

Antibacterial Effects of *Thymbra spicata* L. Extracts on *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium, and *Campylobacter jejuni*

Gamze ÇINAR¹, Nurşen YAMAN¹, Muhsin AYDIN^{2,*}

¹Selim Nevzat Şahin Anatolian High School, Ministry of National Education, Hatay, Turkey
²Department of Biology, Faculty of Science and Letters, Adiyaman University, Adiyaman, Turkey

Received: 28.02.2018

Accepted: 18.04.2018

Available online: 18.04.2018

Published: 30.06.2018

Abstract: In this study, the antibacterial effects of extracts acquired from the leaves of zahter (*Thymbra spicata* L.) plant, a traditional thyme, were investigated on *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium, and *Campylobacter jejuni* that may cause various damages to human health. For this purpose, diffusion disc assays were performed. Each of the diffusion discs was impregnated with 10 µL of 3 different (10^{-1} , 10^{-2} , and 10^{-3}) dilutions that were diluted from the *T. spicata* extract homogenates. These discs were placed on the media that was previously cultured with *E. coli* O157:H7, *S. enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium, and *C. jejuni* and growth behaviors of each bacteria were observed. According to the obtained results, both *E. coli* O157:H7 and *S. enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium presented large inhibition zones to 10^{-1} and 10^{-2} dilutions (for *E. coli* O157:H7 21.3 ± 1.7 and 17.7 ± 1.3 , respectively; and for *S. enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium: 26.3 ± 1.7 and 20.7 ± 1.3 , respectively) but low inhibition zones to 10^{-3} dilution (8.3 ± 2.1 and 10.0 ± 0.8 , respectively). It was observed that the *C. jejuni* strain formed zones all below 17 mm in all three different dilutions.

Keywords: *T. spicata*, antimicrobial, antibiotic, bacteria

Zahter (*Thymbra spicata* L.) Bitkisi Ekstraktının, *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium ve *Campylobacter jejuni* Üzerindeki Antibakteriyel Etkileri

Özet: Bu çalışmada, zahter (*Thymbra spicata* L.) bitkisinin yapraklarından elde edilen ekstraktların insan sağlığına çok yönlü zararlar verebilen *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium ve *Campylobacter jejuni* bakterileri üzerindeki antibakteriyel etkileri araştırılmıştır. Bu amaç doğrultusunda, disk difüzyon yöntemi kullanılmıştır. Steril disklerinin her birine *T. spicata* ekstraktının homojenatlarından yapılan 3 farklı (10^{-1} , 10^{-2} ve 10^{-3}) dilüsyondan 10' ar µL emdirilmiş ve bu diskler petri kapları içerisinde bulunan besiyerlerine ekimi yapılmış olan *E. coli* O157:H7, *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium ve *C. jejuni* bakterilerinin üreyeceği bölgelere bırakılarak üreme davranışları gözlemlenmiştir. Çalışma sonuçlarına göre, yapılan ölçümlerde *E. coli* O157:H7'nin 10^{-1} ve 10^{-2} 'lik *T. spicata* ekstraktının bulunduğu etrafında sırasıyla $21,3 \pm 1,7$ ve $17,7 \pm 1,3$ mm'lik zonlar oluşturduğu gözlemlenmiştir. Benzer şekilde, *S. enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium da 10^{-1} ve 10^{-2} 'lik *T. spicata* ekstraktı dilüsyonlarının etrafında sırasıyla $26,3 \pm 1,7$ ve $20,7 \pm 1,3$ mm'lik zonlar oluşturmuştur. Fakat hem *E. coli* O157:H7 hem de *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium 10^{-3} 'lük dilüsyonda dar inhibisyon zonları oluşturmuşlardır (sırasıyla $8,3 \pm 2,1$ ve $10,0 \pm 0,8$). *C. jejuni* türünün ise üç farklı dilüsyonun tamamında 17 mm'nin altında kalan zonlar oluşturduğu gözlemlenmiştir.

Anahtar kelimeler: *T. spicata*, antimikrobiyal, antibiyotik, bakteri

1. Giriş

Bakteriler, günümüzde mevcut halde bulunan ve birçok enfeksiyonun tedavisinde yaygın olarak kullanılan doğal antibiyotiklere karşı yüksek ölçüde direnç sağlamışlardır (Fair & Tor, 2014). Bu nedenle, bilim insanları alternatif tedavi yöntemleri üzerine çalışmaktadırlar. Bunlar arasında, yabancı bitki türlerinin ya da geleneksel olarak kullanılan baharatların kullanıldığı yöntemler de yer almaktadır (Allen, Trachsel, Looft, & Casey, 2014).

Zahter (*Thymbra spicata* L.), ballıbabagiller familyasındandır. Yüksek ve kuru tepe yamaçlarında bulunmakta olup Anavatanı Doğu Akdeniz ve Karadeniz'dir (Baydar, Sağdıç, Özkan, & Karadoğan, 2004). Ülkemizde hemen hemen her yerde yetişmekle birlikte bitkinin yeni yetişmiş filizleri kullanılarak Antakya (Hatay) ve Gaziantep yörelerinde mezeleri

yapılır. Bitkinin keskin kokusu ve hafif acımsı bir tadı vardır. Genellikle Temmuz ve Ağustos aylarında pembe renkli çiçekler açan çalı görünümündeki bir bitkidir (Harbarth & Samore, 2005; Spellberg, Bartlett, & Gilbert, 2013). Halk arasında kurutulmuş yaprakları kaynatılarak içilen zahter çayının, iştah açmaya, gaz söktürmeye, vücuttan mikropları atmaya ve hazımsızlığa iyi geldiği bilinir (<http://www.bitkiler.gen.tr/zahter-bitkisi.html>). Halk arasında çok eskiden beri kullanılan bu bilgi birikiminden faydalanılarak Hatay İli sınırları içerisinde de bulunmakta olan bu bitkinin antibiyotik etkilerinin araştırılabileceği düşünülmüştür.

Son yıllarda, mevcut birçok antibiyotiğe karşı çoklu-direnç gösterebilen bakterilerin sürekli olarak artması, enfeksiyonlardan kaynaklı hastalıkların tedavi edilememesi ciddi bir sorundur ve patojenlerin neden olduğu ölüm oranlarının artmasına sebebiyet

*Corresponding author: m.aydin@adiyaman.edu.tr

vermektedir (Torella, Chait, & Kishony, 2010). Bu nedenle, direnç mekanizmalarını bloke edebilen ve bu dirençli suşların yok edilmesine yönelik efektif rol alabilen yeni antibakteriyel maddelerin veya yeni bileşiklerin geliştirilmesi gerekmektedir (Coates, & Hu, 2007). Ancak bu dönemde de, direnç gelişiminin önüne geçilmediği sürece insanlığın patojen mikroorganizmalarla mücadeleyi kaybetmesi olasılığı endişe yaratmaya devam etmektedir (Ventola, 2015). Geçtiğimiz yıllarda yapılan bazı araştırmalar sonucunda bitki ekstraktlarının antimikrobiyal etkileri doğrulanmıştır (Al-Mariri & Safi, 2014; Bhalodia & Shukla, 2011; Haroun & Al-Kayali, 2016). Fakat bu çalışmaların hiçbiri *T. spicata*'nın *Escherichia coli*, *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium ve *Campylobacter jejuni* üzerine direkt etkileri ile ilgili değildir. Bu bakterilerden *E. coli* daha çok az pişmiş kırmızı et türlerinin tüketilmesinden ve büyükbaş ile küçükbaş hayvanların dışkılarına temastan dolayı insanlara bulaşarak çeşitli bağırsak hastalıklarına neden olabilirken, *Salmonella* spp. ve *C. jejuni* genellikle yetersiz şekilde pişirilmiş kanatlı etlerinin tüketilmesinden insanlara bulaşarak kanlı ishal gibi hastalıklara yol açabilmektedirler (Gianella, 1996; Luangtongkum et al., 2009). Sadece Amerika Birleşik Devletleri'nde, *Salmonella* spp. ve *C. jejuni*'nin sebep olduğu klinik vaka sayısı ve ölüm sayısı sırasıyla yıllık toplam 1,88 milyon ve 676'dır (Scallan et al., 2011).

Son 20 yıllık süreç içerisinde yeni antibiyotik keşiflerinin yavaşlaması ve birçok antibiyotiğe karşı direnç gösteren mikroorganizmaların artması (Wright, & Poinar, 2012; Wright, 2014) bizi yeni alternatif antibiyotik arayışı içerisine sürüklemiş ve bu bağlamda yöremizde (Hatay) yaygın olarak yetişen *T. spicata* bitkisinin antimikrobiyal etkisini araştırmak temel amacımızı oluşturmuştur.

2. Materyal ve Metot

2.1. Bitki ve Organizmalar

Bu araştırmada bitki materyali olarak zahter (*Thymbra spicata* L.) ve bakteri materyalleri olarak da *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium ve *Campylobacter jejuni* kültürleri kullanılmıştır. Bitki örnekleri, Hatay İli sınırları içerisindeki dağlık kesimlerden (Amanos Dağları, Karaali, Gülderen, ve Oğlakören Mevkileri) Temmuz ve Ağustos aylarında toplanmış olup Mustafa Kemal Üniversitesi (MKÜ), Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Botanik Ana Bilim Dalı'na teşhis ettirilmiştir. Bakteri kültürleri ise yine aynı kurumun Teknoloji ve AR-GE Uygulama Merkezi'nden direkt olarak temin edilmiştir.

2.2 *Thymbra spicata* Örneklerinin Ekstraksiyonu ve Dilüsyonlarının Hazırlanması

Toplanan *T. spicata* bitkisinin sadece yaprak kısımları çalışmaya dâhil edilmiştir. Bu yapraklardan ekstrakt elde etme işlemi Haroun ve Al-Kayali (2016)'nın belirttiği şekilde klasik ekstraksiyon yöntemi kullanılarak yapılmıştır. Kısaca, toplanan yaprak örnekleri steril su ile yıkanmış ve suyun süzülmesi sağlanmıştır. Daha sonra, aktif bileşen kaybını önlemek amacıyla, bu örnekler 25-30°C 'de güneş ışığına maruz kalmayan bir yerde ve herhangi bir ısıl işlem uygulanmadan 5 gün boyunca kurumaya bırakılmıştır. Bu kurutma işlemi aşaması

Öztekin ve Soysal (1998)'ın belirttiği şekilde kuruma durumuna göre 8 güne kadar uzatılabilir. Sonra kurutulmuş yapraklar bir havan yardımıyla toz haline getirilmiş ve kullanıma kadar buzdolabında 4°C 'de tutulmuştur. Kurutulup toz haline getirilen yaprakların 5 gramı 25 ml distile su içerisinde çözdürülmüş ve üzerine 75 ml etanol eklenerek 1 saatlik bekleme sonunda özütlenmiştir (maserasyon işlemi: bitki dokusunu çözücülerle yumuşatma işlemi). Elde edilen ekstraktlar bir huni ve filtre kâğıdı yardımıyla filtrelenmiştir. Filtreleme işlemi müteakiben, ekstraktlar indirgeme basıncı altında 45°C 'ye ayarlanmış bir rota-evaporatörde kuruyana kadar (16-24 saat) buharlaşmaya maruz bırakılmıştır. Daha sonra, kurutulan ekstraktlar kullanıma kadar buzdolabında 4°C 'de tutulmuştur. Bu ekstraktlar 10 ml dimetil sülfoksit (%1'lik DMSO) içerisinde yeniden çözündürülmüştür. Sulandırılan özüt çözeltisi, antibiyogram testinde kullanılmadan önce 0,45 µm zar filtresi içinden süzülerek sterilize edilmiştir.

Bitkinin minimum inhibisyon konsantrasyonunun (MIC: Minimum inhibitory concentration) belirlenmesi amacıyla %1'lik DMSO çözeltisi içerisinde bulunan ekstraktın seri dilüsyonlar (10^{-1} , 10^{-2} ve 10^{-3}) yapılmış ve her bir dilüsyondan boş difüzyon disklerine 10 µL emdirilmiştir. Her bir dilüsyon için üçlü denemeler (tekrar) yapılmıştır. Bunun yanında, bakterilerin direnç seviyelerini test etmek amacıyla farklı antibiyotikler kullanılmıştır. Bunlar ciprofloksacin (CIP), gentamicin (GEN), aztreonam (AZT), cefazolin (CFZ) ve cefoxitin (FOX) antibiyotikleridir.

2.3. Antibakteriyel Etkilerinin Disk Difüzyon Yöntemiyle Araştırılması

Bakteri kültürlerinin, daha önceden hazırlanmış olan ve plastik petri kaplarında bulunan Mueller-Hinton Agar besiyerlerine (150 mm petri) bir pamuklu swab yardımıyla ekimleri yapılmıştır (Reller, Weinstein, Jorgensen, & Ferraro, 2009). Daha sonra her bir petriye, önceden *T. spicata* ekstraktı dilüsyonlarından emdirilmiş diskler ve hazır antibiyotik diskleri konulmuş (toplam 8 disk) ve 37°C'de 18 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyonu müteakiben, besiyerleri inkübatörden çıkarılmış ve disklerin etrafında oluşan üreme olmamış bölgelerin (inhibisyon zonu) çapları cetvel kullanılarak ölçülmüş olup ölçümler mm cinsinden kaydedilmiştir. Bakteri üremesi mevcut olmayan ya da az olanlar daha uzun süreli (37°C'de 40-48 saat) inkübasyona bırakıldıktan sonra ölçümler yapılmıştır. Daha sonra üçlü denemeler şeklinde yapılan bütün testlerden elde edilen sonuçların ortalamaları ve standart sapmaları Microsoft Excel (Office, 2013) programı kullanılarak hesaplanmıştır.

3. Sonuçlar ve Tartışma

Denenen *T. spicata* ekstraktı dilüsyonlarının etkisi ile günümüzde mevcut halde birçok hekimin sıklıkla önerdiği bazı antibiyotiklere karşı *E. coli* O157:H7, *S. enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium ve *C. jejuni* bakterilerinin göstermiş olduğu dirençlere ait MIC sonuçları Tablo 1'de verilmiştir.

Tablo 1'de görüldüğü gibi *E. coli* O157:H7'nin kullanıldığı petride yapılan ölçümlerde 10^{-1} ve 10^{-2} 'lik *T. spicata* ekstraktı dilüsyonlarının etrafında sırasıyla $21,3 \pm 1,7$ ve $17,7 \pm 1,3$ mm'lik zonlar gözlemlenmiştir. Benzer şekilde, *S. enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium mikroorganizmasının bulunduğu petride

de 10^{-1} ve 10^{-2} 'lik *T. spicata* ekstraktı dilüsyonlarının etrafında sırasıyla $26,3 \pm 1,7$ ve $20,7 \pm 1,3$ mm'lik zonlar gözlemlenmiştir. Hem *E. coli* O157:H7 hem de *S. enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium, 10^{-3} 'lük dilüsyondaki direnç zonu ölçümlerinin 17 mm'nin altında kaldığı (sırasıyla $8,3 \pm 2,1$ ve $10,0 \pm 0,8$) tespit edilmiştir. *C. jejuni* türünün ise üç farklı dilüsyonun (10^{-1} , 10^{-2} ve 10^{-3}) tamamında 17 mm'nin altında kalan (sırasıyla $14,7 \pm 0,9$, $11,7 \pm 0,5$ ve $8,0 \pm 0,8$) zon ölçümleri

gözlemlenmiştir. Ayrıca, 3 bakteri türü de 5 farklı antibiyotiğe karşı test edilmiş ve bunlardan *E. coli* O157:H7'nin CIP antibiyotiğine orta dirençli ve AZT antibiyotiğine karşı dirençli olduğu tespit edilmiştir. *S. enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium'un ise sadece CIP'e direnç gösterirken diğer antibiyotiklere karşı hassas olduğu gözlemlenmiştir. Bunlara ilaveten, *C. jejuni*'nin ise yalnızca CFZ varlığında 17 mm altında kalan zonlar oluşturduğu saptanmıştır.

Tablo 1. *Thymbra spicata* ekstraktlarının ve antibiyotiklerin ve *E. coli* O157:H7, *S. enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium ve *C. jejuni* mikroorganizmalarına karşı gösterdikleri MIC değerleri

Bakteri Türü	<i>T. spicata</i> Ekstraktı Dilüsyonlarına Karşı Oluşan İnhibisyon Zonu mm (Ortalama±SS)			Kullanılan Antibiyotiklere Karşı Oluşan İnhibisyon Zonları mm (Ortalama±SS)				
	Dilüsyon			Antibiyotik				
	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	CIP	GEN	AZT	CFZ	FOX
<i>E. coli</i>	$21,3 \pm 1,7$	$17,7 \pm 1,3$	$8,3 \pm 2,1$	$16,0 \pm 0,8$	$30,3 \pm 1,9$	$16,7 \pm 1,9$	$28,7 \pm 2,9$	$21,7 \pm 2,3$
<i>S. enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Typhimurium	$26,3 \pm 1,7$	$20,7 \pm 1,3$	$10,0 \pm 0,8$	$13,3 \pm 0,5$	$32,7 \pm 2,5$	$23,0 \pm 1,4$	$35,3 \pm 0,9$	$27,7 \pm 1,3$
<i>C. jejuni</i>	$14,7 \pm 0,9$	$11,7 \pm 0,5$	$8,0 \pm 0,8$	$32,3 \pm 1,3$	$36,3 \pm 1,3$	$36,7 \pm 0,5$	$16,3 \pm 0,5$	$21,0 \pm 0,8$

Bu çalışmada Hatay yöresinde sıklıkla tüketilmekte olan zahter bitkisinin *E. coli* O157:H7, *S. enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium ve *C. jejuni* bakteri türlerine karşı olan antimikrobiyal etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Bu çalışmaya benzer olarak farklı bitki ekstraktlarının birçok patojenik mikroorganizma üzerine etkileri araştırılmıştır. Bunlardan, Haroun ve Al-Kayali (2016) *T. spicata* L. ekstraktlarının antibiyotiklerle beraber oluşturabileceği sinerjik etkiyi, çok ilaca karşı dirençli olan (multidrug-resistant) *Staphylococcus aureus* ve *Klebsiella pneumoniae* suşları üzerinde araştırmış ve bu araştırmanın sonuçlarına benzer sonuçlar bulmuşlardır. Ancak, bu çalışmada farklı patojenik bakteriler kullanılmış olup *T. spicata* ekstraktlarının bakteriler üzerindeki inhibe edici etkisi direkt olarak araştırılmış ve *T. spicata*'nın 10^{-1} ve 10^{-2} 'lik dilüsyonlarının *E. coli* O157:H7, *S. enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium ve daha az olsa da *C. jejuni* bakterilerine karşı inhibe edici etki gösterdiği tespit edilmiştir. Al-Mariri ve Safi (2014), 28 farklı bitki türü ekstraktlarını ve bu bitki türlerinden izole edilen esansiyel yağların Gram negatif bakteriler üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Ancak, bunlardan yalnız bir bitkinin ekstraktı ile 7 bitkiden elde edilen esansiyel yağların antibakteriyel etki gösterdiğini saptamışlardır. Çalışmış oldukları bitki türleri arasında *Thymbra* cinsine ait hiçbir tür bulunmamaktadır. Diğer bir çalışmada Bhalodia ve Shukla (2011) *Cassia fistula* yapraklarından elde edilen ekstraktların antibakteriyel ve antifungal etkilerini iki Gram pozitif, iki Gram negatif ve üç mantar türü üzerinde araştırmışlardır. Çalışılan mikroorganizmalardan, bir Gram pozitif, bir Gram negatif ve 1 mantar türü üzerine *C. fistula* ekstraktının etkili olduğunu tespit etmişlerdir.

Bu araştırma ile daha önce yapılan araştırmalar ışığında yabani bitki türlerinin buldukları aktif bileşenlerin birçok patojen mikroorganizma üzerinde antimikrobik etki gösterdikleri sonucuna varılmıştır. Ayrıca, yapılan bu çalışmada inhibisyon zonu çaplarının 2 farklı bakteri türü için 17 mm üzerinde olması zahter bitkisinin antimikrobiyal etkisinin varlığını önermektedir. Yapılan bu çalışmada elde edilen, antibiyogram testi sonuçlarına göre Hatay İli sınırları içerisinde toplanmış

olan *T. spicata*'nın bazı bakterilere karşı alternatif bir antibakteriyel ve/veya antimikrobiyal potansiyeli olduğu sonucuna varılmıştır. İleride yapılabilecek *T. spicata*'nın antibakteriyel ve antimikrobiyal etkilerini hedef alan farmasöyikal çalışmaların kimyasal ve moleküler teknikler yardımıyla uygulanması ile bu bitkiden yeni antibakteriyel türevlerinin üretilmesi kuvvetle muhtemeldir.

Teşekkür: Bu çalışma, 2017 yılı TÜBİTAK ortaöğretim (lise) projeleri yarışması kapsamında Adana Bölgesi'nde yapılan proje elemelerinde Biyoloji Alanında 3.'ülikle ödüllendirilmiştir. Ayrıca, bitki teşhisi ve bakteri türlerinin temininde yardımını esirgemeyen Mustafa Kemal Üniversitesi'ne teşekkür ederiz.

Kaynaklar

- Al-Mariri, A., & Safi, M. (2014). In vitro antibacterial activity of several plant extracts and oils against some gram-negative bacteria. *Iranian Journal of Medical Sciences*, 39(1), 36-43. PMID: PMC3895893
- Allen, H.K., Trachsel, J., Looft, T., & Casey, T.A. (2014). Finding alternatives to antibiotics. *Annals of The New York Academy of Sciences*, 1323(1), 91-100. <http://dx.doi.org/10.1111/nyas.12468>.
- 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. [http://dx.doi.org/10.1016/S0956-7135\(03\)00028-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0956-7135(03)00028-8).
- Bhalodia, N. R., & Shukla, N. J. (2011). Antibacterial and antifungal activities from leaf extracts of *Cassia fistula* L.: An ethnomedicinal plant. *Journal of Pharmaceutical Technology and Research*, 2(2), 104-109. <http://dx.doi.org/10.4103/2231-4040.82956>.
- Coates, A. R. M., & Hu, Y. (2007). Novel approaches to developing new antibiotics for bacterial infections. *British Journal of Pharmacology*, 152(8), 1147-1154. <http://dx.doi.org/10.1038/sj.bjp.0707432>.
- Fair, R.J., & Tor, Y. (2014). Antibiotics and Bacterial Resistance in the 21st Century. *Perspectives in Medicinal Chemistry*, 6, 25-64. <http://dx.doi.org/10.4137/PMC.S14459>.
- Giannella, R. A. (1996). *Salmonella*. In: Baron S, editor. *Medical Microbiology*. 4th edition. Galveston (TX): University of Texas Medical Branch at Galveston; Chapter 21.
- Harbarth, S., & Samore, M. H. (2005). Antimicrobial resistance determinants and future control. *Emerging Infectious Diseases*, 11, 794-801. <http://dx.doi.org/10.3201/eid1106.050167>.
- Haroun, M. F., & Al-Kayali, R. S. (2016). Synergistic effect of *Thymbra spicata* L. extracts with antibiotics against multidrug-resistant

- Staphylococcus aureus and Klebsiella pneumoniae strains. Iranian Journal of Basic Medical Sciences, 19, 1193-1200. PMID: PMC5126220.
<http://www.bitkiler.gen.tr/zahter-bitkisi.html> (Erişim Tarihi: 05.08.2016).
- Luangtongkum, T., Jeon, B., Han, J., Plummer, P., Logue, C.M., & Zhang, Q. (2009). Antibiotic resistance in Campylobacter: emergence, transmission and persistence. *Future Microbiology*, 4(2), 189-200. <http://dx.doi.org/10.2217/17460913.4.2.189>.
- Öztekin, S., & Soysal, Y. (1998). Tıbbi ve aromatik bitkilerde ekstraksiyon yöntemleri. Tarımsal Mekanizasyon 18. Ulusal Kongresi, 17-18 Eylül, Tekirdağ, Türkiye.
- Reller, L.B., Weinstein, M., Jorgensen, J.H., & Ferraro, M.J. (2009). Antimicrobial Susceptibility Testing: A Review of General Principles and Contemporary Practices. *Clinical Infectious Diseases*, 49(11), 1749-1755. <https://doi.org/10.1086/647952>.
- Scallan, E., Hoekstra, R. M., Angulo, F. J., Tauxe, R. V., Widdowson, M. A., Roy, S. L., Jones, J. L., ... Griffin, P.M. (2011). Foodborne illness acquired in the United States – Major pathogens. *Emerging Infectious Diseases*, 17(1), 7-15. <http://dx.doi.org/10.3201/eid1701.P11101>.
- Spellberg, B., Bartlett, J. G., & Gilbert, D. N. (2013). The future of antibiotics and resistance. *The New England Journal of Medicine*, 368, 299-302.
- Torella, J. P., Chait, R., & Kishony, R. (2010). Optimal drug synergy in antimicrobial treatments. *PLoS Computational Biology*, 6, 1-8. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1000796>.
- Ventola, C.L. (2015). The Antibiotic Resistance Crisis. *Pharmacy and Therapeutics*, 40(4), 277-283. PMID: PMC4378521.
- Wright, G.D. (2014). Something new: revisiting natural products in antibiotic drug discovery. *Canadian Journal of Microbiology*, 60(3), 147-154. <http://dx.doi.org/10.1139/cjm-2014-0063>.
- Wright, G.D., & Poinar H. (2012). Antibiotic Resistance is Ancient: Implications for Drug Discovery. *Trends in Microbiology*, 20(4), 157-159. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tim.2012.01.002>.
- <http://www.bitkiler.gen.tr/zahter-bitkisi.html> (Erişim tarihi: 05.08.2016)
-