

# Oregano bitkisinin bazı *Salmonella* serotipleri üzerine antibakteriyel etkinliğinin belirlenmesi

Orkun BABACAN<sup>1</sup>, Seyda CENGİZ<sup>2</sup>, Mehmet AKAN<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara; <sup>2</sup> Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Erzurum.

**Özet:** Bu çalışma Oregano bitkisinin çeşitli *Salmonella* serotipleri üzerindeki antibakteriyel etkinliğinin belirlenmesi amacıyla yapıldı. Oregano bitki ekstraktı iki farklı protokole göre hazırlandı. İlk protokolda farklı yoğunluktaki oregano ekstraktları ile antibiyogram diskleri hazırlanarak disk difüzyon tekniği uygulandı. Oluşan zon çapları *Salmonella* Gallinarum için 15 mm, *Salmonella* Enteritidis için 19 mm, *Salmonella* Typhimurium için 16 mm olarak ölçüldü. İkinci protokolda ise yoğunlukları farklı oregano ekstraktları besiyerlerine eklenerek *Salmonella* cinsi bakterilerin bu besiyerlerinde üreme yoğunlukları karşılaştırıldı. *S.* Enteritidis için 20 µl/ml oregano içeren petride 1600 koloni sayılırken, 30 µl/ml oregano içeren petride 440 koloni sayımı yapıldı. *S.* Typhimurium için 20 µl/ml bulunan petride 952 koloni sayılırken, 30 µl/ml bulunan petride 536 koloni sayımı yapıldı. Sonuç olarak oregano ekstraktının *Salmonella* serotipleri üzerine antibakteriyel etkili olduğu belirlendi.

Anahtar sözcükler: Antibakteriyel etki, Oregano, *Salmonella*.

## Detection of antibacterial effect of oregano plant on various *Salmonella* serotypes

**Summary:** This study was performed to detect antibacterial effects of oregano on various *Salmonella* serotypes. The oregano extract were prepared for two different protocols. In the first protocol, disc diffusion method included antibiograms discs with different concentrations of oregano extract were used. Zone diameters were measured to be 15, 19 and 16 mm for *Salmonella* Gallinarum, *Salmonella* Enteritidis and *Salmonella* Typhimurium, respectively. In the second, oregano extract with different concentrations (20 and 30 µl/ml) were added into medium content and bacterial growth were evaluated. Colony counts for *S.* Typhimurium and *S.* Enteritidis were 952; 536 and 1600; 440 in 20 and 30 µl/ml concentrations of oregano extract, respectively. These results showed that oregano extract had antibacterial effect on *Salmonella* serotypes.

Key words: Antibacterial activity, Oregano, *Salmonella*

## Giriş

Salmonellozis dünya çapında, gıda enfeksiyonları arasında en sık rastlanılan ve son yıllarda geniş salgınlara neden olan bir enfeksiyondur. Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nde Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi (Centers for Disease Control and Prevention) tarafından bildirilen verilere göre ABD'de son yıllarda 1,4 milyon salmonellosiz vakası bildirilirken, Avrupa Birliği ülkelerinde ise bu rakamın 100.000'den fazla olduğu rapor edilmiştir. İnsanlarda *Salmonella* Typhi, *Salmonella* Paratyphi gibi etkenler şiddetli enfeksiyonlara neden olmaktadır. Hayvanlarda ise *Salmonella* Gallinarum, *Salmonella* Pullorum, *Salmonella* Choleraesuis, *Salmonella* abortus equi, *Salmonella* abortus ovis ve *Salmonella* Derby enfeksiyona neden olurken, bu bakteriler insanlarda da nadiren de olsa enfeksiyona neden olmaktadır (11). Paratifo etkenleri olarak tanımlanan ve özellikle *Salmonella* Enteritidis ve *Salmonella* Typhimurium başta olmak üzere diğer etkenlerin zoonoz özelliğe sahip olması, hayvanlarda bu etkenlere bağlı enfeksiyonlara

karşı veteriner hekimlikte bir takım önlemlerin alınmasını zorunlu kılmaktadır. Bu nedenden dolayı ülkemizde *Salmonella* enfeksiyonlarına karşı bir önlem olarak kanatlı işletmelerinde *Salmonella* kontrol programları oluşturulmuştur (11). Damızlık yönlü yetiştirilen kanatlı hayvanlarda *S.* Gallinarum, *S.* Pullorum, *S.* Typhimurium, *S.* Enteritidis enfeksiyonları ile ilgili izleme programları yürütülmektedir (11). Kanatlı sürülerde paratifo etkenlere bağlı olarak oluşan enfeksiyonların tedavisinde farklı antibiyotikler kullanılmaktadır. Ancak yapılan çalışmalarda özellikle *Salmonella* Typhimurium başta olmak üzere diğer etkenlerde antimikrobiyal maddelere karşı mikro-organizma tarafından geliştirilen direncin, insan sağlığı açısından potansiyel bir risk oluşturduğu bildirilmektedir. Bu nedenle kanatlılarda salmonellosiz kontrolünde etkili ve güvenli çözümlere ihtiyaç duyulmaktadır (10, 13).

Son yıllarda biliminsanları antibiyotiklerin bu dezavantajlar nedeniyle yan etkisi oldukça az olan doğal ürünlerin, *Salmonella* serotipleri üzerindeki etkinliği konusunda araştırmaya başlamıştır. Araştırmalar sonucu

pek çok bitki, antibiyotiklere alternatif olarak bulunarak bu bitkilerin etkisi bilimsel olarak kanıtlanmıştır. Eterik yağların *E. coli*, *S. Typhimurium* ve *S. aureus*'a karşı etkili olduğu bildirilmiştir (Başer, 2000). Bu sebeple eterik yağların hem antimikrobiyal madde olarak hem de sindirim sistemindeki patojen bakterilerin üremesini engellemesi nedeniyle yem katkı maddesi olarak kullanımı uygun olarak görülmektedir (14).

Oregano (mercanköşk, İstanbul kekiği, Taş kekik) bitkisi de içeriğinde bulunan karvakrol, borneol, kimol, pimen, tanen ve flavon içeriği nedeniyle tedavide kullanılan bu bitkiler arasına girmiştir (4, 5, 6, 9). Doğal antimikrobiyal bileşiklerden karvakrol, *Oreganum vulgare*'nin eterik yağında %60-70, kekikte %45 oranında bulunur (1). Ultee ve ark. (2002) *Oreganum* eterik yağında bulunan karvakrol, timol ve kimeninin antimikrobiyal etkilerinin olduğunu; bu etkinin bakteri hücre duvarı üzerinde gerçekleştiğini ve iyon konsantrasyonuna bağlı olarak ozmotik basıncın değişmesi sonucunda sitoplazmik membran yapısının bozulması ile birlikte ATP sentezinin durmasına bağlı olduğunu bildirmişlerdir (21). Oregano bitkisinin antibakteriyel etkisini gözlemek amacıyla pek çok çalışma yapılmış, bu bitkinin içerdiği kimyasallar aracılığı ile özellikle *Salmonella* türleri üzerinde antibakteriyel özelliğe sahip olduğu görülmüştür (3, 7, 12, 15, 16, 17, 18, 19).

Dadaloğlu ve Evrendilek (2004) oregano, lavanta ve defne bitkilerinin, *Salmonella Typhimurium* başta olmak üzere *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* ve *Listeria monocytogenes* bakterileri üzerindeki antibakteriyel etkilerine bakmışlardır. Oregano bitkisinin *E. coli* dışındaki tüm bakteriler üzerinde, özellikle *S. Typhimurium* üzerine, antibakteriyel etkinliğinin fazla olduğunu gözlemlemişler, lavanta ve defne bitkilerine oranla da güçlü bir antibakteriyel etki tespit etmişlerdir. Pakistan'da yapılan bir çalışmada 11 farklı Gram negatif bakteri türü için oregano bitkisinin antibakteriyel etkinliğine bakılmış ve bu bitki içeriğinde bulunan karvakrol ve timol gibi çeşitli kimyasal maddelerin *Salmonella* ve *Citrobacter* ile *E. coli* başta olmak üzere diğer denemeye alınan bakteriler üzerinde antibakteriyel özellik sağladığı bildirilmiştir (6).

Bu çalışmada, Oregano (*Oregano vulgare*) tozunun farklı süspansiyonları hazırlanarak çeşitli *Salmonella* türleri üzerindeki antibakteriyel etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

### Materyal ve Metot

**Test suşları:** Çalışmada Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı kültür kolleksiyonundan sağlanan *S. Gallinarum*, *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium* suşları kullanıldı.

**Oregano tozu:** Bu çalışmada *Oregano vulgare*'nin doğal koşullarda kurutulmuş ve öğütülmüş tozu kullanıldı.

**Besiyeri:** Bakterilerin üretilmesi için nutrient agar (Merck), oreganonun antibakteriyel etkinliğinin gözlenmesi için Mueller Hinton agar (Merck) kullanıldı.

**Tampon sıvı ve çözeltiler:** Bakteri süspansiyonlarının ve Oregano toz süspansiyonlarının hazırlanması için %0,9 oranında steril fizyolojik tuzlu su kullanıldı.

**Test prosedürü:** *Salmonella* suşları nutrient agara ekim yapılarak 24-48 saat 37°C'de inkübe edildi. Üreyen koloniler Mac Farland 3 nolu tüpe göre steril fizyolojik tuzlu su içerisinde sulandırıldı. Bu suşlardan yayma ekimde kullanmak için 10<sup>-3</sup>'lük sulandırmalar hazırlandı.

Oregano toz bileşiminden 1/10, 1/100 ve 1/1000'lik süspansiyonlar hazırlandı ve bu süspansiyonlar 50'şer µl hacimde steril kurutma kağıtlarına emdirildi.

Steril fizyolojik tuzlu suda 10<sup>-3</sup>'lük sulandırmaları hazırlanan suşlardan Mueller Hinton agarlara 0,1 ml yayma tarzında ekim yapıldı. Oregano süspansiyonu emdirilmiş kağıtlar disk difüzyon tekniğinde olduğu gibi agar üzerine yerleştirildi. Agarlar 37°C'de 24 saatlik inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon periyodu sonunda zon çapları ölçüldü.

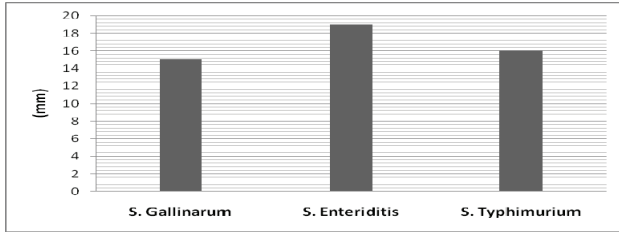
İkinci test protokolünde ise, Mueller Hinton agarlara 1/10'luk Oregano sulandırmasından 20µl/ml ve 30µl/ml eklendi. Ayrıca Oregano sulandırması eklenmeyen Mueller Hinton agar kontrol ekimlerini yapmak amacıyla hazırlanan Oregano süspansiyonları eklenerek hazırlanan besiyerlerine 10<sup>-3</sup>'lük sulandırmaları hazırlanan *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium* suşlarından ve kontrol olarak hazırlanan Oregano sulandırması eklenmeyen petrilere 0,1 ml yayma ekim yapılarak 24 saat 37 °C'de inkübe edildi. İnkübasyon sonunda üreyen kolonilerin sayımları yapıldı.

**İstatistik:** Farklı Oregano bitki konsantrasyonları bakımından bakteri gruplarının oluşturduğu koloni sayıları arasındaki fark, ki kare testi ile değerlendirildi.

### Bulgular

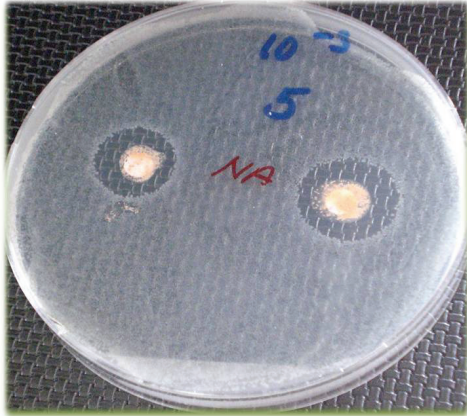
İnkübasyon sonucu oreganonun farklı sulandırmalarından yapılan ekimlerden sadece 1/10'luk sulandırmada zon oluştuğu belirlendi. Diğer oregano konsantrasyonları için yapılan ekimlerde herhangi bir zon oluşumuna rastlanmadı. Buna göre 1/10'luk oregano süspansiyonunda; *S. Gallinarum* için 15 mm, *S. Enteritidis* için 19 mm, *S. Typhimurium* için 16 mm çapında zonların oluştuğu görüldü (Grafik 1, Şekil 1).

Diğer test protokolü sonucunda ise *S. Enteritidis* için 20µl/ml oregano içeren petride 1600 koloni sayılırken, 30µl/ml oregano içeren petride 440 koloni sayımı yapıldı. *S. Typhimurium* için 20µl/ml oregano bulunan petride 952 koloni, 30 µl/ml oregano bulunan petride ise 536 koloni sayıldı (Grafik 2, Şekil 2). Test suşlarının kontrol amaçlı yapılan ekimlerinde ise *S. Typhimurium* için koloni 1680, *S. Enteritidis* ise 2580 koloni sayıldı.



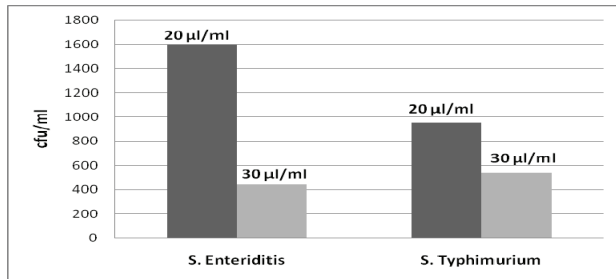
**Grafik 1:** *Salmonella* türlerinin 1/10 sulandırılan Oregano süspansiyonunda oluşan zon çapları.

**Graphic 1:** Zone diameters of *Salmonella* species in 1/10 diluted süspansions of Oreganon.



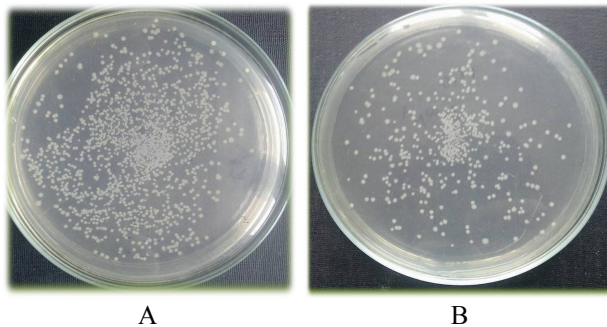
**Şekil 1:** Disk difüzyon metodu ile *Salmonella* spp.'de oluşan zonlar.

**Figure 1:** Zones around *Salmonella* spp. by disc diffusion method.



**Grafik 2:** *S. Enteritidis* ve *S. Typhimurium*'un farklı oregano yoğunluklarında üreyen bakteri sayıları.

**Graphic 2:** Bacterial counts of *S. Enteritidis* and *S. Typhimurium* growth in different densities of oreganon.



A

B

**Şekil 2:** Farklı Oregano süspansiyonları ile hazırlanan agarlardaki bakteri yoğunlukları. A: 20µl/ml, B: 30µl/ml.

**Figure 2:** Bacterial densities in agars which was prepared by different oregano suspensions. A: 20µl/ml, B: 30µl/ml

**İstatistik:** Farklı Oregano bitki konsantrasyonları bakımından bakteri gruplarının oluşturduğu koloni sayıları arasındaki fark istatistiksel açıdan önemli bulunmuştur ( $p < 0.05$ ).

## Tartışma ve Sonuç

Tavuklarda salmonella enfeksiyonlarının kontrolü, insan sağlığı açısından oldukça önemlidir. İnsanlara bulaşmada kanatlı ürünlerinin rolü iyi bilinmektedir. Bu nedenle kanatlıların üretim aşamasını da içine alan *Salmonella* kontrol programlarında, yem katkısı *Salmonella* inhibitörleri ve bitkisel ürünlerin kullanımı yaygınlaşmaktadır. Bu kapsamda, Chorianoopoulos ve ark. (7) yaptıkları çalışmada aynı aileden olan tüm kekik türlerinde *Salmonella* spp.'ye karşı oldukça güçlü bir antibakteriyel aktivitenin olduğunu bildirmiştir. Dadaloğlu ve Evrendilek (2004) kullandıkları bitkiler içinde oregano bitkisinin, özellikle *S. Typhimurium* için antibakteriyel etkinliğinin oldukça iyi olduğunu belirlemişlerdir. Koscova ve ark. (12) oregano özlerinin *Salmonella* üzerine etkisini *in vivo* olarak incelemişler ve oregano özü uygulanan hayvanlardaki *Salmonella* kolonizasyonunun kontrol grubuna göre %43-57 oranında azaldığını belirlemişlerdir. Marquez ve ark. (15) *S. Enterica* suşları üzerinde oregano bitkisinin antibakteriyel etkinliğini gözlemlemişlerdir. Özcan ve Erkmen (2001) *S. Typhimurium*'un da içinde bulunduğu 11 farklı mikroorganizma üzerine 9 farklı bitkinin etkisini incelemiş ve oreganonun antimikrobiyal etkinliğinin çok fazla olduğunu belirlemişlerdir. Yapılan bir diğer çalışmada da oregano, *S. Enteritidis* etkenleri için en güçlü inhibitör madde olarak bulunmuştur (20). Bozin ve ark. (5) oregano bitkisinin ait olduğu aile olan *Lamiaceae* (Ballıbabagiller) familyasındaki bitki türlerinin özellikle Oregano bitkisinin içeriğindeki bileşiklerden dolayı yüksek miktarda antioksidan ve antibakteriyel etkisi olduğunu belirtmiş, bu bitkilerin fitofarmokimyasallar olarak farklı enfeksiyonların tedavisinde ve daha öncesinde alınacak önlemlerde kullanılabileceğini bildirmiştir. Benli ve ark (4) yaptıkları çalışmada gördükleri antimikrobiyal etki sonucunda eterik yağ asidi içeren bitkilerin tedavi amacı ile kullanılabileceğini ve antibiyotiklere alternatif olabileceğini belirtmişlerdir. Dorman ve Deans (9) bitkilerden elde edilen ürünlerin mikroorganizmaların büyük çoğunluğu üzerinde etki gösterdiğini belirtmiş, bu bitki ekstraktlarının özellikle oral kullanımının sindirim mikroflorasını olumsuz etkileyebileceği vurgulanmıştır. Bu nedenle bu bitkilerin kullanımının daha fazla incelenmesi gerekliliği üzerinde durmuştur.

Bu çalışmada elde edilen bulgular genel olarak değerlendirildiğinde, Oregano süspansiyonu emdirilmiş kağıtların kullanıldığı test protokolünde *S. Gallinarum* için 15 mm, *S. Enteritidis* için 19 mm, *S. Typhimurium* için 16 mm çapında zonların oluştuğu ve bu bakterilere



karşı Oregano süspansiyonunun antibakteriyel etkili olduğu görüldü. Bu sonuç, diğer araştırmacıların bulgularına benzer bulundu.

Bu çalışmada kullanılan yöntemle ilgili olarak, Oregano konsantrasyonlarına bağlı koloni sayılarının değiştiği belirlendi. *S. Enteritidis* için 20µl/ml oregano içeren petride 1600 koloni sayılırken, 30µl/ml oregano içeren petride 440 koloni sayımı yapıldı ( $p<0.05$ ). *S. Typhimurium* için 20µl/ml oregano bulunan petride 952 koloni, 30 µl/ml oregano bulunan petride ise 536 koloni sayıldı ( $p<0.05$ ). Bu sonuç değerlendirildiğinde 30 µl/ml oregano içeren petrilere koloni sayılarının, 20 µl/ml oregano içeren petrilere göre daha az olduğu görüldü ( $p<0.05$ ). Alınan sonuçlar araştırmacıların (4, 5, 9) sonuçları ile benzerlik göstermekte olup, oluşan inhibisyon zonları ve oreganonun artan miktarlarında üreyen koloni sayısının azalması ile oregano bitkisinin farklı *Salmonella* tipleri üzerinde antibakteriyel özelliğinin olduğu görülmüştür. Ayrıca kullanılan yöntemin, antibakteriyel etki ve bakteri suşlarına ve ürün yoğunluğuna bağlı olarak şekillenen farklılıkların açıkça ortaya konması için uygun bir yöntem olduğu belirlenmiştir. Bu nedenle çalışmada kullanılan yöntem, benzer çalışmalar için temel oluşturabilecek niteliktedir.

Sonuç olarak Oregano bitki ekstraktının *Salmonella* üremesini sınırlaması nedeniyle, hayvansal üretimde *Salmonella* kontrol programları kapsamında kullanılabilirliği ortaya kondu.

### Kaynaklar

1. **Avcı S** (2004). *Etlük piliç karma yemlerinde bitkisel ekstrakt kullanımının besi performansına etkileri*. ÇÜ. Fen Bilimleri Enstitüsü. Yüksek Lisans Tezi, Adana
2. **Başer CHK** (2000). Anadolu Üniversitesi tıbbi ve aromatik bitki ve ilaç araştırma merkezi. Çalışma sonuç raporu. 18-26.04.2000. No: TBAM 009-017/2000. (1-4)
3. **Baydar H, Sağdıç O, Özkan G, Karadoğan T** (2004) *Antibacterial activity and composition of essential oils from Origanum, Thymbra and Satureja species with commercial importance in Turkey*. Food Control. **15**, 169-172
4. **Benli M, Yiğit N** (2005) *Ülkemizde yaygın kullanımı olan kekik (Thymus vulgaris) bitkisinin antimikrobiyal aktivitesi*. Orlab On-line Mikrobiyoloji Dergisi. **3**, 1-8
5. **Bozin B, Mimica-Dukic N, Simin N, Anackov G** (2006) *Characterization of the volatile composition of some Lamiaceae spices and the antimicrobial and antioxidant activities of the entire oils*. J. Agric. Food Chem. **54**, 1822-1828
6. **Chaudhry NMA, Saeed S, Tariq P** (2007) *Antibacterial effects of oregano (Origanum Vulgare) against gram negative bacilli*. Pak. J. Bot. **39**, 609-613
7. **Chorianopoulos N, Kalpoutzakis E, Aligiannis N, Mitaku S, Nychas G, Haroutounian SA** (2004) *Essential oils of Satureja, Origanum, and Thymus species: chemical composition and antibacterial activities against foodborne pathogens*. J. Agric. Food Chem. **52**, 8261-8267
8. **Dadaloğlu I, Evrendilek GA** (2004) *Chemical compositions and antibacterial effects of essential oils of Turkish Oregano (Origanum minutiflorum), Bay Laurel (Laurus nobilis), Spanish Lavender (Lavandula Stoechas L.) and Fennel (Foeniculum vulgare) on common foodborne pathogens*. J. Agric. Food Chem. **52**, 8255-8260
9. **Dorman HJD, Deans SG** (2000) *Antimicrobial agents from plants; antibacterial activity of plant volatile oils*. J. Appl. Microbiol. **88**, 308-316
10. **İzgür M** (2002) *Salmonella İnfeksiyonları*. Edt.M.İzgür, M.Akan. Kanatlı Hayvan Hastalıkları. Medisan Yayınevi. Ankara
11. **İzgür M** (2006) *Enterobakteri İnfeksiyonları (Enterobacteriaceae)*. Edt.N.Aydın, J.Paracıkoğlu Veteriner Mikrobiyoloji (Bakteriyel Hastalıklar) İlke-Emek Yayınevi. Ankara
12. **Koscova J, Nemcova R, Gancarcikova S, Joncova Z, Scirankova L, Bomba A, Buleca V** (2006) *Effect of two plant extracts and Lactobacillus fermentum on colonization of gastrointestinal tract by Salmonella enterica var. Dusseldorf in chicks*. Biologia **61**, 775-778
13. **Lee HM, Kwon Ha, Kwon DY, Park H, Sohn Dh, Kim YC, Eo S, Kang H, Kim S, Le JH** (2006) *Antibacterial activity of medicinal herb against Salmonella*. Int. J. Food Microbiol. **111**, 270-275
14. **Mandal L, Biswas T, Sarkar SK** (2000). *Broiler perform well on herbs or enzymes in maize diet*. World Poltry-Elsevier. **16**, 19-21
15. **Marquez A, Encarnaçao S, Pedro S, Nunes ML** (2008) *In vitro antimicrobial activity of garlic, oregano and chitosan against Salmonella enterica*. World J Microbiol. Biotechnol. **24**, 2357-2360
16. **Özcan M, Erkmen O** (2001) *Antimicrobial activity of the essential oils of Turkish plant spices*. Eur. Food Res. Technol. **212**, 658-660
17. **Pasha C, Sayeed S, Ali S, Khan Z** (2009) *Antisalmonella activity of selected medicinal plants*. Turk J. Biol. **33**, 59-64
18. **Paster N, Juven BJ, Shaaya E, Menasherov M, Nitzan R, Weisslowicz H, Ravid U** (1990) *Inhibitory effect of oregano and thyme essential oils on moulds and foodborne bacteria*. Lett. Appl. Microbiol. **11**, 33-37
19. **Seydim AC, Sarıkuş G** (2006) *Antibacterial activity of whey protein based edible films incorporated with oregano, rosemary and garlic essential oils*. Food Res. Int. **39**, 639-644
20. **Smith-Palmer A, Stewart J, Fyfe L** (1998) *Antimicrobial properties of plant essential oils and essences against five important food-borne pathogens*. Lett. Appl. Microbiol. **26**, 118-122
21. **Ultee A, Bennik JHM, Moezelaar R** (2002). *The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen Bacillus cereus*. Appl. Environ Microbiol. **68**, 1561- 1568

Geliş tarihi: 31.05.2011 / Kabul tarihi: 02.12.2011

#### Yazışma Adresi:

Orkun Babacan  
Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi  
Mikrobiyoloji Anabilim Dalı  
Dışkapı/Ankara 06110  
e-mail: orkun\_babacan@hotmail.com