



## *Origanum onites* ve *Ocimum basilicum*'un *bla<sub>CTX-M</sub>* Pozitif Enterobacteriaceae Üzerine Antimikrobiyal Etkisi

Seda Özdikmenli Tepeli<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Veterinerlik Bölümü, Yenice Meslek Yüksekokulu, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Çanakkale, Türkiye

### Makale Tarihiçesi

Gönderim: 12.02.2020

Kabul: 10.08.2020

Yayın: 29.12.2020

### Araştırma Makalesi

**Öz** – Antibiyotikler hayvanlarda çeşitli enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde de kullanılmaları yansira, patojen mikroorganizmaların neden olduğu mastitis tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Enterobacteriaceae familyasına ait *E.coli* ve *Klebsiella* gibi etmenler ile mücadelede yan etkilerinin az olması ve bakterisid olmaları nedeniyle beta-laktam antibiyotikler sıklıkla kullanılmaktadır. Antibiyotiklerin aşırı ve uygunsuz kullanımı, patojenlerin direnç geliştirmesine neden olmuştur. İnsan ve hayvanlarda Enterobacteriaceae üyelerinde en sık rastlanan direnç genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz üretimidir. Mastitis tedavisinde antibiyotik kullanımını sınırlandırmak amacı ile araştırmacılar homeopati, kil tedavisi, fitoterapi, esansiyel yağlar, akupunktur, ozon ve oksijen tedavisi gibi alternatif tedavileri araştırmışlardır. Bu çalışmada *Origanum onites* ve *Ocimum basilicum* esansiyel yağlarının antibiyotik dirençli *bla<sub>CTX-M</sub>* geni içeren *Escherichia coli*, *Serratia liquefaciens*, *Citrobacter braakii* ve *Morganella morganii* üzerine antimikrobiyal etkisi incelenmiştir. *Origanum onites* ve *Ocimum basilicum* esansiyel yağlarının %50 (v/v) konsantrasyonunun *bla<sub>CTX-M</sub>* pozitif bakteriler üzerine en iyi sonucu verdiği tespit edilmiştir. *Origanum onites* esansiyel yağın MİK değerleri <0.48 µL/mL olarak tespit edilmişken, *Ocimum basilicum* esansiyel yağının MİK değerleri 31.25 ile <0.48 µL/mL arasında tespit edilmiştir. Esansiyel yağlar, özellikle organik üretim yapan tesislerde antibiyotik direncinin artmasını önlemek için alternatif bir tedavi yöntemi olarak kullanılabilir.

**Anahtar Kelimeler** – *Origanum onites*, *Ocimum basilicum*, esansiyel yağ, antibiyotik direnci, Enterobacteriaceae

## Antimicrobial Effect of *Origanum onites* and *Ocimum basilicum* on *bla<sub>CTX-M</sub>* Positive Enterobacteriaceae

<sup>1</sup>Department of Veterinary, Yenice Vocational School, Çanakkale Onsekiz Mart University, Çanakkale, Turkey

### Article History

Received: 12.02.2020

Accepted: 10.08.2020

Published: 29.12.2020

### Research Article

**Abstract** – Antibiotics are widely used for the treatment of mastitis caused by pathogenic microorganisms, although they are also used in the treatment of various infectious diseases in food animals. Beta-lactam antibiotics are commonly used for the treatment of disease caused by Enterobacteriaceae such as *E.coli* and *Klebsiella* because of they have few side effects and are bactericidal. The excess and unnecessary use of antibiotics causes the antibiotic resistance of pathogens. Extended spectrum beta-lactamases have been commonly found in Enterobacteriaceae isolated from humans and animals. In order to limit the use of antibiotics in the treatment of mastitis, researchers have investigated alternative treatments such as homeopathy, clay therapy, phytotherapy, essential oils, acupuncture, ozone, and oxygen therapy. In this study, the antimicrobial effect of *Origanum onites* and *Ocimum basilicum* essential oils on *bla<sub>CTX-M</sub>* positive *E. coli*, *Serratia liquefaciens*, *Citrobacter braakii* and *Morganella morganii* bacteria were investigated. 50% (v/v) concentration of *Ocimum basilicum* and *Origanum onites* essential oils have shown the best antimicrobial effect on *bla<sub>CTX-M</sub>* positive bacterias. While MIC values of *Origanum onites* essential oil have determined as <0.48 µL / mL, MIC values of *Ocimum basilicum* essential oil have determined between 31.25 and <0.48 µL / mL. Essential oils can be used as an alternative treatment method especially in organic production establishments in order to prevent the increase of antibiotic resistance.

**Keywords** – *Origanum onites*, *Ocimum basilicum*, essential oil, antibiotic resistance, Enterobacteriaceae

<sup>1</sup> sedaozdikmenli@comu.edu.tr

\*Sorumlu Yazar / Corresponding Author

## 1. Giriş

Dünyada ve ülkemizde süt sığırcılığı yetiştiriciliğinde meme bezi iltihaplanması olarak bilinen mastitis hastalığı önemli ekonomik kayıplara neden olmaktadır (Tepeli ve Zorba, 2017; Weiner vd., 2015). Yetiştiricilikte mastitis hastalığı klinik ve subklinik olarak başlıca iki formda ortaya çıkmakla birlikte, çiğ sütte fiziksel, kimyasal ve bakteriyolojik değişikliklere de neden olmaktadır (Santiago vd., 2015). Klinik mastitis hastalığı belirtileri üretici tarafından gözle fark edilebilirken, subklinik mastitis hastalığı ise, üreticiler tarafından çıplak gözle fark edilememektedir. Subklinik mastitisin başlıca etmeni patojen mikroorganizmalar olmakla birlikte, barınak koşulları, sağım hijyeni, çevre koşulları, cins, yaş, ağırlık ve laktasyon sayısı gibi faktörlerde mastitis nedenleri arasındadır (Tepeli ve Zorba, 2017). Antibiyotikler hayvanlarda çeşitli enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde kullanılmaları yansira, patojen mikroorganizmaların neden olduğu mastitis tedavisinde de yaygın olarak kullanılmaktadır (Şeker ve Özenç, 2010; Dinç, Ata, ve Temelli, 2012; Ünal, 2012). Çevresel mastitis patojeni olan Enterobacteriaceae familyasına ait *E.coli* ve *Klebsiella* gibi etmenler ile mücadelede yan etkilerinin az olması ve bakterisid olmaları nedeniyle beta-laktam antibiyotikler sıklıkla kullanılmaktadır (de Oca, Talavera-Rojas, Soriano-Vargas, Barba-León, ve Vazquez-Navarrete, 2015; Nguyen vd., 2016). Hayvanlarda uygun olmayan antibiyotik tedavileri, mastitis etmeni ve diğer hastalık etmeni patojen mikroorganizmalarda direnç gelişimine neden olduğu araştırmacılar tarafından ifade edilmektedir (Santiago vd., 2015; Ibrahim, Dodd, Stekel, Ramsden ve Hobman, 2016). Bu antibiyotiklere karşı Enterobacteriaceae familyasına ait türler başta olmak üzere birçok mikroorganizma tarafından üretilen beta-laktamaz enzimleri en önemli direnç mekanizmalarından biridir (Jehl, Chomarar, Weber, ve Gerard, 2003; Elmacioğlu, 2013) Substrat olarak sefotaksimi tercih eden CTX-M enzim sınıfları en yaygın geniş spektrumlu beta-laktamazlar hâline gelmişlerdir (Öge-dey, Cömert, Köktürk, Külâh, ve Aktaş, 2016; Yıldırım ve Pehlivanoglu, 2018). Mastitis tedavisinde antibiyotik kullanımını sınırlandırmak amacı ile araştırmacılar homeopati, kil tedavisi, fitoterapi, esansiyel yağlar, akupunktur, ozon ve oksijen tedavisi gibi alternatif tedavileri araştırmışlardır (Bal, 2011; Oral vd., 2014).

Bu çalışmanın amacı *Origanum onites* ve *Ocimum basilicum* esansiyel yağlarının antibiyotik dirençli *bla<sub>CTX-M</sub>* geni içeren peynir üretim sürecinin farklı aşamalarından elde edilmiş Enterobacteriaceae familyasına ait bazı patojen bakteriler üzerindeki antimikrobiyal etkisini belirlemektir.

## 2. Materyal ve Yöntem

### 2.1. Esansiyel Yağlar

*Origanum onites* ve *Ocimum basilicum* esansiyel yağları Tarımsal İklimleme ve Teknoloji Araştırmalar A.Ş (TİKTA)'den temin edilmiştir. TİKTA'dan temin edilen yağların bileşen analizleri Anadolu Üniversitesi Bitki İlaç ve Bilimsel Araştırmalar Merkezi (AÜBİBAM) tarafından Shimadzu GS-9A kullanılarak, Thermon-600 T capillary kolonda (50m x 0.25 mm I.D.F), taşıyıcı gaz olarak azot gazı (split oranı: 60:1), sıcaklık programı olarak; 70°C-10 dakika //2°C/dakika, 180°C-30 dakika, dedektör ve enjeksiyon sıcaklığı 250°C kullanılarak belirlenmiştir. Esansiyel yağların temel bileşenleri alikonma indeksleri ve kütle spektrumları dikkate alınarak GS-9A cihazının kütüphanesi kullanılarak tespit edilmiştir. GS/MS sonuçları Tablo 1'de verilmiştir (Ozdikmenli ve Zorba, 2014, 2016).

Tablo 1

Esansiyel yağların GS/MS sonuçları

<i>Ocimum basilicum</i>		<i>Origanum onites</i>	
Bileşik*	%	Bileşik*	%
1. $\beta$ -Pinene	1.0	1. Myrcene	1.3
2. 1,8-Cineole	8.8	2. alfa-Terpinene	1.1
3. Linalool	40.6	3. gama-Terpinene	5.6
4. Trans- $\beta$ -Bergamotene	2.3	4. p-Cymene	4.9

5. Methylchavicol	28.5	5. Linalool	6.1
6. Germacrene D	1.6	6. beta-Caryophyllene	2.0
7. $\gamma$ -Muuroolene	1.1	7. Borneol	2.0
8. Eugenol	1.9	8. beta-Bisabolene	1.0
9. T- Cadinol	2.0	9. Thymol	1.7
		10. Carvacrol	67.0
Toplam	87.8	Toplam	92.7

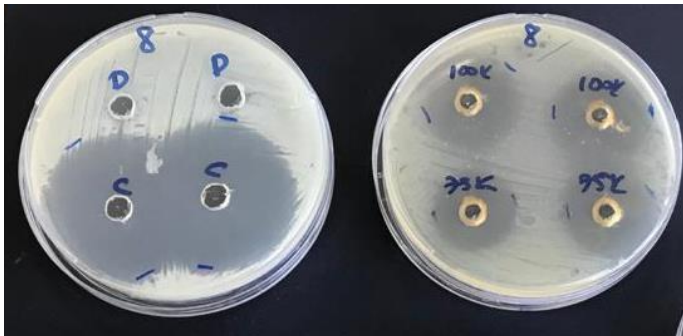
\*%1'den büyük bileşikler.

## 2.2. Çalışmada Kullanılan *bla<sub>CTX-M</sub>* pozitif Enterobacteriaceae İzolatları ve Standart Kültürler

Çalışmada kullanılan Enterobacteriaceae familyasına ait bakteriler Tepeli (2017) tarafından yapılan önceki çalışmada çiğ süttten başlanarak son ürüne kadar olan peynir üretim sürecinin farklı aşamalarından elde edilmiş ve fenotipik yöntemlerle genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) aktivitesine sahip olduğu belirlenmiştir. Fenotipik olarak GSBL pozitif bulunan izolatlar *bla<sub>CTX-M</sub>*: F-5-TCTTCCAGAATAAGGAATCCC-3, R- 5-CCGTTTCCGCTATTACAAAC-3, 909 bp primer kullanarak polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile incelenmiştir (Tepeli, Eser, Gürpınar, Beşli ve Zorba, 2018). *bla<sub>CTX-M</sub>* pozitif 7 adet *Escherichia coli*, 1 adet *Serratia liquefaciens*, 1 adet *Citrobacter braakii* ve 2 adet *Morganella morganii* bu çalışmada kullanılmak üzere seçilmiştir. Standart kültür olarak Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü mikrobiyoloji kültür koleksiyonundan pozitif kontrol *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 ve negatif kontrol *E.coli* ATCC 25922 temin edilmiştir.

## 2.3. Agar Kuyucuk Difüzyon Yöntemi

*Origanum onites* ve *Ocimum basilicum* esansiyel yağlarının her biri %25, %50, %75 ve %100 (v/v) olmak üzere 4 farklı konsantrasyonda Dimetil sülfoksit (DMSO) ile hazırlanarak analiz edilmiştir. Tryptone Soya Agar (TSA, Merck, Almanya)'da 18-24 saatlik tek düşmüş koloniler 0.5 Mc-Farland bulanıklığına eşdeğer inokülüm hazırlanmasında kullanılmıştır. 2-3 koloni alınarak steril serum fizyolojik su içerisinde süspansiyon haline getirilmiştir. Bulanıklık DEN-1 Mc-Farland densistometresi (Cambridge Ltd, İngiltere) ile ölçülmüştür. 0.5 Mc-Farland bulanıklığındaki süspansiyondan steril eküvyon ile Müller Hinton Agar (MHA, HiMedia, Hindistan) plaklarına ekim yapılmıştır. Bakteri süspansiyonun plak tarafından absorbe edilmesinden sonra plak üzerine uygun mesafelerde 6 mm çapında kuyucuklar açılmıştır. Besiyeri içerisine açılan her kuyucuğa her bir konsantrasyondaki esansiyel yağlardan 100'er  $\mu$ L eklenmiştir. Plaklar düz bir şekilde 35 °C'de 18-24 saat inkübasyona bırakılmış, inkübasyon sonrası Şekil 1'deki gibi kuyucuklar etrafındaki zon çapları digital kumpas (PM, Çin) ile ölçülmüştür (Boorn vd., 2010; Valgas, de Souza, Smânia ve Smânia Jr, 2007). Pozitif ve negatif kontrol için sırasıyla sefotaksim (2 mg/L) antibiyotiği ve DMSO kullanılmıştır.



Şekil 1. Agar kuyucuk difüzyon yönteminde çap ölçümü

## 2.4. Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MİK)

TSA (Merck, Almanya)'da 18-24 saatlik tek düşmüş koloniler 0.5 Mc-Farland bulanıklığına eşdeğer inokülüm hazırlanmıştır. Son bakteri konsantrasyonu  $5 \times 10^5$  kob/mL olacak şekilde uygun seyreltme yapılmıştır. Mueller Hinton Broth (MHB, HiMedia, Hindistan) içeren mikropalak kuyucuklarına 100 µL kültür eklenmiştir. Mikropalak kuyucuklarındaki esansiyel yağların son konsantrasyonları 250 µL/ml-0.48 µL/ml değerler arasında değişmiştir. Mikropalaklar 35°C'de 18-24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonun ardından kuyucuklar içerisinde üremenin olup olmadığı, kuyucuklara %1 tetrazolyum çözeltisi damlatılarak oluşan renk değişimine göre belirlenmiştir. Minimum İnhibisyon Konsantrasyon (MİK) değeri [Şekil 2](#)'de yıldız işaretleri ile gösterildiği gibi bakterinin üremediği en düşük konsantrasyon olarak değerlendirilmiştir ([Jamali vd., 2017](#)).



Şekil 2. Mikropalak yöntemi ile minimum inhibisyon konsantrasyonunun belirlenmesi

## 2.5. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler SPSS 23.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Ortalamalar arasındaki farklılıklar çift yönlü Anova analizi ile belirlenmiş, karşılaştırmalar Tukey testi ile yapılmıştır.  $p < 0.05$  istatistiksel açıdan önemli olarak kabul edilmiştir.

## 3. Bulgular ve Tartışma

Esansiyel yağlar; bitkilerden ekstraksiyon ve destilasyon gibi çeşitli yöntemlerle elde edilen, oda sıcaklığında genellikle sıvı formda, renksiz veya açık sarı renkli, bulunduğu bitkiye karakteristik özellik taşıyıp bitkiye ait kokuyu veren, çok sayıda kimyasal bileşenden oluşan ve sudan daha küçük molekül ağırlığına sahip olduğundan dolayı su ile karışmadan taşınabilme özelliğine sahip uçucu yağlardır ([Burt, 2004](#)). Uçucu yağlar mikroorganizmalar üzerine bakteriyostatik veya bakteriyosidal etki gösterebilirken, bu etkiler mikroorganizmaların hücre duvarı yapısı ve dış membran düzenlenmesine bağlı olarak mikroorganizma cinsine ve hatta türlerine göre de değişmektedir ([Burt, 2004](#); [Bajpai, Baek, ve Kang, 2012](#); [Ozdikmenli ve Zorba, 2014, 2016](#)). Çalışmamızda *Origanum onites* ve *Ocimum basilicum* esansiyel yağları kullanılmış olup yağların temel bileşeni sırasıyla %67.0 carvacrol ve %40.6 linalool olarak belirlenmiştir. Bu esansiyel yağların *bla<sub>CTX-M</sub>* geni taşıdığı tespit edilmiş *E.coli*, *Serratia liquefaciens*, *Citrobacter braakii*, *Morganella morganii*, üzerine etkisi incelenmiştir. Bu mikroorganizmalar insan ve hayvan bağırsak florasında yer alan enterik bakterilerdir. Hava, su ve toprakta bulunabilen insanda ve hayvanlarda fırsatçı patojen özelliğine sahiptir. Dört farklı konsantrasyonda hazırlanan *Origanum onites* esansiyel yağının *bla<sub>CTX-M</sub>* pozitif *E.coli*, *Serratia liquefaciens*, *Citrobacter braakii*, *Morganella morganii* üzerine antimikrobiyal etkisi [Tablo 2](#)'de zon çapları ile verilmiştir. Zon çaplarının (mm) büyük olması *Origanum onites* esansiyel yağının antimikrobiyal etkisinin

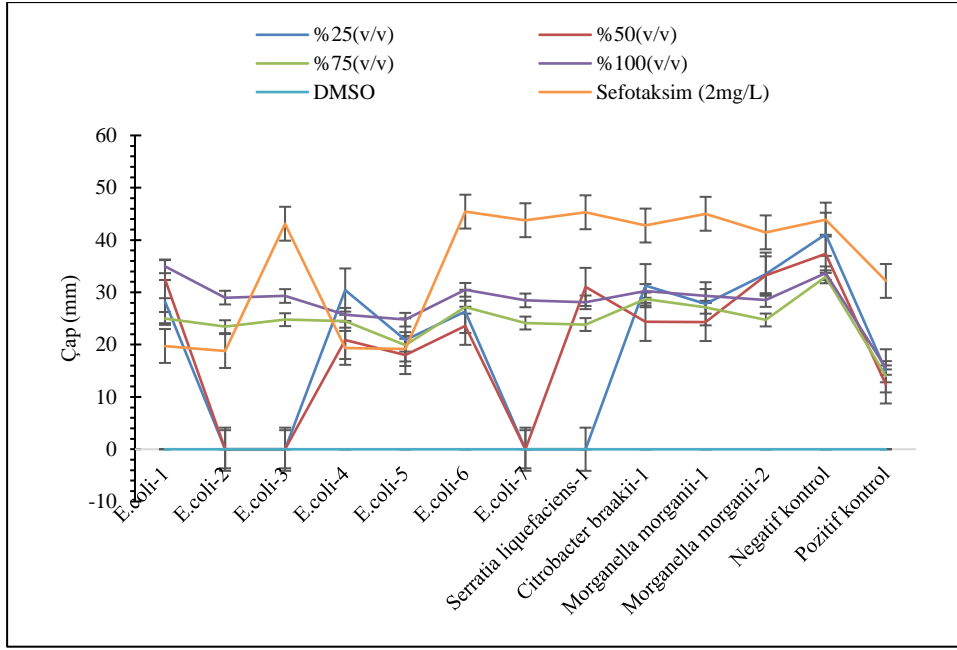
fazla olduğunu ifade etmektedir. Esansiyel yağların konsantrasyonları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli ( $p<0.05$ ) bulunmuş iken %25 ile %100 (v/v) konsantrasyonlardaki *Origanum onites* esansiyel yağının inhibisyon zon çapları arasındaki fark istatistiksel olarak önemli ( $p>0.05$ ) bulunmamıştır. Düşük konsantrasyondaki esansiyel yağın seçilen bakteriler üzerine inhibisyon etkisinin zayıf olduğu tahmin edilmektedir. Yüksek konsantrasyondaki esansiyel yağın çözücünün ortamdan uzaklaşması, etken maddenin bakteri hücre duvarına bağlanması için ortamda daha az yüklü bölgelerin kalmasına ve antibakteriyel etkide azalma meydana getirdiği böylece %25 (v/v) konsantrasyondaki esansiyel yağ ile benzer sonuç verdiği düşünülmektedir (Goy, Britto, ve Assis, 2009). *Origanum onites* esansiyel yağının *E.coli-1*, *E.coli-3*, *E.coli-7* üzerine antimikrobiyal etkisi arasındaki fark istatistiksel olarak önemli ( $p>0.05$ ) değil iken diğer bakteriler ile arasındaki fark istatistiksel olarak önemli ( $p<0.05$ ) bulunmuştur. Ayrıca *bla<sub>CTX-M</sub>* pozitif *Serratia liquefaciens-1*, *Citrobacter braakii-1*, *Morganella morganii-2* üzerine antimikrobiyal etkisinin benzer olduğu tespit edilmiştir (bkz. [Şekil 3](#)).

Tablo 2.

*Origanum onites* esansiyel yağının *bla<sub>CTX-M</sub>* pozitif Enterobacteriaceae üzerine etkisi, agar kuyucuk difüzyon yöntemi sonuçları (çap-mm)

Mikroorganizmalar	<i>Origanum onites</i> konsantrasyonları %(v/v)					
	25	50	75	100	DMSO	Sefotaksim (2mg/L)
<i>E.coli-1</i>	28.23±1.40Aa	32.52±0.36Ab	25.01±1.16Ac	34.97±1.20Aa	<=6.00Ae	19.74±0.53Af
<i>E.coli-2</i>	>50.00Ba	>50.00Bb	23.43±1.23Bc	28.99±0.15Ba	<=6.00Be	18.78±0.44Bf
<i>E.coli-3</i>	>50.00Aa	>50.00Ab	24.77±1.64Ac	29.30±0.91Aa	<=6.00Ae	43.12±1.06Af
<i>E.coli-4</i>	30.44±0.50Ca	20.89±0.26Cb	24.47±0.45Cc	25.71±0.14Ca	<=6.00Ce	19.38±1.57Cf
<i>E.coli-5</i>	20.91±0.05Ba	18.01±0.37Bb	19.90±0.38Bc	24.77±1.40Ba	<=6.00Be	19.15±0.00Bf
<i>E.coli-6</i>	26.36±0.86ADa	23.60±1.22ADb	27.16±0.93ADc	30.48±1.04ADa	<=6.00ADe	45.43±1.35ADf
<i>E.coli-7</i>	>50.00Aa	>50.00Ab	24.13±0.80Ac	28.46±0.14Aa	<=6.00Ae	43.79±0.02Af
<i>Serratia liquefaciens-1</i>	30.31±0.09Da	31.04±1.55Db	23.84±0.79Dc	28.09±0.30Da	<=6.00De	45.31±0.37Df
<i>Citrobacter braakii-1</i>	31.27±0.27Da	24.35±0.55Db	28.73±1.03Dc	30.27±0.40Da	<=6.00De	42.77±0.53Df
<i>Morganella morganii-1</i>	27.81±0.91Da	24.33±0.67Db	27.15±1.42Dc	29.32±0.62Da	<=6.00De	45.02±0.02Df
<i>Morganella morganii-2</i>	33.47±0.32Da	33.24±1.07Db	24.71±0.57Dc	28.53±1.37Da	<=6.00De	41.47±0.45Df
<i>E.coli</i> ATCC 25922 (negatif kontrol)	41.10±1.30Ea	37.36±1.27Eb	32.96±1.52Ec	33.65±0.60Ea	<=6.00Ee	43.91±0.30Ef
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 700603 (pozitif kontrol)	14.99±1.08Fa	12.39±0.00Fb	14.03±0.25Fc	15.54±0.43Fa	<=6.00Fe	32.18±0.45Ff

\*Büyük ve farklı harfler (örneğin, A) aynı konsantrasyondaki esansiyel yağların mikroorganizmalar arası farkların istatistiksel olarak önemli olduğunu ( $p<0.05$ ) temsil etmektedir. Küçük ve farklı harfler (örneğin, b) aynı mikroorganizma üzerine farklı konsantrasyonların istatistiksel olarak ( $p<0.05$ ) önemli olduğunu göstermektedir.



Şekil 3. *Origanum onites* esansiyel yağının  $bla_{CTX-M}$  pozitif Enterobacteriaceae üzerine etkisi

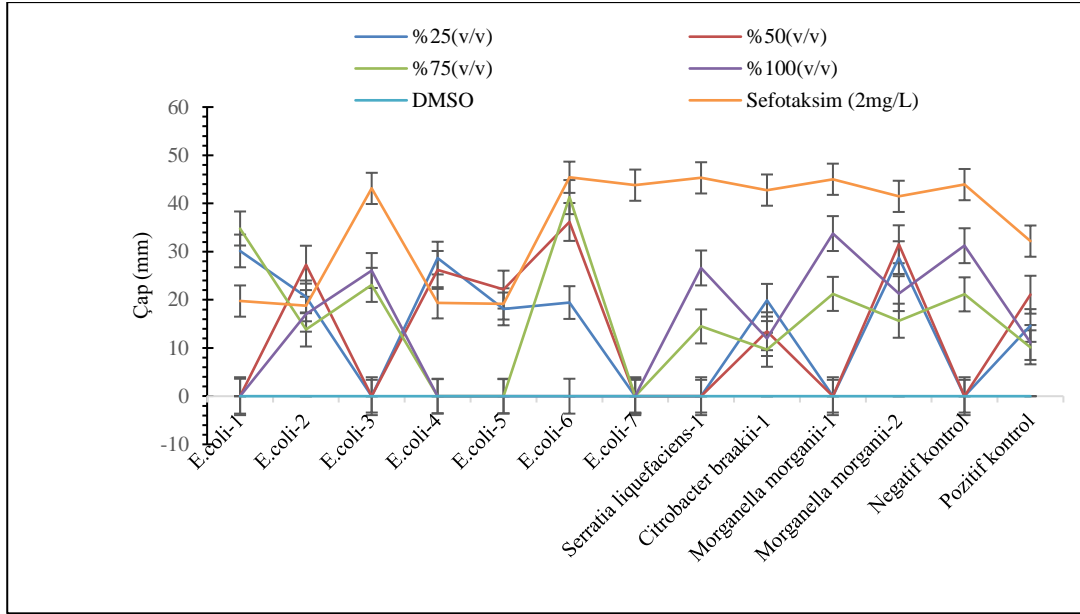
Farklı konsantrasyondaki *Ocimum basilicum* esansiyel yağının antibiyotik dirençli ( $bla_{CTX-M}$  pozitif) bazı Enterobacteriaceae üzerine etkisi Tablo 3'te gösterilmiştir. Esansiyel yağların *E.coli-3*, *Morganella morganii-2* ve *E.coli* ATCC 25922 (negatif kontrol) üzerine antimikrobiyal etkisi benzer bulunmuştur ( $p>0.05$ ). Diğer bakteriler üzerine etkisi arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ( $p<0.05$ ). *Origanum onites* ve *Ocimum basilicum* esansiyel yağlarının %50 (v/v) konsantrasyonunun  $bla_{CTX-M}$  pozitif bakteriler üzerine en iyi sonucu verdiği tespit edilmiştir.

Tablo 3.

*Ocimum basilicum* esansiyel yağının  $bla_{CTX-M}$  pozitif Enterobacteriaceae üzerine etkisi, agar kuyucuk difüzyon yöntemi sonuçları (çap-mm)

Mikroorganizmalar	<i>Ocimum basilicum</i> konsantrasyonları % (v/v)					
	25	50	75	100	DMSO	Sefotaksim (2mg/L)
<i>E.coli-1</i>	30.14±1.47Aa*	>50.00Ab	34.87±1.34Ac	>50.00Aa	≤6.00Ae	19.74±0.53Af
<i>E.coli-2</i>	20.61±0.84Ba	27.29±0.01Bb	13.84±0.28Bc	17.01±0.76Ba	≤6.00Be	18.78±0.44Bf
<i>E.coli-3</i>	>50.00Ca	>50.00Cb	23.10±0.31Cc	26.08±0.96Ca	≤6.00Ce	43.12±1.06Cf
<i>E.coli-4</i>	28.66±0.42Da	26.20±1.04Db	>50.00Dc	>50.00Da	≤6.00De	19.38±1.57Df
<i>E.coli-5</i>	18.11±0.01Ea	22.12±0.36Eb	>50.00Ec	>50.00Ea	≤6.00Ee	19.15±0.00Ef
<i>E.coli-6</i>	19.43±1.57Fa	36.16±0.00Fb	41.32±1.24Fc	>50.00Fa	≤6.00Fe	45.43±1.35Ff
<i>E.coli-7</i>	>50.00ACa	>50.00ACb	>50.00ACc	>50.00ACa	≤6.00ACe	43.79±0.02ACf
<i>Serratia liquefaciens-1</i>	>50.00Aa	>50.00Ab	14.48±1.32Ac	26.61±1.13Aa	≤6.00Ae	45.31±0.37Af
<i>Citrobacter braakii-1</i>	19.91±1.54Ba	13.48±0.65Bb	9.64±0.34Bc	11.96±0.02Ba	≤6.00Be	42.77±0.53Bf
<i>Morganella morganii-1</i>	>50.00CGa	>50.00CGb	21.23±0.50CGc	33.75±0.07CGa	≤6.00CGe	45.02±0.02CGf
<i>Morganella morganii-2</i>	28.76±1.75Ca	31.53±0.38Cb	15.66±0.86Cc	21.28±0.65Ca	≤6.00Ce	41.47±0.45Cf
<i>E.coli</i> ATCC 25922 (negatif kontrol)	>50.00Ca	>50.00Cb	21.13±1.71Cc	31.23±0.72Ca	≤6.00Ce	43.91±0.30Cf
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 700603 (pozitif kontrol)	14.67±0.46Ea	21.06±0.49Eb	10.14±0.82Ec	11.14±0.39Ea	≤6.00Ee	32.18±0.45Ef

\*Büyük ve farklı harfler (örneğin, A) aynı konsantrasyondaki esansiyel yağların mikroorganizmalar arası farkların istatistiksel olarak önemli olduğunu ( $p<0.05$ ) temsil etmektedir. Küçük ve farklı harfler (örneğin, b) aynı mikroorganizma üzerine farklı konsantrasyonların istatistiksel olarak ( $p<0.05$ ) önemli olduğunu göstermektedir.



Şekil 4. *Origanum basilicum* esansiyel yağının *bla<sub>CTX-M</sub>* pozitif Enterobacteriaceae üzerine etkisi

*Origanum onites* (kekik) ve *Ocimum basilicum* (fesleğen) esansiyel yağlarının GSBL (*bla<sub>CTX-M</sub>*) pozitif Enterobacteriaceae üzerine minimum inhibisyon konsantrasyonları (MİK) Tablo 4’te verilmiştir. *Origanum onites* esansiyel yağının MİK değerleri <0.48 µL/mL olarak tespit edilmişken, *Ocimum basilicum* esansiyel yağının MİK değerleri 31.25 ile <0.48 µL/mL arasında tespit edilmiştir. [Sienkiewicz, Łysakowska, Denys ve Kowalczyk, \(2012\)](#) farklı bir çeşit kekik olan *Thymus vulgaris* esansiyel yağlarının agar dilüsyon yöntemi ile antibiyotik dirençli *E. coli* etkisini incelediği çalışmada MİK değerini 0.25 ile 0.5 µL/mL olarak belirlemişlerdir. Bu çalışmada ise *E. coli* izolatlarına karşı *Origanum onites* (kekik) esansiyel yağına karşı MİK değeri <0.48 µL/mL olarak tespit edilmiştir. Çalışmamızda benzer sonuçlar elde edilmiştir. [Sienkiewicz, Łysakowska, Pas-tuszka, Bienias, ve Kowalczyk, \(2013\)](#) tarafından yapılan diğer bir çalışmada *Ocimum basilicum* L. esansiyel yağının antibiyotik dirençli *E. coli* üzerine etkisi araştırmış, MİK değerleri 8.0 -9.25 µL/mL değerleri arasında tespit edilmiştir. Çalışmamızda ise *Ocimum basilicum* esansiyel yağının *bla<sub>CTX-M</sub>* pozitif *E. coli* izolatlarına karşı MİK değerleri (1.94-31.25 µL/mL) daha geniş bir aralıkta tespit edilmiştir. [Benameur vd. \(2019\)](#). *Thymus vulgari* (kekik) esansiyel yağın *bla<sub>ESBL</sub>* üreten Enterobacteriaceae üzerine etkisini incelediği çalışmada inhibisyon zon çaplarını disk difüzyon yöntemi ile 24–40 mm/10µL ve MİK değerlerini 2.87–11.5 µg/mL arasında tespit etmiştir. Bu çalışmada ise *Origanum onites* (kekik) esansiyel yağının agar kuyucuk difüzyon yöntemi ile 15.54- 34.97 mm/100 µL olarak tespit edilirken MİK değeri daha düşük olarak (<0.48 µL/mL) olarak belirlenmiştir.

Tablo 4.

*Origanum onites* ve *Ocimum basilicum* esansiyel yağların Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu değerleri (µL/mL)

	<i>Origanum onites</i>	<i>Ocimum basilicum</i>
<i>E. coli</i> 1	<0.48	15.62
<i>E. coli</i> 2	<0.48	7.81
<i>E. coli</i> 3	<0.48	1.95
<i>E. coli</i> 4	<0.48	3.90
<i>E. coli</i> 7	<0.48	31.25
<i>E. coli</i> 10	<0.48	7.81
<i>E. coli</i> 12	<0.48	7.81
<i>Serratia liquefaciens</i> 8	<0.48	0.97
<i>Citrobacter braakii</i> 9	<0.48	1.95

<i>Morganella morgani</i> 11	<0.48	31.25
<i>Morganella morgani</i> 13	<0.48	<0.48
<i>E.coli</i> ATCC 25922 (negatif kontrol)	<0.48	3.90
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 700603 (pozitif kontrol)	<0.48	62.5

[Vasconcelos vd. \(2019\)](#) *Origanum vulgare* L. esansiyel yağının diğer bir beta-laktam grubu antibiyotiklerinden olan karbapeneme dirençli *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia marcescens* ve *Acinetobacter baumannii* üzerine MİK değerini %0.059 ile 0.015 (v/v) arasında tespit etmiştir. Ayrıca *Origanum*'un etken maddesi olan carvacrol'un günümüze kadar toksik olarak rapor edilmediği, GRAS olarak gıda maddelerine ilavesi onaylanmış olduğunu ifade etmiştir. [Dadashi vd. \(2016\)](#) *bla*<sub>CTX-M-15</sub> taşıdığı tespit edilen *K. pneumoniae* izolatları üzerine disk difüzyon ve sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile *Zataria multiflora* Boiss ekstraktının etkisini incelenmiş ve MİK değerlerini 1.56- 3.12 mg/mL arasında tespit edilmiştir. Yapılan bu çalışmalarda bazı sonuçları birbirine benzer iken bazı sonuçların birbirinden farklı olduğu tespit edilmesinin başlıca nedenleri; Esansiyel yağların elde edildiği bitkilerin farklı coğrafi bölgelerde yetişmesi, hasat mevsimi, genotipi, iklim, kurutma yöntemi ve bitkinin distile edilen bölümünden ileri gelmektedir. Tüm bu değişkenler esansiyel yağın kimyasal yapısını ve içerdiği bileşenlerin miktarını etkilemektedir ([Mcgimpsey, Douglas Van Klink, Beauregard ve Perry, 1994](#)). Esansiyel yağların kimyasal yapısı onların antibakteriyal aktivitelerini etkilemekle birlikte bu etkiler mikroorganizma türlerine göre de değişiklik göstermektedir ve bu değişiklik mikroorganizmaların hücre duvarı yapısı ve dış membran düzenlenmesi ile ilişkilidir ([Kalemba ve Kunicka, 2003](#); [Ozdikmenli ve Zorba, 2014, 2016](#)).

Bilim insanları tarafından insanoğlunu bekleyen en büyük tehlikenin antibiyotik direnci olduğu bildirilmektedir ([Verraes vd, 2013](#); [Lalak vd, 2016](#)). Gıda ve Tarım Örgütü (FAO), Uluslararası Dünya Bulaşıcı Hayvan Hastalıkları Örgütü (OIE) ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO) gibi uluslararası kuruluşlar hayvanlardan insanlara geçen ve insanlarda antibiyotik direncini arttıran bu tehlikenin üzerinde önemle durmaktadırlar. Dünya genelinde beta-laktam antibiyotiklerin insan sağlığında yaygın kullanımı ve veteriner hekimliğinde uygun olmayan kullanımı, özellikle Enterobacteriaceae familyasına ait bakterilerin beta-laktamaz üretimi gibi farklı direnç mekanizmaları geliştirmesine neden olmuştur ([Kolhapure, Kumar, Rajkumar, 2015](#); [de Oca vd, 2015](#); [Weiner vd., 2015](#); [Lalak vd, 2016](#)). GSBL dirençli suşların enfekte hayvan ve insanlar aracılığı ile bulaşmasının yanı sıra gıda zinciri yoluyla bulaşma ihtimalini olduğu belirlenmiş ve süt, kırmızı et ve tavuk ürünlerinde dirençli bakterilere rastlanmıştır ([Verraes vd, 2013](#); [Weiner vd, 2015](#); [Huijbers vd., 2015](#); [Nyugen vd., 2016](#)). Gittikçe büyüyen antibiyotik direnç sorununa karşı hastalıklar ile mücadelede esansiyel yağlar ve etken maddeleri alternatif tedavi yöntemi olarak araştırmacıların ilgisini çekmiştir.

#### 4. Sonuçlar

Çalışma sonucunda çevresel mastitis etmeni ve fırsatçı patojen olan antibiyotik dirençli (*bla*<sub>CTX-M</sub> pozitif) *E.coli*, *Serratia liquefaciens*, *Citrobacter braakii*, *Morganella morgani* üzerine %50 (v/v) *Origanum onites* ve *Ocimum basilicum* esansiyel yağ konsantrasyonlarının en iyi antimikrobiyal etki gösterdiği tespit edilmiştir. Yüksek konsantrasyondaki esansiyel yağın çözücünün ortamdaki uzaklaşması, etken maddenin bakteri hücre duvarına bağlanması için ortamda daha az yüklü bölgelerin kalmasına ve antibakteriyel etkide azalma meydana getirdiğinden dolayı %50 (v/v) konsantrasyonun %100 (v/v) konsantrasyondaki esansiyel yağdan daha etkili olmasına neden olduğu düşünülmektedir ([Goy, Britto, ve Assis, 2009](#)). Çalışmamızda *Origanum onites* ve *Ocimum basilicum* esansiyel yağlarının her biri %25, %50, %75 ve %100 (v/v) konsantrasyonlarda kullanılmıştır. Bu konsantrasyonlardaki esansiyel yağların mastitis tedavisinde enfekte memeye uygulanma olasılığı değerlendirilmiştir. Bu esansiyel yağlardan oluşan karışımlar antibiyotik dirençliliğin artmasını önlemek için özellikle organik üretim yapan ve kalıntı problemi yaşayan büyük işletmelerde alternatif tedavi yöntemi olarak kullanılabilir. Esansiyel yağların hasta hayvanlar üzerindeki etkilerini moleküler, immünolojik ve histolojik bulgular eşliğinde ayrıntılı olarak inceleyen çalışmalara ihtiyaç vardır.



## Çıkar Çatışması

Yazarlar çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

## Teşekkür

Çalışmanın gerçekleştirilmesindeki desteği için Gıda Yük. Müh. Burcu Kaya ve Dr. Öğr. Üyesi Dilvin İpek'e teşekkür ederim.

## Yazar Katkıları

Yazar Seda Özdikmenli Tepeli: Analizi planlamış, tasarlamış, veri toplamış, analizini yapmış, çalışmanın istatistiksel analizlerini yapmış ve makaleyi yazmıştır.

## Kaynaklar

- Bajpai, V. K., Baek, K. H. ve Kang, S. C. (2012). Control of *Salmonella* in foods by using essential oils: A review. *Food Research International*, 45(2), 722-734. doi:10.1016/j.foodres.2011.04.052
- Bal, Y. (2011). Organik süt ineği işletmelerinde mastitis sorununa yaklaşımlar. *Veteriner Hekimler Derneği Dergisi*, 82(2), 7-14. <http://veteriner.org.tr/files/dergi/cilt82sayi2/2.pdf>
- Benameur, Q., Gervasi, T., Pellizzeri, V., Pluchtová, M., Tali-Maama, H., Assaous, F. ve Marino, A. (2019). Antibacterial activity of *Thymus vulgaris* essential oil alone and in combination with cefotaxime against bla ESBL producing multidrug resistant Enterobacteriaceae isolates. *Natural Product Research*, 33(18), 2647-2654. <https://doi.org/10.1080/14786419.2018.1466124>
- Boorn, K. L., Khor, Y. Y., Sweetman, E., Tan, F., Heard, T. A. ve Hammer, K. A. (2010). Antimicrobial activity of honey from the stingless bee *Trigona carbonaria* determined by agar diffusion, agar dilution, broth microdilution and time-kill methodology. *Journal of Applied Microbiology*, 108(5), 1534-1543. doi:10.1111/j.1365-2672.2009.04552.x
- Burt, S. (2004). Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods- a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94, 223-253. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022
- Dadashi, M., Hashemi, A., Eslami, G., Fallah, F., Goudarzi, H., Erfanimanesh, S. ve Taherpour, A. (2016). Evaluation of antibacterial effects of *Zataria multiflora* Boiss extracts against ESBL-producing *Klebsiella pneumoniae* strains. *Avicenna Journal of Phytomedicine*, 6(3), 336.
- De Oca S. A. M., Talavera-Rojas, M., Soriano-Vargas, E., Barba-León, J. ve Vazquez-Navarrete, J. (2015). Determination of extended spectrum b-Lactamases/Ampc b-lactamases and plasmid-mediated quinolone resistance in *Escherichia coli* isolates obtained from bovine carcasses in Mexico. *Tropical Animal Health and Production*, 47(5), 975-981. DOI 10.1007/s11250-015-0818-3
- Dinç, G., Ata, Z. ve Temelli, S. (2012). Sığır mastitislerinden izole edilen *Escherichia coli* suşlarında genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz aktivitesi ve antibiyotik dirençlilik profilinin incelenmesi. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, (59), 85-88. <http://vetjournal.ankara.edu.tr/download/article-file/698397>
- Elmacıoğlu, S. (2013). *Sığırlarda geniş spektrumlu beta-laktamaz sentezleyen Escherichia coli prevalansının belirlenmesi* (Yüksek Lisans Tezi). Erişim adresi: <https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi>
- Goy, R. C., Britto, D. D. ve Assis, O. B. (2009). A Review of the antimicrobial activity of chitosan. *Polímeros*, 19(3), 241-247. DOI: 10.1590/S0104-14282009000300013
- Huijbers, P. M., van Hoek, A. H., Graat, E. A., Haenen, A. P., Florijn, A., Hengeveld, P. D. ve van Duijkeren, E. (2015). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and extended-spectrum and AmpC  $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli* in broilers and in people living and/or working on organic broiler farms. *Veterinary microbiology*, 176(1-2), 120-125. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetmic.2014.12.010>
- Ibrahim, D. R., Dodd, C. E., Stekel, D. J., Ramsden, S. J. ve Hobman, J. L. (2016). Multidrug resistant, extended spectrum  $\beta$ -lactamase (ESBL)-producing *Escherichia coli* isolated from a dairy farm. *FEMS Microbiology Ecology*, 92(4). doi: 10.1093/femsec/fiw013

- Jamali, C. A., Kasrati, A., Fadli, M., Hassani, L., Leach, D. ve Abbad, A. (2017). Synergistic effects of three Moroccan thyme essential oils with antibiotic cefixime. *Phytotherapie*, 1-6. DOI:[10.3166/phyto-2019-0143](https://doi.org/10.3166/phyto-2019-0143)
- Jehl, F., Chomarar, M., Weber, M. ve Gerard, A. (2003). *Antibiyotik duyarlılık testlerinden reçeteye*. s.76, İstanbul: BioMerioux yayınları.
- Kalemba, D. ve Kunicka, A. (2003). Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Current Medicinal Chemistry*, 10(10), 813–829. DOI: [10.2174/0929867033457719](https://doi.org/10.2174/0929867033457719)
- Kolhapure, R. M., Kumar, A. ve Rajkumar, H. R. V. (2015). Coexpression of ESBL, AmpC and MBL in gram negative bacilli. *International Journal of Research in Medical Sciences*, 3(10), 2698–2703. DOI: <http://dx.doi.org/10.18203/2320-6012.ijrms20150817>
- Lalak, A., Wasyl, D., Zajac, M., Skarzyńska, M., Hoszowski, A., Samcik, I., Wozniakowski, G. ve Szulowski, K. (2016). Mechanisms of cephalosporin resistance in indicator *Escherichia coli* isolated from food animals. *Veterinary Microbiology*, 194, 69-73. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetmic.2016.01.023>
- McGimpsey, A. J., Douglas, M. H., Van Klink, W. J., Beauregard, D. A. ve Perry, B. N. (1994). Seasonal variation in essential oil yield and composition from naturalized *Thymus vulgaris* L. in New Zealand. *Flavour and Fragrance Journal*, 9(6), 347–352.
- Nguyen, D. P., Nguyen, T. A. D., Le, T. H., Tran, N. M. D., Ngo, T. P., Dang, V. C., Kawai T., Kanki M., Kawahara R., Jinnai M., Yonogi S., Hirai Y., Yamamoto Y. ve Kumeda Y. (2016). Dissemination of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-and AmpC  $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli* within the food distribution system of Ho Chi Minh City, Vietnam. *BioMed research international*. <https://doi.org/10.1155/2016/8182096>
- Oral, H., Çolak, A., Polat, B., Cengiz, M., Cengiz, S., Baştan, A. ve Kaya, S. (2014). Sütçü ineklerde subklinik mastitisin tedavisinde Aloe vera kullanımının etkinliği. *Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 11(3), 157-161. <https://dergipark.org.tr/tr/download/article-file/268532>
- Ögedey, D. E., Cömert, F., Köktürk, F., Külah, C. ve Aktaş, E. (2016). Genişlemiş spektrumlu beta-laktamaz (GSBL) üreten *Escherichia coli* ve *Klebsiella* spp. izolatlarında CTX-M enzimlerinin belirlenmesi. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi*, 46(2), 88-96. [http://tmc.dergisi.org/pdf/pdf\\_TMC\\_556.pdf](http://tmc.dergisi.org/pdf/pdf_TMC_556.pdf)
- Ozdikmenli, S. ve Zorba N.N (2014). Uçucu yağların *Staphylococcus aureus* üzerine etkisi. *Türk Tarım-Gıda Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 2(5), 228-235. DOI: [10.24925/turjaf.v2i5.228-235.118](https://doi.org/10.24925/turjaf.v2i5.228-235.118)
- Ozdikmenli, S. ve Zorba, N. N. D. (2016). Evaluation of usage of essential oils instead of spices in meat ball formulation for controlling *Salmonella* spp. *Food Science and Technology International*, 22(2), 93-101. DOI: [10.1177/1082013215571118](https://doi.org/10.1177/1082013215571118)
- Santiago, G.S., Lasagno, M.C., Alencar, T.A., Ribeiro, L., Dubenczuk, F.C., Oliva, M.S. ve Coelho, S.M. (2015). AmpC-lactamase production in Enterobacteria associated with bovine mastitis in Brazil. *African Journal of Microbiology Research*, 9(8), 503-508. DOI: [10.5897/AJMR2014.7243](https://doi.org/10.5897/AJMR2014.7243)
- Sienkiewicz, M., Łysakowska, M., Denys, P. ve Kowalczyk, E. (2012). The antimicrobial activity of thyme essential oil against multidrug resistant clinical bacterial strains. *Microbial Drug Resistance*, 18(2), 137-148. DOI: [10.1089/mdr.2011.0080](https://doi.org/10.1089/mdr.2011.0080)
- Sienkiewicz, M., Łysakowska, M., Pastuszka, M., Bienias, W. ve Kowalczyk, E. (2013). The potential of use basil and rosemary essential oils as effective antibacterial agents. *Molecules*, 18(8), 9334-9351. DOI: [10.3390/molecules18089334](https://doi.org/10.3390/molecules18089334)
- Şeker, E. ve Özenç, E. (2010). Mastitisli inek sütlerinden izole edilen koagulaz negatif stafilkokların antibiyotik dirençlilikleri. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 21(2), 107-111. <https://dergipark.org.tr/tr/download/article-file/146483>
- Tepeli, S. Ö. ve Zorba, N. N. (2017). Çanakale (Yenice) ilinde üretilen çiğ sütlerin bazı özellikleri ve subklinik (Gizli) mastitis görülme oranı. *Trakya University Journal of Natural Sciences*, 18(1), 41-47. <https://dergipark.org.tr/tr/download/article-file/328841>
- Tepeli, S.Ö. (2017). Klasik peynir üretim Sürecinde GSBL ve Ampc Üreten Enterobacteriaceae izolatlarının

- belirlenmesi (Doktora Tezi). Erişim adresi: <https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi>
- Tepeli, S.Ö, Eser, Ö., Gürpınar, Ö., Beşli, Y. ve Zorba, N. N. (2018) Peynir üretim aşamalarından elde edilmiş Enterobacteriaceae izolatlarında antibiyotik direnç genlerinin varlığı ve ısıl direnç. 38. *Türk mikrobiyoloji kongresi* (p. 146). Antalya, Türkiye.
- Ünal, N. (2012). Mastitisli hayvanlardan izole edilen Stafilokokların antibiyotik direnci ve hayvanlarda metisiline dirençli *Staphylococcus aureus*. *Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 9(3), 221-231. <https://dergipark.org.tr/tr/download/article-file/66211>
- Valgas, C., Souza, S. M. D., Smânia, E. F. ve Smânia, Jr, A. (2007). Screening methods to determine antibacterial activity of natural products. *Brazilian journal of microbiology* 38(2), 369-380. [DOI:10.1590/S1517-83822007000200034](https://doi.org/10.1590/S1517-83822007000200034)
- Vasconcelos, N. G., Croda, J., Silva, K. E., Motta, M. L. L., Maciel, W. G., Limiere, L. C. ve Simionatto, S. (2019). Origanum vulgare L. essential oil inhibits the growth of carbapenem-resistant gram-negative bacteria. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 52. [doi: 10.1590/0037-8682-0502-2018](https://doi.org/10.1590/0037-8682-0502-2018)
- Verraes, C., Boxstael, S., Meervenue, E.V., Coillie, E.V., Butaye, P., Catry, B., Schaetzen, M. A., Huffel, X. V., Imberechts, H., Dierick, K., Daube, G., Saegerman, C., Block, J., Dewulf, J., Herman, L. (2013). Antimicrobial Resistance in The Food Chain: A Review. *International Journal of Environmental Research Public Health*, 10, 2643-2669. [DOI: 10.3390/ijerph10072643](https://doi.org/10.3390/ijerph10072643)
- Weiner, M., Rózańska, H., Kubajka, M., Szulowski, K., Krajewska M. ve Wasiński, B. (2015). Occurrence and characterisation of MRSA and extended-spectrum  $\beta$ - Lactamases producing *Escherichia coli* isolated from mastitic cows' milk. *Bulletin of the Veterinary Institute Pulawy*, 59(2), 191-195. [DOI: 10.1515/bvip-2015-0029](https://doi.org/10.1515/bvip-2015-0029)
- Yıldırım, D. ve Pehlivanoğlu, F. (2018). Buzağuların genişlemiş spektrumlu beta laktamaz üreten *Escherichia coli* taşıyıcılığı. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veterinerlik Dergisi*, 32(3), 155-160. [http://veteriner.fusabil.org/pdf/pdf\\_FUSABIL\\_1291.pdf](http://veteriner.fusabil.org/pdf/pdf_FUSABIL_1291.pdf)