

## Determination of Antimicrobial Activity of Thyme and Black Cumin Seed Essential Oils Against Some Clinical Isolates

Ozge Selda Gureli

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

Binnur Mericli Yapici (Corresponding author)

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

*This work was financially supported by the Canakkale Onsekiz Mart University Scientific Research Projects Coordination Unit. (Project number: FYL-2016-781)*

### ABSTRACT

In this study, antimicrobial activities of commercial thyme-1, thyme-2 (*Origanum onites* and *Thymus* spp.) and black cumin seed (*Nigella sativa*) essential oils, with ethanol, methanol, chloroform, acetone, aqueous extracts of thyme (*Origanum vulgare*) and black cumin seed (*Nigella sativa*) were investigated against different eleven clinical isolates. For this purpose, disc diffusion and microdilution methods were used in antimicrobial activity experiments. Minimum inhibitory concentration values of essential oils with significant antimicrobial activity were determined. According to the disc diffusion findings of the study; the highest inhibition zone values were obtained from commercial thyme-2 and thyme-1 (*Thymus* spp. and *Origanum onites*) essential oils, respectively. In addition, the minimum inhibitor concentration values of essential oils were obtained from thyme-2 (*Thymus* spp.) and thyme-1 (*Origanum onites*) essential oils, respectively. It was determined that most of the extracts obtained from black cumin seed (*Nigella sativa*) and (*Origanum vulgare*) thyme and commercial black cumin seed (*Nigella sativa*) essential oil against clinical isolates were either not effective at all, or that their activities were lower than commercial thyme-2 and thyme-1 essential oils.

**Keywords:** Antibacterial Activity, Essential Oils, Pathogen Bacteria, Plant Extract.

## Bazı Klinik İzolatlar Karşı Kekik ve Çörek Otu Tohumu Uçucu Yağlarının Antimikrobiyal Aktivitesinin Belirlenmesi

### ÖZET

Bu çalışmada on bir farklı klinik izolata karşı sırasıyla ticari kekik-1, kekik-2 (*Origanum onites* ve *Thymus* spp.) ve çörek otu (*Nigella sativa*) tohumu uçucu yağları ile kekik (*Origanum vulgare*) ve çörek otu (*Nigella sativa*) tohumunun etanol, metanol, kloroform, aseton, sulu ekstraktlarının antimikrobiyal aktiviteleri araştırılmıştır. Bu amaçla çalışmada antimikrobiyal aktivite deneylerinde disk difüzyon ve mikrodilüsyon yöntemleri kullanılmıştır. Önemli derecede antimikrobiyal aktiviteye sahip olan uçucu yağların minimum inhibitör konsantrasyon değerleri belirlenmiştir. Araştırmanın disk difüzyon bulgularına göre en yüksek inhibisyon zon değerleri sırasıyla ticari kekik-2 ve kekik-1 (*Thymus* spp. ve *Origanum onites*) uçucu yağlarından elde edilmiştir. Buna ilave olarak uçucu yağların en düşük

minimum inhibitör konsantrasyonu değerleri yine sırasıyla kekik-2 (*Thymus spp.*) ve kekik-1 (*Origanum onites*) uçucu yağlarından elde edilmiştir. Klinik izolatlarla karşı ticari çörek otu (*Nigella sativa*) tohumu uçucu yağı, çörek otu (*Nigella sativa*) tohumu ve (*Origanum vulgare*) kekik türünden elde edilen ekstraktların birçoğunun ya hiç etkili olmadığı ya da etkinliklerinin ticari kekik-2 ve kekik-1 uçucu yağlarına göre daha düşük olduğu tespit edilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Antibakteriyel Aktivite, Esansiyel Yağ, Patojen Bakteri, Bitki Ekstraktı.

## 1. Giriş

Son yıllarda gelişmekte olan ülkelerde temel sağlık ihtiyaçlarını karşılamak için tıbbi bitkilerin kullanımı önemli ölçüde artmaktadır. Halen patojenleri inhibe eden ve konukçu hücrelerde az toksisite gösteren uçucu yağlardan ve onların etken maddelerinden yeni antimikrobiyal ilaçların geliştirilmesi üzerinde durulmaktadır (Bajpai ve ark., 2005). Günümüzde uçucu yağların büyük bir kısmı, gıdaların raf ömrünü uzatmak için, patojen bakterilerin ortadan kaldırılmasında, ayrıca tatlandırıcı maddeler olarak ve farmasötik olarak kullanılmaktadır (Ojeda-Sana ve ark., 2013). Yapılan bazı çalışmalar ile gıda kaynaklı bakteri gelişimini önlemek ve işlenmiş gıdaların raf ömrünü uzatmak için gıda sistemlerinde bazı bitkisel yağların kullanılması onaylanmıştır. Uçucu yağlar özellikle monoterpenler, seskiterpenler ve bunlara karşılık gelen oksijen türevleri olan alkoller, aldehitler, esterler, eterler, ketonlar, fenoller ve oksitler'den oluşan kompleks karışımlardır (Bajpai ve ark., 2013). Bu tıbbi bileşiklerin en önemlileri genellikle alkaloidler, tanenler, flavonoidler ve fenoliklerdir (Jaberian ve ark., 2013). Bitkilerden elde edilen bu bileşiklerin antifungal, antibakteriyel ve insektisidal aktiviteleri bulunmaktadır (Janssen ve ark., 1987; Kurita ve ark., 1981; Oka ve ark., 2000). Bu bileşikler bitkinin sap, kök, yaprak, ağaç kabukları, çiçek, meyve ve tohumlar gibi çeşitli organlarında bulunmaktadır (Jaberian ve ark., 2013). Esansiyel yağların kimyasal bileşimi mevsime, iklime, coğrafik koşullara, hasat dönemine ve damıtma tekniğine bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Antibakteriyel aktivite ise baharatın veya uçucu yağların kimyasal kompozisyonuna, hedef mikroorganizmanın tipi ve konsantrasyonuna ve depolama koşullarına da önemli ölçüde bağlıdır.

Günümüzde antibiyotiklerin bilinçsizce kullanılması enfeksiyona neden olan mikroorganizmaların ilaçlara olan direncini arttırmıştır. Uçucu yağlar ve bileşenlerinin, Gram-negatif bakteriler de dahil olmak üzere çok çeşitli mikroorganizmalara karşı aktif olduğu bilinmektedir (Deans ve Ritchie, 1987; Conner, 1993; Sivropoulou ve ark., 1996). Uçucu yağlar diğer kimyasallara nazaran daha az toksisite göstermeleri durumunda insan sağlığı için kullanılabilirler (Belmekki ve ark., 2013). Bu nedenle uçucu yağların kullanımı bulaşıcı mikroorganizmalarla mücadele ve birden fazla antibiyotiğe direnç kazanmış günümüz mikroorganizmalarını kontrol etmek için umut vericidir (Akthar ve ark., 2014). Kekik ve çörek otu mutfakta ve tıbbi amaçlar için çok çeşitli hastalıkların tedavisi için geleneksel ilaç olarak yüzyıllardır kullanılan önemli tıbbi bitkilerdendir (Ruiz-Navajas ve ark., 2012; Kokoska ve ark., 2008; Abu-Al-Basal, 2009). Söz konusu bitkilerin günümüzde birçok antibiyotiğe direnç geliştirmiş ve insan sağlığını tehdit eden mikroorganizmaların kontrolünde etkili olup olmadıklarının araştırılması oldukça önemlidir.

Bu çalışmada *Origanum onites* ve *Thymus spp.* ve *Nigella sativa* tohumu uçucu yağları ile *Origanum vulgare* ve *Nigella sativa* tohumuna ait etanol, metanol, kloroform, aseton, sulu ekstraktlarının antimikrobiyal aktiviteleri araştırılmış ve sonuçlar antibiyotikler ile karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir.

## 2. Materyal ve Yöntem

### 2.1. Materyal

#### 2.1.1. Uçucu Yağlar ve Ekstraksiyon İçin Kullanılan Bitkiler

Çalışmada kullanılan uçucu yağlar *Origanum onites* (kekik-1), *Thymus spp.* (kekik-2) ve *Nigella sativa* (çörek otu tohumu) olup piyasadan ticari olarak temin edilmiştir. Bu yağlardan, kekik yağı iki farklı ticari firmadan, çörek otu yağı ise bir ticari firmadan temin edilmiştir. Araştırmada ekstraksiyon için piyasadan ticari olarak temin edilen *Nigella sativa* tohumları ve *Origanum vulgare* L. yaprakları kullanılmıştır.

#### 2.1.2. Mikroorganizmalar

Çalışmada *Pseudomonas aeruginosa* DSM50071, *Pseudomonas aeruginosa* SNP0614, *Pseudomonas mendocina* ATCC 25411, *Proteus mirabilis* ATCC 29906, *Escherichia coli* NBRC 102203, *Escherichia fergusonii* NBRC 102419, *Escherichia fergusonii* ATCC 35469, *Bacillus cereus* JCM 2152, *Bacillus cereus* ATCC 14579, *Serratia marcescens* JCM 1239 ve *Enterococcus faecalis* olmak üzere toplamda 11 farklı klinik izolat kullanılmıştır. Klinik izolatlar Çolak ve Meriçli Yapıcı (2015) tarafından çeşitli hastane laboratuvarlarından elde edilmiş ve 16S rRNA dizi analizi ile tanımlanmış türler olup Çanakkale

Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Temel ve Endüstriyel Mikrobiyoloji laboratuvarından elde edilmiştir.

### 2.1.3. Antibiyotik Diskleri

Klinik izolatların antibiyotiklere duyarlı olup olmadıklarını belirlemek ve uçucu yağ ve ekstraktlarla karşılaştırma yapabilmek için her bir bakteri için 6 mm çapında farklı antibiyotik diskleri kullanılmıştır. Bu antibiyotiklerin özellikleri Gentamicin (CN10) (10µg), Chloramphenicol (C30) (30µg), Tetracycline (TE30) (30µg), Ampicillin (A10) (10 mcg/Disk), Pencillin-G (P10) (10 Units/Disk), Fosfomycin/Trometamol (FOT200) (200µg), Cefixime (CFM5) (5µg), Vancomycin VA30 (30 mcg/disk), Amoxycillin (AML25) (25µg), Kanamycin (K30) (30mcg/disk) ve Linezolid (LZD30) (30µg) dir.

## 2.2. Yöntem

### 2.2.1. *Nigella sativa* ve *Origanum vulgare* Bitki Ekstraktlarının Eldesi

Çalışmada *Nigella sativa* tohumları bir havan içerisinde toz haline getirildikten sonra etanol, aseton, metanol ve kloroform gibi farklı çözücüler ile 150 °C'de 12 saat boyunca ekstraksiyonları yapılmıştır. Elde edilen ekstratlar steril koyu renkli bir cam şişenin içerisine alınarak ağzı sıkıca kapalı olarak çalışmanın yapılacağı güne kadar +4 °C'de muhafaza edilmiştir. Ayrıca *Nigella sativa* tohumları 10 gr hassas terazide tartıldıktan sonra havanda toz haline getirilerek 100 ml steril saf suda 20 dk boyunca kaynatılmış ve sulu ekstre elde edilmiştir (Saeed ve Tariq, 2008). Çalışmada kullanılan *Origanum vulgare* bitkisi 1 hafta boyunca kurutulduktan sonra toz haline getirilmiş ve rutin işlemlerle 100 °C sıcaklıkta etanol, metanol, aseton, kloroform ve su ekstraktları elde edilmiştir. Elde edilen ekstratlar çalışmanın yapılacağı güne kadar koyu renkli steril cam şişelerin içerisinde +4 °C'de saklanmıştır.

### 2.2.2. Antibakteriyel Aktivite ve Minimum İnhibitör Konsantrasyonunun Belirlenmesi (MİK)

#### 2.2.2.1. Disk Difüzyon Yöntemi

Araştırmada kullanılan ticari uçucu yağların ve elde edilen ekstratların klinik izolatlara karşı antibakteriyel aktiviteleri disk difüzyon yöntemi ile belirlenmiştir. Kültürlerin uzun süre korunması %20 gliserol içeren 10 ml'lik Tryptic Soy Broth (TSB, Merck) besiyerinde -20 °C'de ve kısa süre korunması ise 10 ml'lik TSB'de +4 °C'de yapılmıştır. TSB içerisinde +4 °C'de saklanan stok kültürler aktive edilmek için mikropipetle tekrar TSB'ye aktarılmıştır. Kültürler 37 °C'de 24 saat boyunca inkübe edildikten sonra hazırlanmış olan serum fizyolojik (%0,85 NaCl, Merck) ile seyreltilerek Mc-Farland cihazı ile konsantrasyonları 10<sup>6</sup> kob/ml'ye ayarlanmıştır. Bu kültür süspansiyonlarından Tryptic Soy Agar (TSA, Merck) içeren steril petrilere 100 µl aşılana L-baget ile yayma işlemi yapılmıştır. 5 dk kültür süspansiyonunun emilmesini sağladıktan sonra 6 mm çapında steril whatman diskler pens yardımıyla besiyeri üzerine yerleştirilip ekstratlar ve yağlar 15 µl hacimde disklere ilave edilmiştir. Boş disk negatif kontrol ve 11 farklı antibiyotik pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. Petrilere düz olacak şekilde 37 °C'de 24 saat boyunca inkübe edildikten sonra disk etrafında oluşan inhibisyon zonu bölgeleri mm cinsinden ölçülmüştür. Bu çalışmalar tripiletli olarak yürütülmüştür (EUCAST, 2015).

#### 2.2.2.2. MİK Değerlerinin Belirlenmesi

Minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK), mikrobiyal üremenin olmadığı en düşük konsantrasyondur. Disk difüzyon metoduyla en yüksek inhibisyon zonu veren iki antimikrobiyal maddenin MİK değerleri mikrodilüsyon yöntemi ile belirlenmiştir. Bu yöntemde kullanılan kültürün yoğunluğu 10<sup>6</sup> kob/ml olarak ayarlanmıştır.

Antimikrobiyal maddelerin geometrik olarak %8 ile %0,015625 arasında değişen konsantrasyonları Mueller-Hinton Broth (MHB, Merck) besiyerinde yapılmıştır. Seyreltilmiş örnekler steril U plakların her bir kuyucuğuna birinci kuyucuktan son kuyucuğaya kadar ilave edildikten sonra üzerlerine 10<sup>6</sup> kob/ml yoğunlukta bakteri süspansiyonları aşılana ve pozitif kontrol olarak değerlendirilmiştir. Plakların son sırasına ise negatif kontrol olarak sadece %8 konsantrasyonda etken maddeyi içeren MHB'den 200µl ilave edilmiştir. Daha sonra her bir kuyucuğaya 20µl 10<sup>6</sup> kob/ml bakteri süspansiyonu aşılanaştır. Plaklar 37°C'de 24 saat inkübe edildikten sonra her bir kuyucuğaya 20 µl %1'lik steril tetrazolium klorür aşılana 20 dk bekletildikten sonra üremenin olduğu kuyucuklarda oluşan pembe-kırmızı renk değişimi gözlenmiştir. Renk değişiminin gözlendiği son konsantrasyon dahil olmak üzere sonraki iki konsantrasyondan TSA içeren petrilere 5µl hacimde damla ekim yöntemi ile ekim yapılmış ve 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Ardından üremenin olup olmadığı kontrol edilerek Minimum İnhibitör Konsantrasyon değerleri belirlenmiştir (EUCAST, 2015).

### 2.3. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler, Minitab 17,0 programında Display Statistics metodu ile yapılmıştır. Sonuçlar aritmetik ortalama  $\pm$  standart sapma olarak verilmiştir.

### 3. Araştırma Bulguları ve Tartışma

Bu çalışmada *Origanum onites*, *Thymus* spp., *Nigella sativa* ticari uçucu yağları ile *Nigella sativa* ve *Origanum vulgare* türlerine ait farklı çözücülerle elde edilen ekstraktların ve klinik izolatlarla karşı kullanılan ticari antibiyotiklerin antimikrobiyal aktiviteleri belirlenmiştir. Araştırmada kullanılan klinik izolatlarla ait Disk Difüzyon ve MİK bulguları aşağıda bir sıra dahilinde verilmiştir.

#### 3.1. Çalışmada Kullanılan Klinik İzolatlarla Ait Disk Difüzyon Bulguları

*Bacillus cereus* ATCC 14579 ve *Bacillus cereus* JCM 2152 klinik izolatlarına karşı ticari uçucu yağların, çalışmada elde edilen farklı ekstraktların ve antibiyotiklerin inhibisyon zon değerleri Çizelge 1'de verilmiştir.

Çizelge1. *Bacillus cereus* ATCC 14579 ve *Bacillus cereus* JCM 2152 izolatlarına ait disk difüzyon sonuçları (n:3)

Esansiyel Yağ ve Ekstraktlar	İnhibisyon Zonları (mm)	
	Klinik Bakteri	
	<i>Bacillus cereus</i> ATCC 14579	<i>Bacillus cereus</i> JCM 2152
Kekik-2 Yağı	36,88 $\pm$ 3,23	34,12 $\pm$ 1,25
Kekik-1 Yağı	25,50 $\pm$ 0,53	17,12 $\pm$ 0,83
Çörek Otu Yağı	<6,00 $\pm$ 0,00	<6,00 $\pm$ 0,00
<i>Origanum vulgare</i> Etanol Ekstraktı	<6,00 $\pm$ 0,00	7,62 $\pm$ 1,77
<i>Origanum vulgare</i> Metanol Ekstraktı	<6,00 $\pm$ 0,00	8,50 $\pm$ 0,53
<i>Origanum vulgare</i> Aseton Ekstraktı	<6,00 $\pm$ 0,00	<6,00 $\pm$ 0,00
<i>Origanum vulgare</i> Kloroform Ekstraktı	<6,00 $\pm$ 0,00	10,00 $\pm$ 0,00
<i>Origanum vulgare</i> Su Ekstraktı	<6,00 $\pm$ 0,00	<6,00 $\pm$ 0,00
<i>Nigella sativa</i> Etanol Ekstraktı	<6,00 $\pm$ 0,00	6,50 $\pm$ 0,53
<i>Nigella sativa</i> Metanol Ekstraktı	<6,00 $\pm$ 0,00	7,00 $\pm$ 0,00
<i>Nigella sativa</i> Aseton Ekstraktı	<6,00 $\pm$ 0,00	6,50 $\pm$ 0,53
<i>Nigella sativa</i> Kloroform Ekstraktı	8,00 $\pm$ 0,53	7,37 $\pm$ 0,52
<i>Nigella sativa</i> Su Ekstraktı	<6,00 $\pm$ 0,00	<6,00 $\pm$ 0,00
Etanol	<6,00 $\pm$ 0,00	7,87 $\pm$ 0,83
Metanol	<6,00 $\pm$ 0,00	<6,00 $\pm$ 0,00
Aseton	<6,00 $\pm$ 0,00	<6,00 $\pm$ 0,00
Kloroform	<6,00 $\pm$ 0,00	8,00 $\pm$ 0,00
Gentamicin (CN10) (10 $\mu$ g)	19,62 $\pm$ 0,52	<6,00 $\pm$ 0,00
Chloramphenicol (C30) (30 $\mu$ g)	20,50 $\pm$ 2,93	23,12 $\pm$ 0,35
Tetracycline (TE30) (30 $\mu$ g)	17,62 $\pm$ 2,26	8,50 $\pm$ 0,53
Ampicillin (A10) (10 mcg/Disk)	<6,00 $\pm$ 0,01	35,00 $\pm$ 0,00
Pencillin-G (P10) (10 Units/Disk)	7,62 $\pm$ 1,77	28,50 $\pm$ 0,53

Araştırma bulgularına göre; *Bacillus cereus* ATCC ve *Bacillus cereus* JCM izolatlarına karşı en etkili ticari yağlar sırasıyla kekik-2 ve kekik-1 olmuştur. İnhibisyon zon çapları sırasıyla, 36,88 mm ve 34,12

mm ve 25,50 mm ve 17,12 mm olarak belirlenmiştir. Antibiyotiklerden sadece Chloramphenicol her iki izolata etkili bulunmuş ancak bu etkinlik kekik-2 yağının gerisinde kalmıştır. Çalışmada farklı çözücüler kullanılarak elde edilen ekstraksiyonların hemen hepsinin izolatları kontrol etmede yetersiz olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 1).

*Enterococcus faecalis* klinik izolatına karşı yine araştırmada kullanılan ticari yağlar, ekstraktların ve ticari antibiyotiklerin inhibisyon zon çapları Çizelge 2’de verilmiştir.

Çizelge 2. *Enterococcus faecalis* klinik izolatına ait disk difüzyon sonuçları (n:3)

Esansiyel Yağ ve Ekstraktlar	İnhibisyon Zonları (mm)
	Klinik Bakteri <i>Enterococcus faecalis</i>
Kekik-2 Yağı	38,88±2,95
Kekik-1 Yağı	17,00±0,76
Çörek Otu Yağı	<6,00±0,00
<i>Origanum vulgare</i> Etanol Ekstraktı	<6,00±0,00
<i>Origanum vulgare</i> Metanol Ekstraktı	<6,00±0,00
<i>Origanum vulgare</i> Aseton Ekstraktı	<6,00±0,00
<i>Origanum vulgare</i> Kloroform Ekstraktı	9,12±0,83
<i>Origanum vulgare</i> Su Ekstraktı	<6,00±0,00
<i>Nigella sativa</i> Etanol Ekstraktı	7,75±0,46
<i>Nigella sativa</i> Metanol Ekstraktı	<6,00±0,00
<i>Nigella sativa</i> Aseton Ekstraktı	<6,00±0,00
<i>Nigella sativa</i> Kloroform Ekstraktı	8,00±0,00
<i>Nigella sativa</i> Su Ekstraktı	<6,00±0,00
Etanol	<6,00±0,00
Metanol	<6,00±0,00
Aseton	<6,00±0,00
Kloroform	7,25±1,03
Cefixime (CFM5) (5µg)	8,00±0,00
Fosfomycin/Trometamol (FOT200)(200µg)	16,00±1,31
Amoxycillin (AML25) (25µg)	<6,00±0,00
Ampicillin (A10) (10 mcg / Disk)	<6,00±0,00
Linezolid (LZD30) (30µg)	<6,00±0,00
Penisilin-G (P10) (10 Units/Disk)	<6,00±0,00

Çalışmada *Enterococcus faecalis* klinik izolatına karşı da kekik-2 ve kekik-1 uçucu yağından inhibisyon zon değeri bakımından olumlu sonuçlar elde edilmiştir. Kekik-2 ve kekik-1 uçucu yağlarından sırasıyla 38,88 mm ve 17,00 mm inhibisyon zon değerleri elde edilmiştir. Araştırmada bu izolata karşı kullanılan ticari antibiyotiklerden sadece Fosfomycin/Trometamol 16,00 mm’lik inhibisyon zon değeri ile antibakteriyel aktivite göstermiş ancak bu aktivite özellikle kekik-2 uçucu yağına göre biraz daha düşük bulunmuştur.

*Escherichia fergusonii* ATCC 3546, *Escherichia coli* NBRC 102203 ve *Escherichia fergusonii* NBRC 102419 klinik izolatlarına karşı ticari uçucu yağlarının, elde edilen ekstraktların ve antibiyotiklerin inhibisyon zon değerleri Çizelge 3’de *Pseudomonas mendocina* ATCC 25411, *Pseudomonas aeruginosa*

SNP 0614, *Pseudomonas aeruginosa* DSM 50071 klinik izolatlarına ait inhibisyon zon değerleri ise Çizelge 4'de verilmiştir.

Tablo 3. *Escherichia* spp. klinik izolatlarına ait disk difüzyon sonuçları (n:3)

Esansiyel Yağ ve Ekstraktlar	İnhibisyon Zonları (mm)		
	Klinik Bakteri		
	<i>Escherichia fergusonii</i> ATCC 35469	<i>Escherichia coli</i> NBRC 102203	<i>Escherichia fergusonii</i> NBRC 102419
Kekik-2 Yağı	28,62±2,13	31,87±0,64	51,63±4,50
Kekik-1 Yağı	20,00±1,07	19,12±1,81	22,12±1,25
Çörek Otu Yağı	<6,00±0,00	<6,00±0,00	<6,00±0,00
<i>Origanum vulgare</i> Etanol Ekstraktı	7,62±0,52	7,00±0,00	7,00±0,00
<i>Origanum vulgare</i> Metanol Ekstraktı	6,37±0,52	6,50±0,53	<6,00±0,00
<i>Origanum vulgare</i> Aseton Ekstraktı	6,50±0,53	6,50±0,53	<6,00±0,00
<i>Origanum vulgare</i> Kloroform Ekstraktı	8,87±0,64	8,87±0,35	8,87±0,83
<i>Origanum vulgare</i> Su Ekstraktı	<6,00±0,00	<6,00±0,00	<6,00±0,00
<i>Nigella sativa</i> Etanol Ekstraktı	8,00±0,00	11,13±2,85	<6,00±0,00
<i>Nigella sativa</i> Metanol Ekstraktı	9,00±0,00	8,50±0,53	6,50±0,53
<i>Nigella sativa</i> Aseton Ekstraktı	6,87±0,99	<6,00±0,00	<6,00±0,00
<i>Nigella sativa</i> Kloroform Ekstraktı	7,62±0,77	9,12±0,35	7,75±0,91
<i>Nigella sativa</i> Su Ekstraktı	<6,00±0,00	<6,00±0,00	9,50±2,27
Etanol	7,50±0,76	7,62±0,74	10,00±0,19
Metanol	7,87±1,36	8,00±2,14	6,37±0,52
Aseton	<6,00±0,00	6,87±0,99	8,00±2,14
Kloroform	7,50±0,76	8,50±0,53	9,00±0,00
Fosfomycin/Trometamol	25,00±0,01	23,00±0,01	24,00±0,01
(FOT200) (200µg)			
Cefixime (CFM5) (5µg)	<6,00±0,00	<6,00±0,00	<6,00±0,00
Vancomycin VA30 (30 mcg/disk)	<6,00±0,00	<6,00±0,00	<6,00±0,00
Tetracycline (TE30) (30µg)	<6,00±0,00	8,00±0,00	<6,00±0,00
Ampicillin (A10) (10 mcg / Disk)	<6,00±0,00	8,87±0,35	<6,00±0,00
Amoxycillin(AML25) (25µg)	<6,00±0,00	<6,00±0,00	<6,00±0,00

Tablo 4. *Pseudomonas* spp. klinik izolatlarına ait disk difüzyon sonuçları (n:3)

	İnhibisyon Zonları (mm)		
	Klinik Bakteri		
Esansiyel Yağ ve Ekstraktlar	<i>Pseudomonas mendocina</i> ATCC 25411	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> SNP 0614	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> DSM 50071
Kekik-2 Yağı	<6,00±0,00	7,00±1,07	<6,00±0,00
Kekik-1 Yağı	<6,00±0,00	<6,00±0,00	<6,00±0,00
Çörek Otu Yağı	<6,00±0,00	<6,00±0,00	<6,00±0,00
<i>Origanum vulgare</i> Etanol Ekstraktı	6,62±0,74	7,12±0,35	<6,00±0,00
<i>Origanum vulgare</i> Metanol Ekstraktı	<6,00±0,00	6,62±0,74	<6,00±0,00
<i>Origanum vulgare</i> Aseton Ekstraktı	<6,00±0,00	<6,00±0,00	<6,00±0,00
<i>Origanum vulgare</i> Kloroform Ekstraktı	9,00±0,00	9,50±0,53	9,00±0,00
<i>Origanum vulgare</i> Su Ekstraktı	<6,00±0,00	<6,00±0,00	<6,00±0,00
<i>Nigella sativa</i> Etanol Ekstraktı	7,50±1,60	9,00±0,00	<6,00±0,00
<i>Nigella sativa</i> Metanol Ekstraktı	<6,00±0,00	7,25±0,71	<6,00±0,00
<i>Nigella sativa</i> Aseton Ekstraktı	<6,00±0,00	7,75±0,46	<6,00±0,00
<i>Nigella sativa</i> Kloroform Ekstraktı	8,25±0,46	9,87±0,35	8,00±1,07
<i>Nigella sativa</i> Su Ekstraktı	<6,00±0,00	<6,00±0,00	<6,00±0,00
Etanol	7,12±1,25	8,12±1,25	7,00±1,07
Metanol	8,00±1,07	<6,00±0,00	6,62±0,74
Aseton	6,37±0,52	7,00±1,07	<6,00±0,00
Kloroform	8,37±0,52	8,50±0,53	7,75±0,46
Tetracycline (TE30) (30µg)	<6,00±0,01	<6,00±0,00	10,00±0,01
Fosfomycin/Trometamol (FOT200) (200µg)	<6,00±0,00	<6,00±0,00	15,37±1,19
Amoxycillin(AML25)(25µg)	<6,00±0,00	<6,00±0,00	<6,00±0,00
Cefixime (CFM5) (5µg)	9,37±0,52	15,00±0,53	<6,00±0,00
Vancomycin (VA30) (30 mcg/disk)	<6,00±0,00	<6,00±0,00	<6,00±0,00
Ampicillin (A10) (10 mcg/Disk)	<6,00±0,00	<6,00±0,00	<6,00±0,00

Araştırma bulgularında etkili bulunan kekik-2 ve kekik-1 esansiyel yağlarından elde edilen inhibisyon zon çapı değerlerinin sırasıyla *Escherichia fergusonii* ATCC 35469 için 28,62 mm ile 20,00 mm, *Escherichia coli* NBRC 102203 için 31,87 mm ile 19,12 mm ve *Escherichia fergusonii* NBRC 102419 için 51,63 mm ile 22,12 mm olduğu belirlenmiştir. Her üç klinik izolata da sadece Fosfomycin/Trometamol antibiyotiği etkili olmuş ancak bu etkinlik yine kekik-2 uçucu yağından elde edilen değerlerden daha düşük bulunmuştur.

Çalışmada kullanılan ticari uçucu yağ, ekstraktlar ve antibiyotiklerin *Pseudomonas* spp. klinik izolatlarına karşı dikkate değer bir etkinliğe sahip olmadığı belirlenmiştir.

*Proteus mirabilis* ATCC 29906 ve *Serratia marcescens* JCM 1239 klinik izolatlarına karşı ticari uçucu yağ, ekstraktlar ve antibiyotiklerin inhibisyon zon değerleri sırasıyla Çizelge 5 ve Çizelge 6' da verilmiştir.

Çizelge 5. *Proteus mirabilis* ATCC 29906 klinik izolatına ait disk difüzyon sonuçları (n:3)

Esansiyel Yağ ve Ekstraktlar	İnhibisyon Zonları (mm)
	Klinik Bakteri
	<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 29906
Kekik-2 Yağı	32,25±3,81
Kekik-1 Yağı	19,37±1,51
Çörek Otu Yağı	<6,00±0,00
<i>Origanum vulgare</i> Etanol Ekstraktı	7,50±0,92
<i>Origanum vulgare</i> Metanol Ekstraktı	<6,00±0,00
<i>Origanum vulgare</i> Aseton Ekstraktı	6,50±0,53
<i>Origanum vulgare</i> Kloroform Ekstraktı	8,87±0,35
<i>Origanum vulgare</i> Su Ekstraktı	<6,00±0,00
<i>Nigella sativa</i> Etanol Ekstraktı	<6,00±0,00
<i>Nigella sativa</i> Metanol Ekstraktı	<6,00±0,00
<i>Nigella sativa</i> Aseton Ekstraktı	<6,00±0,00
<i>Nigella sativa</i> Kloroform Ekstraktı	<6,00±0,00
<i>Nigella sativa</i> Su Ekstraktı	<6,00±0,00
Etanol	7,37 ± 1,51
Metanol	<6,00±0,00
Aseton	<6,00±0,00
Kloroform	9,12±0,35
Cefixime (CFM5) (5µg)	31,50±0,53
Fosfomycin/Trometamol (FOT200)(200µg)	22,25±0,46
Amoxycillin (AML25) (25µg)	13,00±0,00
Tetracycline (TE30) (30µg)	9,50±0,53
Vancomycin VA30 (30 mcg/disk)	<6,00±0,00



Çizelge 6. *Serratia marcescens* JCM 1239 klinik izolatına ait disk difüzyon sonuçları (n:3)

Esansiyel Yağ ve Ekstraktlar	İnhibisyon Zonları (mm)
	Klinik Bakteri
	<i>Serratia marcescens</i> JCM 1239
Kekik-2 Yağı	33,38±7,42
Kekik-1 Yağı	15,25±0,46
Çörek Otu Yağı	<6,00±0,00
<i>Origanum vulgare</i> Etanol Ekstraktı	7,62±0,74
<i>Origanum vulgare</i> Metanol Ekstraktı	<6,00±0,00
<i>Origanum vulgare</i> Aseton Ekstraktı	6,50±0,76
<i>Origanum vulgare</i> Kloroform Ekstraktı	9,00±0,00
<i>Origanum vulgare</i> Su Ekstraktı	<6,00±0,00
<i>Nigella sativa</i> Etanol Ekstarktı	7,62±0,74
<i>Nigella sativa</i> Metanol Ekstraktı	7,75±1,91
<i>Nigella sativa</i> Aseton Ekstarktı	<6,00±0,00
<i>Nigella sativa</i> Kloroform Ekstraktı	<6,00±0,00
<i>Nigella sativa</i> Su Ekstraktı	<6,00±0,00
Etanol	8,00±0,00
Metanol	<6,00±0,00
Aseton	<6,00±0,00
Kloroform	<6,00±0,00
Kanamycin (K30) (30mcg/disk)	9,75±0,46
Gentamicin (CN10) (10µg)	9,75±1,16
Ampicillin (A10) (10 mcg / Disk)	<6,00±0,00
Amoxycillin (AML25) (25µg)	<6,00±0,00
Tetracycline (TE30) (30µg)	9,50±0,53

*Proteus mirabilis* ATCC 29906 ve *Serratia marcescens* JCM 1239 klinik izolatlarına karşı denenen ticari uçucu yağ, ekstraksiyon ve antibiyotiklerden elde edilen en yüksek değerler sırasıyla 32,25 mm ve 33,38 mm olarak yine kekik-2 uçucu yağından elde edilmiş olup *Serratia marcescens* JCM 1239 klinik izolatı için kullanılan antibiyotiklerden hiç biri dikkate değer bir antibakteriyel aktivite sergilememiştir.

### 3.2. Çalışmada Kullanılan Klinik İzolatlara Ait MİK Bulguları

Araştırmada klinik izolatlara karşı denenen ticari yağ ve ekstraktlardan genel olarak yüksek inhibisyon zonu veren kekik-2 ve kekik-1 uçucu yağlarının klinik izolatlara karşı Minimum İnhibitör Konsantrasyon değerleri tespit edilmiş ve MİK bulguları Çizelge 7’de verilmiştir. Çalışmada denenen ticari ve uçucu yağlardan *Pseudomonas* genusuna ait klinik izolatlara karşı yeterli antibakteriyel aktivite tespit edilemediğinden üç farklı *Pseudomonas* klinik izolatı için MİK çalışması yapılmamıştır.

Çizelge 7. Klinik İzolatlarla karşı etkili olan kekik-2 ve kekik-1 esansiyel yağlarının MİK değerleri (n:3)

Mikroorganizma	Esansiyel Yağlar	
	Kekik-2	Kekik-1
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 14579	%0,50±0,00	%0,75±0,29
<i>Bacillus cereus</i> JCM 2152	%0,50±0,00	%1,00±0,00
<i>Escherichia fergusonii</i> ATCC 35469	%0,19±0,07	%2,00±0,00
<i>Escherichia fergusonii</i> NBRC 102419	%0,25±0,00	%1,50±0,58
<i>Escherichia coli</i> NBRC 102203	%0,25±0,00	%1,00±0,00
<i>Enterococcus faecalis</i>	%0,25±0,00	%1,00±0,00
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 29906	%0,25±0,00	%1,00±0,00
<i>Serratia marcescens</i> JCM 1239	%0,50±0,00	%1,50±0,58

Araştırmada kekik-2 den elde edilen MİK değerleri %0,19±0,07 ile %0,50±0,00 arasında ve kekik-1 den elde edilen MİK değerleri ise %0,75±0,29 ile %2,00±0,00 arasında tespit edilmiştir.

#### 4. Tartışma ve Sonuç

Sagdic ve ark. (2009), *Thymus argaeus* esansiyel yağının 20 mL L<sup>-1</sup> ve 10 mL L<sup>-1</sup> hacimlerinden *Bacillus cereus* bakterisine karşı sırasıyla, 10,00 mm ve 9,00 mm inhibisyon zon çapı elde etmişlerdir. Ahmadi ve ark. (2015), *Thymus kotschyanus* esansiyel yağından *Bacillus cereus* bakterisine karşı 20 µl/disk, 10 µl/disk, 5 µl/disk, 2,5 µl/disk, 1,25 µl/disk, 0,63 µl/disk, 0,31 µl/disk ve 0,16 µl/disk konsantrasyonlarında inhibisyon zon çaplarını sırasıyla, 34,70 mm, 26,30 mm, 15,30 mm, 7,90 mm, 7,50 mm, 6,80 mm, 6,90 mm ve 6,30 mm olarak tespit etmişlerdir. Rusenova ve Parvanov (2009), *Thymus vulgaris* esansiyel yağından *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 suşuna karşı 31,70 mm, Ekren ve ark. (2013), *Origanum onites* L. esansiyel yağından *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 suşuna karşı 15 µl ve 20 µl hacimde 8,00 mm inhibisyon zon çapı elde etmişlerdir. Al-Judaibi (2015), *Thymus vulgaris* bitkisinin metanol, etanol ve sulu ekstraktlarından *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 suşuna karşı sırasıyla, 27,20 mm, 20,50 mm ve 17,80 mm inhibisyon zon çapı değerlerini tespit etmiştir. Borugã ve ark. (2014), *Thymus vulgaris* esansiyel yağının *E. coli* ATCC 25922 suşuna karşı 5 µl, 10 µl, 15 µl ve 20 µl hacimde meydana getirdiği inhibisyon zon çaplarını sırasıyla 14,63 mm, 19,82 mm, 30,67 mm ve 34,99 mm olarak bulmuşlardır. Asbaghian ve ark. (2014), *Thymus vulgaris* ve *Thymus kotschyanus* esansiyel yağlarından *Escherichia coli* bakterisine karşı elde ettikleri inhibisyon zon çapları sırasıyla 20,00 mm ve 25,00 mm olmuştur. Al-Judaibi (2015), *Thymus vulgaris* bitkisinin metanol, etanol ve su ekstraktlarının *Escherichia coli* ATCC 8239 suşuna karşı sırasıyla, 34,10 mm, 32,90 mm ve 24,90 mm inhibisyon zonu meydana getirdiğini belirtmiştir. Esen ve ark. (2007), üç farklı bölgeden elde edilen *Origanum vulgare* subsp. *hirtum* (Link) Ietswaart esansiyel yağından *Pseudomonas aeruginosa* bakterisine karşı 11,00 mm, *Origanum vulgare* metanol ekstraktından ise *Pseudomonas aeruginosa* SNP 0614 suşuna karşı 6,62 mm inhibisyon zon çapı elde etmişlerdir. *Pseudomonas aeruginosa* DSM 50071 ve *Pseudomonas mendocina* ATCC 25411 suşlarına karşı ise inhibisyon zonu tespit edememişlerdir. Mekonnen ve ark. (2015), *Thymus schimperii* esansiyel yağının *Pseudomonas aeruginosa* bakterisine karşı 16,00 mm inhibisyon zonu verdiğini bildirmişlerdir. Soković ve ark. (2007), *Thymus vulgaris* esansiyel yağının *Proteus mirabilis* suşuna karşı 18,00 mm, Rusenova ve Parvanov (2009), *Thymus vulgaris* esansiyel yağının *Proteus mirabilis* suşuna karşı 39,00 mm inhibisyon zonu verdiğini belirtmişlerdir. Al-Maqtari ve ark. (2011), *Thymus vulgaris* esansiyel yağından *Proteus mirabilis* klinik izolatına karşı 29,40 mm inhibisyon zon çapı tespit etmişlerdir. Al-Judaibi (2015), *Thymus vulgaris* bitkisinin metanol, etanol ve su ekstraktlarının *Proteus mirabilis* ATCC 35659 suşuna karşı sırasıyla, 26,80 mm, 24,90 mm ve 16,70 mm inhibisyon zonu oluşturduğunu bildirmiştir.

Araştırma sonuçlarımıza göre; en yüksek inhibisyon zon çapları kekik-2 esansiyel yağından elde edilmiş olup *Escherichia fergusonii* NBRC 102419 klinik izolatı için 51,63 mm, *Enterococcus faecalis* için 38,88 mm olarak belirlenmiştir. Kekik-2 esansiyel yağından sonra etkili olan kekik-1 esansiyel yağından *Bacillus cereus* ATCC 14579 klinik izolatına karşı 25,50 mm, *Escherichia fergusonii* NBRC 102419 izolatına karşı 22,12 mm inhibisyon zon çapları elde edilmiştir. Bulgulara göre en düşük Minimum

İnhibitör Konsantrasyon değerleri kekik-2 esansiyel yağından elde edilmiş olup bunu kekik-1 esansiyel yağı takip etmiştir. En düşük MİK değerleri kekik-2 esansiyel yağından *Escherichia fergusonii* ATCC 35469 için %0,19 (v/v), kekik-1 esansiyel yağından *Bacillus cereus* ATCC 14579 için %0,75 (v/v) olarak belirlenmiştir. Antimikrobiyal aktivite sonuçları genel olarak değerlendirildiğinde, kekik-2 ve kekik-1 uçucu yağlarının *Pseudomonas* spp. türleri hariç araştırmada denenen diğer tüm klinik izolatlara karşı birçok antibiyotikten daha etkili olduğu belirlenmiştir.

Birçok mikroorganizmanın mevcut antibiyotiklerin birçoğuna karşı direnç geliştirdiği ve bunun insan sağlığı için büyük bir tehdit oluşturduğu günümüzde; araştırma sonuçlarımızın literatüre ve daha ileri araştırmaların yürütülmesine katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

## Kaynaklar

- Abu-Al-Basal M. A., 2009. *In vitro* and *In vivo* Anti-Microbial Effects of *Nigella sativa* Linn. Seed Extracts Against Clinical Isolates from Skin Wound Infections. *American Journal of Applied Sciences*, 6 (8): 1440-1447.
- Ahmadi R., Alizadeh A., Ketabchi S., 2015. Antimicrobial Activity of the Essential Oil of *Thymus kotschyanus* Grown Wild in Iran. *International Journal of Biosciences*, 6: 239 – 248.
- Akthar M. S., Degaga B., Azam T., 2014. Antimicrobial Activity of Essential oils Extracted from Medicinal Plants Against the Pathogenic Microorganisms: A Review. *Issues in Biological Sciences and Pharmaceutical Research*. 2 (1): 001-007.
- Al.Maqtari M. A. A., Alghalibi S. M., Alhamzy E. H., 2011. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Essential Oil of *Thymus vulgaris* from Yemen. *Turkish Journal of Biochemistry*, 36 (4); 342 – 349.
- Al-Judaibi A., 2015. Comparative Study of Plant Extracts as Broad-Spectrum Antibacterial Agents. *International Journal of Engineering and Science*, Vol. 5, pp. 27 – 33.
- Asbaghian S. Sh., Novruzov E. N., Fattah A., 2014. Antibacterial Effect Of Essential Oils From Medicinal Plants. *AMEA-nın Xəbərləri*, 69: 22 – 26.
- Bajpai K. V., Sharma A., Baek K., 2013. Antibacterial Mode of Action of *Cudrania tricuspidata* Fruit Essential Oil, Affecting Membrane Permeability and Surface Characteristics of Food-Borne Pathogens. *Food Control*, 32: 582 – 590.
- Bajpai, M., Pande A., Tewari S. K., Prakash D., (2005). Phenolic Contents and Antioxidant Activity of Some Food and Medicinal Plants. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 56 (4): 287-297.
- Belmekki N., Bendimerad N., Bekhechi C., Fernandez X., 2013. Chemical Analysis and Antimicrobial Activity of *Teucrium polium* L. Essential Oil from Western Algeria. *Academic Journals*, 7 (14): 897-902.
- Borugã O., Jianu C., Mișcă C., Golet I., Gruia A. T., Horhat F. G., 2014. *Thymus vulgaris* Essential Oil: Chemical Composition and Antimicrobial Activity. *Journal of Medicine and Life*, Vol. 7, Special Issue 3, 56 – 60.
- Colak A., Meriçli Yapıcı B., 2018. Investigation Antibacterial Activity of Various Essential Oils against Seven Different Clinical Isolates. *International Journal of Scientific and Technological Research*, 4, 46-53.
- Conner D. E., 1993. Naturally Occurring Compounds. In *Antimicrobials in Foods*, 441-468.
- Deans S. G., Ritchie G., 1987. Antibacterial Properties of Plant Essential Oils. *Int. J. Food Microbiol.*, 5: 165-180.

- Ekren S., Yerlikaya O., Tokul H. E., Akpınar A. ve Açu M., 2013. Chemical Composition, Antimicrobial Activity and Antioxidant Capacity of Some Medicinal and Aromatic Plant Extract. *African Journal of Microbiology Research*, Vol. 7(5), pp. 383 – 388.
- EUCAST, (2015). Antimikrobik Duyarlılık Testine Yönelik EUCAST Disk Difüzyon Yöntemi. Sürüm 5.0, Ocak.
- Esen G., Azaz A. D., Kurkcuoğlu M., Baser K. H. C. ve Tinmaz A., 2007. Essential Oil and Antimicrobial Activity of Wild and Cultivated *Origanum vulgare* L. subsp. *hirtum* (Link) Letswaart from the Marmara Region, Turkey. *Flavour and Fragrance Journal*, 22: 371 – 376.
- Jaberian H., Piri K., Nazari J., 2013. Phytochemical Composition and in Vitro Antimicrobial and Antioxidant Activities of Some Medicinal Plants. *Food Chemistry*, 136: 237 - 244.
- Janssen A. M., Sheffer J. J. C., Baerheim-Svendsen A., 1987. Antimicrobial Activity of Essential Oils: A 1976, 1986 Literature Review: Aspects of the Test Methods. *Planta Med.* 53: 395-398.
- Kokoska L., Havlík J., Valterova I., Sovova H., Sajertova M. ve Jankovska I., 2008. Comparison of Chemical Composition and Antibacterial Activity of *Nigella sativa* Seed Essential Oils Obtained by Different Extraction Methods. *Journal of Food Protection*, Vol.71, No:12, 2475-2480.
- Kurita N., Miyaji M., Kurane R., Takahara Y., 1981. Antifungal Activity of Components of Essential Oils. *Agric. Biol. Chem.*, 45: 945-952.
- Mekonnen A., Yitayew B., Tesema A. ve Taddese S., 2015. *In Vitro* Antimicrobial Activity of Essential Oil of *Thymus schimperi*, *Matricaria chamomilla*, *Eucalyptus globulus*, and *Rosmarinus officinalis*. *International Journal of Microbiology*, 2016: 1 – 8.
- Ojeda-Sana A. M., Van Baren C. M., Elechosa M. A., Juarez M. A., Moreno S., 2013. New Insights into Antibacterial and Antioxidant Activities of Rosemary Essential Oils and Their Main Components. *Food Control*, 31: 189-195.
- Oka Y., Nacar S., Putievsky E., Ravid U., Yaniv Z., Spiegel Y., 2000. Nematicidal Activity of Essential Oils and Their Components Against the Root-Knot Nematode. *Phytopathology*, 90 (7): 710-715.
- Ruiz-Navajaz Y., Viuda-Martos M., Sendra E., Perez-Alvarez J. A., Fernández-López J., 2012. Chemical Characterization and Antibacterial Activity of *Thymus moroderi* and *Thymus piperella* essential oils, Two *Thymus* Endemic Species From Southeast of Spain. *Food Control*, 27, 294-299.
- Rusenova N., Parvanov P., 2009. Antimicrobial Activities of Twelve Essential Oils Against Microorganisms of Veterinary Importance. *Trakia Journal of Science*, Vol.7, No.1, pp. 37 – 43.
- Saeed S., Tariq P., 2008. *In Vitro* Antibacterial Activity of Clove Against Gram Negative Bacteria. *Pakistan Journal of Botany*, 40 (5): 2157-2160.
- Sagdic O., Ozkan G., Aksoy A. ve Yetim H., 2009. Bioactivities of Essential Oil and Extract of *Thymus argaeus*, Turkish Endemic Wild Thyme. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89: 791 – 795.
- Sivropoulou A., Papanikolaou E., Nikolaou C., Kokkini S., Lanaras T., Arsenakis M., 1996. Antimicrobial and Cytotoxic Activities of *Origanum* Essential Oils. *J. Agric. Food Chem.*, 44, 1202-1205.
- Soković M., Marin P. D., Brkić D., Van Griensven L. J. L. D., 2007. Chemical Composition and Antibacterial Activity of Essential Oils of Ten Aromatic Plants against Human Pathogenic Bacteria. *Food*, 1(1): x – y.