

## Türkiye’de yetişen *Equisetum arvense*, *Plantago lanceolata* ve *Olea europaea* yaprağından elde edilen ticari ekstraktların in-vitro antibakteriyel aktivitelerinin araştırılması

### Investigation of in-vitro antibacterial activities of commercial extracts prepared from *Equisetum arvense*, *Plantago lanceolata* and *Olea europaea* leaf grown in Turkey

Şinasi AŞKAR<sup>1</sup>, Şeyma Nur DEVEBOYNU<sup>1</sup>

#### ÖZET

**Amaç:** Bitkiler yüzyıllardır enfeksiyon hastalıklarının tedavisi dahil olmak üzere birçok hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır. Son yıllarda patojen mikroorganizmalara karşı kullanılan antibakteriyel maddelere direncin artmasıyla yeni bitki kaynaklı antibakteriyel madde arayışı artmıştır. Bu çalışmada, Türkiye’de yetişen *Equisetum arvense*, *Plantago lanceolata* ve *Olea europaea* yaprağından elde edilen ticari bitki ekstraktlarının, nozokomiyal enfeksiyonların etiolojisinde de yer alan bazı Gram pozitif ve Gram negatif bakterilere karşı in-vitro antibakteriyel aktivitelerinin ve minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerlerinin araştırılması amaçlandı.

**Yöntem:** Etanol ekstraksiyonu ile elde edilmiş ticari bitki ekstraktlarının, Genişlemiş Spektrumlu Beta Laktamaz (GSBL) üreten *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis* ve Metisilin Dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) türlerine karşı antibakteriyel aktivitesi disk difüzyon ve MİK değeri sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile araştırıldı.

**Bulgular:** Disk difüzyon sonuçlarına göre, tüm bitki ekstraktlarının (6.24 mg/disk) yalnızca MRSA’ya karşı

#### ABSTRACT

**Objective:** Because of increased resistance to antibacterial agents used against pathogenic microorganisms, researches about new plant derived antibacterial agents were increase in recent years. In this study it was aimed to investigate the in-vitro antibacterial activities and minimal inhibitory concentrations of some commercial plant extracts (*Equisetum arvense*, *Plantago lanceolata* and *Olea europaea* leaf) on some Gram positive and Gram negative bacteria which are the cause of nosocomial infections.

**Methods:** Antibacterial activity and minimum inhibitory concentration (MIC) value of commercial plant extracts obtained by ethanol extractions against Extended Spectrum Beta Lactamase (ESBL) producing *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis*, Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) were determined by disk diffusion and broth microdilution methods.

**Results:** According to the disc-diffusion method results it was determined that all the plant extracts (6.24 µg/disc) had antibacterial activity only on MRSA in different levels. But it was found that all the plant

<sup>1</sup>Çankırı Karatekin Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Beslenme ve Diyetetik Bölümü, Çankırı



İletişim / Corresponding Author : Şinasi AŞKAR

Çankırı Karatekin Üni., Sağlık Bilimleri Fak., Beslenme ve Diyetetik Böl., 18200, Çankırı - Türkiye

Tel : +90 543 570 34 85

E-posta / E-mail : sinasia@gmail.com

Geliş Tarihi / Received : 06.06.2018

Kabul Tarihi / Accepted : 22.09.2018

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2018.53367

Aşkar Ş., Deveboynu Ş.N. Türkiye’de yetişen *Equisetum arvense*, *Plantago lanceolata* ve *Olea europaea* yaprağından elde edilen ticari ekstraktların in-vitro antibakteriyel aktivitelerinin araştırılması. Turk Hij Den Biyol Derg, 2019; 76(1): 85-92

farklı düzeylerde zon çapı oluşturduğu belirlendi. Sıvı mikrodilüsyon yöntemiyle ise tüm bitki ekstraktlarının bakteriler üzerinde farklı düzeyde MİK değerlerine sahip olduğu belirlendi. Her iki yöntemde de uygulanan eşit konsantrasyon değerlerinde sonuçlar uyumlu çıkarken, bitki türleri içerisinde en yüksek antibakteriyel aktivite *O. europaea* yaprak ekstraktında belirlendi ve en duyarlı bakterinin MRSA olduğu tespit edildi.

**Sonuç:** Çalışmada elde edilen sonuçlara göre başta *O. europaea* yaprağı ekstraktı olmak üzere, araştırılan bitki ekstraktlarının sağlık, farmasötik, kozmetik ve gıda endüstrisi gibi birçok alanda başta MRSA olmak üzere, genişlemiş spektrumlu beta laktamaz üreten *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *E. faecalis* türlerine karşı etkili olabileceği ve bu konuda yeni in vivo çalışmalara ihtiyaç olduğu sonucuna varılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Antibakteriyel aktivite, sıvı mikrodilüsyon, disk difüzyon, nozokomiyal

extracts had different MIC levels on all bacteria by broth microdilution method. And *O. europaea* extract showed the highest antibacterial activity in the two methods.

**Conclusion:** According to the results of this study, particularly *O. europaea* leaf extract, besides other tested plant extracts are thought to be effective against to MRSA, beta lactamase procuding *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *E. faecalis*. And this extracts may used in many areas like medicine and food industries. However it is concluded that there is need for further in-vivo studies.

**Key Words:** Anti-bacterial activity, broth microdilution, disc diffusion, nosocomial

## GİRİŞ

Bitkiler uzun zamandır insan sağlığını korumak için değerli bir kaynak olmuştur. Son yıllarda özellikle doğal tedaviler üzerine yoğun çalışmalar yapılmaktadır. Bitkilerin ikincil metabolizması sırasında oluşan metabolitler, birçok hastalığın tedavisinde uygulanmakta ancak bunların çok azı antimikrobiyal olarak kullanılmaktadır. Farmakolojik endüstriler yeni antibiyotikler ürettikleri halde, bu ilaçlara karşı mikroorganizmalar tarafından zamanla direnç gelişmektedir. Antimikrobiyal özelliklere sahip olduğu bilinen bitki ekstraktlarının terapötik tedavilerde kullanımı büyük önem taşımaktadır. Son zamanlarda, bitkilerin antimikrobiyal başta olmak üzere biyolojik aktiviteleriyle ilgili yapılan çalışmaların sayının arttığı gözlemlenmektedir (1, 2).

*Olea europea*, *Plantago lanceolata* ve *Equisetum arvense* Türkiye florasında yaygın bulunan bitkilerdir. Bu bitkilerin son yıllarda önemi artan çoklu antibiyotik

dirençli bakteriler üzerine antimikrobiyal aktiviteleri ile ilgili çok fazla çalışma bulunmamaktadır.

*Olea europaea* L. (Zeytin); *Oleaceae* familyasına ait bir ağaç olup, Akdeniz havzasında bulunan en önemli ve yaygın meyve türüdür. *O. europaea* yaprakları Akdeniz ülkelerinde binlerce yıldır geleneksel tedavide kullanılmaktadır. *O. europaea* yaprağı ekstraktının içeriğinde en fazla *oleopein* bulunmaktadır. Ayrıca verbaskosit, luteolin, apigenin, benzoik asit, kumarik asit, ferulik asit, kafeik asit maddelerinin bulunduğu da bildirilmiştir. Zeytin yaprağı polifenoller, antihipertansif, antidiyabetik, antikanserojenik, antiaterosklerotik ve antiinflamatuvar özellikleri gibi sağlığa yararlı etkileriyle araştırmalara konu olmaktadır (3-5).

*Plantago lanceolata* L. (Sinirli ot); *Plantaginaceae* familyasına ait dünya genelinde yetişen çok yıllık bir bitkidir. Halk arasında “damar otu” veya “sinir

otu” olarak da bilinir. Doğal olarak yetişir ve toprak üstündeki kısımları antienflamatuvar, diüretik ve astıma karşı geleneksel olarak kullanılmaktadır. *P. lanceolata* laksatif ve diüretik aktiviteli iridoidlerden catalpol, aucubin, asperuloside ve antienflamatuvar etkili flavonoidlerden apigenin, luteolin, aucubin içermektedir (6-8).

*Equisetum arvense* L. (Kırkkilit otu); *Equisetaceae* familyasında bulunan ve birçok kültürde geleneksel şifa kaynağı olarak bilinen en eski bitkilerden birisidir. *Equisetum arvense* halk arasında ‘atkuyruğu otu veya kırkkilit otu’ olarak bilinir. Kırkkilit otu geniş kullanım alanı olan bir bitkidir. Geleneksel olarak kanamayı durdurma, ülser ve yaraların iyileşmesi, tüberküloz, sarılık, hepatit ve böbrek hastalıklarının tedavisinde kullanılmaktadır. Çeşitli araştırmalarda da yangı giderici, aneljezik, antioksidan ve antikanserojen, karaciğer koruyucu, antidiyabetik ve koagülant-sıkılaştırıcı özellikleri olduğu rapor edilmiştir. Bu etkilerinde sekonder metabolit fenoliklerden flavanoidler ve fenolik asitler, alkaloidlerden equisetin, nikotin, palustrin, palustrinin ayrıca fitosteroller ve minerallerin etkili olduğu bildirilmiştir (9-11).

Bu araştırmada, Türkiye bitki florasından elde edilen *E. arvense*, *P. lanceolata* ve *O. europea* yaprağından etanol ekstraksiyon yöntemi ile elde edilmiş ticari ürünlerin çoklu antibiyotik dirençli genişlemiş spektrumlu beta laktamaz üreten *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, Metisilin Dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) ve *Enterococcus faecalis* üzerine antibakteriyel aktivitelerini ve minimum inhibisyon konsantrasyonlarını (MİK) belirlemek amaçlandı.

## GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışma 2014-2016 tarihleri arasında Çankırı Karatekin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarında gerçekleştirildi.

## Bitkiler ve bitki ekstraktları

Türkiye bitki florasına ait *Olea europaea* yaprağı, *Plantago lanceolata* ve *Equisetum arvense* bitkilerinden etanol ekstraksiyonu ile elde edilmiş ticari bitki ekstraktları (İmmu-Nat, Muğla/Türkiye) kullanıldı. Etken madde içeriği 312 mg/ml (w/v) olacak şekilde hazırlanmış ticari bitki ekstraktları 0.45 µm filtreler kullanılarak steril edildi ve antibakteriyel aktivite testleri yapılmaya kadar steril örnekler etiketlenerek 1,5 ml’lik eppendorf tüplere alınarak buzdolabında +4 °C’de saklandı.

## Bakteri suşları

Nozokomiyal enfeksiyonların en önemli etkenlerinden olan Gram negatif genişlemiş spektrumlu beta laktamaz (ESBL) *Escherichia coli* (ATCC 35218), *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 700603), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) ve Gram pozitif *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), MRSA (Klinik izolat) çalışmada kullanıldı. Tüm bakteri türleri Kırkkale Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı’ndan temin edilmiştir. Bakteriler antibakteriyel aktivite testlerine başlamadan önce nutrient broth (Merck-Cat No. 105443) da 37 °C’de 24 saat inkube edildikten sonra nutrient agara (Merck-Cat No. 105450) ekildi ve 37 °C’de 24 saat inkube edildi.

## Antibakteriyel aktivite testleri

Diskdifüzyon testi Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü talimatlarına uygun olarak yapıldı (12). Nutrient agarda (NA) üremiş bakteri kolonilerinden öze ile alınarak, Mueller- Hinton broth (Merck-Cat No. 110293) içerisinde bulanıklığı McFarland 0.5 ( $-1.5 \times 10^8$  cfu/ml)’e ayarlanmış bakteri süspansiyonları elde edildi ve Mueller-Hinton agar (Merck-Cat No. 105437) yüzeyine sıvı ile yayma ekim yapıldı. Takiben daha önce hazırlanan steril bitki ekstraktlarından en fazla boş disklere en fazla 20 µl (6,24 mg/disk) emdirildi ve daha sonra bu diskler kurutulup Mueller-Hinton agar yüzeyine yerleştirildi. Araştırmada Gentamisin (10 µg/disk, Bioanalyse-Cat No. ASD04301) diskleri referans antibiyotik olarak kullanıldı. Tüm örnekler üç paralelli çalışıldı. Besiyerleri 37 °C’de 20-24 saat

süreyle inkübasyona bırakıldı, süre sonunda 7 mm'den daha büyük olan inhibisyon zonları kaydedildi.

Sıvı mikrodilüsyon testi Klinik ve Laboratuvar Standartları Enstitüsü talimatlarına uygun olarak yapıldı (13). Mikropleytlerin tüm kuyucuklarına 100 µl katyon ayarlı Mueller-Hinton broth (BBL-Cat No. 296164) konuldu. Daha sonra kuyucuklara steril bitki ekstraktından 100 µl eklendi ve iki katlı seri sulandırma yapılarak 156 mg/ml ile 2,43 mg/ml sınırları arasında bitki ekstrakt konsantrasyonları elde edildi. Bakteri süspansiyonlarından, son konsantrasyonu  $5 \times 10^5$  olacak şekilde tüm kuyucuklara eklendi. Her bakteri için bitki ekstraktı içermeyen bir kuyucuk üreme kontrolü amacıyla, bitki ekstraktı ve Mueller-Hinton broth içeren bir kuyucuk da sterilite kontrolü amacıyla kullanıldı. Tüm örnekler 3 paralelli çalışıldı. Bakteri konsantrasyondan emin olmak için üreme kontrol kuyucuğundan 1:1000 sulandırma yaparak 0,1 ml Nutrient agar'a ekim yapıldı. Araştırmada referans antibiyotik olarak 40 µg/ml konsantrasyonunda hazırlanan Gentamisin (Sigma Cat no. G1272) kullanıldı. Mikropleytlar  $37^\circ\text{C}$ 'de 24 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonunda bulanıklığın olmadığı son dilüsyon kuyucukları MİK değeri olarak belirlendi. Ayrıca her kuyucuğa % 1'lik 2,3,5-Triphenyl-tetrazolium chloride (TTC, Sigma- Cat no. 17779) solüsyonundan 50 µl eklenerek, pleytlar  $37^\circ\text{C}$ 'de 30 dk inkübe edildi ve renk değişiminin olup olmamasına göre MİK değerleri doğrulandı (14, 15).

### İstatistiksel yöntem

Disk difüzyon testinden elde edilen veriler, Minitab 16 (Minitab Inc. State College, PA) paket programında tek yönlü varyans analizine (ANOVA) tabi tutuldu. Gruplar arası farklılıklar  $p < 0.05$  önem düzeyine göre belirlendi.

### BULGULAR

Ticari bitki ekstraktlarının antibakteriyel aktivitesini araştırmak amacıyla disk difüzyon testi yapıldı. Elde edilen üreme inhibisyon zon çapı değerleri ve tek yönlü varyans analizi (ANOVA) sonuçları Tablo

1'de verildi. Her bakteriye karşı üç bitki ekstraktının etkileri ve her ekstraktın beş farklı bakteriye karşı etkileri karşılaştırıldığında; gruplar arasındaki farklılıklar  $p < 0.05$  seviyesinde önemli bulundu. Bu verilere göre 6,24 mg/disk konsantrasyonunda bitki ekstraktlarına karşı en duyarlı bakterinin MRSA olduğu belirlenirken, inhibisyon zon çapı büyüklüğüne göre en yüksek antibakteriyel aktivite *Olea europaea* yaprak ekstraktından elde edildi. GSBL üreten *E. coli*, *K. pneumoniae* ve *E. faecalis* türlerinin ise 6,24 mg/disk konsantrasyonundaki tüm bitki ekstraktlarına karşı direnç gösterdiği belirlendi.

Ticari bitki ekstraktlarının MİK değerini belirlemek amacıyla broth mikrodilüsyon testi yapıldı ve elde edilen MİK değerleri Tablo 2'de verildi. Bu verilere göre ekstraktların farklı konsantrasyonlarda tüm bakterilere karşı antibakteriyel aktivite gösterdiği belirlendi. Tüm bakterilere karşı en düşük MİK değeri *Olea europaea* yaprak ekstraktından elde edilirken, en düşük MİK değerinden etkilenen bakterinin MRSA olduğu, en yüksek MİK değerinden etkilenen bakterilerin *K. pneumoniae* ve *E. faecalis* olduğu saptandı. Ayrıca disk difüzyon testinde kullanılan ekstrakt konsantrasyonuna (6,24 mg/disk), sıvı mikrodilüsyon yönteminde baktığımızda her iki yöntemde de elde edilen sonuçların uyumlu olduğu belirlendi.

### TARTIŞMA

Her iki test sonuçlarına göre, antibakteriyel aktivitesi en fazla olan bitki ekstraktının *Olea europaea* yaprağı olduğu, en duyarlı bakterinin de MRSA olduğu belirlendi. Disk difüzyon testinde uygulanan konsantrasyonları MİK yöntemiyle karşılaştırdığımızda sonuçların aynı olduğu görülmüştür.

Bu araştırmada *Olea europaea* yaprak ekstraktı disk difüzyon testinde 6,24 mg/disk konsantrasyonunda sadece MRSA ve *P. aeruginosa*'ya karşı aktivite gösterdiği belirlenirken, sıvı mikrodilüsyon çalışmaları sonucunda MİK değerleri

Tablo 1. Disk difüzyon testinde bitki ekstraktlarının oluşturduğu üreme inhibisyon zon çapları (mm)

Bitki Ekstraktı (6,24 mg/disk)	Antibakteriyel aktivite zon çapları (mm)				
	<i>E.coli</i> *	<i>P.aeruginosa</i>	<i>*K. pneumoniae</i>	** <i>S.aureus</i>	<i>E.faecalis</i>
<i>Olea europaea</i> yaprağı	R	16±0,577Ba	R	26±2Aa	R
<i>Plantago lanceolata</i>	R	9±1Bb	R	20±0,577Ab	R
<i>Equisetum arvense</i>	R	R	R	12±1Ac	R
Gentamisin (10 µg/disk)	18±1,69	19±0,47	17±0,81	20±1,24	17±1,63

\*Genişlemiş spektrumlu beta laktamaz üreten, \*\* Metisilin dirençli , R: Dirençli. Değerler; ortalama ± standart sapma A,B,C: Aynı satırdaki gruplar arasındaki farklılıklar, a,b: Aynı sütündeki gruplar arasındaki farklılıklar, p<0.05 düzeyinde önemli.

Tablo 2. Sıvı mikrodilüsyon yöntemine göre MİK değerleri

Bitki Ekstraktı (312 mg/ml)	Minimal inhibitör konsantrasyon (MİK) değeri (mg/ml)				
	<i>*E.coli</i>	<i>P.aeruginosa</i>	<i>*K.pneumoniae</i>	** <i>S.aureus</i>	<i>E.faecalis</i>
<i>Olea europaea</i> yaprağı	9,75	4,87	9,75	2,43	19,5
<i>Plantago lanceolata</i>	19,5	4,87	156	4,87	156
<i>Equisetum arvense</i>	19,5	19,5	78	4,87	78
Gentamisin (40µg/ml)	0,0025	0,005	0,0025	0,005	0,005

\*Genişlemiş spektrumlu beta laktamaz üreten, \*\* Metisilin dirençli.

duyarlılık sırasına göre MRSA için 2,43 mg/ml, *P. aeruginosa* için 4,87 mg/ml, *E. coli* ile *K. pneumoniae* için 9,75 mg/ml ve *E. faecalis* için 19,5 mg/ml olarak belirlenmiştir. Keskin ve ark. (16), zeytin yaprağı su ekstraktlarının 1 mg/disk konsantrasyonunda duyarlılık sırasına göre MRSA, *K. pneumoniae*, *E. coli* ve *P. aeruginosa* karşı aktivite gösterdiğini, Altaf ve ark. (17), zeytin yaprağı etanol ekstraktlarının 15mg/ml konsantrasyonunda duyarlılık sırasına göre *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* ve *E. coli* karşı aktivite gösterdiğini bildirmiştir. Lee ve Lee

(4), *Olea europaea* yaprak ekstraktının 800 µg/disk konsantrasyonunda *E. coli* ve *S. aureus*'un dirençli olduğunu rapor etmişlerdir. Markin ve ark. (18), tüp dilüsyon testi kullanarak yaptıkları çalışmalarında 6 mg/ml zeytin yaprağı su ekstraktının 3 saat içerisinde *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *E. coli* ve *P. aeruginosa* bakterilerinin tümünü öldürdüğünü ve MİK oranlarını sırasıyla 6 mg/ml, 3 mg/ml, 3 mg/ml ve 1,3 mg/ml olarak belirlediklerini bildirmişlerdir. Aurelia ve ark. (19), ticari ekstrakt kullanarak yaptıkları çalışma sonucunda duyarlılık sırasına göre

*MRSA*, *E. coli*, *P. aeruginosa* ve *K. pneumoniae* karşı aktivite gösterdiğini bildirmiştir. Bu çalışmada *Olea europaea* yaprağı antibakteriyel aktivitesiyle ilgili sonuçların benzer olduğu görülmüştür.

*Plantago lanceolata* ekstraktı disk difüzyon testinde 6,24 mg/disk konsantrasyonunda sadece *MRSA*'ya karşı aktivite gösterdiği belirlenirken, sıvı mikrodilüsyon çalışmaları sonucunda MİK değerleri duyarlılık sırasına göre *MRSA* için 4,87 mg/ml, *P. aeruginosa* için 4,87 mg/ml, *E. coli* için 19,5 mg/ml, *K. pneumoniae* ve *E. faecalis* için 156 mg/ml olarak belirlendi. *Plantago lanceolata* ekstraktı ile ilgili yapılan araştırmalarda, Nostro ve ark. (20), 15 µl/disk konsantrasyonunda *Plantago lanceolata* etanol ekstraktına karşı *S. aureus* ve *E. coli*'nin duyarlı olduğunu fakat *K. pneumoniae* ve *P. aeruginosa*'nın dirençli olduğunu rapor etmişlerdir. Deliorman ve ark. (21), *S. aureus*, *K. pneumoniae* ve *P. aeruginosa* karşı MİK değerini 64 µg/ml olarak bildirmiştir. Pehlivan ve ark. (22), 13 µl/ml disk konsantrasyonunda *Plantago lanceolata* etanol ekstraktına karşı *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* ve *E. coli*'nin dirençli olduğunu rapor etmişlerdir. Alemu ve Andualem (23), *Plantago lanceolata*'nın su, metanol ve aseton ekstraktlarına (100 µl/agar kuyucuk) karşı *S. aureus*, *K. pneumoniae* ve *E. coli*'nin duyarlı olduğunu rapor etmişlerdir. *Plantago lanceolata*'nın antibakteriyel aktivitesiyle ilgili sonuçları karşılaştırdığımızda Deliorman ve ark. (21), ile Alemu ve Andualem'in (23) çalışmalarından daha yüksek konsantrasyonda antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu görülmüştür.

*Equisetum arvense* ekstraktı disk difüzyon testinde 6,24 mg/disk konsantrasyonunda sadece *MRSA* ve *P. aeruginosa*'ya karşı aktivite gösterdiği belirlenirken, sıvı mikrodilüsyon çalışmaları sonucunda MİK değerleri duyarlılık sırasına göre *MRSA*'ya 4,87 mg/ml, *E. coli* ve *P. aeruginosa*'ya 19,5 mg/ml, *K. pneumoniae* ve *E. faecalis*'e 78 mg/ml olarak belirlenmiştir. Radulovic ve ark.(24), *Equisetum arvense* etanol ekstraktına (5µg/12,5mm

disk) karşı *K. pneumoniae* (37mm zon çapı), *P. aeruginosa* (28mm zon çapı), *S. aureus* (28 mm zon çapı) ve *E. coli* (25 mm zon çapı)'nin duyarlı olduğunu bildirmişlerdir. Canadanovic-Brunet ve ark. (10), *Equisetum arvense*'nin Ethyl acetate, n-Butanol ve su ekstraktlarına (10 µg/6 mm disk) *S. aureus* ve *P. aeruginosa*'nın duyarlı olduğunu ve MİK değerlerinin sırasıyla 25 mg/ml<sup>-1</sup> ve 100 mg/ml<sup>-1</sup> olduğunu fakat *E. coli*'nin dirençli olduğunu bildirmişlerdir. Ceyhan ve ark. (25), *Equisetum arvense* etanol ekstraktının MİK değerlerini *S. aureus* 0,78 mg/mL, *K. pneumoniae* 1.56 mg/mL, *E. coli* (O157:H7) 3.12 mg/mL olarak belirlemişlerdir. Elde ettiğimiz sonuçları bu çalışmalarla karşılaştırdığımızda, antibakteriyel etkinlikte özellikle *Staphylococcus aureus*'a karşı benzer sonuçlar gözlenirse de, her iki yöntemde de kullandığımız antibakteriyel etki gösteren ekstrakt konsantrasyonlarının daha yüksek olduğu gözlenmiştir.

Bu bitki ekstraktlarının antibakteriyel aktiviteleri ile ilgili daha önce yapılan çalışmalarda çoğunlukla benzer antibakteriyel etkinlikler gözlenirse de, farklı duyarlılık sonuçlarının olduğu, özellikle de MİK değerlerinde farklılıkların olduğu tespit edilmiştir. Bu farklılıkların, ekstraksiyon yöntemi, kullanılan antimikrobiyal aktivite testi, uygulanan doz, bitkinin yetiştiği coğrafi özellikler, gelişim dönemi ve ekstraksiyon işlemine bağlı olarak içeriğindeki kimyasal maddelerin değişmesiyle ilişkili olabileceği düşünülmüştür (4, 16, 26).

Bu araştırma sonucunda; başta *Olea europaea* yaprağı ekstraktı olmak üzere, antibakteriyel aktivitesi ve MİK değerleri belirlenen ticari bitki ekstraktlarının sağlık, farmasötik, kozmetik ve gıda endüstrisi gibi birçok alanda başta *MRSA* olmak üzere GSBL üreten *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *E. faecalis* türlerine karşı etkili olabileceği, bu verilerin de in vivo ve toksite çalışmalarıyla desteklenmesi gerektiği sonucuna varılmıştır.

**TEŞEKKÜR**

Bu çalışma Çankırı Karatekin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından SYO060515B18 nolu proje ile desteklenmiştir.

**KAYNAKLAR**

1. Auddy B, Ferreira M, Blasina F, Lafon L, Arredondo F, Dajas F et al. Screening of antioxidant activity of three Indian medicinal plants, traditionally used for the management of neuro-degenerative diseases. *J. Ethnopharmacol*, 2003; 84: 131-8.
2. Costa DC, Costa HS, Albuquerque TG, Ramos F, Castilho MC, Sanches-Silva A. Advances in phenolic compounds analysis of aromatic plants and their potential applications. *Trends Food Sci. Technol*, 2015; 45: 336-54.
3. Düzkale G, Bektaş İ, TUNÇ HH, Doğanlar Y. Zeytin Ağacı (*Olea europaea*) Odunun Bazı Fiziksel ve Mekanik Özelliklerinin Belirlenmesi. *Düzce Üniversitesi Ormancılık Dergisi*, 2015; 10(2): 29-35.
4. Lee OH, Lee BY. Antioxidant and antimicrobial activities of individual and combined phenolics in *Olea europaea* leaf extract. *Bioresource Technology*, 2010; 101: 3751-4.
5. Ahmed AM, Rabii NS, Garbaj AM, Abolghait SK. Antibacterial effect of olive (*Olea europaea* L.) leaves extract in raw peeled undeveined shrimp (*Penaeus semisulcatus*). *International Journal of Veterinary Science and Medicine*, 2014; 2: 53-6.
6. Ferrazzano GF, Cantile T, Roberto L, Ingenito A, Catania MR, Roscetto E et al. Determination of the in vitro and in vivo antimicrobial activity on salivary streptococci and lactobacilli and chemical characterisation of the phenolic content of a *Plantago lanceolata* Infusion. *BioMed Research International*, 2015; 1-8, Article ID 286817.
7. Basri DF, Tan LS, Shafiei Z and Zin NM. In vitro antibacterial activity of galls of *Quercus infectoria* olivier against oral pathogens. *Evidence Based Complementary and alternative Medicine*, 2012; 1-6, Article ID 632796.
8. Ismayilnadjadteymurabadi H, Farahpour MR, Amniattalab A. Histological evaluation of *Plantago lanceolata* L. extract in accelerating wound healing. *Journal of Medicinal Plants Research*, 2012; 6(34): 4844-7.
9. Beckert C, Horn C, Schnitzler JP, Lehning A, Heller W, Veit M. Styrylpyrone biosynthesis in *Equisetum arvense*. *Phytochemistry*, 1997; 44: 275-83.
10. Jasna M, Brunet C, Cetkovic' GS, Djilas SM, Tumbas VT, Savatovic' SS et al. Radical scavenging and antimicrobial activity of horsetail (*Equisetum arvense* L.) extracts. *International Journal of Food Science and Technology*, 2009; 44: 269-78.
11. Sandhu NS, Kaur S, Chopra D. *Equisetum arvense*: Pharmacology and phytochemistry - A Review. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 2010; 3(3).
12. CLSI-Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests; Approved Standard—Eleventh Edition. CLSI document M02-A11; Wayne, PA, 2012.
13. CLSI-Clinical and Laboratory Standards Institute. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Approved Standard—Ninth Ed. CLSI document M07-A9; Wayne, PA, 2012.
14. Polatoglu K, Demirci F, Demirci B, Goren N and Baser KHC. Antibacterial activity and the variation of *Tanacetum parthenium* (L.) Schultz Bip. essential oils from Turkey. *J. Oleo Sci*, 2010; 59(4): 177-84.

15. De O Ribeiro IC, Mariano EGA, Careli RT, Morais-Costa F, de Sant'Anna FM, Pinto MS, et al. Plants of the Cerrado with antimicrobial effects against *Staphylococcus* spp. and *Escherichia coli* from cattle. BMC Vet Res, 2018; 14(1):32.
16. Keskin D, Ceyhan N, Uğur A, Durgan A. Dbeys Antimicrobial activity and chemical constitutions of West Anatolian olive. Journal of Food, Agriculture & Environment, 2012; 10 (2): 99-102.
17. Altaf H, Qarshi IA, Liaqat R, Akhtar S, Aziz I, Ullah I et al. Antimicrobial potential of leaf and fruit extracts and oils of wild and cultivated edible olive. Pak. J. Bot, 2014; 46(4): 1463-8.
18. Markin L, Duek L, Berdicevsky I. Invitro antimicrobial activity of olive leaves. Mycoses, 2003; 46:132-6.
19. Aurelia NS, D'Orazio C, Ryanc V, Rasool N, Justin Ng, Islamd N et al. Antimicrobial activity of commercial *Olea europaea* (olive) leaf extract. International Journal of Antimicrobial Agents, 2009; 33: 461-3.
20. Nostro A, GermanoÁ MP, D'Angelo V, Marino A, Cannatelli MA. Extraction methods and bioautography for evaluation of medicinal plant antimicrobial activity. Letters in Applied Microbiology, 2000; 30: 379-84.
21. Deliorman OD, Özçelik B, Hoşbaş S, Vural M. Assessment of antioxidant, antibacterial, antimycobacterial, and antifungal activities of some plants used as folk remedies in Turkey against dermatophytes and yeast-like fungi. Turk J Biol, 2012; 36: 672-86.
22. Pehlivan Karakaş F, Yıldırım A, Türker A. Biological screening of various medicinal plant extracts for antibacterial and antitumor activities. Turk J Biol, 2012; 36: 641-52.
23. Alemu F, Andualem B. Antimicrobial potentials of different solvent extracts of *Justicia landonoides* and *Plantago lanceolata* against standard and drug resistant human bacterial pathogens. International Journal of Microbiological Research, 2014; 5 (1): 06-18.
24. Radulovic N, Stojanovic G, Palic R. Composition and antimicrobial activity of *Equisetum arvense* L. essential oil. Phytother. Res, 2006; 20: 85-8.
25. Ceyhan N, Keskin D, Uğur A. Antimicrobial activities of different extracts of eight plant species from four different family against some pathogenic microorganisms. Journal of Food, Agriculture & Environment, 2012; 10 (1): 193-7.
26. Marasini BP, Baral P, Aryal P, Ghimire KR, S Neupane S, Dahal N, et al. Evaluation of antibacterial activity of some traditionally used medicinal plants against human pathogenic bacteria. BioMed Research International, 2015;2015: 265425.