

BEZMİALEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

MELALEUCA ALTERNIFOLIA (ÇAY AĞACI) YAĞININ  
ANTI-LEİSHMANİAL ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Sara AL MOFTİ

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Tıbbi Mikrobiyoloji Tezli Yüksek Lisans Programı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Semra ÖZÇELİK

HAZİRAN 2024

BEZMİALEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

MELALEUCA ALTERNIFOLIA (ÇAY AĞACI) YAĞININ  
ANTİLEİSHMANİAL ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Sara AL MOFTİ  
(215330002)

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı

Tıbbi Mikrobiyoloji Tezli Yüksek Lisans Programı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Semra ÖZÇELİK

HAZİRAN 2024

Bezmiâlem Vakıf Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü'nün 215330002 numaralı Yüksek Lisans Öğrencisi Sara AL MOFTİ, ilgili yönetmeliklerin belirlediği gerekli tüm şartları yerine getirdikten sonra hazırladığı "MELALEUCA ALTERNIFOLIA (ÇAY AĞACI) YAĞININ ANTİLEİSHMANİYAL ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI" başlıklı tezini aşağıda imzaları olan jüri önünde başarı ile sunmuştur.

**Tez Danışmanı :** **Prof. Dr. Semra ÖZÇELİK** .....

Bezmiâlem Vakıf Üniversitesi

**Jüri Üyeleri :** **Prof. Dr. Mehmet Ziya DOYMAZ** .....

Bezmiâlem Vakıf Üniversitesi

**Prof. Dr. Erdal POLAT**  
İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi .....

**Teslim Tarihi** : 26 Temmuz 2024  
**Savunma Tarihi** : 27 Haziran 2024



*Aileme ve değerli hocalarıma,*

## ÖNSÖZ

Çalışma sürecinde bana en büyük destek ve yol göstericisi olan, beni motive eden, bilgi birikimiyle, değerli katkılarıyla her zaman yanımda olan ve öğrencisi olmaktan çok gurur duyduğum değerli danışman hocam Prof. Dr. Semra ÖZÇELİK'e sonsuz teşekkür ederim.

Ayrıca çalışmamda bana desteği olan çok değerli ve kıymetli Bezmiâlem Vakıf Üniversitesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Başkanı sayın Prof. Dr. Abdurrahim KOÇYİĞİT hocama, tez çalışma sürecinde bana destek olan değerli Öğr. Gör. Ebru KANIMDAN'a ve bana Mikrobiyolojiyi sevdiren ve sağlam bir temel veren çok değerli hocam Doç. Dr. Bilge SÜMBÜL'e sonsuz şükranlarımı sunar teşekkür ederim.

Son olarak hayatım boyunca desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen anne ve babama, daima kalbimde olan ve hatırasıyla bile bana cesaret veren anneanneme ve her zaman yanımda olan kıymetli ablam Solin AL MOFTİ'ye sonsuz teşekkür ederim.

Haziran 2024

Sara Al MOFTİ  
(Fizyoterapist)

## BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Sara Al MOFTİ

İmza



# İÇİNDEKİLER

## Sayfa

ÖNSÖZ	iv
BEYAN	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
KISALTMALAR .....	viii
SEMBOLLER .....	ix
TABLO LİSTESİ .....	x
ŞEKİL LİSTESİ.....	xi
ÖZET	xii
SUMMARY .....	xiii
<b>1. GİRİŞ</b>	
1.1 Tezin Amacı.....	1
1.2 Araştırmanın Önemi.....	2
1.3 Hipotez .....	2
<b>2. KAVRAMSAL ÇERÇEVE.....</b>	<b>3</b>
2.1 Esansiyel Yağlar.....	3
2.2 <i>Melaleuca alternifolia</i> (Çay Ağacı) .....	7
2.2.1 Tıbbi kullanıma elverişli özellikler .....	9
2.2.2 Toksikolojik özellikler .....	13
2.3 <i>Leishmania</i> .....	14
2.3.1 Yaşam döngüsü .....	17
2.3.2 Risk faktörleri.....	21
2.3.3 Ayırıcı tanı .....	22
2.3.4 Klinik formlar ve tanı.....	22
2.3.5 İmmünite .....	25
2.3.6 Tedavi.....	29
<b>3. GEREÇ VE YÖNTEM.....</b>	<b>34</b>
3.1 <i>M. alternifolia</i> Bitkisinin Uçucu Yağı ve <i>L.tropica</i> Promastigotları .....	34
3.1.1 <i>M. alternifolia</i> yağının elde edilmesi.....	34

3.1.2 <i>Leishmania tropica</i> kültürü ve besiyeri.....	34
3.1.3 CellTiter-Glo® Luminescent Cell Viability kiti .....	35
3.1.4 Araştırmanın yöntemi .....	36
<b>4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....</b>	<b>38</b>
<b>5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER .....</b>	<b>43</b>
<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>43</b>
<b>EKLER</b>	
Hata! Yer işareti tanımlanmamış.	
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>60</b>



## KISALTMALAR

<b>ATP</b>	: Adenozin Trifosfat
<b>TTO</b>	: <i>Tea Tree Oil</i>
<b>WHO</b>	: Dünya Sağlık Örgütü
<b>L.tropica</b>	: <i>Leishmania tropica</i>
<b>KL</b>	: Kutanöz Leyişmanyaz
<b>VL</b>	: Visseral Leyişmanyaz
<b>PKDL</b>	: Post Kala-Azar Dermal Leyişmanyaz
<b>DMSO</b>	: Aqueous Dimethyl Sulfoxide
<b>DNA</b>	: Deoksiribonükleik Asit

## SEMBOLLER

$\rho$  : Yoğunluk  
 $\mu\text{l}$  : Mikrolitre  
 $\mu\text{m}$  : Mikrometre



## TABLO LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
<b>Tablo 2.1</b> : Bazı aromatik bitkiler.[7] .....	4
<b>Tablo 2.2</b> : <i>M. alternifolia</i> 'nın 14 bileşeni.[1] .....	8
<b>Tablo 2.3</b> : Farklı tedavi yöntemleri.[111-119].....	29
<b>Tablo 4.1</b> : Sulandırmalar ve zamana göre p değerleri.....	41



## ŞEKİL LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1 : Leishmania yaşam döngüsü.[96] .....	18
Şekil 2.2 : Promastigot ve amastigot formları.[98] .....	20
Şekil 2.3 : Bağışıklık hücreleri ve leishmania etkileşimi.[109] .....	26
Şekil 3.1 : RPMI-1640 besiyerinde üretilen <i>L.tropica</i> promastigotlarının May Grünwald boyası ile boyanmış şeklinin 40x büyütmelerindeki görünümü.....	35
Şekil 3.2 : Çalışmaya alınan mikroplak ve reagenler.....	37
Şekil 4.1 : Çay ağacı uçucu yağının farklı sulandırma ve sürelerde <i>L.tropica</i> promastigotlarının canlılıkları üzerine etkisi .....	38
Şekil 4.2 : Çay ağacı uçucu yağının 30. dakikada farklı sulandırmalardaki ATP oranlarına göre saptanan <i>L. tropica</i> promastigot canlılık oranları. ....	39
Şekil 4.3 : Çay ağacı uçucu yağının 60. dakikada farklı sulandırmalardaki ATP oranlarına göre saptanan <i>L. tropica</i> promastigot canlılık oranları. ....	39
Şekil 4.4 : Çay ağacı uçucu yağının 90. dakikada farklı sulandırmalardaki ATP oranlarına göre saptanan <i>L. tropica</i> promastigot canlılık oranları. ....	40
Şekil 4.5 : Çay ağacı uçucu yağının 120. dakikada farklı sulandırmalardaki ATP oranlarına göre saptanan <i>L. tropica</i> promastigot canlılık oranları. ....	40
Şekil 4.6 : Deney düzeneginde 30., 60., 90. ve 120 dakika sonraki işlem akışları.....	42

## MELALEUCA ALTERNİFOLİA (ÇAY AĞACI) YAĞININ ANTİLEİSHMANİAL ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

### ÖZET

*Melaleuca alternifolia* uçucu yağı üzerine yapılan literatür taramalarında, özellikle *Leishmania tropica*'ya karşı antileishmanial etkisi hakkında sınırlı sayıda çalışma olduğu görülmüştür. Türkiye'de ve Suriye'den göçlerle artan Şark Çıbanı olguları nedeniyle bu çalışmanın önemi artmaktadır. Leishmaniasis, Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından ihmal edilen tropikal hastalıklardan biri olarak bildirilmiş ve 2019 yılında tahmini 700.000-1 milyon yeni vaka rapor edilmiştir. Tedavi yönetimi sınırlı olup, direnç gelişimi nedeniyle yeni ve etkili ilaç arayışları devam etmektedir. Bu nedenle bu araştırmanın amacı, deride enfeksiyon oluşturan ve ülkemizde gittikçe yaygınlaşan Şark Çıbanı etkeni *Leishmania tropica*'ya karşı çay ağacı uçucu yağının antileishmanial etkisini incelemektir. Bu doğrultuda Türkçe literatürde ilk kez çay ağacı yağı, farklı konsantrasyonlarda *Leishmania tropica* promastigotları üzerine uygulanmış ve antileishmanial etkisi ATP ölçümleri ile değerlendirilmiştir. Fenolik bileşiklerin düşük dozlarda antioksidan, yüksek dozlarda pro-oksidan etkileri gözlemlenmiştir. LD50 dozu 1/8 sulandırmada bulunmuştur. Bu sulandırma ve 1/1, 1/2 ve 1/4 sulandırmalarda anlamlı inhibisyon gözlenmiştir. Dolayısıyla çay ağacı yağının antileishmanial özellikleri, *Leishmania tropica* promastigotlarına karşı etkili bir inhibisyon sağlayarak deride oluşan Şark Çıbanı enfeksiyonunu baskılayabilir hipotezi doğrulanmıştır. Çay ağacı yağının antiparaziter ve antimikozal etkilerinin yanı sıra, *Leishmania tropica* üzerinde yapılan ilk çalışma olması açısından önem taşıyan bu araştırma Şark Çıbanı tedavisinde yeni ve etkili bir doğal tedavi alternatifi sunabilir ve daha ileri çalışmalar için temel oluşturabilir.

**Anahtar Kelimeler:** *Melaleuca alternifolia*, çay ağacı yağı, antileishmanial etki, *Leishmania tropica*, şark çıbanı

# INVESTIGATION OF ANTILEISHMANIAL EFFECTS OF MELALEUCA ALTERNIFOLIA (TEA TREE) OIL

## SUMMARY

In the literature review on *Melaleuca alternifolia* oil, it was observed that there are limited number of studies on its antileishmanial effect especially against *Leishmania tropica*. The importance of this study increases due to the increasing number of Oriental Boils cases in Turkey and with the migration from Syria. Leishmaniasis has been reported as one of the neglected tropical diseases by the World Health Organisation (WHO), with an estimated 700,000-1 million new cases reported in 2019. Treatment management is limited and the search for new and effective drugs continues due to the development of resistance. Therefore, the aim of this study was to investigate the antileishmanial effect of tea tree oil against *Leishmania tropica*, the causative agent of Oriental furuncle, which causes skin infection and is becoming increasingly common in our country. In this direction, for the first time in the Turkish literature, tea tree oil was applied to *Leishmania tropica* cultures at different concentrations and its antileishmanial effect was evaluated by ATP measurements. Antioxidant effects of phenolic compounds at low doses and pro-oxidant effects at high doses were observed. LD50 dose was found to be 1/8 effective. Significant inhibition was observed at this dose. Therefore, the hypothesis that the antiparasitic properties of tea tree oil can suppress oriental furuncle infection by providing an effective inhibition against *Leishmania tropica* was confirmed. In addition to the antiparasitic and antimycosal effects of tea tree oil, this study, which is important in terms of being the first study on *Leishmania tropica*, may offer a new and effective natural treatment alternative in the treatment of Oriental furuncle and may form the basis for further studies.

**Keywords:** *Melaleuca alternifolia*, tea tree oil, antileishmanial effect, *Leishmania tropica*, oriental furuncle

## 1. GİRİŞ

Son dönemlerde alternatif ve tamamlayıcı tıp alanında esansiyel yağlar büyük bir popülerite kazanmıştır. Bu yağların kullanımının değerlendirilmesi, bunların varsayılan terapötik özelliklerinin in vitro ve bazı durumlarda in-vivo çalışmalarla artan bir şekilde incelendiğini ortaya koymuştur. Bu bağlamda, *Melaleuca alternifolia* çalısından elde edilen çay ağacı yağı (TTO) gibi ürünler özellikle dikkat çekmektedir. TTO, özellikle antimikrobiyal özelliklerinden dolayı kullanım alanını genişletmektedir. Deri enfeksiyonlarının tedavisinde etkin bir bileşen olarak topikal formülasyonlarda yer almaktadır. TTO'nun aktif bileşen olarak kullanımı, Avustralya, Kuzey Amerika, Avrupa gibi bölgelerde reçetesiz olarak satıldığı ve çeşitli sağlık sorunları için bir çözüm olarak pazarlandığı gözlemlenmektedir. Bu esansiyel yağın terapötik etkileri özellikle antimikrobiyal özellikleri nedeniyle çeşitli rahatsızlıkların tedavisinde alternatif bir yaklaşım olarak yaygınlaşmaktadır [1].

*M. alternifolia* (Fam Myrtaceae) başlangıçta yeşil renkli çalı olmasına rağmen 6 metrelik bir ağaca dönüşmektedir [1]. İlk kez 1770'te Kaptan James Cook tarafından keşfedilen *M. alternifolia* bitki yapraklarından Avustralya yerlileri deri enfeksiyonlarının tedavisinde yararlanmış [2]. Avrupa'da 1923 yılında bilimsel çalışmalar yapılmaya başlanmış ve elde edilen uçucu yağların oldukça kuvvetli bakterisit ve antiseptik etkisi 1925'te bildirilmiştir. *Candida albicans*, Streptococcus, Staphylococcus türlerine karşı aktif olup antifungal ve antiparaziter etkisi yapılan çalışmalarla gösterilmiştir [1]. Aknelerde, geçmeyen yaralarda, paraziter enfeksiyonlarda kullanılmaktadır [3]. Günümüzde birçok kozmetik üründe kullanılmakta olmasına karşın antiparaziter etkisi üzerine çalışmalar kısıtlıdır.

### 1.1 Tezin Amacı

Bu çalışmada özellikle deride enfeksiyon oluşturan ve ülkemizde gittikçe yaygınlaşan Şark Çıbanı etkeni *Leishmania tropica* üzerine çay ağacı yağının antileishmanial etkisini araştırmak planlanmıştır.

## 1.2 Araştırmanın Önemi

Literatür araştırmaları sonucunda *M. alternifolia* yağının antileishmanial etkisi hakkında fazla sayıda çalışma mevcut değildir. Özellikle ülkemizde yaygın olan ve Suriye'den göçler nedeniyle sayısı gittikçe artan Şark Çıbanı etkeni *L. tropica* türü üzerine yapılan çalışmaya rastlanmamıştır. Bir deri enfeksiyonu olan bu hastalıkta tedavi seçenekleri de sınırlıdır ve bazılarında direnç gelişmiştir. Bu nedenle yeni ve etkili ilaç arayışları sürmektedir. Leishmania'ya karşı güvenli ve uygun fiyatlı yeni ilaçların geliştirilmesi hala büyük bir öneme sahiptir.

Leishmaniasis, ihmal edilen tropikal hastalıklardan biri olarak bildirilmektedir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO), 2019 yılında tahmini 700.000-1 milyon yeni olgu olduğunu bildirmiştir. Sodyum stiboglukonat, amfoterisin B, miltefosin ve paromomisin ile tedavi yönetimi sınırlıdır. Bununla birlikte, özellikle Hindistan'ın Kuzey Bihar bölgesinde yaygın sodyum stiboglukonat direnci bildirilmiştir. Amfoterisin, miltefosin ve paromomisin ile tedavi edilen leishmaniasis hastalarında da artan nüks raporları gözlenmektedir.

## 1.3 Hipotez

Araştırmanın hipotezi “çay ağacı yağının antileishmanial özellikleri, *L. tropica* promastigotlarına karşı etkili bir inhibisyon sağlayarak deride oluşan Şark Çıbanı enfeksiyonunu baskılayabilir.” şeklindedir.

## 2. KAVRAMSAL ÇERÇEVE

### 2.1 Esansiyel Yağlar

Esansiyel yağlar, bitkinin yapraklarından, kabuklarından, çiçeklerinden, tohumları ve köklerinden elde olan, genelde sıvı formda bulunan doğal bileşiklerdir. Bu özel yağlar, su buharı distilasyonu veya ekstraksiyon gibi yöntemlerle çıkarılırlar. Renksiz veya hafif sarı renkli olmaları yaygındır ve kristalleşme eğilimine sahiptirler. Bitkilerin karakteristik kokusunu oluşturan ve onlara özgü lezzeti veren bu yağlar, çoğunlukla uçucu özellik gösterirler [4].

Uçucu yağlar, bitkilerin köklerinden, gövdelerinden, yapraklarından, meyvelerinden, kabuklarından ve çiçeklerinden elde edilir. Bu yağlar genellikle oda sıcaklığında sıvıdır, bazen donabilirler ve kolayca kristalleşebilirler. Genellikle renksiz veya hafif sarıdır ve karakteristik hoş kokuları nedeniyle “esansiyel yağlar” olarak adlandırılırlar [5].

Etere benzer biçimde uçucu ve hoş kokulu olduklarından, parfüm ve aromaterapi alanında sıkça kullanılırlar. Ayrıca suyla karışmadıklarından “yağ” olarak adlandırılırsalar da sabit yağlardan farklıdır. Bitkilerin yapraklarında, çiçeklerinde, meyvelerinde, köklerinde ve odunlarında bulunan uçucu yağlar, bitkinin savunma mekanizmalarını desteklemek, tozlaşmaya yardımcı olmak gibi önemli roller üstlenirler. Ayrıca, sıcak iklimlerde bitkilerin yüzeylerinin soğumasını sağlayarak su kaybını önledikleri bulunmuştur [6].

Esansiyel yağlar, farklı kültürlerde farklı isimlerle anılabilmektedir: “ruh”, “uçucu yağ”, “esans yağı”, “kokulu yağ”, “eterik yağ”, “uçan yağ” vb. Bu yağlar genellikle terpen adı verilen bileşiklerden oluşur ve suyun aksine organik çözücülerde kolayca çözünür. Enzimatik, antimikrobiyal, sindirim uyarıcı, antioksidan, antiseptik etkileri bilinmektedir. Monoterpenler, seskiterpenler, diterpenler gibi çeşitli terpen bileşiklerini içerebilirler. Ayrıca, uçucu yağlar fenil propanoitler, yağ asitleri ve esterler gibi bileşikler de içerebilirler. İlaç ve kozmetik endüstrisinde sıkça kullanılırlar ve alternatif tıpta önem arz etmektedir. Bu esansiyel yağlar, modern teknolojiler

kullanılarak farklı cinslerine ayrıştırılabilir, böylece farklı kokular, renkler, kullanım özellikleri ve moleküler yapılar elde edilebilir. Ancak bu özler genellikle pahalıdır [7].

Uçucu yağların kimyasal yapıları genel olarak dört ana grupta toplanabilir. Bu gruplar düz zincirli hidrokarbonlar, aromatik maddeler, terpenik maddeler ile azot ve kükürt içeren bileşiklerdir. Özellikle terpenik maddeler, uçucu yağların büyük bir kısmını oluştururlar [8].

Bu uçucu yağların bileşenleri ve bu bileşenlerin miktarları, birçok faktöre bağlı olarak oldukça çeşitlilik gösterir. Bitkinin türü, elde edildiği bölüm (kabuk, tohum, yaprak, çiçek, vb.), genetik çeşitlilik, beslenme durumu, gübreleme yöntemleri, yetiştirildiği coğrafi konum, iklim koşulları, mevsimsel değişimler, büyüme sürecindeki stresler, hasat sonrası kurutma ve depolama gibi faktörler bu çeşitliliği etkiler. Bununla birlikte, elde edilme yöntemi de uçucu yağların kimyasal bileşenlerini ve bu sayede özgün biyolojik özelliklerini belirler [9]. Tablo 2.1’de çeşitli aromatik bitkilerin ihtiva ettiği aktif madde ve etki biçimleri paylaşılmaktadır.

**Tablo 2.1: Bazı aromatik bitkiler. [7]**

Bitki	Bitki Bölümü	Aktif Madde	Etki Biçimi
Zencefil	Rhizoma	Zingorole	Sindirim uyarıcı
Tarçın	Kabuk	Cinnemaldehyde	Sindirim uyarıcı, antiseptik, iştah artırıcı
Sarımsak	Soğan	Alicin	Sindirim uyarıcı, antiseptik
Nane	Yaprak	Menthol	Sindirim uyarıcı, antiseptik, iştah artırıcı
Maydanoz	Yaprak	Apiol	Sindirim uyarıcı, antiseptik, iştah artırıcı
Kişniş	Yaprak, tohum	Linanol	Sindirim uyarıcı, iştah artırıcı
Kimyon	Tohum	Cuminaldehyde	Sindirim uyarıcı
Kereviz	Yaprak, Kök	Phtallides	Sindirim uyarıcı, iştah artırıcı
Kekik	Tüm Bitki	Thymol, Carvacrol	Sindirim uyarıcı, antiseptik, antioksidan
Karanfil	Çiçek	Eugenol	Sindirim uyarıcı, antiseptik, iştah artırıcı
Karabiber	Meyve	Piperine	Sindirim uyarıcı
Hindistan	Tohum	Sabi nen	Sindirim uyarıcı, ishal önleyici
Cevizi	Tohum	Allylisothiocyanate	Sindirim uyarıcı
Hardal	Yaprak	Cineole	Sindirim uyarıcı, antiseptik, iştah artırıcı
Defne	Yaprak	Cineole	Sindirim uyarıcı, antiseptik
Biberiye	Yaprak	Sabinen	Sindirim uyarıcı, ishal önleyici
Biber	Tohum	Sabinen	Sindirim uyarıcı, ishal önleyici
Bayır Turpu	Kök	Allylisothiocyanate	İştah artırıcı
Anason	Tohum	Anathole	Sindirim uyarıcı
Adaçayı	Yaprak	Cineole	Sindirim uyarıcı, antiseptik

Esansiyel yağların sınıflandırılmasında kimyasal bileşenler, aromatik özellikler, farmakolojik ve terapötik etkiler dikkate alınmaktadır [10, 11].

1. Kimyasal Bileşenlere Göre Sınıflandırma: Esansiyel yağlar, içerdikleri kimyasal bileşenlere göre dört ana grupta incelenebilir:

- Terpenik Maddeler: Bu grup, terpenoidler ve fenilpropanoidleri içerir. Bu maddeler esansiyel yağların ana bileşenleridir.
- Düz Zincirli Hidrokarbonlar: Basit hidrokarbon bileşiklerini içerirler.
- Azot ve Kükürt Taşıyan Bileşikler: Azot veya kükürt atomları içeren bileşiklerdir.

2. Aromatik Özelliklere Göre Sınıflandırma: Terpenlerden sonra en önemli gruptur. Propilbenzen, benzen,  $\rho$ -simen yapısına sahip olabilirler. Organik fonksiyonel grupları da içerebilirler. Bu durum onların aromatik özelliklerini belirler.

3. Farmakolojik ve Terapötik Etkilere Göre Sınıflandırma: Farmakolojik etkilere göre esansiyel yağlar, çeşitli terapötik Özellikleri bulunabilir ve buna uygun sınıflandırılabilirler. Örneğin:

- Antiromatizmal: Romatizmal rahatsızlıkları hafifletici etkiye sahip yağlar.
- Antitussif (Öksürük Giderici): Öksürüğü yatıştırmaya yardımcı olan yağlar.
- Diüretik (İdrar Söktürücü): İdrar söktürücü etkileri olan yağlar.
- Antimikrobiyal ve Dezenfektan: Mikroorganizmalarla savaşıma ve enfeksiyon riskini azaltma amacıyla kullanılan yağlar.

Esansiyel yağlar çeşitli kullanım amaçları doğrultusunda farklı yöntemlerle elde edilir. Parfüm üretiminde kullanılacak esansiyel yağlar için, çözücü ekstraksiyonu ve süperkritik karbondioksit yöntemi gibi yöntemler tercih edilir. Süperkritik karbondioksit yöntemi, yüksek sıcaklık ve basınç altında karbondioksit gazının sıvılaştırılarak kullanıldığı yöntemdir. Yöntemde aroma kalitesi ve saflık daha iyi kontrol edilebilir. Antibakteriyel, farmakolojik, gıda katkı maddeleri antifungal amaçlı sentetik kimyasalların yerine geçecek uçucu yağ eldesinde buhar destilasyonu ve mekanik ekstraksiyon sıkça tercih edilir. Turunçgillerden elde edilen yağlar genellikle bu yöntemlerle çıkarılır. Mekanik ekstraksiyon özellikle turunçgil kabuklarından elde edilen yağların kalitesini korumada kullanılır [11].

### 1. Damıtma (Destilasyon) Yöntemi [12]:

- Su Destilasyonu: Bitki materyali su buharı ile kaynatılarak yağ moleküllerinin yoğunlaşması sağlanır. Su buharı ve uçucu yağ bir soğutucuya taşınır ve burada yoğunlaşarak ayrışır. Özellikle toz halindeki materyallerde etkili bir yöntemdir.
- Buhar Destilasyonu: Cam kaba alınan taze bitki materyaline buhar uygulanarak yağ damlacıkları toplama kabına sürüklenir. Yağ daha sonra burada yoğunlaştırılır.
- Vakum Destilasyonu: Yüksek kaynama noktasına sahip veya dekompoze olabilen maddelerin distilasyonunda kullanılır. Sıcaklığı artırmak yerine basıncı düşürerek işlem gerçekleştirilir.

2. Ekstraksiyon Yöntemi: Çözücü ekstraksiyonu, bitki materyalinin çözücü içinde çözünmesi ve ardından uçucu yağın çözücünden ayrıştırılması prensibine dayanır. Süperkritik sıvı ekstraksiyonu, mikrodalga ile ekstraksiyon, katı-faz mikro ekstraksiyonu, sıkıştırılmış çözücü ekstraksiyonu gibi modern yöntemler de bulunur. Katı faz mikro ekstraksiyonu ve mikrodalga ekstraksiyonu, daha hızlı sonuçlar verir ve çevreye daha az zarar verir [7].

3. Mekanik Yöntem (Presleme): Turunçgil kabukları gibi bitki materyallerinden uçucu yağ elde edilmesinde kullanılır. Kabuklar sıkılarak yağın elde edilmesi sağlanır. Bu yöntem, destilasyon yöntemlerinin bitkinin yapısına zarar verme riskini azaltmak için tercih edilir [12].

Esansiyel yağların vücutta birikme eğilimi düşüktür, çünkü hızla metabolize edilirler ve vücuttan atılırlar [13]. İnsanlarda hastalık oluşturan virus ve bakterilere karşı etkinliklerini gösteren in-vitro deneylerle belirlenmiştir. Araştırmalar gül ağacı, karanfil, çay ağacı, defne, limon çayı, tarçın, kekik gibi yağların antimikrobiyal aktivitesini göstermiştir. Bu yağların Minimum İnhibitör Konsantrasyon (MİK) değerlerinin farklı bakteri türleri için %1'den daha düşük olduğu belirtilmiştir [14, 15].

Kekik, limon otu, karanfil, defne yağlarının düşük konsantrasyonlarda *E. coli* üzerinde inhibe edici etkileri mevcuttur. Fesleğen ve okalıptüs yağlarının *S. aureus*'a %1 konsantrasyonda; defne, karanfil, limon otu, nane, biberiye, kekik yağlarının ise %0,05 konsantrasyonlarda inhibe ettiği bulunmuştur [16]. Limon mersini, sarımsak ve çay ağacı yağlarının metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA)'ta etki gösterdiği gözlemlenmiştir [17, 18]. Antimikrobiyal etkinlik konsantrasyonları, farklı bakteri

türleri arasında farklılık gösterirken, *Pseudomonas* spp. ve *Proteus* spp.'nin diğer türlerden daha dirençli olduğu görülmüştür [19]. Bazı uçucu yağların tek başına antimikrobiyal etkinlik gösterdiği gibi, kombinasyon halinde kullanıldıklarında da sinerjik etki gösterebildikleri belirlenmiştir [20]. Uçucu yağların içerdikleri ana moleküllerin etkisinin, yağın kendisinden daha etkili olduğu durumlar da görülmüştür. Örneğin, *Syzygium aromaticum* (karanfil) yağında bulunan öjenol ve karvakrol TTO'da bulunan terpinen-4-ol'e göre daha etkili olabilir. Aldehit ve fenolik ihtivasi bulunan esansiyel yağların genellikle daha güçlü antibakteriyel etki gösterdiği [1], bitki kökenli yağların, antibiyotiklere dirençli biyofilm oluşumlarına karşı da etkili olduğu bildirilmiştir [21].

## 2.2 *Melaleuca alternifolia* (Çay Ağacı)

Çay ağacı olarak adlandırılan farklı bitki türleri arasında *Melaleuca alternifolia*, *Leptospermum petersonii*, *Leptospermum scoparium*, *Kunzea ericoides*, *Camellia sinensis*, bulunmaktadır. Bu türlerden en tanınmış ve popüler olanı ise *Melaleuca alternifolia* bitkisidir. En fazla ilgi çeken ve birçok çalışmaya konu edinilen, ticari değere sahip olan bu türün [22], fenolden etkili bir topikal antiseptik etkisi ve soluk sarı renkli uçucu yağı belirtildiği üzere 1920'de keşfedilmiştir [23, 24]. Tarih boyunca Avustralya yerlileri [25] (Kuzey Yeni Güney Galler bölgesindeki Bundjalung Aborjinleri [26]) ve Avrupa erken yerleşenleri tarafından yanıklar, cilt hastalıkları, soğuk algınlığı, öksürükler, bağırsak şikayetleri, ağız ve idrar yolu rahatsızlıkları gibi çeşitli enfeksiyonların tedavisinde kullanılmıştır. Avusturalya halkınca baş ağrıları, soğuk algınlığı, böcek ısırıkları ve cilt enfeksiyonlarının tedavisinde yararlanılmıştır.

*Melaleuca*, bitkinin büyüme sürecinde gövde kabuklarının renk değişimini ifade eden Yunanca siyah (mela) ve beyaz (leuc(o)) kelimelerinden türetilmiştir. Cinsteki tür sayısı yaklaşık 230'dur. Tıbbi alanda yararlanan *Melaleuca alternifolia* türü, doğal haliyle Avustralya'da yetişmektedir. Bitki Nisan-Eylül döneminde önemli oranda suya ihtiyaç duymakta ve killi topraklarda yetişmektedir. Ağaç şeklinde olan bu türün genç sürgünleri yoğun ve yumuşak tüylerle kaplıdır, ancak yaşlı dallarda tüyler bulunmaz. Tıbbi olarak kullanılan kısım, yapraklarıdır ve bu yapraklar, değerli "Tea tree oil (TTO)" adlı esansiyel yağ kaynağıdır [27].

Çay ağacı yağı, özellikle monoterpenler, seskiterpenler gibi terpen hidrokarbonlardan ve alakalı alkollerden meydana gelmektedir. Aromatik ve uçucu hidrokarbonlar olan

terpenler, izopren polimerleri (C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>) olarak anılmaktadır. Önemli çalışmalarda 800'den fazla çay ağacı yağı materyali gaz kromatografisi-kütle spektrometresi ve gaz kromatografisi ile analiz edilmiş, neredeyse 100 farklı bileşen ve konsantrasyon aralığı tespit edilmiştir [28, 29]. TTO'nun bileşimi hakkındaki ilk raporlarda 12, 21 ve 48 bileşen tanımlanmıştır [1]. Bağlı yoğunluğu 0,885-0,906 olup suda çok az çözünür ve polar olmayan çözücülerle karışabilir [1]. Ticari bileşimi, " terpinen-4-ol" tipi için minimum/maksimum değerler 14 farklı bileşenle standardizedir (Tablo 2.2) [28].

**Tablo 2.2: M. alternifolia'nın 14 bileşeni [1].**

Bileşen	ISO 4730 Ref.	Tipik Bileşim
Terpinen -4-ol	≥30	40.1
γ- Terpinen	10-28	23.0
α- Terpinen	5-13	10.4
1,8- Sineol	≤15	5.1
Terpinolene	1.5-5	3.1
ρ-Simen	0.5-12	2.9
α-Pinen	1-6	2.6
α-Terpineol	1.5-8	2.4
Aromadendrene	Tracc-7	1.5
δ-Cadinin	Tracc-8	1.3
Limonene	0.5-4	1.0
Sabinen	Trace-3.5	0.2
Globulol	Trace-3	0.2
Viridiflorol	Trace-1.5	0.1

Çay yağındaki siklik yapıdaki terpen bileşenleri, geniş bir antimikrobiyal etki spektrumu sağlamaktadır [30]. Çay ağacı yağının antimikrobiyal özelliklerini sağlayan temel bileşenler α-terpineol, terpinen-4-ol, 1,8-sineol olarak öne çıkmaktadır [31]. 1,8-sineolün *E. coli*'nin hücre zarını tahrip ettiği, terpinen-4-ol'ün güçlü antibakteriyel, dezenfektan ve anti-korozif etkiler sergilediği belirlenmiştir. Ayrıca α-terpineolün yüksek penetrasyon kabiliyeti bulunduğu ve *C. albicans*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *E. coli* gibi yaygın patojenlerde etkili olduğu gözlemlenmiştir [32]. İnsanlar üzerinde toksik etki yaratmadığı, aşındırıcı ve tahriş edici olmadığı da kanıtlanmıştır. Doğal antimikrobiyal özelliği sayesinde, gıdalarda antibakteriyel bir ajan olarak kullanılabilmesi potansiyeli ve mozaik virüsüne karşı önleyici etkisi çalışmalarla gösterilmiştir [33]. Bununla birlikte, oksijen, ışık veya sıcaklığa duyarlılığı nedeniyle genel uygulanabilirliğini sınırlayabileceği unutulmamalıdır [34].

TTO, mikroorganizmalara karşı geniş bir antimikrobiyal etkiye sahip olması ve ciltte tahrişe yol açmaması sebebiyle tercih edilen bir topikal dezenfektandır [27]. Antimikrobiyal özellikleri sayesinde, çeşitli enfeksiyonların tedavisinde birçok topikal üründe etken madde olarak kullanılmaktadır [1]. Çay ağacı yağı, yaklaşık 100 farklı

bileşeni içermektedir. Yapılan araştırmalar, bitkinin farklı kimyasal çeşitliliklere sahip olduğunu göstermiştir. Bu kimyasal çeşitler arasında terpinen-4-ol, terpinolene [3] ve 1,8-cineole gibi bileşenler bulunmaktadır [3, 25]. Terpinen-4-ol, MRSA ve koagülaz negatif stafilocoklara (KNS) karşı güçlü etkiye sahip bir kimyasaldır. Cerrahi yaradan izole *S. aureus* ve MRSA bakterilerine karşı etkili olduğu belirtilmektedir [35]. Özellikle %5 konsantrasyonda hazırlandığında derideki MRSA bakterilerini yok ettiği gözlemlenmiştir. 1,8-cineole ise çay ağacı yağının alerjik reaksiyonlara yol açabilen bileşenlerden biridir. İritasyon etkilerini azaltmak amacıyla, yağın içeriğindeki 1,8-cineole konsantrasyonunun azaltılması gerekebilir. Terpinen-4-ol kemotipiyle hazırlandığında yan etkiler minimize edilebilir. Akne vulgaris, seboreik dermatit ve soğuk yanıklar gibi cilt sorunlarının tedavisinde topikal kullanımının iyileştirici etkisi olduğu gözlemlenmiştir [3].

### **2.2.1 Tıbbi kullanıma elverişli özellikler**

Antimikrobiyal Etki (in vitro): Çay ağacı yağının antimikrobiyal aktivitesi, bu yağın en dikkat çekici özelliklerindedir. Daha önce aktarıldığı üzere özellikle Bundjalung Aborjinleri tarafından soğuk algınlığı, öksürük ve yara tedavisinde kullanılmasıyla tanınmaktadır. Bu geleneksel kullanım ve antimikrobiyal aktivitesi özellikle 1920-1930'larda yayınlanan makalelerle ilgi çekmeye başlamıştır [36].

Çay ağacı yağının antimikrobiyal etkisinin değerlendirilmesinde, Rideal-Walker (RW) testi kullanılmıştır. Bu test, dezenfektan karbolik asit veya fenol ile karşılaştırılarak yapılır ve çay ağacı yağının RW katsayısı hesaplanır. Bu testte çay ağacı yağı, fenol ile karşılaştırıldığında 11 kat daha güçlü antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirtilmiştir [37].

Antimikrobiyal aktivitenin karakterizasyonu esnasında çay ağacı yağı bileşenlerinin RW katsayıları da rapor edilmiştir: terpineol için 16, terpinen-4-ol için 13,5 [37], linalool için 13, simene için 8 [38], sineol için 3,5. Bu bileşenlerin antimikrobiyal etkileri çeşitli çalışmalarla doğrulanmıştır [39]. Ancak, çay ağacı yağının antimikrobiyal aktivitesi sadece in vitro çalışmalarla değil, klinik çalışmalarla da desteklenmelidir. Bugüne kadar, çay ağacı yağının klinik kullanımıyla ilgili sınırlı veri bulunmaktadır. Aktivitenin değerlendirilmesi bazı fiziksel özellikler nedeniyle zorluklarla karşılaşmıştır. Çay ağacı yağı ve bileşenleri su içinde çözünürlüğü düşük olduğundan, test ortamlarındaki uyumluluklarını sınırlayabilir. Bu nedenle, farklı

stratejiler kullanılarak test ortamlarının hazırlanması ve çözünürlüğün artırılması gerekmektedir.

Antibakteriyel Etki: TTO'nun antibakteriyel aktivitesine dair literatür, 1940-1980'lere dek sınırlı sayıda rapor içermektedir [40, 41, 42, 43]. Ancak, 1990'ların başından itibaren TTO'nun antimikrobiyal etkilerini belirleyen birçok çalışma bilimsel literatürde yer almıştır. Farklı çalışmalarda kullanılan yöntemler arasında hala bazı tutarsızlıklar bulunmasına rağmen, bildirilen minimum inhibitör konsantrasyonlar (MIC) genellikle benzer sonuçlar göstermiştir. Geniş bir bakteri yelpazesi TTO'ya karşı duyarlılıkları açısından test edilmiştir. TTO, çoğu bakteri türüne %1,0 veya daha düşük konsantrasyonlarda etkili olabilirken, kommensal deri stafilkokları, mikrokoklar, *P. aeruginosa* ve *E. faecalis* gibi organizmalar için %2'ye kadar MIC değerleri rapor edilmiştir [44].

TTO genellikle bakterisidal etkisi gösterirken, düşük konsantrasyonlarda bakteriyostatik olma potansiyeline de sahiptir. Antibiyotik direncine sahip bakterilere karşı etkisi, özellikle MRSA üzerinde yapılan çalışmalarda dikkat çekicidir. MRSA, TTO'nun potansiyel bir etkileyici olduğu bakteri türlerinden biridir ve bu husus ilk kez düşünüldüğünden bu yana [40], Carson ve ark. [45] tarafından Avustralya ve Birleşik Krallık'tan toplam 64 MRSA izolatı üzerinde çalışmalar yapılmıştır. Avustralya izolatlarında MIC değeri %0,25 ve minimal bakterisidal konsantrasyon (MBC) değeri ise %0,5 iken, Birleşik Krallık izolatlarında bu değerler sırasıyla %0,312 ve %0,625 olarak rapor edilmiştir. TTO'nun MRSA'ya karşı etkinliğiyle ilgili sonraki çalışmalar da antibiyotiğe duyarlı organizmalara kıyasla büyük farklılıkların olmadığını göstermiştir [46, 47, 48].

TTO'nun antibakteriyel etkisi, çoğunlukla agar veya broth dilüsyon yöntemleriyle belirlenmiştir. Bununla birlikte, aktivitenin zaman içinde nasıl etkili olduğunu incelemek amacıyla zaman öldürme deneyleri [49, 50, 51, 52] ve "ex vivo" olarak kesilmiş insan derisi [53] ve süspansiyon testleri [24] kullanılarak da gösterilmiştir. Ayrıca TTO buharlaştırıldığında *Mycobacterium avium* ATCC 4676, *S. pneumoniae*, *S. pyogenes*, *Haemophilus influenzae*, *E. coli* gibi bakterilere karşı inhibisyon sağlayabilir. Hastane kaynaklı enfeksiyonları azalttığına dair anekdot niteliğinde raporlar mevcut olsa da bilimsel veri mevcut değildir [1].

TTO'nun antibakteriyel etki mekanizması da kısmen aydınlatılmıştır. Bu etki, TTO'nun hidrokarbon yapısı ve lipofilikliği temel alınarak önerilmiştir. Hidrokarbonlar, biyolojik membranlara nüfuz edebilir ve hücrel fonksiyonları bozabilir [54]. TTO'nun model lipozomal sistemlerin geçirgenliğini artırabildiğini gösteren veriler de bu teoriyi desteklemektedir [55]. Daha önce yapılan çalışmalarda, TTO dışındaki hidrokarbonlarla veya TTO içinde düşük konsantrasyonlarda bulunan terpenlerle yapılan deneyler, lizis ve membran bütünlüğü kaybı gibi etkileri göstermiştir. Örneğin, *S. aureus*'un TTO ile muamelesi potasyum iyonlarının sızmasına ve solunumun engellenmesine neden olmuştur. TTO'nun *E. coli* üzerindeki etkisi de potasyum homeostazı, glukoz bağımlı solunum, morfoloji ve propidyum iyodürü dışlama yeteneği gibi faktörleri etkileyerek zararlı etkiler göstermiştir [1].

**Antifungal Etki:** Mantarlar üzerindeki TTO'nun antifungal etkisi, daha yakın bir zamanda tamamlanan kapsamlı araştırmalarla daha iyi anlaşılmıştır. Öncesinde, veriler parça parça ve sınırlıydı. İlk veriler genellikle *Candida albicans* gibi yaygın bir model organizmasıyla yapılan çalışmalardan elde edildi. Ancak şu anda, farklı mayalar, dermatofitler ve diğer filamentli mantarların da TTO'ya duyarlı olduğunu gösteren veriler vardır [56, 57, 58, 59, 60]. Farklı test yöntemleri kullanılmış olmakla birlikte, genellikle MIC değerleri %0,03 ile %0,5 arasında değişmektedir ve fungisidal konsantrasyonlar genellikle %0,12 ile %2 arasındadır. Ancak *Aspergillus niger* için %8'e kadar yüksek MFC değerleri rapor edilmiştir. Bu deneyler çoğunlukla, kimyasal maddelere karşı dayanıksız olan mantar konidileri ile yapılmıştır. Daha sonraki çalışmalar, çimlenmiş konidilerin çimlenmemişlere kıyasla TTO'ya daha duyarlı olduğunu göstermiştir [61].

TTO'nun mantarlara etki mekanizması da özellikle *Candida albicans* üzerine yoğunlaşan çalışmalarla daha iyi anlaşılmaktadır. Benzer şekilde bakterilerde bulunan sonuçlara paralel olarak, TTO aynı zamanda *Candida albicans* hücrelerinin membran geçirgenliğini değiştirebilir. Örneğin, %0,25 TTO ile muamele edilen *Candida albicans* hücreleri, belirli bir süre sonra propidium iyodür alımı ile etkileşir ve morfolojik değişiklikler gösterir. Ayrıca, TTO'nun solunumu da etkileyerek enerji üretimini engellediği gözlemlenmiştir [30, 62]. Bu sonuçlar, TTO'nun mantar hücrelerinin membran yapısını ve işleyişini değiştirerek antifungal etki gösterdiğini desteklemektedir. TTO'nun mantarlar üzerindeki etkisi, terpen öjenolün

mitokondriyal solunumu ve enerji üretimini engelleyerek çalıştığı önerilen bir etki mekanizması ile uyumludur [1].

**Antiviral Etki:** TTO'nun antiviral etkisi, ilk olarak tütün mozaik virüsü ve tütün bitkileri kullanılarak yapılan deneylerle gösterilmiştir. Bu çalışmalarda, TTO'nun bitkilere püskürtülmesi sonucunda tütün mozaik virüsüne karşı direnci de gözlemlenmiştir. Daha sonra, Schnitzler ve ekibi Herpes simpleks virüsü (HSV) üzerinde TTO'nun etkisini incelemiştir. HSV'nin farklı konsantrasyonlarda TTO ile inkübe edilmesi ve ardından hücre kültürlerine uygulanarak virüsün etkisi araştırılmıştır. Bu çalışmalarda, TTO'nun HSV tip 1 ve HSV tip 2 için plak oluşumunu engellediği ve virüs titrelerini azalttığı gözlemlenmiştir [63, 33].

Başka bir çalışmada ise TTO dahil olmak üzere 12 farklı uçucu yağın HSV-1 üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir. Bu çalışmada da TTO'nun serbest virüs üzerinde etkili olduğu ve plak oluşumunu azalttığı gözlenmiştir. Ayrıca TTO'nun virüsün replikatif döngüsünün farklı aşamalarında uygulandığında en büyük etkiyi serbest virüs aşamasında gösterdiği bulunmuştur [64, 65].

**Antiprotozoal Etki:** İki ayrı araştırma, TTO'nun antiprotozoal aktiviteye sahip olduğunu göstermektedir. Birincil çalışmada, *Leishmania major* ve *Trypanosoma brucei* protozoonlarının üremesi üzerinde TTO'nun etkisi incelenmiştir. Bu çalışmada TTO'nun 0,43 mg/ml ile 0,5 mg/ml derişimlerinde sırasıyla *Leishmania major* ve *Trypanosoma brucei*'nin üremesini %50 oranında azalttığı tespit edilmiştir [66]. Daha ayrıntılı analizler, terpinen-4-ol adlı bileşenin bu antiprotozoal aktiviteye önemli ölçüde katkı sağladığını göstermiştir.

Başka bir çalışmada ise TTO'nun *Trichomonas vaginalis*'e karşı etkisi incelenmiştir. Bu çalışmada, 300 mg/ml konsantrasyonundaki TTO'nun *Trichomonas vaginalis*'in tüm hücrelerini öldürdüğü belirlenmiştir [67]. Ayrıca TTO'nun *Trichomonas vaginalis* enfeksiyonlarının tedavisinde potansiyel olarak etkili olabileceğine dair in vivo kanıtlar da bulunmaktadır [68].

**Anti-İnflamatuvar Etki:** Son dönemde gerçekleştirilen bir dizi çalışma, TTO'nun anti-inflamatuvar aktivitesine dair kanıtları desteklemektedir. Bu çalışmalar, son on yılda yapılan in vivo ve in vitro çalışmalarda erişilen bulgulara dayanmaktadır. Özellikle, TTO'nun bağışıklık tepkilerini etkileyebildiği gösterilmiştir [69]. Örneğin, TTO'nun suda çözünen bileşenleri, insan periferik kan monositleri üzerinde lipopolisakkarit

kaynaklı enflamatuvar aracilar olan tümör nekroz faktörü alfa (TNF- $\alpha$ ), interlökin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) ve IL-10 üretimini engelleyebilmektedir. Ayrıca TTO'nun içeriğinde yer alan terpinen-4-ol bileşiğinin, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-8, IL-10 ve prostaglandin E2 üretimini azaltabilme yeteneğine sahip olduğu gösterilmiştir [70].

Diğer bir çalışmada ise TTO'nun suda çözünen fraksiyonunun agonist uyarılmış monositler tarafından reaktif oksijen türlerinin üretimini baskılayabildiği belirtilmiştir. Ancak, bu çalışma TTO'nun nötrofilleri baskılamadığını göstermiştir. Başka bir çalışmada TTO'nun TNF- $\alpha$  uyarımı ile indüklenen nötrofillerin aderans reaksiyonunu baskılamadığı belirtilmiştir. TTO'nun anti-enflamatuvar etkileri in vivo deneylerle de desteklenmiştir. Örneğin, topikal olarak uygulanan TTO'nun farelerde temas aşırı duyarlılık yanıtının efferent fazındaki ödemi düzenleyebildiği gösterilmiştir. Ayrıca, TTO'nun histamin ile indüklenen kabarıklık ve alevlenmeyi azalttığına dair insan çalışmaları da bulunmaktadır. Terpinen-4-ol bileşiğinin vazodilatasyon ve plazma ekstravazasyonunu modüle edebildiği de gösterilmiştir [1].

## **2.2.2 Toksikolojik özellikler**

Çay ağacı yağının antimikrobiyal ve anti-enflamatuvar özelliklerinin belirlenmesi konusundaki ilerlemeye rağmen, bu yağın güvenliği ve toksisitesi hakkında daha az çalışma yapılmıştır. Yağın hala kullanılmaya devam edilmesinin temel nedeni, neredeyse 80 yıldır gözlemlenen güvenli kullanım geçmişine dayanmaktadır. Bu süreç boyunca elde edilen anekdotal kanıtlar, yağın topikal kullanımının genel olarak güvenli olduğunu ve olumsuz olayların nadir, sınırlı ve kendi kendine çözülebilen etkiler taşıdığını göstermektedir. Ancak, somut kanıtların çoğu, yayınlanmış bilimsel çalışmalardan ziyade, genellikle şirket destekli çalışmalara dayalı olarak kamuya açıklanmamaktadır. Çay ağacı yağının oral ve dermal toksisiteleri konusundaki bilgiler aşağıda özetlenmiştir.

**Oral Toksikite:** TTO, hayvanlarla yapılan çalışmalar ve insan zehirlenmesi vakalarından da anlaşılacağı üzere, yutulduğunda toksik olabilir. Bir sıçan modelinde TTO için %50 öldürücü doz 1,9 ila 2,6 ml/kg'dır. 1,5 g/kg TTO ile dozlanan sıçanlar uyuşuk ve ataksik görünmüştür [71]. Çocuklarda [72, 73, 74] ve yetişkinlerde [75] oral zehirlenme vakaları bildirilmiştir. Tüm vakalarda, hastalar destekleyici bakıma yanıt vermiş ve belirgin bir sekel olmadan iyileşmiştir. Literatürde TTO'ya bağlı mortalite bildirilmemiştir.

Dermal Toksikite: TTO alerjik ve tahriş edici reaksiyonlara yol açabilir. Temiz TTO için 311 gönüllünün yama testi sonuçlarına göre ortalama 0,25 tahriş skoru bulunmuştur [76]. Bir dermatoloji kliniğinden 217 hastanın %10 TTO ile yama testine tabi tutulduğu bir araştırmada ise herhangi bir iritan reaksiyona rastlanmamıştır [77]. Tahriş edici reaksiyonlar, tahriş edici maddenin daha düşük konsantrasyonlarının kullanılmasıyla sıklıkla önlenemediğinden, bu durum saf yağ kullanımının azaltılması ve iyi formüle edilmiş ürünlerin kullanımının teşvik edilmesi yönündeki durumu desteklemektedir. Alerjik reaksiyonlar bildirilmiştir [78, 79]. Sorumlu olarak bir dizi bileşen öne sürülmüş olsa da en kesin çalışma bunların esas olarak yaşlanmış veya yanlış depolanmış yağda meydana gelen oksidasyon ürünlerinden kaynaklandığını göstermektedir [80]. 1,8-sineolün TTO'daki başlıca tahriş edici olduğu fikrine yönelik çok az bilimsel destek bulunmaktadır. Sağlam ve aşınmış cilde sahip kobaylarda [80], ratlarda [81], TTO'ya karşı pozitif reaksiyon gösterenler dahil insanlarda [82, 81] yama testi yapıldığında tahrişe dair hiçbir kanıt görülmemiştir. Nadiren, topikal olarak uygulanan çay ağacı yağının evcil hayvanlarda sistemik etkilere neden olduğu bildirilmiştir. Tıraşlı ancak sağlam derili üç kediyeye yaklaşık 120 ml seyreltilmemiş TTO'nun dermal uygulaması hipotermi, koordinasyon bozukluğu, dehidrasyon ve titreme semptomlarına ve kedilerden birinin ölümüne neden olmuştur [83].

### 2.3 Leishmania

Leishmania türleri dişi kum sineği (Phlebotomine) olarak bilinen vektörler tarafından ısırılma yoluyla insanlara bulaşan vektör kaynaklı bir hastalık grubuna örnektir [84].

Leishmaniasis, dünya genelinde en yaygın görülen yedinci tropikal hastalıktır. Ancak, hastalığın artan ölümcül etkisine rağmen, kanser ve AIDS gibi hastalıkların araştırılmasına gösterilen öncelik leishmaniasis için henüz tam olarak sağlanmamıştır [85]. Hastalık, WHO'nun "İhmal Edilen Tropikal Hastalıklar" (NTD) listesinde yer almaktadır [86]. Bu durum, leishmaniasisin özellikle az gelişmiş ve gelişmekte olan topraklarda yaygın görüldüğüne işaret etmektedir. Hastalık, özellikle çiftçilik faaliyetlerinin yaygın olduğu subtropikal ve tropikal iklim bölgelerinde daha hızlı bir şekilde yayılma eğilimindedir [84]. Özellikle gelişmekte olan ülkelerde toplumsal sağlık sorunu olarak kabul edilen leishmaniasis, visseral (iç organları etkileyen), kutanöz (cilt lezyonlarına neden olan) ve mukokutanöz (mukozal bölgelerde lezyonlara yol açan) olmak üzere üç ana klinik formda görülür [87].

Kutanöz leishmaniasis, *Leishmania* türlerinin neden olduğu en yaygın formdur ve genellikle deri lezyonlarına yol açar. Bu tür lezyonlar özellikle *Leishmania tropica* ve *Leishmania major* tarafından oluşturulur. Eğer bu yaralar tam olarak iyileşmezse, hastalar yaşamları boyunca yara izleri ile karşı karşıya kalabilirler. Bu nedenle geçmişte, antik çağlarda, köylerde yaşayan insanlar, daha önce leishmania enfeksiyonu geçiren hastalardan alınan sürüntüleri kendi ciltlerine uygulayarak doğal bir aşı yapma girişimlerinde bulunmuşlardır. Bu yöntemle, hastalığa karşı antikor gelişimini hedeflemişlerdir. Visseral leishmaniasis, tedavi edilmediğinde ölüm oranı %95'e kadar çıkabilen ölümcül bir hastalıktır. Bu hastalık iç organları hedef alarak kronik bir rahatsızlığa yol açar. Özellikle dalak, karaciğer ve kemik iliği gibi bölgeleri etkiler. *Leishmania donovani* ve *Leishmania infantum* türleri bu iç organ komplikasyonlarına yol açar. Bu hastalığın belirtileri arasında ateş nöbetleri, kilo kaybı, dalak ve karaciğerde anormal büyüme ve anemi yer alır. Visseral leishmaniasis tanısı için rK39 serolojik testi şu anda yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Leishmaniasis, iç organları etkilemesi gereken bir parazitin, beklenmedik bir şekilde deride komplikasyonlar geliştirdiği durumlar da söz konusudur. Bu durum post-kala azar dermal leishmaniasis (PKDL) olarak adlandırılmaktadır. Mukokutanöz leishmaniasis ise özellikle burun, ağız ve yutak mukozalarını hedef alarak kendini gösterir [88].

Leishmaniasis, çoğunlukla kırsal bölgelerde görülen bir hastalıktır ve dünya genelinde yaygın bir dağılıma sahiptir. Toplamda 88 ülkede (Orta ve Güney Amerika, Asya, Afrika ve Güney Avrupa) tespit edilmiştir. Hastalık, farklı alt tipleri olan visseral leishmaniasis (VL) ve kutanöz leishmaniasis (CL) şekillerinde ortaya çıkar. Visseral Leishmaniasis (VL), genellikle Brezilya, Doğu Afrika ve Hindistan gibi bölgelerde daha yaygındır. Bu tür, iç organları etkileyebilir ve ciddi semptomlara yol açabilir. Kutanöz Leishmaniasis (CL) vakaları ise genellikle Orta Asya ve Orta Doğu'da görülmektedir. Bu tür daha çok ciltte lezyonlara neden olur [89]. WHO 2018 yılında küresel ölçekte 92 ülkede ve 83 bölgede yaygın olarak enfeksiyon riski taşıyan 1 milyarı aşkın insandan söz etmektedir. Her yıl 30 bini aşkın visseral leishmaniasis ve 1 milyonu aşkın kutanöz leishmaniasis vakası kaydedilmektedir [87]. 2022 yılında kaydedilen leishmaniasis vakalarının büyük bir kısmı, %85'i, Peru, Brezilya, Irak, Libya, Pakistan, Suriye, Tunus ve Afganistan gibi ülkelerde meydana gelmiştir. Bu bölgelerde hastalığın yüksek sıklığına ve yayılmasına dikkat çekmektedir.

Ülkemizde de görülen leishmaniasis, *Leishmania tropica*, *L. infantum*, *L. major*, *L. donovani* ve *L. aethiopica* gibi parazit türlerinin etken olduğu bir hastalıktır. Özellikle kutanöz leishmaniasis vakalarının büyük bir kısmının *L. tropica* kaynaklı olduğu belirtilmektedir [90]. Ayrıca leishmaniasis vakalarının artış gösterdiği, özellikle Suriye'deki savaş sonrası mülteci akımıyla hastalığın yayılma hızının arttığı gözlemlenmiştir. Bu durum, hastalığın kontrolü ve tedavisinin önemini daha da vurgulamaktadır [91, 92, 93].

Leishmaniasis, özellikle yoksul koşulların hüküm sürdüğü ve sağlık hizmetlerinin sınırlı olduğu bölgelerde daha fazla görülmektedir. Bu nedenle hastalığın kontrolü ve tedavisi için özellikle bu tür bölgelerde yoğun çaba harcanması gerekmektedir [94]. Leishmaniasis'in hızla yayılabileceği, özellikle iklim değişiklikleri, savaşlar ve göç gibi faktörlerin etkisiyle epidemik olmayan bölgelere yayılma riski taşıdığı ifade edilmektedir. Leishmaniasis tedavisinde genellikle amfoterisin B, pentavalan antimonial ilaçlar ve pentamidin gibi ilaçlar kullanılmaktadır. Bu tedavi yöntemleri hastalığın türüne ve şiddetine bağlı olarak belirlenmektedir. Leishmaniasis, ciddi sağlık problemleri yaratabilen bir hastalık olduğu için etkili tedavi stratejileri geliştirmek ve hastalığın yayılmasını kontrol altına almak büyük bir öneme sahiptir [88]. Maalesef, leishmaniasis'e karşı etkili ve güvenli bir aşı henüz bulunmamaktadır. Bu nedenle hastalığın tedavisinde kemoterapi yöntemleri kullanılmaktadır. Ancak mevcut tedavi yöntemlerinin bazı dezavantajları, toksisite ve maliyet gibi faktörler hastalıkla mücadeleyi zorlaştırmaktadır. Bu nedenle yeni antileishmanial formülasyonların geliştirilmesi büyük önem taşımaktadır. Leishmaniasis, hem sağlık hem de toplumsal açıdan önemli bir tehdit oluşturan bir hastalık olduğundan hastalığın yayılmasını engellemek, enfeksiyonları erken teşhis etmek ve etkili tedavi yöntemleri geliştirmek büyük bir önceliktir.

- Visseral leishmaniasis Epidemiyolojisi

Her yıl dünya genelinde yaklaşık yarım milyon yeni vektör kaynaklı visseral leishmaniasis (VL) vakası görüldüğü tahmin edilmekte ve bu vakaların 50 binden fazlası ölümlle ilişkilendirilmektedir. VL vakalarının büyük bir çoğunluğu Brezilya, Etiyopya, Sudan, Bangladeş, Nepal, Hindistan gibi altı ülkede yoğunlaşmıştır. *Leishmania infantum* ve *L. chagasi* türleri genellikle bebekler, küçük çocuklar ve bağışıklık sistemi baskılanmış bireylerde VL'ye neden olurken, *L. donovani* türü hem çocukları hem de yetişkinleri enfekte edebilmektedir. Son iki dekatta pentavalent

antimon bileşiklerine karşı direncin görülmesi, leishmaniasis'in epidemiyolojisi üzerinde önemli etkilere neden olmuştur. Ayrıca son dönemlerde AIDS'e bağlı VL vakalarında önemli artış yaşanmıştır. Özellikle Güney Avrupa'da erişkinlerde görülen VL vakalarının %25 ila %70'i HIV enfeksiyonu ile ilişkilendirilmektedir. AIDS hastalarının ise %1,5 ila %9,5'i yeni kazanılan/reaktive olan VL'den etkilenmemiştir [95].

- **Kutanöz leishmaniasis Epidemiyolojisi**

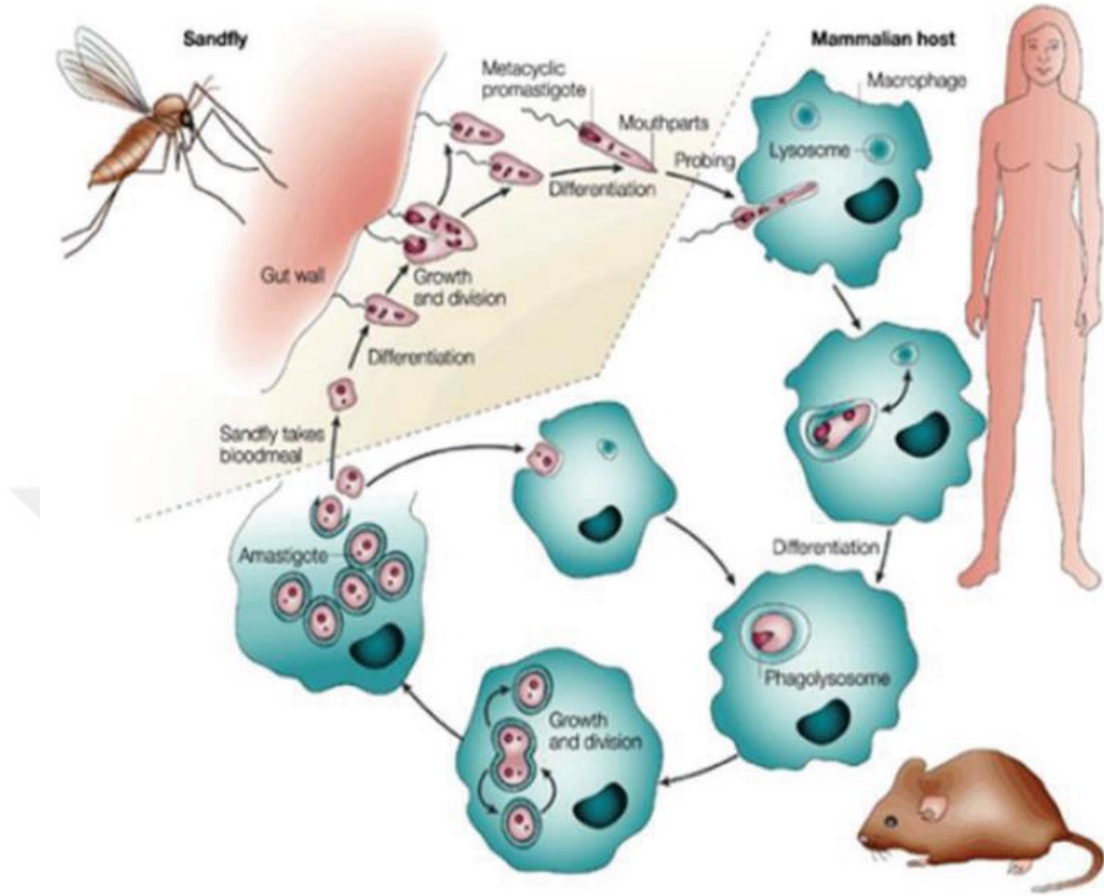
Kutanöz leishmaniasis, farklı *Leishmania* türlerinin neden olduğu bir cilt hastalığıdır. Eski Dünya kutanöz leishmaniasis türleri arasında *L. infantum*, *L. tropica*, *L. aethiopica*, *L. major* yer alırken, Yeni Dünya kutanöz leishmaniasis türleri arasında ise *L. peruviana*, *L. brasiliensis*, *L. mexicana* bulunmaktadır. Bu hastalığın yaygınlığı coğrafi bölgelere göre değişmekle birlikte, özellikle ılıman ve tropikal bölgelerde görülmektedir. Kutanöz leishmaniasis, insanlarla enfekte dişi kum sineklerinin teması sonucu bulaşır. Bu hastalık kompleksi, deride çeşitli boyutlarda yaraların ve lezyonların oluşmasına neden olabilir. Klinik bulgular, türler arasında farklılık gösterebilir ve hafiften şiddetliye kadar değişen derecelerde ağrıya, kaşıntıya ve rahatsızlığa neden olabilir [95].

Türkiye'de Leishmaniasis, özellikle 1990'larda Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde önemli bir problem olarak nitelendirilmiştir. Ancak alınan çeşitli önlemlerle etkisi azaltılmıştır. 1990-2010 dönemi için Sağlık Bakanlığı verileri ülke ölçeğinde 46 bin yeni vakaya işaret etmektedir. Özellikle Şanlıurfa, Çukurova bölgesi, Diyarbakır gibi bölgelerde "şark çıbanı" vakalarının sıkça rastlandığı kaydedilmiştir. Üç farklı klinik seyre sahip hastalık Şanlıurfa, Mersin, Kahramanmaraş, Aydın, Hatay, Adana, Osmaniye illerinde endemik olarak bulunmuştur. Saptanan toplam 50 bin 381 vakanın en az yarısı Şanlıurfa'dan bildirilmiştir [95].

### **2.3.1 Yaşam döngüsü**

*Leishmania* parazitinin yaşam döngüsü (Şekil 2.1), iki ana form olan amastigot ve promastigot formlarını içerir. Promastigot form, kum sineklerinin içerisinde bulunur ve hareket yeteneğini sağlayan flagella adı verilen uzantıları içerir. Bu form, çevresel koşulların etkisiyle değişime uğrayarak amastigot forma dönüşebilir. Amastigot form ise memelilerde bulunur ve flagella içermez. Çevresel koşullardaki değişikliklere yanıt

olarak oluşur; artan sıcaklık ve azalan pH gibi faktörler amastigot formunun gelişimini tetikler.



Şekil 2.1: Leishmania yaşam döngüsü [96].

Leishmania'nın insan vücuduna bulaşma süreci, enfekte tatarcık sineği (kum sineği) tarafından insanın ısırılmasıyla başlar. İnsanın bağışıklık sistemi tarafından korunmasını sağlamak amacıyla, bu tür enfeksiyonlara karşı savunma mekanizmaları bulunan fagositik hücreler devreye girer. Bu hücreler, yabancı organizmaları yutarak yok etmeye çalışırlar. Leishmania paraziti de bu süreci hedefler ve makrofajlar gibi fagositik hücrelerin yüzeyinde bulunan reseptörlere bağlanarak kendini fagositoz sürecine sokar. Parazitin içine girmesiyle başlayan bu süreç, lizozomal enzimler ve proteazlar içeren fagolizozomların devreye girmesiyle devam eder. Ancak Leishmania, bu mekanizmayı bozarak makrofajların içinde enfekte olmayı başarır ve çoğalmaya devam eder. Bu aşamada parazit, flagellum içermeyen ve daha büyük bir replikasyon yeteneğine sahip amastigot formuna dönüşür. Parazitofor vakuol lümeni asidiktir, bu nedenle leishmania'nın hayatta kalabilmesi için bu asidik ortamda besin sağlaması ve çoğalması gereklidir. Leishmania'nın konağa tutunmasını ve hayatta kalmasını sağlayan proteinler salgıladığı bilinmektedir. Bu proteinler arasında

peroksiredoksin ve aktive C kinaz proteinleri yer alır ve konak makrofajına bağlanmayı kolaylaştırır. Enfekte makrofajlar parçalanarak içindeki amastigotlar serbest bırakılır ve bu da başka makrofajların enfekte olmasına neden olur. Kan ürünü başka bir kum sineğine aktarılabilir ve bu döngü devam eder. Amastigotlar, kum sineğinin mide bölgesine giderek prosiklik promastigot formlara dönüşür, bunun sonucunda ise döngü tekrarlanmış olur [88, 95].

- Vektör

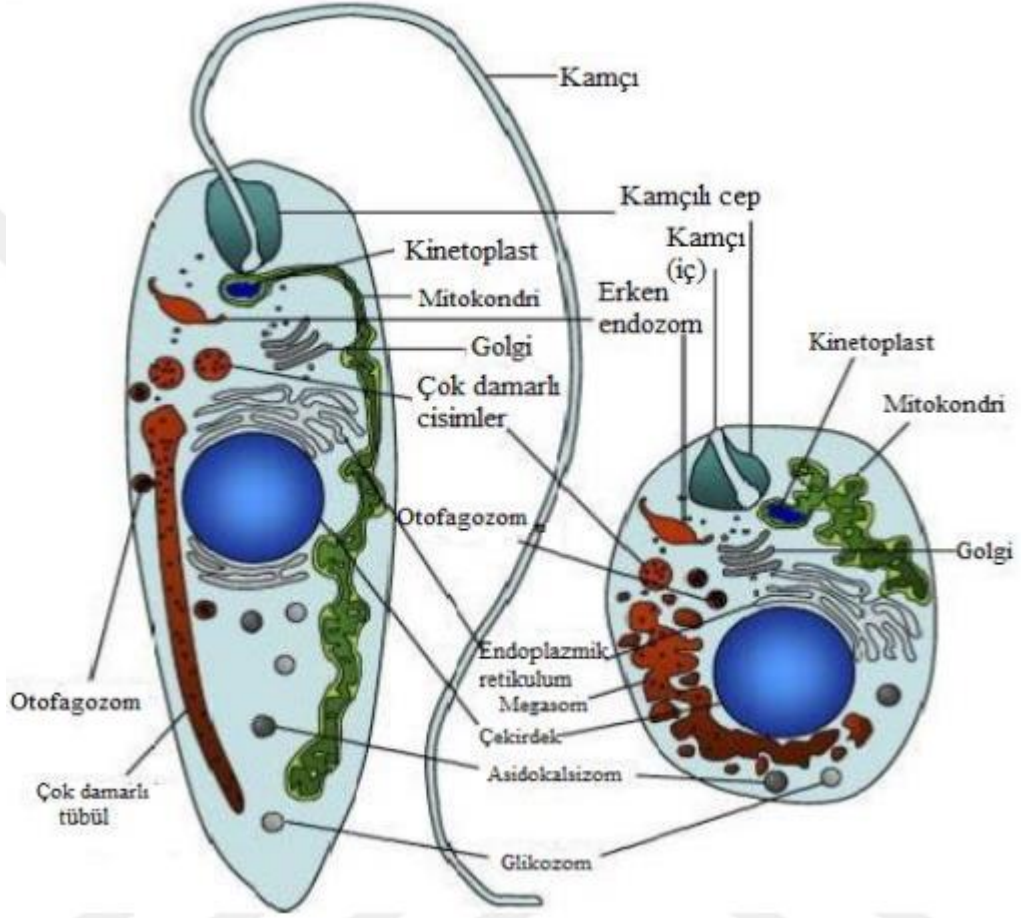
Leishmaniasis hastalığının bulaşmasında önemli bir role sahip olan vektörler, Eski Dünya ve Yeni Dünya şeklinde gruplandırılır. Eski Dünya’da bu vektörler genellikle Phlebotomus türleri olarak adlandırılan kum sinekleridir. Bu türler arasında *P. syriacus*, *P. papatasi*, *P. neglectus*, *P. sergenti*, *P. perfiliewi*, *P. galilaeus*, *P. alexandri*, *P. transcausicus*, *P. tobbi* ve *P. halepensis bulunurken*, *P. ariasi*, *P. longicuspis* ve *P. perniciosus* vb. bulunmaktadır [96]. Eski Dünya’da vektör kontrolünün etkinliği hakkında yeterli kanıt bulunmamaktadır, çünkü Phlebotomus türlerinin yaşam alanları büyük ölçüde bilinmemektedir.

- Parazit

Leishmania cinsi parazitler (Şekil 2.2), iki farklı morfolojik formda görünürler. Konak organizmada bulunan forma “amastigot,” vektör sineğin bağırsağında bulunan forma ise “promastigot” adı verilir [97]. Bu parazitlerin yaşam döngüsü, iki temel aşamadan oluşur: omurgasız konakta (Phlebotom veya Lutzomiya) gerçekleşen hücre dışı evre ve omurgalı konakta meydana gelen hücre içi evre. Bu iki evre, farklı morfolojik formların oluşumuna yol açar. Omurgasız konakta promastigot form oluşurken, omurgalı konakta amastigot form görülür [98].

Amastigot form, omurgalı konak organizmada bulunan bir formdur. Polimorf endotel hücreleri ve çekirdekli lökositlerde kümeler halinde veya bu hücrelerin parçalanması sonucu dağılmış şekillerde görülür. Kamçısız olduğundan hareketsizdir. Oval veya yuvarlak şekildedir. Boyutları 2-5 µm arasında değişir. Bu formda tek bir nükleus, rizoplast, bazal kısım, kinetoplast bulunur. Boyanmış preparatlarda çekirdek koyu kırmızı renkte görünür ve nispeten büyük bir yapıdır. Kinetoplast çekirdeğin önünde yer alır, rengi parlak kırmızı-menekşedir. Çubuk veya yuvarlak şeklinde olabilir. Sitoplazmada golgi aygıtı, lizozom, vakouller, mitokondri gibi yapılar bulunur [99].

Promastigot form ise vektör sineğin sindirim kanalında çoğalan bir formdur ve bu form vektörden insana bulaşmayı sağlar. 1,5-2,5  $\mu\text{m}$  genişliğinde, 10-20  $\mu\text{m}$  uzunluğunda mekik biçimindedir. Hareketli olan bu formda serbest kamçı bulunur ve kamçı 15-28  $\mu\text{m}$  uzunluğundadır. Kamçı, özel bir aksonemal yapıya sahiptir. Kinetoplast, formun ön ucuna yakın at nalı veya yuvarlak biçimde bulunmaktadır. Nükleus sitoplazmanın ortasında bulunur ve nükleer membran porlar içerir. Sitoplazmada golgi aygıtı ve endoplazmik retikulum da bulunur [99].



**Şekil 2.2:** Promastigot ve amastigot formları [98].

- Konak

Leishmaniasisin rezervuar konakçıları arasında insanlar, köpekler ve kemirgenler yer almaktadır.

İnsanlar: Leishmania türleri, insanlara kum sinekleri aracılığıyla bulaşabilmenin yanı sıra transplasental vertikal geçiş, organ transplantasyonu veya kan transfüzyonu yoluyla da bulaşabilir. Laboratuvarlarda kontamine malzemelerle temas veya iğne batması gibi diğer yollar da hastalığın bulaşmasına neden olabilir. Özellikle kötü

sosyoekonomik koşullara sahip bölgelerde yaşayan bireyler, enfekte olmaları halinde vektörlere veya diğer konaklara bulaşın yayılmasında rezervuar olarak önemlidir. Ayrıca hijyen eksikliği, temiz suya erişimin zorluğu ve kötü yaşam koşulları gibi faktörler, vektörlerin çoğalmasını destekler [100]. Bağışıklık sistemi zayıf veya baskılanmış bireyler, hastalığın hızlı yayılmasına katkıda bulunabilir. Modern seyahat teknolojileri, insanların dünya genelinde seyahat etmelerine olanak sağlar ve bu da vektörel yayılma veya doğrudan enfekte kişilerin yayılmasına neden olabilir.

**Köpekler:** Leishmaniasis epidemiyolojisi bakımından önemlidir. Farklı tiplerdeki leishmaniasis türleri köpeklerde bulunabilir ve hastalığın rezervuarları olarak görev yaparlar. Özellikle vektör kontrolü ve tedavisi, hastalığın kontrolü için önemlidir. Evcil köpekler veterinerler tarafından kontrol edilirken, başıboş veya vahşi köpekler, tilki türleri gibi diğer hayvanlar da salgınların yayılmasına neden olabilir. *L. chagasi*, *L. infantum*, *L. peruviana* ve *L. tropica* gibi türler köpeklerde bulunabilir ve özellikle Akdeniz bölgesi, Asya ve Latin Amerika'da köpeklerde endemiktir [88].

**Kemirgenler:** Leishmaniasis ajanının eradikasyonu açısından köpeklere göre daha zorlu bir süreci temsil eder. Amerika, Afrika ve Asya'da *Microtus socialis*, *Rattus rattus* (siyah fare), *Didelphis albiventris* (opossum), *Mesocricetus auratus* (Suriye hamsterleri), *Mus musculus* (ev fareleri), *Cercomys cunicularius* (yaban faresi) gibi farklı kemirgen türleri Leishmaniasisin yayılmasına neden olabilir [101].

### **2.3.2 Risk faktörleri**

Endemik bölgelerde ikamet etmek, evcil hayvan beslemek, endemik bölgelere seyahat etmek KL gelişimi açısından risk faktörleri arasındadır [102]. KL'nin görüldüğü bölgelerde, evlerle iç içe olan ahırların varlığı, bu ahırlarda biriken organik materyaller ve yakıt olarak kullanılan tezek yığınları, hastalığın yayılması için risk faktörleri olarak kabul edilir. Sivrisinek koruması olmadan açık alanda uyuyan, hayvan barınaklarına veya köpeklere yakın yaşayan bireyler riski artırabilir [103]. Hızlı ve plansız şekilde oluşan yerleşim alanlarında, kentlerin kenar kesimlerinde altyapı eksiklikleri, su ve kanalizasyon sorunları gibi durumlar, uygun olmayan yaşam koşulları oluşturarak KL gelişimine zemin hazırlar. Ayrıca, sürekli dış mekânda çalışmayı gerektiren mesleklerde çalışmak da KL gelişimi açısından risk taşıyan bir faktördür. Antroponotik enfeksiyonların temel kaynağı olan vakanın tedavi edilmemesi, yeni vakaların ortaya çıkmasına ve hastalığın yayılmasına neden olabilir [104].

### 2.3.3 Ayırıcı tanı

Kutanöz leishmaniasis (KL), değişken klinik görünümü nedeniyle ayırıcı tanı açısından zorluklar içeren bir hastalıktır. Özellikle sistemik belirtiler göstermeksizin sadece deri lezyonlarıyla karakterize olan olgular, diğer dermatolojik hastalıklarla karışabilir. Hastalığın seyrinde ortaya çıkan kutanöz neoplaziler, derin mikozlar, ülseratif lezyonlar, lupus eritematosus gibi diğer hastalıklardan ayırıştırılmalıdır. KL, klinik olarak bahsedilen hastalıklarla benzer özellikler gösterebileceği gibi, aynı zamanda hayvanların bağışıklık sistemini zayıflatarak bu hastalıklarla birlikte de görülebilir [105]. Hastalığın ayırıcı tanısında dikkat edilmesi gereken diğer bir unsur birçok enfeksiyöz ve non-enfeksiyöz deri hastalığıyla karışabileceğidir. Bunlar [106, 107, 102]: Wegener granüloatozis, pemfigus foliaceus, tiroglosal kist, preaurikular sinüs, yabancı cisim granülomu, keloid, liken simplex kronikus, prurigo nodularis, staz ülseri, travmatik ülser, miyazis, böcek ısırıkları, pyojenik granülom, plak psöriazis, numuler dermatit, pyoderma gangrenozum, infundibular kist, şalazia, granüloatoz keilitis, sarkoidozis, rozasea, diskoid lupus eritematozus, paronişi, tropikal ülser, majochi granülomu, kerion, tinea korporis, herpes, zona, molluskum kontagiozum, verruka, kedi tırmağı hastalığı, sağmaç nodülü, orf, botriomikozis, nokardiyozis, aktinomikozis, yaws, pinta, sifiliz, lepra, yüzme havuzu granülomu, Buruli ülseri, tüberküloz şankırı, verrüköz tüberküloz, skrofuloderma, lupus vulgaris, tularemi, antraks, rinoskleroma, deri difterisi, erizipeloid, selülit, erizipel, ektima, karbonkül, furunkül, impetigo, kromoblastomikoz, parakoksidioidomikoz, histoplazmoz, blastomikoz, sporotrikoz, ksantogranülom, dermatofibrom, mastositom, metastazlar, psödolenfoma, deri lenfoması, keratoakantoma. Hastalığın doğru bir şekilde teşhis edilebilmesi için klinik bulgular, hasta öyküsü, epidemiyolojik faktörler ve laboratuvar sonuçları bir arada değerlendirilmelidir.

### 2.3.4 Klinik formlar ve tanı

KL, enfekte dişi kum sineğince ısırılan örtünmeyen vücut bölgelerinde genellikle yüz, boyun ve ekstremitelerde başlayan küçük papüler lezyonlarla kendini gösterir. Bu lezyonlar zamanla büyüyerek nodül veya plak şeklinde gelişir ve merkezinde kabukla kaplı ülser oluşur. Ülserin altında çiviye benzeyen çıkıntılar da görülebilir, bu duruma “çivi belirtisi” denir. KL lezyonları genellikle ağrısızdır. Tedavi edilmezse 1-1,5 yıl içinde atrofik skarlar bırakarak kendiliğinden iyileşebilir, ancak bazı lezyonlar

kronikleşebilir. Mukokutanöz Leishmaniasis (MKL), özellikle mukoza zarlarını etkileyerek yüzde şekil bozukluğuna ve iltihabi reaksiyonlara neden olabilir. Bu form tedavi gerektirir ve bazen ölümcül olabilir. Visseral Leishmaniasis (VL), iç organlarda parazitin fagositik hücreleri istila etmesi sonucu lenf düğümleri, kemik iliği, dalak, karaciğer ve bağırsakları etkiler. Semptomlar enfeksiyondan beş ila altı ay sonra ortaya çıkar. VL'ye özgü belirtiler arasında hepatosplenomegali, splenomegali ve şiddetli immün yetmezlik yer alır. VL tedavi edilmezse yüksek ölüm oranlarına yol açabilir. Visseral Leishmaniasis sonrası Dermal Leishmaniasis (PKDL), VL'nin eksik veya yetersiz tedavi duumlarında uzun dönem sonra ortaya çıkan bir formdur. PKDL, yüzde nodüler döküntü, hipopigmente maküller ve kelebek eritem gibi belirtilerle kendini gösterir. Bu farklı klinik formlar, enfekte eden Leishmania parazit türüne, bireyin bağışıklık durumuna, çevresel ve kalıtsal faktörlere bağlı olarak; klinik belirtiler, hastalığın şiddeti ve etkilediği bölgelere göre değişiklik gösterebilir [108].

VL'nin semptomları ve klinik belirtileri, sıtma, tripanozomiyaz, tüberküloz ve tifo gibi diğer paraziter hastalıkların semptomlarına benzerlik gösterdiğinden, hastalığın teşhisi oldukça zorlu bir süreçtir. Bu benzerlikler nedeniyle hastalığın tanısı genellikle karmaşıktır ve doğru teşhis için özel yöntemler gerekmektedir. Geleneksel tanı teknikleri arasında mikroskopik yöntemler, parazit kültürü ve cilt biyopsilerinin histolojik analizi yer almaktadır. Ancak, günümüzde polimeraz zincir reaksiyonu testi (PCR) ve Enzim Bağlantılı İmmünosorbent Analiz (ELİSA) gibi modern moleküler tanı yöntemleri, deri örneklerinde tür tanısını yapabilmek için en hassas ve güvenilir testler olarak öne çıkmaktadır. Hastalığın teşhisinde en etkili yaklaşım, hastanın hastalığa maruz kalma geçmişi ile birlikte klinik, epidemiyolojik ve laboratuvar bulgularının birlikte değerlendirilmesidir. Leishmaniasis teşhisi için özellikle hastanın bulunduğu coğrafi bölge, semptomlar ve risk faktörleri değerlendirilmelidir. Geleneksel ve serolojik yöntemler, hastalığın teşhisinde yaygın olarak kullanılmaktadır.

**Moleküler Yöntemler:** Leishmaniasisin doğru ve hassas bir şekilde teşhis etmek için en etkili yöntemlerdendir. Bu yöntemler, Leishmania parazitlerinin DNA'sını tespit ederek hastalığın teşhisini yapmaya yardımcı olurlar. Özellikle çok küçük numunelerden dahi Leishmania DNA'sını belirleyebilme yetenekleri sayesinde, aynı klinik belirtilere sahip farklı hastalıkların birbirinden ayrılmasına olanak sağlarlar. Moleküler yöntemler arasında özellikle visseral leishmaniasis için en hassas ve

güvenilir olanlardan biri, kantitatif PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) yöntemidir. Bu yöntem, VL'yi periferik kan numuneleri üzerinden analiz edebilme imkanı sunar. Bu tür moleküler analizler özellikle HSP70 veya ITS1 gibi özgül genlerin amplifikasyonunu içerir. Bu genlerin dizilimi veya jel analizi yoluyla tür tanımlaması yapılmaktadır. Bu tür PCR yöntemleri genellikle doğrudan deri biyopsileri, diğer dokular veya kültürlenmiş parazit suşları üzerinde uygulanabilir. Kantitatif PCR yöntemleri mikroskopi veya kültür yöntemlerine kıyasla daha fazla hassasiyet sunmaktadır [109].

Serolojik Yöntemler: Hastalığın yaygın olduğu bölgelerde, sağlık hizmetlerine erişim zorluğu nedeniyle, Leishmaniasis teşhisi için tanı laboratuvarlarına erişim sınırlı olabilir. Bu tür durumlarda, hastaların periferik kanında anti-Leishmania antikörlerinin varlığını tespit etmek amacıyla serolojik yöntemler sıklıkla kullanılmaktadır. Piyasada farklı test yöntemleri mevcut olup, bu yöntemlerin çeşitli avantajları ve gereksinimleri bulunmaktadır. Serolojik testler arasında Immün Floresan Antikor Testleri (IFAT) ve Enzim Bağlantılı İmmüno-sorbent Analiz (ELİSA), özel ekipman ve laboratuvarlara ihtiyaç duymaları nedeniyle daha yüksek kaynaklara sahip laboratuvarlar için uygundur. Doğrudan Aglütinasyon Testi ve Immünokromatografik Hızlı Tanı Testleri gibi diğer yöntemler ise Leishmania antijen K39'a karşı antikörleri hızlı bir şekilde tespit edebilme yeteneği ile özellikle düşük kaynaklara sahip bölgelerde hızlı tanı sağlamaktadır. Western Blot (WB), nitroselüloz filtre kağıdına lekelenen denatüre edici jel elektroforezi ile ayrılan patojene özgü proteinlere karşı antikörleri saptayan bir yöntemdir. Bu genellikle doğrulama testi olarak kullanılır, ancak optik olarak okunan bantların yorumlanmasındaki farklılıklar nedeniyle çeşitli kullanıcılar arasında farklı sonuçlara yol açabilir. Serolojik testler genellikle Leishmania türlerinin ve varyasyonlarının endemik olduğu bölgelerde çalışan popülasyonlara göre geliştirilmiştir. Bu nedenle her bölgede tüm Leishmania türleri için aynı hassasiyeti veya spesifikliğı gösteren bir yöntem henüz yoktur [109].

Kültür Yöntemleri: Leishmania parazitlerinin promastigot formundaki kültürleri, özel besiyerlerinde (örneğin NNN ortamı veya sıvı hücre kültürü ortamı) uygun koşullar altında (genellikle 27 °C sıcaklıkta) inkübe edilerek gerçekleştirilir. Ancak bu yöntem, genellikle uzun bir süreç olarak değerlendirilir. Ayrıca, bu yöntemin uygulanabilmesi için özel ekipmanlar ve uzman personel gereklidir. Parazitlerin promastigot aşamasında kültürün gerçekleştirilmesi, Leishmaniasis teşhisi için oldukça spesifik

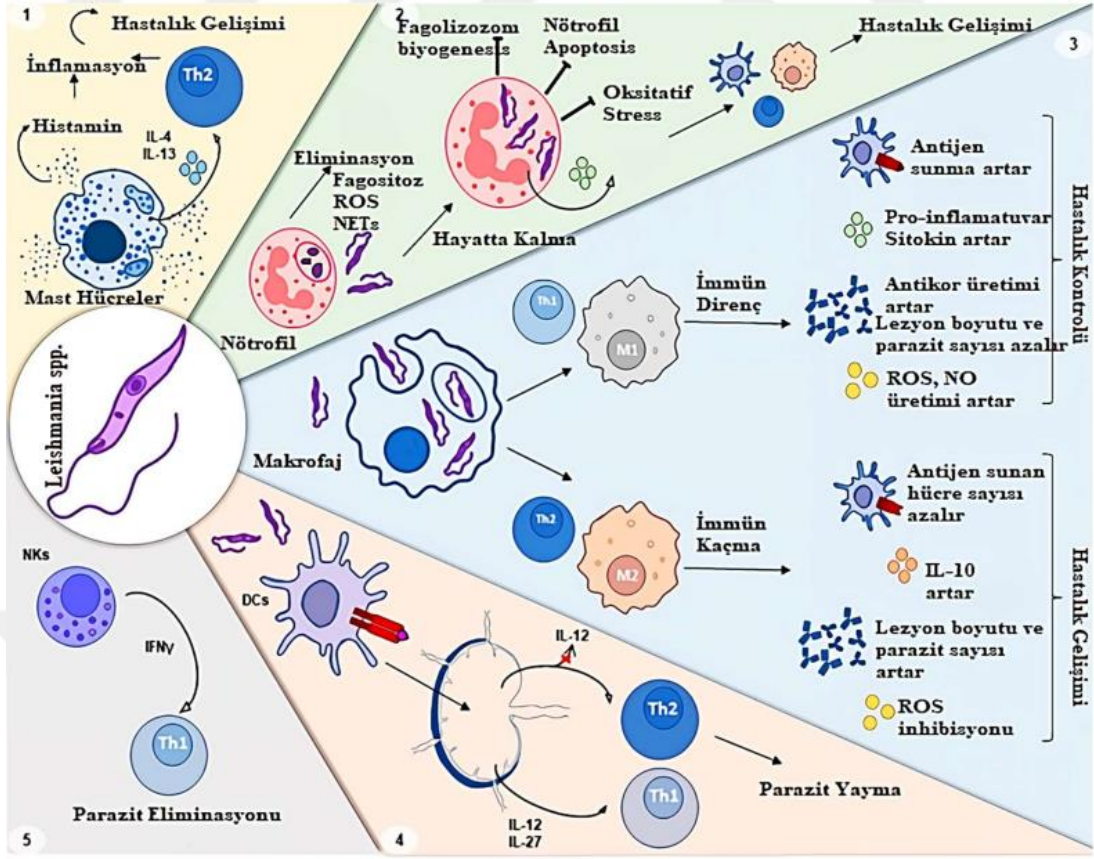
(%100) ve duyarlı (%84) bir yöntemdir. Mikroskopik yöntemlere kıyasla daha yüksek hassasiyet sağlar [109].

**Mikroskopik Yöntemler:** Leishmaniasis'in teşhisinde kullanılan temel ve doğrulayıcı bir yöntem, aspiratlar veya enfekte dokudan alınan biyopsi smearların ışık mikroskopunda incelenmesidir. Bu yöntem parazitin ilk keşfedildiği günden bugüne dek en yaygın kullanılan yöntemlerdendir. VL şüphesi durumunda dalak veya kemik iliğinden alınan aspiratlar, (KL ve MKL şüphesi durumunda ise mukoza veya deriden alınan biyopsiler) kullanılabilir. Bu örnekler Giemsa boyası ile boyanarak, doku makrofajlarında gözlenen ve hem çekirdek hem de kinetoplast içeren yuvarlak amastigotların görünmesiyle tanı doğrulanır. Bu yöntemin spesifikliğı genellikle %100'e yakın olup, dalak aspiratları dışında (%93-99) tüm dokularda hassasiyet düşüktür (%53-86). İmmünofloresan mikroskopi yöntemleri ise genellikle daha yüksek hassasiyete sahiptir [109].

**Diğer Yöntemler:** Leishmania antijenlerinin idrar veya kan örneklerinde tespit edilmesi amacıyla birçok deneysel çalışma yürütülmüştür. Ancak şu ana kadar elde edilen verilere göre, genel olarak (özellikle bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda) duyarlılık düzeyinin düşük olduğu bilinmektedir. Bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda, anti-leishmanial antikorlarının tespit edilemeyebileceği göz önünde bulundurulmalıdır. Ancak, bu hastalarda yüksek parazit yükü bulunabileceğinden, antijen testlerinin bu özel grupta değerli bir tamamlayıcı teşhis yöntemi olabileceği düşünülebilir. IFN- $\gamma$  (interferon-gamma) salınım testi, latent enfeksiyonun belirteci olarak hem insanlarda hem de köpeklerde deneyimlenmiştir [109].

### **2.3.5 İmmünite**

Leishmaniasisin tamamen ortadan kaldırılması, konak bağışıklık sisteminin karmaşık etkileşimlerine bağlıdır (Şekil 2.3).



Şekil 2.3: Bağışıklık hücreleri ve leishmania etkileşimi [109].

Parazitlerin yaşam döngüsündeki farklı aşamalarda konak savunma mekanizmalarının rolü, hastalığın oluşumu ve parazitlerin eliminasyonu süreçleri arasındaki ilişkilerde etkilidir. Bu bağlamda, hastalığın tamamen ortadan kaldırılması, doğal ve adaptif bağışıklık sistemi unsurlarının birleşimini içerir. Paraziter hastalıkların karmaşık mekanizmaları nedeniyle, hastalıklara karşı etkili tanı ve tedavi yöntemleri geliştirmek zorlu bir süreç olmuştur. Genetik manipülasyon çalışmaları ve görüntüleme sistemlerindeki gelişmeler, konak hücreleri ile Leishmania paraziti arasındaki etkileşimleri daha iyi anlamamızı sağlamıştır. Bağışıklık sistemi hücrelerinin Leishmania etkileşimleri detaylandırıldığında, bazı önemli noktalar açığa çıkar. Mast hücreleri, IL-4, IL-13 gibi sitokin salgılayarak Th2 bağışıklık yanıtını artırabilir, bu da Leishmania'nın hayatta kalmasını ve hastalığın yayılmasını destekler. Nötrofiller, parazitleri fagositoz yoluyla ortadan kaldırabilir ve ROS ile NET gibi mekanizmalarla etkisiz hale getirebilir. Nötrofiller aynı zamanda IL-8 ve MIP1 $\alpha$  gibi faktörler salgılayarak diğer hücreleri enfeksiyon bölgesine çekebilir. Leishmania enfeksiyonuna maruz kalan makrofajlar, M1 ve M2 makrofajlara dönüşebilir. M1 makrofajlar proinflamatuar yanıtı artırarak enfeksiyonun kontrolünü sağlayabilirken, M2

makrofajlar anti-inflamatuar yanıtı artırarak parazitlerin hayatta kalmasını ve hastalığın gelişmesini destekler. Dendritik hücreler, enfeksiyon bölgesinden alınan antijenleri lenf düğümlerine taşıyarak T hücrelerine sunar. Bu, bağışıklık yanıtlarını düzenleyerek hastalığın yayılmasını etkiler. NK hücreleri ise IFN- $\gamma$  salgılayarak Th1 yanıtını artırarak bağışıklık savunmasını destekler. Bu karmaşık etkileşimler, Leishmaniasis'in ortadan kaldırılması amacıyla konak bağışıklığının rolünü vurgular. Bağışıklık sisteminin doğal ve adaptif unsurlarının işbirliği, hastalığın yayılmasını kontrol altına alarak hastalığın eradikasyonuna katkı sağlayabilir [109].

**Doğuştan/Doğal Bağışıklık:** Enfeksiyonlar karşısında ilk savunma hattı olup patojenlere hızla yanıt veren sistemdir. Bu bağlamda, Leishmaniasis'e karşı doğal bağışıklık mekanizmaları oldukça önemlidir. Enfeksiyonun başladığı noktada, parazitin vücuda girmesiyle birlikte doğal bağışıklık yanıtı aktif hale gelir. Parazitin üremesiyle "promastigot" adı verilen aşamalar, kompleman sistemini etkinleştirerek serum bileşenleriyle etkileşime girer. Parazitin büyük bir kısmı parçalanırken, kalanlar direnç mekanizmaları geliştirerek parçalanmadan kaçma stratejilerini benimser. Bu süreçte, Leishmania parazitleri kompleman aktivasyonunu engelleyerek C3, C5 ve C9 bileşenlerini değiştirir. Ayrıca, parazitin yüzeyinde bulunan bazı moleküller, inaktif C3b'ye (iC3b) bağlanarak parazitin lenfositlere ve makrofajlara daha kolay girmesini sağlar. Tatarcık tükürüğü de enfeksiyonun ilerlemesinde rol oynar. Tatarcık tükürüğü içinde bulunan moleküller, mikroorganizma etkilerini içerir ve enfeksiyonun yayılmasını destekleyen faktörleri içerir. Enfeksiyon bölgesinde yerleşik hücreler, patojenlere karşı ilk tepkiyi veren hücrelerdir. Bu hücreler, patojenlere özgü molekülleri tanıyan reseptörler ifade eder ve parazitleri fagosite eder. Bu süreç spesifik reseptörlere bağlanma, yutulma ve reaktif oksijen türlerini üretme gibi aşamaları içerir. Nötrofiller, enfeksiyonun erken evrelerinde enfeksiyon bölgesine göç eden hücrelerdir. Bu hücreler parazitleri fagosite ederek ortadan kaldırabilir ve enfeksiyonun yayılmasını engelleyebilir. Ancak, parazitin türüne ve konak hücreye bağlı olarak farklı etkiler gösterebilir. Nötrofiller, fagositoz, ROS ve NET gibi mekanizmalar kullanarak parazitleri etkisiz hale getirir. Ancak parazitler, fagositozdan kaçma stratejileri geliştirerek nötrofiller içinde hayatta kalmayı başarabilir. Bu süreç, enfeksiyonun seyrini etkileyebilir ve konakçıya duyarlılığını değiştirebilir. Nötrofiller aracılığıyla ortaya çıkan yanıtların, enfeksiyonun şiddeti ve sonucunu belirlemedeki rolü oldukça karmaşıktır. Özellikle dirençli farelerde apoptotik nötrofillerin fagosite

edilmesi, parazit yükünün azalmasına ve hastalığın kontrolüne yardımcı olabilir. Ayrıca NO gibi moleküller de enfekte hücrelerde antileishmanial etkiler sergiler. Bu moleküller, parazitleri eliminasyon süreçlerine dahil ederek enfeksiyonla mücadelede aktif rol alır [109].

**Adaptif (Edinsel) Bağışıklık:** Bağışıklık sistemi, B ve T hücrelerince temsil edilen bir savunma mekanizmasıdır ve hücrel ile humoral bağışıklığın oluşumunu içerir. Leishmaniasis'te, adaptif bağışıklığın büyük bir önemi vardır. Özellikle T hücreleri, Leishmania enfeksiyonuna karşı koruyucu rol oynar. Yapılan araştırmalar, T hücre yanıtlarının etkisiz hale getirildiği durumlarda, zamanla Leishmaniasis'e karşı direncin kaybedildiğini göstermiştir. Bu durum, bağışıklık sisteminin T hücre yanıtlarının hastalığa karşı savunma sağlamada ne kadar kritik olduğunu vurgular. Ayrıca, sağlıklı T hücre yanıtlarının, T hücre fonksiyonları bozulmuş farelere adaptif transferiyle, Leishmania enfeksiyonuna karşı direncin yeniden kazanılmasını sağladığı gözlemlenmiştir. Bu deneyler, fonksiyonel T hücrelerinin eksikliğinin veya zayıflığının Leishmaniasis'e karşı savunma yeteneğini olumsuz etkilediğini ve sağlıklı T hücre yanıtlarının tedavi potansiyeli taşıdığını ortaya koymaktadır [110].

**Parazitin Hayatta Kalma Yeteneği:** Leishmaniasis'in gelişimi, Leishmania parazitlerinin ev sahibi (konak) organizmanın bağışıklık tepkilerinden kaçma yeteneği ile yakından ilişkilidir. Bu durum, parazitlerin vücut içerisinde hayatta kalmasını ve kronik enfeksiyonların oluşmasını mümkün kılar. Bu noktada, parazitin konak organizmada sağlamış olduğu hayatta kalma mekanizmaları dikkate değerdir. Doğuştan gelen bağışıklık mekanizmaları, patojenlerin vücuda girdiği anda ilk savunma hattını oluşturur. Ancak, Leishmania parazitlerinin özellikle kompleman sistemi aracılığıyla engelleme yeteneği, enfeksiyonun seyrini etkiler. Parazitin hücre içi amastigot formu, C5b-C9 kompleksini zarın içine girmesini sağlayacak şekilde zar yapısını değiştirme yetisine sahiptir. Bu özellik, parazitin hücre zarının saldırıya uğramasını engellemesine yardımcı olur. Ayrıca, Leishmania tarafından üretilen kinaz enzimleri, kompleman sistemi elemanlarını, örneğin C3, C5 ve C9'yu fosforilasyon yoluyla etkisiz hale getirir. Bu şekilde parazit, kompleman sistemini devre dışı bırakarak kendisini koruma altına alır. Parazitin yüzeyinde bulunan bileşenler, örneğin GP63 ve LPG gibi moleküller, C3b kompleman bileşeninin etkisini zayıflatarak parazitin zarına bağlanmasını engeller. Bu mekanizma sayesinde parazit, kompleman sistemine karşı savunmasını güçlendirir [109].

### 2.3.6 Tedavi

Leishmaniasis tedavisini etkileyen bir dizi faktör bulunmaktadır: ilaçların etkinliği, enfekte bölgelerdeki lezyonların boyutu, sayısı ve görünümü vb. Bununla birlikte, hastanın enfeksiyon öncesi süresi, tekrarlayan enfeksiyon riski, bağışıklık sisteminin baskılanması ve farklı enfeksiyon varlığı da etkilidir. Leishmaniasis tanısı konulduktan sonra VL ve KL için farklı tedavi yöntemleri mevcuttur. Tablo 2.3'te yöntemlere dair kıyaslama sunulmaktadır.

**Tablo 2.3: Farklı tedavi yöntemleri. [111-119]**

Tedavi	Çeşit	Özellik
Fiziksel Terapi	Termoterapi CO <sub>2</sub> lazer	Lezyonun sayısı, boyutu, görünüşü Tedavi öncesi hastalığın süresi
Topikal Terapi	Fotodinamik Terapi Kriyoterapi rejimleri Paromomisin İntralezyonel pentavalent antimonial Topical imidazole ilaçlar	Kendini iyileştirme sıklığı ve süresi Yeniden enfeksiyon Leishmaniasis'in çoğunun görüldüğü kırsal ve yoksul bölgelerde bulunamaması
Oral Terapi	Azol ilaçlar Miltefosine	İmmunosüpresyon Mukozal veya yaygın tutulum
Parenteral Terapi	Pentavalent Antimonial Liposomal Amphotericin B	Lezyonun lokasyonu

#### 2.2.1.1 Fiziksel tedavi

Leishmaniasis tedavisinde fiziksel yöntemler arasında termoterapi, CO<sub>2</sub> lazer, fotodinamik terapi ve kriyoterapi gibi yöntemler bulunmaktadır.

Termoterapi, enfekte lezyonun bulunduğu bölgeye ısı uygulanması prensibiyle çalışan bir tedavi yöntemidir. Bu yöntem, paraziti doğrudan etkileyerek yok etmeyi amaçlar. Yapılan birçok çalışma, termoterapinin lezyon içindeki antimon bileşikleriyle benzer etkinliğe sahip olduğunu ve hatta bazı durumlarda daha üstün sonuçlar elde edebildiğini göstermiştir. Ancak termoterapi, maliyet ve erişim açısından bazı dezavantajlar taşıyabilir [111].

CO<sub>2</sub> lazer kullanarak lezyonlu bölgeye kontrollü bir şekilde ısı verilmesini içerir. CO<sub>2</sub> lazer, sağlıklı dokuya zarar vermeden lezyon üzerinde etkili olabilir. İntralezyonel antimonial ilaçlarla kombinasyonda kriyoterapiye göre daha iyi sonuçlar alınabilir [112].

Fotodinamik terapi, Leishmaniasis tedavisinde kullanılan güvenli, hızlı, etkili bir yöntemdir. Leishmania parazitleri özel bir ışık kaynağı ile hedeflenir ve sitoliz (hücre

parçalanması) sağlanır. Fotodinamik terapi, klinik uygulamalarda başarılı sonuçları nedeniyle etkili bir seçenek olarak önerilir [113].

Kriyoterapi, sıvı nitrojen gibi düşük sıcaklıkların kullanılmasıyla enfekte dokunun dondurulması esasına dayanan bir tedavi yöntemidir. Özellikle KL için etkili bir seçenektir. Yapılan çalışmalar, kriyoterapinin *L. major* ve *L. tropica* gibi türlerle oluşan lezyonlarda yüksek oranda etkinlik gösterdiğini ve hatta intralezyonel pentavalan antimoniallerle kombinasyon halinde kullanıldığında %100 oranında iyileşme sağlayabildiğini göstermiştir [114].

### **2.2.1.2 Topikal terapi**

Leishmaniasis tedavisinde kullanılan topikal terapiler arasında paromomisin, lezyon içi pentavalent antimonial ilaçlar ve topikal imidazol ilaçları bulunmaktadır.

Paromomisin, KL tedavisi için önerilen bir topikal ilaçtır ve 1990'lardan bu yana birkaç klinik çalışma tarafından değerlendirilmiştir. Ancak, bu tedavinin etkinliği konusunda çeşitli çalışmalar farklı sonuçlar ortaya koymuştur. Uzun süreli takiplerde büyük ölçüde etkinlik gözlenmemiş, bunun temel nedeni ise tedavi süresinin kısa olması olarak belirtilmiştir [115].

Lezyon içi pentavalent antimonial ilaçlar, özellikle Asya ve Akdeniz bölgelerinde *L. major* ve *L. tropica* enfeksiyonlarında etkili olduğu görülen bir tedavi seçeneğidir. Bu ilaçların intralezyonel uygulamaları gerçekleştirilerek tedavi edilmiş ve yanıt oranları değerlendirilmiştir. Bazı çalışmalar, rekombinant IFN- $\gamma$  ile tedavi ile karşılaştırıldığında lezyon içi antimonial ilaçların daha yüksek yanıt oranları sağladığını göstermiştir [116].

Topikal imidazol ilaçları da tedavi seçeneklerindedir. Klotrimazol ve mikonazol gibi ilaçlar, merhem formunda kullanılmakta ve bir ay süresince topikal olarak uygulanmaktadır. Ancak yapılan çalışmalarda bu ilaçların lezyonlarda belirgin bir iyileşme yaratmadığı görülmüştür. Benzer şekilde, topikal ketokonazolün de lezyonların seyrini anlamlı bir şekilde değiştirmedeği rapor edilmiştir [116].

### **2.2.1.3 Oral ilaç**

Leishmaniasis tedavisinde kullanılan oral ilaçlar arasında azol ilaçları ve miltefosin yer almaktadır.

Azol ilaçları, Leishmania enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılan bir grup ilaçtır. Flukonazol, *L. major* enfeksiyonlarına karşı Suudi Arabistan'da yapılan bir çalışmada değerlendirilmiştir. Günde 200 mg dozunda 6 hafta süreyle uygulandığında hastalığa karşı etkinlik ve toleransın arttığı gözlemlenmiştir [116]. Aynı şekilde, İran'da *L. major* enfeksiyonlarına karşı yürütülen çalışmalarda da flukonazolun etkinliği ve dozajının tedavi sonuçlarını etkilediği görülmüştür. İtrakonazol ise birçok randomize klinik çalışmada değerlendirilmiş ve *L. major* enfeksiyonlarına karşı kullanılmıştır. Bu ilaçla elde edilen tedavi sonuçları farklı bölgelerde ve dozajlarda değişkenlik göstermiştir [117].

Miltefosin, özellikle *L. major* enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılan bir diğer oral ilaçtır. Bu ilaçla yapılan çalışmalar, enfeksiyonlara karşı yanıt oranlarının %87 ile %100 arasında değiştiğini göstermiştir. İran'da gerçekleştirilen bir çalışma, oral miltefosinin intralezyonel antimonial ilaçlar kadar etkili olduğunu belirtmiştir [117].

#### **2.2.1.4 Parenteral ilaç**

Leishmaniasis tedavisinde kullanılan parenteral ilaçlar arasında beş değerli antimonialler ve lipozomal amfoterisin B yer almaktadır.

Beş değerli antimonial ilaçlar, Doğu Afrika, Orta Doğu ve Akdeniz ülkelerinde yapılan çalışmalarla Leishmaniasis tedavisinde etkili oldukları kanıtlanmıştır. Ancak, *L. major* ve *L. tropica* gibi farklı türler arasında yanıt oranları açısından farklılıklar gözlemlenmiştir. Örneğin, *L. major* enfeksiyonlarına karşı daha yüksek tam remisyonlar elde edilmiştir. Bazı çalışmalarda, topikal %5 imikimod krem ile parenteral pentavalan antimoniallerin kombinasyonunun ek fayda sağlamadığı görülmüştür [109].

Lipozomal amfoterisin B ise Leishmaniasis tedavisinde kullanılan bir diğer parenteral ilaçtır. Ancak bu ilaçla yapılan çalışmalar sınırlıdır. Özellikle sistemik tedavi gerektiren vakalarda beş değerli antimoniallerin kullanımının toksisiteye yol açması, lipozomal amfoterisin B'nin kullanımını teşvik etmiştir. Yapılan çalışmalarda, lipozomal amfoterisin B'nin terapötik yanıt oranının %84 olduğu bildirilmiştir. Ancak bazı durumlarda ilacın etkinliğinde başarısızlık yaşandığı ve diğer tedavi seçenekleri ile kombinasyonunun etkisi değerlendirilmiştir [109].

### **2.2.1.5 Antikanser ilaç**

Leishmaniasis tedavisinde antikanser ilaçlar arasında tamoksifen ve imidazokinolin ailesine ait bileşikler öne çıkmaktadır.

Tamoksifen, özellikle meme kanserinin tedavi ve önlenmesinde kullanılan bir anti-östrojen ilacıdır. Bu ilaç, leishmaniasis tedavisinde de araştırılmış ve hem in vitro hem de in vivo çalışmalarda etkili olduğu gösterilmiştir. Tamoksifenin anti-leishmanial aktivitesi, parazit yükünde ve lezyon boyutunda önemli bir azalma yaratmıştır [118].

İmidazokinolin ailesine ait bileşiklerden özellikle imikuimod, Leishmaniasis tedavisinde potansiyel olarak kullanılacak bir ajan olarak değerlendirilmiştir. İmikuimod, TLR-7 yoluyla bağışıklık hücrelerini aktive ederek sitokin salgılanmasını sağlar. Leishmaniasis tedavisinde imikuimodun etkinliğini öneren vaka raporları ve ön çalışmalar bulunmaktadır. Ayrıca, benzimidazol ve türevleri de antimikrobiyal, antifungal, antineoplastik ve antiinflamatuvar özelliklere sahip bileşikler olarak bilinmektedir. Benzimidazolun leishmaniasis tedavisindeki potansiyeli, mikrotübül oluşumunu engelleyerek parazit hücrelerinin bölünmesini ve çoğalmasını engellemelerine dayanmaktadır. Alanda daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır [109].

### **2.2.1.6 Kombinasyon terapi**

Leishmaniasis tedavisi sırasında kullanılan mevcut ilaçların, ciddi toksik yan etkilere neden olabileceği ve ilaç direncini artırabileceği bilinmektedir [119]. Bu nedenle son yıllarda, ilaçların toksisitesini azaltmak ve antimikrobiyal etkinliği artırmak amacıyla kombinasyon terapisi yaklaşımı geliştirilmiştir. Bu yöntemle, farklı ilaçların bir arada kullanılmasıyla daha etkili sonuçlar elde edilebilmekte ve ilaç direncinin gelişimi önlenmektedir [120].

Nanoteknoloji, tıp alanında yaygın olarak kullanılmaktadır. Özellikle metalik nanopartiküllerin antimikrobiyal ajanlarla birleştirilerek kullanılması, toksisite sorunlarını önleyebildiği ve bakterisit etkileri sağlayabildiği gözlemlenmiştir. Özellikle TiO<sub>2</sub> ve Ag nanopartiküllerin, hücre zarı geçirgenliğini artırarak antimikrobiyal etki gösterdiği bilinmektedir. Ag-TiO<sub>2</sub> kompleksi, diğer nanopartiküllere göre daha etkili olduğu görülmüştür. Araştırmalara göre, Ag-TiO<sub>2</sub> nanopartiküllerinin Leishmania parazitlerinin proliferasyonunu engellediği ve metabolik aktiviteyi inhibe ettiği görülmüştür. Aynı şekilde, TiO<sub>2</sub>.AgNp ve Nigella sativa yağı kombinasyonunun anti-leishmanial etkilerini artırdığı ve toksisiteyi

minimize ettiği belirtilmiştir. Kombinasyon terapisi için diğer örneklerden biri, Poliakrilik asit (PAA) ve Leishmania parazitleri arasındaki etkileşimin incelenmesidir. PAA'nın parazitlerin makrofajlarda NO üretimini artırdığı ve virülans özelliklerini kaybettirdiği görülmüştür. Benzer şekilde, Kafeik asit fenetil ester (KAFE) ve LPG Np kombinasyonunun da anti-leishmanial etkilerini artırdığı ve ciddi bir inhibitör etki sağladığı gözlemlenmiştir. Babassu mesocarp ekstraktının PLGA partiküllerine enkapsüle edilmesiyle elde edilen bir çalışmada, anti-leishmanial aktivitenin serbest ekstrakta göre daha yüksek olduğu bulunmuştur. Bu tür çalışmalar, kombinasyon terapisi yaklaşımının Leishmaniasis'e karşı yeni, etkili ve güvenilir tedavi ve aşı yöntemlerinin geliştirilmesinde umut verici olduğunu göstermektedir [109].

### **2.2.1.7 İmmünoterapi**

İmmünoterapi veya biyolojik terapi, hastalıkların tedavi edilmesi amacıyla bağışıklık sisteminin aktive edilmesi veya baskılanması yoluyla yapılan bir tedavi yaklaşımını ifade eder. Bu yöntemde, hastalığın tedavisi için konağın bağışıklık tepkisi ya artırılarak ya da yeniden yönlendirilerek bağışıklık sistemi üzerinde kontrollü bir manipülasyon yapılır. Leishmaniasis tedavisi için immünoterapi çalışmaları, hastalığa karşı verilen bağışıklık yanıtının değiştirilmesi amacıyla özel olarak formüle edilen Leishmania antijenleri veya immunomodülatör ajanların kullanımını içerir. Bu tür tedavilerde genellikle Leishmania parazitlerine özgü antijenler, rekombinant sitokinler veya antikorlar kullanılabilir. Aynı zamanda temel immün düzenleyici yolları modüle eden moleküller de terapötik amaçlarla kullanılabilir. Bu yaklaşımın amacı, bağışıklık sisteminin Leishmania enfeksiyonuna etkin biçimde yanıt vermesini sağlamaktır. Bu tür immünoterapi çalışmaları, hastalığın tedavisi için mevcut yöntemlere alternatif olarak geliştirilmekte ve gelecekte daha etkili ve özelleştirilmiş tedavi seçenekleri sunma potansiyeline sahiptir [109].

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu bölümde; *Leishmania tropica* promastigotları üzerine çay ağacı yağının antileishmanial etkisini araştırmak amacıyla kullandığımız gereç ve yöntemler sunulmuştur. Çalışmamızda kullandığımız *L. tropica* suşu (MHOM/AZ/1974/SAF-K27) Manisa Celal Bayar Üniversitesi Parazitoloji Anabilim dalından temin edilmiştir. Uygun saklama koşullarında ve aksenik olarak hazırlanmış *Leishmania*'lar, hücre kültürü şişelerinde Anabilim dalımıza ulaştıktan sonra pasajlanmış ve çalışmaya alınana kadar 26<sup>0</sup>C de inkübe edilmiştir. Deneysel çalışmalarda da CellTiter-Glo® Luminescent Cell Viability kiti (Promega Corporation, USA, Cat#G7570) kullanılmıştır. Mikroplak okuyucusu olarak Varioskan Thermo Usa kullanılmıştır.

#### 3.1 *M. alternifolia* Bitkisinin Uçucu Yağı ve *L.tropica* Promastigotları

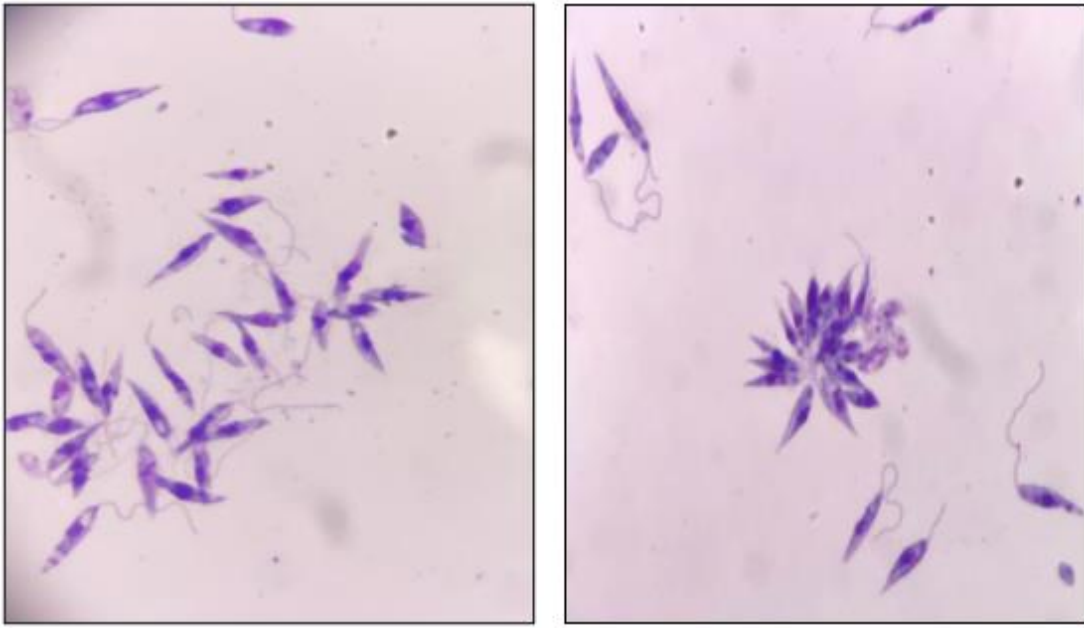
##### 3.1.1 *M. alternifolia* yağının elde edilmesi

Çay ağacı bitkisinin yapraklarından buhar distilasyonu yöntemiyle elde edilmiş olan uçucu yağ (Bâde Natural Püre Essential Oils, DEM Group Bilişim San. ve Tic. A.Ş.) kullanılmıştır. Bitki ülkemizde yetişmediğinden özüt ya da yağının elde edilmesi mümkün olmamış onun yerine ülkemizde yağın üretimini yapan yukarıdaki firmadan izin alınarak deposundan temin edilmiştir. Çalışmaya alınmadan önce planlanan titreler hazırlanarak çalışmaya alınmıştır.

##### 3.1.2 *Leishmania tropica* kültürü ve besiyeri

Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı parazit bankasından temin edilen *Leishmania tropica* (MHOM/AZ/1974/SAF-K27) suşu kullanılmıştır. *Leishmania*'lar RPMI-1640 besiyerinde üretilerek logaritmik fazda çalışmaya alınmıştır. Çalışmaya alınmadan önce Thoma lamında sayımları yapılmış ve 1x10<sup>5</sup> promastigot/ml olacak şekilde hazırlanmıştır. Şekil 3.1'de RPMI-1640 besiyerinde üreyen promastigotların May Grünvald ile boyanmış preparatlarındaki görünümü yer almaktadır.

Çalışmamızda çay ağacı uçucu yağının *L.tropica* promastigotlarının canlılıkları üzerine etkisinin incelenmesi amacıyla kullandığımız CellTiter-Glo® Luminescent Cell Viability kiti ile canlı leishmania promastigotlarının ürettikleri ATP miktarının ölçümü esasına dayalı olarak belirlenmektedir. Luminometrik ölçümlerle elde edilen ATP miktarı ne kadar çok ise canlılık yüzdesi o kadar fazla, tam tersi durumda da mikoplak godelerinde her bir gödenin luminometrede ölçülen optik dansitesi ne kadar düşük ise ATP miktarının az olduğu dolayısı ile ölü hücre oranının yüksek olduğu esasına dayanmaktadır.



**Şekil 3.1:** RPMI-1640 besiyerinde üretilen *L.tropica* promastigotlarının May Grünwald boyası ile boyanmış şeklinin 40x büyütmelerindeki görünümü.

### 3.1.3 CellTiter-Glo® Luminescent Cell Viability kiti

#### 3.1.3.1 Kitin reaktiflerinin hazırlanması

- 1) CellTiter-Glo® tamponu çözülüp kullanımdan önce oda sıcaklığında tutulmalıdır. Kolaylık sağlanması için kullanımdan önce 48 saate kadar oda sıcaklığında saklanabilmektedir.
- 2) Liyofilize CellTiter-Glo® Substratı kullanımdan önce oda sıcaklığında tutulur.
- 3) Liyofilize enzim/substrat karışımını yeniden oluşturmak için CellTiter-Glo Substrat içeren şişeye aktarılır. Bu, CellTiter-Glo® Reaktifini oluşturur.

4) Homojen bir çözelti elde edene kadar yavaşça vorteksleyerek karıştırılır.

### 3.1.3.2.Hücre canlılığı analizi

1. İlk sayımları Thoma lamında yapıldı ve  $1.10^5$  promastigot/ml olarak belirlenen *L. tropica* promastigotlarını içeren RPMI-1640 besiyerinden mikropklara dağıtım yapıldı. Promastigotların son derece aktif olduğu ve besiyerinde sayılarının arttığı faz gözlenerek çalışmaya alınması için uygun olduğuna karar verildi. Kontrol kuyucuğuna sadece besiyeri konuldu. Aktif hücrelerin varlığını gösteren ATP miktarını temel alarak, kültürdeki canlı hücre sayısını belirlemek için homojen bir yöntem sağlamaktadır.

### 3.1.4 Araştırmanın Yöntemi

Çalışmamızda buhar distilasyon yöntemiyle *Melaleuca alternifolia* (*M. alternifolia*) bitkisinin yapraklarından elde edilen uçucu yağ üretici firmadan sağlanarak kullanılmıştır. RPMI 1640 besiyerinde üretilen *Leishmania tropica* (MHOM/AZ/1974/SAF-K27) suşu  $1.10^5$ promastigot /ml olacak şekilde Thoma lamında sayılarak deneye alınmıştır.

1. TTO esansiyel yağının 1/1'den 1/256 ya kadar sulandırmaları %0.1'lik DMSO'da yapıldı. Deney planına göre mikropklaktaki yerlerine dağıtıldı.
2. Sayımı yapılmış olan ve RPMI-1640 besiyeri içinde bulunan ( $1.10^5$  promastigot/ml) *L. tropica* promastigotları deney setine uygun olarak 96 godeli mikropklara her bir godeye 100 er µl dağıtıldı. Kontrol kuyucuğuna sadece besiyeri kondu.
3. Deney setinin hazırlığına göre, ilgili godelere hazırlanan reagen (CellTiter-Glo Reagent) 100 er µl dağıtıldı.
4. Hücre lizisini tetiklemek için mikropklar çalkalayıcıda iki dakika boyunca karıştırıldı.
5. Lüminesans sinyalini stabilize etmek için plakların oda sıcaklığında 10 dakika inkübasyonu sağlandı.
6. Kit prosedürlerine uygun olarak optik dansiteler elde edildi.
7. 30.,60., 90. ve 120. dakikalarda luminometrik olarak canlı hücre sayımları ayrı ayrı gerçekleştirilmiştir.

8. Deneý üç kez tekrarlanmıřtır.

Deneý setinin mikroplaklardaki görünümü ařađıda Őekil 3.2 de gösterilmiřtir.

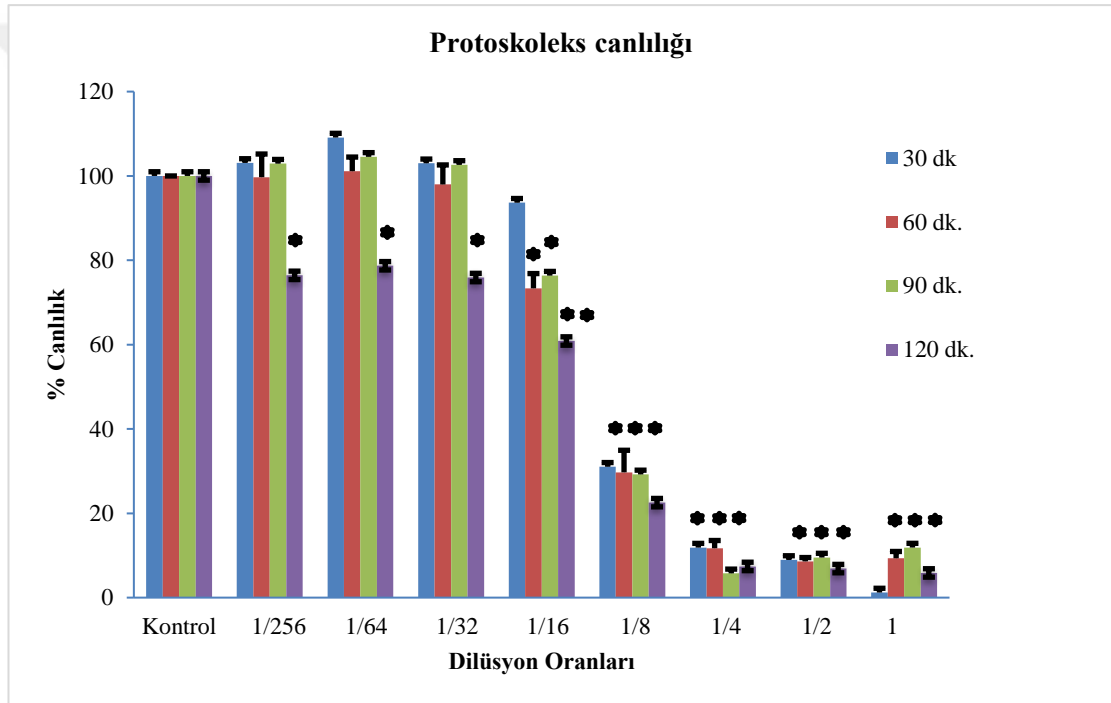


Şekil 3.2: Çalışmaya alınan mikroplak ve reagenler.

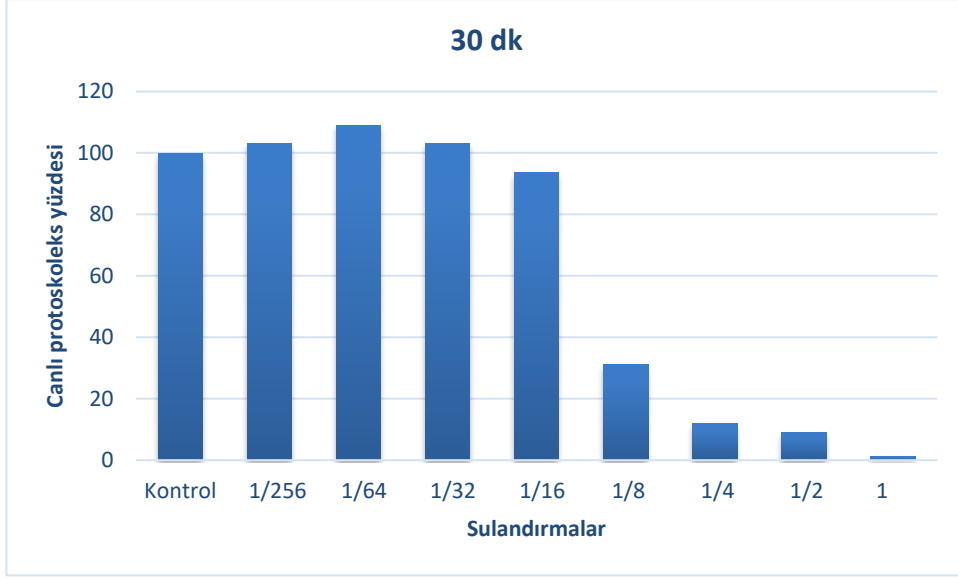
#### 4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Luminometrik ölçümler sonucunda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında çay ağacı uçucu yağının doğrudan kullanımında (1/1sulandırma) 30. dakikadan itibaren *L. tropica* promastigotları üzerine oldukça etkili olduğu belirlenmiştir. 1/1 ½, ¼, sulandırmalarda promastigotların kontrol grubuna göre 30, 60, 90 ve 120. dakikalarda %90 etkili olduğu saptanırken 1/8 sulandırmada %70, 1/16, 1/32, 1/64 ve 1/256 sulandırmalarda ise kontrole yakın canlılık yüzdesi belirlenmiştir.

Çay ağacı uçucu yağının farklı sulandırma ve sürelerde *L.tropica* promastigotlarının canlılıkları üzerine etkisi Şekil 4.1’de incelenmiştir.

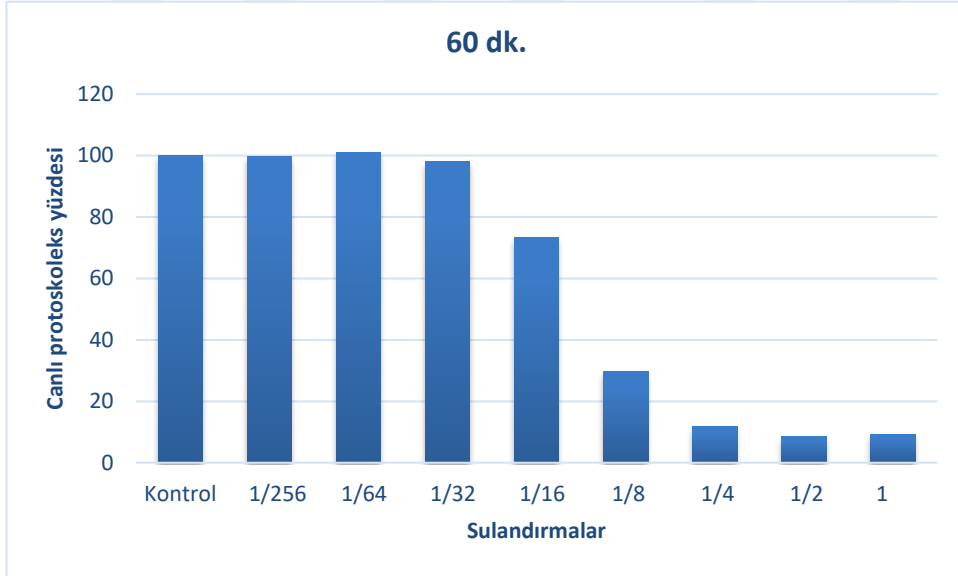


**Şekil 4.1:** Çay ağacı uçucu yağının farklı sulandırma ve sürelerde *L.tropica* promastigotlarının canlılıkları üzerine etkisi



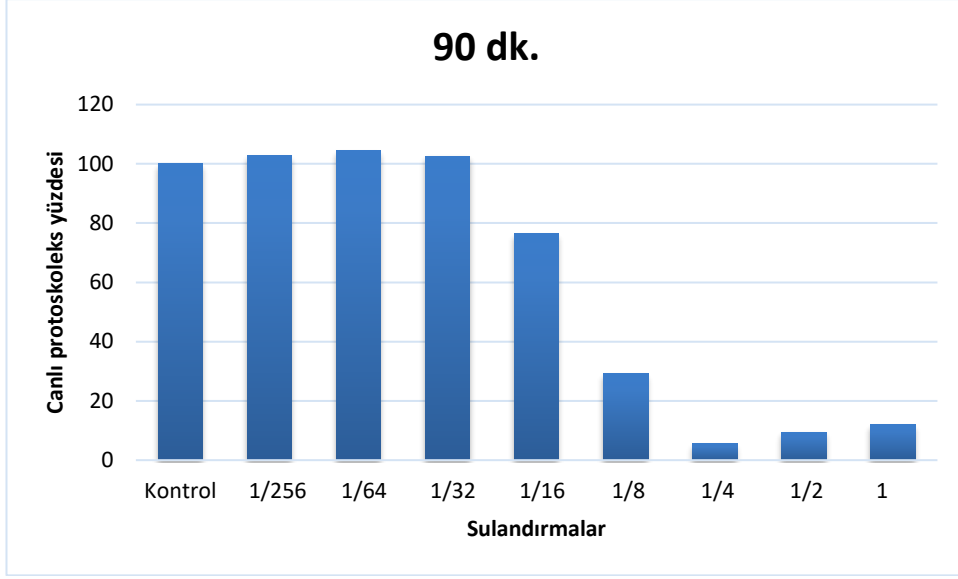
**Şekil 4.2:** Çay ağacı uçucu yağının 30. dakikada farklı sulandırmalardaki ATP oranlarına göre saptanan *L. tropica* promastigot canlılık oranları.

30. dakikada, kontrole göre, 1/1, 1/2, 1/4 ve 1/8 sulandırmalarda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bir farklılık saptanmıştır ( $p < 0,05$ ).

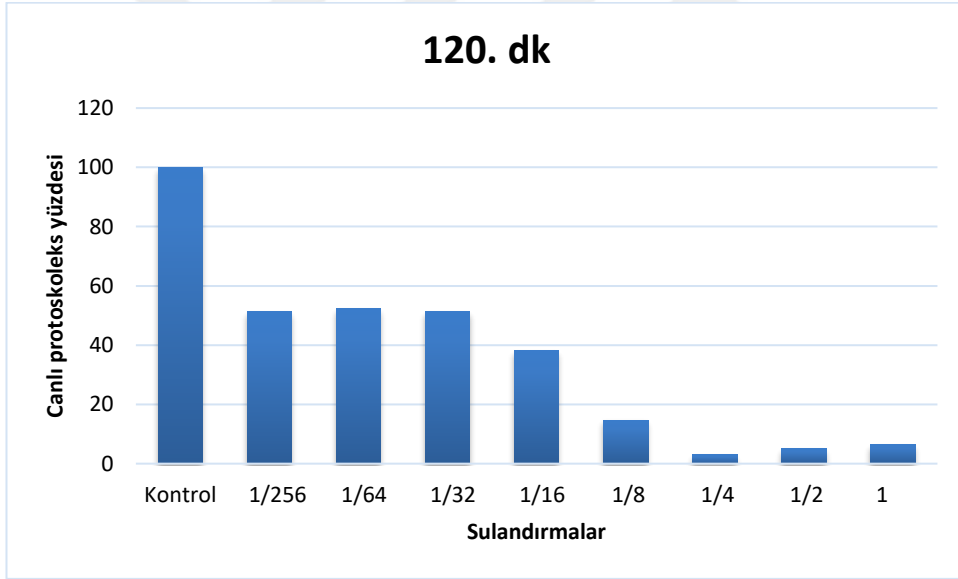


**Şekil 4.3:** Çay ağacı uçucu yağının 60. dakikada farklı sulandırmalardaki ATP oranlarına göre saptanan *L. tropica* promastigot canlılık oranları.

Aynı şekilde 60.ve 90. dakikada, kontrole göre, 1/1, 1/2, 1/4 ve 1/8 sulandırmalarda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bir farklılık saptanmıştır ( $p < 0,05$ ).



**Şekil 4.4:** Çay ağacı uçucu yağının 90. dakikada farklı sulandırmalardaki ATP oranlarına göre saptanan *L. tropica* promastigot canlılık oranları.



**Şekil 4.5:** Çay ağacı uçucu yağının 120. dakikada farklı sulandırmalardaki ATP oranlarına göre saptanan *L. tropica* promastigot canlılık oranları.

120. dakikada, kontrole göre, tüm sulandırmalarda istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bir farklılık saptanmıştır ( $p < 0,05$ ).

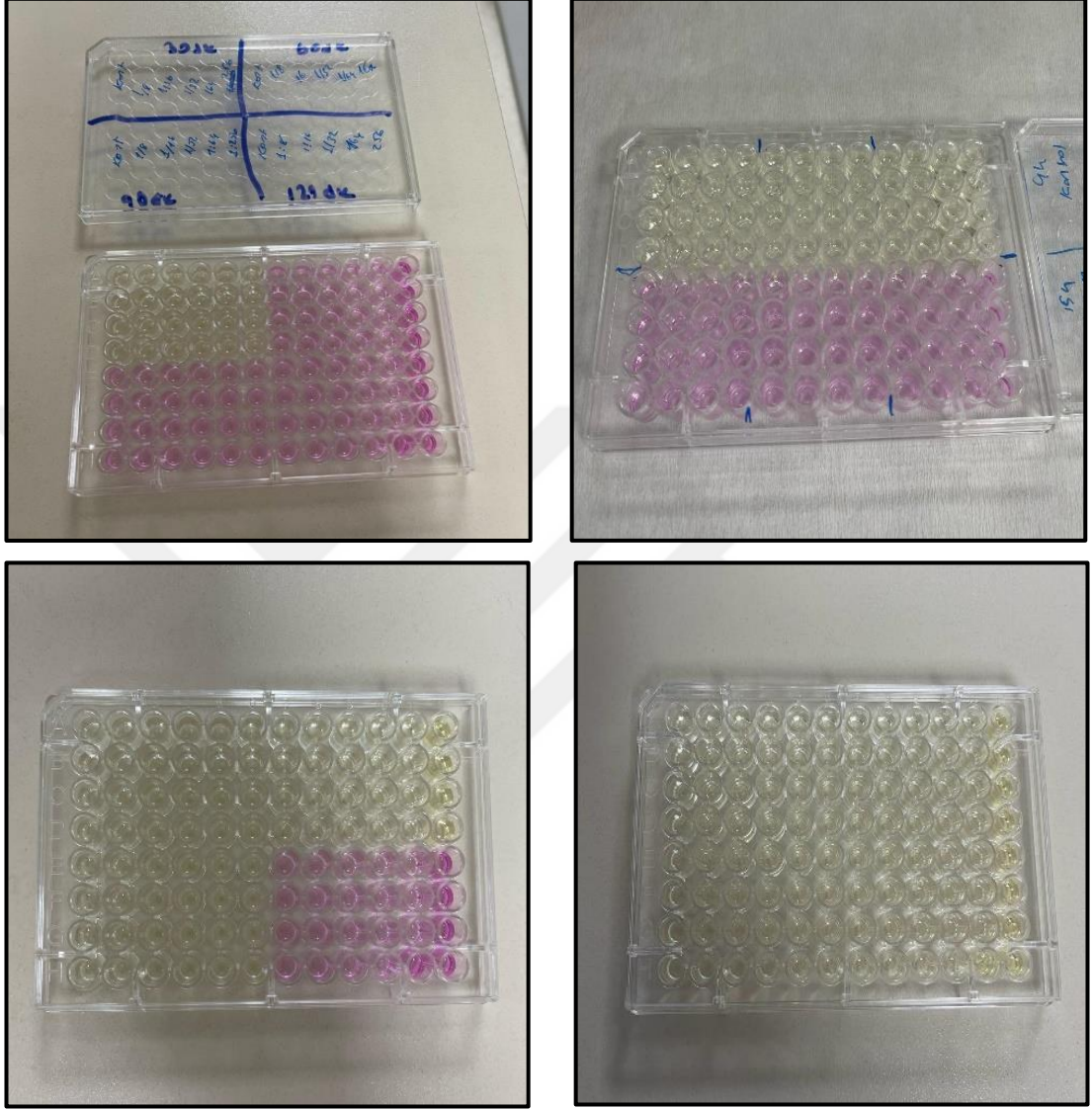
Mann-Whitney U Test ile yapılan değerlendirmelerde kontrol grubuna göre farklı sulandırmalarda ve zamanlarda elde edilen değerler ve p değerleri aşağıda sunulmuştur.

**Tablo 4.1: Sulandırmalar ve zamana göre p değerleri**

Sulandırma		Dakika30	Dakika60	Dakika90	Dakika120
1/1	Mann-Whitney U	0,000	0,000	0,000	0,000
	Wilcoxon W	10,000	10,000	10,000	10,000
	Z	-2,460	-2,460	-2,460	-2,460
	<b>p</b>	<b>0,029</b>	<b>0,029</b>	<b>0,029</b>	<b>0,029</b>
1/2	Mann-Whitney U	0,000	0,000	0,000	0,000
	Wilcoxon W	10,000	10,000	10,000	10,000
	Z	-2,460	-2,460	-2,460	-2,460
	<b>p</b>	<b>0,029</b>	<b>0,029</b>	<b>0,029</b>	<b>0,029</b>
1/4	Mann-Whitney U	0,000	0,000	0,000	0,000
	Wilcoxon W	10,000	10,000	10,000	10,000
	Z	-2,460	-2,460	-2,460	-2,460
	<b>p</b>	<b>0,029</b>	<b>0,029</b>	<b>0,029</b>	<b>0,029</b>
1/8	Mann-Whitney U	0,000	0,000	0,000	0,000
	Wilcoxon W	10,000	10,000	10,000	10,000
	Z	-2,460	-2,460	-2,460	-2,460
	<b>p</b>	<b>0,029</b>	<b>0,029</b>	<b>0,029</b>	<b>0,029</b>
1/16	Mann-Whitney U	0,000	0,000	0,000	0,000
	Wilcoxon W	10,000	10,000	10,000	10,000
	Z	-2,460	-2,460	-2,460	-2,460
	<b>p</b>	<b>0,029</b>	<b>0,029</b>	<b>0,029</b>	<b>0,029</b>
1/32	Mann-Whitney U	4,000	4,000	4,000	0,000
	Wilcoxon W	14,000	14,000	14,000	10,000
	Z	-1,230	-1,230	-1,230	-2,460
	<b>p</b>	<b>0,343</b>	<b>0,343</b>	<b>0,343</b>	<b>0,029</b>
1/64	Mann-Whitney U	0,000	4,000	0,000	4,000
	Wilcoxon W	10,000	14,000	10,000	14,000
	Z	-2,460	-1,230	-2,460	-1,230
	<b>p</b>	<b>0,029</b>	<b>0,343</b>	<b>0,029</b>	<b>0,343</b>
1/256	Mann-Whitney U	4,000	8,000	4,000	8,000
	Wilcoxon W	14,000	18,000	14,000	18,000
	Z	-1,230	0,000	-1,230	0,000
	<b>p</b>	<b>0,343</b>	<b>1,000</b>	<b>0,343</b>	<b>1,000</b>

İstatistiksel değerlendirmelerden de gözlenebileceği gibi 1/16 sulandırmaya kadar tüm zamanlarda etkililik saptanırken, 1/32 sulandırmada 120. dakikada anlamlı bir fark

saptanmış, 1/64 sulandırmada 90. dakikada anlamlı bir farklılık saptandığı gözlenmiştir.



Şekil 4.6: Deney düzeneğinde 30., 60., 90. ve 120 dakika sonraki işlem akışları.

## 5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

*Melaleuca alternifolia*, yaygın olarak çay ağacı olarak bilinen bir bitkidir. Çay ağacı yağı, günümüzde birçok kozmetik ürün üretiminde, akne, geçmeyen yaralar ve enfeksiyonların tedavisinde kullanılır. Buna rağmen antileishmanial etkisi üzerine çalışmalar sınırlıdır. *M. alternifolia* yağı üzerine yapılan literatür taramalarında, özellikle *L. tropica*'ya karşı antileishmanial etkisi hakkında sınırlı sayıda çalışma olduğu görülmüştür. Diğer bir yönden Leishmania'nın mevcut tedavi uygulamaları (sodyum stiboglukonat, amfoterasin B, miltefosin, paromomisin vb.) tedavi yöntemleri yaygın direnç ve nüks ile güvensiz hale gelmektedir (WHO, 2019). Bu durum Suriye'den göçler nedeniyle Türkiye'de artış gösteren Şark Çıbanı vakalarını ölümcül hale getirmektedir. Bildirilen neredeyse 1 milyon yeni vaka, sınırlı tedavi yöntemine sahip bu hastalığın direnç gelişimini önleyebilecek yeni ve etkili ilaç arayışına sürüklemiştir. Dolayısıyla bu konuda yapılan çalışmalar hayati önem taşımaktadır.

Bu araştırmanın amacı, deride enfeksiyon oluşturan ve ülkemizde gittikçe yaygınlaşan Şark Çıbanı etkeni *L. tropica*'ya karşı çay ağacı yağının antileishmanial etkisini incelemektir. Çay ağacı yağı, farklı konsantrasyonlarda *L. tropica* promastigotlarına uygulanmış ve antileishmanial etkisi canlı ve/veya ölü promastigotların üretebildikleri ATP düzeylerinin ölçümleri ile değerlendirilmiştir.

Araştırma bulguları çay ağacı yağının *L. tropica*'ya karşı etkili bir tedavi seçeneği olabileceğini göstermektedir. Çay ağacı yağında bulunan ve antioksidan özellik taşıyan fenolik bileşiklerin düşük dozlarda çok az miktarda proliferasyon yapmaktadır. DNA hasarı olmadığından daha hızlı çoğalan hücreler sebebiyle gerçekleşen proliferasyon daha yüksek dozlarda proksidan etki yaratmaktadır. Dolayısıyla fenolik bileşiklerin düşük dozlarda antioksidan, yüksek dozlarda pro-oksidan etkilerinin olduğu gözlemlenmiştir. LD50 dozunun 1/8 sulandırmanın biraz üzerinde etkili bulunduğu gözlemlenmiştir. Nitekim çalışmamızda çay ağacı etken maddesinin *L. tropica* promastigotları üzerine antileishmanial etkinliği 30., 60., 90., 120. dakikalarda değerlendirildiğinde LD50 değerleri sürelerle karşılaştırıldığında ortalama 1/16 sulandırma olarak belirlenmiştir.

Türkçe alanyazında saptanmamasına rağmen yabancı literatürde *Melaleuca alternifolia* ve Leishmaniasis konularını içeren sınırlı araştırma mevcuttur.

Byahatti vd. [121] *Melaleuca alternifolia* bitkisinin lösemi kanser hücreleri üzerinde öldürücü etki gösterdiğini in vitro olarak göstermiştir. Mikus [66] farklı esansiyel yağların ve izole edilmiş mono- ve seskiterpenlerin, *Trypanosoma brucei*'nin kan dolaşımı formları, *Leishmania major*'un promastigotları ve insan HL-60 hücrelerinin canlılığı üzerindeki etkisini Almar Blue testi kullanarak değerlendirmiştir. İncelenen 12 esansiyel yağdan ve 8 terpenden sadece üçü, *Melissa officinalis* (balsam nane) yağı, *Thymus vulgaris* (kekik) yağı ve *Melaleuca alternifolia* (çay ağacı) yağı, *T. brucei*'nin kan dolaşımı formlarına karşı insan HL-60 hücrelerine göre yaklaşık 50 kat ve 80 kat daha toksik olarak bulunmuştur. Avustralya çay ağacı yağının ana bileşeni olan Terpinen-4-ol, insan hücrelerine göre tripanozomlara karşı 1000 kat daha öldürücü saptanmıştır.

Carson vd. [1]'nin belirttiği gibi, TTO ana bileşeni %40 oranında terpinen-4-ol'dür. Bunu y-terpinen izlemektedir. Bu nedenle bu iki bileşenin in vitro ve in vivo olarak tripomastigot sayısını azaltmaktan sorumlu olduğuna inanılmaktadır. Trypanosomlar üzerine yapılan diğer çalışmalarda da benzer şekilde TTO'nun antiprotozoal aktivitesi rapor edilmiştir [66, 67]. Başka bir çalışmada TTO'nun 300 mg/mL konsantrasyonda *Trichomonas vaginalis*'i in vitro olarak öldürdüğü bildirilmiştir [122]. Benzeri çalışmalarda daha önce bildirilen antiprotozoal aktiviteye ek olarak, terpinen-4-ol ayrıca antibakteriyel, antifungal ve antiviral ajan olarak da araştırılmış ve etkili bulunmuştur [44, 123, 124].

Diğer bir yönden *Leishmania* spp. üzerine başka bitki özüt ve uçucu yağlarının kullanıldığı çalışmalar da mevcuttur. Ceylan (2023) tarafından gerçekleştirilen araştırmada, hiperisin etken maddesinin *L. tropica* üzerine in vitro ve ex vivo antileishmanial etkinliği incelenmiştir. İn vitro çalışmalarda, hiperisin *L. tropica* promastigotlarına karşı CellTiter-glo ve hemositometri yöntemleri ile test edilmiş ve IC50 değerleri belirlenmiştir. Ex vivo çalışmalarda ise, Giemsa boyama yöntemi kullanılarak *L. tropica* amastigotlarına karşı EC50 değerleri hesaplanmıştır. Hiperisinin, 24, 48 ve 72 saatlerdeki CC50 değerleri sırasıyla 40.37, 37.69 ve 30.03 µmol olarak bulunmuştur. *L. tropica* promastigotları üzerindeki IC50 değerleri 9,761, 9,576 ve 6,994 µmol, amastigotları üzerindeki EC50 değerleri ise 25,23 ve 23,12 µmol olarak saptanmıştır. Seçicilik İndeksi (SI) değerleri  $\geq 1$ 'den büyük olarak hesaplanmıştır. Ayrıca, *L. tropica* ile enfekte THP-1 makrofaj hücrelerinde apoptoz mekanizmasında yer alan 88 genin ekspresyon seviyeleri qPCR ile araştırılmıştır.

Sonuçlar, hiperisin uygulamasının gen ekspresyon seviyelerinde değişikliklere neden olduğunu ve parazitin konak hücrenin apoptoz mekanizmasından kaçışını engelleyebileceğini göstermiştir.

Sayar [91] çörek otu tohumunun (*Nigella sativa*) *L. tropica* üzerindeki etkisini araştırmıştır. Çalışmanın amacı, çörek otu tohumlarından elde edilen farklı ekstrelerin in vitro anti-leishmanial etkisini belirlemektir. Metanol, etanol, kloroform, su, n-hekzan ve %60'lık sulu etanol kullanılarak çalkalamalı maserasyon tekniği ile ekstreler hazırlanmıştır. Bu ekstreler, MHOM/TR/2012/CBCL-LT kodlu *L. tropica* izolatına karşı test edilmiştir. Çalışmada elde edilen IC50 değerleri metanol, n-hekzan, kloroform, su, etanol ve %60'lık sulu etanol ekstreleri için sırasıyla 172.4, 355.5, 400.3, 673.3, 818.4 ve 1148 µg/ml olarak bulunmuştur. Sonuç olarak, *Nigella sativa* tohumlarının in vitro ortamda *L. tropica*'ya karşı antileishmanial aktivite gösterdiği saptanmıştır. Çörek otu tohumları, gelecekte yapılacak in vivo antileishmanial çalışmalar ile desteklenirse tedavide kullanılma potansiyeli yüksek olan doğal bir kaynak olarak değerlendirilebilir yorumu yapılmıştır.

Al-Maryani [125] çalışmasında, bazı toprak bakterilerinin hücre kültüründen süpernatant içermeyen gümüş nanopartiküllerin (AgNP) sentezi araştırılmıştır. Çalışmada kullanılan üç bakteri türü; *Pseudomonas aeruginosa* (suşu ALK320), *Bacillus cereus* (suşu HNB5) ve *Corynebacterium striatum* (suşu 1910I14), polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile izole edilmiş ve türleri doğrulamak için NCBI veritabanı ile hizalanmıştır. Bu bakteriler, besin suyunda büyütülerek nanopartikül üretimi gerçekleştirilmiştir. AgNP'lerin üretimi ve doğrulaması için renk değişimi, UV-görünür spektroskopi, TEM, taramalı elektron mikroskopu (SEM) ve EDX gibi birçok yöntem kullanılmıştır. *L. tropica*'yı tanımlamak için ise PCR yöntemiyle 18sRNA geninin spesifik primerleri kullanılmıştır. Elde edilen diziler BLAST ile NCBI'da karşılaştırıldığında %100 *L. tropica* ile eşleşme göstermiştir. Ekstraselüler AgNP'lerin antileishmanial aktivitesi, *P. aeruginosa*, *B. cereus* ve *C. striatum* kullanılarak sentezlenen AgNP'lerin 400 µL/mL'de %64,72 büyüme inhibisyonu ile kaydedilmiştir. MTT tahlili sonuçları da AgNP'lerin güçlü antiparaziter aktivitesini ortaya koymuştur.

Gülşen [126] araştırmasında, *Xenorhabdus* ve *Photorhabdus* türlerine ait bakteri sekonder metabolitlerinin insan protozoan parazitleri *Acanthamoeba castellanii* ve *L. tropica*'ya karşı biyoaktivitesi üzerinde yoğunlaşmıştır. Çalışmada 5 *Photorhabdus* ve 22 *Xenorhabdus* bakteri türü kullanılmıştır. Biyoaktivite deneyleri yabancı tip

özellikleriyle ortaya çıkarıldıktan sonra, türlerin promotor bölgesinin mutant özelliklerini gösteren en yüksek aktiviteyi elde edilmiştir. Bu mutant bakteriler, özel olarak tek bir sekonder metabolitin üretilmesinden sorumludur. Mutant bakterilerle yapılan biyoaktivite deneylerinde antiprotozoal etkiden sorumlu maddeler tespit edilmiş ve XAD reçinesi yöntemiyle saflaştırılmıştır. Bulgulara göre, *Photorhabdus* türlerinde antiprotozoal aktivite gözlenmemiştir, ancak bazı *Xenorhabdus* türlerinde yüksek antiprotozoal etki tespit edilmiştir. Mutant bakterilerle kontrol edilen sonuçlar, etkenin biyoaktiviteden sorumlu sınıflandırılması fabclavinler, ksenocoumacinler ve PAX peptidleri olarak belirlenmiştir.

Yıldırım [127] çalışmasında, Türkiye’de ilk kez *ex vivo* kültür yöntemiyle üretilen *T. cruzi*’nin yanı sıra, *L. tropica* ve *T. gondii* parazitlerinin J774, Vero ve HeLa hücre hatlarında virulans özelliklerini kaybetmeden kısa sürede çoğaltılması ve bu parazitler üzerinde auranofinin antiparaziter etkinliğinin araştırılmasını amaçlamıştır. Sıvı azotta saklanan hücreler kullanılarak *ex vivo* kültürasyonu yapılmış ve ardışık 3 pasaj sonrasında Giemsa boyalı preparatlar hazırlanarak enfeksiyon oranları mikroskopla değerlendirilmiştir. Auranofinin *in vitro* ilaç etkinliği hemositometri ve celltiter-glo yöntemleriyle, *ex vivo* etkinliği ise Giemsa boyalı preparatların mikroskopik incelenmesiyle araştırılmıştır. MTT testi ile auranofinin sitotoksik aktivitesi incelenmiştir. Sonuçlar, *T. cruzi* ve *L. tropica* suşlarının en iyi ürettiği hücre hatlarının sırasıyla J774, Vero ve HeLa; *T. gondii* suşunun ise HeLa, J774 ve Vero olduğunu göstermiştir. Auranofinin verilere göre sitotoksik aktivite göstermediği ve tüm parazitler üzerinde antiparaziter aktivite gösterdiği istatistiksel olarak da anlamlı farklar bulunarak gösterilmiştir.

Babat [128] çalışmasında, giderek artan ilaç direncine karşı leishmaniasis tedavisinde bitki kaynaklı bileşiklerin potansiyel antileishmanial etkilerini araştırmayı hedeflemiştir. Bu bağlamda, Şırnak kırsalından toplanan *Prangos ferulacea* ve *Ferula orientalis* bitki ekstraktlarının *Leishmania tropica*’ya karşı antileishmanial etkisi incelenmiştir. *P. ferulaceae* ve *F. orientalis* bitkilerinden elde edilen ekstraktların sitotoksik aktiviteleri test edilmiştir. Türkiye’den elde edilen *L. tropica* izolatu NNN ve RPMI 1640 besiyerlerinde üretilerek, XTT kiti ve hemositometre yöntemi ile ekstraktların antileishmanial etkinlikleri değerlendirilmiştir. Bulgular, parazitlerin %100’ünü inhibe eden 1 mg/mL’nin altındaki konsantrasyonlarda, *P. ferulaceae*’nin kök ve meyve kloroform ekstraktları ile *F. orientalis*’in kök ve meyve etanol

ekstrelerinin yanı sıra gövde ve meyve kloroform ekstralarının antileishmanial aktivite gösterdiğini, diğer ekstraların ise zayıf antileishmanial aktivite sergilediğini ortaya koymuştur. Sonuç olarak, *P. ferulaceae* kök etanol ekstresi ve meyve kloroform ekstresi en etkili iki ilaç adayı olarak belirlenmiş ve sadece *P. ferulaceae* kök etanol ekstresinin sitotoksik aktivite gösterdiği saptanmıştır.

Aksoy [129] çalışmasında, *L. tropica*'nın yol açtığı kutanöz leishmaniasise karşı arı ürünlerinin (bal, propolis ve arı sütü) antileishmanial etkilerini in vitro hücre kültüründe araştırmıştır. Bu amaçla, çeşitli konsantrasyonlarda hazırlanmış bal (çam, çiçek ve kestane), propolis ve arı sütü, parazit sayımı yapılmış hücre kültür ortamına eklenmiş ve kültürler 24 ve 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. MTS yöntemi ile promastigotların morfolojisi, hareketliliği ve canlı parazit yoğunluğu incelenmiştir. 48. saatte mikroskopik incelemelerde, çam balı 62,5 mg/ml, çiçek balı 250 mg/ml ve kestane balı 125 mg/ml konsantrasyonlarından itibaren antileishmanial etkinlik gösterdiği; çam balının promastigotlar üzerinde daha etkin olduğu gözlemlenmiştir. Arı sütünün 62,5 mg/ml ve propolisin 97,65 µg/ml konsantrasyonundan itibaren etkili olduğu, propolisin özellikle düşük konsantrasyonlarda parazitlerin morfolojik yapılarında değişmelere neden olarak diğer arı ürünlerinden daha etkin olduğu belirlenmiştir. Arı ürünlerinin, hücre çoğalmasını engellediği ve LD50 değerlerinin zamana bağlı olarak azaldığı tespit edilmiştir. Çam balının 48 saatlik inkübasyon sonunda daha etkili olduğu ve propolisin düşük konsantrasyonlarda dahi parazitler üzerinde daha etkin olduğu gözlemlenmiştir.

Abamor [130] çalışmasında, *L. tropica*'ya karşı nanopartikül-glukantim ve nanopartikül-Nigella sativa yağ kombinasyonlarının etkisini incelemiştir. Önceki çalışması [131], antimikrobiyal özellikli gümüş iyonları ve reaktif oksijen türleri (ROS) üreten TiAgNp'nin yüksek antileishmanial aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir, ancak bu nanopartiküller hücreler üzerinde sitotoksik etki gösterdiğinden tek başına kullanımı mümkün değildir. Bu nedenle, nanopartiküllerin ve bitkisel yağların kombinasyonu, Leishmaniasis tedavisinde potansiyel bir çözüm sunmaktadır. Bu çalışmada, TiAgNp'nin glukantim ve N. sativa yağlarıyla kombinasyonları hazırlanmış ve bu kombinasyonların *L. tropica* promastigotları ve amastigot-makrofaj kültürlerinde antileishmanial etkinlikleri in vitro ve in vivo olarak incelenmiştir. Kombinasyonların etkileri, hücrelerin metabolik aktiviteleri, proliferasyonları ve canlılıkları gibi parametrelerle değerlendirilmiştir. Ayrıca, enfekte makrofajların

ürettikleri nitrik oksit (NO) miktarı da ölçülmüştür. Sonuçlar, TiAgNp-glukantim kombinasyonunun *L. tropica* promastigotlarının proliferasyonunu ve metabolik aktivitesini önemli ölçüde azalttığını, hücreleri apoptoza sürüklediğini ve enfekte makrofajların enfeksiyon indeksinde büyük düşüslere neden olduğunu göstermiştir. Benzer şekilde, TiAgNp-N. sativa yağ kombinasyonu da promastigotların ve amastigotların metabolik aktivitelerini ve canlılıklarını azaltmış, NO üretimini artırmıştır. In vivo çalışmalar, bu kombinasyonların farelerde Leishmaniasis'e özgü lezyonların iyileşmesini ve şişliklerin azalmasını sağladığını göstermiştir.

Albayrak [132] tarafından yapılan bir çalışmada, *L. tropica* tarafından oluşturulan kütanöz leishmaniasis üzerine odaklanılmıştır. Bu çalışmada, bal arıları tarafından bitkilerden toplanan ve kovanlarda birçok amaç için kullanılan propolisin, *L. tropica*'ya karşı antileishmanial aktivitesi incelenmiştir. Propolis, son zamanlarda araştırmacıların ilgisini çeken çeşitli biyolojik aktivitelere sahip doğal bir üründür. Bu çalışmada, Kayseri'den toplanan propolisin *L. tropica*'ya karşı antileishmanial etkinliği değerlendirilmiş ve sodyum stiboglukonat ile karşılaştırılmıştır. Mikroskopik gözlem ve mikrobroth dilüsyon yöntemi kullanılarak yapılan analizler, propolisin *L. tropica*'yı özellikle 32 µg/ml konsantrasyonundan itibaren inhibe ettiği gösterilmiştir. Ayrıca, propolisin etkisinin, konsantrasyon ve inkübasyon süresi arttıkça arttığı belirlenmiştir. Sodyum stiboglukonat ile propolis etkinliği karşılaştırıldığında, propolisin düşük konsantrasyonlarda bile etkili olduğu tespit edilmiştir. Sonuç olarak, yan etkisi olmayan doğal bir ürün olan propolisin çok düşük konsantrasyonlarda bile *L. tropica*'ya karşı etkili olduğu sonucuna varılmıştır.

Özetle Leishmaniasis, dünya genelinde ve ülkemizde önemli bir halk sağlığı sorunudur. Dünya çapında 350 milyon kişi Leishmaniasis riski altındadır ve hastalık 98 ülkede endemiktir, 12 milyon insan enfekte durumdadır. Hastalığın klinik olarak kütanöz, mukokütanöz ve visseral formları vardır. Türkiye'de visseral ve kütanöz formlar bulunmaktadır ve 20 milyondan fazla insan bu hastalığın tehdidi altındadır. Bölgedeki savaşlar nedeniyle artan göç hareketleri, hastalığın epidemiyolojik durumunu daha da ciddileştirmiştir. Mevcut tedavilerin yüksek toksisiteye ve ilaç direncine neden olduğu bilinmektedir. Özellikle Çukurova Bölgesi'nde kullanılan antimonial ilaçlara karşı direnç gelişmiştir. Ayrıca, Leishmaniasis'e karşı etkili bir aşı geliştirilememiştir. Dolayısıyla, hastalıkla mücadelede yeni yaklaşımların

geliştirilmesi önemlidir. DSÖ, Leishmaniasis ile mücadelede yeni stratejilerin acil olarak geliştirilmesini önermektedir.

Günümüzde, Leishmaniasis tedavisi için sentetik ve bitkisel ilaçlar üzerinde çalışmalar yapılmaktadır. Ancak sentetik ilaçlardan olan pentavalent antimonların tedavideki başarılarını artırmak ve dezavantajlarını gidermek için, diğer antileishmanial ilaçlarla kombinasyon halinde kullanılması önerilmektedir. Kombinasyon terapilerinin avantajı, düşük dozlarda kullanılan ilaçların etkinliklerini artırması ve toksisitelerini azaltmasıdır. Ancak, bazı durumlarda bu kombinasyon tedavileri yeterli sonuçlar vermeyebilir. Antimikrobiyal tedavilerde ilacın hücre içine yeterli miktarda girmesi önemlidir. Bu nedenle, kombinasyon terapilerinin etkinliğini artırmak için ilaçların hücre içine yüksek konsantrasyonlarda girmesi ve yüksek antileishmanial etkiye sahip olması gerekmektedir. Son yıllarda, Leishmaniasis tedavisinde bitkisel yağların kullanımı artmaktadır. Ancak, bitkisel yağların tek başına etkili olmaması ve toksik olması, bu yöntemin etkinliğini sınırlamaktadır. Bu nedenle, nanoteknoloji alanındaki gelişmeler ve nano boyuttaki partiküllerin tıbbi uygulamaları, kemoterapi alanında yeni umutlar sunmaktadır. TiO<sub>2</sub>-Ag nanopartiküllerinin, hücre membranlarının geçirgenliğini bozarak ilaçların hücre içinde birikmesine neden olabileceği düşünülmektedir. Ancak bulgularımız çay ağacı yağının *L. tropica*'ya karşı etkili bir tedavi seçeneği olabileceğini göstermektedir. Ayrıca bu bitkinin uçucu yağının daha önce yapılan çalışmalarda sitotoksitesinin olmadığı, *L. tropica* üzerinde bir çalışmaya rastlanmaması nedeniyle özgün öneme sahip olduğu düşünmekteyiz. Bu çalışmada ayrıca ATP ölçümleri ile canlılık ve ölü hücre tespiti yaparak alandaki gelecek araştırmalara katkı sağlayacak yeni bir yaklaşım sunulmuştur.

## KAYNAKLAR

- [1] **C. Carson, K. Hammer ve T. Riley**, Melaleuca alternifolia (tea tree) oil: a review of antimicrobial and other medicinal properties, *Clin. Microbiol. Rev.*, cilt 19, no. 1, pp. 50-62, 2006.
- [2] **N. Lam, X. Long, X. Su ve F. Lu**, Melaleuca alternifolia (tea tree) oil and its monoterpene constituents in treating protozoan and helminthic infections, *Biomed Pharmacother.*, cilt 130, 2020.
- [3] **N. Pazyar, R. Yaghoobi, N. Bagherani ve A. Kazerouni**, A review of applications of tea tree oil in dermatology, *Int J Dermatol.*, cilt 52, no. 7, pp. 784-790, 2013.
- [4] **M. Bayaz**, Esansiyel Yağlar: Antimikrobiyal, Antioksidan ve Antimutajenik Aktiviteleri, *Akademik Gıda*, cilt 12, no. 3, pp. 45-53, 2014.
- [5] **K. Buğdaycı ve A. Ergün**, The effects of supplemental essential oil and/or probiotic on performance, immun System and someblood parameters in broilers, *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, cilt 58, no. 4, pp. 279-284, 2011.
- [6] **M. Duru**, Liquidambar orientalis var. orientalis ve Liquidambar orientalis var. integriloba Yapraklarından Elde Edilen Uçucu Yağın Analiz, Erzurum: Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 1993.
- [7] **L. Demir**, Çay Ağacı Ve Portakal Yağlarının Antibakteriyel Ve Antifungal Etkinliğinin Araştırılması, Sakarya: Yüksek Lisans Tezi, Sakarya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2019.
- [8] **B. Yollu**, Myrtus Communis (Yabani Mersin) Türünün Farklı Kısımlarında (Yaprak, Meyve Ve Odun) Kimyasal Bileşenlerin Belirlenmesi, İstanbul: Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 2009.
- [9] **P. Alvarez Castellanos ve M. Pascual Villalobos**, Effect of fertilizer on yield and composition of flowerhead essential oil of Chrysanthemum coronarium (Asteraceae) cultivated in Spain, *Industrial Crops and Products*, cilt 17, no. 2, pp. 77-81, 2003.
- [10] **K. Lee, H. Everts ve A. Beynen**, Essential Oils in Broiler Nutrition, *International Journal of Poultry Science*, cilt 31, no. 2, pp. 738-752, 2004.
- [11] **F. Bakkali, S. Averback, D. Averback ve M. Idaomar**, Biological effects of essansial oils- A rewiev, *Food and Chemical Toxicology*, cilt 46, no. 2, pp. 446-475, 2008.
- [12] **A. Kılıç**, Uçucu Yağ Elde Etme Yöntemleri, *Bartın Orman Fakültesi Dergisi*, cilt 10, no. 13, pp. 37-45, 2008.
- [13] **E. Faydaoğlu ve M. Sürücüoğlu**, Tibbi Ve Aromatik Bitkilerin Antimikrobiyal, Antioksidan Aktiviteleri Ve Kullanım Olanakları, *Erzincan*

*University Journal of Science and Technology*, cilt 6, no. 2, pp. 233-265, 2013.

- [14] **K. Hammer, C. Carson ve T. Riley**, Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts, *J Appl Microbiol.*, cilt 86, no. 6, pp. 985-990, 1999.
- [15] **M. Oussalah, S. Caillet ve M. Lacroix**, Mechanism of action of Spanish oregano, Chinese cinnamon, and savory essential oils against cell membranes and walls of *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes*, *J Food Prot.*, cilt 69, no. 5, pp. 1046-1055, 2006.
- [16] **H. Thormar**, *Lipids and Essential Oils as Antimicrobial Agents*, New York: John Wiley & Sons, 2011.
- [17] **S. Tsao ve M. Yin**, In vitro antimicrobial activity of four diallyl sulphides occurring naturally in garlic and Chinese leek oils, *J Med Microbiol.*, cilt 50, no. 7, pp. 646-649, 2001.
- [18] **A. Hayes ve B. Markovic**, Toxicity of Australian essential oil *Backhousia citriodora* (lemonmyrtle). Part 2. Absorption and histopathology following application to human skin, *Food Chem Toxicol.*, cilt 41, no. 10, pp. 1409-1416, 2003.
- [19] **C. Kürekçi ve F. Sakin**, Uçucu Yağlar: Antimikrobiyal Açından Uçucu Yağlar: In-Vitro ve In-Vivo Çalışmalar, *Anim Nutr & Nutr Dis-Special Topics*, cilt 3, no. 1, pp. 15-20, 2017.
- [20] **R. Garcia-Garcia, A. Lopez Malo ve E. Palou**, Bactericidal action of binary and ternary mixtures of carvacrol, thymol, and eugenol against *Listeria innocua*, *J Food Sci.*, cilt 76, no. 2, pp. 95-100, 2011.
- [21] **L. Galvao, V. Furletti, S. Bersan, M. da Cunha, A. Ruiz, J. de Carvalho, A. Sartoratto, V. Rehder, G. Figueira, M. Duarte, M. Ikegaki, S. de Alencar ve P. Rosalen**, Antimicrobial Activity of Essential Oils against *Streptococcus mutans* and their Antiproliferative Effects, *Evid Based Complement Alternat Med.*, p. 12, 2012.
- [22] **S. van Vuuren, Y. Docrat, G. Kamatou ve A. Viljoen**, Essential oil composition and antimicrobial interactions of understudied tea tree species, *South African Journal of Botany*, cilt 92, pp. 7-14, 2014.
- [23] **A. Calcabrini, A. Stringaro, L. Toccaceli, S. Meschini, M. Marra, M. Colone, G. Salvatore, F. Mondello, G. Arancia ve A. Molinari**, Arancia G, Molinari, A. (2004). "Terpinen-4-ol, the main component of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil inhibits the in vitro growth of human melanoma", *J Invest Dermatol.*, cilt 122, no. 2, pp. 349-360, 2004.
- [24] **S. Messenger, K. Hammer, C. Carson ve T. Riley**, Assessment of the antibacterial activity of tea tree oil using the European EN 1276 and EN 12054 standard suspension tests, *J Hosp Infect.*, cilt 59, no. 2, pp. 113-125, 2005.
- [25] **G. Patri ve A. Sahu**, Role of herbal agents - tea tree oil and aloe vera as cavity disinfectant adjuncts in minimally invasive dentistry-an in vivo comparative study, *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, cilt 11, no. 7, pp. 5-9, 2017.
- [26] **C. Carson ve T. Riley**, Antimicrobial activity of the essential oil of *Melaleuca alternifolia*, *Letters in Applied Microbiology*, cilt 16, no. 2, pp. 49-55, 1993.
- [27] **N. Tezgül Çakır, S. Kaleağası ve G. Kökdil**, Tea tree oil: as a promising antimicrobial agent, *Ankara Ecz. Fak. Derg.*, cilt 34, no. 4, pp. 315-327, 2005.

- [28] **Y. Sürme**, Diyabetik Ratlarda Çay Ağacı Yağının Yara İyileşmesine Etkisi, Kayseri: Doktora Tezi, Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2019.
- [29] **J. Brophy, N. Davies, I. Southwell, I. Stiff ve L. Williams**, Gas chromatographic quality control for oil of *Melaleuca terpinen-4-ol* type (Australian tea tree), *J. Agric. Food Chem.*, cilt 37, no. 5, pp. 1330-1335, 1989.
- [30] **S. Cox, C. Mann, J. Markham, J. Gustafson, J. Warmington ve S. Wyllie**, Determining the antimicrobial actions of tea tree oil, *Molecules*, cilt 6, pp. 87-91, 2001.
- [31] **J. Sharifi Rad, B. Salehi, E. Varoni, F. Sharopov, Z. Yousaf, S. Ayatollahi, F. Kobarfard, M. Sharifi Rad, M. Afdjei, M. Sharifi Rad ve M. Iriti**, Plants of the *Melaleuca* genus as antimicrobial agents: From farm to pharmacy, *Phytother. Res.*, cilt 31, pp. 1475-1494, 2017.
- [32] **P. Dettwiller, T. Spelman, C. Carson, R. Davey, J. Thomas, K. Baby, G. Cooper, G. Kyle, M. Naunton, K. Hammer, S. Walton ve G. Peterson**, Therapeutic potential of tea tree oil for scabies, *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, cilt 94, pp. 258-266, 2016.
- [33] **C. Bishop**, Antiviral Activity of the Essential Oil of *Melaleuca alternifolia* (Maiden amp; Betche) Cheel (Tea Tree) Against Tobacco Mosaic Virus, *Journal of Essential oil Research*, cilt 7, no. 6, pp. 641-644, 1995.
- [34] **G. Lin, H. Chen, H. Zhou, X. Zhou ve H. Xu**, Preparation of Tea Tree Oil/Poly(styrene-butyl methacrylate) Microspheres with Sustained Release and Anti-Bacterial Properties, *Materials (Basel)*, cilt 11, no. 5, p. 710, 2018.
- [35] **S. Falci, M. Teixeira, P. das Chagas, B. Martinez, A. Loyola, L. Ferreira ve D. Veiga**, Antimicrobial activity of *Melaleuca* sp. oil against clinical isolates of antibiotics resistant *Staphylococcus aureus*, *Acta Cir Bras.*, cilt 30, no. 6, pp. 401-406, 2015.
- [36] **R. Sailer, T. Berger, J. Reichling ve M. Harkenthal**, Pharmaceutical and medicinal aspects of Australian tea tree oil, *Phytomedicine*, cilt 5, no. 6, pp. 489-495, 1998.
- [37] **A. Penfold ve R. Grant**, The germicidal values of some Australian essential oils and their pure constituents. Together with those for some essential oil isolates, and synthetics. Part III, *J. R. Soc. New South Wales*, cilt 59, pp. 346-349, 1925.
- [38] **A. Penfold ve R. Grant**, The germicidal values of some Australian essential oils and their pure constituents. Together with those for some essential oil isolates, and synthetics. Part II, *J. R. Soc. New South Wales*, cilt 58, pp. 117-123, 1924.
- [39] The germicidal values of the principal commercial *Eucalyptus* oils and their pure constituents, with observations on the value of concentrated disinfectants, *J. R. Soc. New South Wales*, cilt 57, pp. 80-89, 1923.
- [40] **L. Walsh ve J. Longstaff**, The antimicrobial effects of an essential oil on selected oral pathogens, *Periodontology*, cilt 8, pp. 11-15, 1987.
- [41] **D. Low, D. Rawal ve W. Griffin**, Antibacterial action of the essential oils of some Australian Myrtaceae with special references to the activity of chromatographic fractions of oil of *Eucalyptus citriodora*, *Planta Med.*, cilt 26, pp. 184-189, 1974.

- [42] **M. Beylier**, Bacteriostatic activity of some Australian essential oils, *Perfum. Flavourist*, cilt 4, pp. 23-25, 1979.
- [43] **N. Atkinson ve H. Brice**, Antibacterial substances produced by flowering plants, *Australas. J. Exp. Biol.*, cilt 33, pp. 547-554, 1955.
- [44] **L. Banes Marshall, P. Cawley ve C. Phillips**, In vitro activity of Melaleuca alternifolia (tea tree) oil against bacterial and Candida spp. isolates from clinical specimens, *Br J Biomed Sci.*, cilt 58, no. 3, pp. 139-145, 2001.
- [45] **C. Carson, B. Cookson, H. Farrelly ve T. Riley**, Susceptibility of methicillin-resistant Staphylococcus aureus to the essential oil of Melaleuca alternifolia, *J. Antimicrob. Chemother.*, cilt 35, no. 3, pp. 421-424, 1995.
- [46] **R. Nelson**, *J. Antimicrob. Chemother.*, cilt 40, pp. 305-306, 1997.
- [47] **G. Elsom ve D. Hide**, Susceptibility of methicillin-resistant Staphylococcus aureus to tea tree oil and mupirocin, cilt 43, pp. 427-428, 1999.
- [48] **C. Chan ve K. Loudon**, *J. Hosp. Infect.*, cilt 39, pp. 244-245, 1998.
- [49] **J. May, C. Chan, A. King, L. Williams ve G. French**, Time-kill studies of tea tree oils on clinical isolates, *J. Antimicrob. Chemother.*, cilt 45, pp. 639-643, 2000.
- [50] **K. Hammer, L. Dry, M. Johson, E. Michalak, C. Carson ve T. Riley**, Susceptibility of oral bacteria to Melaleuca alternifolia (tea tree) oil in vitro, *Oral Microbiol. Immunol.*, cilt 18, pp. 389-392, 2003.
- [51] **S. Cox, C. Mann ve J. MARKHAM**, Interactions between components of the essential oil of Melaleuca alternifolia, *J. Appl. Microbiol.*, cilt 91, pp. 492-497, 2001.
- [52] **C. Carson, B. Mee ve T. Riley**, Mechanism of action of Melaleuca alternifolia (tea tree) oil on Staphylococcus aureus determined by time-kill, lysis, leakage, and salt tolerance assays and electron microscopy. *Antimicrob. Agents Chemother.*, cilt 48, pp. 1914-1920, 2002.
- [53] **S. Messenger, C. Hammer, F. Carson ve T. Riley**, Effectiveness of hand-cleansing formulations containing tea tree oil assessed ex vivo on human skin and in vivo with volunteers using European standard EN 1499, *J. Hosp. Infect.*, cilt 59, pp. 220-228, 2005.
- [54] **J. Sikkema, J. de Bont ve B. Poolman**, Mechanisms of membrane toxicity of hydrocarbons, *Microbiol. Rev.*, cilt 59, pp. 201-222, 1995.
- [55] **S. Cox, C. Mann, J. MARKHAM, H. Bell, J. Bell, J. Gustafson, J. Warmington ve S. Wyllie**, The mode of antimicrobial action of the essential oil of Melaleuca alternifolia (tea tree oil), *J. Appl. Microbiol.*, cilt 88, pp. 170-175, 2000.
- [56] **I. Southwell, A. Hayes, J. Markham ve D. Leach**, The search for optimally bioactive Australian tea tree oil, *Acta Hort.*, cilt 344, pp. 256-265, 1993.
- [57] **R. Rushton, N. Davis, J. Page ve C. Durkin**, The effect of tea tree oil extract on the growth of fungi, *Lower Extremity*, cilt 4, pp. 113-116, 1997.
- [58] **P. Nenoff, U. Haustein ve W. Brandt**, Antifungal activity of the essential oil of Melaleuca alternifolia (tea tree oil) against pathogenic fungi in vitro, *Skin Pharmacol.*, cilt 9, pp. 388-394, 1996.

- [59] **S. Griffin, J. Markham ve D. Leach**, An agar dilution method for the determination of the minimum inhibitory concentration of essential oils, *J. Essent. Oil Res.*, cilt 12, pp. 249-255, 2000.
- [60] **I. Bassett, D. Pannowitz ve R. Barnetson**, A comparative study of tea-tree oil versus benzoylperoxide in the treatment of acne, *Med. J. Aust.*, cilt 153, pp. 455-458, 1990.
- [61] **K. Hammer, C. Carson ve T. Riley**, *J. Antimicrob. Chemother.*, cilt 50, pp. 195-199, 2002.
- [62] **K. Hammer, C. Carson ve T. Riley**, Antifungal effects of Melaleuca alternifolia (tea tree) oil and its components on *Candida albicans*, *Candida glabrata* and *Saccharomyces cerevisiae*, *J. Antimicrob. Chemother.*, cilt 53, pp. 1081-1085, 2004.
- [63] **P. Schnitzler, K. Schön ve J. Reichling**, Antiviral activity of Australian tea tree oil and eucalyptus oil against herpes simplex virus in cell culture, *Pharmazie*, cilt 56, pp. 343-347, 2001.
- [64] **M. Minami, M. Kita, T. Nakaya, T. Yamamoto, H. Kuriyama ve J. Imanishi**, The inhibitory effect of essential oils on herpes simplex virus type-1 replication in vitro, *Microbiol. Immunol.*, cilt 47, pp. 681-684, 2003.
- [65] **S. Chao, D. Young ve C. Oberg**, Screening for inhibitory activity of essential oils on selected bacteria, fungi and viruses, *J. Essent. Oil Res.*, cilt 12, pp. 639-649, 2000.
- [66] **J. Mikus, M. Harkenthal, D. Steverding ve J. Reichling**, In vitro effect of essential oils and isolated mono- and sesquiterpenes on *Leishmania major* and *Trypanosoma brucei*, *Planta Med.*, cilt 66, pp. 366-368, 2000.
- [67] **C. Viollon, D. Mandin ve J. Chaumont**, Activite's antagonistes, in vitro, de quelques huiles essentielles et de compose's naturels volatils vis ' vis de la croissance de a *Trichomonas vaginalis*, *Fitoterapia*, cilt 67, pp. 279-281, 1996.
- [68] **E. Pena**, Melaleuca alternifolia oil—its use for trichomonal vaginitis and other vaginal infections, *Obstet. Gynecol.*, cilt 19, pp. 793-795, 1962.
- [69] **P. Hart, C. Brand, C. T. Carson, R. Prager ve J. Finlay Jones**, Terpinen-4-ol, the main component of the essential oil of Melaleuca alternifolia (tea tree oil), suppresses inflammatory mediator production by activated human monocytes, *Inflamm. Res.*, cilt 49, pp. 619-626, 2000.
- [70] **C. Brand, A. Ferrante, R. Prager, T. Riley, C. Carson, J. Finlay Jones ve P. Hart**, The water soluble-components of the essential oil of Melaleuca alternifolia (tea tree oil) suppress the production of superoxide by human monocytes, but not neutrophils, activated in vitro, *Inflamm. Res.*, cilt 50, pp. 213-219, 2001.
- [71] **I. Southwell ve R. Lowe**, Tea tree: the genus Melaleuca, Amsterdam: Harwood Academic Pub., 1999.
- [72] **M. Morris, A. Donoghue, J. Markowitz ve K. Osterhoudt**, Ingestion of tea tree oil (Melaleuca oil) by a 4-year-old boy, *Pediatr. Emerg. Care*, cilt 19, pp. 169-171, 2003.
- [73] **M. Jacobs ve C. Hornfeldt**, Melaleuca oil poisoning, *J. Toxicol. Clin. Toxicol.*, cilt 32, pp. 461-464, 1994.

- [74] **M. Del Beccaro**, Melaleuca oil poisoning in a 17-month-old, *Vet. Hum. Toxicol.*, cilt 37, pp. 557-558, 1995.
- [75] **C. Elliott**, Tea tree oil poisoning, *Med. J. Aust.*, cilt 159, no. 11, p. 831, 1993.
- [76] **N. Aspres ve S. Freeman**, Predictive testing for irritancy and allergenicity of tea tree oil in normal human subjects, *Exogenous Dermatol.*, cilt 2, no. 5, pp. 258-261, 2004.
- [77] **N. Veien, K. Rosner ve G. Skovgaard**, Is tea tree oil an important contact allergen?, *Contact Dermatitis*, cilt 50, no. 6, pp. 378-379, 2004.
- [78] **P. van der Valk, A. de Groot, D. Bruynzeel, P. Coenraads ve J. Weijland**, Allergic contact eczema due to 'tea tree' oil, *Ned. Tijdschr. Geneesk.*, cilt 138, no. 16, pp. 823-825, 1994.
- [79] **A. De Groot ve J. Weyland**, Systemic contact dermatitis from tea tree oil, *Contact Dermatitis*, cilt 27, no. 4, pp. 279-280, 1992.
- [80] **B. Hausen, J. Reichling ve M. Harkenthal**, Degradation products of monoterpenes are the sensitizing agents in tea tree oil, *Am. J. Contact Dermatitis*, cilt 10, no. 2, pp. 68-77, 1999.
- [81] **D. Opdyke**, Fragrance raw materials monographs (eucalyptol), *Food Cosmet. Toxicol.*, cilt 13, no. 4, pp. 105-106, 1975.
- [82] **I. Southwell, S. Freeman ve D. Rubel**, Skin irritancy of tea tree oil, *J. Essent. Oil Res.*, cilt 9, no. 1, pp. 47-52, 1997.
- [83] **K. Bischoff ve F. Guale**, Australian tea tree (*Melaleuca alternifolia*) oil poisoning in three purebred cats, *J. Vet. Diagn. Investig.*, cilt 10, no. 2, pp. 208-210, 1998.
- [84] **J. Reimao, E. Coser, M. Lee ve A. Coelho**, Laboratory Diagnosis of Cutaneous and Visceral Leishmaniasis: Current and Future Methods, *Microorganisms.*, cilt 8, no. 11, p. 1632, 2020.
- [85] **E. Torres Guerrero, M. Quintanilla Cedillo, J. Ruiz Esmenjaud ve R. Arenas**, Leishmaniasis: a review, *F1000 Res.*, cilt 6, p. 750, 2017.
- [86] **P. Hotez, S. Aksoy, P. Brindley ve S. Kamhawi**, World neglected tropical diseases day, *PLoS Negl Trop Dis.*, cilt 14, no. 1, 2020.
- [87] **WHO**, Leishmaniasis, WHO, <https://www.who.int/news-room/factsheets/detail/leishmaniasis>, 2021.
- [88] **A. Akıllı**, Direct Determination Of Surface Proteins Of Leishmania Parasite By Proteomic Approach Master Of Science, İzmir: The Graduate School Of İzmir Institute Of Technology, 2023.
- [89] **Q. Asmaa, S. Al-Shamerii, M. Al Tag, A. Al-Shamerii, Y. Li ve B. Osman**, Parasitological and biochemical studies on cutaneous leishmaniasis in Shara'b District, Taiz, Yemen, *Ann Clin Microbiol Antimicrob.*, cilt 16, no. 1, p. 47, 2017.
- [90] **C. Karabulut**, Türkiye'deki kutanöz leishmaniasis hastalarından izole edilen *Leishmania major* ve *Leishmania tropica* suşlarında leishmania rna virus (LRV) pozitifliğinin araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Manisa Celal Bayar Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Manisa, 2021.
- [91] **S. Sayar**, Çörek Otu Tohumunun *Leishmania Tropica* Paraziti Üzerinde Etkisi, İzmir: Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2022.

- [92] **S. Uzun, M. Gürel, M. Durdu, M. Akyol, B. Karaman, M. Aksoy, S. Aytekin, M. Borlu, E. Doğan, Ç. Doğramacı, Y. Kapıcıoğlu, A. Akman Karakaş, T. Kaya, M. Mülayim, Y. Özbel, S. Töz, O. Özgöztaşı, Y. Yeşilova ve M. Harman**, Clinical practice guidelines for the diagnosis and treatment of cutaneous leishmaniasis in Turkey, *Int J Dermatol.*, cilt 57, no. 8, pp. 973-982, 2018.
- [93] **A. Özbilgin, S. Töz, M. Harman, S. Topal, S. Uzun, F. Okudan, D. Güngör, A. Erat, H. Ertabaklar, S. Ertuğ, C. Gündüz, İ. Çavuş, M. Karakuş, İ. Ural, M. Ölgen, Ç. Kayabaşı, Ö. Kurt ve Y. Özbel**, M., Topal, S. G., Uzun, S., Okudan, F., Güngör, D., Erat, A., Ertabaklar, H., & Ertuğ, S. (2019). The current clinical and geographical situation of cutaneous leishmaniasis based on species identification in Turkey, *Acta Trop.*, cilt 190, pp. 59-67, 2019.
- [94] CFSPH, Leishmaniasis (Cutaneous and Visceral), Iowa State University, Iowa, 2022.
- [95] **Y. Doğantürk**, Leishmania infeksiyonlarının tanısında kinetoplast DNA'yı saptamaya yönelik real-time pcr tabanlı bir sistem geliştirilmesi, İstanbul: Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü , 2016.
- [96] **S. McKenna**, Functional and Structural Studies of the Hydrophilic Acylated Surface Proteins from Leishmania Donovanii, Heslington: University of York, 2015.
- [97] **H. Kavur, F. Eroğlu, G. Evyapan, M. Demirkazık, D. Alptekin ve I. Koltaş**, Entomological survey for sand fly fauna in İmamoglu province (cutaneous leishmaniasis endemic region) of Adana, Turkey, *Journal of Medical Entomology*, cilt 52, no. 5, pp. 813-818, 2015.
- [98] **S. Besteiro, R. Williams, G. Coombs ve J. Mottram**, Protein turnover and differentiation in Leishmania, *International Journal for Parasitology*, cilt 37, no. 10, pp. 1063-1075, 2007.
- [99] **A. Banuls, M. Hide ve F. Prugnolle**, Leishmania and the Leishmaniases: a parasite genetic update and advances in taxonomy, epidemiology and pathogenicity in humans, *Adv Parasit.*, cilt 64, no. 1, pp. 455-458, 2007.
- [100] **M. Özcel**, GAP (Güneydoğu Anadolu Projesi) ve Parazit Hastalıkları, İzmir: Türkiye Parazitoloji Derneği Yayını, 1993.
- [101] **J. Fishman**, Infections in immunocompromised hosts and organ transplant recipients: essentials, *Liver Transplantation*, cilt 17, no. 3, pp. 34-37, 2011.
- [102] **B. Pourmohammadi, M. Motazedian ve M. Kalantari**, Rodent infection with Leishmania in a new focus of human cutaneous leishmaniasis, in northern Iran, *Annals of Tropical Medicine & Parasitology*, cilt 102, no. 2, pp. 127-133, 2008.
- [103] **V. Fidan**, Diyarbakır ilindeki layşmanyalı hastaların demografik özellikleri ve coğrafik dağılımı, Diyarbakır: Uzmanlık Tezi, Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi, 2014.
- [104] **M. Gürel, Y. Yeşilova, M. Ölgen ve Y. Özbel**, Türkiye'de Kutanöz Leishmaniasisin Durumu, *Türkiye Parazit Derg.*, cilt 36, no. 2, pp. 121-129, 2012.

- [105] **D. Gumurdulu, M. Ergin, İ. Tuncer ve S. Uzun**, Histopathological and clinical evaluation of the cutaneous leishmaniasis in Southern Anatolia, Turkey, *Aegean Pathology Society*, cilt 1, pp. 57-61, 2004.
- [106] **P. Ciaramella, G. Oliva, R. Luna, L. Gradoni, R. Ambrosio, L. Cortese, A. Scalone ve A. Persechino**, A retrospective clinical study of canine leishmaniasis in 150 dogs naturally infected by *Leishmania infantum*, *Veterinary Record.*, cilt 141, no. 21, pp. 539-543, 1997.
- [107] **G. Davit, Z. Girma ve K. Simenew**, A Review on Biology, Epidemiology and Public Health Significance of Leishmaniasis, *J Bacteriol Parasitol.*, cilt 4, no. 2, pp. 1-7, 2013.
- [108] **A. Bari ve S. Rahman**, Many faces of cutaneous leishmaniasis, *Indian J Dermatol Venereol Leprol.*, cilt 74, no. 1, pp. 23-27, 2008.
- [109] **İ. An**, Kutanöz Leishmaniasis Konusunda Deneyimli Dermatolog Tarafından Yapılan Lezyonal Yaymaların Kutanöz Leishmaniasiste Tanısal Değeri, Diyarbakır: Tıpta Uzmanlık Tezi, Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi, 2017.
- [110] **K. Kelleci**, Visseral Leishmaniasis'e karşı aşı geliştirilmesinde antijen yüklü nanopartiküllerin immünoestimulan etkilerinin değerlendirilmesi, İstanbul: Doktora Tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 2023.
- [111] **P. Scott ve F. Novais**, Cutaneous leishmaniasis: immune responses in protection and pathogenesis, *Nature Reviews Immunology*, cilt 16, no. 9, pp. 581-592, 2016.
- [112] **L. Lopez, M. Robayo, M. Vargas ve I. Velez**, Thermoherapy. An alternative for the treatment of American cutaneous leishmaniasis, *Trials.*, cilt 13, no. 58, pp. 1-7, 2012.
- [113] **S. Sharnsi Meymandi, S. Zandi, H. Aghaie ve A. Heshmatkhah**, Efficacy of CO<sub>2</sub> laser for treatment of anthroponotic cutaneous leishmaniasis, compared with combination of cryotherapy and intralesional meglumine antimoniate, *J Eur Acad Dermatol Venereol.*, cilt 25, no. 5, pp. 587-591, 2011.
- [114] **K. Gardlo, Z. Horska, C. Enk, L. Rauch, M. Megahed, T. Ruzicka ve C. Fristsch**, Treatment of cutaneous leishmaniasis by photodynamic therapy, *Journal of the American Academy of Dermatology*, cilt 48, no. 6, p. 2003, 893-896.
- [115] **R. Salmanpour, M. Razmavar ve N. Abtahi**, Comparison of intralesional meglumine antimoniate, cryotherapy and their combination in the treatment of cutaneous leishmaniasis, *International journal of dermatology*, cilt 45, no. 9, pp. 1115-1116, 2006.
- [116] **B. Arana, C. Mendoza, N. Rizzo ve A. Kroeger**, Randomized, controlled, double-blind trial of topical treatment of cutaneous leishmaniasis with paromomycin plus methylbenzethonium chloride ointment in Guatemala, *Am J Trop Med Hyg*, cilt 65, no. 5, pp. 466-470, 2001.
- [117] **S. Mendez, R. Traslavina, M. Hinchman, L. Huang, P. Green, M. Cynamon ve J. Welch**, The antituberculosis drug pyrazinamide affects the course of cutaneous leishmaniasis in vivo and increases activation of macrophages and dendritic cells, *Antimicrob Agents Chemother.*, cilt 53, no. 12, pp. 5114-5121, 2009.
- [118] **M. Moheballi, A. Fotouhi, B. Hooshmand, Z. Zarei, B. Akhoundi, A. Rahnema, A. Razaghian, M. Kabir ve A. Nadim**, Comparison of

miltefosine and meglumine antimoniate for the treatment of zoonotic cutaneous leishmaniasis (ZCL) by a randomized clinical trial in Iran, *Acta Trop.*, cilt 103, no. 1, pp. 33-40, 2007.

- [119] **S. Croft ve P. Olliaro**, Leishmaniasis chemotherapy-challenges and opportunities, *Clinical microbiology and infection*, cilt 17, no. 10, pp. 1478-1483, 2011.
- [120] **S. Croft, S. Sundar ve A. Fairlamb**, Drug resistance in leishmaniasis, *Clinical microbiology reviews*, cilt 19, no. 1, pp. 111-126, 2006.
- [121] **S. Byahatti, C. Bogar, K. Bhat ve G. Dandagi**, Evaluation of anticancer activity of *Melaleuca alternifolia*. (i. e. tea tree oil) on Leukemia cancer cell line (K562): An in vitro study, *Journal of Medicinal Plants Studies*, cilt 6, no. 5, pp. 1-6, 2018.
- [122] **C. Viollon, D. Mandin ve J. Chaumont**, Activitiés antagonists, in vitro, de 545 quelques huiles essentielles et de composes naturelles volatils vis á vis de la 546 croissance de *Trichomonas vaginalis*, *Fitorerapia*, cilt 67, pp. 279-281, 1996.
- [123] **K. Hammer, C. Carson ve T. Riley**, *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil 486 inhibits germ tube formation by *Candida albicans*, *Med. Mycol.*, cilt 38, pp. 355-362, 2000.
- [124] **L. Banes-Marshall, P. Cawley ve C. Phillips**, In vitro activity of *Melaleuca 427 alternifolia* (tea tree) oil against bacterial and *Candida spp.* isolates from clinical 428 specimens, *Br. J. Biomed. Sci.*, cilt 58, pp. 139-145, 2001.
- [125] **M. Al-Maryani**, Isolation and molecular identification of some types of soil bacteria, testing its ability to produce silver nanoparticles and investigating their effectiveness against *leishmania tropica* and molecular analysis of this parasite, Yüksek Lisans Tezi, Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 2022.
- [126] **Ş. Gülşen**, İnsan parazitleri *Acanthamoeba castellanii* ve *Leishmania tropica*'ya karşı *Xenorhabdus* ve *Photorhabdus* bakterisi sekonder metabolitlerinin etkilerinin araştırılması ve etken maddelerin belirlenmesi, Doktora Tezi, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 2022.
- [127] **A. Yıldırım**, *Trypanosoma cruzi*, *Leishmania tropica* ve *Toxoplasma gondii* parazitlerinin ex vivo kültürasyonu ve auranofin antiparaziter ilaç etkinliğinin değerlendirilmesi, Doktora Tezi, Manisa Celal Bayar Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2021.
- [128] **S. Babat**, Şırnak bölgesinden toplanan *Prangos ferulaceae* ve *Ferula orientalis* ekstrelerinin türkiye'den izole edilmiş *Leishmania tropica*'ya karşı antileishmanial etkilerinin araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Manisa Celal Bayar Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2019.
- [129] **T. Aksoy**, Arı ürünlerinin (bal, propolis, arı sütü) *leishmania tropica* promastigotları üzerine antileishmanial etkilerinin araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2018.
- [130] **E. Abamor**, Nanopartikül-glukantim ve nanopartikül-*Nigella sativa* yağ kombinasyonlarının *Leishmania tropica*'ya karşı antileishmanial etkilerinin in vitro ve in vivo incelenmesi ve Kütanöz leishmaniasis'in tedavisinde yeni

yaklaşımlarının geliştirilmesi, Doktora Tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 2014.

- [131] **A. Abamor**, Gümüş(Ag) ve titanyum dioksit (TiO<sub>2</sub>) nanopartiküllerinin kütanöz leishmaniasis etkeni *L.Tropica* parazitleri üzerindeki antileishmanial etkilerinin incelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 2010.
- [132] **S. Albayrak**, *Leishmania tropica* üzerine Kayseri propolisinin antileishmanial aktivitesinin araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2009.



## **ÖZGEÇMİŞ**

**Ad-Soyad** : Sara Al Mofti

**Doğum Tarihi ve Yeri** :

**E-posta** :

### **ÖĞRENİM DURUMU:**

- **Lisans** : 2020, Bezmiâlem Vakıf Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Fizyoterapi ve Rehabilitasyon

### **MESLEKİ DENEYİM VE ÖDÜLLER:**

### **DOKTORA TEZİNDEN TÜRETİLEN YAYINLAR, SUNUMLAR VE PATENTLER:**

### **DİĞER YAYINLAR, SUNUMLAR VE PATENTLER:**

Mart 9-12, 2024, Adana,12. Çukurova Uluslararası Bilimsel Araştırmalar Kongresi