Research Journal of Biology Sciences
E-ISSN: 1308-0262 15(2): 87-92, 2022
Research Article

TİCARİ OLARAK SATILAN FARKLI ÇAY AĞACI YAĞLARININ ANTİBAKTERİYEL ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI

Hayrunisa Hancı [1, a, *]

[1] *Atatürk Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Erzurum, Türkiye*
**Corresponding Author:*
E-mail: hayrunisa.hanci@atauni.edu.tr

(Received 11th September 2022; accepted 13th October 2022)

a: ORCID 0000-0002-3644-8531

ÖZET. *Melaleuca alternifolia* (Myrtaceae) bitkisinin yapraklarından buhar distilasyonu ile elde edilen çay ağacı yağı özellikle doğal olarak yetiştiği ülke olan Avusturalya'da uzun yıllardır topikal antiseptik olarak kullanılan bir uçucu yağdır. Hastalıklarda alternatif tedavilerin tıbbi tedaviler ile birlikte kullanılması ivme kazanmıştır. Bu çalışmanın amacı ticari olarak satılan 10 farklı çay ağacı yağının antibakteriyel etkinliklerini araştırmaktır. Yağların antibakteriyel etkinlikleri standart bakteri suşları kullanılarak disk difüzyon yöntemi ile belirlenmiştir. Çalışmada 6 farklı uçucu yağın çalışılan bakterilere karşı etkili olduğu ancak 4 tanesinin hiçbir bakteride zon oluşturmadığı tespit edildi. Genel olarak bakıldığında etkinlik gösteren tüm uçucu yağlarda en geniş zon çaplarının *E. coli* ve *K. pneumoniae* suşlarında oluştuğu, ayrıca gram negatif bakterilerdeki etkinliklerin gram pozitif bakterilere göre daha iyi olduğu gözlendi. Bununla birlikte uçucu yağlardan sadece ikisinin *E. faecalis* suşunda zon oluşturduğu belirlendi. Çay ağacı yağı ile ilgili olarak literatürdeki olumlu sonuçların fazlalığı dikkate değer bir husustur ve bu yağın terapötik bileşikler açısından iyi bir kaynak olabilme potansiyeli bulunmaktadır. Ancak piyasadaki çay ağacı yağlarının etkinliklerinin birbirlerinden çok farklı olması bu yağları kullanırken beklenen etkinin oluşmama ihtimalini gündeme getirmektedir. Bu sorunların çözümü ise uçucu yağların kalitelerinin üretiminden satışına kadar her basamakta belli standartlarla güvence altına alınması olabilir.

Anahtar kelimeler: *Antimikrobiyal aktivite, Çay ağacı yağı, Melaleuca alternifolia, Uçucu yağ*

GİRİŞ

Melaleuca alternifolia (Myrtaceae) bitkisinin yapraklarından buhar distilasyonu ile elde edilen çay ağacı yağı özellikle doğal olarak yetiştiği ülke olan Avusturalya'da uzun yıllardır topikal antiseptik olarak kullanılan bir uçucu yağdır [1]. Çay ağacı yağının antibakteriyel, antifungal, antiviral ve antiprotozoal etkilerinin olduğu bildirilmektedir [2,3]. Günümüzde antibiyotiklerin tarımda, gıda üretiminde ve özellikle insanlar ve hayvanlar arasında yanlış kullanımı, dünya çapında enfeksiyonlar nedeniyle ölümlere yol açabilecek antimikrobiyal direncin ortaya çıkması ve yayılmasında baskın faktör olarak karşımıza çıkmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) 2017 yılında çoklu ilaca dirençli mikroorganizmalarla savaşta acilen yeni terapötiklere ihtiyaç duyulduğunu bildirmiştir [4]. Hastalıklarda alternatif tedavilerin tıbbi tedaviler ile birlikte kullanılması ivme kazanmıştır [5]. Yaklaşık 6000 yıllık geçmişi ile tarihi eski Mısır uygarlığına dayanan aromaterapi uygulamalarında uçucu yağlar, çeşitli hastalıklarla savaşmada kullanılan terapötik ajanlar arasında yer almaktadır [6]. Kütanoz enfeksiyonlarda yaygın bir şekilde kullanılan çay ağacı yağının etki ettiği mikroorganizma grubunun genişliği, irritasyon yapmadan deriye kolayca penetre olabilmesi popüler bir topikal dezenfektan olmasını sağlamıştır [6-8]. Çay ağacı yağı çeşitli merhem, diş macunları, ağız çalkalama suları,

kozmetik ürünler ve veteriner hekimlikte kullanılan çeşitli preparatlar içerisinde sıklıkla yer almaktadır [1].

Her ne kadar çay ağacı yağının fiziksel ve kimyasal özellikleri uluslararası bir standartla düzenlense de farklı bitki kemotiplerinin ve depolama şartlarının ticari olarak satılan çay ağacı yağlarında kimyasal kompozisyonlarda farklılıklara neden olabileceği bildirilmektedir [7,8].

Bu çalışmanın amacı ticari olarak satılan 10 farklı çay ağacı yağının antibakteriyel etkinliklerini araştırmaktır.

MATERYAL VE METOD

Bu çalışma için piyasada isteyen herkesin kolaylıkla ulaşabileceği 10 farklı markadan çay ağacı yağı (üreticisi tarafından %100 saflıkta olduğu beyan edilen) temin edilerek 1'den 10'a kadar numaralandı. Yağların antibakteriyel etkinlikleri Staphylococcus aureus ATCC 29213, Enterococcus faecalis ATCC 29212, Escherichia coli ATCC 25922, Klebsiella pneumoniae ATCC 700603, Pseudomonas aeruginosa ATCC 9027, Proteus mirabilis ATCC 25933 standart bakteri suşları kullanılarak "Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)" önerileri doğrultusunda Kirby-Bauer disk difüzyon yöntemi ile belirlendi [9]. Standart antibiyotik olarak siprofloksasin 5 µg (Oxoid, USA) kullanıldı. Çalışma öncesinde -80 °C'de saklanan bakteriler Triptik Soy Broth besiyerine ekilip 24 saat 37 °C'de inkübe edildikten sonra çoğalmasına uygun katı besiyerine pasajlanarak (Eosin Methylen Bule agar, %5 koyun kanlı agar) 37°C'de 24-48 saat süreyle inkübasyona bırakıldı. Çay ağacı yağları boş ve steril antibiyotik disklerine (her bir diske 10 µl) emdirildi. Disk difüzyon testi için tüm bakterilerden 0.5 MC Farland bulanıklığında süspansiyonlar hazırlanarak Mueller Hinton ağara ekimleri yapıldı. Ardından çay ağacı emdirilmiş diskler ve siprofloksasin diskleri besiyeri yüzeyine yerleştirildi ve 35°C'de bir gecelik inkübasyonun ardından disklerin etrafında oluşan zon çapları ölçüldü. Testler 3 defa tekrarlanarak zon çaplarının ortalamaları alındı.

BULGULAR

Çalışmada 6 farklı uçucu yağın çalışılan bakterilere karşı etkili olduğu ancak 3, 6, 7 ve 10 ile numaralandırılan uçucu yağların hiçbir bakteride zon oluşturmadığı tespit edildi. Dokuz ile numaralandırılan uçucu yağın sadece E. coli ve K. pneumoniae suşlarında zon oluşturduğu belirlendi. Genel olarak bakıldığında etkinlik gösteren tüm uçucu yağlarda en geniş zon çaplarının E. coli ve K. pneumoniae suşlarında oluştuğu, ayrıca gram negatif bakterilerdeki etkinliklerin gram pozitif bakterilere göre daha iyi olduğu gözlendi. Bununla birlikte uçucu yağlardan sadece ikisinin E. faecalis suşunda zon oluşturduğu belirlendi. Tablo 1'de uçucu yağların zon çapları görülmektedir.

Table 1. *Uçucu yağların zon çapları*

	Bakteriler					
Çay ağacı yağları	*S. aureus* *ATCC 29213*	*E. faecalis* ATCC 29212	*E. coli* ATCC 25922	*K. pneumoniae* ATCC 700603	*P. aeruginosa* ATCC 9027	*P. mirabilis* ATCC 25933
1	12mm	-	20 mm	19mm	11mm	13mm
2	9mm	-	25mm	15mm	11mm	15mm
3	-	-	-	-	-	-
4	16mm	10mm	24mm	19mm	9mm	9mm
5	-	-	22mm	13mm	-	10mm
6	-	-	-	-	-	-
7	-	-	-	-	-	-
8	17mm	7mm	21mm	21mm	11mm	17mm
9	-	-	11mm	10mm	-	-
10	-	-	-	-	-	-
CIP*	24mm	20mm	34mm	26mm	35mm	40mm

TARTIŞMA

Günümüzde antimikrobiyal direnç, bakteriyel enfeksiyonların başarılı bir şekilde tedavi edilebilmesini tehdit eden küresel bir halk sağlığı krizi olarak karşımıza çıkmaktadır [10]. Örneğin, Avrupa Birliği'nde antimikrobiyal dirençli mikroorganizmalara bağlı ölümlerin yılda 33.000 civarında olduğu bildirilmektedir [11]. Bu durum dirençli enfeksiyonların tedavisi için yeni antibiyotiklere gereksinimi artırmaktadır. Her ne kadar yeni antibiyotikler keşfedilmeye devam etse de her yeni antibiyotikle beraber bakterilerin de yeni direnç mekanizmaları geliştirebilme yeteneği yeni antibiyotiklere veya antimikrobiyal etkili maddelere gereksinim durumunu güncel tutmaktadır [12].

Dünyada 1700'lü yıllarda tanınmaya başlayan çay ağacı yağının tıp dünyasında ilk bahsinin geçişi cerrahi yaraların temizlenmesinde etkinliğinin ortaya konmasıyla 1930 yılında gerçekleşmiştir. Devamında, ikinci dünya savaşında yaralanmalar sonucu gelişebilecek enfeksiyonların engellenmesi için kullanılması amacıyla ilk yardım malzemeleri arasında yer almaya başlamıştır. Bu özelliği sayesinde çay ağacı bitkisinin anavatanı olan Avustralya ordusu bu yağı ciddi bir şekilde önemsemiş ve savaş sonrası yıllarda antibiyotiklere erişimin zorlaşması sonucunda bu yağa olan ilgi de artmıştır [1,13].

İyi bir şekilde karakterize edilmiş olan çay ağacı yağı yaklaşık 100 terpen ve bunlarla ilgili alkolleri içermektedir. Ana bileşeni terpinen-4-ol olan çay ağacı uçucu yağının diğer bileşenleri arasında α, γ-terpinenler, terpinolene, 1,8- sineol yer almaktadır ve etkinliğini sitoplazma zarında göstermektedir. Ticari olarak satılan çay ağacı yağlarının fiziksel ve kimyasal özellikleri uluslararası bir standart tarafından düzenlenmektedir [6,8]. Çay ağacı yağının in vitro olarak antibakteriyel, antifungal, antiviral ve antienflamatuar özelliklere sahip olması, deri enfeksiyonlarının tedavisinde kullanımını popüler hale getirmiştir ancak ticari olarak satılan bitki kemotiplerinde ve depolama şartlarındaki farklılıkların kimyasal içeriklerde de farklılığa neden olması sonucunda antimikrobiyal etkinliklerde de değişkenlikler gösterebileceği bildirilmektedir [7,8].

Çalışmamızda 10 çay ağacından 4'ünün hiçbir bakteride etkinlik göstermediği belirlenmiştir. Bizim sonuçlarımıza benzer şekilde Brun ve arkadaşları (7) *Candida glabrata, Herpes simplex* virüs tip 1 (HSV-1), metisiline dirençli *S. aureus* (MRSA) ve *P. aeruginosa* ile gerçekleştirdikleri çalışmalarında 10 çay ağacı yağı serisinden sadece 5'inin önemli antimikrobiyal aktivite gösterdiğini tespit etmişlerdir. Bu durum piyasada satılan çay ağacı yağlarının hepsinden aynı etkinliği göstermeyeceğini kanıtlamaktadır.

E. faecalis, insan gastrointestinal kanallarında en sık bulunan bakterilerden biri olup ağız boşluğunda da kolonize olabilmektedir. Kök kanalı enfeksiyonları ile ilişkilendirilen bu bakteri daimi dişlerin başarısız kanal tedavilerinde en sık görülen patojendir [14]. Qi ve arkadaşları (15) çay ağacı yağının *E. faecalis* üremesini ve biyofilm oluşumunu inhibe ettiğini bildirmişlerdir. Thawre ve arkadaşları [16] çalışmalarında çay ağacı yağı, nisin ve kalsiyum hidroksitin *E. faecalis* üzerinde etkinliklerini araştırmış ve çay ağacı yağının kanal tedavilerinde rutin olarak kullanılan kalsiyum hidroksite alternatif olarak kullanılabileceğini bildirmişlerdir. Benzer bir çalışmada da çay ağacı yağının kanal tedavilerinde kullanılabileceği bildirilmiştir [17]. Bir başka çalışmada çay ağacı yağının Staphylococcus ve Enterococcus gibi gram pozitif bakteri cinslerine karşı oldukça yüksek antimikrobiyal etkiye sahip olduğu bildirilmiştir [18]. Çalışmamızda çay ağacı yağlarından sadece iki tanesinin *E. faecalis* (ATCC 29212) suşu üzerinde etkili olduğu belirlenmiştir. Ayrıca gram negatif bakterilerdeki etkinlikler gram pozitif bakterilere göre daha iyi bulunmuştur. Tüm bu veriler her çay ağacı yağının aynı etkinlikte olmayabileceğinin açık bir göstergesi olarak yorumlanabilir.

Literatür incelendiğinde çay ağacı yağının antimikrobiyal etkinliğinin farklı bitki yağları ile kıyaslandığı çalışmalar da görülmektedir. Çay ağacı yağının biberiye yağı ile kıyaslandığı bir çalışmada çay ağacının düşük konsantrasyonlarda bile biberiye yağından çok daha etkili olduğu bildirilmiştir [19]. Mumu ve Hossaiin [5] çalışmalarında çay ağacı yağının etkinliğini okaliptüs yağı, limon otu yağı ve çeşitli antibiyotiklerle kıyaslamış ve çay ağacı yağının belirgin bir şekilde iyi antimikrobiyal etki gösterdiğini tespit etmişlerdir. Bu çalışmalara ilaveten literatürde çay ağacı yağının başka maddelerle de antimikrobiyal sinerjik etki gösterebileceğini bildiren çalışmalar da mevcuttur [20-22].

SONUÇ

Sonuç olarak, çay ağacı yağı ile ilgili olarak literatürdeki olumlu sonuçların fazlalığı dikkate değer bir hususdur ve bu yağın terapötik bileşikler açısından iyi bir kaynak olabilme potansiyeli bulunmaktadır. Çalışmamız piyasadaki çay ağacı yağlarının antimikrobiyal etkinliklerinin birbirlerinden çok farklı olduğunu göstermektedir. İnsanlar tarafından antimikrobiyal etkisi sayesinde lokal uygulamalar amacıyla bu yağların piyasadan kolayla temin edilip kullanılmasının beklenen sonucu doğurmayabileceği bir

gerçektir. Bu sorunların çözümü ise uçucu yağların kalitelerinin üretiminden satışına kadar her basamakta belli standartlarla güvence altına alınması olabilir.

.

REFERENCES

[1] Tezgük Çakır, N., Kaleağası, S., Kökdil, G. (2005): Tea tree oil: As a promising antimicrobial agent. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi 34 (4): 315 – 327.

[2] Baldissera, M.D., Da Silva, A.S., Oliveira, C.B., Santos, R.C.V., Vaucher, R.A., Raffin, R.P., Gomes, P., Dambros, M.G.C., Miletti, L.C., Boligon, A.A., Athayde, M.L., Monteiro, S.G. (2014): Trypanocidal action of tea tree oil (Melaleuca alternifolia) against Trypanosoma evansi in vitro and in vivo used mice as experimental model. Experimental Parasitology 141: 21-27.

[3] Santos, R.C.V., Lopes, L.Q.S., dos Santos Alves, C.F., Fausto, V.P., Pizzutti, K., Barboza, V., de Souza, M.E., Platchek Raffin, R., Gomes, P., Takamatsu, D., Morinaga, Y., Boligon, A.A., Athayde, M.L., Felippi, C.C., de Almeida Vaucher, R. (2014): Antimicrobial activity of tea tree oil nanoparticles against American and European foulbrood diseases agents. Journal of Asia-Pacific Entomology 17: 343-347.

[4] Minarini, L.A.D.R., Andrade, L.N.D., De Gregorio, E., Grosso, F., Naas, T., Zarrilli, R., L. B. C. Camargo, I. (2020): Editorial: Antimicrobial resistance as a global public health problem: How can we address it? Frontiers in Public Health 8:612844.

[5] Mumu, S.K., Hossain, M.M. (2018): Antimicrobial activity of tea tree oil against pathogenic bacteria and comparison of its effectiveness with eucalyptus oil, lemongrass oil and conventional antibiotics. American Journal of Microbiological Research 6 (3): 73-8.

[6] Kurt, N., Tatlı Çankaya, İ. (2021): Aromaterapi uygulamaları ve uçucu yağlar. Lokman Hekim Dergisi 11 (2): 230-241.

[7] Brun, P., Bernabè, G., Filippini, R., Piovan, A. (2019): In vitro antimicrobial activities of commercially available tea tree (Melaleuca alternifolia) essential oils. Current Microbiology 76:108-116.

[8] Carson, C.F., Mee, B.J., Riley, T.V. (2002): Mechanism of action of Melaleuca alternifolia (tea tree) oil on Staphylococcus aureus determined by time-kill, lysis, leakage, and salt tolerance assays and electron microscopy. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 46(6):1914-1920.

[9] Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Twenty- second informational supplement, M100- S22, CLSI, Wayne, PA (2012).

[10] McEwen, S., Collignon, P. (2018): Antimicrobial resistance: a one health perspective. Microbiology Spectrum 6(2): doi: 10.1128/microbiolspec.ARBA-0009-2017.

[11] Cassini, A., Högberg, L.D., Plachouras, D., Quattrocchi, A., Hoxha, A., Simonsen, G.S., Colomb-Cotinat, M., Kretzschmar, M.E., Devleesschauwer, B., Cecchini, M., Ouakrim, D.A., Oliveira, T.C., Struelens, M.J., Suetens, C., L Monnet, D., Burden of AMR Collaborative Group. (2019): Attributable deaths and disability-adjusted life-years caused by

infections with antibiotic-resistant bacteria in the EU and the European Economic Area in 2015: a population-level modelling analysis. Lancet Infectious Diseases 19: 56–66.

[12] Yılmaz, S., Diktaş, H. (2013): Resistance new antibiotics in development against multidrug-resistant bacteria. Journal of Clinical and Analytical Medicine 4(3): 249-252.

[13] Carson, C.F., Riley, T.V. (1995): Antimicrobial activity of the major components of the essential oil of Melaleuca alternifolia. Journal of Applied Bacteriology 78(3): 264-269.

[14] Cancio, V., de Carvalho Ferreira, D., Cavalcante, F.S., Rosado, A.S., Teixeira, L.M., Oliveira, Q.B., Barcelos, R., Gleiser, R., Santos, H.F., dos Santos, K.R.N., Primo, L.G. (2017): Can the Enterococcus faecalis identified in the root canals of primary teeth be a cause of failure of endodontic treatment? Acta Odontologica Scandinavica 75(6): 423-428.

[15] Qi, J., Gong, M., Zhang, R., Song, Y., Liu, K., Zhou, H., Wang, J., Mei, Y. (2021): Evaluation of the antibacterial effect of tea tree oil on Enterococcus faecalis and biofilm in vitro. Journal of Ethnopharmacology 281: 114566.

[16] Thawre, S., Joshi. R., Bhardwaj, S.B., Bhushan, J. (2020): Comparison of the antibacterial efficacy of teatree oil, nisin and calcium hydroxide against Enterococcus faecalis. Materials Today: Proceedings 28: 1477-1480.

[17] Sinha, D.J., Vasudeva, A., Jaiswal, N., Garg, P., Prabha Tyagi, S., Singh, J. (2015): Antibacterial efficacy of Melaleuca alternifolia (Tea tree oil), Curcuma longa (Turmeric), 2% chlorhexidine, and 5% sodium hypochlorite against Enterococcus faecalis: An in vitro study. Saudi Endodontic Journal 5:182-186.

[18] Hammera, K.A., Carson, C.F., Riley, T.V. (2008): Frequencies of resistance to Melaleuca alternifolia (tea tree) oil and rifampicin in Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis and Enterococcus faecalis. International Journal of Antimicrobial Agents 32: 170-173.

[19] Elmi, A., Prosperi, A., Zannoni, A., Bertocchi, M., Scorpio, D.G., Forni, M., Foni, E., Bacci, M.L., Ventrella, D. (2019): Antimicrobial capabilities of non-spermicidal concentrations of tea tree (Melaleuca alternifolia) and rosemary (Rosmarinus officinalis) essential oils on the liquid phase of refrigerated swine seminal doses. Research in Veterinary Science 127: 76-81.

[20] Najafi-taher, R., Ghaemi, B., Kharazi, S., Rasoulikoohi, S., Amani, A. (2018): Promising antibacterial effects of silver nanoparticle-loaded tea tree oil nanoemulsion: a synergistic combination against resistance threat. AAPS PharmSciTech 19(3): 1133-1140.

[21] Dahham, M.T., Omar, A.K.F., Dheeb, B.I. (2019): Synergistic effect of tea tree oil on fungi causing vaginal thrush in pregnant women. Journal of Biotechnology Research Center 13(2): 35-44.

[22] D'Arrigo, M., Ginestra, G., Mandalari, G., Furneri, P.M., Bisignano, G. (2010): Synergism and post antibiotic effect of tobramycin and Melaleuca alternifolia (teatree)oil against Staphylococcus aureus and Escherichia coli. Phytomedicine 17(5): 317-322.