

Investigation of Antibacterial Activity of Various Essential Oils Against Seven Different Clinical Isolates

Ayşe Colak

Canakkale Onsekiz Mart University, Graduate School of Natural and Applied Sciences,
Department of Biology, 17020, Canakkale
E-Mail: aysecolak13@gmail.com

Binnur Mericli Yapici (Corresponding author)

Canakkale Onsekiz Mart University, Faculty of Arts and Sciences,
Department of Biology, 17020, Canakkale
E-Mail: byapici@comu.edu.tr

This work was financially supported by the Çanakkale Onsekiz Mart University Scientific Research Projects Coordination Unit. (Project number: FYL-2015-414)

Abstract

In this study, antimicrobial activity of *Allium sativum*, *Aleo vera*, *Cathamus tinctorius*, *Eucalyptus* spp., *Foeniculum vulgare*, *Jasminum officinalis*, *Laurus nobilis*, *Mentha* spp., *Myrtle* spp., *Nigella sativa*, *Rosmarinus officinalis*, *Salvia* spp., *Syngium aromaticum*, *Thymus* spp. *Urtica dioica*, *Zingiber officinale* commercial essential oils and various antibiotics was investigated against seven different clinical isolates. For this purpose, disc diffusion and microdilution methods were used to antimicrobial activity assay in the research. Minimum Inhibitor Concentration values of essential oils exhibiting significant antimicrobial activity against clinical isolates were determined. The commercial essential oils used against clinical isolates in the study and the highest inhibition zone values were obtained from black seed cumin essential oil as 39,92 mm for *Bacillus cereus* isolates, from thyme-2 essential oil as 29,40 mm for *Bacillus cereus* JCM 2152 isolate, from thyme-1 essential oil as 21,59 mm for *Bacillus cereus* ATCC 14579 isolate, from thyme-2 as 17,00 mm for *Pseudomonas mendocina* ATCC 25411 isolate, from mint, clove, eucalyptus-2, sage and laurel essential oils as 16,20 mm, 16,00 mm, 14,33 mm, 13,96 mm and 13,25 mm for *Bacillus cereus* ATCC 14579 and *Bacillus cereus* JCM 2152, respectively. Most of the antibiotics tested against clinical isolates were either not effective at all or their activities were found to be lower than essential oils. The lowest MIC value obtained in the study was determined as 0.12% (v / v) from thymus-2 essential oil for *Bacillus cereus* ATCC 14579

Keywords: Antimicrobial activity, 16S rRNA analysis, Clinic bacteria, Essential oil.

Yedi Farklı Klinik İzolata Karşı Çeşitli Uçucu Yağlarının Antibakteriyel Aktivitesinin Araştırılması

Özet

Bu çalışmada *Allium sativum*, *Aleo vera*, *Cathamus tinctorius*, *Eucalyptus* spp., *Foeniculum vulgare*, *Jasminum officinalis*, *Laurus nobilis*, *Mentha* spp., *Myrtle* spp., *Nigella sativa*, *Rosmarinus officinalis*, *Salvia* spp., *Syngium aromaticum*, *Thymus* spp., *Urtica dioica*, *Zingiber officinale* ticari uçucu yağlarının ve çeşitli antibiyotiklerin yedi farklı klinik izolata karşı antimikrobiyal aktiviteleri araştırılmıştır. Bu amaçla çalışmada antimikrobiyal aktivite deneylerinde disk difüzyon ve mikrodilüsyon yöntemleri kullanılmıştır. Önemli derecede antimikrobiyal aktiviteye sahip olan uçucu yağların Minimum İnhibitör Konsantrasyon değerleri belirlenmiştir. Araştırmada kullanılan klinik izolatlara karşı en yüksek inhibisyon zon değeri gösteren ticari uçucu yağlar ve inhibisyon zon değerleri; *Bacillus cereus* izolatlarının her ikisi için çörek otu uçucu yağından 39.92 mm, *Bacillus*

cereus JCM 2152 izolatı için kekik-2 uçucu yağından 29.40 mm, *Bacillus cereus* ATCC 14579 izolatı için kekik-1 uçucu yağından 21.59 mm, *Pseudomonas mendocina* ATCC 25411 izolatı için kekik- 2 uçucu yağından 17.00 mm, *Bacillus cereus* ATCC 14579 ve *Bacillus cereus* JCM 2152 izolatları için nane, karanfil, okaliptüs-2, adaçayı ve defne uçucu yağından sırasıyla 16.20 mm, 16.00, 14.33 mm, 13.96 mm ve 13.25, olarak elde edilmiştir. Klinik izolatlara karşı denenen antibiyotiklerin birçoğunun ya hiç etkili olmadığı ya da etkinliklerinin uçucu yağlardan daha düşük olduğu tespit edilmiştir. Araştırmada elde edilen en düşük MİK değeri *Bacillus cereus* ATCC 14579 izolatı için kekik-2 uçucu yağından % 0,12 (v/v) olarak belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Antimikrobiyel aktivite, 16S rRNA analizi, Klinik bakteri, Uçucu Yağ.

1. Giriş

Uçucu ve sabit yağlar bitkilerin çeşitli kısımlarından ve özellikle baharatlardan buhar distilasyonu veya bitkilerin sekonder metabolitlerinden üretilmektedirler. Uçucu yağların ana bileşenlerini karbonhidratlar, fenoller, alkoller, eterler, aldehit ve ketonlar yani mono- ve sesqui- terpenler oluşturmaktadır. Ayrıca yüzyıllardır halk arasında gıdalarda tatlandırıcı veya koruyucu olarak çeşitli hastalıkların tedavisinde ve parfüm, kozmetik endüstrisi gibi farklı birçok alanda kullanılmaktadır. Tedavi amaçlı kullanılan bitkilerin sayısının ise Dünya Sağlık Örgütüne (WHO) göre 20,000 kadar olduğu belirtilmiştir. Bulaşıcı hastalıklara karşı korunma için eski çağlardan beri bitkiler kullanılmaktadır. Uçucu yağların birçoğu doğal antimikrobiyel maddeler olması nedeni ile ilaç bilimi, farmasötik botanik, tıbbi ve klinik mikrobiyoloji de kullanılmaktadır. Bu nedenlerle geniş yelpazedeki bitki türlerinden elde edilen uçucu yağların antimikrobiyel aktiviteleri değişik alanlarda araştırma konusu olmuşlardır (Faydaoğlu ve Sürücüoğlu, 2011; Orhan ve ark., 2011; Alves–Silva ve ark., 2013; Nabavi ve ark., 2015).

Bulaşıcı hastalıklar, dünya çapında özellikle gelişmekte olan ülkelerde, hastalık ve ölüm oranının önde gelen nedenidir. Dünya Sağlık Örgütü, 2011 yılında dünya çapında 55 milyon kişinin bulaşıcı hastalıklardan öldüğünü tahmin etmektedir (Nabavi ve ark., 2015). Günümüzde bakterilerin %70'i çoklu dirençli olup hastane enfeksiyonlarına neden olmaktadır. Çoklu dirençli bakterilerin her geçen gün sayısının artması, diğer bakteriler gibi mevcut antibiyotiklerden etkilenmemesi nedeniyle yeni antimikrobiyel ilaçların bulunmasını zorunlu kılmaktadır (Karras ve ark., 2012; Purkayastha ve ark., 2012).

Antibiyotikler bakterilerin neden olduğu enfeksiyonlarda çok etkilidir. Antibiyotiklerin keşfi insan sağlığının ve yaşama kalitesinin iyileştirilmesinde oldukça fayda sağlamıştır. Ancak mikroorganizmalar enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde kullanılan antibiyotiklere doğaları gereği direnç gösterebilmektedir. Sık kullanılan birçok antibiyotiğe karşı mikroorganizmaların ilaç direnci geliştirmesi hastalıkların tedavisini zorlaştırmaktadır. Mikroorganizmaların, antibiyotiklere karşı geliştirdikleri bu dirençlilik her geçen gün artmakta ve dünya çapında önemli bir problem oluşturmaktadır. Artan bu dirençliliğe karşı yeni ilaçlar geliştirilmektedir. Fakat geliştirilen bu ilaçların çoğunun yan etkisi bulunmakta ve toksik reaksiyonlara neden olmaktadır. Dolayısıyla, mikroorganizmaların dirençliliğinin olmadığı ve insan sağlığı üzerinde daha az toksik etkiye sahip yeni antimikrobiyel ajanlara ihtiyaç duyulmaktadır (Mantzourani ve ark., 2011; Dubey ve ark., 2012; Purkayastha ve ark., 2012; Kanj ve ark., 2014; Rahman ve ark., 2014).

Bu nedenle çalışmada; enfeksiyonlara neden olan klinik bakteri izolatlarına karşı çeşitli ticari uçucu yağların antibakteriyel aktivitesinin olup olmadığı araştırılmıştır. Bu amaçla hastanelerin mikrobiyoloji laboratuvarlarından 30 adet klinik izolat temin edilmiş ve bu izolatlardan 16S rRNA dizi analizi ile 7 farklı klinik izolat elde edilmiştir. Tanımlanan klinik izolatlarla karşı 23 farklı ticari uçucu yağın antibakteriyel aktivitesi agar disk difüzyon yöntemi ile belirlenmiş ve izolatlarla karşı etkili bulunan esansiyel yağların Minimum İnhibitör Konsantrasyonları (MİK) ise mikrodilüsyon yöntemi ile tespit edilmiştir.

2. Materyal ve Yöntem

2.1. Materyal

2.1.1. Klinik Bakteri İzolatları

Araştırmada *Bacillus cereus* ATCC 14579, *Bacillus cereus* JCM 2152, *Pseudomonas mendocina* ATCC 25411, *Pseudomonas aureginosa* SNP 0614, *Pseudomonas aureginosa* DSM 50071, *Proteus mirabilis* ATCC 29906, *Serratia marcescens* JCM 1239 olmak üzere toplamda 7 farklı klinik izolat kullanılmıştır. Klinik izolatlar çeşitli hastane laboratuvarlarından elde edilmiş ve 16S rRNA dizi analizi ile tanımlanmışlardır. Tanımlanan kültürler Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Temel ve Endüstriyel Mikrobiyoloji laboratuvarında saklanmıştır.

2.1.2. Antibiyotik Diskleri

Antibiyotik duyarlılık testi için 6 mm çapındaki antibiyotik diskler (Himedia, Oxoid, Bioanalyse) kullanılmıştır. Bu antibiyotikler ve özellikleri aşağıda belirtilmiştir.

Gentamicin (CN10) (10µg), Chloramphenicol (C30) (30µg), Tetracycline (TE30) (30µg), Ampicillin (A10) (10 mcg/Disk), Pencillin-G (P10) (10 Units/Disk), Fosfomycin/Trometanol(FOT200) (200µg), Cefixime (CFM5) (5µg), Vancomycin VA30 (30 mcg/disk), Amoxycillin(AML25) (25µg), Kanamycin (K30) (30 mcg/disk).

2.1.3. Uçucu Yağlar

Araştırmamızda aktarlardan temin edilen 23 adet ticari uçucu yağ kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan uçucu yağlar; adaçayı, biberiye, çörekotu, defne, ısırgan, karanfil, kekik-1, kekik-2, nane, okaliptüs-1, okaliptüs-2, okaliptüs aroması, rezene-1, rezene-2, sarımsak-1, sarımsak-2, aspir, sarı sabır, zencefil-1, zencefil-2, mersin-1, mersin-2 ve yasemin'dir.

2.2. Antibakteriyel Aktivite ve Minimum İnhibitör Konsantrasyonunun Belirlenmesi (MİK)

2.2.1. Disk Difüzyon Yöntemi

Nutrient Broth içerisinde bulunan stok kültürlerinden öze ile TSB'ye (Tryptic Soy Broth) aşılama yapılmıştır. Üç gün ard arda yapılan pasajlamalardan sonra serum fizyolojik (% 0,85 NaCl) ile seyreltilerek Mcfarland standardına göre 10^6 kob/ml olması sağlanmıştır. Petrilerde bulunan Mueller Hinton Agar yüzeyine 100 µl kültür süspansiyonundan eklenerek L-bağet yardımıyla besiyeri yüzeyine yayılması sağlanmıştır. 15 dakika içerisinde steril Whatman 6 mm çapında diskler pens yardımı ile besiyeri yüzeyine yerleştirilip, uçucu yağlardan her birine 15 µl eklenerek oda sıcaklığında 60 dakika bekletilmiştir. Steril boş diskler negatif kontrol, Ampicillin, Penisilin-G, Vankomycin, Amoxycillin, Gentamicin, Chloramphenicol, Fosfomycin/Trometanol, Tetracycline, Clindamycin, Cefixime, Kanamycin antibiyotikleri pozitif kontrol olarak kullanılmıştır (EUCAST, 2015).

2.2.2. MİK Değerlerinin Mikrodilüsyon Yöntemi ile Belirlenmesi

Minimum İnhibitör Konsantrasyonu (MİK) mikrobiyal üremenin olmadığı en düşük konsantrasyonu vermektedir. Disk difüzyon yöntemi ile bakteri izolatlarına karşı en yüksek inhibisyon zonu veren yağların MİK değerleri belirlenmiştir. Nutrient Broth içerisinde bulunan stok kültürlerinden öze ile TSB'ye aşılama yapılmıştır. Üç gün ard arda yapılan pasajlamalardan sonra serum fizyolojik (% 0,85 NaCl) ile seyreltilerek MİK değerinin belirlenmesi için Mcfarland standardına göre mikroorganizma sayısının 10^6 kob/ml olması sağlanmıştır (EUCAST, 2015).

Geometrik seyreltmeler % 8 ve % 0,0156 arasında değişen MHB besiyeri ile hazırlanmıştır. Hazırlanan bu seyreltmelerden steril U tabanlı 96 kuyucuklu plaklara 180 µl konulmuştur. Her bir kuyucuğa 20 µl bakteri süspansiyonundan eklenmiştir. Plakların ilk sırasına 180 µl MHB konularak üzerine 20 µl 10^6 kob/ml düzeyinde bakteri süspansiyonundan eklenerek pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. Plagın son sırasına negatif kontrol olarak 200 µl % 8 uçucu yağ içeren MHB besiyerinden konulmuştur. 37 °C'de 24 saat inkübe edildikten sonra mikroplak okuyucu (Thermo Scientific, Multiscan FC) ile 620 nm'de absorbans değerleri belirlenerek üreme olmayan konsantrasyon belirlenmeye çalışılmıştır. Absorbans değerleri belirlendikten sonra plagın her bir kuyucuğuna % 1'lik steril tetrazoliumklorid çözeltisinden 20 µl eklenerek 20 dk. süresince renk değişimi gözlemlenmiştir. Pembe renk değişiminin gözlemlendiği konsantrasyonun bir üst ve bir alt konsantrasyonlarından TSA besiyerine damla ekim yöntemi ile 5 µl ekim yapılmıştır. 37 °C'de 24±2 saat inkübasyondan sonra petrilerde üremenin olup olmadığına bakılarak bütün sonuçlarla karşılaştırma yapıp MİK değeri belirlenmiştir (EUCAST, 2015).

2.3. İstatistiksel Analizler

İstatistiksel Analizler Minitab 17.0 programında Display Descriptive Statistics metodu ile yapılmıştır. Sonuçlar aritmetik ortalama±standart sapma olarak verilmiştir.

3. Bulgular

Çalışmamızda hastane laboratuvarlarından elde edilen ve 16S rRNA ile tanımlanan 7 klinik izolata karşı 23 ticari bitkisel uçucu yağın antimikrobiyal aktiviteleri belirlenmiştir. Sonuçlar aşağıda bir sıra dâhilinde verilmiştir.

3.1. Çalışmada Kullanılan Klinik İzolatlara Ait Disk Difüzyon Bulguları

Bacillus cereus ATCC 14589 ve *Bacillus cereus* JCM 2152, *Proteus mirabilis* ATCC 29906, *Serratia marcescens* JCM 1239 klinik izolatlarına karşı uçucu yağlarının inhibisyon zon çapları Çizelge 1'de verilmiştir. Çalışmada kullanılan 23 adet uçucu yağdan sadece 9 tanesinin antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiş ve bu nedenle Çizelge 1'de sadece 9 uçucu yağa yer verilmiştir.

Çizelge1. Dokuz farklı uçucu yağın *Bacillus cereus* ATCC 14579, *Bacillus cereus* JCM 2152, *Proteus mirabilis* ATCC 29906, *Serratia marcescens* JCM 1239 klinik izolatlarına karşı disk difüzyon sonuçları (n:3)

Klinik İzolatlar ve İnhibisyon Zon Çapları (mm)				
Uçucu Yağlar ve Antibiyotikler	<i>Bacillus cereus</i> ATCC 14579	<i>Bacillus cereus</i> JCM 2152	<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 29906	<i>Serratia marcescens</i> JCM 1239
Çörekotu Yağı	39.92±2.84	39.92±2.85	<6.00±0.01	<6.00±0.01
Kekik Yağı-2	26.80±2.70	29.40±1.90	26.00±0.01	28.20±1.00
Kekik Yağı-1	21.59±1.70	<6.00±0.01	20.00±0.41	12.16±0.38
Nane Yağı	16.20±1.67	16.20±1.67	11.67±0.48	10.16±0.38
Karanfil Yağı	16.00±0.85	16.00±0.86	13.09±0.78	11.00±0.01
Okaliptüs Yağı-2	14.33±1.13	14.33±1.12	11.75±3.11	11.12±0.99
Okaliptüs Yağı-1	12.80±2.77	<6.00±0.01	11.33±2.33	12.08±0.89
Defne Yağı	13.25±1.26	13.25±1.26	7.50±0.78	11.00±0.59
Adaçayı Yağı	13.96±2.74	13.96±2.75	10.38±1.26	10.88±2.64
Gentamicin (CN10) (10µg)	23.75±0.45	23.75±0.44	-*	15.00±0.01
Chloramphenicol (C30) (30µg)	20.00±0.01	20.00±0.01	-	-
Tetracycline (TE30) (30µg)	19.06±1.03	19.00±1.03	8.00±0.01	<6.00±0.01
Ampicillin (A10) (10 mcg/Disk)	8.75±0.86	8.75±0.86	10.00±0.01	<6.00±0.01
Pencillin-G (P10) (10 Units/Disk)	<6.00±0.01	<6.00±0.01	-	-
Amoxycillin (AML25) (25µg)	-	-	17.00±0.01	<6.00±0.01
Cefixime (CFM5) (5µg)	-	-	30.00±0.01	-
Fosfomycin / Trometanol (FOT200)(200µg)	-	-	26.00±0.01	-
Vancomycin VA30 (30 mcg/disk)	-	-	<6.00±0.01	-
Kanamycin (K30) (30mcg / disk)	-	-	-	21.00±0.01

*-: klinik izolatlar üzerinde denenmemiştir.

Araştırma bulgularına göre; *Bacillus cereus* ATCC ve *Bacillus cereus* JCM klinik izolatlarına karşı en etkili uçucu yağlar sırasıyla çörekotu ve kekik-2 olmuştur. Çörekotu esansiyel yağından elde edilen inhibisyon zon çapları her iki izolat için 39,92 mm ve kekik-2 esansiyel yağı için *Bacillus cereus* izolatlarına karşı sırasıyla 26,80 mm ve 29,40 mm olarak belirlenmiştir. Antibiyotiklerden Gentamicin her iki izolat için 23.75 mm inhibisyon zon çapı ile etkili bulunmuş ancak bu etkinlik kekik-2 esansiyel yağının gerisinde kalmıştır.

Proteus mirabilis ATCC 29906 klinik izolatına karşı kekik-2 ve kekik-1 uçucu yağlarından elde edilen inhibisyon zon çapları sırasıyla 26,00 mm ve 20,00 mm olarak belirlenmiştir. Çalışmada denenen Cefixime ve Fosfomycin / Trometanol antibiyotiklerinden elde edilen inhibisyon zon çapları kekik-2 ve kekik-1 uçucu yağlarından elde edilen inhibisyon zon çapı değerlerine yakın ancak biraz daha yüksek bulunmuştur.

Serratia marcescens JCM 1239 klinik izolatına karşı yine kekik-2 uçucu yağı 28,00 mm inhibisyon zon çapıyla en etkili uçucu yağ olarak tespit edilmiştir. Bu bakteriye karşı denenen antibiyotiklerden sadece Kanamycin ve Gentamicin antibiyotikleri antimikrobiyal aktivite sergilemiş olup elde edilen inhibisyon zon çapları sırasıyla 21,00 mm ve 15 mm olarak belirlenmiştir.

Pseudomonas mendocina ATCC 25411, *Pseudomonas aureginosa* SNP 0614, *Pseudomonas aureginosa* DSM 50071 klinik izolatlarına karşı uçucu yağlarının inhibisyon zon çapları Çizelge 2'de verilmiştir. Çalışmada kullanılan 23 adet uçucu yağdan sadece 8 tanesinin *Pseudomonas* klinik izolatlarına karşı antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiş ve bu nedenle Çizelge 1'de sadece 8 adet uçucu yağa yer verilmiştir.

Çizelge 2. *Pseudomonas* klinik izolatlarına karşı disk difüzyon sonuçları (n:3)

Klinik İzolatlar ve İnhibisyon Zon Çapları (mm)			
Uçucu Yağlar ve Antibiyotikler	<i>Pseudomonas mendocina</i> ATCC 25411	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> SNP 0614	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> DSM 50071
Kekik Yağı-2	17.00±1.56	<6.00±0.01	12.67±1.13
Kekik Yağı-1	<6.00±0.01	<6.00±0.01	<6.00±0.01
Karanfil Yağı	16.00±0.85	8.70±0.80	14.25±1.57
Okaliptüs Yağı-2	10.12±1.26	10.00±0.01	14.00±2.24
Okaliptüs Yağı-1	10.20±2.12	9.75±0.44	11.75±0.60
Nane Yağı	<6.00±0.01	10.8±0.77	<6.00±0.01
Adaçayı Yağı	8.00±0.01	<6.00±0.01	<6.00±0.01
Defne Yağı	<6.00±0.01	8.00±0.01	<6.00±0.01
Tetracycline (TE30) (30µg)	12.00±0.01	10.00±0.01	10.00±0.01
Fosfomycin/Trometanol (FOT200) (200µg)	<6.00±0.01	9.00±0.01	10.00±0.01
Amoxycillin(AML25)(25µg)	<6.00±0.01	<6.00±0.01	<6.00±0.01
Cefixime (CFM5) (5µg)	<6.00±0.01	<6.00±0.01	<6.00±0.01
Vancomycin (VA30) (30 mcg/disk)	<6.00±0.01	<6.00±0.01	<6.00±0.01
Ampicillin (A10) (10 mcg/Disk)	<6.00±0.01	<6.00±0.01	<6.00±0.01

Araştırmada 8 uçucu yağdan *Pseudomonas* klinik izolatlarına karşı elde edilen inhibisyon zon çapı değerleri *Bacillus cereus* ATCC 14589 ve *Bacillus cereus* JCM 2152, *Proteus mirabilis* ATCC 29906, *Serratia marcescens* JCM 1239 klinik izolatlarına karşı elde edilen inhibisyon zon çapı değerlerinden daha düşük bulunmuştur.

Çalışmada kekik-2 ve karanfil uçucu yağlarından *Pseudomonas mendocina* ATCC 25411 klinik izolatına karşı elde edilen inhibisyon zon çapları sırasıyla 17,00 mm ve 16,00 mm olarak belirlenmiştir. Nane uçucu yağından *Pseudomonas aeruginosa* SNP 0614 izolatına karşı 10,80 mm, karanfil uçucu yağından ise *Pseudomonas aeruginosa* DSM 50071 izolatına karşı 14,00 mm inhibisyon zon çapı tespit edilmiştir. Her üç klinik izolata karşı denenen 8 antibiyotikten sadece Tetracycline antibakteriyel aktive sergilemiş ancak bu etkinlik uçucu yağların birçoğunun gerisinde kalmıştır.

3.2. Çalışmada Kullanılan Klinik İzolatlara Ait MİK Bulguları

Araştırmada klinik izolatlarına karşı yüksek inhibisyon zonu veren kekik-2, çörekotu, okaliptüs-2, karanfil ve nane uçucu yağlarının MİK değerleri tespit edilmiş ve MİK bulguları Çizelge 3'de verilmiştir.

Çizelge 3. Klinik İzolatlar karşı etkili olan 5 farklı uçucu yağın MİK değerleri (n:3)

Uçucu Yağlar					
Klinik İzolatlar	Kekik-2	Çörekotu	Okaliptus-2	Karanfil	Nane
<i>B. cereus</i> ATCC 14579	%0.12±0.01	>% 8±0.01	-	-	-
<i>B. cereus</i> JCM 2152	>% 8±0.01	>% 8±0.01	-	-	-
<i>P. mirabilis</i> ATCC 29906	%2.00±0.01	-	-	% 1.00±0.01	-
<i>P. mendocina</i> ATCC 25411	>% 8±0.01	-	-	> % 8±0.01	-
<i>Ser. marcescens</i> JCM 1239	%0.17±0.072	-	-	-	-
<i>P. aeruginosa</i> SNP 0614	-	-	%8.00±0.01	-	> % 8±0.01
<i>P. aeruginosa</i> DSM 50071	-	-	>% 8±0.01	> % 8±0.01	-

-:MİK yapılmadı

Bu araştırmada en düşük MİK değerleri kekik-2 uçucu yağından *Serratia marcescens* JCM 1239 ve *Bacillus cereus* ATCC 14579 klinik izolatlarına karşı elde edilmiş olup bu değerler sırasıyla %0,17 (v/v) ve %0,12 (v/v) olarak belirlenmiştir. Çalışmada *P. mirabilis* ATCC 29906 klinik izolatına karşı kekik-2 ve karanfil uçucu yağın MİK değerleri sırasıyla %2.00 (v/v) ve % 1.00 (v/v) olarak tespit edilmiştir. *P. aeruginosa* SNP 0614 klinik izolatına karşı Okaliptus-2 uçucu yağından elde edilen MİK değeri %8.00 olmuştur. Çörekotu ve nane uçucu yağından elde edilen MİK değerleri ise > % 8 olarak belirlenmiştir.

4. Tartışma ve Sonuç

Khalid ve ark. (2011), *Bacillus subtilis* ATCC 6633 suşuna karşı *Nigella sativa* esansiyel yağından 16 mm, Tepe ve ark. (2004), ise *Thymus eigi* esansiyel yağından *Bacillus subtilis* için 28,25 mm *Proteus mirabilis* ATCC 7002 suşu için 21,50 mm'lik inhibisyon zon değeri elde etmişlerdir. Dorman ve Deans (2000), *Thymus vulgaris* ve *Origanum vulgare* esansiyel yağlarının *Bacillus subtilis* NCBI 3610 ve *Proteus vulgaris* NCIB 4175 suşlarına karşı önemli derecede antimikrobiyal aktive segilediklerini ifade etmişler ve sırasıyla 20,50 mm, 23,40 mm ve 44,6 mm, >90 mm'lik inhibisyon zon değerleri elde ettiklerini bildirmişlerdir. Yine aynı araştırmacılar *Serratia marcescens* NCIB 1377 suşuna karşı sırasıyla 18,9 mm ve 39,1 mm'lik inhibisyon zon çapı tespit etmişlerdir. Hersch-Martínez ve ark. (2005), ise *Serratia marcescens* bakterisine karşı *T. vulgaris* ve *O. vulgare* esansiyel yağlarından sırasıyla 15,8 mm ve 12,5 mm'lik daha düşük inhibisyon zon çapı değerlerini elde etmişlerdir. Dorman ve Deans (2000), *Pseudomonas aeruginosa* NCIB 950 suşuna karşı *Thymus vulgaris* ve *Origanum vulgare* esansiyel yağının >90 mm ve 33,5 mm, Tepe ve ark. (2004), *P. aeruginosa* ATCC 27853 suşuna karşı *T. eigi* esansiyel yağının 8,75 mm, Hersch-Martínez ve ark. (2005) ise *Pseudomonas aeruginosa* bakterisine karşı *T. vulgaris* ve *O. vulgare* esansiyel yağlarının 6,4 mm inhibisyon zonu verdiğini bildirmişlerdir. Hersch-Martínez ve ark. (2005), *Pseudomonas aeruginosa* bakterisine karşı *S. aromaticum* esansiyel yağından 3,1 mm, *E. globulus* esansiyel yağından 14,8 mm inhibisyon zonu elde ettiklerini bildirmişlerdir. Gilles ve ark. (2010), *E. staigeriana* ve *E. dives* esansiyel yağlarının *P. aeruginosa* ATCC 27853 suşuna karşı sırasıyla 7,7 mm ve 9,1 mm inhibisyon zonu verdiğini bildirmişlerdir. Soković ve ark. (2010), *Mentha spicata* ve *Mentha piperita* bitkilerinden elde ettikleri esansiyel yağdan *Pseudomonas aeruginosa* suşuna karşı 10,00 mm'lik inhibisyon zon değerini tespit etmişlerdir.

Araştırma sonuçlarımız ile diğer araştırmacıların sonuçları birbirinden farklı bulunmuştur. Ancak çalışmamızda kullanılan ve klinik bakterilere karşı etkili bulunan uçucu yağların ve araştırmacılar tarafından da denenilen benzer uçucu yağların genellikle bakteriler üzerine farklı düzeylerde etkili olduğu söylenebilir. Araştırma bulgularımız ile diğer araştırmacıların bulgularının farklı olmasının en önemli sebepleri; kullanılan uçucu yağların ve bakterilerin birbirinden farklı olmasıdır. Bitkilerin çok çeşitli coğrafik bölgelerde yetişmesi ve farklı yöntemlerle uçucu yağların elde edilmesi de araştırma sonuçlarını önemli derecede etkilemektedir. Bununla birlikte bakterilerin gerek doğal evrimsel süreçleri gerekse her türlü kimyasal ajana karşı direnç oluşturma başarısı nedeniyle; klinik bakterilere karşı doğal ve yeni antimikrobiyal madde araştırmaları devam edecektir. Araştırma sonuçlarımıza göre kekik, çörekotu, karanfil, nane, okaliptüs ve defne ticari uçucu yağlarının tarafımızca tanımlanan ve birçok antibiyotige dirençli klinik izolatlar karşı önemli derecede antimikrobiyal aktivite

sergiledikleri tespit edilmiştir. Bundan sonraki aşamada; belirtilen altı farklı uçucu yağ ile daha ileri araştırmaların yürütülmesi planlanmaktadır.

Kaynaklar

- Alves-Silva J. M., Dias dos Santos S. M., Pintado M. E., Pérez-Álvarez J. A., Fernández-López J., Viuda-Martos M., (2013). Chemical Composition and In Vitro Antimicrobial, Antifungal and Antioxidant Properties of Essential Oils Obtained From Some Herbs Widely Used in Portugal. *Food Control* 32: 371–378.
- Dubey D., Sahu M. C., Rath S., Paty B. P., Debata N. K., Padhy R. N., (2012). Antimicrobial Activity of Medicinal Plants Used by Aborigines of Kalahandi, Orissia, India Againts Multidrug Resistant Bacteria. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 846–854.
- Dorman H.J.D., Deans S.G., (2000). Antimicrobial Agents from Plants: Antibacterial Activity of Plant Volatile Oils. *Journal of Applied Microbiology* 88: 308–316.
- EUCAST, (2015). Antimikrobik Duyarlılık Testine Yönelik EUCAST Disk Difüzyon Yöntemi. Sürüm 5.0, Ocak.
- Faydaoğlu E., Sürücüoğlu M. S., (2011). Geçmişten Günümüze Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Kullanılması ve Ekonomik Önemi. *Kastamonu Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi*, 11(1): 52–67.
- Gilles M., Zhao J., An M., Agboola S., (2010). Chemical Composition and Antimicrobial Properties of Essential Oils of Three Australian *Eucalyptus* Species. *Food Chemistry* 119: 731–737.
- Hersch-Martínez P., Leaños-Miranda B.E., Solórzano-Santos F., (2005). Antibacterial Effects of Commercial Essential Oils over Locally Prevalent Pathogenic Strains in Mexico. *Fitoterapia* 76: 453–457.
- Kanj S. S., Whitelaw A., Dowzicky M.J., (2014). In Vitro Activity of Tigecycline and Comparators Againts Gram-Positive and Gram-Negative Isolates Collected From The Middle East and Africa Between 2004 and 2011. *International Journal of Antimicrobial Agents* 43: 170–178.
- Karras G., Giannakaki V., Kotsis V., Miyakis S., (2012). Novel Antimicrobial Agents Againts Multi-Drug-Resistant Gram-Negative Bacteria: An Overview. *Recent Patents on Anti-Infective Drug Discovery* 7: 175–181.
- Khalid R., Li Z.-G., (2011). Antimicrobial Activity of Essential Oil of *Salvia officinalis* L. collected in Syria. *African Journal of Biotechnology*, 10(42): 8397–8402.
- Mantzourani I., Plessas S., Alexopoulos A., Voidarou C., Bezirtzoglou E., (2011). Antibiotic Activity of Tigecycline Against Clinical Pathogens by The Micro Dilution Method. *Anaerobe* 17: 391–393.
- Nabavi S. M., Marchese A., Izadi M., Curti V., Daglia M., Nabavi S. F., (2015). Plants Belonging to the Genus *Thymus* as Antibacterial Agents: From Farm to Pharmacy. *Food Chemistry* 173: 339–347.
- Orhan İ., Özçelik B., Şener B., (2011). Evaluation of Antibacterial, Antifungal, Antiviral, and Antioxidant Potentials of Some Edible Oils and Their Fatty Acid Profiles. *Türk J Biol* 35: 251–258.
- Purkayastha S., Narain R., Dahiya P., (2012). Evaluation of Antimicrobial and Phytochemical Screening of Fennel, Juniper and Kalonji Essential Oils Againts Multi Drug Resistant Clinical Isolates. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 1625–1629.

Tepe B., Daferera D., Sökmen M., Polissiou M., Sökmen A., (2004). In Vitro Antimicrobial and Antioxidant Activities of the Essential Oils and Various Extracts of *Thymus eigi* M. Zohary et P.H. Davis. J. Agric. Food Chem 52: 1132–1137.

Soković M., Glamočlija J., Marin P.D., Brkić D., van Griensven L.J.L.D.,(2010). Antibacterial Effects of the Essential Oils of Commonly Consumed Medicinal Herbs Using an In Vitro Model. Molecules 15: 7532–7546.