

Türkiye’de Yetişen Bazı Bitkilerin Antibakteriyel Etkisinin İncelenmesi

Oya KELEŞ

İstanbul Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, Avcılar, 34851, İstanbul - TÜRKİYE

Seyyal AK

İstanbul Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Avcılar, 34851, İstanbul - TÜRKİYE

Tülay BAKIREL

İstanbul Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, Avcılar, 34851, İstanbul - TÜRKİYE

Kerim ALPINAR

İstanbul Üniversitesi, Fen Fakültesi, Botanik Anabilim Dalı, 34460, Selimiye, İstanbul - TÜRKİYE

Geliş Tarihi: 25.08.2000

Özet: Türkiye'nin çeşitli yörelerinden toplanan 13 bitki türünden elde edilen 14 etanol ekstraktının 2 Gram pozitif ve 5 Gram negatif bakteri türüne karşı disk difüzyon ve dilüsyon yöntemleri ile *in vitro* antibakteriyel etkisi araştırıldı. Disk difüzyon yönteminde oluşan inhibisyon zon çapına göre 14 bitki ekstraktının 12'sinin bakteri türlerine karşı değişen derecelerde antibakteriyel etkiye sahip olduğu saptandı. En geniş etki spektrumu, 5 bakteri türüne karşı antibakteriyel aktiviteye sahip olan *Malva sylvestris* ekstraktları ile gözlemlendi. Buna karşın *Verbascum spp.* ekstraktı sadece bir bakteriye etki gösterdi. En yüksek antibakteriyel aktivite ise *Hypericum perforatum* ekstraktı ile elde edildi. Antibakteriyel aktiviteye sahip bitki ekstraktlarının minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değerleri 0.125-4 mg/ml arasında değişti. MİK değerlerinin yüksek oluşu, bitki ekstraktlarının standart antibiyotiklere göre zayıf ve orta düzeyde aktiviteye sahip olduğunu gösterdi. Elde edilen sonuçlara dayanarak incelenen bitkilerin çoğunun antibakteriyel ajanların kaynağı olabileceği kanısına varıldı.

Anahtar Sözcükler: MİK, bitki, disk difüzyon

Screening of Some Turkish Plants for Antibacterial Activity

Abstract: Some 14 ethanol extracts from 13 plant species collected from various regions of Turkey were assayed for *in vitro* antibacterial activity against two Gram positive and 5 Gram negative bacteria, using the disc-diffusion and dilution methods. The diameter of the inhibition zone in the disc-diffusion method shows that 12 extracts from the 14 plants studied have antibacterial activity in different levels. The broadest spectrum of activity was exhibited by *Malva sylvestris* against five bacteria, whereas the *Verbascum spp.* extract only showed activity against one. The highest antibacterial activity was produced by the extract of *Hypericum perforatum*. The minimum inhibitory concentration (MIC) values of plant extracts with antibacterial activity ranged from 0.125 to 4 mg/ml. The high MIC values showed that the extracts had low to moderate activity compared with standard antibiotics. Based on the results from the present investigation, it is concluded that most of the plants studied may be sources of antibacterial agents.

Key Words: MIC, plant, disc-diffusion

Giriş

Günümüzde tıbbi bitkiler, geleneksel sağaltım yöntemlerinin en aktif unsurları olarak bilinmektedir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) verileri gelişmekte olan ülkelerde insanların %80'nin bu sağaltım yöntemlerini

kullandığını ve 3.3 milyar insanın da tıbbi bitkilerden sağaltım aracı olarak yararlandığını ortaya koymuştur (1). Türkiye on bine yakın bitki türü ile dünyanın en zengin florasına sahip ülkelerden biri olmanın yanısıra köklü bir kültüre de sahiptir. Bu durum, bitkisel ilaçların daha etkili,

daha toksik ve daha pahalı olan sentetik ilaçlar ile birarada kullanımlarında tamamlayıcı olarak rol oynamalarına olanak sağlamakta, tek başlarına ise alternatif sağaltım aracı olarak deri ve mukoza lezyonları ile diğer sistemlerin infeksiyonlarında iyileştirici ve antiseptik amaçlı olarak kullanımlarını gündeme getirmektedir. Bu yönüyle antibakteriyel aktiviteye sahip bitkilerin bakteriyel orijinli insan, hayvan ve bitki hastalıklarının kontrolünde etkili olabileceği ve hatta yiyecek depolarındaki bakteriyel kontaminasyonu önlemek gibi spesifik bir işleve sahip olabileceği bildirilmektedir (2). Ayrıca baharat özelliğindeki bazı bitkilerin içerdikleri uçucu yağlar ile gıdaların organoleptik özelliğinde kayba neden olmaksızın bakteriyel bozulmayı geciktirdikleri ve buna bağlı olarak koruyucu amaçla kullanıldıkları saptanmıştır (3).

Günümüzde klasik kemoterapotik ajanlara karşı gelişen rezistans bakteri türlerinin sayıca artması ve özellikle penisilline rezistans suşların sıkça görülmesi bu bileşiklerin kullanımını yararsız hale getirmektedir. Antibakteriyel etkiye sahip bitkiler, halen kullanılmakta olan antibiyotiklerden farklı mekanizmalar ile bakterileri inhibe edebildiğinden rezistanslık gelişen bakteri türlerini kontrol altına alabilme yeteneğine sahiptirler (1, 4). Bu durumda bitkiler, tedavi edici etkilerinin yanısıra yeni antibakteriyel ilaçların geliştirilmesi için yapılan araştırmalarda model olarak da kullanılabilirler (5,6,7).

Bu araştırmada 13 bitki türünün bazı Gram pozitif ve Gram negatif bakteri türlerine karşı olası antibakteriyel aktivitesi incelendi. Bu bitkilerden *Malva sylvestris*, *Origanum vulgare*, *Pistacia terebinthus*, *Hypericum perforatum* gibi bazı türlerin ülkemizde geleneksel olarak antiseptik ve yara iyileştirici olarak kullanıldığı bilindiğinden (8) bu araştırma ile bitkilerin kullanımına bilimsel nitelik kazandırmak amaçlanmıştır. Etkisi incelenen diğer bitkilerin ise antibakteriyel aktiviteleri ile ilgili bazı yurt dışı yayınlar bulunmakla beraber ülkemizde bu yönde bir araştırmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle bu çalışmada Türkiye coğrafi koşullarına bağlı olarak yetişen bu bitki türlerinin de antibakteriyel etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Bitki örnekleri ve ekstraksiyon işlemi

Bu çalışmada kullanılan 13 bitki örneği, Türkiye'nin çeşitli yörelerinden 1999 yılı ilkbahar ve yaz mevsimi süresince toplandı. Örneklerin tür tayini, Prof. Dr. K.

Alpınar (İstanbul Üniversitesi, Fen Fakültesi, Botanik Anabilim Dalı) tarafından yapıldı ve bitki örnekleri İstanbul Üniversitesi Fen Fakültesi Herbaryumuna kaydedildi. Bitkilerin botanik ve yerel isimleri ile beraber herbaryum numaraları ve incelendiği bölümleri Tablo 1'de gösterilmektedir.

Bitki örnekleri direkt güneş ışığına maruz kalmaksızın oda ısısında kurutuldu. Antibakteriyel aktivite ile ilgili deneyler için bitkinin incelenen bölümleri toz haline getirildi ve 50 gram bitki örneği alınarak 80° C'lik bir ısıda, 6 saat süresince % 80'lik etanol ile soksalette ekstrakte edildi. Etanol ekstraktları Whatman No.1 filtre kağıtlarından süzülerek düşük basınç altında kuruluğa kadar uçuruldu (T<40°C). Kuru bitki ekstraktları %10 Dimethylsulfoxide (DMSO) ile çözüldürüldü ve membran filtreler (0.45 µm) yardımıyla steril edildi. Ekstraktların antibakteriyel aktiviteleri ya hemen incelendi veya -20° C de kapalı bir şekilde saklanarak sonradan analiz edildi.

Mikroorganizmalar

Araştırmamızda *Staphylococcus aureus* (Cowan I suşu), *Streptococcus agalactia* (ATCC 7077), *Salmonella enteritidis* (ATCC 13076), *Salmonella gallinarum* (ATCC 9184), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Klebsiella pneumonia* (ATCC 13883), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027) kullanıldı.

Besiyerleri

Çalışmada kullanılan suşların devamlılığını sağlamak için % 7 defibrine koyun kanlı agar, bitki ekstraktlarının antibakteriyel aktivitelerinin saptanması amacıyla yapılan disk diffüzyon testi için (*S.agalactiae* dışında) Müeller-Hinton Agar, minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) testleri için de Ca⁺⁺ ve Mg⁺⁺ katyonları ilave edilmiş Müeller-Hinton Broth besiyerleri ile çalışıldı. *S.agalactiae* için yapılan disk diffüzyon testinde ise %7 defibrine koyun kanlı agar besiyeri kullanıldı (9).

Antibakteriyel aktivitenin saptanması

A) Kalitatif yönden antibakteriyel aktivitenin değerlendirilmesi

Bitki ekstraktlarına karşı bakterilerin duyarlılığını saptamak amacıyla disk-diffüzyon yöntemi kullanıldı (9). Disk hazırlamada kullanılan emici kağıtlar (Whatman No.1) 6 mm çapında kesildi. Disklere 30 µl bitki ekstraktı emdirildi ve 30°C'de kurutuldu. Bakteriyel inokulumların yoğunluğu 0.5 McFarland BaSO₄ standardına göre ayarlandı. Besiyerine yayılan bakteri suspansiyonlarına

belli aralıklarla bitki ekstraktları emdirilmiş diskler yerleştirildi. DMSO emdirilmiş disk negatif kontrol, Gentamisin diskleri de pozitif kontrol olarak kullanıldı. *S. agalactia* mikroaerobik, diğer bakteri türleri ise aerobik koşullar altında 24 saat süresince 37°C'de inkubasyona bırakıldı. Bu sürenin sonunda disklerin etrafında, inhibisyon zonları oluşup oluşmadığı gözlemlendi. Antibakteriyel aktivite için inhibisyon zonlarının çapı (mm) esas alındı ve 8 mm ve daha yüksek inhibisyon düzeyleri değerlendirilmeye alındı.

B) Kantitatif yünden antibakteriyel aktivitenin değerlendirilmesi

Disk difüzyon yönteminde 8 mm ve üzerinde inhibisyon zonuna sahip bitki ekstraktlarının, antibakteriyel aktivitelerinin kantitatif ölçümü için broth makrodilüsyon yöntemi (10) kullanılarak minimum inhibitör konsantrasyonları (MİK) saptandı. Bu amaçla bitki ekstraktlarının, 4.0-0.015 mg/ml konsantrasyon sınırları içinde iki katlı seri dilüsyonları yapıldı ve 37°C de 24 saat süren inkubasyondan sonra bakteriyel üremenin tamamen inhibe edildiği ekstraktın en düşük konsantrasyonu MİK değeri olarak hesaplandı. Referans antibiyotik standartı olarak gentamisin kullanıldı.

Bulgular

Araştırmamızda disk difüzyon yöntemi ile antibakteriyel etkileri incelenen 13 bitki türüne ait 14 etanol ekstraktının 7 bakteriye karşı üreme inhibisyon sonuçları Tablo 1'de gösterilmiştir. Bu bitki ekstraktlarından 12 tanesinin (% 85.7 (12/14)) birden fazla sayıda mikroorganizmaya karşı antibakteriyel aktivitesi saptandı. Sadece *Sambucus ebulus* ekstraktının incelenen bakteri türlerine karşı etkisiz olduğu bulundu. Bunun yanısıra Avcılar yöresinden toplanan *Urtica dioica* ekstraktının bazı bakteri türlerine karşı antibakteriyel etkili olduğu saptanırken İlğaz yöresinden toplanan türde aynı etki görülmedi. Bitki ekstraktları tarafından üremeleri inhibe edilen bakteri türlerinin sayısı dikkate alındığında en geniş antibakteriyel etki spektrumu *Malva sylvestris* (% 8.3 (1/12) ile görüldü. Bu bitkinin *E.coli* ve *S.enteritidis* hariç diğer Gram pozitif ve Gram negatif 5 bakteri türlerine karşı etkili olduğu saptandı. Buna karşın *Verbascum spp.* ekstraktının (% 8.3 (1/12)) sadece *S.aureus*'a karşı etkili olduğu belirlendi. Diğer yandan *Cichorium intybus*, *Tanacetum partheneum*, *Origanum vulgare*, *Pistacia terebinthus* ve *Urtica dioica* (Avcılar)

ekstraktlarının (% 41.6 (5/12)) 3 bakteri türüne, bunların dışında kalan bitki ekstraktlarının (% 41.6 (5/12)) ise 2 bakteriye karşı değişen derecelerde antibakteriyel etkisi bulundu. Bitki ekstraktlarına karşı en duyarlı bakterinin *S.aureus* olduğu ve antibakteriyel etkiye sahip bitkilerin tümünün bu bakteriyi değişen derecelerde inhibe edebildiği belirlendi.

Antibakteriyel aktivitesi saptanan bitki ekstraktlarının MİK değerleri Tablo 2'de gösterilmiştir. Antibakteriyel aktivitenin nicelik yönünden incelenmesi sırasında, bitki ekstraktları içinde MİK değerinin en düşük ve inhibisyon zonunun en büyük oluşu gözönüne alınarak yapılan değerlendirilmelerde en yüksek etki, *Hypericum perforatum* ile *S. aureus*'a (MİK 0.125 mg/ml, zon çapı 16 mm) karşı gözlemlendi. Bu etkiyi yine *S.aureus*'a karşı daha büyük MİK değerine sahip olan ve orta büyüklükte inhibisyon zonu oluşturan bitki ekstraktlarının etkisi izledi. Orta derecede antibakteriyel etki oluşturan bu bitki ekstraktları *Tanacetum vulgare* (MİK 1mg/ml, zon çapı 14 mm), *Tanacetum partheneum* (MİK 1mg/ml, zon çapı 14 mm), *Verbascum spp.* (MİK 1mg/ml, zon çapı 14 mm), *Marrubium parviflorum* (MİK 1mg/ml, zon çapı 12mm) ve *Fumaria officinalis* (MİK 1mg/ml, zon çapı 12mm) dir. İncelenen bitkilerin Gram pozitif bakterilere oranla Gram negatiflere karşı etkilerinin daha düşük olduğu dikkati çekti. Bunun yanısıra bitkilerin Gram negatif bakterilere karşı en yüksek etkisi *Malva sylvestris* ile *K.pneumonia*'ya (MİK 2mg/ml, zon çapı 12mm) karşı elde edildi. Gram pozitif bakterilere karşı aktivite gösteren bitkilerden *Urtica dioica* hariç diğer ekstratların MİK değerleri 0.125-2 mg/ml iken Gram negatif bakterilere karşı bu değer 2-4 mg/ml arasında değişmektedir. *Pistacia terebinthus* ekstraktının *S. enteritidis*'e karşı 8 mm çapında bir inhibisyon zonu oluşturmaya karşın MİK değerinin saptanmasında kullanılan başlangıç dilüsyonunda (4 mg/ml) bile üremenin inhibe edilemediği gözlemlendi.

Tartışma

Bu çalışmada Türkiye'de geleneksel sağaltımda kullanılan ve çeşitli yörelerden toplanan 13 bitki türüne ait 14 ekstraktan 12 tanesinin Gram pozitif ve Gram negatif bakteri türlerine karşı değişen derecelerde antibakteriyel etki gösterdikleri belirlenmiştir. Bu sonuçlar incelenen bitkilerin etanol ekstraktlarında antibakteriyel bileşiklerin varlığını gösterir. Bitkiler içinde

Tablo 2. Antibakteriyel aktivitesi saptanan bitki ekstraktlarının minimum inhibitör konsantrasyon düzeyleri.

	Minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) (mg/ml)						
	Ec	Kp	Pa	Sa	Sag	Se	Sg ^a
<i>Pistacia terebinthus</i> L.				2			2
<i>Cichorium intybus</i> L.	4			2			
<i>Tanacetum partheneum</i> (L.) Schultz Bip.		4		1			2
<i>Tanacetum vulgare</i> L.				1			2
<i>Hypericum perforatum</i> L.				0.125	1		
<i>Marrubium parviflorum</i> - Fisch. & Mey. Subsp. oligodon (Booiss.) Seybold		4		1			
<i>Origanum vulgare</i> L. subsp.vulgare				1	2	4	
<i>Malva sylvestris</i> L.		1	2	2		2	2
<i>Fumaria officinalis</i> L.				1		4	
<i>Galium verum</i> L. subsp.verum				2	2		
<i>Verbascum spp</i>				1			
<i>Urtica dioica</i> L.	4			4	4		
Gentamisin	0.003906	0.001953	0.003906	0.000976	0.001953	0.003906	0.000976

a: Mikroorganizmalar

Ec: *Escherichia coli*Kp: *Klebsiella pneumoniae*Pa: *Pseudomonas aeruginosa*Sa: *Staphylococcus aureus*Sag: *Streptococcus agalactiae*Se: *Salmonella enteritidis*Sg: *Salmonella gallinarum*

en yüksek etki *Hypericum perforatum* ile *S. aureus*'a karşı, en geniş etki spektrumu ise *Malva sylvestris* ile saptanmıştır. İncelenen bitki türlerinin antibakteriyel aktivitelerindeki farklılığın, içerdikleri aktif unsurların değişkenliği ile ilişkili olduğu bildirilmektedir (11, 12). Bitkilerin kimyasal bileşimleri ile ilgili yapılan araştırmalarda antibakteriyel etkiden sorumlu kimyasalların *Marrubium vulgare* (13) ve *Origanum vulgare*'de (14) esansiyel yağlar, *Fumaria officinalis*'de protopine ve corydaline alkaloidleri (13), *Cichorium intybus*'da sesquiterpene lactonlar (15,16), *Tanacetum vulgare* (17) ve *Tanacetum partheneum*'da (18) polyacetylenler ve acyclic sesquiterpenler, *Hypericum perforatum*'da hypericin ve pseudohypericin (19) olduğu bildirilmektedir.

Bu araştırmada incelediğimiz bitkilerin antibakteriyel etkilerinin varlığı ile ilgili bulgular bazı araştırmalarda da (18,19,20,21) yer almasına karşın etki spektrumları yönünden farklılıklar olduğu dikkati çekmiştir. Elde edilen bulguların, İtalya'da yapılan tıbbi bitkiler ile ilgili bir araştırma (21) ile kıyaslanması sonucunda bitkilerin ortak olarak kullanılan bazı bakteri türlerine karşı nitelik ve nicelik yönünden farklı aktiviteye sahip olduğu saptanmıştır. Örneğin *Origanum vulgare* ekstraktının *P.aureginosa* hariç incelenen Gram pozitif ve Gram

negatif bakterilerin tümü üzerinde etkili olduğu bildirilmesine karşın bu çalışmada bu ekstraktın 7 bakteri türünden sadece 3 tanesine karşı düşük düzeyde antibakteriyel etkiye sahip olduğu gözlenmiştir. Bu durumun, kullanılan bakteri türlerinin farklılığının yanısıra Türkiye'de yetişen *Origanum vulgare*'nin 4 alt varyetisinin varlığı (8) ile ilişkili olabileceği ve varyetelerde aktif madde olarak rol oynayan esansiyel yağların aktivitelerinin farklılığından kaynaklanabileceği düşünülmüştür. Aynı araştırmada *Galium verum* ve *Malva sylvestris* ekstraktlarının diğer bakterilere göre daha kolay inhibe edilen *S.aureus*'a karşı etkisi belirlenmemesine rağmen Avcılar yöresinden toplanan bu türlerin aynı bakteriye karşı MİK değeri 4 mg/ml olarak bulunmuştur. Bu farklılıkların, bitkilerin kimyasal içeriklerinin bireysel değişimine bağlı olduğu ve dolayısıyla toprağın yapısı, bitki materyalinin toplanması sırasında günlük ve mevsimsel değişimler, bitkinin fizyolojik gelişim dönemi, incelenen bitki bölümü, ekstraksiyon işlemi ve kullanılan bakteri türleri gibi faktörler ile ilişkili olabileceği ileri sürülmektedir (21,22,23). Bu araştırmada bitkilerin antibakteriyel aktiviteleri yönünden ortaya çıkan farklılıklar, benzer aktif yapılara sahip olduğu düşünülen aynı familyaya ait bitki türleri arasında görüldüğü gibi aynı tür içinde bile dikkati çekmiştir. Compositae

familyasına ait olan *Cichorium intybus* ve *Tanacetum vulgare*'nin *S.aureus*'a karşı MİK değerlerinin sırasıyla 1 ve 4 mg/ml olduğu bulunmuştur. Antibakteriyel aktivitenin yanısıra etki spektrumları yönünden yapılan incelemelerde *Tanacetum vulgare* ve *Tanacetum partheneum* arasında da benzer ayrımlar gözlenmiştir. Bu çalışmada bitkilerin toplandığı yöre ve mevsimsel farklılıklar hariç tüm çalışma koşulları aynı olduğu halde *Urtica dioica*'ya ait 2 etanol ekstraktının antibakteriyel aktivitelerinin incelenmesi sırasında, Ilgaz dağlarından toplanan türün etkisinin belirlenememesine karşın Avcılar yöresinden toplanan bitkinin MİK değerinin 4mg/ml olduğu saptanmıştır. Bu ve benzeri örneklerde görülen aktivite farklılıklarının bitkilerin içerdiği etken maddelerin oranındaki değişimlere bağlı olabildiği ve etken maddelerin iz düzeylere kadar düşebildiği bildirilmektedir (24).

Bu çalışmada antibakteriyel aktiviteleri incelenen bitkilerin bakteriyostatik etkilerinin görülebilmesi için gerekli konsantrasyonlarının standart olarak kullanılan antibiyotiklere göre 125-4000 kez daha yüksek olması

gerektiği bulunmuştur. Bazı araştırmalarda da (5,12) belirtildiği gibi bitki ekstraktlarının farmakolojik yönden aktivitelerinin sınırlı oluşunun nedeni sokslet ile elde edilen ekstraktların saf halde bulunmaması ile ilgili olabilir. Bu durumda, saflaştırma işlemleri ile daha güçlü etkiye sahip bileşiklerin elde edilmesi olasıdır.

Bu araştırmada kullanılan bakterilerin bitki ekstraktlarına karşı duyarlılıklarının farklı olduğu görülmüştür. En duyarlı bakteri *S.aureus* iken en az duyarlı olan türler *E.coli* ve *K. pneumonia*'dır. Araştırmacılar Gram pozitif bakterilerin Gram negatif bakterilere oranla antibakteriyel bileşiklere daha duyarlı oluşunun nedenlerinin başında bakterilerin yapısal özelliklerinin farklı olmasının geldiğini belirtmişlerdir (11,12).

Sonuç olarak antibakteriyel aktivitesi saptanan bitkilerin yeni sentezlenecek kemoterapötikler için kaynak olabileceği düşünülmüştür. Ayrıca elde edilen bulgular tıbbi bitkilerin antibakteriyel amaçla kullanılmalarının gerekli olduğu durumlarda bitki seçimine yardımcı olabilecek nitelikte olduğu belirlenmiştir.

Kaynaklar

1. Eloff, J.N.: Which extractant should be used for the screening and isolation of antimicrobial components from plants? J. Ethnopharmacol. 1998; 60: 1-8.
2. Verastegui, M.A., Sanchez, C.A., Heredia, N.L. and Garcia-Alvarado, J.S.: Antimicrobial activity of extracts three major plants from the Chihuahuan desert. J. Ethnopharmacol. 1996; 52: 175-177.
3. Dorman, H.J.D. and Deans, S.G.: Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. J. App. Microb. 2000; 88, 308-316.
4. Inuma, M., Tosa, H., Tanaka, T., Kanamaru, S., Asai, F., Kobayashi, Y., Miyauchi, K. and Shimano, R.: Antibacterial activity of some Garcinia Benzophenone Derivatives against Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus. Biol. Pharm. Bull. 1996; 19 (2), 311-314.
5. Fabry, W., Okemo, P.O. and Ansorg, R.: Antibacterial activity of East African medicinal plants. J. Ethnopharmacol. 1998; 60, 79-84.
6. Serkedjeva, J.: Antiinfective activity of a plant preparation from *Geranium sanguineum* L. Pharmazie, 1997; 52, 799-802.
7. Sindambiwe, J.B., Calomme, M., Cos, P., Totte, J., Pieters, L., Vlietinck, A. and Vanden Berghe, D.: Screening of seven selected Rwandan medicinal plants for antimicrobial and antiviral activities. J. Ethnopharmacol. 1999; 65, 71-77.
8. Baytop, T. : Türkiyede Bitkiler ile Tedavide (Geçmişte ve Bugün). İ.Ü. Yay.No: 3255, Ecz. Fak. No: 40. İstanbul,1984.
9. Quinin, P.J., Carter, M.E., Markey, B.K. and Carter, G.R.: Clinical Veterinary Microbiology. Wolfe Pub., Spain, Year Book Europe Ltd ISBN 07234 17113, 1994.
10. National Committee for Clinical Laboratory Standards: Methods for dilution antimicrobial susceptibility test. Approved standard M2-A5. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Villanova, PA., 1993.
11. Ali-Shtayeh, M.S., Yaghmour, R.M-R., Faidi, Y.R., Salem, K. and Al-Nuri, M.A.: Antimicrobial activity of 20 plants used in folkloric medicine in the Palestinian area. J. Ethnopharmacol. 1998; 60, 265-271.
12. Rabe, T. and Staden, J.: Antibacterial activity of South African plants used for medicinal purposes. J. Ethnopharmacol. 1997; 56, 81-87.
13. Paris, R.R. and Moyses, H.: Precis de Matière Medicale. Editorial Masson, Paris, 1981.
14. Janssen, A.M., Scheffer, J.J.C. and Baerheim Svendsen, A.: Antimicrobial activity of essential oils: A 1976-1986 literature review. Aspects of the test methods. Planta Medica, 1987; 53, 395-398.
15. Seaman, F.C.: Sesquiterpene lactones as taxonomic markers in the Asteraceae. Bot. Rev. 1982; 48, 121-595.

16. Zdero, C. and Bohlmann, F.: Systematics and evolution within the Compositae, seen with the eyes of a chemist. *Pl. Syst. Evol.* 1990; 171, 1-14.
17. Greger, H.: Anthemideae- chemical review. In: Heywood, V.H., Harborne, J.B. and Turner, B.L. (eds): "The Biology and Chemistry of the Compositae". Academic Press, London, pp.899-941, 1977.
18. Kalodera, Z., Pepeljnjak, S., Blazevic, N. and Petrak, T.: Chemical composition and antimicrobial activity of *Tanacetum parthenium* essential oil. *Pharmazie*, 1997; 52, 885-886.
19. Bombardelli, E. and Morazzoni, P.: *Hypericum perforatum*. *Fitoterapia*, 1995; LXVI, No. 1, 43-67.
20. Iauk, A., Ragusa, S., Rapisarda, A., Franco, S. and Nicolosi, V.M.: *in vitro* Antimicrobial activity of *Pistacia lentiscus* L. Extracts: Preliminary Report. *Journal of Chemotherapy*, 1996; 8, 207-209.
21. Izzo, A.A., Di Carlo, G., Bicardi, D., De Fusco, R., Mascolo, N., Borrelli, F. and Capasso, F.: Biological screening of Italian medicinal plants for antibacterial activity. *Phytotherapy*, 1995; 9, 281-286.
22. Martinez, M.J., Betancourt, J., Alonso-Gonzales, N. and Jauregui, A.: Screening of some Cuban medicinal plants for antimicrobial activity. *J. Ethnopharmacol.* 1996; 52, 171-174.
23. Tunon, H., Olavsdotter, C. and Bohlin, L.: Evaluation of anti-inflammatory activity of some Swedish medicinal plants. Inhibition of prostaglandin biosynthesis and PAF- induced exocytosis. *J. Ethnopharmacol.* 1995; 48, 61-76.
24. Sivropoulou, A., Papanikolaou, E., Nikolaou, C., Kokkini, S., Lanaras, T. and Arsenakis, M.: Antimicrobial and cytotoxic activities of *Origanum* essential oils. *J. Agric. Food Chem.* 1996; 44, 1202-1205.