



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



ENDÜSTRİYEL BİTKİLERİN *SALMONELLA* SEROTİPLERİ ÜZERİNDEKİ ANTİMİKROBİYEL ETKİLERİ

Merve ÖZDAL SALAR

MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Hakan YARDIMCI

2015- ANKARA

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ENDÜSTRİYEL BİTKİLERİN *SALMONELLA* SEROTİPLERİ
ÜZERİNDEKİ ANTİMİKROBİYEL ETKİLERİ**

Merve ÖZDAL SALAR

**MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Hakan YARDIMCI**

2015- ANKARA

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Mikrobiyoloji Tezli Yüksek Lisans Programı
çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından
Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 07/01/2015



Prof.Dr. K. Serdar DİKER
Ankara Üniversitesi
Jüri Başkanı



Prof.Dr. Hakan YARDIMCI
Ankara Üniversitesi
Raportör



Doç.Dr. Muammer GÖNCÜOĞLU
Ankara Üniversitesi

İÇİNDEKİLER

| | |
|--|-----------|
| Kabul ve Onay | ii |
| İçindekiler | iii |
| Önsöz | v |
| Simgeler ve Kısaltmalar | vi |
| Şekiller | vii |
| Çizelgeler | viii |
| | |
| 1. GİRİŞ | 1 |
| 1.1. Salmonella Genel Özellikleri | 1 |
| 1.1.1. Etiyoloji | 1 |
| 1.1.1.1. Klasifikasyon | 1 |
| 1.1.1.2. Morfolojik ve Kültürel Özellikler | 2 |
| 1.1.1.3. Antijenik Özellikleri | 3 |
| 1.1.1.4. Toksinleri | 4 |
| 1.1.1.5. Fajlar | 4 |
| 1.2. Epidemiyoloji | 4 |
| 1.2.1. Konak | 4 |
| 1.2.2. Bulaşma | 5 |
| 1.2.3. Zoonotik Önemi | 6 |
| 1.3. Antibiyotik Direnci | 7 |
| 1.4. Bitkilerin Antibakteriyel Etkisi | 7 |
| 1.4.1. Çeşitli Bitkilerin Salmonella'lar Üzerine Etkisi | 9 |
| 1.5. Endüstriyel Bitkilerin Kullanılmayan Kısımlarının Değerlendirilmesi | 11 |
| 2. GEREÇ VE YÖNTEM | 14 |
| 2.1. Gereç | 14 |
| 2.1.1. Salmonella İzolatları | 14 |
| 2.1.2. Bitki Materyalleri | 14 |
| 2.1.3. Kullanılan Besi Yerleri | 14 |
| 2.1.4. Kimyasal Maddeler | 14 |

| | | |
|-----------|---|-----------|
| 2.1.5. | Kullanılan Cihaz ve Gereçler | 15 |
| 2.2. | Yöntem | 15 |
| 2.2.1. | Ekstraksiyon Yöntemleri | 15 |
| 2.2.1.1. | Metanol ile Ekstraksiyon | 15 |
| 2.2.1.2. | Etanol ile Ekstraksiyon | 16 |
| 2.2.1.3. | Su ile Ekstraksiyon | 16 |
| 2.2.1.4. | Sıvı Azot ile Ekstraksiyon | 16 |
| 2.2.2. | Salmonella Serovarların Aktivasyonu | 16 |
| 2.2.3. | Koloni Sayımı | 17 |
| 2.2.4. | Ekstraktın Antimikrobiyel Etkisinin Değerlendirilmesi | 17 |
| 3. | BULGULAR | 18 |
| 3.1. | Ekstraktların Antimikrobiyel Sonuçları | 18 |
| 3.1.1. | Metanol ile Ekstraksiyon | 18 |
| 3.1.2. | Etanol ile Ekstraksiyon | 18 |
| 3.1.3. | Su ile Ekstraksiyon | 19 |
| 3.1.4. | Sıvı Azot ile Ekstraksiyon | 19 |
| 3.2. | Zon Çapları Sonuçları | 20 |
| 4. | TARTIŞMA | 22 |
| 5. | SONUÇ VE ÖNERİLER | 26 |
| | ÖZET | 27 |
| | SUMMARY | 28 |
| | KAYNAKLAR | 29 |
| | ÖZGEÇMİŞ | 36 |

ÖNSÖZ

Enterobacteriaceae familyasının genel özelliklerini taşıyan Salmonella'lar hayvanlarda ciddi infeksiyonlara neden olmakla birlikte zoonotik özellikleriyle büyük önem taşımaktadır. Salmonella'ların bazı serotiplerinin değişik antibiyotiklere karşı geliştirdiği direnç nedeniyle halk sağlığı yönünden önemleri giderek artmıştır. Salmonella'nın antibiyotik direnciyle ilgili ilk olgu 1960'lı yıllarda tek bir antibiyotiğe karşı oluşan direnç şeklinde tanımlanmış ve 1980'li yıllarda S. Thyphimurium serovarında ampicillin, chloramphenicol, streptomycin, sulfonamides ve tetracycline karşı çoklu antibiyotik direnci saptanmıştır. Son yıllarda gıdalarda çoklu antibiyotik direnciyle ilgili raporlar tüm dünyada yaygın olarak görülmektedir.

Salmonella serovarlarının birçoğunun tedavide uygulanan antibiyotiklere karşı geliştirdikleri direnç, bu etkenlere bağlı infeksiyonlarda veteriner hekimlikte bir takım başka önlemlerin alınmasını zorunlu kılmaktadır. Bundan yola çıkarak son yıllarda bitkilerin çeşitli bakteriler üzerindeki antimikrobiyel etkileri incelemeye alınmıştır.

Yüksek lisans öğrenimim süresince yardımlarını ve desteğini esirgemeyen değerli danışman hocam Prof. Dr. Hakan Yardımcı'ya, eğitim sürecinde ve tez aşamasında katkılarından dolayı başta Mikrobiyoloji Anabilim Dalı başkanı Prof. Dr. K. Serdar Diker olmak üzere tüm Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerine ve çalışma arkadaşlarıma, çalışma ve yazım esnasında sonsuz desteklerini gördüğüm değerli eşim Araş. Gör. Seçkin Salar'a ve son olarak da eğitim yaşamım süresince maddi ve manevi desteğini esirgemeyen aileme gönülden teşekkür ederim.

SİMGELER VE KISALTMALAR

| | |
|-----|-----------------------|
| % | Yüzde |
| + | Artı |
| - | Eksi |
| < | Küçüktür |
| > | Büyüktür |
| ~ | Yaklaşık |
| ® | Tescilli marka |
| µg | Mikrogram |
| cfu | Colony-formation unit |
| ml | Mililitre |
| mm | Milimetre |
| Rpm | Devir |

ŞEKİLLER

| | | |
|-------------------|---|----|
| Şekil 3.1. | <i>Salmonella</i> serovarlarının yeşil çay yaprak ve saplarının metanol ve etanol ekstraktlarında oluşturdukları zon çapları. | 20 |
| Şekil 3.2. | <i>Salmonella</i> serovarlarının mısır püskülünün metanol ve etanol ekstraktlarında oluşturdukları zon çapları. | 21 |
| Şekil 3.3. | <i>Salmonella</i> serovarlarının zeytin yaprağının metanol ve etanol ekstraktlarında oluşturdukları zon çapları. | 21 |

ÇİZELGELER

| | | |
|---------------------|---|----|
| Çizelge 1.1. | Son yıllarda dünya genelindeki önemli gıda kaynaklı <i>Salmonella</i> salgınları | 6 |
| Çizelge 1.2. | Bitkilerdeki doğal antimikrobiyel bileşikler ve etkileri | 8 |
| Çizelge 1.3. | Bitkiler ile <i>Salmonella</i> serovarları üzerinde yapılan çalışmalar | 9 |
| Çizelge 3.1. | Metanol ekstraksiyonu uygulanan bitkilerin kullanılan <i>Salmonella</i> serovarları üzerindeki antimikrobiyel etkisi. | 18 |
| Çizelge 3.2. | Etanol ekstraksiyonu uygulanan bitkilerin kullanılan <i>Salmonella</i> serovarları üzerindeki antimikrobiyel etkisi. | 18 |
| Çizelge 3.3. | Su ekstraksiyonu uygulanan bitkilerin kullanılan <i>Salmonella</i> serovarları üzerindeki antimikrobiyel etkisi. | 19 |
| Çizelge 3.4. | Sıvı azot ekstraksiyonu uygulanan bitkilerin kullanılan <i>Salmonella</i> serovarları üzerindeki antimikrobiyel etkisi. | 19 |
| Çizelge 3.5. | <i>Salmonella</i> serovarlarında elde edilen antibakteriyel aktivite inhibisyon zonları (mm) | 20 |

1. GİRİŞ

1.1. *Salmonella* Genel Özellikleri

1.1.1. Etiyoloji

1.1.1.1. Klasifikasyon

Salmonella'lar Enterobacteriaceae familyasında yer alan *Salmonella* genusuna ait türlerin içerdiği serotiplerdir. *Salmonella* cinsi bakteriler ilk kez 1884'de Gaffky (Bacterium typhosum) tarafından izole edilmiş ve 1886'da Salmon ve Smith'in (*Salmonella Choleraesuis*) bakterilerini bildirmesinden sonra *Salmonella* nomenklatürü oldukça karmaşık ve tartışmalı olmuştur. *Salmonella* cinsi bakteriler Enterobacteriaceae familyası içerisindeki en karmaşık mikroorganizmalardır ve Kauffman-White şemasına göre 2400'den fazla serotipi bulunmaktadır (Popoff ve ark., 2000).

Son sınıflandırmaya göre 2 tür bulunmaktadır. Bunlar *S. Cholerae suis* ve *S. Bongori*'dir. Ancak *S. Choleraesuis*, *S. Enterica* diye de adlandırılmaktadır. Günümüzde birçok patojeni içeren *S. Enterica* türü 7 alt gruba ayrılmaktadır; *S. Enterica* subsp. *enterica*, *S. Enterica* subsp. *salamae*, *S. Enterica* subsp. *arizonae*, *S. Enterica* subsp. *diarizonae*, *S. Enterica* subsp. *houtenae*, *S. Enterica* subsp. *indica*, *S. Enterica* subsp.. Kanatlılardan izole edilen *Salmonella*'ların birçoğu *S. Enterica* subsp. *enterica* alt grubuna dahil olup, bu grup çok fazla serovar veya serotip içermektedir. Genellikle ilk izole edildikleri şehrin ya da ilk izole edildikleri hastalığın belirtisinin veya ilk izole edildikleri kanatlı türünün adını alırlar. Örneğin *S. Enterica* subsp. *enterica* serovar Dublin ya da *S. Enterica* subsp. *enterica* serovar Typhi veya *S. Enterica* subsp. *enterica* serovar Gallinarum denildiğinde Dublin serovarı ilk kez Dublin'de, Typhi serovarı tifoid ateş belirtisiyle seyreden bir hastalıktan ve Gallinarum serovarı ise tavuktan izole edildikleri için bu şekilde

isimlendirilmişlerdir. Ancak çoğu kitap veya yayında bunlar kısaca *S. Dublin*, *S. Typhi* ve *S. Gallinarum* diye adlandırılmaktadır (İzgür, 2010).

1.1.1.2. Morfolojik ve Kültürel Özellikler

Enterobacteriaceae familyasının genel özelliklerini taşıyan *Salmonella*'lar Gram negatif, kısa ve küçük çomaklar tarzında olup, boyutları $0,7-1,5 \times 2,0-5,0\mu\text{m}$ 'dir. *Salmonella*'lar Gram negatif olmalarına rağmen metilen mavisi ve karbol fuksin boya ile de boyanabilmektedirler (Gast, 2003). *Salmonella* etkenleri; 37°C 'de 24-48 saatte, küçük, yuvarlak, -S tipli koloniler oluşturmaktadır. Fakültatif anaerob özellikte olan bu etkenler, buyyonda homojen bir şekilde, hafif bulanıklık meydana getirerek üremektedirler. *Salmonella*'lar yaklaşık pH 4,0-9,0 aralığında üreyebilmelerine rağmen optimum pH'ları $7,0$ 'dır. Uygun olmayan pH aralığında üreyen etkenler flagella ve fimbriya gibi antijenik özelliklerini kaybetmektedirler. *Salmonella*'ların üremeleri için karbon ve nitrojen içeren çoğu besiyeri uygundur (Gast, 2003). Biyokimyasal aktiviteleri oldukça yüksek olan *Salmonella*'ların izolasyonunda kullanılan besiyeri bileşimi, bu mikroorganizmaların önemli iki özelliğini ortaya çıkarma esasına dayanmaktadır. Bu özellikler hidrojen sülfür (H_2S) oluşturmaları (*S. Paratyphi* hariç) ve laktozu fermente edememeleridir. Bu özelliklerine dayanılarak, Mac Conkey agarda renksiz koloniler oluşturan *Salmonella*'lar, Brilliant Green agar (BGA)'da ise pembe renkli koloniler oluştururlar. Bununla birlikte, *Salmonella* türleri H_2S pozitif ve laktoz negatif olan *Proteus* türleri ile karışabilirler. Ayrıca propylen glikol' den asit oluşturma esasına dayanan besiyerlerinden (Rambach besiyeri) yararlanılmaktadır (İzgür, 2010).

Salmonella cinsi; katalaz enzim sistemine sahip ve genellikle peritrik flagella ile hareket edebilen bakterileri içermektedir. Ancak *S. Pullorum* ve *S. Gallinarum* gibi bazı serotipler hareketsizdir.

1.1.1.3. Antijenik Özellikleri

Salmonella'larda, Somatik "O", Flagellar "F" ve yüzey antijenleri olmak üzere üç çeşit antijen bulunmaktadır. *Salmonella*'lar O antijenleri ile gruplara, H antijenleriyle de serovarlara ayrılmaktadır. Bütün *Salmonella* türlerinde bulunan O antijeni polisakkarid özelliğinde olup ısıya, alkole ve asite dirençlidir ancak formol ile aktiviteleri kaybolmakta veya azalmaktadır. Bu antijenik yapı, *Salmonella*'ların 60'dan fazla serogruba ayrılmasına yarayan değişik faktörler içermektedir. Bu faktörler 1, 2, 3, 4, 5,... gibi sayılarla ifade edilmekte ve ortak antijenik faktörleri içeren *Salmonella*'ların aynı grup içinde toplanarak grup adları alfabetik harflerle (A, B,Z) isimlendirilmektedir. Şimdiye kadar 67 grup ortaya konulmuş olup, harfler yeterli gelmediği için, bazı gruplar harf ve rakamla belirtilmiştir (İzgür, 2006).

H flagellar antijeni protein yapısında olup formole dirençlidir ancak 60°C'nin üzerinde ısıtılmakla, alkol, asit ve proteolitik fermentlerin etkisi ile harap olmaktadır. H antijenleri birbirlerinden ayrı yapı ve karakterde olup değişik komponentlerden yapılmışlardır. Bu antijenlerin bir kısmı *Salmonella*'lar için özgüldür ve değişmezler. Bunlara spesifik faz veya Faz 1 antijenleri adı verilir. Bu antijenik faktörler a, b, c ...z' ye kadar küçük harflerle ve alfabe yeterli olmadığından z1, z2, z3 olarak adlandırılmışlardır. Faz-2 adı verilen ve nonspesifik özellikte olan "H" antijenik faktörleri ise; birçok *Salmonella* türünde bulunmaktadır. Bu antijenik faktörlerde 1, 2, 3, 4,... olarak isimlendirilmişlerdir (Bilgehan, 2004; İzgür, 2006).

Salmonella'larda bulunan "Vi" antijeni tüm *Salmonella*'larda bulunmamakla beraber somatik O antijeninin en dışında glikolipid yapısında yüzeysel bir antijendir. Bu antijeni taşıyan suşlar, anti- O serumları ile aglütine olamazlar. Çünkü, "O" somatik antijenini maskelerler. Bu nedenle bu tür bakterilerin 60°C'ye ısıtılmasıyla "Vi" antijenleri ayrılır, dolayısıyla etkisi kaldırılır. Bu yüzeysel antijenden başka *S. Paratyphi B*'nin mukoid koloni oluşturan suşlarında "M" antijenleri ve yine bazı

Salmonella türlerinde de pilus antijenleri (özellikle “Tip-1 fimbria” antijenleri) bulunmaktadır (Bilgehan, 2004).

1.1.1.4. Toksinleri

Salmonella'lar endotoksin, enterotoksin ve sitotoksin olmak üzere üç ayrı toksin sentezlemektedirler. Endotoksinler bakteri hücrelerinin lize olması durumunda açığa çıkarak şiddetli akut toksemiye sebep olmaktadır. Enterotoksinler bağırsak epitel hücrelerinden aşırı sıvı salgınlmasına sebep olmakta, bu da diareye neden olmaktadır. *Salmonella*'ların sitotoksinleri ise protein sentezini inhibe ederek bağırsak epitel hücrelerinde yapısal hasara neden olmaktadır (İzgür, 2006).

1.1.1.5. Fajlar

Salmonella'lara ait fajlar da bulunmaktadır. Özellikle *Salmonella* O-1 fajı *Salmonella* etkenlerini %97 oranında lize edebildiği için identifikasyonda kullanılabilecek bir bakteriyofajdır. Türkiye’ de yapılan bir çalışmada tavuk ve tavuk etlerinden izole edilen *S. Enteritidis* suşlarının faj tiplendirme ve PFGE yöntemleriyle tiplendirmek amacıyla yapılan analizler sonucunda dominant olarak 38 *S. Enteritidis* suşunun 15’i PT4 (Faj Tip 4) ile saptanmıştır (Kalender ve Şen, 2008).

1.2. Epidemiyoloji

1.2.1. Konak

Bazı *Salmonella*'lar sadece belli konaklarda hastalık oluştururken bazı serotipler çok sayıda konakta kolonize olabilmektedirler. Konak spesifik olarak tanımlanan bu serotipler arasında *S. Typhi*, *S. Paratyphi A*, *S. Paratyphi B*, *S. Paratyphi C* sadece insanlarda, *S. Gallinarum* ve *S. Pullorum* sadece kanatlılarda, *S. Dublin* sığırlarda, *S. Choleraesuis* domuzlarda, *S. Abortusequi* atlarda ve *S. Abortusovis* koyunlarda

hastalığa neden olmaktadır. Konak spesifik olmayan ve zoonotik önemi olan *Salmonella* serotipleri arasında *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, *S. Infantis*, *S. Virchow*, *S. Heidelberg* ve *S. Agona* sayılabilmektedir (Akan, 2008).

Pullorum infeksiyonlarının kanaryalarda, kanatlı tifosunun da devekuşlarında görüldüğü bildirilmiştir. Ördeklerin bu patojenlere karşı dirençli olduğu ortaya konmuştur (Buchholz ve Fairbrother, 1992; Barrow ve ark., 1999).

1.2.2. Bulaşma

Salmonella içerisindeki etkenlerden *S. Gallinarum* kanatlı tifosunun etkeni, *S. Pullorum* ise Pullorum hastalığının etkeni olarak bilinmektedirler. Bu hastalıkların bulaşma kaynağını genellikle enfekte kanatlılar teşkil etmektedir. Bu hayvanların yumurtaları kuluçka için kullanıldığında da hastalığın en temel şekli olan vertikal bulaşma söz konusudur. Enfekte kanatlılara ait dışkılar ve bu dışkı ile kontamine yem, su, altlık, çalışanlar ve ekipmanlar etkenlerin horizontal bulaşmasına sebep olmaktadır. Bunlarla beraber mekanik bulaşmada vahşi kuşların, rodentlerin ve sineklerin de rolü vardır (İzgür, 2002).

Genellikle *S. Arizona* dışındaki hareketli *Salmonella* serotipleri, paratifo *Salmonella* etkenleri olarak tanımlanmaktadır. Paratifo etkenleri konak spesifik olmamaları, asemptomatik özellikte olmaları ve dışkıyla etrafa saçılmalarından dolayı tifoid etkenlere göre epidemiyolojileri daha kompleks bir yapıya sahiptir. Paratifo infeksiyonlarında infeksiyon kaynağını; kanatlılar, yem ve çevre olarak ayrı ayrı değerlendirmek gerekmektedir (İzgür, 2002).

1.2.3. Zoonotik Önemi

Salmonella'lar ilk kez ilk kez 1888 yılında et tüketimi sonucu şekillenen bir infeksiyon etkeni olarak saptanmıştır ve uzun yıllardan beri insan sağlığını etkileyen önemli bir bakteriyel patojen olarak bilinmektedir (Erol, 2007).

Salmonella infeksiyonlarının halk sağlığı ve ekonomik açıdan öneminin artmasının temel sebepleri arasında infeksiyonun görülme sıklığının yüksek olması dolayısıyla çok sayıda insanı etkilemesi ve ülke ekonomilerinde meydana getirdiği büyük kayıplar yer almaktadır. *Salmonella*'lardan kaynaklanan gıda infeksiyonları, Amerika Birleşik Devletleri (ABD), Almanya, Fransa, İngiltere, İspanya, Hollanda, Polonya ve İsveç gibi birçok ülkede gıda kaynaklı infeksiyonlar arasında ilk sırada bulunmakta veya *Campylobacter*'den sonra ilk sırayı almaktadır (Erol, 2007).

Salmonella'lardan kaynaklanan gıda infeksiyonlarının oluşum zincirinde yem, çiftlik hayvanları ve yabani hayvanlar, gıda ve insan arasında bir etkileşim bulunmaktadır. Sebze ve meyvelerle ilişkili insan Salmonellozis vakalarının sayılarında bir yükselme olmasına rağmen, bunun en yaygın nedenleri hayvansal orijinli gıdalardır. Her yıl dünya çapında 93,8 milyon gastroenterit vakasının meydana geldiği ve bu vakaların yaklaşık 155 000 ölüme yol açtığı tahmin edilmektedir (Agbaje ve Begum, 2011). Bununla birlikte *Salmonella* izole edilen daha farklı birçok gıda Çizelge 1.1'de gösterilmiştir (Ethelberg ve ark., 2008).

Çizelge 1.1. Son yıllarda dünya genelindeki önemli gıda kaynaklı *Salmonella* salgınları (Ethelberg ve ark., 2008).

| Yıl | Ülke | Gıda | Serotip | Etkilenen insan sayısı |
|------|------------|------------------|-----------------------|------------------------|
| 1992 | Almanya | Çilekli dondurma | <i>S. Enteritidis</i> | 57 |
| 1994 | ABD | Dondurma | <i>S. Enteritidis</i> | 224 000 |
| 1996 | Avustralya | Yer fıstığı | <i>S. Mbandka</i> | > 100 |
| 1998 | ABD | Yumurta | <i>S. Enteritidis</i> | 241 |

| | | | | |
|------|---|---------------|----------------|-------|
| 2001 | Almanya-Danimarka ve 8 Avrupa ülkesi | Çikolata | S. Oranienberg | > 316 |
| 2002 | ABD | Sığır kıyması | S. Newport | 47 |
| 2004 | İngiltere | Tavuk eti | S. Typhimurium | 69 |

1.3. Antibiyotik Direnci

Antibiyotikler insan ve hayvan sağlığı için en önemli ajanlardır. Çok ciddi infeksiyonlardan lokal olgulara kadar antibiyotiklerin kullanım alanları oldukça fazladır. Ancak doğada her zaman olduğu gibi antibiyotiklerin hedefi olan mikroorganizmalar da bir süreçten sonra antibiyotiklerin bulunduğu ortamda canlılıklarını sürdürmeyi başarmışlardır (Diker ve ark., 2013).

Antibiyotik direncinin gelişiminde temelde birçok moleküler mekanizma bulunmaktadır. Bakteri, antibiyotiğin hücreye girişini engelleyebilmekte veya girmiş olan antibiyotiği hücre dışına atabilmektedir. Bunlar bakteri tarafından kromozomal olarak veya hareketli genetik elemanlarla taşınan genler tarafından kontrol edilmektedir (Diker ve ark., 2013).

Antibiyotik direncinin gelişimi ve yayılımındaki nedenler arasında en başta gelen bilinçsiz ve hatalı antibiyotik kullanımınıdır. Günümüze kadar bu konuda birçok çalışma yapılmış ve direnç gelişimindeki nedenler birçok sebebe bağlanmıştır. Sonuca yönelik çalışmalar ise antibiyotik yerine kullanılabilir yeni antimikrobiyel ajanlar keşfetmeye dayanmaktadır (Diker ve ark., 2013).

1.4. Bitkilerin Antibakteriyel Etkisi

Günümüzde tıbbi bitkiler, geleneksel sağaltım yöntemlerinden biri olup yaygın olarak kullanılmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) verileri gelişmekte olan ülkelerde insanların %80'inin bu sağaltım yöntemlerini kullandığını ve 3,3 milyar

insanın da tıbbi bitkilerden sağaltım aracı olarak yararlandığını ortaya koymuştur (Eloff, 1998). Tüm dünyada geleneksel tedavilerde kullanılan bitkiler, bu bitkilerden elde edilen ekstraktlar, içeriğini oluşturan bileşenler ve etkilerine olan bilimsel merak *etnofarmakoloji* alanının oluşmasına neden olmuştur (Raza, 2006). Bu alandaki gelişmeler endüstrinin de gelişmesiyle yerini moleküler araştırmalara bırakmıştır. Tedavide kullanılan bitkilerin moleküler dizilerinin açığa çıkarılması, kullanım dozlarının araştırılması ve formüle edilmesi, kullanım güvenilirliğinin, etkinliğinin belirlenmesi ve farmakinetik profillerinin çıkarılması bu alanının daha da genişlemesini sağlamıştır. Bitkilerdeki doğal antimikrobiyel bileşikler ve etkileri Çizelge 1.2’de gösterilmektedir (Erdoğan ve Everest, 2013).

Çizelge 1.2. Bitkilerdeki doğal antimikrobiyel bileşikler ve etkileri (Erdoğan ve Everest, 2013).

| Sınıf | Alt sınıf | Örnekler | Mekanizma |
|-------------------------------|----------------|---|--|
| Fenolikler | Basit fenoller | Katesol Epikatesin | Substrat kaybı Membran tahribasyonu |
| | Fenolik asit | Sinamik asit | ? |
| | Kinonlar | Hiperisin | Adhesinlere bağlanma. Hücre duvarı kompleksi. Enzim inaktivasyonu |
| | Flavonoidler | Krisin | Adhesinlere bağlanma |
| | Flavonlar | Abisinon | Hücre duvarı kompleksi Enzim inaktivasyonu. HIV revers transkriptaz inhibisyonu |
| | Flavonoller | Totarol | ? |
| | Taninler | Ellagitanin | Proteinlere bağlanma. Adhesinlere bağlanma. Enzim inhibisyonu. Substrat kaybı. Hücre duvarı kompleksi. Membran tahribatı. Metal-iyon kompleksi |
| | Kumarinler | Varfarin | Ökaryotik DNA ile interaksiyon (Antiviral aktivite). |
| Terpenoidler Ucucu yağlar | - | Kapsaisin | Membran tahribatı |
| Alkaloidler | - | Berberin Piperin | Hücre duvarı ya da DNA ile interkalasyon |
| Lektinler ve Polipeptidler | | Mannoz-spesifik aglutinin | Viral füzyonunun bloke edilmesi ya da adsorpsiyon |
| | | Falksatin | Disülfid köprü formasyonu |
| Poliasetilenler | - | 8s-hentadeca-2(Z),9(Z)-diene-4,9-diyne-1,8-diol | |

1.4.1. Çeşitli Bitkilerin *Salmonella*'lar Üzerine Etkisi

Yapılan araştırmalarda bitkilerin birçok farklı mikroorganizmaya karşı antibakteriyel etkisi incelenmiştir. Özellikle tüm dünyada yaygın olarak gözlenen, zoonoz olan ve çoklu antibiyotik direnci gözlenen *Salmonella* serovarları üzerinde yapılan çalışmalar oldukça fazladır (Çizelge 1.3).

Çizelge 1.3. Bitkiler ile *Salmonella* serovarları üzerinde yapılan çalışmalar

| Bitki | Ekstraksiyon yöntemi | Antimikrobiyel aktivite | Serovar | Kaynak |
|--|-------------------------|-----------------------------------|---|------------------------|
| <i>Persica vulgaris miller</i> (şeftali) | metanol | cut blug yöntemi | <i>S. Enteritidis</i> <i>S. Typhimurium</i> | Özpınar ve ark., 2013 |
| <i>Oregano</i> (kekik) | bitki tozu süspansiyonu | 1.Disk difüzyon 2.koloni sayma | <i>S. Enteritidis</i> <i>S. Typhimurium</i> <i>S. Gallinarum</i> | Babacan ve ark., 2012 |
| <i>Terminalia arjuna</i> | etanol | Disk difüzyon | <i>Salmonella</i> spp. | Islam ve ark.,2011 |
| <i>Camelia sinensis</i> (çay) <i>Trachyspermum ammi</i> <i>Theaceae</i> (tea leaves) <i>Apiaceae</i> (ajwain or ommum seeds) | su | Disk difüzyon | <i>Salmonella</i> spp. | Gunesagan ve ark, 2011 |
| <i>Punica granatum</i> | su | Disk difüzyon | <i>S. Typhi</i> <i>S. Dublin</i> <i>S. Derby</i> <i>S. Gallinarum</i> <i>S. Choleraesuis</i> <i>S. Enteritidis</i> <i>S. Typhimurium</i> <i>S. Paratyphi A</i> | Choi ve ark., 2011 |
| <i>Filipendula ulmaria</i> | Etanol + su | | <i>S. Enteritidis</i> | Boziaris ve ark., 2011 |
| <i>Oregano</i> <i>Cinnamon stick</i> <i>Clove</i> <i>Grape seed</i> <i>Pomegranade peel</i> | etanol | | <i>S. Enterica</i> | Shan ve ark., 2011 |
| <i>Achyranthus</i> | etanol | Disk difüzyon | <i>S. Typhi</i> | Neeta ve |

| | | | | |
|---|---------------------------------------|----------------------------|---|--------------------------------|
| <i>aspera</i> | | | | ark., 2011 |
| <i>Urena lobata</i> | Metanol kloramfenikol | Disk difüzyon | <i>S. Typhimurium</i> | Mathappa n ve ark., 2010 |
| <i>Coccinia indica</i> | Etanol su | Disk difüzyon | <i>S. Typhimurium</i> | Hussain ve ark., 2010 |
| <i>Punica granatum</i> | etanol | Disk difüzyon | <i>S. Typhi</i> <i>S. Dublin</i> <i>S. Derby</i> <i>S. Gallinarum</i> <i>S. Choleraesuis</i> | Choi ve ark., 2009 |
| <i>Salvia verticillata</i> <i>Phlomis pungens</i> | metanol | Makrodilüsyon sıvı(tüp) | <i>S. Enteritidis</i> | Özkan ve ark., 2009 |
| <i>Thymus vulgaris</i> | metanol | Disk difüzyon | <i>S. Typhimurium</i> | Ayaci ve ark., 2009 |
| <i>Acacia nilotica</i> <i>Szygium</i> <i>aromaticum</i> <i>Cinnamun</i> <i>zeylanicum</i> <i>Terminalia</i> <i>arjuna</i> <i>Eucalyptus</i> <i>globulus</i> | etanol | Disk difüzyon | <i>S. Typhimurium</i> | Khan ve ark., 2009 |
| <i>Occimum</i> <i>basilicum</i> | su Soxhlet | | <i>Salmonella</i> spp. | Sanni ve ark., 2008 |
| <i>Garlic</i> <i>Oregano</i> <i>chitosan</i> | Garlic powder Etanol asetikasit | Tüp dilüsyon | <i>S. Enterica</i> | Marques ve ark., 2008 |
| <i>Coptidis rhizoma</i> <i>Mume fructus</i> <i>Schizante fructus</i> | metanol | Tüp dilüsyon | <i>S. Typhi</i> <i>S. Dublin</i> <i>S. Derby</i> <i>S. Gallinarum</i> <i>S. Choleraesuis</i> <i>S. Enteritidis</i> <i>S. Typhimurium</i> <i>S. Paratyphi A</i> | Kwon ve ark., 2008 |
| 47 bitki | Metanol su | Disk difüzyon | <i>S. Typhi</i> <i>S. Typhimurium</i> <i>S. Paratyphi A</i> | Pasha ve ark., 2008 |
| <i>Terminalia</i> <i>belerica</i> | Alcoholic su | Disk difüzyon | <i>S. Typhi</i> <i>S. Typhimurium</i> | Madani ve Jain, 2008 |
| 23 bitki | metanol | Disk difüzyon | <i>S. Typhi</i> | Mahida |

| | | | | |
|---|-----------------------|---------------|--|-------------------------------|
| | | | <i>S. Paratyphi A</i> | ve Mohan, 2007 |
| <i>Thonningia sanguinea</i> | su | Tüp dilüsyon | <i>S. Typhi</i> <i>S. Typhimurium</i> <i>S. Enteritidis</i> <i>S. Hadar</i> | N'guessan ve ark., 2007 |
| <i>Caryophyllus aromaticus</i> | metanol | Tüp dilüsyon | <i>S. Typhimurium</i> | Ushimaru ve ark., 2007 |
| 46 bitki | metanol | Tüp dilüsyon | <i>S. Anatum</i> | Shan ve ark., 2007 |
| <i>Laurus nobilis</i> (defne) <i>Zingiber officinale</i> (zencefil) | Neoclevenger uçucuyağ | Disk difüzyon | <i>Salmonella spp.</i> | Toroğlu ve ark., 2006 |
| <i>Schizandrae fructus</i> | metanol | Disk difüzyon | <i>S. Typhimurium</i> | Lee ve ark., 2006 |
| <i>Origanum Satureja species thymus</i> | Yağ eks. | Disk difüzyon | <i>S. Enteritidis</i> | Chorianopoulos ve ark., 2004) |
| 54 bitki | Etanol aqueous | Disk difüzyon | <i>S. Typhi</i> | Rani ve Khullar, 2004 |
| 13bitki | etanol | Disk difüzyon | <i>S. Enteritidis</i> <i>S. Gallinarum</i> | Keleş ve Ak, 2001 |

Kanatlılarda *Salmonella* serovarlarının prevalansı ülkeler ve zamanlar arasında farklılık göstermiştir. Bir zaman diliminde ülke için çok önemli olan bazı serovarlar zaman içinde belirti göstermeksizin kaybolabilirler. Ancak tarihsel olarak *S. enterica* serovar Typhimurium kanatlılardan izole edilmiş en yüksek prevalansa sahip serovardır. Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA) tarafından 2006 yılında yapılan bir anket çalışmasında Avrupa'da *S. Enteritidis* ve *S. Infantis* en sık rastlanılan *Salmonella* serovarları olmuştur (Şahan, 2014).

1.5. Endüstriyel Bitkilerin Kullanılmayan Kısımlarının Değerlendirilmesi

Bitki kaynaklı antimikrobiyel bileşikler bitkinin gövde, kök, yaprak, çiçek ve meyveleri olmak üzere farklı kısımlarından elde edilebilmektedir. Tıbbi bitkilerin

içeriklerinin kullanılan bitki bölümüne ve ekstraksiyon metoduna göre değiştiği bilinmektedir. Genel olarak farklı bitki bölümleri spesifik medikal uygulamalara sahiptir (Borchardt ve ark., 2008).

Türkiye’de 1960’lı yıllarda üretilen toplam katı atık miktarı yılda 3-4 milyon ton iken, 2008 yılı itibarı ile toplam atık miktarı yaklaşık 24,36 milyon tona yükselmiş olmakla beraber bunun yaklaşık 6,7 milyon tonu evsel nitelikli atık olduğu belirtilmiştir. Toplam atıkların ancak %1,1 (267 960 ton) geri kazanım tesislerine kompost üretimi amacıyla gönderilmiştir (TUİK, 2012). Bu veriler geri dönüşümden elde edilebilecek kazanç açısından yeterli görülmemektedir. Bu nedenle, katı atıklar içinde geri dönüşümünün sağlanması durumunda elde edilecek katma değeri en yüksek olan bitkisel atıkların yeniden değerlendirilmesi çok önemlidir ve 2008 yılı verilerine göre de toplam atıkların içinde bitkisel kökenli atıkların miktarı 297.004 tondur. Bu durumda bitkisel atıklar toplam atıklar içinde %1,21’lik orana sahip olduğu belirtilmektedir. Bu atığın doğru alanlarda değerlendirilmesi durumunda sağlanan katma değer çok daha yüksek olacaktır (Yaman, 2012).

Aynı zamanda bitkilerin endüstriyel alanda kullanıldıktan sonra atık oluşturabilme özellikleri değerlendirilmektedir. Bunlardan biri koçan olarak tüketilip atık olarak değerlendirilmeyen mısır püskülüdür. Farklı araştırmalardaki koçan verimi ve koçan püskül ağırlığı verileri ortalamasından yola çıkılarak çöpe giden yaş püskül miktarının 2010 yılı için 33,2 ton olduğu tahmin edilebilmektedir (Yaman, 2012). Mısır püskülü üzerine yapılan çalışmalarda, bitki içeriğinde flavonoidler, klorojenik asit, p- kumarik, ferulik asit, saponinler, fitosteroller, uçucu ve sabit yağlar, reçine, şekerler, allantoin, tanen ve mineraller olduğu ortaya konmuştur (Ebrahimzadeh ve ark., 2008). Mısır püskülünün farklı ekstraktları hazırlanarak yapılan birçok çalışmada antimikrobiyel etki gösterdiği belirtilmiştir (Nkuo-Akenji ve ark., 2004; Zhao ve ark., 2009; Nessa ve ark., 2012).

Zeytin yaprağı günümüze kadar halk tarafından birçok hastalığın geleneksel tedavisinde kullanılmıştır. Özellikle Akdeniz havzasında önemli bir ürün olan zeytin, ülkemizde tüm dünyadaki üretimin %80’ini oluşturmaktadır. Araştırmalar,

zeytinyağı kadar zeytin yaprağı ekstrelerinden elde edilen bileşiklerin antihipertansif, anti-aterojenik, kardiyoprotektif, hipokolesterolemik, hipoglisemik, antimikrobiyel, antiviral, antitumoral, anti-inflamatuar ve antioksidan özelliklere sahip olduğunu göstermektedir (Armutçu ve ark., 2011; Pereira ve ark., 2007).

Çay, siyah ve yeşil çay başta olmak üzere tüm dünyada yaygın olarak tüketilen ve hatta tüketilmeye başlanması 5000 yıl önceye dayanan bir bitkidir. Yaklaşık 2,5 milyon ton tüketilen çay, en çok Hindistan, Japonya, Türkiye, Sri Lanka ve Çin'de üretilmektedir. U.S. Food and Drug Administration (FDA) tarafından da sağlıklı gıdalar arasında sayılmakta ve tüketilmesi önerilmektedir (Wu ve ark., 2002). Yapılan birçok araştırmada çayın antioksidan, antikanserojen, antiaterosklerotik (Çelik, 2006) ve antimikrobiyel (Hamilton-Miller, 1995) etkisi rapor edilmiştir.

Bu tez çalışmasında Türkiye'de ilk defa endüstriyel bitkilerin kullanılmayan bölümlerinden (yaprak, sap ve püskül) farklı yöntemler kullanılarak ekstrakte edilen bitkisel komponentlerin ülkemizde sık görülen ve en az 5 antibiyotiğe dirençli olan *S. Infantis*, *S. Enteritidis* ve *S. Typhimurium* üzerine olan antimikrobiyel etkileri araştırılacaktır.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1.Gereç

2.1.1. *Salmonella* Serotipleri

Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Kültür Koleksiyonu'nda yer alan, daha önce Anabilim Dalında izole edilerek ISO 6579'a göre serotiplendirilen ve yapılan çalışmalar ile Türkiye'de izolasyon oranı yüksek olduğu belirlenen ve zoonotik açıdan önemli olan *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium* ve *S. Infantis* serovarları kullanıldı.

2.1.2. Bitki Materyalleri

Çalışmada endüstriyel amaçlı kullanılan bitkilerin (yeşil çay, mısır, zeytin vb.) doğal koşullarda kurutulmuş ve ekonomik açıdan değersiz, tarımsal atık olarak kabul edilen (yeşil çay sapı, mısır püskülleri, zeytin yaprağı) bölümleri kullanıldı.

2.1.3. Kullanılan Besi Yerleri

Bu çalışmada kullanılan *Salmonella* serotiplerinin aktivasyonu için Nutrient agar (Oxoid) ve antimikrobiyel aktivitenin saptanması için Müller-Hilton agar (Oxoid) kullanıldı.

2.1.4. Kimyasal Maddeler

Bakteri süspansiyonlarının hazırlanması için %0,9 fizyolojik tuzlu su (F.T.S.) kullanıldı. Etanol ekstraksiyonu için %80 oranında etanol distile su ile sulandırıldı.

2.1.5. Kullanılan Cihaz ve Gereçler

Çalışmada kullanılan bitkilerin ekstraksiyon yapılacak kısımları TissueLyser II (Qiagen) ile öğütüldü. Ekstraksiyonları homojenleştirmek için nüve SL350 çalkalayıcı, ısı derecesi 37°C ve 40°C'ye ayarlı etüvler ve filtrasyon için 0,45 whatman filtreler kullanıldı. Ekstrakt emdirmek amacıyla steril boş antibiyotik disklerinden (Oxoid) yararlanıldı.

2.2. Yöntem

Bitkisel ekstraktın hazırlanması: Endüstride kullanılan bitkilerin doğal koşullarda kurutulmuş yaprak, sap ve püsküllerinden farklı ekstraksiyon metotlarıyla (alkol ekstraksiyonu, su infüzyonu, sıvı azot ve mekanik parçalama) bitki özütleri çıkarıldı (Toroğlu ve Çenet, 2006). Bitkiler üzerinde aşağıdaki ekstraksiyon yöntemleri denendi ve en uygun görülen ekstraksiyon yöntemiyle antimikrobiyel aktivite saptandı.

2.2.1. Ekstraksiyon Yöntemleri

2.2.1.1. Metanol ile Ekstraksiyon

Çalışmada kullanılacak bitkilerin yaprak, sap vb. kısımları eppendorflara alınıp içlerine steril metal boncuk atılarak 30 000 rpm'de 15 dakika TissueLyser II (Qiagen) ile öğütülüp bitkilerden 100'er gram alındıktan sonra üzerine 300 ml metanol eklenerek 24 saat 150 devirde çalkalayıcıda oda sıcaklığında bekletildi. Yirmi dört saat sonunda whatman 1 filtreden 2 defa süzülerek 4000 devirde 10 dakika santrifüj edildi ve bitki özütleri elde edildi. Santrifüj sonunda üstte kalan kısım otoklavlanmış bir behere alınarak 40°C'de metanol tamamen uçuruldu (Özpınar ve Dağ, 2013).

2.2.1.2. Etanol ile Ekstraksiyon

Çalışmada kullanılacak bitkilerin yaprak, sap vb. kısımları eppendorflara alınıp içlerine steril metal boncuk atılarak 30 000 rpm'de 15 dakika TissueLyser II (Qiagen) ile öğütülüp bitkilerden 40'ar gram alındıktan sonra üzerine 1000 ml %80 etanol eklenerek 24 saat 150 devirde çalkalayıcıda oda sıcaklığında bekletildi. Yirmi dört saat sonunda whatman 0,45 filtreden geçirilerek etanol uçurulduktan sonra ekstraksiyon kullanıldı (Shan ve Cai, 2011).

2.2.1.3. Su ile Ekstraksiyon

Çalışmada kullanılacak bitkilerin yaprak, sap vb. kısımları eppendorflara alınıp içlerine steril metal boncuk atılarak 30 000 rpm'de 15 dakika TissueLyser II (Qiagen) ile öğütülüp bitkilerden 250 gram alındıktan sonra üzerine 650 ml kaynamış su eklenerek 5 saat bekletildi. Sonrasında whatman 0,45 filtreden geçirilerek ekstrakt kullanıldı (Gunasegaran ve ark., 2011).

2.2.1.4. Sıvı Azot ile Ekstraksiyon

Çalışmada kullanılacak bitkilerin yaprak, sap vb. kısımları sıvı azotla muamele edilerek hücre duvarı parçalanması sağlandı. Sıvı azotla işlem aşamasında, bitkilerin üzerine sıvı azot dökülerek havanda ezme işlemi yapıldı. Muamele edilen bitkilerden 3 gram alındı ve üzerine 50 ml steril distile su ilave edilerek 10 dakika 58°C'de bekletildi. Elde edilen homojenat en yüksek devirde santrifüj edildi ve whatman 0,45 filtreden geçirilerek ekstrakt hazırlandı (Şimşek ve ark., 2008).

2.2.2. *Salmonella* Serovarlarının Aktivasyonu

Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Kültür Koleksiyonu'nda yer alan, daha önce Anabilim Dalımızda izole edilerek ISO 6579'a göre serotiplendirilen ve -80°C'de dondurulan serovarlar çözündürülerek nutrient

agarlara ekimleri yapıldı. Yirmi dört saatlik 37°C'deki inkubasyondan sonra kontaminasyon kontrolleri yapılarak tek koloniden nutrient broth'a geçildi. Tekrar 24 saatlik 37°C'deki inkubasyondan sonra bakteriler yoğunluğu 0,5 McFarland standardına göre hazırlanıp teste hazır hale getirildi.

2.2.3. Koloni Sayımı

Üreyen bakteri suşlarına ait kültürlerin yoğunluğu steril fizyolojik su ile uygun sulandırmalarla 0,5 McFarland standardına göre ($1,5 \times 10^8$ CFU/ml) hazırlandı ve 10^1 , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} 'lık dilüsyonları yapıldı. Bunlar içerisinde 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} 'lık dilüsyonlardan nutrient agara yayma ekim yapılarak 37°C' de 24 saatlik inkubasyona bırakıldı. İnkubasyondan sonra koloni sayımı yapıldı.

2.2.4. Ekstratın Antimikrobiyel Etkisinin Değerlendirilmesi

Bitki ekstraktlarının bakteriler üzerindeki etkisi iki yönden incelendi. Birinci aşamada ekstraktın bakteri çoğalmasına etkisi incelendi. Bunun için kültürden 0,1 ml alınarak Müller Hilton agara yayma ekim yapıldı. Ekim yapılan suşun, agar üzerine iyice nüfuz etmesi için, petriyer etüve kaldırılmadan önce 5-10 dakika oda sıcaklığında bekletildi. Her bir bitki ekstraktından 50 ml boş antibiyotik disklerine emdirilerek yayma yapılan agarlar üzerine yerleştirildi. Yirmi dört saat 37°C'de inkubasyondan sonra antimikrobiyel etki agar-difüzyon yöntemiyle zon çapına göre değerlendirildi. İkinci aşamada bitki özütünün durma dönemindeki bakteri sayısını azaltıp azaltmadığı incelendi. Bunun için nötral bir ortamda belli bir sayıda bulunan *Salmonella* üzerine bitki ekstraktı eklendikten sonra, canlı bakteri sayımı yapılarak kontrollerle karşılaştırıldı.

3. BULGULAR

3.1. Ekstraktların Antimikrobiyel Sonuçları

3.1.1. Metanol ile ekstraksiyon

Metanol ekstraksiyonu uygulanan bitkilerin kullanılan *Salmonella* serovarlarına göre değişken antimikrobiyel etki gösterdiği görülmüştür. *S. Infantis*'te ekstrakt emdirilen disk etrafında inhibisyon zonu görülmezken, *S. Enteritidis* ve *S. Typhimurium*'da zon görülmüştür (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1. Metanol ekstraksiyonu uygulanan bitkilerin kullanılan *Salmonella* serovarı üzerindeki antimikrobiyel etkisi.

| BİTKİLER | SALMONELLA SEROVARLARI | | |
|----------------|------------------------|-----------------------|-----------------------|
| | <i>S. Infantis</i> | <i>S. Enteritidis</i> | <i>S. Typhimurium</i> |
| YEŞİL ÇAY SAPI | - | + | + |
| MISIR PÜSKÜLÜ | - | + | + |
| ZEYTİN YAPRAĞI | - | + | + |

3.1.2. Etanol ile ekstraksiyon

Etanol ekstraksiyonu uygulanan bitkilerin kullanılan tüm *Salmonella* serovarlarında antimikrobiyel etki gösterdiği görülmüştür (Çizelge 3.2).

Çizelge 3.2. Etanol ekstraksiyonu uygulanan bitkilerin kullanılan *Salmonella* serovarı üzerindeki antimikrobiyel etkisi.

| BİTKİLER | SALMONELLA SEROVARLARI | | |
|----------------|------------------------|-----------------------|-----------------------|
| | <i>S. Infantis</i> | <i>S. Enteritidis</i> | <i>S. Typhimurium</i> |
| YEŞİL ÇAY SAPI | + | + | + |
| MISIR PÜSKÜLÜ | + | + | + |
| ZEYTİN YAPRAĞI | + | + | + |

3.1.3. Su ile ekstraksiyon

Sadece TissueLyser II ile öğütülüp su ile hazırlanan homojenatın emdirildiği disklerin kullanıldığı *Salmonella* serovarlarından hiçbirinde inhibisyon zonu gözlenmemiştir (Çizelge 3.3).

Çizelge 3.3. Su ekstraksiyonu uygulanan bitkilerin kullanılan *Salmonella* serovarları üzerindeki antimikrobiyel etkisi.

| BİTKİLER | SALMONELLA SEROVARLARI | | |
|----------------|------------------------|-----------------------|-----------------------|
| | <i>S. Infantis</i> | <i>S. Enteritidis</i> | <i>S. Typhimurium</i> |
| YEŞİL ÇAY SAPI | - | - | - |
| MISIR PÜSKÜLÜ | - | - | - |
| ZEYTİN YAPRAĞI | - | - | - |

3.1.4. Sıvı azot ile ekstraksiyon

Sıvı azot ekstraksiyonu emdirilmiş disklerin kullanıldığı *Salmonella* serovarlarından hiçbirinde inhibisyon zonu gözlenmemiştir (Çizelge 3.4).

Çizelge 3.4. Sıvı azot ekstraksiyonu uygulanan bitkilerin kullanılan *Salmonella* serovarları üzerindeki antimikrobiyel etkisi.

| BİTKİLER | SALMONELLA SEROVARLARI | | |
|----------------|------------------------|-----------------------|-----------------------|
| | <i>S. Infantis</i> | <i>S. Enteritidis</i> | <i>S. Typhimurium</i> |
| YEŞİL ÇAY SAPI | - | - | - |
| MISIR PÜSKÜLÜ | - | - | - |
| ZEYTİN YAPRAĞI | - | - | - |

Yapılan testler kontrollerle karşılaştırıldı. Tüm ekstraksiyonların pH'sı 6,5-7,0 arasında olduğu belirlendi.

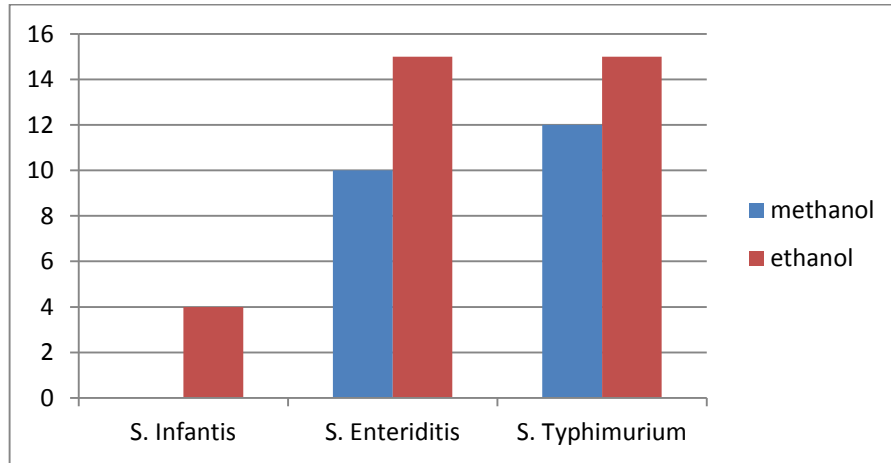
3.2. Zon apları Sonuçları

Kullanılan ekstraksiyon eşitleri sonucu *Salmonella* serovarlarında elde edilen zon çapları izelge 3.5’de verildi.

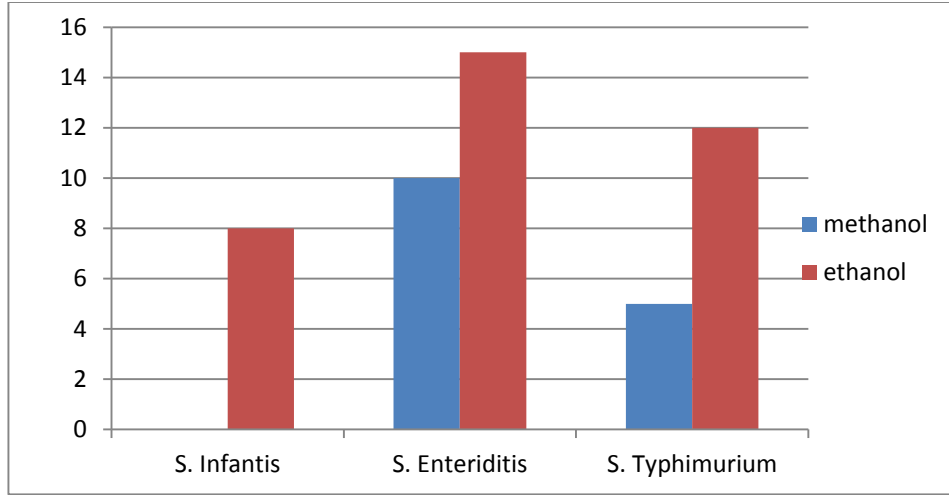
Çizelge 3.5. *Salmonella* serovarlarında elde edilen antibakteriyel aktivite inhibisyon zonları (mm)

| Familya Botanik isim | Yersel isim | Kullanılan kısım | <i>Salmonella</i> serovarlarında Antibakteriyel aktivite inhibisyon zonu (mm) | | | | | |
|--|----------------|---------------------|--|--------|-----------------------|--------|-----------------------|--------|
| | | | <i>S. Infantis</i> | | <i>S. Enteritidis</i> | | <i>S. Typhimurium</i> | |
| | | | metanol | etanol | metanol | etanol | metanol | etanol |
| Theaceae <i>Camellia sinensis</i> | Yeşil ay | sap | 0 | 4 | 10 | 15 | 12 | 15 |
| Poaceae <i>Zea mays</i> | Mısır | püşköl | 0 | 8 | 10 | 15 | 5 | 12 |
| Oleaceae <i>olea</i> | Zeytin | yaprak | 0 | 3 | 5 | 15 | 13 | 18 |

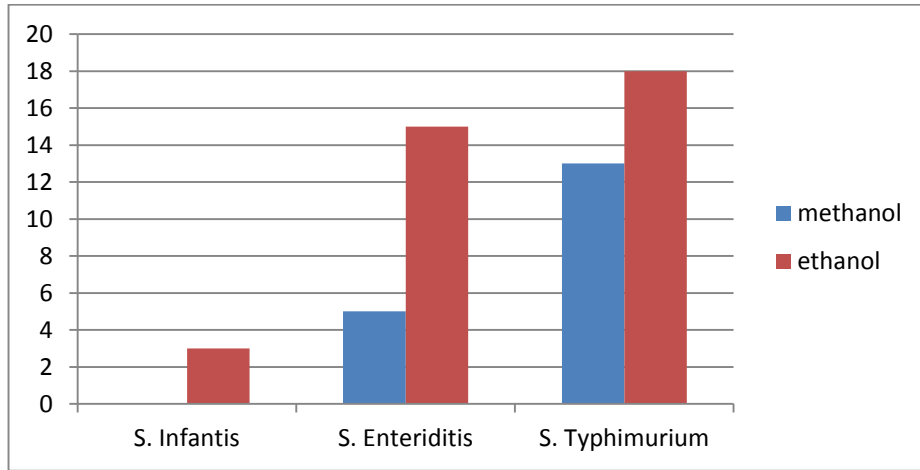
Metanol ve etanol ekstraksiyonlarında elde edilen zon çaplarının *S. Infantis*, *S. Enteritidis* ve *S. Typhimurium*’a ve bitki türlerine göre farklılıkları gösterdi Şekil 3.1, Şekil 3.2, Şekil 3.3’de gösterilmektedir.



Şekil 3.1. *Salmonella* serovarlarının yeşil çay yaprak ve saplarının metanol ve etanol ekstraktlarında oluşturdukları zon çapları.



Şekil 3.2. *Salmonella* serovarlarının mısır püskülünün metanol ve etanol ekstraktlarında oluşturdukları zon çapları.



Şekil 3.3. *Salmonella* serovarlarının zeytin yaprağının metanol ve etanol ekstraktlarında oluşturdukları zon çapları.

4. TARTIŞMA

Bakterilerde antibiyotiklere karşı artan direnç ve yeni antimikrobiyel madde üretimi için gerekli kaynakların azaldığı düşünüldüğünde herbal ürünlerin mikrobiyel etkinliğinin araştırılması oldukça önem taşımaktadır. Endüstriyel bitkilerin atılan kısımlarının antimikrobiyel etkisinin ortaya konulması halinde verimli bir şekilde geri dönüşümünün sağlanması olasılığı ekonomiye sağlayacağı katkı açısından çok önemlidir. Bu amaçla uygulanan klasik ekstraksiyon yöntemlerinin yanı sıra modifiye edilmiş yeni ekstraksiyon yöntemleri geliştirilmesi de bu çalışmalar için denemelidir. Bu çalışmada yeşil çay sapı, mısır püskülü, zeytin yaprağının metanol, etanol, su ve sıvı azot ekstraksiyonları yapılarak *S. Infantis*, *S. Enteritidis* ve *S. Typhimurium* üzerindeki etkileri ayrı ayrı çalışılmıştır.

Son yıllarda çay, kateşinlerin biyolojik aktivitelerinden dolayı ilgi odağı haline gelmiştir (Chen ve ark., 2001). Çayın yararlı önemli özelliklerinden biri de antibakteriyel (An ve ark. 2004) etkileridir. Önceden farklı araştırmacılar tarafından in vivo ve in vitro yapılan çalışmalarda çayın intestinal patojenler üzerine antibakteriyel etkileri birçok kez rapor edilmiştir (Das, 1962; Ryu ve ark., 1982; Scalbert, 1991). Bir çalışmada yeşil çayın su ekstraksiyonunun içerisinde *Streptococcus mutants*'ında bulunduğu kariyojenik streptokokları inhibe ettiği belirtilmiştir (Tsunoda ve ark., 1991). Wu ve ark. (2007), yeşil çay da dahil olmak üzere inceledikleri çay ekstraktlarında 2 mg/mL'lik konsantrasyonlarda antimikrobiyel aktivitenin *S. aureus* ve *B. subtilis*'e karşı saptandığını, ancak *E. coli*'ye karşı saptanmadığını bildirmişlerdir. Bazı araştırmacılar (Rabe ve Staden, 1997; Ali-Shtayeh ve ark., 1998) Gram pozitif bakterilerin Gram negatif bakterilere oranla antibakteriyel bileşiklere daha duyarlı oluşunun nedenlerinin başında bakterilerin yapısal özelliklerinin farklı olmasının geldiğini belirtmişlerdir. Benzer şekilde bir grup araştırmacılar da (Alzoreky ve Nakahara, 2003; Negi ve ark., 2005) gram-negatif bakterilerini daha yüksek direnç göstermesinin nedeninin dış membranlarında lipopolisakkarit içermelerinden kaynaklandığı düşünmüşlerdir. Sunulan tez çalışmasında su ile muamele edilen yeşil çayın *Salmonella* türleri üzerinde bir

inhibitör etkisi olmadığı gözlenmiştir. Öte yandan, daha önceki yıllarda yapılan bir çalışmada (Wu ve ark., 2007) yeşil çay ekstraktının çeşitli patojenler üzerinde etkili bulunmasının karşın, sunulan tez çalışmasında *Salmonella* serovarları üzerinde bir inhibitör etkisi olmadığı gözlenmesi; yeşil çay ekstraktının antibakteriyal etkisinin patojene göre değişkenlik gösterebileceği gibi kullanılan ekstraktların konsantrasyonu ile de ilişkili olabileceğini akla getirmektedir. Çünkü 2004 yılında An ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada %60'lık aseton ile muamele edilerek elde edilen ekstraktların 250 µg/disk düzeyinde kullanımı durumunda *E. coli*'de inhibisyon görülmezken, 500 ve 1000 µg/disk düzeyinde kullanımında ise inhibisyon gözlendiğini bildirmişlerdir.

Mısır püskülünün bitki formülasyonlarında anti-*Salmonella* aktivitesi tespit edilmiş ve hatta formülasyona eklenen bal ile limon suyunun *Salmonella* türleri üzerinde inhibitör etki gösterdiği belirtilmiştir. Nkuo-Akenj ve ark. (2004) yaptığı çalışmada metanol ekstraksiyonu uygulanmış ve *Salmonella* türlerinden *S. Typhi*, *S. Paratyphi* ve *S. Typhimurium* kullanılmış ve bitkilerin içlerinde en düşük bakteriyostatik ve bakterisidal etki gösterdiği türün *S. Typhimurium* olduğu gözlenmiştir. Bu çalışmayı destekler nitelikte olan bir diğer çalışmada da içinde 5 aromatik bileşen (thymol, carvacrol, citral, eugenol, geranio) ve 4 asidik bileşen (acetic acid, citric acid, lactic acid, pyropolyphosphoric acid) olan kombinasyonları yapılarak *S. Typhimurium* türü üzerinde çalışılmış ve farklı bileşenler içeren bitkilerin kombinasyon yapılarak kullanılmasının etkili olacağı belirtilmiştir (Nazera ve ark., 2005). Mısır püskülü için yapılan analizlerde birçok flavonoid, klorojenik asit, p-kumarik asit, ferulik asit, saponin, fitosterol, uçucu yağ, şeker, allantoin, tannin ve mineral içerdiği açıklığa kavuşmuştur (Ebrahimzadeh ve ark., 2008). Farklı bitki ekstraktlarının antimikrobiyel etkisinin ve mısır püskülünün flavonoidlerinin standart gentamisine karşılaştırılmasının yapıldığı bir diğer çalışmada ise bitkinin kloroform, metanol ve eter yağı ile farklı farklı ekstraksiyonlar yapılmıştır. Çalışma sonucunda kloroform ekstraktının *S. Typhi* ve *S. Paratyphi* üzerinde herhangi bir antimikrobiyel etki göstermediği görülürken diğer ekstraktlarda inhibisyon zonu görülmüştür (Nessa ve ark., 2012). Bu bulgu, yapmış olduğumuz tez çalışmasıyla ekstraksiyon

yöntemlerinin antimikrobiyel etkiyi etkilediği ortak görüş alınarak benzer bulunmuştur.

Zeytin yaprağının ana bileşeni doğal bir sekoroidid olan oleuropeinin iltihap giderici, damar sertliğini engelleyici ve kanser önleme özelliklerinin yanı sıra, endojen peptidleri bağlama özelliği ile de güçlü bir antioksidan etkiye sahip olduğu belirtilmektedir. Bunun yanı sıra, zeytin yaprağı ekstraktı ile oleuropein, tirozol, hidroksitirozol, kaffeik asit, gallik asit ve luteolin gibi bileşenlerinin virüsler, bakteriler, mayalar, küfler ve diğer parazitlere karşı antimikrobiyel etkilerinin olduğu bilinmektedir (Gikas ve ark., 2007). Oleuropeinden hidroksitirozol eldesi için öncelikle oleuropeinin zeytin yaprağından ekstrakte edilmesi gerekli olduğu belirtilmiş ve bu amaçla da metanol-su karışımı ve hegzan kullanılarak zeytin yaprağından fenolik maddelerin ekstraksiyonu yapılmıştır (Savournin ve ark., 2001; Guinda ve ark., 2002). Ancak zeytin yaprağı ekstraktlarının kullanım alanları düşünüldüğünde, metanol ve hegzan gibi toksik maddelerle ekstraksiyon ciddi sorun oluşturmakta, işlem süresinin uzunluğu ise hem fenolik maddelerde kimyasal dönüşümlere neden olmakta hem de endüstriyel üretim düşünüldüğünde yüksek maliyetlere yol açmaktadır. Bu nedenle ilk olarak, etanol-su karışımını solvent olarak kullanmış, dinamik ultrason kullanılarak ekstrakt elde edilmiş, daha sonra yine etanol-su karışımı kullanılmış mikrodalga desteğiyle ekstrakt elde edilmiş ve son olarak da etanol-su karışımı ve süper kritik sıvı ekstraksiyonu ile zeytin yaprağından ekstrakt elde edilmiştir (Japon-Lujan ve ark., 2006). Sunulan çalışmada zeytin yaprağının sıvı azot, su, metanol ve etanol kullanılarak ekstraksiyonu yapılmıştır. Elde edilen ekstraktların antimikrobiyel etkileri incelendiğinde etanol ekstraktının oluşturduğu zon çapının metanol ekstraktına oranla daha fazla olduğu, sıvı azot ve su ile elde edilen ekstratlarda zon çapı oluşmadığı belirlendi. Çalışmada elde edilen bu sonuçlar yukarıda adı geçen araştırmacıların bulgularını destekler niteliktedir. Farklı yöntemlerle elde edilen ekstraktların oluşturdukları zon çaplarının farklı olması; ekstraksiyon amacıyla kullanılan maddelerin zeytin yaprağındaki antimikrobiyel bileşenlere değişen oranlarda zarar vermesiyle açıklanabilir. Sudjana ve ark. (2009) çalışmalarında, zeytin ağacı yapraklarından elde edilen ticari bir ekstraktın 122 farklı mikroorganizmaya karşı olan antimikrobiyel etkisini araştırmışlardır. Bu araştırma

sonucunda zeytin yaprağı ekstraktının geniş spektrumlu bir antimikrobiyel etkisinin olmadığını ancak, *H. pylori*, *C. jejuni* ve *S. aureus* üzerinde önemli antimikrobiyel etkiler gösterdiğini bulmuşlardır. Sonuç olarak, zeytin yaprağı ekstraktının *H. pylori* ve *C. jejuni* gibi bakterilerin miktarlarını seçici olarak azaltmak yoluyla sindirim sisteminin florasının bileşimini düzenlemede bir rolü olabileceğini bildirmişlerdir. Markin ve ark. (2003), zeytin yaprağı ekstraktında bulunan fenolik bileşiklerin *E. coli*, *S. aureus*, *K. pneumonia*, *B. cereus*, *S. typhi* ve *V. parahaemolyticus* gibi birçok mikroorganizmaya karşı antimikrobiyel etki gösterdiğini ortaya konmuşlardır. Pereira ve ark. (2007) ise zeytin yaprağı ekstraktının farklı konsantrasyonları ile yürüttükleri in vitro çalışmalarında ekstraktın mikroorganizmalar üzerine antimikrobiyel kapasitesi *B. cereus* ~ *C. albicans* > *E. coli* > *S. aureus* > *C. neoformans* ~ *K. pneumoniae* ~ *P. aeruginosa* > *B. subtilis* şeklinde saptanmıştır. Sunulan tez çalışmasında diğer araştırıcılardan (Sudjana ve ark., 2009; Markin ve ark., 2003; Pereira ve ark., 2007) farklı olarak zeytin ekstraktının *Salmonella* türleri üzerine etkinliği araştırıldı ve *S. Typhimurium*, *S. Enteritis*, *S. Infantis* üzerinde önemli antimikrobiyel etkisinin olduğu belirlenmiştir. Ek olarak, antimikrobiyel etki düzeyinin *S. Typhii* > *S. Enteritis* > *S. Infantis* şeklinde olduğunun belirlenmesi; geniş spektrumlu bir antimikrobiyel etkisinin olmadığını ve bu nedenle etki kapasitesinin değişik bakteri türleri üzerinde farklılık göstereceği görüşünü destekleyen bir durumdur.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sunulan tez çalışma verileri değerlendirildiğinde ortaya çıkan önemli sonuçlar şunlardır;

1. Endüstriyel bitkilerin kullanılmayan kısımlarının *Salmonella* türleri üzerinde antimikrobiyel etkiye sahip olduğunu,
2. Kullanılan bitki türlerinin ekstraksiyon metoduna göre etkinliğin değiştiği,
3. En yüksek antimikrobiyel etkinliğin etanol ekstraksiyonunda saptandığı,
4. Aynı türlerin içinde serovarlar arasında ekstrakt etkinliğinin değişkenlik gösterdiği sonucuna varılmıştır.

Yukarıdaki sonuçlara ilişkin öneriler aşağıda özetlenmiştir;

1. Endüstriyel bitkilerinin kullanılmayan kısımlarının antimikrobiyel etkinliğinin gözardı edilmemelidir.
2. Bitkilerin antibakteriyel ajan olarak kullanılması amacıyla ekstrakt oluşturulmasında ideal yöntemlerin belirlenmesi gereklidir.
3. Bitkisel ekstraktların doğal bir koruyucu olabileceği ve sentetik antimikrobiyel maddelere alternatif olabileceği düşünülmüştür.

ÖZET

Endüstriyel Bitkilerin *Salmonella* serotipleri Üzerindeki Antimikrobiyel Etkileri

Bu çalışmanın amacı, endüstriyel bitkilerin kullanılmayan bölümlerinden (yaprak, sap ve püskül) farklı yöntemler kullanılarak ekstrakte edilen bitkisel componentlerin ülkemizde sık görülen ve en az 5 antibiyotiğe dirençli olan *S. Infantis*, *S. Enteritidis* ve *S. Typhimurium* üzerine olan antimikrobiyel etkileri araştırılmasıdır.

Bu amaçla yeşil çay sapı, mısır püskülü, zeytin yaprağının metanol, etanol, su ve sıvı azot ekstraksiyonları yapılarak *S. Infantis*, *S. Enteritidis* ve *S. Typhimurium* üzerindeki etkileri ayrı ayrı araştırıldı.

Sonuç olarak endüstriyel bitkilerin kullanılmayan bölümlerinden uygun yöntemle elde edilen ekstraktlarının *Salmonella* serovarları üzerinde antibakteriyel etkisi olduğu saptandı.

Anahtar Sözcükler: antibakteriyel etki, ekstraksiyon, mısır, *Salmonella*, yeşil çay, zeytin

SUMMARY

Antimicrobial Effects of Industrial Plants on *Salmonella* Serovars

The aim of this study was to investigate the antimicrobial effects of the herbal components extracted by using different methods of the unused portion of the industrial plants on *S. Infantis*, *S. Enteritidis* and *S. Typhimurium*, commonly seen in our country, having resistance of at least 5 antibiotics.

For this purpose, extractions of green tea, corn and olive leaf were performed with using methanol, ethanol, water and liquid nitrogen extractions and it was investigate that effects of these extract on *S. Infantis*, *S. enteritidis* and *S. typhimurium*, separately.

In conclusion, it was determined that the extracts obtained by the suitable process from unused parts of industrial plants have antibacterial effect on *Salmonella* serovars.

Key words: Antibacterial effect, corn, extraction, green tea, olive leaf, *Salmonella*

KAYNAKLAR

- AGBAJE, M., BEGUM, R.H., OYEKUNLE, M.A., OJO, O.E., ADENUBI, O.T., (2011). Evolution of Salmonella nomenclature: A critical note. *Folia Microbiol.*, **56**: 497-503.
- AKAN, M. (2008). Kanatlılarda Salmonella İnfeksiyonları ve Kontrolünde Temel Prensipler. *Mektup Ankara.*, **6**: 3-5.
- ALİ-SHTAYEH, M.S., YAGHMOUR, R.M., FAİDİ, Y.R., SALEM, K., AL-NURİ, M.A. (1998). Antimicrobial activity of 20 plants used in folkloric medicine in the Palestinian area. *J. Ethnopharmacol.*, **60**: 265-271.
- ALZOREKY, N.S., NAKAHARA, K. (2003). Antibacterial activity of extracts from some edible plants commonly consumed in Asia. *Int. J. Food Microbiol.*, **80**: 223- 230.
- AN, B., KWAK, J., SON, J., PARK, J., LEE, J.C. AND BYUN, M. (2004). Biological and antimicrobial activity of irradiated green tea polyphenols. *Food Chem.*, **88**: 549-555.
- ARMUTCU, F., AKYOL, S., HASGUL, R., YİĞİTOĞLU, M.R. (2011). Zeytin yaprağının biyolojik etkileri ve tıpta kullanımı. *Spatula DD.*, **1(3)**: 159-165.
- AYACHI, A., ALLOUI, N., BENNOUNE, O., YAKHLEF, G., AMIOUR, S.D., BOUZID, W., ZOUGHLACHE, S.D., BOUDJELLAL, K., ABDESSEMED, H. (2009). Antibacterial Activity of Some Fruits; Berries and Medicinal Herb Extracts Against Poultry Strains of Salmonella. *American-Eurasian. J. Agric. Environ. Sci.*, **6(1)**: 12-15.
- BABACAN, O., CENGİZ, S., AKAN, M. (2012). Oregano bitkisinin bazı Salmonella serotipleri üzerine antibakteriyel etkinliğinin belirlenmesi. *Ankara Üniv Vet Fak Derg.*, **59**: 103-106.
- BARROW, P.A., LOWEL, M.A., MURPHY, C.K., PAGE, K. (1999). Salmonella infection in a commercial line of ducks; Experimental studies in virulence, intestinal colonization and immune protection. *Epidemiol. Infect.*, **123**: 121-132.
- BİLGEHAN, H. (2004). Klinik Mikrobiyolojik Tanı. 4. Baskı Fakülteler Kitabevi İzmir.
- BORCHARDT, J.R., WYSE, D.L., SHEAFFER, C.C., KAUPPI, K.L., FULCHER, R.G., EHLKE, N.J., BIESBOER, D.D., BEY, R.F. (2008). Antimicrobial activity of native and naturalized plants of Minnesota and Wisconsin. *JMP.*, **2(5)**: 98-110.
- BOZIARIS, I.S., PROESTOS, C., KAPSOKEFALOU, M., KOMAITIS, M. (2011). Antimicrobial Effect of Filipendula ulmaria Plant Extract Against Selected Foodborne

Pathogenic and Spoilage Bacteria in Laboratory Media, Fish Flesh and Fish Roe Product. *Food Technol. Biotechnol.*, **49(2)**: 263–270.

BUCHOLZ, P.S., FAIRBROTHER, A.(1992). Pathogenicity of Salmonella pullorum in northern bobwhite quail and malard ducks. *Avian Dis.*, **36**: 304-312.

CHOI, J.G., KANG, O.H., LEE, Y.S., CHAE, H.S., OH, Y.C., BRICE, O.O., KIM, M.S., SOHN, D.H., KIM, H.S., PARK, H., SHIN, D.W., RHO, J.R., KWON, D.Y. (2011). In Vitro and In Vivo Antibacterial Activity of Punica granatum Peel Ethanol Extract against Salmonella. *J. Evid. Based Complementary Altern.*, 1-8.

CHORIANOPOULOS, N., KALPOUTZAKIS, E., ALIGIANNIS, N., MITAKU, S., NYCHAS, G.J., HAROUTOUNIAN, S.A. (2004). Essential Oils of Satureja, Origanum, and Thymus Species: Chemical Composition and Antibacterial Activities Against Foodborne Pathogens. *J. Agric. Food Chem.*, **52**: 8261-8267.

ÇELİK, F. (2006). Çay (Camellia sinensis); içeriği, sağlık üzerinde koruyucu etkisi ve önerilen tüketimi. *Türkiye Klinikleri J Med Sci.*, **26**: 642-648.

CHEN, Z., WANG, S., LEE, K.M.S., HUANG, Y., HO, W.K.K. (2001). Preparation of flavanolrich green tea extract by precipitation with AlCl₃. *J. Agric. Food. Chem.*, **81**: 1034-1038.

DAS, D. N. (1962). Studies on the antibiotic activity of tea. *J. Ind. Chem. Soc.*, **39**: 849–854.

DİKER, S., MÜŞTAK, K., AKAN, M. (2013). Türkiye’de kanatlılarda antibiyotik kullanımı ve direnç sorunu. 2. Uluslararası Beyaz Et Kongresi, 24-28 Nisan 2013, Antalya-Türkiye.

EBRAHİMZADEH, M.A., POURMORAD, F., HAFEZİ, S. (2008). Antioxidant activities of Iranian corn silk. *Turk J Biol.*, **32**: 43-49.

ELOFF, J.N. (1998). Which extractant should be used for the screening and isolation of antimicrobial components from plants? *J. Ethnopharmacol.*, **60**: 1-8.

ERDOĞAN, E., EVEREST, A. (2013). Antimikrobiyel Ajan Olarak Bitki Bileşenleri. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi.*, **6(2)**: 27-32.

EROL, İ. (2010). Salmonella enfeksiyonlarının zoonotik önemi. *Turkiye Klinikleri J Vet Sci.*, **1(2)**: 105-13.

ETHELBERG, S., WINGSTRAND, A., JENSEN, T., SØRENSEN, G., MÜLLER, L., LISBY M. VE ARK. (2008). Large outbreaks of Salmonella Typhimurium infection in Denmark in 2008. *Euro Surveill.*, **13(44)**: 1-3.

GAST, R.K. (2003). Salmonella Infection. In: Disease of poultry 11.Ed. Ed: SAİF, Y.M. Iowa State Press p: 567-613.

- GIKAS, E., FOTINI, N., BAZOTI, F.N., TSARBOPOULOS, A. (2007). Conformation of Oleuropein, the Major Bioactive Compound of *Olea Europaea*. *Journal of Molecular Structure.*, **821**: 125-132.
- GUINDA, A., LANZON, A., RIOS, J.J., ALBI, T., 2002. The Isolation and Quantification of The Components from Olive Leaf: Hexane Extract, *Grasasy Aceties.*, **53**: 419-42.
- GUNASEGARAN, T., RATHINAM, X., KASI, M., SATHASIVAM, K., SREENIVASAN, S., SUBRAMANIAM, S. (2011). Isolation and identification of salmonella from curry samples and its sensitivity to commercial antibiotics and aqueous extracts of *Camelia sinensis* (L.) and *Trachyspermum ammi* (L.). *Asian Pac. J. Trop. Biomed.*, **1(4)**: 266-9.
- HAMILTON-MILLER, J.M.T. (1995). Antimicrobial properties of tea. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **39(11)**: 2375-2377.
- HUSSAIN, A., WAHAB, S., ZARIN, I., HUSSAIN, M.D.S. (2010). Antibacterial Activity of the Leaves of *Coccinia indica* (W. and A) Wof India. *Adv. Biol. Res.*, **4(5)**: 241-248.
- ISLAM, S., KABIR, M.A., BHUIYAN, H.R., MAHMUD, M.N., NIPA, M.N., BAKAR, M.A., MASUM, S.M. (2011). Anti-microbial Effect of *Terminalia arjuna* Bark Extract against *Salmonella* Isolated from the Poultry litter of Rural Area of Chittagong, Bangladesh. *J. Sci. Ind. Res.* **46(2)**: 147-152.
- İZGÜR, M. (2002). *Salmonella*, Koli İnfeksiyonları. Alınmıştır: Kanatlı Hayvan Hastalıkları. Ed: İzgür, M., Akan, M.. Ankara: Medisan Yayın Serisi. **4**: 37-126.
- İZGÜR, M. (2006). Enterobakteri İnfeksiyonları (Enterobacteriaceae). Alınmıştır: Veteriner Mikrobiyoloji (Bakteriyel Hastalıklar), Ed. Aydın, N., Paracıkoğlu, J. İlke-EmekYayınevi, Ankara, p.:109-127.
- İZGÜR, M., (2010). Kanatlı *Salmonella* Enfeksiyonlarının Epidemiyolojisi. *Türkiye Klinikleri J. Vet. Sci.*, **1(2)**: 61-68.
- JAPON-LUJAN, R., LUQUE-RODRIGUEZ, J.M., LUQUE DE CASTRO, M.D., (2006). Dynamic Ultrasound-Assisted Extraction of Oleuropein and Related Biophenols from Olive Leaves. *J. Chromatogr.*, **1108**: 76-82.
- KALENDER, H., ŞEN, S. (2008). Tavuk Etleri Ve Tavuklardan İzole Edilen *Salmonella* Enterica Subsp. Enterica Serovar Enteritidis Suşlarının Faj Tiplendirilmesi Ve Pulsed-Field Gel Electrophoresis ile analizi. *İstanbul üniv. Vet. Fak. Derg.* **34**: 15-24.
- KELEŞ, O., AK, S., BAKIREL, T., ALPINAR, K. (2001). Türkiye’de yetişen bazı bitkilerin antibakteriyel etkisinin incelenmesi. *Turk J Vet Anim Sci.*, **25**: 559-565.
- KHAN, R., ISLAM, B., AKRAM, M., SHAKIL, S., AHMAD, A., ALİ, S.M., SİDDİQUİ, M., KHAN, A.U. (2009). Antimicrobial Activity of Five Herbal Extracts Against

Multi Drug Resistant (MDR) Strains of Bacteria and Fungus of Clinical Origin. *Molecules.*, **14**: 586-597.

KORUKLUOGLU, M., SAHAN, Y., YİĞİT, A., KARAKAS, R., 2006. Antifungal Activity of Olive Leaf (*Olea europaea* L.) Extracts from The Trilye Region of Turkey, *Annals Microbiol.*, **56(4)**: 359-362.

KWON, H.A., KWON, Y.J., KWON, D.Y., LEE, J.H. (2008). Evaluation of antibacterial effects of a combination of *Coptidis Rhizoma*, *Mume Fructus*, and *Schizandrae Fructus* against *Salmonella*. *Int. J. Food Microbiol.*, **127**: 180–183.

LEE, M.H., KWON, H.A., KWON, D.Y., PARK, H., SOHN, D.H., KIM, Y.C., EO, S.K., KANG, H.Y., KIM, S.W., LEE, J.H. (2006). Antibacterial activity of medicinal herb extracts against *Salmonella*. *Int. J. Food Microbiol.*, **111**: 270–275.

MADANI, A., JAIN, S.K. (2008). Anti- *Salmonella* Activity of *Terminalia Belerica*: in vitro and in vivo studies. *Indian J. Exp. Biol.*, **48**: 817-821.

MAHIDA, Y., MOHAN, J.S.S. (2007). Screening of plants for their potential antibacterial activity against *Staphylococcus* and *Salmonella* spp. *Nat. Prod. Radiance*. **6(4)**: 301-305.

MARKIN, D., DUEK, L. (2003). Berdicevsky, I. In vitro antimicrobial activity of olive leaves. *Mycoses.*, **46**: 132-136.

MARQUES, A., ENCARNAC, S., PEDRO, S., NUNES, M.L. (2008). In vitro antimicrobial activity of garlic, oregano and chitosan against *Salmonella enterica*. *World J Microbiol Biotechnol.*, **24**: 2357–2360.

MATHAPPAN, R., PRASANTH, V.V., JOLLY, C.I., SOMANATH, M. (2010). Comparative study on the antibacterial activity of the methanolic extract of *Urena lobata* root and a standard marketed herbal formulation. *J. Pharm. Res.*, **3(5)**: 953-955.

N'GUESSAN, J.D., COULIBALY, A., RAMANOU, A.A., OKOU, O.C., DJAMAN, A.J., GUÉDÉ-GUINA, F. (2007). Antibacterial activity of *Thonningia sanguinea* against some multidrug resistant strains of *Salmonella enterica*. *Afr. Health Sci.*, **7(3)**: 155-158.

NAZERA, A.I., KOBILINSKY, A., THOLOZAN, J.L., DUBOIS-BRISSENET, F. (2005). Combinations of food antimicrobials at low levels to inhibit the growth of *Salmonella* sv. *Typhimurium*: a synergistic effect?. *Food Microbiol.*, **22**: 391–398.

NEETA, S.R., JYOTI, B., ANJUVAN, S., PRABHJOT, K. (2011). Antibacterial Potential of *Achyranthus aspera* Linn Procured from Himachal Pradesh, Punjab and Haryana, India. *Res. J. Chem. Sci.*, **1(8)**: 80-82.

NEGI, P.S., CHAUHAN, A.S., SADIA, G.A., ROHINISHREE, Y.S., RAMTEKE, R.S. (2005). Antioxidant and antibacterial activities of various seabuckthorn (*Hippophae*

rhamnoides L.) seed extracts. *Food Chem.*, **92**: 119-124.

NESSA, F., ISMAİL, Z., MOHAMED, N. (2012). Antimicrobial Activities of Extracts and Flavonoid Glycosides of Corn Silk (*Zea mays* L). *Int. J. Biotechnol. Wellness Ind.*, **1**: 115-121.

NKUO-AKENJİ, T., NDİP, R., ERNEST, C.F., THOMAS, A.M. (2004). Anti-Salmonella activity of medicinal plants from cameroon. *Cent Afr J Med.*, **47(6)**: 155-158.

ÖZKAN, O., AYDIN, H., BAĞCIGİL, A.F. (2009). *Salvia verticillata* ve *Phlomis pungens*'in in vitro Antibakteriyel Etkinliğinin Değerlendirilmesi. *Kafkas Univ Vet Fak Derg.*, **15(4)**: 587-590.

ÖZPINAR, H., DAĞ, Ş., YİĞİT, E. (2013). Şeftali (*Persica vulgaris* Miller) yaprak ekstraktının antibakteriyel etkisi. *Cumhuriyet Tıp Derg.*, **35**: 172-178.

PASHA, C., SAYEED, S., ALİ, M.S., KHAN, M.Z. (2008). Antisalmonella Activity of Selected Medicinal Plants. *Turk. J. Biol.*, **33**: 59-64.

PEREIRA, A.P., ISABEL C.F.R. FERREIRA, FILIPA MARCELINO, PATRICIA VALENTÃO, PAULA B. ANDRADE, ROSA SEABRA, LETICIA ESTEVINHO, ALBINO BENTO, JOSÉ ALBERTO PEREIRA. (2007) Phenolic Compounds and Antimicrobial Activity of Olive (*Olea europaea* L. Cv. Cobrançosa) Leaves. *Molecules.*, **12**: 1153-1162.

POPOFF, M.Y., BOCKEMUHL, J., BRENNER, F.W., (2000). Supplement 1968 (no:2) to the Kauffman-White scheme. *Res.Microbiol.*, **151**: 63-65.

RABE, T., STADEN, J. (1997). Antibacterial activity of South African plants used for medicinal purposes. *J. Ethnopharmacol.*, **56**: 81-87.

RANI, P., KHULLAR, N. (2004). Antimicrobial Evaluation of some Medicinal Plants for their Anti-enteric Potential against Multi-drug Resistant *Salmonella typhi*. *Phytother. Res.*, **18**: 670-673.

RAZA M. (2006). A role for physicians in ethnopharmacology and drug discovery. *J. Ethnopharmacol.*, **104**: 297-301.

RYU, E., BLENDEN, D.C., WENDALL, D. (1982). The inhibition of growth of selected bacteria by incorporating powdered tea in the medium. *Int. J. Zoonos.*, **9**: 73-76.

SANNI, S., OYELILI, P.A., SANNI, F.S. (2008). Phytochemical Analysis, Elemental Determination and some in vitro Antibacterial Activity of *Occimum Basilicum* L. Leaf Extracts. *Res. J. Phytochem.*, **2(2)**: 77-83.

- SAVOURNIN, C., BAGHDIKIAN, B., ELIAS, R., DARGOUTH-KESRAOUI, F., BOUKEF, K., BALANSARD, G., 2001. Rapid High- Performance Liquid Chromatography Analysis for The Quantitative Determination of Oleuropeinin Olea europaea Leaves. *J. Agric. Food Chem.*, **49**: 618-621.
- SCALBERT, A. (1991). Antimicrobial properties of tannins. *J. Pharmacogn. Phytochem.*, **30**: 3875–3883.
- SHAN, B., CAI, Y.Z., BROOKS, J.D., CORKE, H. (2007). The in vitro antibacterial activity of dietary spice and medicinal herb extracts. *Int. J. Food Microbiol.*, **117**: 112–119.
- SHAN, B., CAI, Y.Z., BROOKS, J.D., CORKE, H. (2011). Potential application of spice and herb extracts as natural preservatives in cheese. *J Med Food.*, **14(3)**: 284-290.
- SUDJANA, A.N., D'ORAZIO, C., RYAN, V., RASOOL, N., NG, J., ISLAM, N., RILEY, V.T., HAMMER, K.A. (2009). Antimicrobial activity of commercial Olea europaea (olive) leaf extract. *Int. J. Antimicrob. Agents.*, **33**: 461-463.
- ŞAHAN, Ö. (2014). Tavuklarda Salmonella infeksiyonları. *Mektup Ankara.*, **12(3)**: 3-10.
- ŞİMŞEK, Ö., KARAAAT, F.E., SERÇE, S., KAÇAR, Y.A. (2008). Bazı meyve türlerinde DNA izolasyon yöntemlerinin etkinliğinin karşılaştırılması. *Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Derim Dergisi.*, **25(1)**: 59-69.
- TOROĞLU, S., ÇENET, M. (2006). Tedavi Amaçlı Kullanılan Bazı Bitkilerin Kullanım Alanları ve Antimikrobiyal Aktivitelerinin Belirlenmesi İçin Kullanılan Metodlar. *KSÜ. Fen ve Mühendislik Dergisi.*, **9(2)**: 12-20.
- TUİK 2012. Resmi web sitesi. www.tuik.gov.tr, Ankara.
- TSUNODA, T., YAMAZAKI, T., MUKAI, I. (1991). Oral preparations containing catechins for periodontitis and halitosis control. Japanese patent JP 03218320.
- USHIMARU, P.I., DA SILVA, M.T.N., DI STASI, L.C., BARBOSA, L., JUNIOR, A.F.. (2007). Antibacterial activity of medicinal plant extracts. *Braz. J. Microbiol.*, **38**: 717-719.
- YAMAN K., (2012). Bitkisel Atıkların Değerlendirilmesi ve Ekonomik Önemi. *Orman Fakültesi Dergisi.*, **12(2)**: 339-348.
- XIAOYAN ZHAO, CHAO ZHANG, CLAUDIA GUIGAS, YUE MA, MARGARITA CORRALES, BERNHARD TAUSCHER, XIAOSONG HU. (2009). *Eur. Food. Res. Technol.*, **228**: 759–765.
- WU, C.D., WEI, G.X. (2002). Tea as a functional food for oral health. *Nutrition.*, **18**: 443-4.

WU, S., YEN, G., WANG, B., CHIU, C., YEN, W., CHANG, L., DUH, P. (2007). Antimutagenic and antimicrobial activities of puerh tea. *Lebens. Wiss. Technol.*, **40**: 506-512.

ZHAO, X., ZHANG, C., GUIGAS, C., MA, Y., CORRALES, M., TAUSCHER, B., HU, X. (2009). Composition, antimicrobial activity, and antiproliferative capacity of anthocyanin extracts of purple corn (*Zea mays* L.) from China. *Eur. Food Res. Technol.*, **228**: 759–765.

ÖZGEÇMİŞ

1- BİREYSEL BİLGİLER

| | |
|-----------------------------------|---|
| Ad | Merve |
| Soyad | ÖZDAL SALAR |
| Doğum Yeri ve Tarihi | ANKARA- 31.07.1989 |
| Uyruk | TC |
| Medeni Durum | Evli |
| İletişim Adresi ve Telefon | Karlıdağ Cd. Efsane Evleri 5/F Blok D:5- Eryaman Yenimahalle/Ankara Cep: 5452231633 e-mail: merveozdal@hotmail.com |

2- EĞİTİM

1. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Lisans Eğitimi (2007-2012)
2. Cumhuriyet Lisesi (2003-2007)- ANKARA
3. Maltepe İlköğretim Okulu- ANKARA

Yabancı Dil: İngilizce

3- UNVAN

1. Veteriner Hekim- 2012

4- ÜYE OLUNAN BİLİMSEL KURULUŞLAR

1. Ankara Bölgesi Veteriner Hekimler Odası
2. Veteriner Hekimler Mikrobiyoloji Derneği

5- BİLİMSEL YAYINLAR

Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler :

1. Alkan, H., Baştan, A., Salar, S., **Özdal, M.**, Kaymaz, M. (2014). Kuru döneme çıkarken enfekte ve sağlıklı meme loblarında California Mastitis

Test ve somatik hücre sayısı ile bakteriyolojik muayene sonuçlarının karşılaştırılması. Ankara Univ Vet Fak Derg, 61(3): 179-183.

Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler:

1. Alkan, H., Baştan, A., Salar, S., **Özdal, M.**, Kaymaz, M. (2013). Kuruya çıkarma sırasında California Mastitis Test'in enfekte meme loblarının belirlenmesinde kullanılabilirliği. V. Veteriner Doğum ve Jinekoloji Kongresi (Uluslararası katılımlı), 31 Ekim-3 Kasım 2013, Antalya-TÜRKİYE.
2. Kaya, İ.B., Karacan, N., **Özdal, M.**, Mete, Ş., Diker, K.S. (2014). Veteriner klinik örneklerde direkt 16S rRNA dizi analizi ile bakteriyel tanı. 8. Ulusal Moleküler ve Tanısal Mikrobiyoloji Kongresi. 4-7 Haziran 2014, Ankara-TÜRKİYE.
3. **Özdal Salar, M.**, Salar, S., Kanca, H., Diker, K.S. (2014). Köpeklerin Pyometra Olgularından İzole Edilen Escherichia coli Suşlarının Filotiplendirilmesi. XI. Veteriner Mikrobiyoloji Kongresi, 21-24 Ekim 2014, Antalya-TÜRKİYE.

Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler:

1. Müştak, H.K., Kaya, İ.B., **Özdal, M.**, Bilgen, N., Haşçelik, G., Diker, K.S. (2014). Phylo-typing of Escherichia coli isolated from blood samples. 114th General Meeting American Society for Microbiology. Boston, USA.