyon miktarlarının araştırılması. Erzincan University Journal of Science and Technology, 9(1), 111-117.
- Cesonienė, L., Daubaras, R., Kraujalyte, V., Venskutonis, P.R., Sarkinas, A. 2014. Antimicrobial activity of *Viburnum opulus* fruit juices and extracts. Journal of Consumer Protection and Food Safety, 9, 129-132.
- Cesonienė, L., Daubaras, R., Sarkinas, A., Viskelis, P. 2012. Determination of the total phenolic and anthocyanin contents and antimicrobial activity of *Viburnum opulus* fruit juice. Plant Foods for Human Nutrition, 67, 256-261.
- Eryılmaz, M., Özbilgin, S., Ergene, B., Sever Yılmaz, B., Altun, M.L., Saltan, G. 2013. Antimicrobial activity of Turkish *Viburnum* species. Bangladesh Journal of Botany, 42, 355-360.
- Fisher, J.F., Sobel, J.D., Kauffman, C.A., Newman, C.A. 2011. *Candida* urinary tract infections-treatment. Clinical Infectious Diseases, 52, S457-66.
- Kalyoncu, I.H., Ersoy, N., Yalcın Elidemir, A., Karali, M.E. 2013. Some physico-chemical characteristics and mineral contents of gilaburu (*Viburnum opulus* L.). International Journal of Biological, Biomolecular, Agricultural, Food and Biotechnological Engineering, 7, 424-426.
- Karaujalyte, V., Venskutonis, P.R., Pukalskas, A., Cesonienė, L., Daubara, R. 2013. Antioxidant properties and polyphenolic compositions of fruits from different European cranberry bush (*Viburnum opulus* L.) genotypes. Food Chemistry, 141, 3695-3702.
- Kauffman, C.A. 2005. Candiduria. Clinical Infectious Diseases, 41 (Supplement 6): S371-S376.
- Kraujalyte, V., Leitner, E., Venskutonis, P.R. 2012. Chemical and sensory characterisation of aroma of *Viburnum opulus* fruits by solid phase microextraction-gas chromatography-olfactometry. Food Chemistry, 132, 717-723.
- Magaldi, S., Mata-Essayaga, S., Hartung de Capriles, C., Perez, C., Colella, M.T., Olaizola, C., Ontiveros, Y. 2004. Well diffusion for antifungal susceptibility testing. International Journal of Infectious Diseases, 8, 39-45.
- Mahmoudabadi, A.Z., Zarrin, M., Fard, M.B. 2013. Antifungal susceptibility of *Candida* species isolated from

- Candiduria. Jundishapur Journal of Microbiology, 6, 24-28.
- Pfaller, M.A. 2012. Antifungal drug resistance: mechanisms, epidemiology, and consequences for treatment. The American Journal of Medicine, 125, S3-13.
- Rop, O., Reznicek, V., Valsikova, M., Jurikova, T., Mlcek, J., Kramarova, D. 2010. Antioxidant properties of European cranberry bush fruit (*Viburnum opulus* var *edule*). Molecules, 15, 4467-4477.
- Sağdıç, O., Aksoy, A., Özkan, G. 2006. Evaluation of the antibacterial and antioxidant potentials of cranberry (gilaburu, *Viburnum opulus* L.) fruit extract. Acta Alimentaria, 35, 487-492.
- Saltan, G.,Suntar, I., Ozbilgin, S., Ilhan, M., Demirel, A.M., Ergene Oz, B., Keles, H., Kupeli Akkol, E. 2016. *Viburnum opulus* L.: A remedy for the treatment of endometriosis demonstrated by rat model of surgically-induced endometriosis. Journal of Ethnopharmacology, 193, 450-455.
- Savoia, D. 2012. Plant-derived antimicrobial compounds: alternatives to antibiotics. Future Microbiology, 7, 979-990.
- Trofa, D.,Gacser, A., Nosanchuk, J.D. 2008. *Candida parapsilosis*, an emerging fungal pathogen. Clinical Microbiology Reviews, 21, 606-625.
- Velioglu, I.S., Ekici, L., Poyrazoglu, E.S. 2006. Phenolic composition of European cranberry bush (*Viburnum opulus* L.) and a string encyremoval of its commercial juice. International Journal of Food Science and Technology, 41, 1011-1015.
- Yılmaz, N., Yaylı, N., Mısır, G., Coşkunçelebi, K., Karaoğlu, Ş., Yaylı, N. 2006. Chemical composition and antimicrobial activities of the essential oils of *Viburnum opulus*, *Viburnum lantana* and *Viburnum orientala*. Asian Journal of Chemistry, 20, 3324-3330.
- Zayachkivska, O.S., Gzhegotsky, M.R., Terletska, O.I., Lutsyk, D.A., Yaschenko, A.M., Dzhura, O.R. 2006. Influence of *Viburnum opulus* proanthocyanidins on stress-induced gastrointestinal mucosal damage. Journal of Physiology and Pharmacology, 57, 155-167.