

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ
ÇOCUK DİŞ HEKİMLİĞİ ANABİLİM DALI

**BİTKİSEL ÖZÜTLERİN ORAL PATOJEN
MİKROORGANİZMALARA KARŞI
ANTİMİKROBİYAL ETKİNLİĞİNİN İN VİTRO
OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dt. Ecem MAMAKLI ERDOĞAN

DİŞ HEKİMLİĞİNDE UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Hüseyin KARAYILMAZ

2025-ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ
ÇOCUK DİŞ HEKİMLİĞİ ANABİLİM DALI

BİTKİSEL ÖZÜTLERİN ORAL PATOJEN
MİKROORGANİZMALARA KARŞI
ANTİMİKROBİYAL ETKİNLİĞİNİN İN VİTRO
OLARAK DEĞERLENDİRİLMESİ

Dt. Ecem MAMAKLI ERDOĞAN

DİŞ HEKİMLİĞİNDE UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Hüseyin KARAYILMAZ

Bu tez Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından TDH-2023-6433 proje numarası ile desteklenmiştir.

2025-ANTALYA

ONAY SAYFASI

Ecem MAMAKLI ERDOĞAN tarafından sunulan bu çalışma jürimiz tarafından **oy birliği/oy çokluğu** ile Çocuk Diş Hekimliği Anabilim Dalında Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

09/01/2025

İmza

Üye : Prof. Dr. Sera DERELİOĞLU
(Atatürk Üni. Diş Hek. Fak. Çocuk Diş
Hekimliği (Pedodonti) AD.)

Üye : Doç. Dr. Z. Zahit ÇİFTÇİ
(Akdeniz Üni. Diş Hek. Fak. Çocuk Diş
Hekimliği (Pedodonti) AD.)

Üye : Prof. Dr. Hüseyin KARAYILMAZ
(Akdeniz Üni. Diş Hek. Fak. Çocuk Diş
Hekimliği (Pedodonti) AD.)

Bu tez, .../...../..... tarih ve/..... sayılı Yönetim Kurulu kararıyla belirlenen ve yukarıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından kabul edilmiştir.

Diş Hekimliği Fakültesi

Kurum Yöneticisi

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimimde ve tez çalışmamda bana yardımcı olup tecrübeleriyle yol gösteren sayın hocam ve tez danışmanın Prof. Dr. Hüseyin KARAYILMAZ'a,

Uzmanlık eğitimim boyunca klinik ve akademik tecrübeleriyle bana rehberlik eden, her konuda ilgi ve desteklerini esirgemeyen değerli hocalarım Doç. Dr. Özge GÜNGÖR ve Doç. Dr. Zülfikar Zahit ÇİFTÇİ'ye,

Tezimin tasarımı ve sürdürülmesi sırasında bilgi ve yönlendirmeleriyle ufkumu genişleten, mikrobiyoloji konusunda tüm sorularımın cevaplarını bulabildiğim Prof. Dr. Ahmet Yılmaz ÇOBAN'a ve Öğr. Gör. Kübra YILDIRIM'a, tezimin laboratuvar aşamasında her konuda desteğini hissettiğim doktora öğrencisi Cemilenur ATAŞ'a,

Tezimin gerçekleşmesinde büyük emeği olan, teknik ve akademik olarak desteklerini esirgemeyen T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü ve özellikle uzman biyolog Müslime TANRISEVEN'e

Saygıdeğer jüri hocam Prof. Dr. Sera DERELİOĞLU'na,

Tez çalışmama maddi destek sağlayan, Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne,

Uzmanlık eğitimine birlikte başladığım, süreç boyunca her güzel anı ve zorluğu paylaştığım, ayrılacak da beraber kaldığımız çok kıymetli arkadaşlarım Buse Nur GÖK, İrem KAPICI, Nermin ISAZADE ve Tuğba CODAL'a,

Her gün birbirimizden birçok şey öğrendiğimize inandığım, uzmanlık eğitimim süresince yardım ve destekleriyle yanımda olduklarını hissettiğim, mezun olan ve eğitimi hâlâ devam eden kıymetli asistan arkadaşlarıma,

Çalışma hayatındaki takım arkadaşlarımız olan tüm bölüm hemşire ve personellerine,

Her konuda desteğini hissettiğim, sevgisiyle her zorluğu aşmamı sağlayan en yakın arkadaşım ve yol ortağım, çok değerli eşim Enes ERDOĞAN'a,

Hayatım boyunca hep yanımda olan, fedakârlıklarıyla beni ben yapan sevgili aileme — özellikle de annem Özgül MAMAKLI, babam Sümer MAMAKLI ve biricik kardeşim Gizem MAMAKLI'ya — sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

Amaç: Diş çürüğü çocukluk çağının en sık görülen kronik hastalığı olup, koruyucu diş hekimliğinde doğal yöntemlere ilgi giderek artmaktadır. Çalışmamızın amacı kivi ve stevia özütlerinin karyojenik mikroorganizmalar üzerindeki antimikrobiyal etkinliğinin değerlendirilmesidir.

Yöntem: Çalışma kapsamında kivi ve stevia bitkilerinin etanolik özütleri elde edilmiştir. Özütlerin şeker, yağ ve fenolik içerik analizleri gerçekleştirilmiştir. *S. mutans* ve *L. acidophilus* üzerindeki antimikrobiyal etkinlik, sıvı mikrodilüsyon, minimum bakterisidal konsantrasyon, öldürme kinetiği ve biyofilm duyarlılık testleriyle değerlendirilmiştir. Verilerin istatistiksel analizi SPSS (SPSS Statistics v23.0 for Windows, Chicago, IL, ABD) programı ile gerçekleştirilmiştir.

Bulgular: Çalışma sonucunda stevia özütünün antioksidan kapasitesi ile toplam fenolik ve flavonoid içeriği kivi özütüne kıyasla sırasıyla 6-17 kat daha fazla tespit edilmiştir. Sıvı mikrodilüsyon testinde stevia özütünün MİK ve MBK değerleri *S. mutans* üzerinde kivi özütüne kıyasla daha düşük bulunmuştur. *L. acidophilus* için özütler arasında anlamlı fark görülmemiştir. Öldürme kinetiği testi sonuçları koloni sayımı ile değerlendirildiğinde, kivi özütü, *S. mutans* üzerinde yüksek dozda 3 saat içinde bakterisidal etki gösterirken, düşük dozlarda bu etki izlenmemiştir. Stevia özütü, *S. mutans* üzerinde tüm dozlarda 24 saat içinde bakterisidal etki göstermiştir. Bu durum stevia özütünün kivi özütüne kıyasla daha potent bir antimikrobiyal olduğuna işaret etmektedir. Her iki özüt de *L. acidophilus* üzerinde çözücüsüne göre daha zayıf etkinlik göstermiştir. Öldürme kinetiği testinin sonuçlarının optik yoğunluk ile değerlendirilmesinin ise prosedürel hatalara yol açabildiği düşünülmektedir. Biyofilm duyarlılık testinde *S. mutans* üzerinde her iki özüt de etkili olmakla birlikte, stevia özütünün etkinliği daha yüksek bulunmuştur. *L. acidophilus* biyofilmine ise stevia özütü etki ederken, kivi özütünün etkinliği çözücüsüne göre daha zayıf olmuştur. Tüm testlerde hem *S. mutans* hem de *L. acidophilus* için klorheksidinin etkinliği bitki özütlerinin etkinliğinden daha yüksek izlenmiştir.

Sonuç: Çalışmamızın sonucunda, stevia özütünün *S. mutans* üzerinde belirgin antimikrobiyal etkinliği tespit edilmiş olup, koruyucu diş hekimliği açısından umut vadetmektedir. Kivi özütünün ise karyojenik mikroorganizmalar üzerindeki etkinliği zayıf izlenmiştir. Stevia ve kivi özütlerinin klinik kullanımda yer alması için daha kapsamlı çalışmalar gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: bitkisel özüt, kivi, stevia, diş çürüğü, antimikrobiyal duyarlılık testi

ABSTRACT

Objective: Dental caries is the most common chronic disease in childhood, and interest in natural methods in preventive dentistry is increasing. This study aims to evaluate the antimicrobial activity of kiwi and stevia extracts on cariogenic microorganisms.

Methods: Ethanolic extracts of kiwi and stevia were prepared, and their sugar, fat, and polyphenolic content were analyzed. Antimicrobial activity against *S. mutans* and *L. acidophilus* was assessed using broth microdilution, minimum bactericidal concentration, time-kill, and biofilm susceptibility studies. Statistical analysis was performed with SPSS software (SPSS Statistics v23.0 for Windows, Chicago, IL, USA).

Results: The antioxidant capacity and total phenolic and flavonoid content of stevia extract were found to be 6-17 times higher than those of kiwi extract relatively. In the broth microdilution test, the MIC and MBC values of stevia extract for *S. mutans* were lower than those of kiwi extract, indicating greater effectiveness. For *L. acidophilus*, no significant differences were observed between the extracts. Time-kill study results showed that at high doses, kiwi extract exhibited bactericidal activity against *S. mutans* within 3 hours, but this was not observed at lower doses. Stevia extract demonstrated bactericidal activity at all doses within 24 hours, suggesting it is a more potent antimicrobial agent than kiwi extract. Both extracts were less effective against *L. acidophilus* compared to their solvents. The evaluation of killing kinetics test results using optical density is thought to potentially lead to procedural errors. Biofilm susceptibility testing revealed that while both extracts were effective against *S. mutans*, stevia showed higher efficacy. Against *L. acidophilus* biofilms, only stevia extract was effective. Chlorhexidine outperformed both extracts in all tests.

Conclusion: Stevia extract demonstrated significant antimicrobial activity against *S. mutans* and shows potential in preventive dentistry. In contrast, the efficacy of kiwi extract against cariogenic microorganisms was limited. Further studies are needed to explore the clinical applications of plant extracts.

Key words: herbal extract, kiwi, stevia, dental caries, antimicrobial susceptibility test

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
TABLolar DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Diş Çürüğü	3
2.1.1. Mikroflora	5
2.1.2. Diyet	9
2.1.3. Konak	10
2.1.4. Tükürük	11
2.1.5. Florür Kullanımı	12
2.1.6. Koruyucu Ajanlar	13
2.2. Kivi	15
2.2.1. Kivi Meyvesinin Sağlık Üzerine Etkileri	15
2.2.2. Kivi Meyvesinin Antimikrobiyal Etkileri	16
2.3. Stevia	16
2.3.1. Stevia Bitkisinin Sağlık Üzerine Etkileri	17

2.3.2.	Stevia Bitkisinin Antimikrobiyal Etkileri	17
2.3.3.	Stevia Bitkisinin Ağız Sağlığına Etkileri	18
2.4.	Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri	18
2.4.1.	Sıvı Mikrodilüsyon Testi	18
2.4.2.	Minimum Bakterisidal Konsantrasyon Testi	19
2.4.3.	Öldürme Kinetiği Testi	19
2.4.4.	Biyofilm Duyarlılık Testi	19
2.5.	Bitkisel Özütlarin Eldesi ve İçerik Analizleri	21
2.5.1.	Liyofilizasyon	21
2.5.2.	Bitkisel Özüt Eldesi	21
2.5.3.	Suda Çözünür Kuru Madde ve Kırılma İndisi Tayini	21
2.5.4.	Antioksidan Aktivite Tayini	22
2.5.5.	Toplam Fenolik Madde Tayini	23
2.5.6.	Toplam Flavonoid Tayini	23
2.5.7.	Fenolik Bileşikler Tayini	23
2.5.8.	Şeker İçeriği ve Stevia Glikozit Tayini	23
2.5.9.	Toplam Yağ Miktarı ve Yağ Asitleri Tayini	24
3.	GEREÇ ve YÖNTEM	25
3.1.	Gereç	25
3.1.1.	Kivi ve Stevia Materyallerinin Toplanması	25
3.1.2.	Çalışmada Kullanılan Mikroorganizmalar	25

3.1.3. Çalışmada Kullanılan Besiyerleri	25
3.2. Yöntem	26
3.2.1. Bitkisel Özütlere İçerik Analizlerinin Yapılması	26
3.2.2. Bitkisel Özütlere Antimikrobiyal Etkinliğinin Değerlendirilmesi	34
3.3. Verilerin İstatistiksel Analizi	40
4. BULGULAR	41
4.1. Bitkisel Özütlere İçerik Analizi Sonuçları	41
4.1.1. Kivi Meyve Sertliği	41
4.1.2. Kivi Meyve Suyunda Suda Çözünür Kuru Madde ve Kırılma İndisi Tayini	41
4.1.3. Kivi Çekirdeğinde Toplam Yağ Miktarı ve Yağ Asitleri Tayini	41
4.1.4. Kuru Madde Tayini	41
4.1.5. Özütlere Suda Çözünür Kuru Madde ve Kırılma İndisi Tayini	42
4.1.6. Antioksidan Aktivite Tayini	42
4.1.7. Toplam Fenolik ve Flavonoid Madde Tayini	42
4.1.8. Fenolik Bileşikler Tayini	43
4.1.9. Şeker İçeriği ve Stevia Glikozit Tayini	44
4.2. Antimikrobiyal Etkinlik Test Sonuçları	44
4.2.1. Sıvı Mikrodilüsyon Testi	44
4.2.2. Minimum Bakterisidal Konsantrasyon (MBK) Testi	45
4.2.3. Öldürme Kinetiği Testi	46
4.2.4. Biyofilm Duyarlılık Testi	60

5. TARTIŞMA	71
6. SONUÇ ve ÖNERİLER	91
KAYNAKLAR	93
ÖZGEÇMİŞ	106



SİMGELER VE KISALTMALAR

%	Yüzde
<	Küçüktür
>	Büyüktür
°C	Santigrat derece
µg	Mikrogram
µL	Mikrolitre
µM	Mikromolar
ATCC	American Type Culture Collection
atm	Atmosfer
BHI	Brain Heart Infusion
dL	Desilitre
DPPH	2,2-difenil-1-pikril-hidrazil
EC50	Yarı Maksimal Etkili Konsantrasyon
FRAP	Demir İyonu İndirgeyici Antioksidan Güç (Ferric Reducing Ability of Plasma
GC-MS/FID	Gaz Kromatografi-Kütle Spektrometri/Alev İyonlaştırma Detektörü (Gas Chromatography- Mass Spectrometry/Flame Ionization Detection)
HPLC	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (High Performance Liquid Chromatography)
kg	kilogram
KOB	Koloni Oluşturan Birim

L. acidophilus

Lactobacillus acidophilus

LC-MS-MS

Sıvı Kromatografi-Ardışık Kütle Spektrometrisi
(Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry)

MBK

Minimum Bakterisidal Konsantrasyon

mg

Miligram

mg CE/L

Kateşin Eşdeğeri Miligram/Litre

mg GAE/L

Gallik Asit Eşdeğeri Miligram/Litre

MIK

Minimum İnhibitör Konsantrasyon

mL

Mililitre

mM

Milimolar

mmol TE/L

Tokoferol Eşdeğeri Milimol/Litre

MRS

DeMan-Rogosa-Sharpe

N

Newton

nm

Nanometre

OD

Optik Yoğunluk

OD₄₉₀

490 nm’de Ölçülen Optik Yoğunluk

OD₅₇₀

570 nm’de Ölçülen Optik Yoğunluk

OD_E

Optik Yoğunluk Eşik Değeri

pH

Hidrojen Gücü (Power of Hydrogen)

rpm

Dakikada Devir Sayısı (Revolution per Minute)

S. mutans

Streptococcus mutans

SÇKM

Suda Çözünür Kuru Madde

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1	Diş çürüğü oluşumuna etki eden ana faktörler	4
Şekil 2.2	Diş çürüğünün başlaması için gerekli faktörlerin şematik gösterimi	4
Şekil 2.3	Fenolik içeriklerin sınıflandırılması	14
Şekil 3.1	Çalışmada kullanılan kivi ve stevia bitkileri	25
Şekil 3.1	SKÇM ve kırılma indisi tayininde kullanılan refraktometre cihazı	26
Şekil 3.2	Kivi çekirdeklerinin yağ asitleri tayini, A) Kivi çekirdeklerinin meyveden ayrılması, B) Kurutulmuş kivi çekirdekleri, C) Soxhlet cihazı ve kivi çekirdeklerinin ekstraksiyonu	27
Şekil 3.3	Liyofilizasyon işlemi, A) Liyofilizatör, B) Liyofilize kivi örnekleri	28
Şekil 3.4	Öğütülmüş ve partikül çapı ayarlanmış kivi ve stevia örnekleri	28
Şekil 3.5	Desikatörde toz kivi ve toz stevia örnekleri	29
Şekil 3.6	Bitkisel özütler, A) Santrifüj işlemi sonrası kivi özütü, B) Stevia özütü	30
Şekil 3.7	DPPH analizi, A) Stevia özütü DPPH çözeltisi eklendikten sonra, B) Stevia özütü DPPH çözeltisi ile 15 dakika bekletildikten sonra, C) Kivi özütü DPPH çözeltisi eklendikten sonra, D) Kivi özütü DPPH çözeltisi ile 15 dakika bekletildikten sonra	31
Şekil 3.8	FRAP analizi sonrası kivi ve stevia örnekleri	31
Şekil 3.9	Toplam fenolik madde analizi sonucu kivi ve stevia örnekleri	32
Şekil 3.10	Toplam fenolik madde analizi sonucu kivi ve stevia örnekleri	33
Şekil 3.11	Sıvı mikrodilüsyon yönteminde kullanılan 96 kuyucuklu mikrolakalar, A) <i>L. acidophilus</i> , B) <i>S. mutans</i>	35
Şekil 3.12	MBK testinde <i>S. mutans</i> üremesinin takip edilmesi	36
Şekil 3.13	MBK testinde <i>L. acidophilus</i> üremesinin takip edilmesi	37

Şekil 3.14 Öldürme kinetiği testi sonuçlarının koloni sayımı yapılarak değerlendirilmesi, A) <i>S. mutans</i> , B) <i>L. acidophilus</i>	37
Şekil 3.15 Öldürme kinetiği testinde kullanılan materyaller, A) 96 kuyucuklu mikrolaka tasarımı, B) ELISA mikrolaka okuyucu	38
Şekil 3.16 Biyofilm duyarlılık testinde kullanılan 96 kuyucuklu mikrolakalar, A) Oluşan <i>S. mutans</i> biyofilmi, B) <i>S. mutans</i> biyofilminin boyama işlemi sonrası görüntüsü C) Oluşan <i>L. acidophilus</i> biyofilmi, B) <i>L. acidophilus</i> biyofilminin boyama işlemi sonrası görüntüsü	39
Şekil 4.1 Kivi özütü için logaritmik koloni sayımı sonuçları (<i>S. mutans</i>)	47
Şekil 4.2 Kivi çözücüsü için logaritmik koloni sayımı sonuçları (<i>S. mutans</i>)	47
Şekil 4.3 Stevia özütü için logaritmik koloni sayımı sonuçları (<i>S. mutans</i>)	48
Şekil 4.4 Stevia çözücüsü için logartimik koloni sayımı sonuçları (<i>S. mutans</i>)	48
Şekil 4.5 Klorheksidin için logartimik koloni sayımı sonuçları (<i>S. mutans</i>)	49
Şekil 4.6 Kivi özütü için logaritmik koloni sayımı sonuçları (<i>L. acidophilus</i>)	49
Şekil 4.7 Kivi çözücüsü için logaritmik koloni sayımı sonuçları (<i>L. acidophilus</i>)	51
Şekil 4.8 Stevia özütü için logaritmik koloni sayımı sonuçları (<i>L. acidophilus</i>)	51
Şekil 4.9 Stevia çözücüsü için logaritmik koloni sayımı sonuçları (<i>L. acidophilus</i>)	52
Şekil 4.10 Klorheksidin için logaritmik koloni sayımı sonuçları (<i>L. acidophilus</i>)	52
Şekil 4.11 Kivi özütü için OD ₄₉₀ sonuçları (<i>S. mutans</i>)	55
Şekil 4. 12 Kivi çözücü için OD ₄₉₀ sonuçları (<i>S. mutans</i>)	55
Şekil 4.13 Stevia özütü için OD ₄₉₀ sonuçları (<i>S. mutans</i>)	56
Şekil 4.14 Stevia çözücü için OD ₄₉₀ sonuçları (<i>S. mutans</i>)	56
Şekil 4.15 Klorheksidin için OD ₄₉₀ sonuçları (<i>S. mutans</i>)	57

Şekil 4.16 Kivi özütü için OD ₄₉₀ sonuçları (<i>L. acidophilus</i>)	57
Şekil 4.17 Kivi çözücü için OD ₄₉₀ sonuçları (<i>L. acidophilus</i>)	58
Şekil 4.18 Stevia özütü için OD ₄₉₀ sonuçları (<i>L. acidophilus</i>)	58
Şekil 4.19 Stevia çözücü için OD ₄₉₀ sonuçları (<i>L. acidophilus</i>)	59
Şekil 4.20 Klorheksidin için OD ₄₉₀ sonuçları (<i>L. acidophilus</i>)	59



TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 3.1 Oluşan biyofilmlerin sınıflandırılması	39
Tablo 4.1 Kivi meyve suyunda SÇKM/Briks ve Kırılma İndisi tayini	41
Tablo 4.2 Kivi çekirdeği yağ asitleri tayini	41
Tablo 4.3 Kivi özütünde SÇKM/Briks ve Kırılma İndisi tayini	42
Tablo 4.4 Stevia özütünde SÇKM/Briks ve Kırılma İndisi Tayini	42
Tablo 4.5 Kivi ve stevia özütleri antioksidan aktivite tayini	42
Tablo 4.6 Kivi ve stevia özütlerinin toplam fenolik ve flavonoid madde tayini	43
Tablo 4.7 Kivi ve stevia özütlerinin fenolik bileşikler tayini	43
Tablo 4.8 Kivi özütü şeker içeriği tayini	44
Tablo 4.9 Stevia özütü stevia glikozit içeriği tayini	44
Tablo 4.10 MİK değerleri tablosu (% v/v)	45
Tablo 4.11 MBK değerleri tablosu (% v/v)	45
Tablo 4.12 S. mutans için öldürme kinetiği testi koloni sayısı-zaman ilişkisi	46
Tablo 4.13 L. acidophilus için öldürme kinetiği testi koloni sayısı-zaman ilişkisi	50
Tablo 4.14 S. mutans için öldürme kinetiği testi optik yoğunluk-zaman ilişkisi	53
Tablo 4.15 L. acidophilus için öldürme kinetiği testi optik yoğunluk-zaman ilişkisi	54
Tablo 4.16 Oluşan biyofilmlerin sınıflandırılması	60
Tablo 4.17 Biyofilm duyarlılık testi klorheksidin grubu istatistiksel değerlendirilmesi (S. mutans)	60

Tablo 4.18 Biyofilm duyarlılık testi kivi özütü grubu istatistiksel değerlendirilmesi (<i>S. mutans</i>)	63
Tablo 4.19 Biyofilm duyarlılık testi stevia özütü grubu istatistiksel değerlendirilmesi (<i>S. mutans</i>)	65
Tablo 4.20 Biyofilm duyarlılık testi klorheksidin grubu istatistiksel değerlendirilmesi (<i>L. acidophilus</i>)	67
Tablo 4.21 Biyofilm duyarlılık testi kivi özütü grubu istatistiksel değerlendirilmesi (<i>L. acidophilus</i>)	69
Tablo 4.22 Biyofilm duyarlılık testi stevia özütü grubu istatistiksel değerlendirilmesi (<i>L. acidophilus</i>)	70

1. GİRİŞ

Diş çürüğü, patojen mikroorganizmaların demineralize edici etkisiyle diş sert dokusunda harabiyete yol açan enfeksiyöz bir hastalıktır. Diş yüzeyindeki mineral dengesinin bozulması sonucu oluşan diş çürüğü, önlenabilir bir hastalıktır.

Diş çürüğü oluşumunu etkileyen temel faktörler, çürük yapıcı bakteriler, çürük oluşan diş yapısının özellikleri ve diyetle alınan fermente olabilen karbonhidratlardır. Tükürüğün özellikleri, florüre maruz kalma, antibakteriyel ajanların kullanımı, ağız içi hijyen idamesi gibi faktörler de çürük oluşum sürecinde etkilidir.

Diş çürüğü oluşumunda birçok mikroorganizma rol oynar. Bu mikroorganizmaların ortak özelliği diyetteki karbonhidratları fermente edebilme, asit üretebilme ve asidik ortamda hayatta kalabilme yetenekleridir. Bu bağlamda çürük çalışmalarında sıklıkla değerlendirilen mikroorganizmaların başında mutans streptokokları ve laktobasil türleri gelmektedir.

Diş çürüğünün oluşumunun önlenmesinde farklı stratejiler uygulanabilir. Bu yöntemlerin başında diş fırçalama gelmektedir. Fırçalamaya ek olarak çürük oluşumunu kimyasal olarak önlemeyi amaçlayan macun ve ağız çalkalama sularının içeriğinde florür ve klorheksidin gibi kimyasal içerikler kullanılmaktadır. Ancak bu kimyasalların olası yan etkileri, bitkisel içeriklere olan rağbeti her geçen gün artırmaktadır.

Kivi meyvesi, antimikrobiyal etkileri başta olmak üzere antioksidan ve antiinflamatuvar özellikler gibi pek çok biyolojik aktivite göstermektedir.⁽¹⁾ Araştırmalar, çeşitli mikroorganizmalar üzerinde kivi meyve özütlerinin antimikrobiyal etkinliğini kanıtlamıştır. Ancak, erişilebilir kaynaklardan yapılan literatür taramasında, diş çürüğü oluşumunda ve ilerlemesinde başlıca rol oynayan *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) ve *Lactobacillus acidophilus* (*L. acidophilus*) üzerine antimikrobiyal etkinliğinin ve dolayısıyla antikaryojenik etkisinin incelenmesine yönelik bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Benzer şekilde, şeker ikamesi olarak kullanılan stevia bitkisinin, içeriğindeki fenolik bileşikler sayesinde, başta antimikrobiyal özelliği olmak üzere birçok biyolojik etkinliği bulunmaktadır.⁽²⁾ Geçmiş çalışmalar ağız patojenleri de dahil olmak üzere pek

çok mikroorganizma üzerinde stevia bitkisinden elde edilen özütlerin antimikrobiyal etkinliğini ortaya koymuştur. Bununla birlikte, erişilebilir kaynaklardan ulaşılan çalışmalarda stevia özütünün karyojenik mikroorganizmalar üzerindeki etkinliğin incelendiği çalışmaların sayısı oldukça yetersiz olmasının yanı sıra, çalışmaların yöntem ve bulguları da örtüşmemektedir.

Çalışmamızın amacı, kivi ve stevia özütlerinin, çürük yapıcı mikroorganizmalardan *S. mutans* ve *L. acidophilus* üzerindeki antimikrobiyal etkinliğinin çeşitli antimikrobiyal duyarlılık testleriyle incelenmesi ve çürük oluşumunu önlemedeki etkisinin değerlendirilmesidir.



2. GENEL BİLGİLER

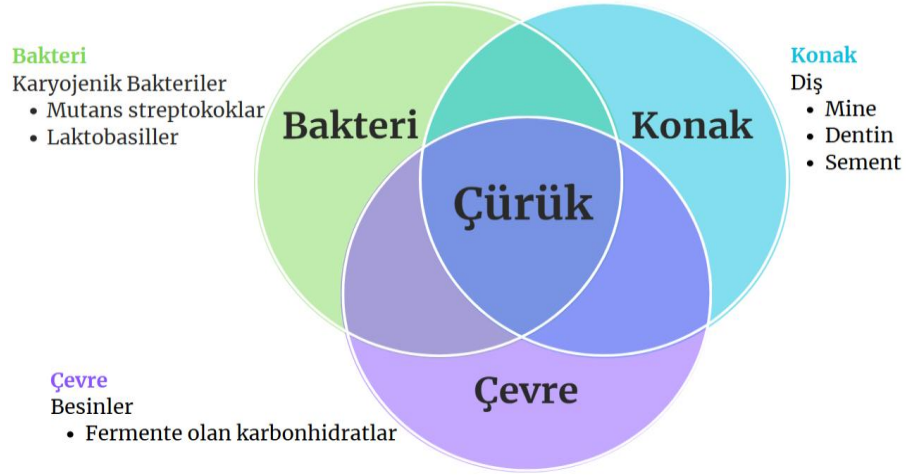
2.1. Diş Çürüğü

Diş çürüğü, ağız içindeki mikroorganizmaların diş sert yapısının yıkımına yol açtığı enfeksiyöz bir hastalık olup, karyojenik mikroorganizmaların demineralize edici etkisi ile tükürük ve terapötik ajanların remineralize edici etkisi arasında, demineralizasyon lehine gelişen dengesizlik sonucu, diş sert dokularının kaybı olarak tanımlanabilir.

Diş çürüğü, çocukluk çağıının en sık görülen kronik hastalığı olup, astımdan 5 kat, saman nezlesinden 7 kat fazla görülmektedir.⁽³⁾ Ülkemizde 2018’de yapılan Türkiye Ağız ve Diş Sağlığı Profili Araştırması (TADSAP-2018) sonucunda, beş yaş grubu çocukların yaklaşık üçte birinde, on iki ve on beş yaş grubu çocukların ise yarısında en az bir çürük diş mevcut olduğu tespit edilmiştir.⁽⁴⁾

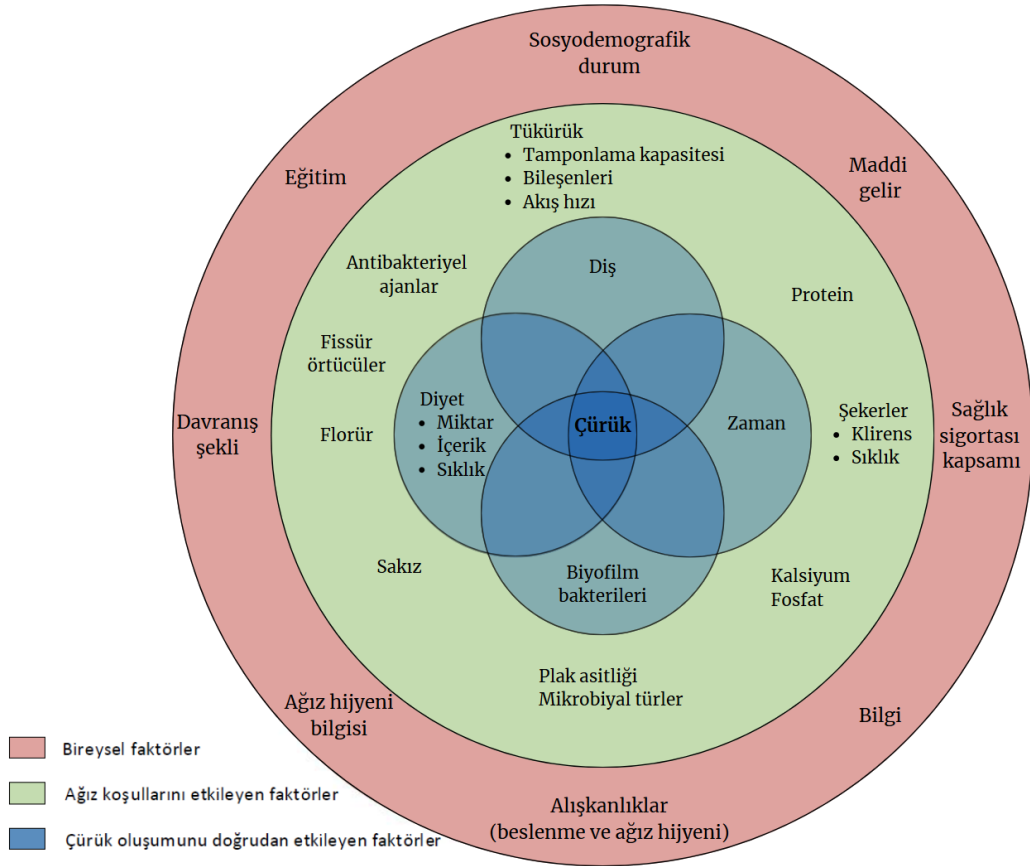
Diş çürüğünün oluşum mekanizması kısaca şöyle açıklanabilir: Diş yüzeyindeki plaktaki bazı bakteriler asidojeniktir, yani fermente edilebilir karbonhidratları metabolize ederken asit üretirler. Bu asitler, diş minesindeki veya dentinindeki kalsiyum ve fosfat minerallerini çözerek demineralizasyona sebep olabilir. Bu süreç, mineralin tükürük yoluyla yeniden birikerek remineralizasyon sağlaması ile durdurulmazsa veya tersine çevrilmezse, sonunda diş yüzeyinde madde kaybı meydana gelir.⁽⁵⁾

Diş çürüğü oluşumundaki ana etken faktörler Şekil 1’de gösterilmiş olup, mikroflora (diş plağındaki karyojenik bakteriler), diyet (fermente olabilen karbonhidratlar) ve konak (mevcut diş yapısı) olarak sıralanabilir. Fermente edilebilir karbonhidratların sık tüketilmesi sonucunda dental biyofilmde düşük karyojeniteye sahip dengeli bir mikroorganizma popülasyonundan, yüksek karyojeniteye sahip bir floraya doğru bir değişim oluşur. Mevcut floranın asidojenik ve asidofilik olması sebebiyle zayıf organik asitlerin üretimi artmaktadır. Asitler plaktan geçerek pöröz yüzey altı minesine ya da açıktaysa dentine yayılır ve ilerledikçe hidrojen iyonları üretmek üzere ayrışır. Hidrojen iyonları ve pH kritik düzeye ulaştığında diş yapısındaki hidroksiapatit mineralleri kolayca çözünür, kalsiyum ve fosfatı çözelti halinde serbest bırakır ve bu da diştten dışarı yayılabilir. Diş yapısındaki bu mineral kaybı zaman içerisinde makroskopik kayıplara yani kavitasyonlara yol açar.^(5,6)



Şekil 2.1 Diş çürüğü oluşumuna etki eden ana faktörler⁽⁷⁾

Bu ana faktörlere ek olarak tükürük akışı ve bileşimi, florüre maruz kalma, diyetle şeker tüketimi, plak birikimi, antibakteriyel ajanların kullanımı ve ağız içi hijyenin idamesi gibi Şekil 2’de belirtilen birçok faktör de diş çürüğünün oluşumunda etkili olmaktadır.⁽⁸⁾



Şekil 2.2 Diş çürüğünün başlaması için gerekli faktörlerin şematik gösterimi⁽⁸⁾

2.1.1. Mikroflora

Çürük lezyonları, diş yüzeyine yapışık olan ve diş plağı adı verilen yoğun bakteri kitlelerinin altında gelişir. Diş plağı, dişin temizlenmesinin hemen ardından tükürük glikoproteinlerinin diş yüzeyinde oluşturduğu pelikül tabakasına bakterilerin tutunması ile oluşur. Plağın oluşumunun erken evresindeki bakteriyel popülasyon, organizmaların adezyon yeteneğine bağlı olmakla birlikte, daha sonraki gelişim aşamalarında mikroorganizma bileşenlerinin değişimi, kolonizasyon yetenekleri ve çevresel koşullar etkilidir. Plak birikiminde bakteriyel ekstraselüler polisakkaritler, tükürük bileşenleri ve organizmaların doğrudan birbirine bağlanması rol oynar.⁽⁹⁾

Biyofilm, bir yüzeye bağlanmış, polimerik matriks içerisinde tutunmuş mikroorganizma topluluklarıdır. Diş plağını oluşturan biyofilm, çürük oluşumunu belirleyen bazı aşamalardan geçer. Temiz diş yüzeyinde oluşan pelikül üzerine tutunan *Streptococcus gordonii*, *Streptococcus sanguis* gibi öncü türleri takiben *Streptococcus oralis* ve *Veillonella* türleri gibi erken kolonizatörler diş yüzeyine yerleşir. Bu türlerin yerleşmesi anaerobik ortam oluşturmalarıyla ikincil kolonizasyona temel oluşturur. *S. mutans*, *Lactobacillus* sp., *Bifidobacterium* ve *Scardovia* türleri gibi mikroorganizmaların diş yüzeyine yerleşmesiyle biyofilm karmaşık bir yapıya kavuşur; mikroorganizmalar, ekstraselüler polisakkaritler ve biyopolimerlerle korunan bu yapı hem besin transferini kolaylaştırır hem de mikroorganizmaların çevresel streslere karşı dayanıklılığını artırır. Ayrıca ikincil kolonizasyondan sorumlu bakteriler plak asitliğini artırarak demineralizasyon sürecini başlatır. Biyofilmin olgunlaşması ile *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis*, *Trepanoma denticola*, *Candida albicans* gibi türler de plak yapısına dahil olmaktadır.⁽¹⁰⁾

Ağız boşluğunda, yaklaşık 700 bakteri ve 100'den fazla mantar türü yer almaktadır. Diş plağı, bu bakteri ve mantar türlerinden pek çoğunu içermektedir. Bu çeşitliliğe rağmen "mikrobiyal kompleksler" kavramı, biyofilm kolonizasyonunda bir kayma yaşandığında hastalık oluşacağı fikri öne sürülmüştür.⁽¹¹⁾ Mikrobiyal etkenlerin diş çürüğü ile ilişkisini inceleyen çeşitli hipotezler mevcuttur.⁽¹⁰⁾

Miller'in 1890'da öne sürdüğü "Geleneksel Özgül Olmayan Plak Hipotezi", çürük etiolojisinin diş plağı miktarıyla belirlendiği öne sürülmüştür. Bu teoriye göre dişe tutunan plak kalınlaştıkça çürük yapıcı etkisi artmaktadır, temiz bir dişte çürük oluşmaz.⁽¹²⁾

Mikroskoplar ve mikroorganizma yetiştirme tekniklerindeki gelişmelerle birlikte, belirli bakteri türlerinin, özellikle de *S. mutans* ve *Lactobacillus sp.* grubu mikroorganizmaların türlerinin sıklıkla çürüğün başlatılmasıyla ilişkili olduğu bulunmuştur ve bu türler karyojenik olarak nitelendirilmiştir. Loesche ve ark.⁽¹³⁾, 1976'da diş çürüklerinden *S. mutans* ve laktobasil türleri gibi diş plağında bulunan spesifik karyojenik bakterilerin sorumlu olduğunu belirterek “Özgül Plak Hipotezi”ni öne sürmüştür. Ancak “Özgül Plak Hipotezi” bazı çürük bölgelerinde *S. mutans*'ın bulunmadığı gerçeğini açıklayamamaktadır. Ayrıca *S. mutans*'ın sağlam diş yüzeylerinde sürekli olarak tespit edilmesi, bu türün varlığının çürük başlatmak için ne yeterli ne de gerekli olduğunu göstermektedir.⁽¹⁴⁾

Marsh⁽¹⁵⁾, çürükten izole edilen diğer bakteri türleriyle birlikte 1994 yılında “Ekolojik Plak Hipotezi”ni öne sürmüştür. Bu hipotezde, çürüğün; bazı patojen türlerin, sağlıklı ilişkili mikroorganizmalardan sayıca fazla olduğu ve ekolojik stres altında mikrobiyal homeostazın bozulduğu koşullarda geliştiği fikri öne sürülmektedir. Ekolojik plak hipotezi, çevre ile bakteriler arasındaki etkileşimin kritik rolünü vurgulamaktadır.

Takahashi ve Nyvad⁽¹⁶⁾ 2008 yılında, plak mikroorganizmalarının metabolizmasını da dahil ederek “Ekolojik Plak Hipotezi”ni daha da genişletmiştir. Bu genişletilmiş versiyonda, asit üretimi bazı metabolitlerin tamponlama kapasitesinden ağır bastığında nötr mikro ortamın asidik bir duruma doğru eğildiği ve ardından mikroflora içinde asit kaynaklı seçim ve adaptasyonun takip ettiği belirtilmektedir. Bu süreç sağlıklı bir mikrobiyal topluluğun stabilitesini bozar ve diş çürüklerine yol açar.⁽¹⁷⁾

“Kilit taşı patojen hipotezi” ise, bazı mikrobiyal patojenlerin az miktarda varlığının bile, iyi huylu bir mikrobiyatayı disbiyotik hale getirerek hastalığa sebep olabileceğini öne sürmektedir.⁽¹⁸⁾ Çürük oluşumundaki mikrobiyal etkileşimleri inceleyen Shao ve ark.⁽¹⁹⁾, *S. mutans*, *Scardovia wiggsiae* ve *Propionibacterium acidifaciens* gibi mikroorganizmaların çürük başlangıcından sorumlu kilit taşı patojenler olabileceğini belirtmiştir.

Streptococcus mutans

Streptokoklar katalaz negatif, Gram pozitif, fakültatif anaerop, küresel veya oval koklardır ve çiftler ve zincirler halindedir; çapları 0,7–0,9 µm'dir. Streptokoklar yerleşik oral mikrobiyotanın büyük bir kısmını oluşturur. Supragingival ve gingival

plaktan elde edilen toplam floranın yaklaşık dördte birinin ve tükürükten elde edilen izolatların yarısının streptokok olduğu bilinmektedir.⁽²⁰⁾ Oral streptokoklar değişken özelliklere sahip bir grup olup, özellikle moleküler biyolojiye dayalı olan yeni tiplendirme teknikleri ile grubun kökeni ve sınıflandırmasına dair karışık yapı ortaya konmuştur. Bu sebeple grubun isimlendirmesi sürekli olarak değişmektedir. Oral streptokoklar, mutans grubu, salivarius grubu, anginosus grubu ve mitis grubu olmak üzere dört ana tür grubuna ayrılmaktadır.⁽²⁰⁾

Mutans grubu streptokoklar, adını mikroorganizmanın sık sık kokoid fazdan kokobasiler faza geçmesi nedeniyle, streptokok cinsinin mutasyona uğramış bir türü olduğu düşüncesinden almıştır. Şu anda, hücre duvarı karbonhidratlarının antijenik özgüllüğüne dayanarak yedi farklı insan ve hayvan mutans streptokok türü ve sekiz serotipi (a-h) tanınmaktadır. *S. mutans* terimi, üç serotipe (c, e ve f) ait insan izolatlarıyla sınırlıdır.⁽²⁰⁾

S. mutans'ın çürük oluşumunda rol aldığını düşündüren çeşitli kanıtlar bulunmaktadır. Bunlar arasında tükürük ve plaktaki mutans streptokok sayılarının çürük yaygınlığı ve insidansı ile korelasyonları, mutans streptokokların genellikle çürük oluşumundan hemen önce diş yüzeyinden izole edilebilmesi, çürük lezyonlarının ilerlemesi ile *S. mutans* sayıları arasında pozitif korelasyon bulunması ve hayvanların belirli *S. mutans* serotipleriyle aşılması sonucu çürük insidansının önemli ölçüde azalması sayılabilir.⁽²⁰⁾ Bununla birlikte, diş çürüğü klasik enfeksiyöz hastalığın özelliklerini taşımaz. Bir mikrobiyolojik ajanın hastalık etiolojisinden sorumlu tutulması için Koch ilkelerini karşılaması gerekir: hastalığın tüm vakalarında gözlenen lezyona karşılık gelen bir dağılımda bulunması, mikroorganizmanın lezyondan izole edilip saf kültür olarak laboratuvarında büyütülmesi, saf alt kültürün sağlıklı organizmada aynı hastalığı oluşturmaları. Bundan yola çıkarak mutans streptokoklar ve çürük arasında mutlak bir ilişkiden ziyade, mutans streptokokların sayıca artması homeostazın bozulması sonucu diş çürüğünün oluştuğu düşünülmüştür.⁽²¹⁾

S. mutans'ın karyojenik potansiyeli 3 ana özelliğe dayanmaktadır: Diyetteki şükrozdaki çok sayıda ekstraselüler polisakkarit sentezlenmesi nedeniyle sert yüzeylerde kalıcı kolonizasyon sağlaması, çok sayıda karbonhidratı organik asitlere metabolize etme yeteneği (asidojenite) ve düşük pH'ta hayatta kalma yeteneği. (asidüresite). Bu özellikleri sayesinde diğer asidojenik ve asidürik bakterilerin de lehine bir ortam

yaratmaktadır. *S. mutans*, hücre duvarında glukozil transferaz salgılar; bu enzim, bakterilerin sakarozdan glukon gibi polisakkaritlerin üretilmesine olanak tanır. Bu polisakkaritler, bakterilerin birbirleriyle bir araya gelerek biyofilm oluşturmak üzere diş minesine yapışmasından sorumludur. *S. mutans*'ın başlıca virülans faktörlerinden biri, mutasinler olarak adlandırılan bakteriyosinlerin (peptit antibiyotikler) üretimidir ki bu bakteriyosin üretimi aynı zamanda biyofilm oluşumuyla da ilişkilidir. *S. mutans* ayrıca çevresel stres tepkilerini düzenlemek için kullandıkları “quorum sensing” olarak bilinen hücre yoğunluğuna bağlı bir şekilde çeşitli fizyolojik süreçleri de düzenler.⁽²²⁾

Lactobacillus acidophilus

Laktobasiller anaerobik ya da mikroaerobik, Gram pozitif, sporsuz ve kapsülsüz basillerdir. Laktobasil türleri insan gastrointestinal ve genitoürinal sistemlerinde ve ağız boşluğunda normal floranın bir parçası olarak bulunurlar. Güncel taksonomik sınıflandırmalara göre, laktobasiller 44 tür ve 7 alt tür içeren karmaşık bir yapıya sahiptir. Ağız boşluğunda yaygın olarak *L. acidophilus*, *Lactobacillus salivarius*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus brevis* ve *Lactobacillus casei* türleri bulunur.⁽²³⁾

Laktobasil türlerinin ana karakteristik özelliği, glikoz metabolizmasının bir yan ürünü olarak laktik asit üretme yetenekleridir. Laktobasil türlerinin esasen patojenik olmadığı düşünülse de çürüksüz çocuklarda bulunmazlar. Çürük başlatıcısı olmamakla birlikte çürüğün ilerlemesine önemli bir katkıda bulunurlar. Laktobasiller, ağız florasının ikinci yaygın karyojenik bakterisi olarak kabul edilir. Laktobasillerin iki karyojenik özelliği adezyon ve asit üretimidir. Laktobasil türleri tarafından üretilen ekzopolisakkarit, biyofilm oluşumunda anahtar faktördür. Laktobasiller, çürük lezyonunda çok sayıda bulunması ve asidojenik ve asidürik özelliklerinden dolayı çürüğün ilerlemesindeki ana organizmadır. Mükemmel asit toleranslı bakterilerdir ve pH 4,5'in altında hayatta kalabilirler. Diş plağına bağlanarak diş minesinde materyal kaybına yol açarlar.⁽²²⁾

L. acidophilus, Gram-pozitif, düzenli şekilli bakterilerdir. Homofermentatif, yani glikozun fermentasyonu sonucu yalnızca laktik asit üreten bir mikroorganizmadır. İnsanların ve hayvanların gastrointestinal kanalı, ağız boşluğu ve vajinal florasında bulunurlar. Ağızda en çok kolonize oldukları bölge diş plağıdır. Salya, dil veya diş eti

yarıklarında nadir bulunurlar. Derin çürük materyallerinde sıklıkla bulunduğundan, diş çürüğü gelişimiyle ilişkili olduklarına inanılmaktadır.⁽²³⁾ Derin dentin çürüğü materyalinde bulunması, diyetteki karbonhidrat miktarının artışıyla ağız florasında daha çok tespit edilmesi ve bulunduğu ortamın pH'ını düşürme özelliği; *L. acidophilus*'un çürük oluşumunda etken bir mikroorganizma olduğunu düşündürmüştür.⁽²⁴⁾ Çeşitli çalışmalar, aktif çürük lezyonu olan çocuklardan alınan tükürük, plak ve diş çürüğü örneklerinde, aktif çürük lezyonlarından alınmayan örneklerle kıyasla belirgin düzeyde fazla *L. acidophilus* tespit etmiştir.⁽²⁵⁻²⁷⁾

2.1.2. Diyet

Diyet ve beslenme ile ağız sağlığı ve hastalıkları arasındaki ilişki karşılıklı olarak birbirini etkilemektedir. Diyetin ağız sağlığı üzerinde, özellikle dişlerin bütünlüğü, pH ve tükürük ile plağın bileşimi üzerinde lokal bir etkisi vardır. Bununla birlikte, beslenmenin dişler, periodonsiyum (dişlerin destek yapısı), ağız mukozası ve alveol kemiği dahil olmak üzere ağız boşluğunun bütünlüğü üzerinde sistemik bir etkisi bulunmaktadır. Buna ek olarak besin alımındaki değişiklikler; dişlerin, çevre dokuların ve kemiğin bütünlüğünü ve ayrıca yara iyileşmesine verilen yanıtı etkileyebilir.⁽²⁸⁾

Diyet, plak bakterileri tarafından asitlere metabolize edilen şekerleri ve diğer fermente edilebilir karbonhidratları sağlar. Ortaya çıkan düşük pH, asidojenik ve asidürik bakterilerin (mutans streptokoklar) büyümesini kolaylaştırır. Buna karşılık, ilave şekerler ve fermente edilebilir karbonhidratlar açısından düşük; kalsiyum, fosfat ve protein açısından zengin bir diyet, remineralizasyonu destekleyebilir. Sükroz, dişlerin mutans streptokoklar tarafından kolonizasyonunu ve bunların büyümesini kolaylaştırır.⁽²⁸⁾

Diyetin karyojenik, karyostatik ve antikaryojenik özelliklerinin belirlenmesinde göz önünde bulundurulması gereken temel unsurlar; gıdanın formu, şeker tüketim sıklığı ve diğer fermente edilebilir karbonhidratlar, retansiyon süresi, besin bileşimi, gıdanın tükürüğü uyarma potansiyeli ve gıda kombinasyonlarıdır.⁽²⁸⁾

İçeceklerde bulunan sıvı şekerler, sınırlı temas süresi veya diş yüzeylerine yapışma ile ağız boşluğundan oldukça hızlı bir şekilde geçer. Ancak sıvı alım şekli ve sıklığı içeceklerin çürük riskini etkileyebilir. Şeker içeren içeceklerin uzun süre ağızda tutulması veya şekerli içeceğin sürekli yudumlanması çürük riskini artırır. Sert

şekerlemeler, nane şekerleri ve lolipoplar gibi tüketilmesi uzun süren şeker kaynakları, şekerlerin tüketim sırasında yavaş yavaş salınması nedeniyle ağız boşluğunda maruz kalma süresini uzatır.⁽²⁹⁾

Peynirler, içerikleri kalsiyum, fosfat ve protein bakımından yüksek olduğunda remineralizasyonu destekleyebilir. Kakao, kahve, çay ve birçok meyve suyundaki tanenler gibi polifenoller, gıdaların karyojenik potansiyelini azaltabilir. İn vitro deneyler, bu polifenolik bileşiklerin, mutans streptokokların glukoziltransferaz aktivitesine müdahale edebildiğini ve bunun da plak oluşumunu azaltabileceğini göstermiştir.⁽³⁰⁾ Şekersiz sakızlar tükürüğü uyarabilir, şekerlerin ve diğer fermente edilebilir karbonhidratların dişlerden ve ağız boşluğundan temizlenmesini artırabilir ve tükürüğün tamponlama kapasitesini iyileştirebilir. Diş dostu polioller arasında sorbitol, ksilitol, mannitol, eritritol ve izomalt yer alır.⁽²⁸⁾

2.1.3. Konak

Dişlerin anatomik özellikleri ve çene kavsindeki konumları çürük riski üzerinde rol oynayabilir. Hipoplaziler, sürme öncesi ve sonrası flor maruziyeti, diş morfolojisi, çene kavsinin şekli, oklüzyon, diş konumu, apareyler ve restorasyonlar gibi pek çok faktör, dişin asitlere karşı duyarlılığını ya da birikecek biyofilm kalınlığını artırarak çürük oluşumuna zemin hazırlayabilir.⁽³¹⁾

Pek çok hastanın özellikle kalıcı dişleri, sürdükten hemen sonra diş çürüklerine karşı savunmasız görünmektedir ve aktif çürük gözlenen ağızlarda, ağız boşluğuna sürmeleriyle neredeyse aynı zamana denk gelen çürük atakları gözlenebilir. Dişlerin sürme anında mine kalsifikasyonu tamamlanmadığından ve kalsifikasyon sürecinin tükürük ile temas ederek tamamlanması için yaklaşık 2 yıllık ek bir süreye ihtiyaç duyulduğundan, dişler özellikle sürmeden sonraki ilk 2 yıl içerisinde çürük oluşumuna karşı hassastır.⁽²⁹⁾

Daimi azı dişleri çoğunlukla tamamen birleşmemiş pit ve fissürlere sahiptir; bu, diş plağının fissür tabanında doğrudan dentin ile temas halinde kalmasına sebep olur. Oklüzal yüzeylerin yanı sıra üst daimi azı dişlerindeki palatinal pitler, alt daimi azı dişlerindeki bukkal pitler ve üst daimi yan kesici dişlerdeki lingual pitler diş çürüğü sürecinin hızla ilerleyebileceği hassas alanlardır. Ayrıca pit ve fissür morfolojisi plak tutulması ve bakteri çoğalması için uygun bir ortam sağlar.⁽²⁹⁾

Büyük azı dişlerinin tamamen sürmesi, küçük azı dişlerinin birkaç ayda sürmesine kıyasla, 1,5 ila 2,5 yıl arasında nispeten daha uzun bir zaman alır. Diş oklüzyon düzleminin dışındayken, diş fırçası kıllarının oklüzal yüzeye ulaşması zor olduğundan ve dişin distal kısmını kaplayan kapüşon plak tutulmasını artırabileceğinden, bu uzun sürme dönemi yeterli ağız hijyeninin sağlanamamasına neden olabilir.⁽³²⁾

Büyük azı dişlerin oklüzal yüzeylerinden sonra en sık çürük görülen alan dişlerin arayüzleridir. Dişlerin temas noktalarının diş eti yakınındaki arayüz mine yüzeyleri, çürüğe en yatkın alanlardandır. Bu bölgeler çiğneme etkilerinden, tükürük akışından ve dil hareketlerinden görece uzaktır.⁽³³⁾ Çocuklarda artan yaşla birlikte ara yüz çürükleri daha sık görülmeye başlar. Ayrıca, güncel bir araştırma, koruyucu fissür örtücü tedavilerinin artan uygulamaları ile günümüzde ara yüz çürüklerinin oklüzal çürüklere göre daha önemli bir sorun teşkil ettiğini göstermektedir.⁽³⁴⁾

Çapraşık ve düzensiz dişler doğal çiğneme işlemi sırasında kolayca temizlenemez. Dişlerin çapraşık olması veya üst üste gelmesi durumunda hastanın ağızını diş fırçası ve diş ipi ile düzgün bir şekilde temizlemesi de aynı şekilde zordur. Dolayısıyla bu durum diş çürüğü sorununa katkıda bulunabilir.⁽²⁹⁾

2.1.4. Tükürük

Tükürüğün, plaktaki bakteriyel etkinlik sonucu oluşan asidi tamponlayarak pH'ı yükseltmek ve demineralizasyon sırasında dişte çözünenlerin yerini alabilecek mineralleri sağlayarak yeniden mineralizasyon sağlamak da dahil olmak üzere çok sayıda rolü vardır. Tükürüğün yapısındaki protein ve lipidler diş yüzeyinde koruyucu bir zar oluşturur. Ayrıca tükürük antibakteriyel maddeler ve immunglobulinleri sağlar. Tüm bunlara ek olarak bazı proteinler tükürük içeriğindeki kalsiyum ve fosfatın plak sıvısındaki aşırı doygunluğunu korumasına yardım eder. Böylece flor, kalsiyum ve fosfatı yüzey altı lezyona geri gönderirler, burada bu iyonlar demineralize hidroksiapatit kristallerinde remineralizasyona sebep olur. Bu remineralize kristaller, çok daha az çözünür yapıdadır.⁽⁵⁾

Tükürük akışı patojenik mikroorganizmaları ve bunların metabolizma ürünlerini seyreltir, kolonizasyon için gerekli olan bakteri ve besin miktarını kısıtlar. Oral klirens adı verilen bu süreç yutma refleksiyle birleştiğinde maddelerin ağız boşluğundan yemek borusuna aktif olarak taşınmasını sağlar.⁽²¹⁾

Kserostomi gibi tükürük fonksiyon bozukluğu durumlarında tükürüğün yukarıda sayılan tüm faydaları azalır veya ortadan kalkar.⁽⁵⁾

2.1.5. Florür Kullanımı

Florürün çürükleri önleme ve durdurma yeteneği kapsamlı bir şekilde araştırılmıştır. Florürün üç temel topikal etki mekanizması vardır: Plak asitlendiğinde hidrojen florür oluşturarak bakteriyel metabolizmanın inhibe edilmesi, asit atağı sırasında kristal yüzeylerinde florür mevcut olduğunda demineralizasyonun engellenmesi, remineralizasyonun artırılması ve böylece remineralize edilmiş kristaller üzerinde aside dirençli fluorapatit mineral oluşturarak düşük çözünürlüklü bir kaplama oluşturulması.⁽⁵⁾

Mine, sement, dentin ve kemik yapısındaki mineraller karbonatlı bir hidroksiapatittir.⁽³⁵⁾ Hidroksiapatit yapısındaki karbonat iyonları kristal yapısında zayıf noktalar oluşturur, demineralizasyon sürecinde çözünür ve remineralizasyon sırasında kristal yapısına dahil olmaz. Kristal yapısındaki kalsiyumdan yoksun, karbonattan zengin bölgeler, birçok araştırmacı tarafından gösterildiği gibi, demineralizasyon sırasında asit hidrojen iyonlarının saldırısına karşı özellikle hassastır.⁽³⁶⁻³⁸⁾ Saf hidroksiapatitteki hidroksil iyonunun bir flor iyonu ile değiştirildiği fluorapatit asitle çözünmeye karşı oldukça dirençlidir. Sağlam diş minesinin çoğu 20-100 ppm florür içermesine rağmen minenin dış kısmındaki birkaç mikrometrelik tabaka, 1.000 ila 2.000 ppm arasında florür seviyelerine sahip olabilir. Bu dış katmanda bulunan fluorapatit kristalleri asit atakları sonrası çözünmüş apatit kristallerinin yapısına flor iyonlarının katılması ile oluşur. Dolayısıyla diş yapısının mineralizasyonu sırasında alınan florür miktarı, demineralizasyon sırasında alınan florür miktarına kıyasla demineralizasyonun önlenmesi konusunda daha az etkili olmaktadır. Bu şekilde etki gösteren florür, içme suyu ve florür ürünleri gibi topikal kaynaklar yoluyla plak sıvısından gelir. Dişleri çürüklere karşı korumak için florüre yaşam boyunca düzenli olarak ihtiyaç duyulur.⁽⁵⁾

Topikal kaynaklardan elde edilen solüsyondaki florür, çürük lezyonundaki kısmen demineralize edilmiş yüzey altı kristallere absorbe edilerek ve kalsiyum iyonlarını, ardından fosfat iyonlarını çekerek, yeni mineral oluşumuna yol açar ve remineralizasyonu artırır. Yeni kristal yüzey kaplaması florapatit benzeridir ve sonraki

asit atakları, remineralize olmuş minenin çözünbilmesi için oldukça güçlü ve uzun süreli olmak zorundadır.⁽⁵⁾

2.1.6. Koruyucu Ajanlar

Çürük oluşumunun temelinde yer alan bakteri plağının uzaklaştırılmasında en etkili yol, diş fırçası kullanımı ile yapılan mekanik temizliktir. Diş macunu ve ağız çalkalama suyu gibi diğer ürünler de, bu mekanik temizliğin etkisini artırmaktadır. Diş macunu ve ağız çalkalama sularının içeriğinde kimyasal ve doğal olmak üzere pek çok çürük önleyici ajan bulunabilir.

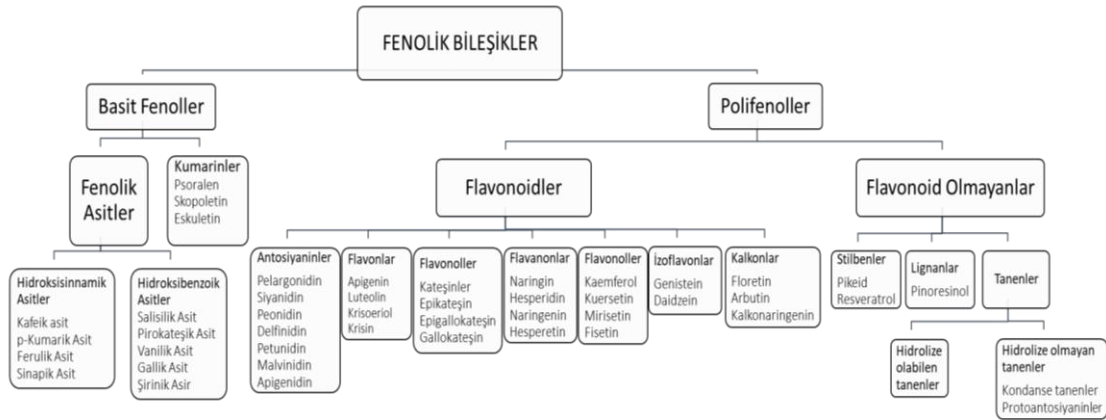
Florür, klorheksidin⁽³⁹⁾, triklosan⁽⁴⁰⁾, ksilitol⁽⁴¹⁾, kuaterner amonyum bileşikleri⁽⁴²⁾, yüzey aktif bileşenler⁽⁴³⁾ ve çinko⁽⁴⁴⁾ gibi diş macunu içeriklerinin çürük yapıcı bakteriler üzerinde antibakteriyel etkinliği çeşitli çalışmalarla tanımlanmıştır. Ayrıca ksilitol, çinko ve bazı yüzey aktif bileşenlerin remineralizasyonu artırıcı etkisi olduğu da bulunmuştur.^(41,44,45) Ancak bu içeriklerin olası toksik etkileri, tat almada bozulmaya ve dişlerde renklenmeye yol açmaları, oral mukoza tahrişi gibi yan etkileri nedeniyle kimyasal olmayan içeriklere olan talep artmaktadır.⁽⁴⁶⁾

Diş çürüklerinin önlenmesinde güncel stratejiler arasında probiyotikler yer almaktadır. Birkaç çalışma, ağız çalkalama suları, pastiller, tabletler, pipetler, süt, peynir, dondurma, sakızlar, yoğurt ve diğer takviyeler gibi probiyotik ajanların lokal uygulanmasının etkilerini değerlendirdiğinde bunların ağız sağlığı üzerinde yararlı bir etkiye sahip olduğunu bulmuştur.⁽⁴⁷⁾

Kitosan, kabukluların ve kabuklu deniz hayvanlarının kabuklarından elde edilen doğal bir katyonik biyopolimerdir. Kitosan, biyofilm gelişimini ve çürüklerle bağlantılı bakterilerin büyümesini etkili bir şekilde engelleyebilir. Kitosan tek başına veya remineralize edici ajanların taşıyıcı molekülü olarak kullanıldığında minedeki çürük lezyonlarının remineralizasyonunu teşvik edebilir.⁽⁴⁸⁾

Esansiyel yağlar, bitkilerin ikincil metabolitleri olup biyoaktif uçucu bileşenleri sayesinde antimikrobiyal, antioksidan, antikarsinojenik etkilere sahip doğal ürünlerdir. Çeşitli bitkilerin esansiyel yağlarının antimikrobiyal ve antioksidan etkilerini kanıtlayan çok sayıda çalışma bulunmaktadır.⁽⁴⁹⁾ Bitkilerin bahsedilen biyolojik etkilerini sağlayan temel bileşen polifenollerdir ve olumlu özellikleri sayesinde koruyucu diş hekimliği alanında ilgi görmektedir. Güncel bir derleme, karyojenik

bakterilerin büyümesini inhibe etmesi ve dış yüzeyine adezyonunu engellemesi ile polifenol içeriklerinin çürük önleyici olarak kullanılabileceğini bildirmiştir.⁽⁵⁰⁾



Şekil 2.3 Fenolik içeriklerin sınıflandırılması⁽⁵¹⁾

Günümüzde üretilen ağız çalkalama sularının içerikleri oldukça çeşitli olup, tüketici taleplerine göre şekillenmektedir. Yaygın olarak kullanılan aktif bileşenler arasında florür, klorheksidin, setilpridinyum klorür gibi kimyasal ajanlara alternatif olarak çeşitli doğal içeriklere de yer verilmektedir. Bu doğal içeriklere örnek olarak mentol (nane yağı), timol (kekik yağı), metil salisilat (kış yeşili yağı), okaliptüs yağı, mür özütü, karanfil özütü, adaçayı özütü, yeşil çay özütü, propolis örnek verilebilir.⁽⁵²⁾ Bu içeriklerden mentol, okaliptüs yağı, timol ve metil salisilatın tek ve kombinasyon etkinliklerini değerlendiren bir çalışma, timol-metil salisilat-okaliptüs yağı kombinasyonunun diğer test materyaline göre daha etkin olduğunu bulmuştur.⁽⁵³⁾

Modern ağız bakım ürünlerinin 19. yüzyılda gelişmeye başlamasından önce farklı kültürlerde çeşitli doğal ürünler kullanılmıştır. Bunlardan misvak (*Salvadora persica*) ve nim (*Azadirachta indica*) gibi çiğneme çubuklarının mekanik temizliğe ek olarak özütlerinin de güncel ağız bakım ürünleriyle kıyaslanabilecek etkilerinin olduğu belirtilmektedir.⁽⁵⁴⁾

Bahsi geçen bitkilere ek olarak sanguinarin⁽⁵⁵⁾, adaçayı, lavanta, damla sakızı⁽⁵⁶⁾, çay, kakao, turna yemişi⁽⁵⁷⁾, meyan kökü⁽⁵⁸⁾, tarçın, karanfil, keklik otu⁽⁵⁹⁾, guava, nar⁽⁶⁰⁾ gibi pek çok bitkinin karyojenik mikroorganizmalar üzerinde antibakteriyel etkinliği gösterilmiştir.

2.2. Kivi

Kivi meyvesinin menşei Çin olup, ticari olarak ilk kez 1940'lı yıllarda Yeni Zelanda'da üretilmiş, 1970'li yıllardan sonra ise diğer ülkelerde de yetiştirilmeye başlanmış ve hızla dünya genelinde yaygınlaşmıştır. Türkiye, kivi yetiştiriciliğine geç başlamış olmasına rağmen, yeni tesisler kurularak verim elde edilmesiyle birlikte dünya kivi üretiminde yaklaşık 64 bin tonla yedinci sırada yer almaktadır.⁽⁶¹⁾

Kivi meyveleri, fenolik bileşikler açısından zengindir ve birçok farklı flavonoid ve fenolik asit bileşiği içerir.⁽⁶²⁾ Bu bileşikler arasında hidrokisisinamik asitler (kafeik asit ve kumarik asit), hidroksibenzoik asitler (gallik asit ve şiringik asit), kumarinler, antosiyanidinler, flavanoller (kateşinler, epikateşin, epigallokateşin ve proantosiyanidinler) ve flavonoller (kuersetin ve kampferol türevleri) yer almaktadır.⁽¹⁾

2.2.1. Kivi Meyvesinin Sağlık Üzerine Etkileri

Kivi meyvesi gıda olarak tüketilmesinin yanı sıra Çin'de geleneksel tıpta uzun yıllardır kullanılmaktadır. Kivi meyvesinin sağlık üzerindeki faydaları arasında antimikrobiyal, antioksidan⁽⁶³⁾, antiinflamatuvar⁽¹⁾, antihipertansif⁽⁶⁴⁾, antikanserojenik⁽¹⁾, nöroprotektif⁽⁶⁵⁾, hipnotik⁽⁶⁶⁾, obezite karşıtı, antidiyabetik, hipolipidemik ve sindirim sağlığına destekleyici etkileri⁽⁶⁷⁾; immün sistemin düzenlemesi⁽⁶⁸⁾ ve kardiyovasküler koruma sağlaması⁽⁶⁹⁾ sayılabilir.

Kivi meyvesinin sağlık üzerine pek çok yararlı etkisi bulunmasına rağmen, bazı kişilerde alerjik reaksiyonlara yol açabilir. Araştırmalar çocuklarda kivi alerjisi prevalansının %0.1 ile %60.0 arasında değiştiğini belirtmiştir.⁽⁷⁰⁾ Kivi alerjisi, hafif cilt kaşıntısından anafilaktik şoka kadar çeşitli belirtiler gösterebilir. Özellikle polen ve lateks alerjisi olan bireylerde kiviye karşı hassasiyet daha yaygındır.⁽⁷⁰⁾ Bununla birlikte meyvenin işlenmesi ile toplam fenolik bileşiklerin arttığı ve alerjik reaksiyonların azaltılabileceği bildirilmiştir.⁽⁷¹⁾

Ayrıca kivi, hasat sonrası dönemde mantar kontaminasyonuna uğrayabilir veya pestisit kalıntıları bulundurabilir. Bunlara ek olarak kivi'nin yetiştirilme bölgesine bağlı olarak ağır metal kontaminasyonu söz konusu olabilir.⁽¹⁾ Bu bilgilerin ışığında kivi meyvesinin aşırı tüketimi hususunda dikkatli olmakta fayda vardır.

2.2.2. Kivi Meyvesinin Antimikrobiyal Etkileri

Kivi meyvesinin antimikrobiyal etkinliğini değerlendiren çok sayıda çalışma bulunmaktadır.

Alim ve ark.⁽⁷²⁾ 2019 yılında yaptıkları çalışmada kivi meyvesinden elde edilen polifenollerin *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* ve *Listeria monocytogenes* bakterileri üzerinde etkili olduğunu bulmuştur.

Kivi meyvesi kabuğunun etanol ve asetonlu özütlerini araştıran bir çalışma, özütlerin *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* ve *Pseudomonas aeruginosa* bakterilerine ek olarak bazı maya ve funguslar üzerinde antimikrobiyal etkinlik gösterdiğini tespit etmiştir.⁽⁷³⁾

Güncel bir çalışmada kivi meyvesinden elde edilen esansiyel yağın mantarlarda ve gram pozitif bakterilerden *Staphylococcus aureus* ve *Bacillus subtilis* üzerinde güçlü antimikrobiyal etkinlik gösterdiği halde gram negatif *Escherichia coli* ve *Pseudomonas aeruginosa* üzerinde etkinlik göstermediğinin bildirilmiştir.⁽⁷⁴⁾

Buna ek olarak kivi meyvesinden elde edilen bir sistein proteazı olan aktinidinin oral biyofilmi, dil üzerindeki birikimleri ve ağız kokusuna neden olan uçucu sülfür bileşiklerini azalttığını gösteren çalışmalar literatürde mevcuttur.^(75,76)

2.3. Stevia

Stevia rebaudiana Bertoni, ülkemizde “Rize şekeri” veya “şeker otu” olarak bilinir. Güney Amerika kökenli olup, Paraguay ve Brezilya’da uzun süredir tatlandırıcı ve sağlık amaçlı olarak kullanılan bu bitki, Japonya’da da otuz yılı aşkın bir süredir tatlandırıcı ve gıda katkı maddesi olarak popülerdir. Türkiye’de ise ilk kez 2009 yılında Antalya’da yetiştirilmeye başlanmış, daha sonra Fethiye, Balıkesir ve Rize gibi illerde üretimi yaygınlaşmıştır.⁽⁷⁷⁾ Stevia tatlandırıcısı; sakkarozu göre 250-300 kat daha fazla tatlı olması, ısı ve pH stabilitesinin yüksek olması, alkol içerisinde çözünmesi, ağızda metalimsi tadın olmaması ve doğal olması gibi pek çok avantaja sahiptir. Bugün sıcak-soğuk içeceklerde, reçel, komposto, muhallebi, pasta, kek, kurabiye pişirilen gıdaların içerisinde, deniz ürünleri, şekerleme sanayi, bazı sebzeler, çay şekeri yerine ve suşi, soya sosu, yoğurt gibi birçok gıdada kullanılmaktadır.⁽⁷⁸⁾

Stevia bitkisinin tatlılığını sağlayan ve tatlandırıcı olarak kullanılan ana bileşen steviol diperten glikozitleri olan steviosit ve rebaudiositlerdir.⁽²⁾ Fenolik bileşenlerce zengin olan stevia yapraklarından kurutularak elde edilen özütler kuersetin, kamferol, luteolin, apigenin gibi flavonoidlerin yanı sıra kafeik ve klorojenik asit gibi hidroksisinamik asitler ihtiva etmektedirler.⁽⁷⁹⁾

2.3.1. Stevia Bitkisinin Sağlık Üzerine Etkileri

Stevia bitkisinin tatlandırıcı etkisinin yanı sıra terapötik etkileri de mevcuttur. Çalışmalar stevia'nın antimikrobiyal, antioksidan⁽⁸⁰⁾, antihipertansif, hipolipidemik⁽⁸¹⁾, antihiperglisemik⁽⁸²⁾, antiinflamatuvar, immün sistem düzenleyici⁽⁸³⁾, antikanserojenik⁽⁸⁴⁾ etkilerinin bulunduğunu tespit etmişlerdir.

İşlenmemiş stevia özütleri papatyagileler ailesine özgü alerjen maddeler içerebileceği ve yüksek alerjen etki taşıyabileceği düşünülmüş olsa da, yapılan kapsamlı bir sistematik derleme stevia içeren tatlandırıcıların alerjik reaksiyonlara neden olma riskinin düşük olduğunu belirtmiştir.⁽⁸⁵⁾ Stevia'nın bazı ilaçlarla etkileşime girdiğini bildiren çalışmalar bulunmaktadır.⁽⁸⁶⁾ Stevia'nın kabul edilebilir günlük alım dozu Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA), Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) ve Avrupa Gıda Bilimsel Komitesi (SCF) tarafından 4 mg/kg olarak belirlenmiştir.⁽⁸⁷⁾ Yüksek dozlarda stevia tüketiminin akut böbrek yetmezliğine sebep olduğunu gösteren bir hayvan çalışması literatürde mevcuttur.⁽⁸⁸⁾

2.3.2. Stevia Bitkisinin Antimikrobiyal Etkileri

Stevia bitkisinin antimikrobiyal etkinliği çeşitli bakteriyel ve fungal mikroorganizmalar üzerinde test edilmiştir. Çalışmalar stevia bitkisinin etanol, etil asetat, hekzan, metanol gibi çeşitli çözücüler ile elde edilen özütlerinin *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium* gibi pek çok gram pozitif ve gram negatif bakteri üzerinde antibakteriyel etkinlik gösterdiğini belirtmiştir.⁽⁸⁹⁻⁹²⁾ Gamboa ve Chaves⁽⁹³⁾ beş farklı stevia yaprağı özütünün 12 streptokok ve 4 laktobasil suşu üzerindeki antimikrobiyal etkinliğini kuyucuk difüzyon yöntemi ile incelemiş, tüm suşlarda antimikrobiyal etkinlik görüldüğü halde laktobasil türlerinin daha duyarlı olduğunu bildirmiştir.

2.3.3. Stevia Bitkisinin Ağız Sağlığına Etkileri

Şeker ikamelerine alternatif olarak kullanılan stevia'nın ağız sağlığına etkisi de araştırılmıştır. Brambilla ve ark.⁽⁹⁴⁾ sükröz ile karşılaştırıldığında steviosit ve rebaudiositlerin daha az *S. mutans* biyofilmi oluşumuna yol açtığını, plak pH'ında daha az düşüşe yol açtığını bulmuşlardır. Benzer şekilde sükröz ile laktoz ve steviosit içeren tatlandırıcı solüsyonları karşılaştıran Giongo ve ark.⁽⁹⁵⁾, laktoz içeren steviosit tatlandırıcılarının plak pH'ını sükrözden daha az azalttığını ancak yine de karyojenik kabul edildiğini belirtmiştir. Steviosit ve rebaudiositlerin karyojenik etkinliğinin değerlendirdiği bir hayvan çalışmasında, 5 hafta sonunda steviosit ve rebaudiositlerin diş çürüğü oluşumunu artırma potansiyeli olmadığı bulunmuştur.⁽⁹⁶⁾

2.4. Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri

Antimikrobiyal duyarlılık testleri, bir antimikrobiyal ajanın belli bir bakteri türüne karşı *in vitro* etkinliğini saptamak amacıyla uygulanan testlerdir. Klinikte antimikrobiyal tedavinin, duyarlılık testlerinin sonuçlarına göre belirlenmesi esastır. Antibiyotik duyarlılık testlerinde "difüzyon" ve "dilüsyon" olmak üzere başlıca iki yöntem kullanılır. Difüzyon testleri arasında disk difüzyon ve E-test; dilüsyon testleri arasında ise tüp dilüsyon, agar dilüsyon, mikrodilüsyon ve makrodilüsyon testleri bulunur. Antimikrobiyal ajanların bakterisidal etkilerinin belirlenmesinde ise minimum bakterisidal konsantrasyon (MBK) ve öldürme kinetiği testleri kullanılır.⁽⁹⁷⁾

Biyofilm, bakteri topluluklarının, bir yüzeye tutunmuş polimerik matris içinde yer alan hücre kümeleri şeklinde, antimikrobiyallere ve konak savunmalarına karşı direnç kazandığı bir yapıdır. Biyofilm oluşturma yeteneği bakterilerin temel virülans faktörüdür. Antimikrobiyal bir ajanın biyofilm üzerindeki etkisini göstermek için kullanılan testlerde biyofilm oluşumu, biyofilmin izlenmesi ve anti-biyofilm etkinliğin değerlendirilmesi için de çok sayıda yöntem mevcuttur.⁽⁹⁸⁾

2.4.1. Sıvı Mikrodilüsyon Testi

Antimikrobiyal ajanların minimum inhibitör konsantrasyonunun (MİK) belirlenmesi için dilüsyon testleri kullanılır. Duyarlılık testleri için standardize edilmiş referans yöntem konumundadır ve aynı anda birden çok etken madde test etmeye olanak tanır. Dilüsyon testlerinde, antimikrobiyal ajanın dilüsyonlarını içeren mikropilaya kuyucuklarında üremenin gözle görülebilir olması temel alınır. Bir mikroorganizmanın gözle görülebilir üremesinin inhibe edildiği en düşük

antimikrobiyal ajan konsantrasyonu MİK olarak belirlenir. Dilüsyon testleri sonucunda elde edilen MİK değerleri klinisyene, enfeksiyona neden olan mikroorganizmayı inhibe etmek için gerekli olan antimikrobiyal ilaç konsantrasyonunu vermektedir.⁽⁹⁷⁾

2.4.2. Minimum Bakterisidal Konsantrasyon Testi

Bakterisidal etkiden bahsedebilmek için canlı bakterileri sayısının %99,9 azalması gerekmektedir. MBK testi 18-24 saatlik inkübasyondan sonra canlı bakterilerin sayımı esasına dayanır. Canlı bakteri sayımı yapılamayan en düşük konsantrasyon, başlangıçtaki bakterilerden belirli bir kısmını öldüren en düşük antibiyotik yoğunluğudur. Sıvı dilüsyon yöntemleriyle MİK değerinin belirlenmesinin ardından, MİK değeri ve üzerindeki konsantrasyonlarda test yapılır ve canlı bakterilerin azalmasını sağlayan en düşük konsantrasyon MBK değeri olarak kabul edilir. Eğer MBK değerinin MİK değerine oranı 1'e yakınsa bakterisidal etkiden bahsedilebilir. Bu oran, 32 veya daha fazla olursa toleranstan bahsedilir.⁽⁹⁷⁾

2.4.3. Öldürme Kinetiği Testi

Zamana ve antibiyotik yoğunluğuna bağlı olarak, antibiyotiğin bakterisidal etkisini dinamik olarak ortaya koyan bir yöntemdir. Bu yöntemde, bakteri miktarındaki azalma zamana bağlı olarak her bir bakteri yoğunluğu için ayrı ayrı tespit edilir. Zamana bağlı azalma için farklı zamanlarda canlı bakteri sayımı yapılır.⁽⁹⁷⁾ Farklı konsantrasyonlardaki antimikrobiyal ajanların zamana bağlı öldürme eğrileri, diğer test yöntemlerine göre hayvan deneyleriyle daha güçlü ilişki göstermiştir. Zaman içerisinde koloni sayıları başlangıçtaki bir azalmadan sonra artabilir. Bu, dirençli mutantların seçilmesi, antimikrobiyal ajanın inaktivasyonu veya kültür kabının duvarına yapışarak antimikrobiyal aktiviteden kaçan duyarlı bakteri hücrelerinin yeniden büyümesi gibi durumlarla ilişkilendirilebilir.⁽⁹⁹⁾

2.4.4. Biyofilm Duyarlılık Testi

Biyofilm yapısı mikroorganizmaların çeşitli çevre koşullarında hayatta kalmasını sağlayan bir yapıdır ve doğada pek çok yerde izlenebilir. Biyofilm fizyolojisi, yapısı ve bileşimi hakkında bilgi veren biyofilm çalışmaları için birçok yöntem mevcuttur. Biyofilm oluşturulmasında mikropalaklar, Calgary cihazı, biyofilm halka testi, Robbins cihazı, damlama akışlı biyofilm reaktörü, döner biyofilm cihazları, akış odası, mikroakışkanlar gibi cihazlar kullanılabilmektedir.⁽¹⁰⁰⁾

Mikroplakalar yüksek verimlilik, düşük maliyet ve plaka okuyucu dışında gelişmiş donanım gerektirmemesi yönünden en yaygın kullanılan yöntemdir. Klasik prosedür bakterilerin polistiren mikropolanın kuyucuklarında büyütülmesinin ardından kuyucukların yüzeyine tutunan biyokütlenin boyanması ve ölçülmesini içerir. Mikrotitre plaka deneyinde, biyofilm biyokütlesi tüm tutunan biyokütlenin ölçülmesiyle değerlendirilir. Ancak, biyokütlenin bazı kısımları kuyuların dibine çöken ve daha sonra hücre dışı polimerik maddeler tarafından gömülen planktonik hücrelerden kaynaklanabilir. Dolayısıyla elde edilen ölçümün sadece biyofilm oluşumunu göstermemesi yöntemin dezavantajlarından biridir. Yöntemin ayrıca gevşek yapıdaki biyofilmin boyama aşamalarında ayrılabilmesi, doğrudan ölçüm yapılamaması ve yalnızca yüksek hücre yoğunluğunda değerlendirme yapılabilmesi gibi dezavantajları da vardır.⁽¹⁰⁰⁾

Biyofilm çalışmalarından elde edilen biyofilmin değerlendirilmesinde de çeşitli yöntemler kullanılabilir. Bu yöntemler arasında koloni oluşturan birim sayımı gibi mikrobiyolojik, polimeraz zincir reaksiyonu gibi moleküler ve hücre dışı polimerik madde ölçümü gibi mikroskopik yöntemler sayılabilir. Bunlara ek olarak biyofilmin miktarının elektrokimyasal ya da ultrasonik ölçümleri ve ağırlığının ölçülmesi gibi fiziksel yöntemlere veya biyofilmin tüm biyokütlesinin veya metabolik aktivitesinin ölçülmesi için boyanması gibi kimyasal yöntemler kullanılabilir.⁽¹⁰⁰⁾

Biyofilm niceliksel ölçümü için kristal viyole boyama, mikropolaka analizlerinde en sık kullanılan ölçüm yöntemidir. Bu yöntem hem canlı hem de ölü hücreleri ve biyofilm matrisindeki bazı bileşenleri boyadığından toplam biyofilm biyokütlesini ölçmek için oldukça uygundur. Bununla birlikte, biyofilme dahil olmayan serbest kalmış hücreleri ve bağlanmamış boyayı çıkarmak için uygulanan yıkama adımları, bazı hareketsiz bakteri hücrelerinin kopup uzaklaşmasına neden olabilir. Bu yüzden çözeltilerin elle veya otomatik pipetle eklenip uzaklaştırılması tavsiye edilir. Bağlı boyanın serbestleştirilmesi için çeşitli kimyasallar kullanılabilmekle birlikte, %33 konsantrasyonda asetik asit çözeltisinin bu işlem için etkili ve hızlı olduğu kanıtlanmıştır. Boyama sırasında oluşan biyokütlenin ayrılmaması için etanol, metanol veya ısıyla fiksasyon yapılabilir. Bu yöntemin avantajları arasında çeşitli mikroorganizmalar üzerinde kullanılabilmesi, biyofilmin mikropalakalardan uzaklaştırılmasının gerekmemesi ve yüksek verimlilikle çalışılabilmesi sayılabilir.⁽¹⁰⁰⁾

Biyofilm üreten bakterilere karşı antibiyofilm ve antimikrobiyal aktiviteyi değerlendiren tarama yöntemleri arasında mikropilaka yöntemi, minimum biyofilm yok edici konsantrasyon (minimum biofilm eradication concentration (MBEC)), vorteks ve pilaka sayımı, dama tahtası testi, sonikasyon-vorteks-pilaka sayımı yöntemi, kantitatif polimeraz zincir reaksiyonu ve kütle spektrometrisi gibi teknikler yer alır.⁽⁹⁸⁾ Mikropilaka yöntemi, antimikrobiyal ajanın mikropilakaların kuyucuklarında oluşan biyofilme karşı etkisini ölçer.⁽⁹⁸⁾

2.5. Bitkisel Özütlere Eldesi ve İçerik Analizleri

2.5.1. Liyofilizasyon

Liyofilizasyon, organik maddelerden suyun uzaklaştırılmasını sağlayan bir yöntem olup, günümüzde hem sağlık hem de gıda endüstrisinde geniş bir kullanım alanına sahip bir teknik olarak öne çıkmaktadır. Liyofilizasyon prosedürünün üç basamağı vardır: Dondurma, birinci kurutma ve ikinci kurutma. Bu yöntem, vakum altında dondurulmuş ürünlerden suyun uzaklaştırılmasıyla ürünlerin bozulmadan uzun süre muhafaza edilmesine olanak tanımaktadır.⁽¹⁰¹⁾

2.5.2. Bitkisel Özütlere Eldesi

Bitkilerin içerdiği aktif bileşenlerin elde edilmesinde en kritik adımlardan biri olan özütleme süreci, özütün kalitesini ve yöntemin verimliliğini doğrudan etkiler. Bu süreç; kullanılan bitki materyali, ön hazırlık aşamaları, tercih edilen çözücü türü, özütleme tekniği ve uygulanan fizikokimyasal koşullar gibi çeşitli faktörlere bağlıdır. İşlem genellikle metanol, etanol, asetonitril, aseton veya bunların su ile karışımları ile gerçekleştirilir. Son adım, ekstraksiyon tekniğinin seçimidir. Bu teknikler geleneksel teknikler (maserasyon, reflü ve Soxhlet ekstraksiyonu) ve modern teknikler (ultrason, mikrodalgalar, basınçlı sıvı, süperkritik sıvı, enzim yardımı, matris katı faz dispersiyonu vb. ile ekstraksiyon) olarak ikiye ayrılmıştır.⁽¹⁰²⁾

2.5.3. Suda Çözünür Kuru Madde ve Kırılma İndisi Tayini

Gıda maddeleri, su ve kuru madde olmak üzere iki temel bileşenden oluşur. Toplam kuru madde, suda çözünabilen ve çözünemeyen iki farklı bileşenden meydana gelir. Suda çözünmeyen kuru madde, selüloz ve nişasta gibi büyük moleküllü polisakkaritlerden oluşurken, suda çözünabilen kuru madde (SÇKM) ise şekerler (örneğin fruktoz ve glikoz) ile sitrik asit, malik asit ve tartarik asit gibi organik

asitlerden oluşur. SKÇM tayini; refraktometre, areometre (briks hidrometresi) veya kurutma dolabı yardımıyla çeşitli yöntemler kullanılarak yapılabilmektedir.⁽¹⁰³⁾

Kırılma indisi, ışınların aralarında yoğunluk farkı olan bir ortamdan diğerine geçerken bükülmesini ifade eder. Refraktometre cihazıyla ölçülür. Esansiyel yağların incelenmesinde kullanılan analitik bir yöntemdir. Esansiyel yağın içeriğindeki doymamış yağ asitleri, yağ asitlerinin zincir uzunluğu, hidrojenizasyonu gibi değişkenler kırılma indisi değerini etkileyebilir. Her esansiyel yağın özgül kırılma indisi değeri vardır, bu sayede yağın saflığı ve içeriği yorumlanabilir.⁽¹⁰⁴⁾

2.5.4. Antioksidan Aktivite Tayini

Gıdaların içeriğindeki antioksidan etkili bileşenlerin tüketimiyle antiinflamatuvar, antimikrobiyal, yaşlanma karşıtı gibi pek çok biyolojik etkinin sağlanabilmesi antioksidan bileşikler ilgi odağı haline getirmiştir. Antioksidan bileşiklerin antioksidatif kapasitesi çeşitli yöntemlerle belirlenebilmektedir. Bu yöntemler toplam radikal yakalama antioksidan parametresi (TRAP), oksijen radikali absorbans kapasitesi (ORAC) ve krosin ağartma yöntemi gibi hidrojen atomu aktarımı reaksiyonuna bağlı ve toplam fenolik yöntemi, Troloks eşdeğeri antioksidan kapasite (TEAC), 2,2-difenil-1-pikril-hidrazil (DPPH) radikali yakalama potansiyeli ve demir iyonu indirgeyici antioksidan güç (FRAP) yöntemi gibi elektron aktarımı reaksiyonuna bağlı yöntemler olarak sıralanabilir.⁽¹⁰⁵⁾

DPPH yöntemi gıdaların antioksidan aktivitesinin belirlenmesinde sıklıkla kullanılan yöntemlerden biridir. Bu yöntemde belirli konsantrasyonda hazırlanan DPPH radikali antioksidan ile reaksiyona girdiğinde indirgenir ve radikalın oluşturduğu menekşe rengin sarıya dönmesi spektrofotometrik olarak 515-517 nm dalga boyunda izlenir. DPPH yöntemi basit ve kolay uygulanabilir olmasının yanında, bazı antioksidan bileşiklerin DPPH'a karşı inert olabilmesi gibi dezavantajları vardır.⁽¹⁰⁵⁾

FRAP yönteminin esası; Fe (III)'ün Fe (II)'ye 4 dakika içinde indirgenmesine dayanmaktadır. Fe (III)'ün Fe (II)'ye indirgenmesi sonucunda renk artışı olmakta ve bu renk değişimi 593 nm'de spektrofotometrik olarak belirlenmektedir. Ancak; bazı fenolik bileşiklerin Fe (III)'ü indirgeme süresinin 4 dakikada gerçekleşmediği ve hatta birkaç saat sürebildiğini, dolayısıyla, bu bileşiklerin 4 dakika süre sonundaki FRAP değerlerinin yanıltıcı olabileceği bildirilmektedir.⁽¹⁰⁵⁾

2.5.5. Toplam Fenolik Madde Tayini

Bitkilerde yoğun olarak bulunan fenolik bileşikler, antioksidan kapasitenin oluşumunda önemli rol oynar. Fenolik bileşiklerin fiziksel ve kimyasal özelliklerine dayanarak çeşitli analiz yöntemleri geliştirilmiştir. Bunlar arasında spektrofotometrik analiz (Folin-Ciocalteu yöntemi), kolorimetrik analiz, gaz kromatografisi, yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC), kütle spektrometrisi tabanlı yöntemler ve elektroforetik yöntemler kullanılabilir.⁽¹⁰⁶⁾

2.5.6. Toplam Flavonoid Tayini

Flavonoidler fenolik bileşenlerin bir alt grubu olup çeşitli gıdalarda bulunabilmektedirler. Toplam flavonoid tayininde alüminyum klorid ile kolorimetrik analiz, spektrofotometrik incelemeler, kromatografik yöntemler ve kütle spektrometrisi tabanlı yöntemler kullanılabilir.⁽¹⁰⁶⁾

2.5.7. Fenolik Bileşikler Tayini

Fenolik bileşikler ifadesi, geniş bir kimyasal grubu ifade eder ve bu bileşiklerin tanımlanması ile etkileri daha iyi anlaşılabilir. Fenolik bileşiklerin etkilerinin anlaşılması ve gelişen teknoloji ile birlikte, fenolik bileşiklerin tanımlanmasında; karşı akım kromatografisi, sıvı kromatografi-elektrospey iyonizasyon-kütle spektrometrisi, nükleer manyetik rezonans, ince tabaka kromatografisi, biyolojik aktivite testleri gibi çok çeşitli yöntemler geliştirilmiştir. Bu yöntemlere ek olarak yüksek performanslı sıvı kromatografisi ile ardışık kütle spektrometrisi yöntemlerinin birlikte kullanıldığı güncel bir yöntem sayesinde, fenolik bileşiklerin ayrıştırılması, tanımlanması ve miktar tayini çok daha yüksek hassasiyet ve seçicilikle yapılabilmektedir.⁽¹⁰⁷⁾

2.5.8. Şeker İçeriği ve Stevia Glikozit Tayini

Gıda ürünlerinde şeker içeriği analizi, yıkıcı ve yıkıcı olmayan yöntemler olmak üzere iki ana kategoriye ayrılır. Duyusal değerlendirme, hidrometre, refraktometre, HPLC, elektronik dil yıkıcı gibi yöntemler, görünür ışık ve infrared spektroskopisi ve hiperspektral-multispektral görüntüleme yöntemleri gibi yöntemler ise yıkıcı olmayan yöntemler arasında sayılabilir. Yıkıcı yöntemler, şeker içeriği hakkında ayrıntılı bilgiler sağlar, ancak örnek hazırlığı gerektirir ve zaman alıcıdır. Yıkıcı olmayan yöntemler ise minimum örnek işleme ile hızlı ve gerçek zamanlı analizler sunabilmektedir.⁽¹⁰⁸⁾

2.5.9. Toplam Yağ Miktarı ve Yağ Asitleri Tayini

Gıda örneklerinin toplam lipid içeriğini belirlemek için çeşitli dolaylı ve hızlı yöntemler geliştirilmiştir. Bunlar arasında yoğunluk ölçümü, dielektrik yöntemler, yakın kızılötesi spektroskopi (NIR), düşük çözünürlüklü nükleer manyetik rezonans (NMR), turbidimetrik/renkli metotlar, ultrasonik yöntemler ve X-ışını Emilimi yer almaktadır. Lipid analizleri, gıda örneklerinden çıkarılan lipidlerin bileşimini ve yapısını belirlemek için gereklidir. Bu analizler, doymuş ve doymamış lipidler ile kolesterol içeriğinin yanı sıra, lipidlerin kalori değeri ve besin kalitesi gibi özelliklerini de ortaya koyar. Ayrıca, yağ ve yağların pazar değeri ve potansiyel uygulamaları için gerekli olan kalite özelliklerinin nicelleştirilmesi gereklidir. Lipidlerin ayrılması ve saflaştırılması için kromatografik, spektroskopik, enzimatik ve immünokimyasal yöntemler kullanılır.⁽¹⁰⁹⁾

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Kivi ve Stevia Materyallerinin Toplanması

Araştırmada kullanılan *Stevia rebaudiana* Bertoni bitkisi T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü’nden temin edilmiştir. Araştırmada kullanılan kivi meyveleri ticari olarak temin edilmiştir. Kivi ve stevia özütlerinin eldesi ve içerik analizleri T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü’nde hizmet alımı yoluyla gerçekleştirilmiştir. (Şekil 3.1)



Şekil 3.17 Çalışmada kullanılan kivi ve stevia bitkileri

3.1.2. Çalışmada Kullanılan Mikroorganizmalar

Bitkisel özütlerin antimikrobiyal etkinliğini değerlendirmek için kullanılan bakteri suşları Akdeniz Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Araştırma Laboratuvarı kültür koleksiyonundan temin edilmiştir. *S. mutans* ATCC 25175 ve *L. acidophilus* ATCC 11975 bakteriyel suşları kullanılmıştır.

3.1.3. Çalışmada Kullanılan Besiyerleri

Çalışmada *S. mutans* bakterilerinin çoğaltılmasında “Brain Heart Infusion” (BHI) agar (BD BBL, New Jersey, ABD) ve BHI sıvı besiyeri (Solabia Biokar, Fransa); *L. acidophilus* bakterilerinin çoğaltılmasında “De Man–Rogosa–Sharpe” (MRS) agar (Solabia Biokar, Fransa) ve MRS sıvı besiyeri (Solabia Biokar, Fransa) besiyerleri kullanılmıştır.

Tüm besiyerleri, üretici firmaların önerileri doğrultusunda hazırlanmıştır. BHI agar için 52 g, BHI sıvı besiyeri için 37 g, MRS agar için 70,3 g, MRS sıvı besiyeri için 55,3 g toz besiyeri hassas terazi (OHAUS PIONEER™ PA423, ABD) ile tartıldıktan sonra, cam şişede toz besiyerlerine 1 L distile su eklenerek besiyeri karıştırılıp 121°C’de 15 dakika 1 atm basınç altında otoklav (NUVE NC 40M, Türkiye) ile steril edilmiştir. Sterilizasyon sonrası, katı besiyerleri 55°C sıcaklığa ayarlanmış sıcak su banyosunda (BLULAB BDSB 20, Türkiye) soğutulduktan sonra petri kaplarına 25 ml olacak şekilde dağıtılmış ve agar plakların oda sıcaklığında katılaşması sağlanmıştır. Tüm besiyerleri kullanıma kadar +4°C’de saklanmıştır.

3.2. Yöntem

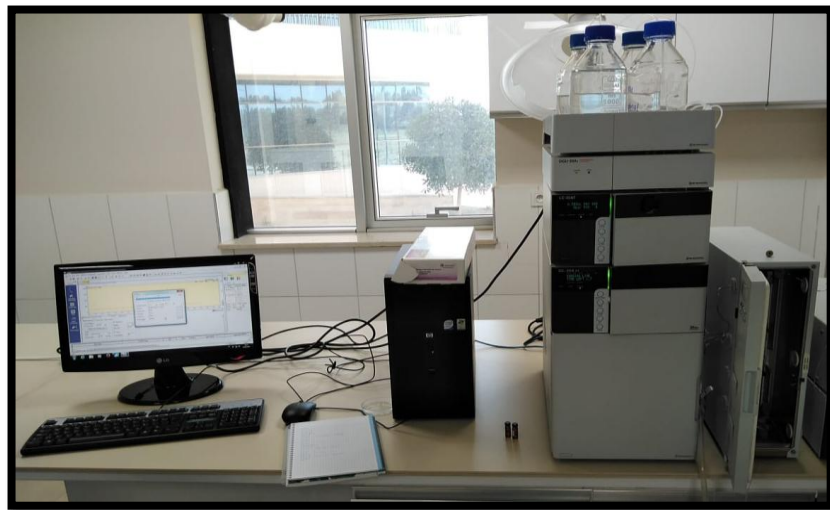
3.2.1. Bitkisel Özütlarin İçerik Analizlerinin Yapılması

Kivi Meyve Sertliği

Kivi meyvesinin olgunluk düzeyinin değerlendirilmesi için meyve eti sertliği kabuklu ve kabuksuz olarak ölçülmüştür. Ölçümler T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü’nde gerçekleştirilmiştir.

Kivi Meyve Suyunda Suda Çözünür Kuru Madde ve Kırılma İndisi Tayini

Meyveler önce bıçak yardımı ile ardından “waring blender” ile 1 dk süre ile homojenize edilmiştir. Tülbentten süzülerek meyve suyunda briks invert şeker ve kırılma indisi ölçümleri refraktometre (Krüss Optronic, Germany) cihazı aracılığı ile ölçülmüştür. Ölçüm 24°C sıcaklıkta gerçekleştirilmiştir. (Şekil 3.2)



Şekil 3.2 SKÇM ve kırılma indisi tayininde kullanılan refraktometre cihazı

Kivi Çekirdeğinde Toplam Yağ Miktarı ve Yağ Asitleri Tayini

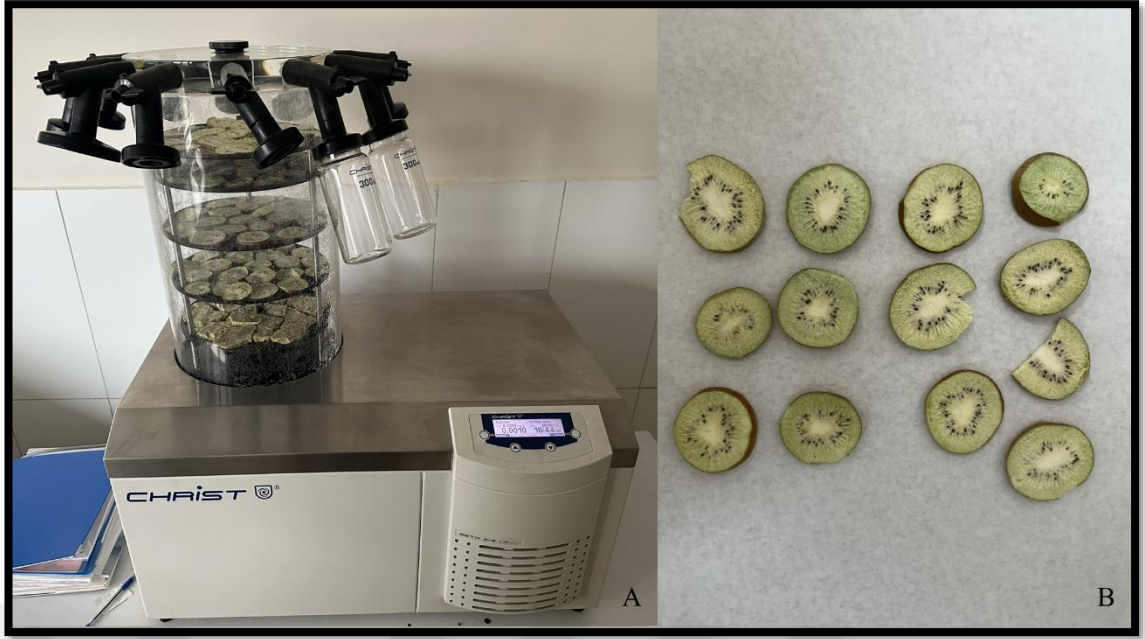
Elde edilen özütlerin toplam yağ miktarı tayini Soxhlet ekstraksiyon sistemi kullanılarak TS4967 standardına göre gerçekleştirilmiştir. Yağ asitleri kompozisyonu gaz kromatografi-kütle spektrometri/alev iyonlaştırma detektörü (GC-MS/FID) yöntemi kullanılarak TS EN ISO 12966-2 ve TS EN ISO 12966-4 standartlarına göre gerçekleştirilmiştir. (Şekil 3.3)



Şekil 3.3 Kivi çekirdeklerinin yağ asitleri tayini, A) Kivi çekirdeklerinin meyveden ayrılması, B) Kurutulmuş kivi çekirdekleri, C) Soxhlet cihazı ve kivi çekirdeklerinin ekstraksiyonu

Liyofilizasyon

On dört adet kivi meyvesinin tartımı alınmıştır. Meyveler çeşme suyu ile yıkanmış ve kurutulmuştur. Kabukları ile birlikte 5 mm eninde kesilerek -20°C’de bir gece bekletildikten sonra, kivi dilimleri liyofilizasyon işlemine alınmıştır. Liyofilizatör (Beta 2-8 LD Plus, Christ, Almanya) aracılığı ile sırasıyla dondurma (-20°C’de 20dk), ana kurutma (1.0 mbar basınç altında, -20°C’de 1,5 saat) ve son kurutma (0,0026 mbar basınç altında, -70°C’de 20 saat) basamakları gerçekleştirilmiştir. Liyofilizasyon sonrası kivi meyve dilimlerinin ağırlığı tekrar ölçüldü ve nem alması önlenerek şekilde +4 °C’de saklanmıştır. (Şekil 3.4)



Şekil 3.4 Liyofilizasyon işlemi, A) Liyofilizatör, B) Liyofilize kivi örnekleri

Öğütme

Liyofilize kivi dilimlerinin ve 40°C de memert fanlı kurutucu sisteminde kurutulmuş stevia bitkisi yapraklarının öğütme işlemi öğütücü (GM200, Retsch, Almanya) ile 10.000 rpm×120 sn olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Öğütme sonrası partiküller 500µm’lik elekten geçirilerek partikül çapı 500µm olacak şekilde ayarlanmıştır. (Şekil 3.5)



Şekil 3.5 Öğütülmüş ve partikül çapı ayarlanmış kivi ve stevia örnekleri

Kuru Madde Tayini

Kuru madde tayini için, cam petrilerin darası ölçülerek 80°C’ye alınmış ve 4 saat sonra desikatöre alınmıştır. Desikatörde soğuma gerçekleştikten sonra cam petrilerin

80°C’lik ısıtıl işlem sonrası darası tekrar ölçülmüştür. Cam petrilere toz kivi ve toz stevia örnekleri alınmış ve ölçüm tekrarlanmıştır. Daha sonra örnekler sabit tartıma gelene kadar 70°C’de dikey etüvde bekletilmiştir. Numuneler sabit tartıma geldiğinde ölçüm tekrar yapılarak kuru madde miktarı hesaplanmıştır. (Şekil 3.6)



Şekil 3.6 Desikatörde toz kivi ve toz stevia örnekleri

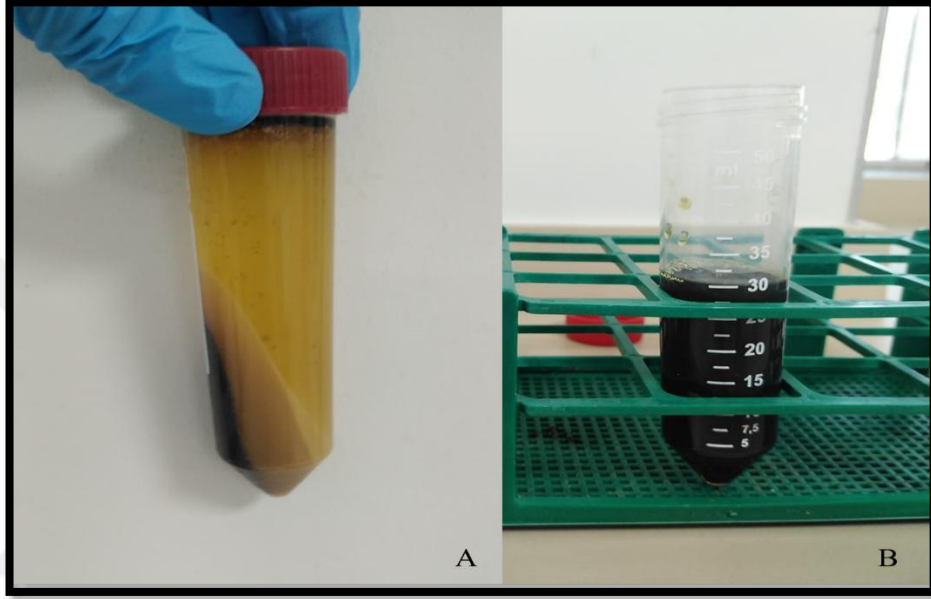
Bitkisel Özüt Eldesi

Kivi bitkisel ekstraksiyonda Aworh ve Nakai’nin⁽¹¹⁰⁾ kullandığı metod T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü tarafından hedef molekül gruplarını ekstre içerisine çekmek üzere modifiye edilerek kullanılmıştır. 20 gr kuru kivi tozu 100 mL %40 etanol, %2 borik asit ve %6 NaCl çözeltisi içinde 40°C de 1140 dk süre ve 150 rpm orbital çalkalama hızı ile inkübatörde (MIN55, Mikrotest, Türkiye) ekstrakte edilmiştir.

Stevia bitkisel ekstraksiyonunda fenolik maddelerin ekstre içine çekilmesi hedeflenerek gerçekleştirilen bu ekstraksiyon T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü tarafından modifiye edilmiştir. 10 gr toz stevia örneği 100 mL %40’lık etanol çözeltisi içine alınmış, bu bitki

süspansiyonu 40°C de 1100 dk süre ve 150 rpm orbital çalkalama hızı ile inkübatörde (MIN55, Mikrotest, Türkiye) ekstrakte edilmiştir.

İlgili ekstraksiyon süreleri sonunda sıvı ekstratlar 5000 rpm’de 25 °C sıcaklıkta 20 dk santrifüj edilmiş (2-16 KL, Sigma, Almanya) ve üst fazlar alınarak 0,22µm’lik filtreden geçirilerek ileri analizler gerçekleştirilene kadar -20°C’de muhafaza edilmiştir. (Şekil 3.7)



Şekil 3.7 Bitkisel özütler, A) Santrifüj işlemi sonrası kivi özütü, B) Stevia özütü

Özütlerin Suda Çözünür Kuru Madde ve Kırılma İndisi Tayini

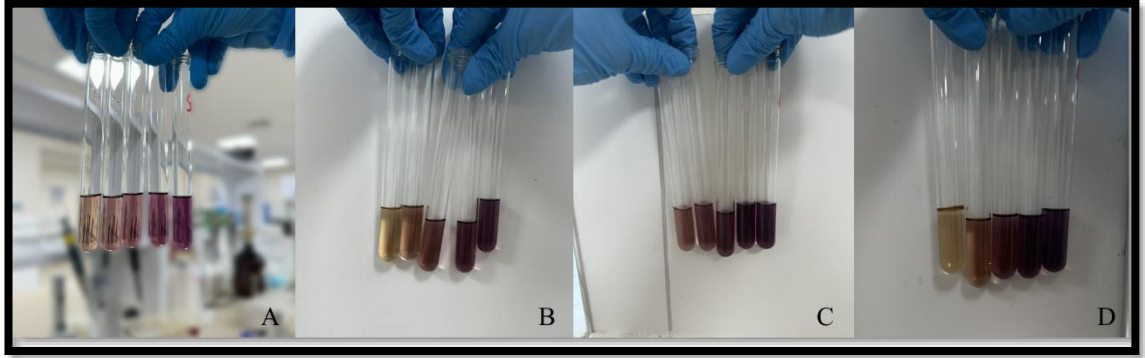
Elde edilen bitkisel özütlerde briks invert şeker ve kırılma indisi ölçümleri refraktometre (Krüss Optronic, Germany) cihazı aracılığı ile ölçülmüştür. Ölçüm 24°C sıcaklıkta gerçekleştirilmiştir.

Antioksidan Aktivite Tayini

Elde edilen özütlerin antioksidan etkinliği DPPH ve FRAP yöntemleriyle değerlendirilmiştir.

Özütlerin DPPH ile antioksidan aktivite tayini, spektrofotometrik olarak Lafka ve ark.⁽¹¹¹⁾ tarafından tarif edildiği şekilde yapılmıştır. Özütlerin farklı hacimleri (20-40-60-80-100 µL) ve DPPH çözeltisi (0,0025g/100ml metanol), test tüplerine eklenmiştir. Karanlık ortamda 15 dakika bekletildikten sonra spektrofotometre (UV-1800,

Shimadzu, Japonya) kullanılarak 517 nm dalga boyunda metanole karşı absorbansı ölçülmüştür. (Şekil 3.8)



Şekil 3.8 DPPH analizi, A) Stevia özütü DPPH çözeltisi eklendikten sonra, B) Stevia özütü DPPH çözeltisi ile 15 dakika bekletildikten sonra, C) Kivi özütü DPPH çözeltisi eklendikten sonra, D) Kivi özütü DPPH çözeltisi ile 15 dakika bekletildikten sonra

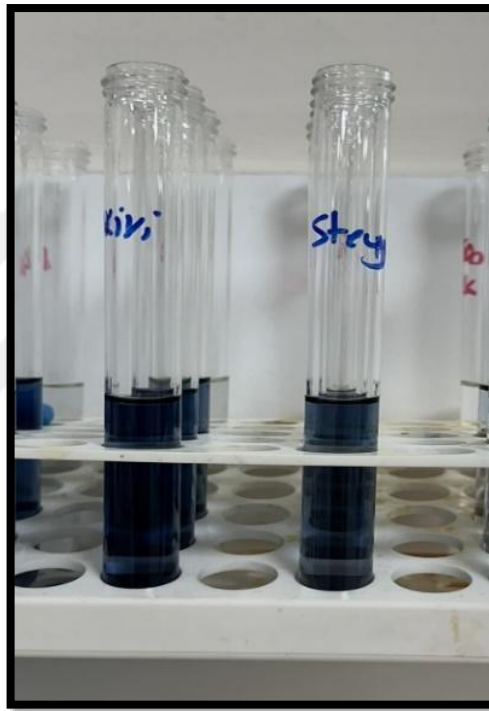
Özütlerin FRAP ile antioksidan aktivite tayini, spektrofotometrik olarak Cemeroğlu⁽¹¹²⁾ tarafından tarif edildiği şekilde yapılmıştır. Özütlerden 150µL ve FRAP çözeltisinden (10 mM 2,4,6-Tris(2-pyridyl)-s-triazine, 300mM sodyum asetat, 20mM ferrik klorür) 2850 µL karıştırılmış ve 30 dakika 19-21°C’de karanlıkta bekletilmiştir. Süre sonunda spektrofotometre (UV-1800, Shimadzu, Japonya) kullanılarak 593 nm dalga boyunda absorbansı ölçülmüştür. (Şekil 3.9)



Şekil 3.9 FRAP analizi sonrası kivi ve stevia örnekleri

Toplam Fenolik Madde Tayini

Elde edilen özütlerin fenolik madde tayini Spanos ve Wrolstad⁽¹¹³⁾ tarafından tarif edildiği şekilde gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar gallik asit eşdeğeri cinsinden hesaplanmıştır. Bitki özütlerinden 50 mL alınan örnek, 950 mL saf su ile seyreltilmiştir. Çözeltiye 5 mL Folin-Ciocalteu reaktifi ve 4 mL sodyum karbonat çözeltisi eklenmiştir. Elde edilen çözelti 90 dakika karanlıkta bekletildikten sonra spektrofotometre (UV-1800, Shimadzu, Japonya) kullanılarak 765 nm dalga boyunda absorbansı ölçülmüştür. Verilerin analizi, standart gallik asit çözeltileri ile hazırlanan kalibrasyon eğrisi temel alınarak gerçekleştirilmiştir. (Şekil 3.10)



Şekil 3.10 Toplam fenolik madde analizi sonucu kivi ve stevia örnekleri

Toplam Flavonoid Tayini

Elde edilen özütlerin toplam flavonoid tayini Karadeniz ve ark.⁽¹¹⁴⁾ tarafından tarif edildiği şekilde gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar kateşin eşdeğeri cinsinden hesaplanmıştır. Özütten alınan 500 μ L örneğe 4,5 mL distile su ve 0,3 mL %5 sodyum nitrit eklenip karıştırıldıktan sonra 5 dakika bekletilmiştir. Ardından çözeltiye 0,6 mL %10 alüminyum klorür heksahidrat eklenmiştir. Beş dakika sonra 2 mL sodyum hidroksit eklenmiş ve hacim 2,1 mL distile su ile 10 mL olacak şekilde tamamlanmıştır. (Şekil 3.11)



Şekil 3.11 Toplam fenolik madde analizi sonucu kivi ve stevia örnekleri

Elde edilen çözeltinin, spektrofotometre (UV-1800, Shimadzu, Japonya) kullanılarak 593 nm dalga boyunda absorbansı ölçülmüştür. Verilerin analizi, standart kateşin çözeltileri ile hazırlanan kalibrasyon eğrisi temel alınarak gerçekleştirilmiştir.

Fenolik Bileşikler Tayini

Bitkisel özütlerin fenolik bileşik içerik analizi sıvı kromatografi-ardışık kütle spektrometrisi (LS-MS-MS) yöntemi ile incelenmiştir. Literatürde yer alan çalışmalarda bitkide varlığı tespit edilen bazı fenolik ve flavonoid maddelerin (rutin, kafeik asit, gallik asit, klorojenik asit, rosmarinik asit vb.) analizleri gerçekleştirilmiştir. Örneklerin fenolik ve flavonoid bileşimleri standartlar kullanılarak oluşturulmuş kalibrasyon doğruları kullanılarak hesaplanmıştır. Fenolik ve flavonoid madde bileşimi olarak 20 farklı standart madde kullanılmıştır. Bunun için fenolik asit ve flavonoid standartları metanol içerisinde çözülerek 5 farklı konsantrasyonda kalibrasyon çözeltileri hazırlanmıştır. Bu çözeltilerin LC-MS-MS cihazında (Agilent, Amerika Birleşik Devletleri) okumaları yapılarak kalibrasyon doğruları çizilmiştir. Ön denemeler sonucunda tespit edilen oranlarda örnekler seyreltildikten sonra, LC-MS-MS cihazına enjekte edilmiş ve kalibrasyon doğruları kullanılarak miktarları hesaplanmıştır. Analizlerde kolon olarak C18 kolon kullanılmıştır. Mobil fazlar olarak metanol:su (5/95, %0,01 formik asit ve 5 µM amonyum format içeren) ve metanol (%0,01 formik asit ve 5 µM amonyum format içeren) mobil fazları kullanılmıştır. Mobil faz akışı olarak 0,30 mL/dk akış hızında

gradyent akış kullanılmıştır. Kolon sıcaklığı olarak 35 °C ve enjeksiyon hacmi olarak 3 µL kullanılmıştır.⁽¹¹⁵⁾

Şeker İçeriği ve Stevia Glikozit Tayini

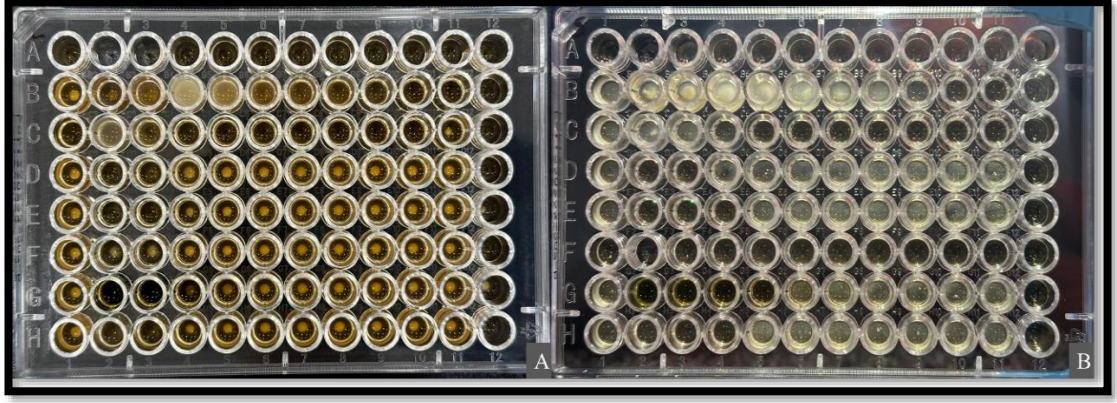
Özütlerin şeker içeriği ve stevia glikozitleri içeriği analizleri HPLC cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Şeker içeriği tayininde Tetik ve ark.⁽¹¹⁶⁾, stevia glikozitleri tayininde Kolb ve ark.⁽¹¹⁷⁾ tarafından tarif edilen yöntemler uygulanmıştır.

3.2.2. Bitkisel Özütlerin Antimikrobiyal Etkinliğinin Değerlendirilmesi

Elde edilen özütlerin antimikrobiyal etkinliğinin değerlendirilmesinde sıvı mikrodilüsyon testi, minimum bakterisidal konsantrasyon testi, öldürme kinetiği testi ve biyofilm duyarlılık testi uygulanmıştır. Deneyler Akdeniz Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Araştırma Laboratuvarı'nda tek bir araştırmacı tarafından gerçekleştirilmiştir.

Sıvı Mikrodilüsyon Testi

Bitkisel özütlerin *S. mutans* ve *L. acidophilus* suşlarına karşı MİK belirlenmesi için standart sıvı mikrodilüsyon testi kullanıldı. Deneyler 96 kuyucuklu U tabanlı mikrolakalarda çift tekrarlar yapıldı. (Şekil 3.12) Deney plakaları planlanırken, her plakada 1. kuyucuk büyüme kontrolü (100 µL besiyeri+100 µL bakteri) ve 12. kuyucuk sterilite kontrolü (100 µL besiyeri) olarak değerlendirildi. U tabanlı mikrolakaların 2. kuyucukları hariç tüm kuyucuklara 100 µL *S. mutans* kültürü için BHI, *L. acidophilus* kültürü için MRS sıvı besiyerleri koyuldu. Plakanın 2. kuyucuğuna etken maddeler 100 µL olacak şekilde eklendikten sonra 11. kuyucuğa kadar seri çift kat dilüsyon yapıldı. BHI agar ve MRS agarda üremiş taze bakteri kültürleri kullanılarak doğrudan koloni süspansiyonu yöntemi ile bakteri süspansiyonları hazırlandı. İnokulumlar, serum fizyolojik içerisinde McFarland no 0,5 bulanıklığına göre DEN-1 McFarland densitometresi (Biosan, Letonya) ile ayarlandı. *S. mutans* kültürü için BHI, *L. acidophilus* kültürü için MRS sıvı besiyerinde 1:100 dilüsyonu yapıldı ve 12. kuyucuk hariç tüm kuyucuklara bakteri süspansiyonundan 100 µL ekim yapıldı. Mikrolakalar 37°C'de 24 saat inkübe edildi. İnkübasyon süresi sonunda kuyucuklardaki bulanıklığa göre MİK değeri belirlendi. MİK, bulanıklık olmayan, yani gözle görülebilir üremenin olmadığı en düşük etken madde konsantrasyonu olarak belirlendi. Deneyde kontrol grubu olarak kivi ve stevia özütlerinin çözücüler, pozitif kontrol olarak klorheksidin kullanıldı.^(118,119)



Şekil 3.12 Sıvı mikrodilüsyon yönteminde kullanılan 96 kuyucuklu mikropalakalar, A) *L. acidophilus*, B) *S. mutans*

Minimum Bakterisidal Konsantrasyon Testi

Bakterilerin %99,9'unu öldüren en düşük etken madde konsantrasyonunun belirlenmesi için minimum bakterisidal konsantrasyon (MBK) testi uygulandı. (Şekil 3.13) Sıvı mikrodilüsyon testinde belirlenen MİK değeri ve üzerindeki konsantrasyonlarda üremenin olmadığı kuyucuklardan 10 µL alınarak etken madde içermeyen agar plakların yüzeyine ekim yapıldı. *S. mutans* kültürü için BHI agar (Şekil 3.13), *L. acidophilus* kültürü için MRS agar (Şekil 3.14) plaklar kullanıldı. Ekim sonrası agar plaklar 37°C'de 24 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonrası agar plaklardaki üreme durumu kontrol edildi, koloni oluşumu gözlenmeyen agar plakta kullanılan en düşük etken madde konsantrasyonu MBK olarak kaydedildi.^(118,119)

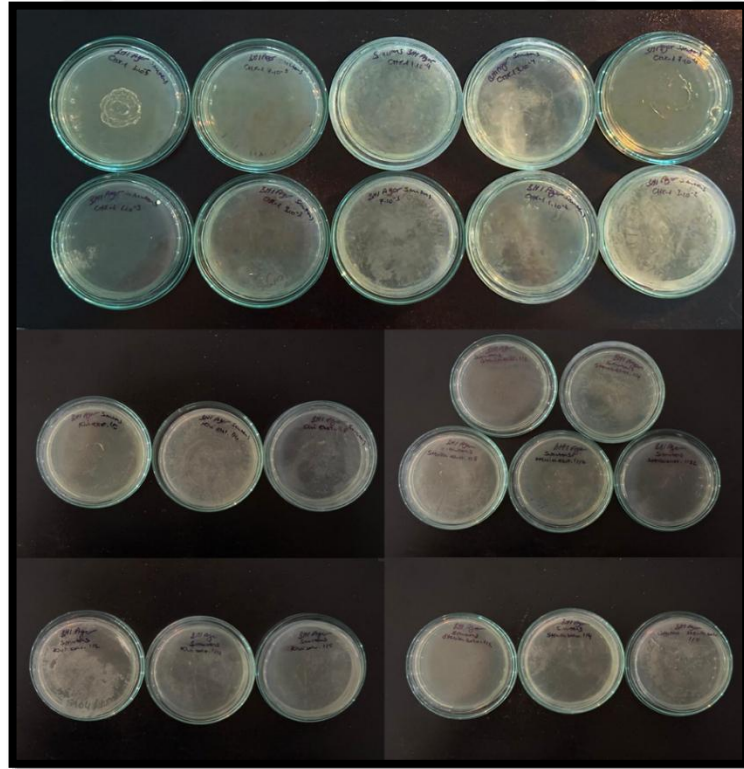
Öldürme Kinetiği Testi

Öldürme kinetiği testi eş zamanlı olarak iki yöntem kullanılarak gerçekleştirildi. İlki, spektrofotometrik olarak zamana bağlı optik yoğunluğun ölçümüyle değerlendirilirken; ikincisi, zamana bağlı olarak koloni sayımı yapılarak değerlendirildi.

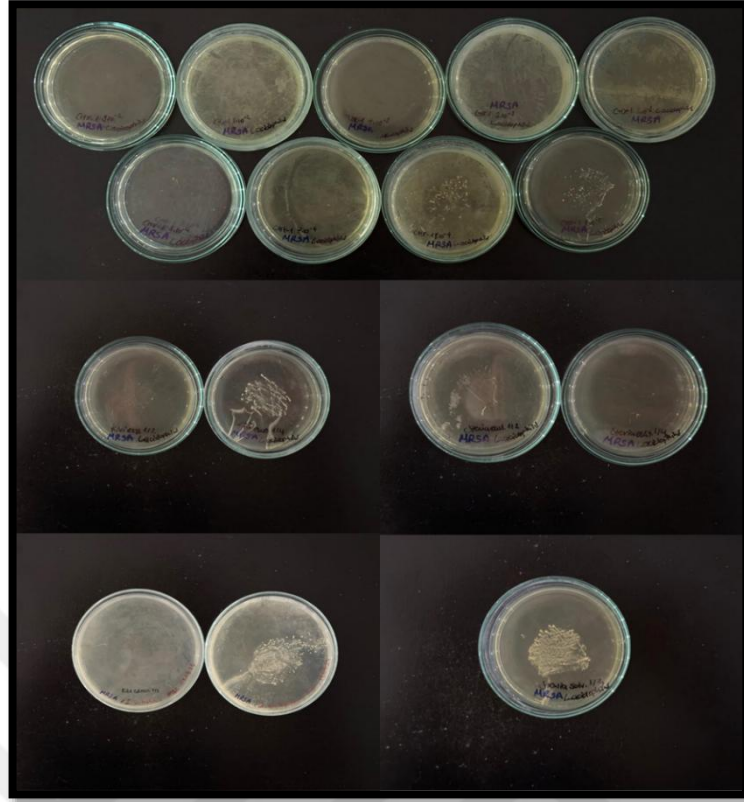
Öldürme kinetiği testinde her etken madde için (kivi özütü, stevia özütü, kivi çözücüsü, stevia çözücüsü ve klorheksidin) deneyin önceki aşamalarında tespit edilen MİK değerleri öncül kabul edildi. Test konsantrasyonları olarak etken maddenin MİK, MİK değerinin iki katı (2xMİK) ve MİK değerinin yarısı (1/2xMİK) konsantrasyonları kullanıldı. Test konsantrasyonlarının hazırlanmasında *S. mutans* kültürü için BHI, *L. acidophilus* kültürü için MRS sıvı besiyeri kullanıldı. Her bir konsantrasyon 3 mL hacminde hazırlandı. *S. mutans* ve *L. acidophilus* bakterileri için gecelik bakteri kültürleri hazırlandı. Etken madde konsantrasyonlarının her birine gecelik bakteri

kültüründen 30 µL eklendi. İnkübasyonu takiben 0. dakika, 15. dakika, 30. dakika, 60. dakika, 3. saat, 6. saat ve 24. saatlerde test tüplerinden 100 µL örnek alınıp steril distile suda 10^{-2} , 10^{-4} , 10^{-6} dilüsyonları yapıldı. Dilüsyon tüplerinden 100 µL alınarak agar plaklara yaygın ekim yöntemi ile ekim yapıldı. Agar plaklar 37°C'de 24 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonrası agar plaklardaki koloni sayımı yapıldı. (Şekil 3.15) Koloni sayım sonuçları logaritma 10 tabanında değerlendirildi. Bakterilerin %99,9'unu öldüren konsantrasyon olarak tanımlanan bakterisidal aktivite, KOB/mL'de $3\text{-log}10$ 'luk bir düşüşün varlığı ile belirlenebilir.⁽⁹⁹⁾

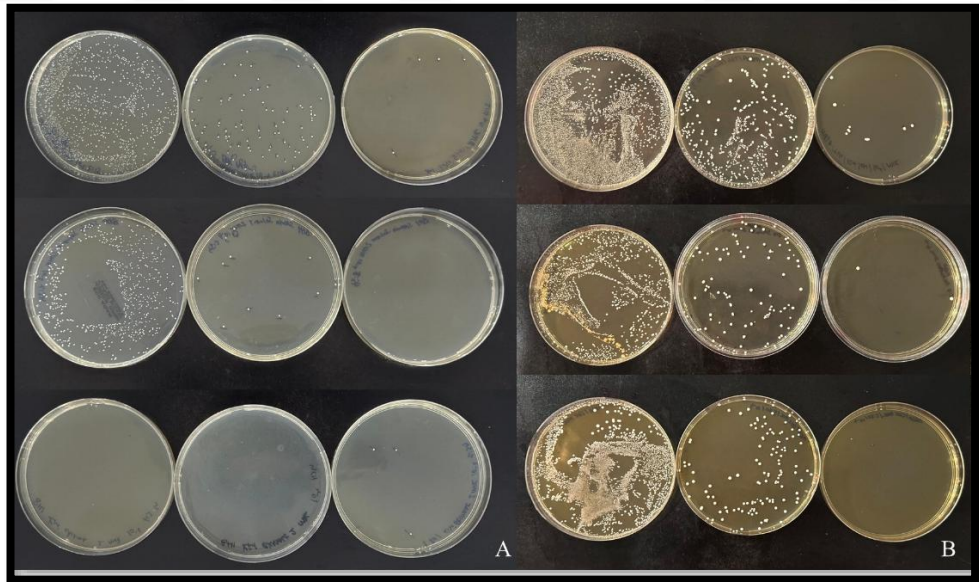
Spektrofotometrik ölçümde ise başlangıçta (inkübasyonun 0. dakikası) test tüplerinden 200 µL alınarak 96 kuyucuklu U tabanlı mikropalakalara eklendi ve plaka 37°C'de inkübe edildi. Yukarıda belirtilen zaman dilimlerinde ELISA mikropalaka okuyucu (Allsheng; AMR-100 Microplate Reader, Çin Halk Cumhuriyeti) ile 490 nm'de optik yoğunluk (optical density (OD₄₉₀)) ölçüldü. (Şekil 3.16) Etken maddelerden kaynaklanan optik yoğunluğun göz ardı edilebilmesi için, her etken madde için başlangıçta hazırlanan solüsyonun optik yoğunluğu diğer zamanlarda yapılan ölçümlerden çıkarılarak standardizasyon sağlandı.⁽¹²⁰⁾



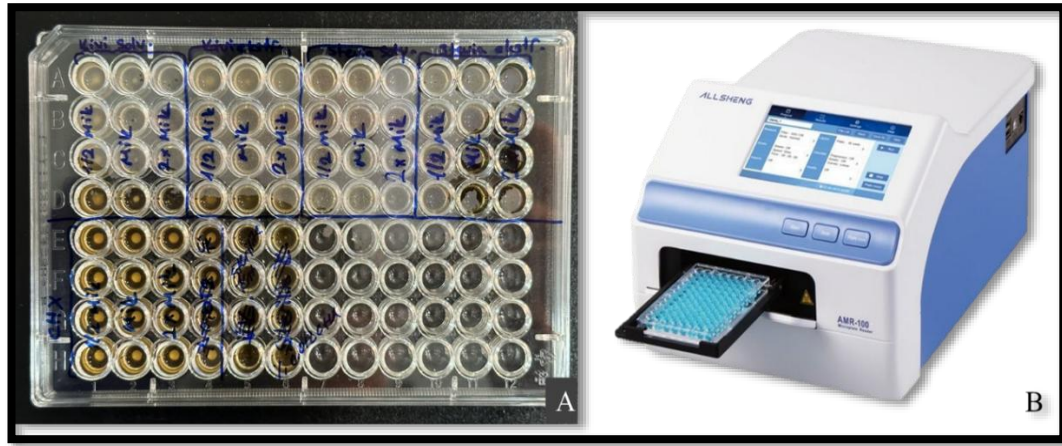
Şekil 3.13 MBK testinde *S. mutans* üremesinin takip edilmesi



Şekil 3.14 MBK testinde *L. acidophilus* üremesinin takip edilmesi



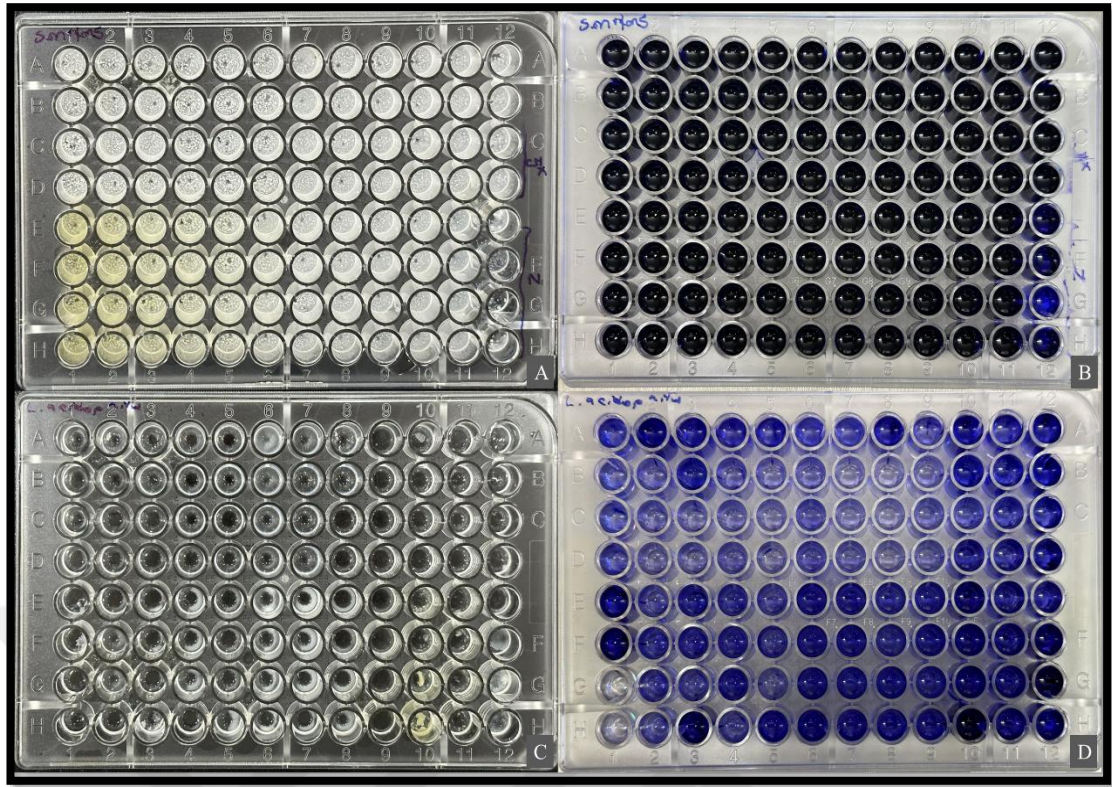
Şekil 3.15 Öldürme kinetiği testi sonuçlarının koloni sayımı yapılarak değerlendirilmesi,
A) *S. mutans*, B) *L. acidophilus*



Şekil 3.16 Öldürme kinetiği testinde kullanılan materyaller, A) 96 kuyucuklu mikroparka tasarımı, B) ELISA mikroparka okuyucu

Biyofilm Duyarlılık Testi

Kantitatif olarak biyofilm oluşumunun gösterilebilmesi için kristal viyole yöntemi kullanıldı. 96 kuyucuklu düz tabanlı mikroparkalara 230 μ L %2 süzkroz takviyeli BHI sıvı besiyeri dağıtıldı. *S. mutans* ve *L. acidophilus* bakterileri için hazırlanan gecelik bakteri kültürlerinden 20 μ L süspansiyon tüm kuyucuklara eklendi. Hazırlanan plakalar 37°C’de, 70 rpm’lik hafif bir ajitasyonla 72 saat inkübe edildi. İnkübasyon süresi boyunca her 12 saatte bir asılı bakteri hücreleri içeren ortam çıkarıldı ve eşit hacimde sıvı besiyeri eklendi. Negatif kontrol grubu kuyucukların inokulumsuz ortamla inkübe edilmesiyle elde edildi. 72 saatlik inkübasyon süresinin sonunda süpernatant ortam çıkarıldıktan sonra, oluşan biyofilm, etken maddelerin MİK ve üzeri konsantrasyonlarına 30 dakika boyunca oda sıcaklığında maruz bırakıldı. Pozitif kontrol grubu herhangi bir etken maddeye maruz bırakılmadan inokulumsuz ortamla bekletildi. İşlemden sonra etken maddeler uzaklaştırıldı ve kuyucuklar steril distile su ile iki kez hafifçe yıkandı. Sonrasında tüm kuyucuklara 250 μ L metanol eklenerek kuyucuklar içerisinde tutunmuş biyofilm bakterileri 15 dakika boyunca fikse edildi. Süre sonunda kuyucukların içi boşaltıldı ve plağın havada kuruması sağlandı. Ardından tüm kuyucuklara 250 μ L gram boyamada kullanılan kristal viyole solüsyonundan eklenerek 5 dakika boyunca bekletildi. Süre sonunda plağın içi boşaltılıp fazla boya distile su ile durulandı. Plakalar havada kurutulduktan sonra, tutunan hücrelere bağlanan boya kuyucuk başına 250 μ L %33 glasiyel asetik asit ile yeniden çözündürüldü. Her kuyucuğun optik yoğunluğu (OD₅₇₀) ELISA mikroparka okuyucu (Allsheng; AMR-100 Microplate Reader, Çin Halk Cumhuriyeti) kullanılarak 570 nm’de ölçüldü. (Şekil 3.17)



Şekil 3.17 Biyofilm duyarlılık testinde kullanılan 96 kuyucuklu mikroplakalar, A) Oluşan *S. mutans* biyofilmi, B) *S. mutans* biyofilminin boyama işlemi sonrası görüntüsü C) Oluşan *L. acidophilus* biyofilmi, B) *L. acidophilus* biyofilminin boyama işlemi sonrası görüntüsü

Elde edilen OD₅₇₀ değerlerine göre oluşan biyofilm, Stepanovic ve ark.⁽¹²¹⁾ tarif ettiği şekilde zayıf, orta ya da güçlü olmak üzere sınıflandırıldı. Bu sınıflandırmanın yapılabilmesi için kullanılan optik yoğunluk eşik değeri (OD_E), negatif kontrol grubunun ortalama OD₅₇₀ değerinin üç standart sapma üstü olarak hesaplandı. OD_E'den küçük optik yoğunluk değerine sahip mikroorganizmalar biyofilm oluşturmuyor kabul edilirken; $OD_E < OD_{570} < (2 \times OD_E)$ değerleri zayıf, $(2 \times OD_E) < OD_{570} < (4 \times OD_E)$ değerleri orta, $(4 \times OD_E) < OD_{570}$ değerleri güçlü biyofilm oluşturuyor olarak kabul edildi. (Tablo 3.1)

Tablo 3.1 Oluşan biyofilmlerin sınıflandırılması

OD Değerleri Aralığı	Sınıflandırma
$OD < OD_E$	Biyofilm yok
$OD_E < OD < (2 \times OD_E)$	Zayıf biyofilm
$(2 \times OD_E) < OD < (4 \times OD_E)$	Orta biyofilm
$(4 \times OD_E) < OD$	Güçlü biyofilm

3.3. Verilerin İstatistiksel Analizi

Elde edilen veriler SPSS paket programına (SPSS 18.00 for Windows, Chicago, IL, ABD) girilerek, tanımlayıcı istatistikler (minimum, maksimum, ortalama, standart sapma vb.) ve karşılaştırma testleri gerçekleştirilmiştir.

Nicel (kantitatif) verilerin karşılaştırmasında, parametrik koşulların sağlanması (Levene's Test) durumunda "Student T" testi, grupların tekrarlayan ölçümlerinde tek yönlü varyans analizi ve alt grup karşılaştırmalarında ise Tukey HSD çoklu karşılaştırma testi kullanılmıştır.

İki farklı grup nicel (Kantitatif) verinin birbiri olan etkileşimleri "Pearson" korelasyon testi ile değerlendirilmiştir.

Parametrik koşulların sağlanamadığı durumlarda, nitel (kalitatif) verilerin incelenmesinde ve grupların karşılaştırılmasında, Kruskal-Wallis, Mann-Whitney U, Wilcoxon ve ki kare (χ^2) testleri kullanılmıştır.

Sonuçlar %95'lik güven aralığında, $p < 0,05$ anlamlılık düzeyinde değerlendirilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Bitkisel Özütlerin İçerik Analizi Sonuçları

4.1.1. Kivi Meyve Sertliği

Kivi meyvesinin meyve eti sertliği kabuklu ve kabuksuz olarak Newton (N) cinsinden ölçülmüştür. Kabuklu meyve eti sertliği ortalaması 17,61 N, kabuksuz meyve eti sertliği ortalaması 2,62 N olarak tespit edilmiştir.

4.1.2. Kivi Meyve Suyunda Suda Çözünür Kuru Madde ve Kırılma İndisi Tayini

Kivi meyvesinden elde edilen meyve suyunun briks invert şeker ve kırılma indisi ölçüm sonuçları Tablo 4.1’de verilmiştir.

Tablo 4.1 Kivi meyve suyunda SÇKM/Briks ve Kırılma İndisi tayini

SÇKM/Briks ve Kırılma İndisi Tayini	Briks invert şeker	14,1
	Kırılma indisi	1,354

4.1.3. Kivi Çekirdeğinde Toplam Yağ Miktarı ve Yağ Asitleri Tayini

Kivi çekirdeğinde Soxhelet yöntemiyle elde edilen toplam yağ miktarı %30,4 g/100g olarak tespit edilmiştir. GC-MS/FID yöntemiyle elde edilen yağ asitleri içeriği verileri Tablo 4.2’de gösterilmiştir.

Tablo 4.2 Kivi çekirdeği yağ asitleri tayini

Yağ asidi	Palmitik (C16:0)	Stearik (C18:0)	Oleik (C18:1)	Linoleik (C18:2)	Linolenik (C18:3n3)	Skualen
Miktarı (%)	5,67	2,26	12,03	15,98	62,7	1,36

4.1.4. Kuru Madde Tayini

Liyofilize ve öğütülmüş kivi ve stevia örneklerinden dikey etüvde kurutma sonucunda kuru toz örnek eldesi sonucu elde edilen veriler sonucunda, toz kivi'nin kuru madde yüzdesi %88,27, toz stevia'nın kuru madde yüzdesi %97,84 olarak tespit edilmiştir.

4.1.5. Özütlerin Suda Çözünür Kuru Madde ve Kırılma İndisi Tayini

Kivi ve stevia bitkilerinden elde edilen bitkisel özütlerde briks invert şeker ve kırılma indisi ölçüm sonuçlarına Tablo 4.3 ve Tablo 4.4'te yer verilmiştir.

Tablo 4.3 Kivi özütünde SÇKM/Briks ve Kırılma İndisi tayini

SÇKM/Briks ve Kırılma İndisi Tayini	Briks invert şeker	13,8
	Kırılma indisi	1,3536

Tablo 4.4 Stevia özütünde SÇKM/Briks ve Kırılma İndisi Tayini

SÇKM/Briks ve Kırılma İndisi Tayini	Briks invert şeker	18,2
	Kırılma indisi	1,3605

4.1.6. Antioksidan Aktivite Tayini

Kivi ve stevia bitkilerinden elde edilen özütlerin DPPH ve FRAP yöntemleriyle değerlendirilen antioksidan etkinlikleri Tablo 4.5'te gösterilmiştir.

Tablo 4.5 Kivi ve stevia özütleri antioksidan aktivite tayini

	Antioksidan aktivite-FRAP (mmol TE/L)	Antioksidan aktivite-DPPH / EC50 (µL)
Kivi	5,33±0,38	50,71±0,82
Stevia	31,30±1,24	5,23±0,09

4.1.7. Toplam Fenolik ve Flavonoid Madde Tayini

Kivi ve stevia bitkilerinden elde edilen özütlerin toplam fenolik madde içerik analizinde gallik asit eşdeğeri cinsinden hesaplanan değerler mg GAE/L biriminde ifade edilmiştir. Özütlerin toplam flavonoid içerik analizinde kateşin eşdeğeri cinsinden hesaplanan değerler mg CE/L biriminde ifade edilmiştir. Elde edilen verilere Tablo 4.6'da yer verilmiştir.

Tablo 4.6 Kivi ve stevia özütlerinin toplam fenolik ve flavonoid madde tayini

	Toplam Fenolik miktarı (mg GAE/L)	Toplam flavonoid miktarı (mg CE/L)
Kivi	863,99±2,50	223,63±2,11
Stevia	5544,04±22,24	3983,47±23,39

4.1.8. Fenolik Bileşikler Tayini

Kivi ve stevia özütlerinin LS-MS-MS yöntemi ile fenolik bileşik içerik analizi; kafeik asit, klorojenik asit, epikateşin, ferulik asit, o-kumarik asit, p-kumarik asit, kuersetin, rosmarinik asit, sinapik asit, kamferol, kateşin hidrat, gallik asit, rutin, sirینگik asit maddeleri için gerçekleştirilmiştir. Ölçümler sonucu elde edilen verilere Tablo 4.7’de yer verilmiştir.

Tablo 4.7 Kivi ve stevia özütlerinin fenolik bileşikler tayini

Fenolik Bileşenler (mg/L)	Kivi Özütü	Stevia Özütü
Kafeik Asit	3,01	2,24
Klorojenik Asit	0,88	12121,2
Epikateşin	43,11	0,11
Ferulik Asit	0,23	1,09
o-Kumarik Asit	0,08	Tespit edilemedi
p-Kumarik Asit	0,5	0,27
Kuersetin	0,46	1,83
Rosmarinik Asit	115,41	231,37
Sinapik Asit	0,57	1,2
Kamferol	0,09	3,16
Kateşin Hidrat	15,22	3,47
Gallik Asit	0,27	3,07
Rutin	2,55	902,92
Siringik Asit	0,44	Tespit edilemedi

4.1.9. Şeker İçeriği ve Stevia Glikozit Tayini

Kivi özütünün şeker içeriği analiz sonuçlarına Tablo 4.8’de yer verilmiştir.

Tablo 4.8 Kivi özütü şeker içeriği tayini

Şeker bileşen analizi (g/100 ml)	Sakkaroz	1,81
	Glikoz	3,89
	Fruktoz	5,60

Stevia özütünün stevia glikozitleri içeriği analiz sonuçlarına Tablo 4.9’da yer verilmiştir.

Tablo 4.9 Stevia özütü stevia glikozit içeriği tayini

Stevia glikozit bileşen analizi (g/100 ml ekstre)	Steviosit	0,53
	Rebaudiosit A	1,04

4.2. Antimikrobiyal Etkinlik Test Sonuçları

Kivi ve stevia özütlerinin antimikrobiyal etkinliğinin değerlendirilmesinde sıvı mikrodilüsyon testi, minimum bakterisidal konsantrasyon testi, öldürme kinetiği testi ve biyofilm duyarlılığı testi uygulanmıştır.

Deneylerde kivi ve stevia özütleri test grubunu oluşturmuş, özütler elde edilirken kullanılan çözücüler negatif kontrol, klorheksidin ise pozitif kontrol olarak değerlendirilmiştir.

4.2.1. Sıvı Mikrodilüsyon Testi

Sıvı mikrodilüsyon testi sonucunda elde edilen MİK değerleri Tablo 4.10’da gösterilmiştir. Veriler hacimce yüzde (% v/v) cinsinden ifade edilmiştir.

Sonuçlar incelendiğinde her iki mikroorganizma için de en etkili etken maddenin klorheksidin olduğu belirlenmiştir. *S. mutans* için klorheksidinden sonra en etkili etken madde stevia özütü olmuştur. Stevia özütü stevia çözücüsünden daha etkili bulunurken, kivi çözücüsü kivi özütünden daha etkili bulunmuştur. *L. acidophilus* için

stevia özütü, kivi özütü ve kivi çözücülerinin etkinlikleri aynı bulunurken, stevia çözücüsünün etkinliği daha az bulunmuştur.

Tablo 4.10 MİK değerleri tablosu (% v/v)

Test Materyali	<i>S. mutans</i>	<i>L. acidophilus</i>
Kivi özütü	12,5	25
Kivi çözücü	12,5	25
Stevia özütü	3,125	25
Stevia çözücü	12,5	50
Klorheksidin	≤ 0.00003	0.00007

4.2.2. Minimum Bakterisidal Konsantrasyon (MBK) Testi

Minimum bakterisidal konsantrasyon testi sonucunda elde edilen MBK değerleri Tablo 4.11’de gösterilmiştir. Veriler hacimce yüzde (% v/v) cinsinden ifade edilmiştir.

Deney sonucunda her iki mikroorganizma için de klorheksidinin en etkili etken madde olduğu tespit edilmiş, bunu stevia özütü takip etmiştir. *S. mutans* için kivi çözücüsü kivi özütünden daha etkili olurken, *L. acidophilus* için kivi özütü ve çözücüsü etkinliği arasında fark görülmemiştir.

Tablo 4.11 MBK değerleri tablosu (% v/v)

Test Materyali	<i>S. mutans</i>	<i>L. acidophilus</i>
Kivi özütü	12,5	50
Kivi çözücü	12,5	50
Stevia özütü	3,125	50
Stevia çözücü	25	>50
Klorheksidin	%0.00007	%0.0003

4.2.3. Öldürme Kinetiği Testi

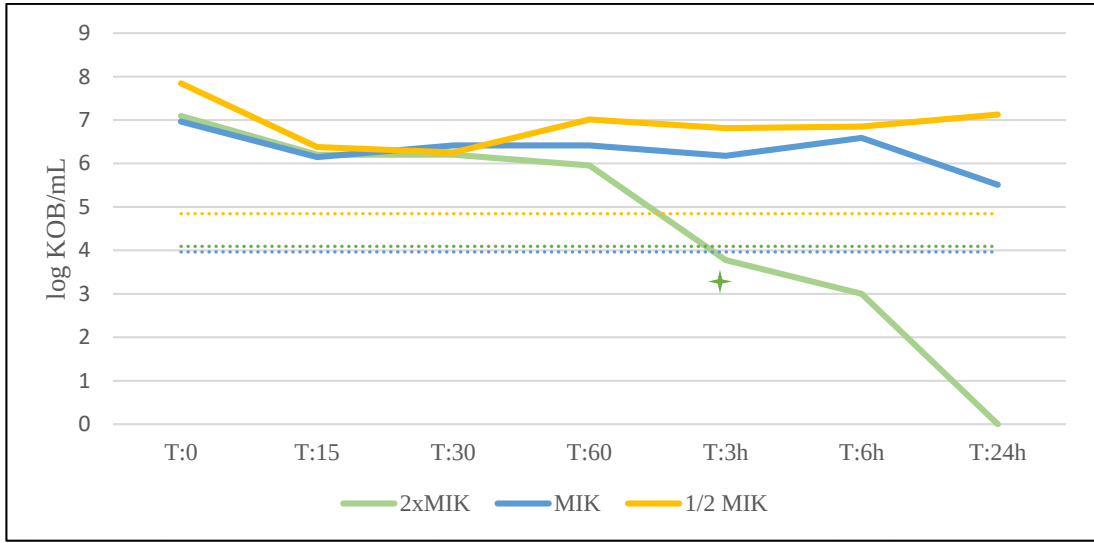
Öldürme kinetiği testi sonuçları zamana bağlı spektrofotometrik optik yoğunluk ölçümü ve zamana bağlı koloni sayımı yapılarak değerlendirilmiştir. Logaritmik koloni sayımı verilerinde 3 birim azalma bakterisidal etki için eşik değer olarak kabul edilmiştir.

Tablo 4.12 *S. mutans* için öldürme kinetiği testi koloni sayısı-zaman ilişkisi

<i>S. mutans</i>		2×MİK	MİK	1/2×MİK	%0,12
Kivi Özütü	Pearson Correlation	-0,923**	-0,772*	0,17	
	Sig. (2-tailed)	0,003	0,042	0,716	
	N	7	7	7	
Kivi Çözücü	Pearson Correlation	-0,792*	-0,927**	0,557	
	Sig. (2-tailed)	0,034	0,003	0,194	
	N	7	7	7	
Stevia Özütü	Pearson Correlation	-0,984**	-0,969**	-0,983**	
	Sig. (2-tailed)	<0,001	<0,001	<0,001	
	N	7	7	7	
Stevia Çözücü	Pearson Correlation	-0,997**	-0,913**	0,977**	
	Sig. (2-tailed)	< 0,001	0,004	<0,001	
	N	7	7	7	
Klorheksidin	Pearson Correlation	-0,973**	0,235	0,804*	-
	Sig. (2-tailed)	<0,001	0,613	0,029	.
	N	7	7	7	7

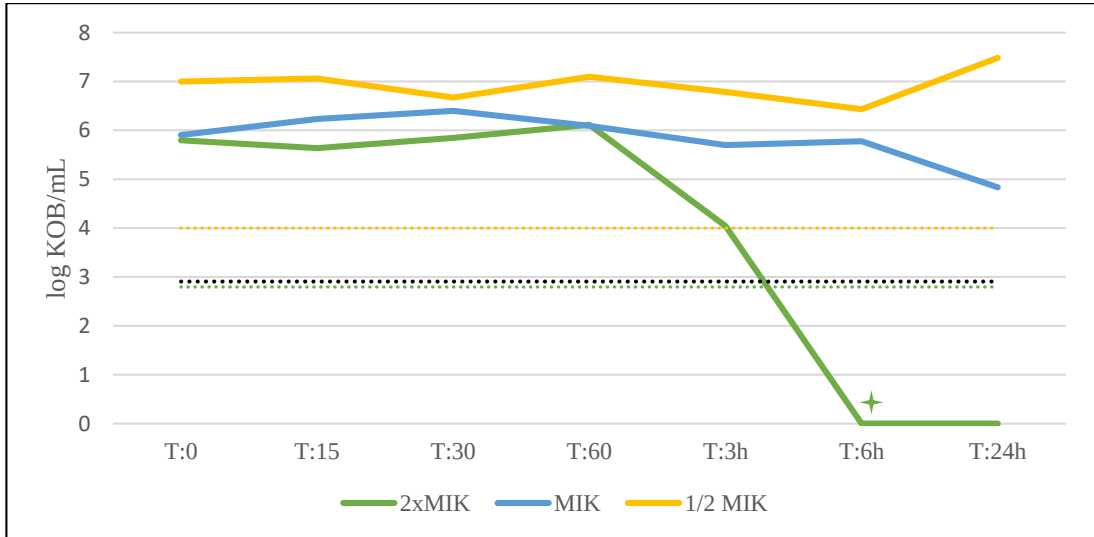
Kivi özütünün *S. mutans* üzerinde 2×MİK konsantrasyonunda 3 saat içerisinde bakterisidal etki gösterdiği ve etkinliğinin 24 saate kadar devam ettiği belirlenmiştir. MİK ve 1/2×MİK konsantrasyonlarında ise bakterisidal etki göstermediği görülmüştür. (Şekil 4.1). Bununla birlikte MİK konsantrasyonunda koloni sayıları ile zaman arasında zayıf bir korelasyon gözlenmiştir (Tablo 4.12).

Şekil 4.1 Kivi özütü için logaritmik koloni sayımı sonuçları (*S. mutans*)



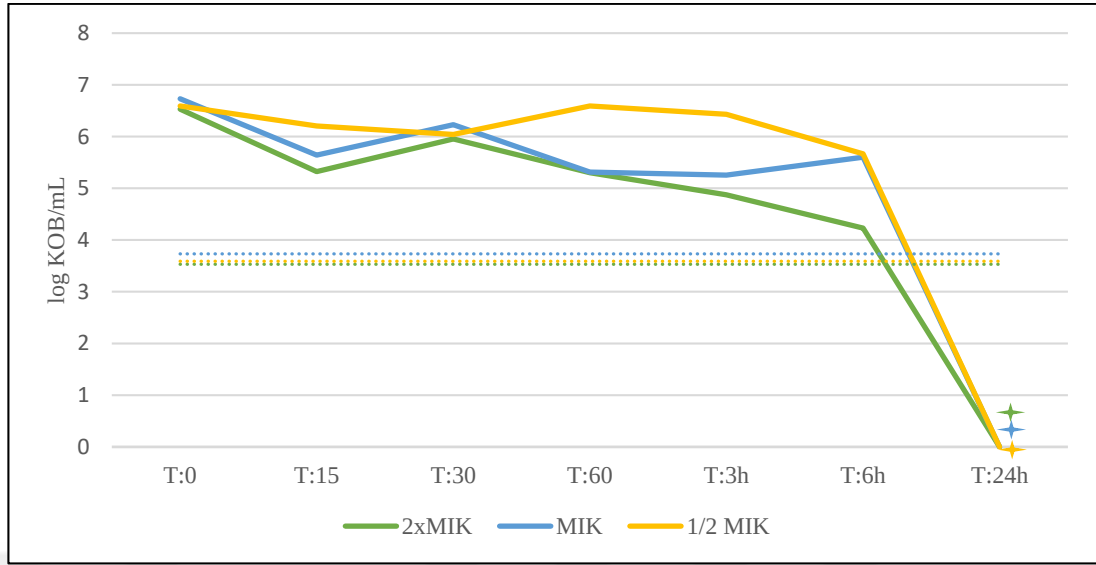
Kivi çözücüsünün *S. mutans* üzerinde 2×MİK konsantrasyonunda 6. saatten itibaren bakterisidal etki gösterdiği gözlenmiştir. MİK ve 1/2×MİK konsantrasyonlarında ise bakterisidal etki göstermediği tespit edilmiştir (Şekil 4.2). Bununla birlikte MİK konsantrasyonlarında koloni sayılarında zamana bağlı azalışı istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Tablo 4.12).

Şekil 4.2 Kivi çözücüsü için logaritmik koloni sayımı sonuçları (*S. mutans*)



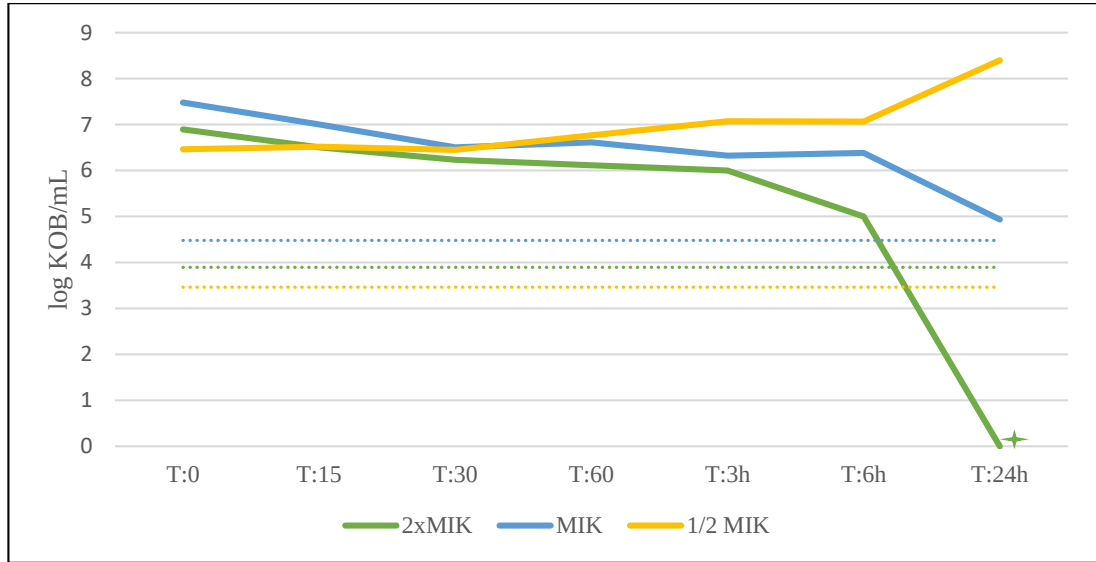
Stevia özütünün *S. mutans* üzerinde denen tüm konsantrasyonlarda 24 saat maruziyetinde bakterisidal etki gözlenmiştir (Şekil 4.3).

Şekil 4.3 Stevia özütü için logaritmik koloni sayımı sonuçları (*S. mutans*)



Stevia çözücüsünün *S. mutans* üzerinde 24. saatten itibaren $2\times\text{MIK}$ konsantrasyonunda bakterisidal etkisinin olduğu tespit edilmiştir. MIK ve $1/2\times\text{MIK}$ konsantrasyonlarında ise bakterisidal etki görülmemiştir (Şekil 4.4). Bununla birlikte MIK konsantrasyonunda zamana bağlı koloni azalışında güçlü bir korelasyon izlenmiştir (Tablo 4.12).

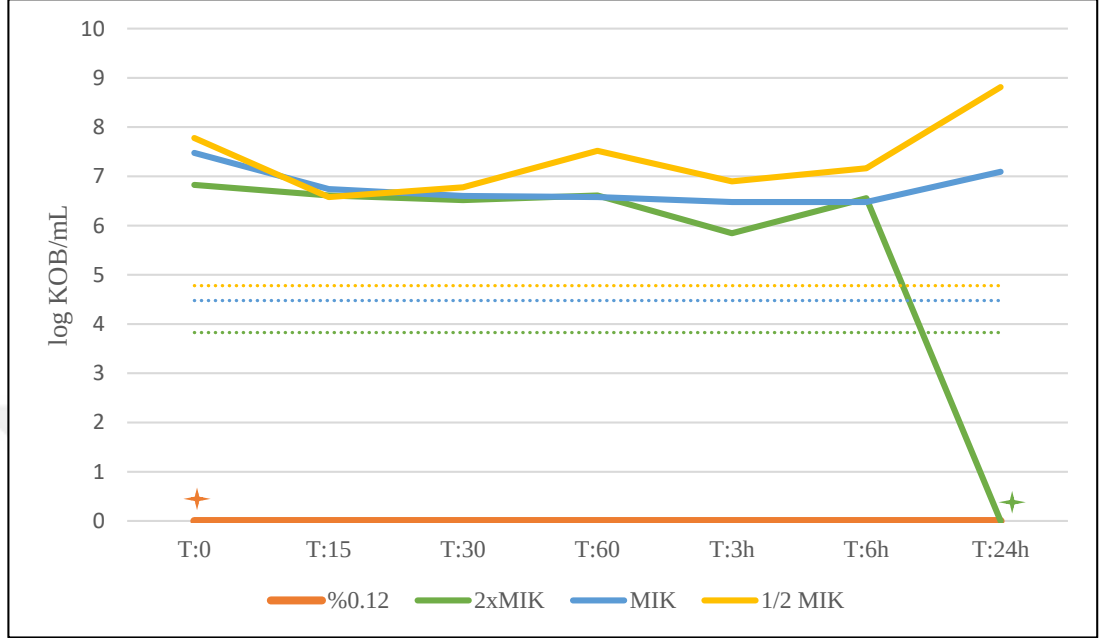
Şekil 4.4 Stevia çözücüsü için logartimik koloni sayımı sonuçları (*S. mutans*)



Klorheksidinin *S. mutans* üzerinde %0,12 konsantrasyonda maruziyet anı itibariyle bakterisidal etki gösterdiği bulunmuştur. Ayrıca $2\times\text{MIK}$ konsantrasyonunda 24 saatten

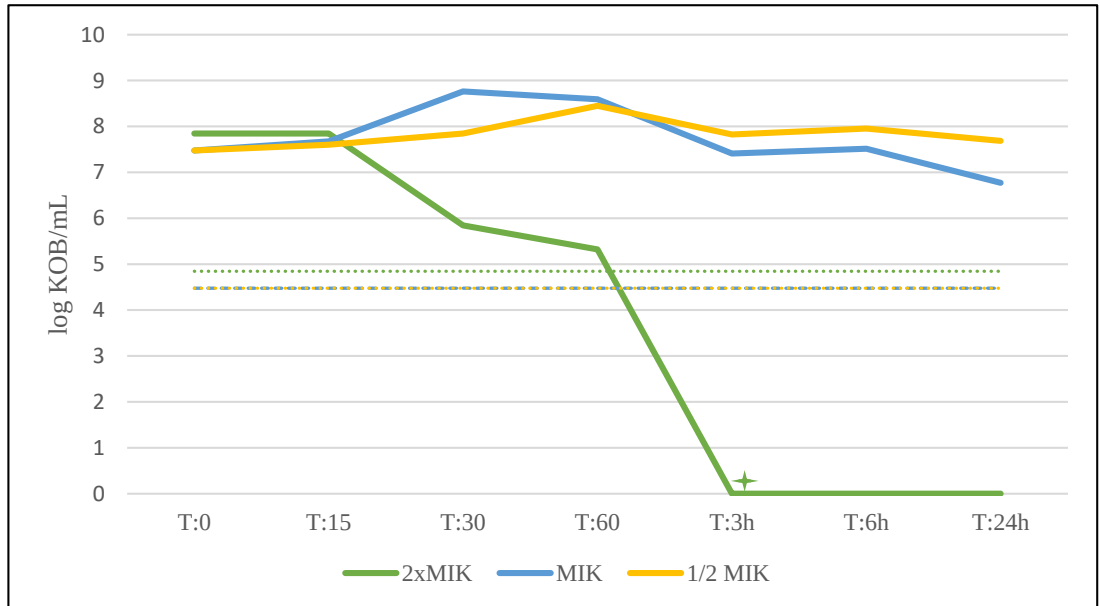
itibaren bakterisidal etki gözlenmiştir. MİK ve $1/2 \times \text{MİK}$ konsantrasyonlarında ise bakterisidal etki görülmemiştir (Şekil 4.5).

Şekil 4.5 Klorheksidin için logartimik koloni sayımı sonuçları (*S. mutans*)



Kivi özütünün *L. acidophilus* üzerinde $2 \times \text{MİK}$ konsantrasyonunda 3 saat maruziyet sonunda bakterisidal etki gösterdiği belirlenmiştir. MİK ve $1/2 \times \text{MİK}$ konsantrasyonlarında ise bakterisidal etki izlenmemiştir (Şekil 4.6).

Şekil 4.6 Kivi özütü için logartimik koloni sayımı sonuçları (*L. acidophilus*)

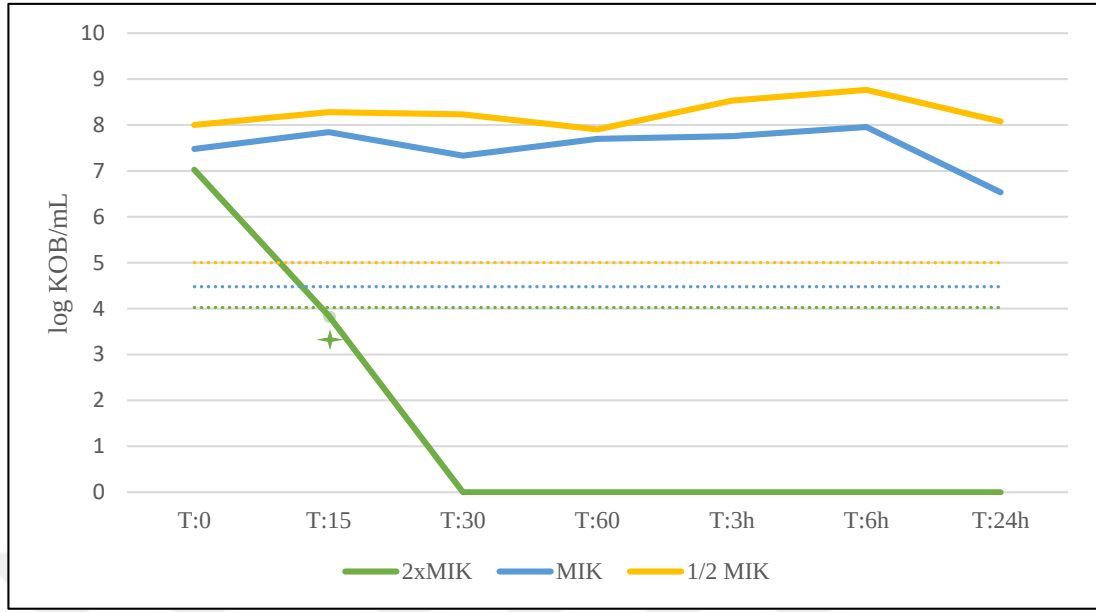


Kivi çözücüsünün *L. acidophilus* üzerinde 2×MİK konsantrasyonunda 15. dakika itibariyle bakterisidal etki gösterdiği ve bu etkinin 24 saat boyunca devam ettiği, ancak MİK ve 1/2×MİK konsantrasyonlarında bakterisidal etki görülmediği tespit edilmiştir (Şekil 4.7). Bununla birlikte MİK konsantrasyonunda koloni sayısındaki azalış ve zaman arasında zayıf bir korelasyon izlenmiştir (Tablo 4.13).

Tablo 4.13 *L. acidophilus* için öldürme kinetiği testi koloni sayısı-zaman ilişkisi

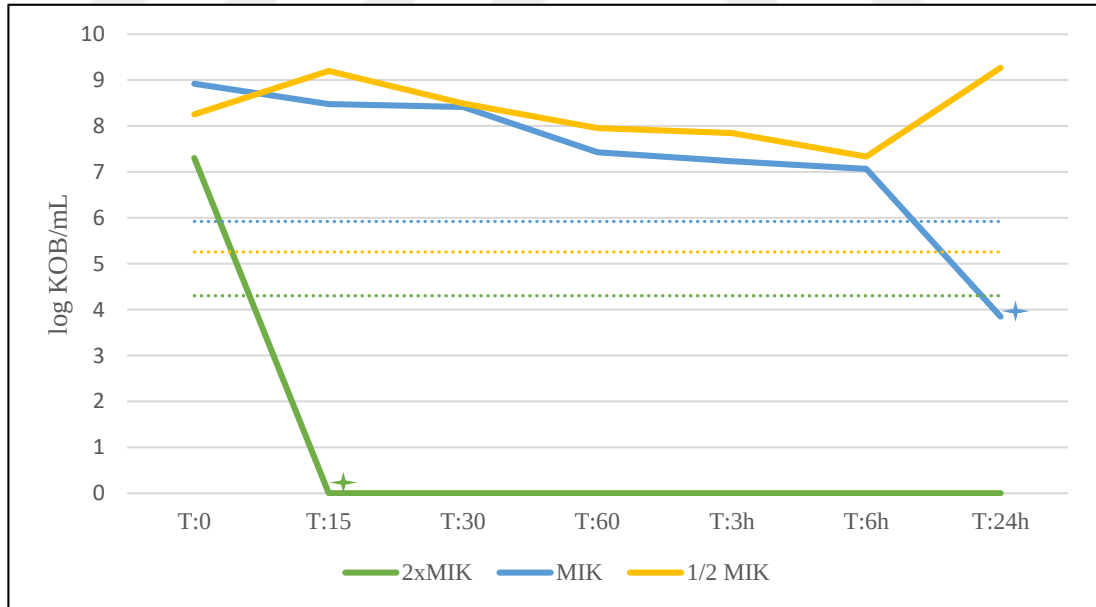
<i>L. acidophilus</i>		2×MİK	MİK	1/2×MİK	%0,12
Kivi Özü	Pearson Correlation	-0,253	-0,964**	0,402	
	Sig. (2-tailed)	0,584	<0,0001	0,371	
	N	7	7	7	
Kivi Çözücü	Pearson Correlation	-	-0,643	-0,864*	
	Sig. (2-tailed)	-	0,119	0,012	
	N	7	7	7	
Stevia Özü	Pearson Correlation	-0,639	-0,669	-0,141	
	Sig. (2-tailed)	0,122	0,1	0,762	
	N	7	7	7	
Stevia Çözücü	Pearson Correlation	-0,364	-0,799*	-0,045	
	Sig. (2-tailed)	0,423	0,031	0,924	
	N	7	7	7	
Klorheksidin	Pearson Correlation	0,803*	0,637	0,701	-0,340
	Sig. (2-tailed)	0,03	0,124	0,079	0,455
	N	7	7	7	7

Şekil 4.7 Kivi çözücüsü için logaritmik koloni sayımı sonuçları (*L. acidophilus*)



Stevia özütünün *L. acidophilus* üzerinde 2×MİK konsantrasyonunda 15. dakika, MİK konsantrasyonunda ise 24. saat itibariyle bakterisidal etki gözlenmiştir. Fakat 1/2×MİK konsantrasyonunda bakterisidal etki görülmemiştir (Şekil 4.8).

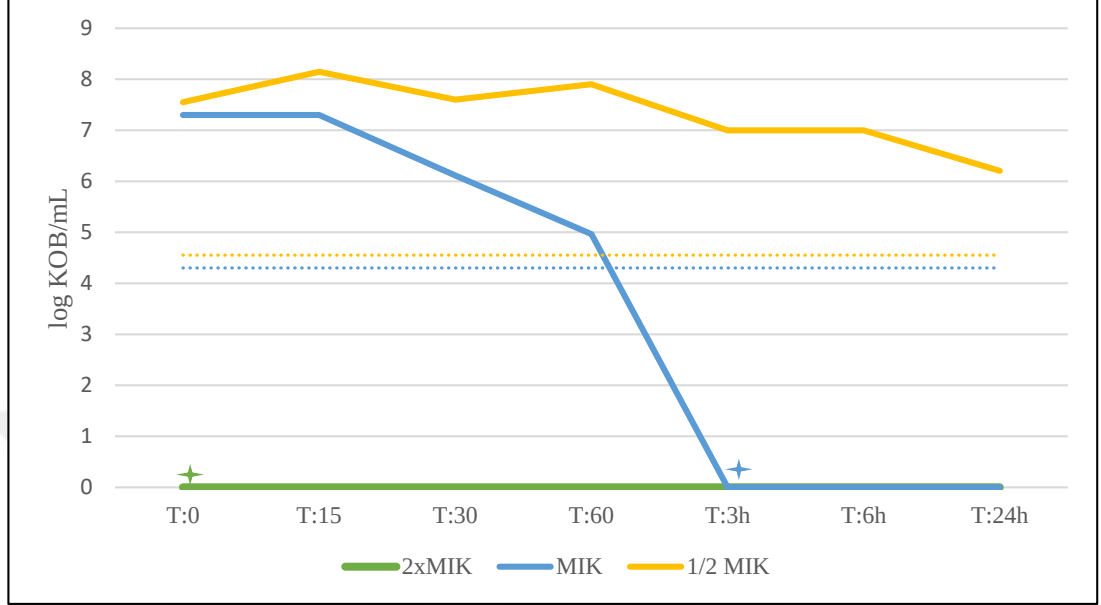
Şekil 4.8 Stevia özütü için logaritmik koloni sayımı sonuçları (*L. acidophilus*)



Stevia çözücüsünün *L. acidophilus* üzerinde 2×MİK konsantrasyonunda maruziyet anı itibariyle bakterisidal etki izlenmiştir. MİK konsantrasyonu ise 3 saat içerisinde bakterisidal etki göstermiştir. 1/2×MİK konsantrasyonunda ise bakterisidal etki

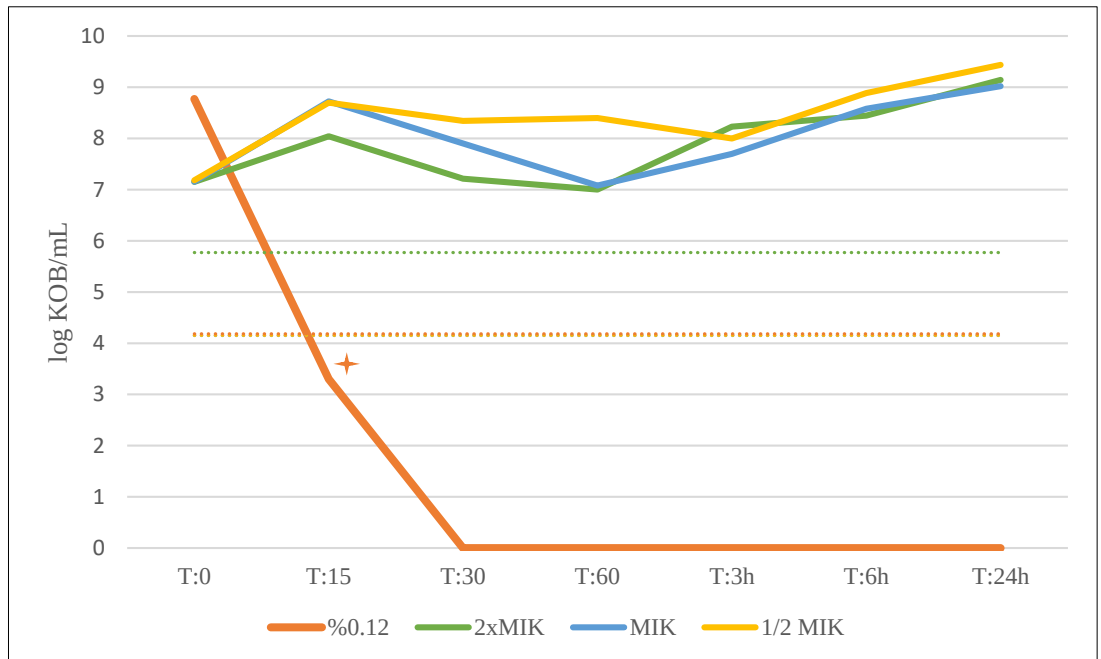
izlenmemiştir (Şekil 4.9). Bununla birlikte $1/2 \times \text{MİK}$ konsantrasyonunda zamana bağlı koloni sayısı azalışında zayıf bir korelasyon tespit edilmiştir.

Şekil 4.9 Stevia çözücüsü için logaritmik koloni sayımı sonuçları (*L. acidophilus*)



Klorheksidinin *L. acidophilus* üzerinde %0,12 konsantrasyonda 15 dakika içinde bakterisidal etki gösterdiği izlenmiştir. Ancak $2 \times \text{MİK}$, MİK ve $1/2 \times \text{MİK}$ konsantrasyonlarında bakterisidal etki görülmemiştir (Şekil 4.10).

Şekil 4.10 Klorheksidin için logaritmik koloni sayımı sonuçları (*L. acidophilus*)



Öldürme kinetiği testinde spektrofotometrik optik yoğunluk ölçümü ile elde edilen veriler değerlendirildiğinde, *S. mutans* için tüm test materyallerinin kuyucuklardaki optik yoğunluğu zamana bağlı olarak artırdığı tespit edilmiştir. (Tablo 4.14)

Tablo 4.14 *S. mutans* için öldürme kinetiği testi optik yoğunluk-zaman ilişkisi

<i>S. mutans</i>		2×MİK	MİK	1/2×MİK	%0,12
Kivi Özütü	Pearson Correlation	0,937**	0,970**	0,986**	
	Sig. (2-tailed)	0,002	<0,0001	<0,0001	
	N	7	7	7	
Kivi Çözücü	Pearson Correlation	0,072	0,404	0,983**	
	Sig. (2-tailed)	0,878	0,368	<0,0001	
	N	7	7	7	
Stevia Özütü	Pearson Correlation	0,973**	0,975**	0,998**	
	Sig. (2-tailed)	<0,0001	<0,0001	<0,0001	
	N	7	7	7	
Stevia Çözücü	Pearson Correlation	0,972**	0,985**	0,986**	
	Sig. (2-tailed)	<0,0001	<0,0001	<0,0001	
	N	7	7	7	0
Klorheksidin	Pearson Correlation	0,990**	0,994**	0,993**	0,749
	Sig. (2-tailed)	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,053
	N	7	7	7	7

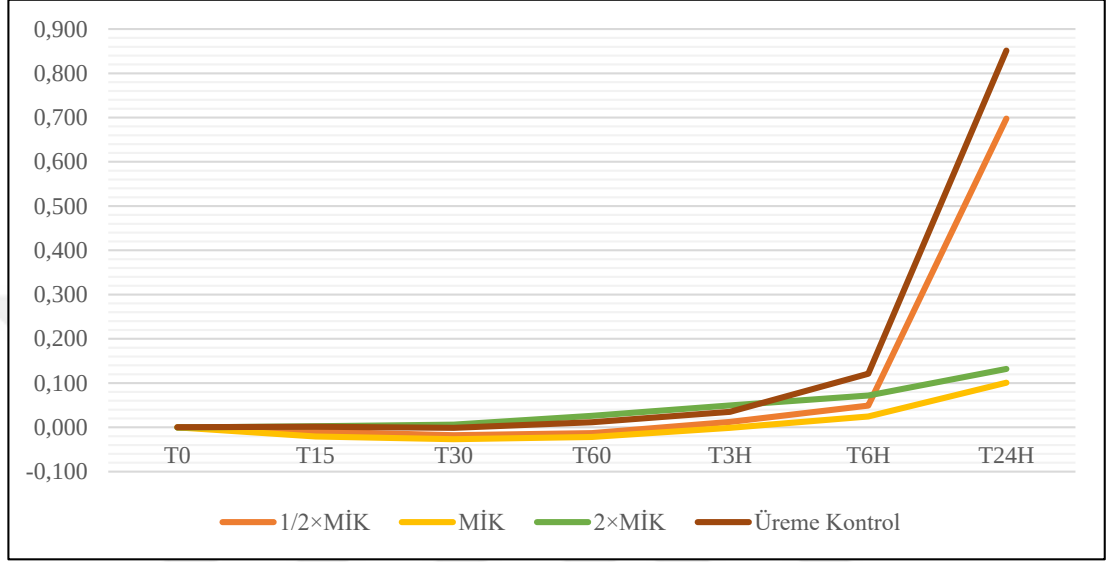
L. acidophilus için elde edilen optik yoğunluk değerleri incelendiğinde yalnızca kivi özütünün 2×MİK konsantrasyonunda optik yoğunlukta zamana bağlı azalışa sebep olduğu, bununla birlikte diğer test materyallerinde zamana bağlı optik yoğunluk değerlerinde artış izlendiği tespit edilmiştir (Tablo 4.15).

Tablo 4.15 *L. acidophilus* için öldürme kinetiği testi optik yoğunluk-zaman ilişkisi

<i>L. acidophilus</i>		2×MİK	MİK	1/2×MİK	%0,12
Kivi Özütü	Pearson Correlation	-0,959**	0,994**	0,936**	
	Sig. (2-tailed)	0,001	<0,0001	0,002	
	N	7	7	7	
Kivi Çözücü	Pearson Correlation	0,880**	0,988**	0,949**	
	Sig. (2-tailed)	0,009	<0,0001	0,001	
	N	7	7	7	
Stevia Özütü	Pearson Correlation	0,915**	0,886**	0,786*	
	Sig. (2-tailed)	0,004	0,008	0,036	
	N	7	7	7	
Stevia Çözücü	Pearson Correlation	0,946**	0,766*	0,927**	
	Sig. (2-tailed)	0,001	0,045	0,003	
	N	7	7	7	
Klorheksidin	Pearson Correlation	0,876**	0,869*	0,875**	0,911**
	Sig. (2-tailed)	0,01	0,011	0,01	0,004
	N	7	7	7	7

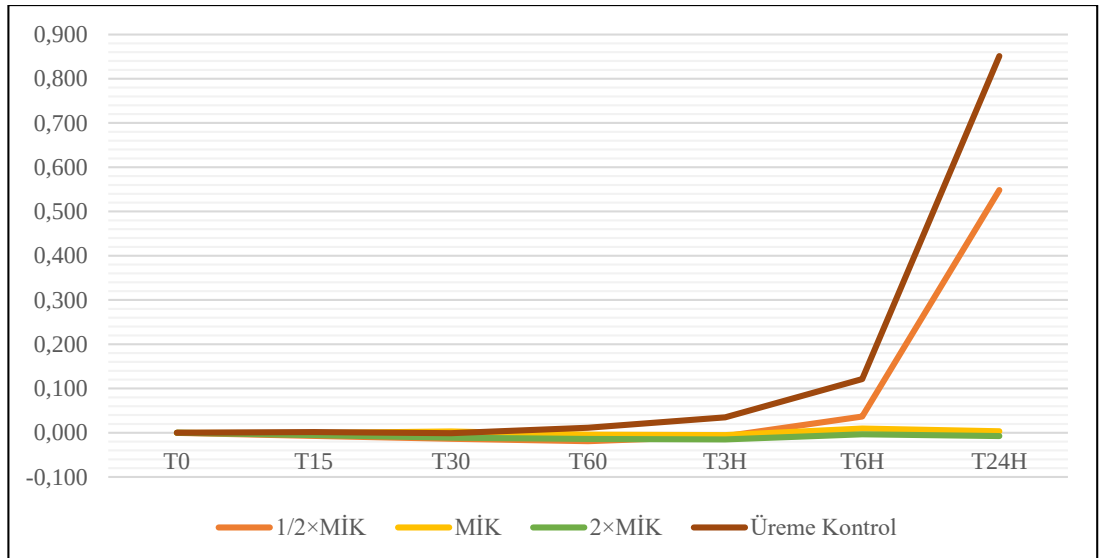
Öldürme testinde *S. mutans* için üreme kontrol kuyucuğu ve kivi özütü uygulanmış kuyucuğun optik yoğunluk grafiği incelendiğinde $2\times\text{MİK}$ ve MİK konsantrasyonlarının $1/2\times\text{MİK}$ konsantrasyonuna göre daha etkili olduğu görülmüştür (Şekil 4.11).

Şekil 4.11 Kivi özütü için OD₄₉₀ sonuçları (*S. mutans*)



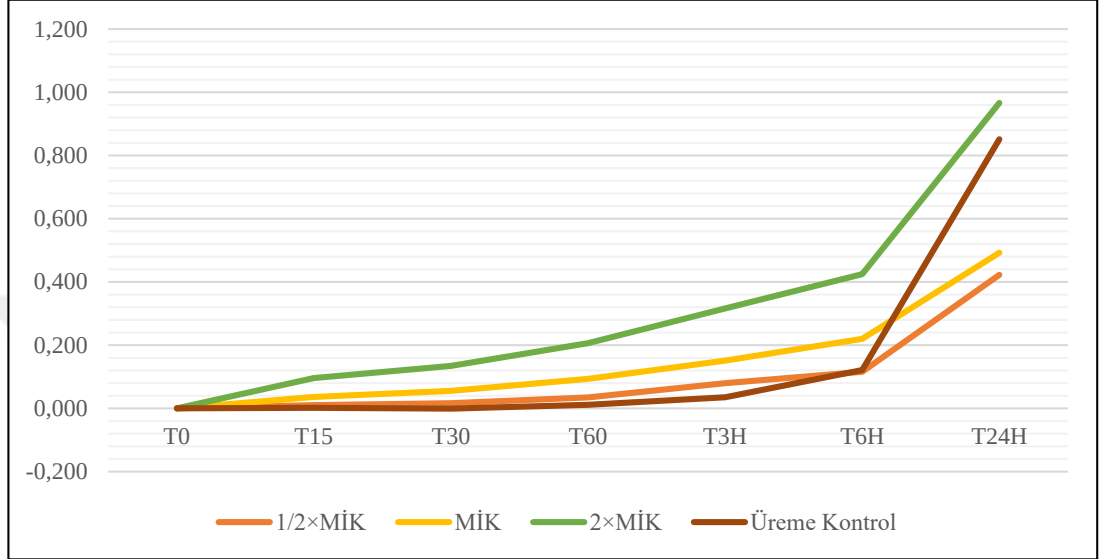
Öldürme testinde *S. mutans* için üreme kontrol kuyucuğu ve kivi çözücüsü uygulanmış kuyucuğun optik yoğunluk grafiği incelendiğinde $2\times\text{MİK}$ ve MİK konsantrasyonlarının $1/2\times\text{MİK}$ konsantrasyonuna göre daha etkili olduğu görülmüştür. Ayrıca aynı konsantrasyonlardaki kivi özütüne kıyasla kivi çözücüsünün üremeyi daha fazla inhibe ettiği izlenmiştir (Şekil 4.12).

Şekil 4.12 Kivi çözücü için OD₄₉₀ sonuçları (*S. mutans*)



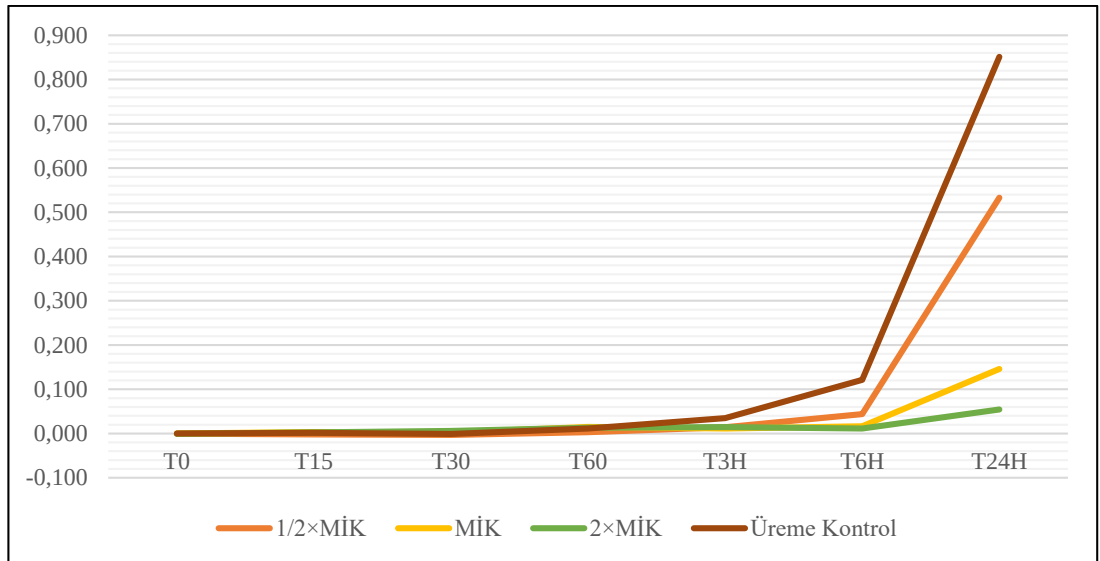
Öldürme testinde *S. mutans* için üreme kontrol kuyucuğu ve stevia özütü uygulanmış kuyucuğun optik yoğunluk grafiği incelendiğinde yalnızca MİK ve $1/2 \times \text{MİK}$ konsantrasyonlarında 24. Saatte üreme kontrolünden daha düşük OD₄₉₀ değerleri izlemiştir (Şekil 4.13).

Şekil 4.13 Stevia özütü için OD₄₉₀ sonuçları (*S. mutans*)



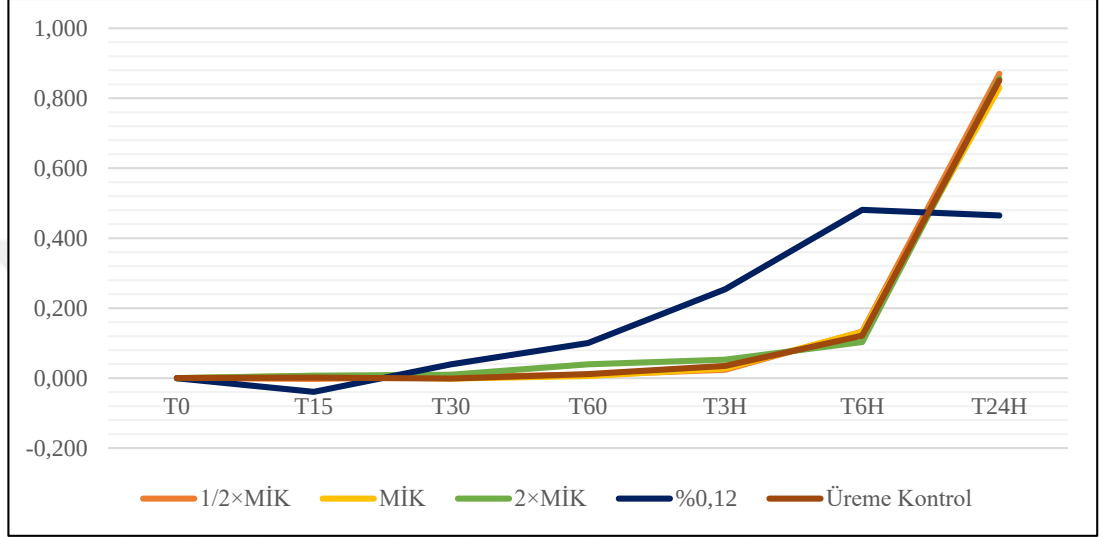
Öldürme testinde *S. mutans* için üreme kontrol kuyucuğu ve stevia çözücüsü uygulanmış kuyucuğun optik yoğunluk grafiği incelendiğinde $2 \times \text{MİK}$ ve MİK konsantrasyonlarının $1/2 \times \text{MİK}$ konsantrasyonuna göre daha etkili olduğu görülmüştür (Şekil 4.14).

Şekil 4.14 Stevia çözücü için OD₄₉₀ sonuçları (*S. mutans*)



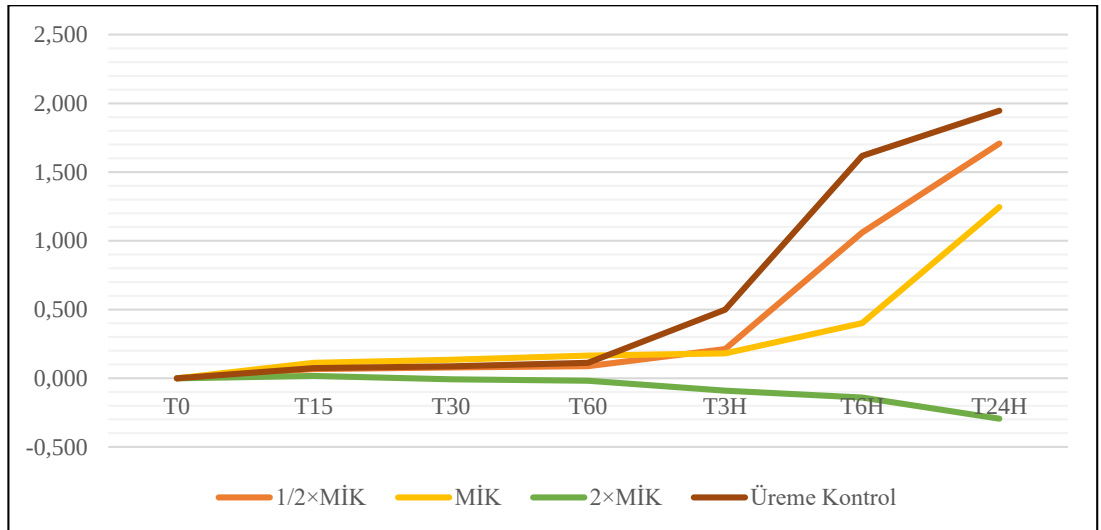
Öldürme testinde *S. mutans* için üreme kontrol kuyucuğu ve klorheksidin uygulanmış kuyucuğun optik yoğunluk grafiği incelendiğinde %0,12 konsantrasyonda 24. saatte büyümede inhibisyon görülmüştür. Ancak $2\times MİK$, $MİK$ ve $1/2\times MİK$ konsantrasyonlarda üreme kontrol kuyucuğu ile paralel veriler elde edilmiştir (Şekil 4.15).

Şekil 4.15 Klorheksidin için OD₄₉₀ sonuçları (*S. mutans*)



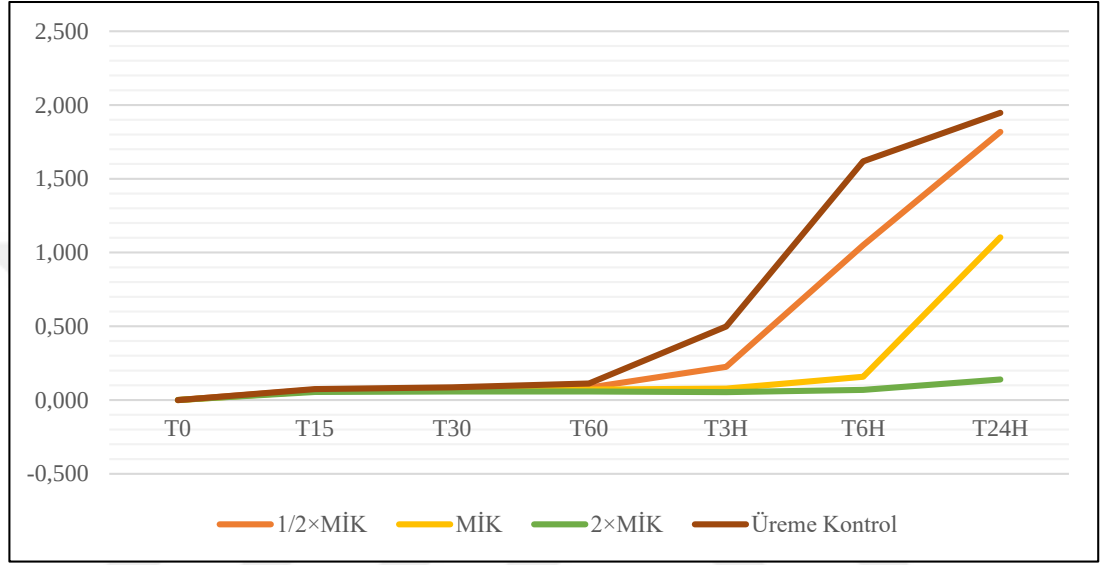
Öldürme testinde *L. acidophilus* için üreme kontrol kuyucuğu ve kivi özütü uygulanmış kuyucuğun optik yoğunluk grafiği incelendiğinde $2\times MİK$ konsantrasyonda OD₄₉₀'da belirgin bir düşüş izlenmiştir. Buna ek olarak $MİK$ ve $1/2\times MİK$ konsantrasyonlarında da üreme kontrol kuyucuğuna kıyasla üremenin inhibe olduğu görülmektedir (Şekil 4.16).

Şekil 4.16 Kivi özütü için OD₄₉₀ sonuçları (*L. acidophilus*)



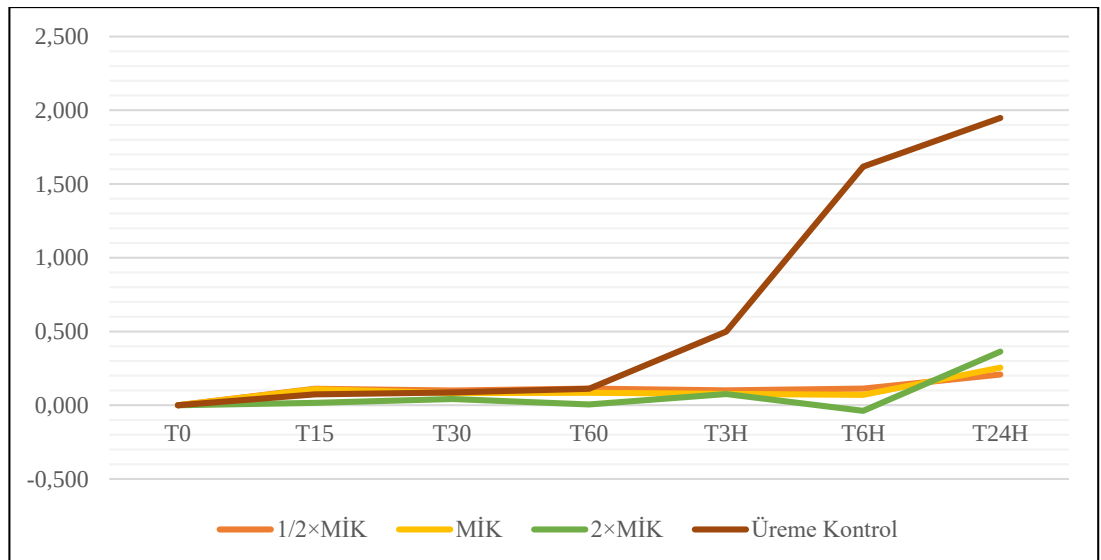
Öldürme testinde *L. acidophilus* için üreme kontrol kuyucuğu ve kivi çözücüsü uygulanmış kuyucuğun optik yoğunluk grafiği incelendiğinde $2 \times \text{MİK}$ konsantrasyonunun MİK ve $1/2 \times \text{MİK}$ konsantrasyonlarına göre daha etkili olduğu görülmüştür. Ayrıca aynı konsantrasyonlarda kıyaslandığında kivi özütünün kivi çözücüsüne göre büyümeyi daha güçlü inhibe ettiği izlenmiştir (Şekil 4.17).

Şekil 4.17 Kivi çözücü için OD₄₉₀ sonuçları (*L. acidophilus*)



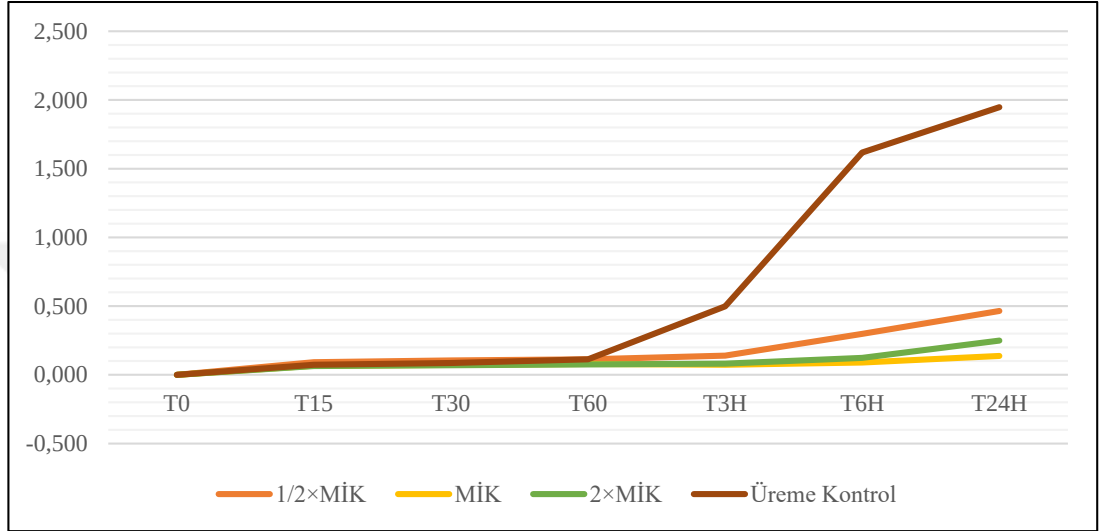
Öldürme testinde *L. acidophilus* için üreme kontrol kuyucuğu ve stevia özütü uygulanmış kuyucuğun optik yoğunluk grafiği incelendiğinde $2 \times \text{MİK}$, MİK ve $1/2 \times \text{MİK}$ konsantrasyonlarında üreme kontrol kuyucuğuna kıyasla OD₄₉₀'da belirgin azalma görülmüştür (Şekil 4.18).

Şekil 4.18 Stevia özütü için OD₄₉₀ sonuçları (*L. acidophilus*)



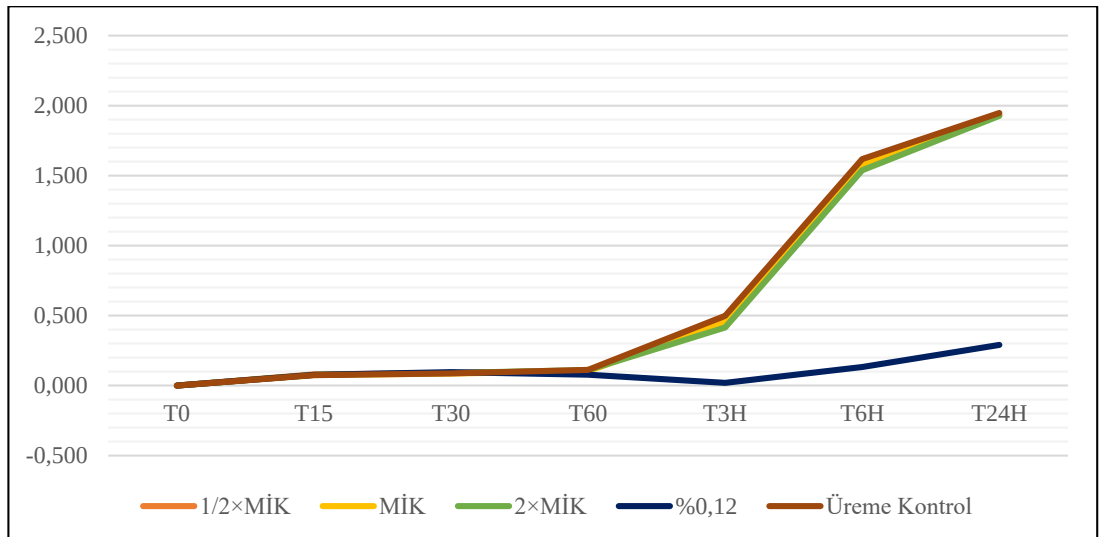
Öldürme testinde *L. acidophilus* için üreme kontrol kuyucuğu ve stevia çözücüsü uygulanmış kuyucuğun optik yoğunluk grafiği incelendiğinde $2 \times \text{MİK}$, MİK ve $1/2 \times \text{MİK}$ konsantrasyonlarında benzer düzeyde azalma izlenmiştir. Ayrıca stevia özütünün stevia çözücüsüne göre OD_{490} 'da daha fazla düşüşe sebep olduğu görülmüştür (Şekil 4.19).

Şekil 4.19 Stevia çözücü için OD_{490} sonuçları (*L. acidophilus*)



Öldürme testinde *L. acidophilus* için üreme kontrol kuyucuğu ve klorheksidin uygulanmış kuyucuğun optik yoğunluk grafiği incelendiğinde %0,12 konsantrasyonda 3. Saatten itibaren büyümede inhibisyon görülmüştür. Ancak $2 \times \text{MİK}$, MİK ve $1/2 \times \text{MİK}$ konsantrasyonlarda üreme kontrol kuyucuğu ile paralel veriler elde edilmiştir (Şekil 4.20).

Şekil 4.20 Klorheksidin için OD_{490} sonuçları (*L. acidophilus*)



4.2.4. Biyofilm Duyarlılık Testi

Biyofilm çalışması sonucunda *S. mutans* biyofilminin OD₅₇₀ değeri 2,200, *L. acidophilus* biyofilminin OD₅₇₀ değeri 0,225 olarak tespit edilmiştir. Oluşan biyofilmin sınıflandırılması için kullanılacak olan eşik değeri (OD_E) 0,085 olarak hesaplandı. *S. mutans* biyofilmi güçlü, *L. acidophilus* biyofilmi orta biyofilm olarak sınıflandırıldı (Tablo 4.16).

Tablo 4.16 Oluşan biyofilmlerin sınıflandırılması

OD Değerleri Aralığı		Sınıflandırma
OD < OD _E	0-0,085	Biyofilm yok
OD _E < OD < (2×OD _E)	0,085-0,170	Zayıf biyofilm
(2×OD _E) < OD < (4×OD _E)	0,170-0,340	Orta biyofilm
(4×OD _E) < OD	>0,340	Güçlü biyofilm

Biyofilm duyarlılık testi sonucu elde edilen OD₅₇₀ verileri pozitif kontrol olan klorheksidin ve diğer test materyalleri ile *S. mutans* için kıyaslandığında klorheksidinin %0,12 konsantrasyonunun biyofilm miktarında diğer tüm gruplara göre daha fazla azalmaya sebep olduğu; bu azalmanın Klorheksidin 2×MİK, Kivi Özütü MİK, Kivi Çözücü 8×MİK, Kivi Çözücü 4×MİK, Kivi Çözücü MİK, Stevia Çözücü 8×MİK, Stevia Çözücü 4×MİK ve Stevia Çözücü MİK test gruplarına göre anlamlı olarak farklı olduğu görülmüştür. Klorheksidinin 2×MİK konsantrasyonda ise yalnızca Stevia Çözücü MİK'e kıyasla anlamlı düzeyde etkin olduğu izlenmiştir (Tablo 4.17).

Tablo 4.17 Biyofilm duyarlılık testi klorheksidin grubu istatistiksel değerlendirilmesi (*S. mutans*)

(I) Gruplar	(J) Gruplar	Ortalama Fark (I-J)	Std. Hata	Sig.	95% Güven Aralığı	
					Alt Değer	Üst Değer
Klorheksidin %0,12	Klorheksidin 4×MİK	-,38550	,15725	,844	-1,6513	,8803
	Klorheksidin 2×MİK	-,48725*	,05903	,039	-,9421	-,0324
	Klorheksidin MİK	-,34800	,18111	,963	-1,8622	1,1662
	Kivi Özütü 8×MİK	-,48775	,08276	,072	-1,0159	,0404
	Kivi Özütü 4×MİK	-,46875	,05599	,056	-,9553	,0178
	Kivi Özütü 2×MİK	-,31975	,11729	,763	-1,1707	,5312
	Kivi Özütü MİK	-,46550*	,06393	,039	-,9042	-,0268

Tablo 4.17 (devam) Biyofilm duyarlılık testi klorheksidin grubu istatistiksel değerlendirilmesi (*S. mutans*)

Klorheksidin %0,12	Kivi Çözücü 8×MİK	-,73375*	,07542	,006	-1,2112	-,2563
	Kivi Çözücü 4×MİK	-,65900*	,06081	,010	-1,1041	-,2139
	Kivi Çözücü 2×MİK	-,63825	,11837	,148	-1,5002	,2237
	Kivi Çözücü MİK	-,69225*	,09507	,034	-1,3255	-,0590
	Stevia Özütü 32×MİK	-,17775	,13190	1,000	-1,1793	-,0680
	Stevia Özütü 16×MİK	-,32500	,06862	,185	-,7708	-,2189
	Stevia Özütü 8×MİK	-,26550	,07325	,430	-,7308	,6233
	Stevia Özütü 4×MİK	-,34625	,12831	,770	-1,3106	-,2269
	Stevia Özütü 2×MİK	-,27500	,11190	,855	-1,0714	,8238
	Stevia Özütü MİK	-,52700	,10574	,176	-1,2621	,1208
	Stevia Çözücü 8×MİK	-,53275*	,07314	,026	-,9975	,6181
	Stevia Çözücü 4×MİK	-,65750*	,06456	,008	-1,0961	,5214
	Stevia Çözücü 2×MİK	-,54325	,14774	,461	-1,7098	,2081
	Stevia Çözücü MİK	-,69800*	,05721	,013	-1,1691	,0404
Klorheksidin 4×MİK	Klorheksidin %0,12	,38550	,15725	,844	-,8803	1,6513
	Klorheksidin 2×MİK	-,10175	,14942	1,000	-1,4747	1,2712
	Klorheksidin MİK	,03750	,22726	1,000	-1,4155	1,4905
	Kivi Özütü 8×MİK	-,10225	,16029	1,000	-1,3425	1,1380
	Kivi Özütü 4×MİK	-,08325	,14825	1,000	-1,4791	1,3126
	Kivi Özütü 2×MİK	,06575	,18055	1,000	-1,1326	1,2641
	Kivi Özütü MİK	-,08000	,15143	1,000	-1,4186	1,2586
	Kivi Çözücü 8×MİK	-,34825	,15663	,906	-1,6202	,9237
	Kivi Çözücü 4×MİK	-,27350	,15014	,971	-1,6336	1,0866
	Kivi Çözücü 2×MİK	-,25275	,18126	1,000	-1,4523	,9468
	Kivi Çözücü MİK	-,30675	,16698	,982	-1,5127	,8992
	Stevia Özütü 32×MİK	,20775	,19037	1,000	-1,0179	1,4334
	Stevia Özütü 16×MİK	,06050	,15347	1,000	-1,2484	1,3694
	Stevia Özütü 8×MİK	,12000	,15559	1,000	-1,1630	1,4030
	Stevia Özütü 4×MİK	,03925	,18790	1,000	-1,1776	1,2561
	Stevia Özütü 2×MİK	,11050	,17710	1,000	-1,0838	1,3048
	Stevia Özütü MİK	-,14150	,17327	1,000	-1,3357	1,0527
	Stevia Çözücü 8×MİK	-,14725	,15554	1,000	-1,4308	1,1363
	Stevia Çözücü 4×MİK	-,27200	,15170	,976	-1,6064	1,0624
	Stevia Çözücü 2×MİK	-,15775	,20167	1,000	-1,4366	1,1211
	Stevia Çözücü MİK	-,31250	,14871	,922	-1,6990	1,0740

Tablo 4.17 (devam) Biyofilm duyarlılık testi klorheksidin grubu istatistiksel değerlendirilmesi (*S. mutans*)

Klorheksidin 2×MİK	Klorheksidin %0,12	,48725*	,05903	,039	,0324	,9421
	Klorheksidin 4×MİK	,10175	,14942	1,000	-1,2712	1,4747
	Klorheksidin MİK	,13925	,17437	1,000	-1,4791	1,7576
	Kivi Özütü 8×MİK	-,00050	,06671	1,000	-,5355	,5345
	Kivi Özütü 4×MİK	,01850	,02714	1,000	-,1702	,2072
	Kivi Özütü 2×MİK	,16750	,10657	,993	-,7776	1,1126
	Kivi Özütü MİK	,02175	,04110	1,000	-,2526	,2961
	Kivi Çözücü 8×MİK	-,24650	,05736	,311	-,6839	,1909
	Kivi Çözücü 4×MİK	-,17175	,03605	,176	-,4025	,0590
	Kivi Çözücü 2×MİK	-,15100	,10776	,998	-1,1081	,8061
	Kivi Çözücü MİK	-,20500	,08149	,821	-,8936	,4836
	Stevia Özütü 32×MİK	,30950	,12247	,814	-,7955	1,4145
	Stevia Özütü 16×MİK	,16225	,04806	,533	-,1798	,5043
	Stevia Özütü 8×MİK	,22175	,05446	,353	-,1857	,6292
	Stevia Özütü 4×MİK	,14100	,11860	1,000	-,9252	1,2072
	Stevia Özütü 2×MİK	,21225	,10061	,925	-,6724	1,0969
	Stevia Özütü MİK	-,03975	,09371	1,000	-,8540	,7745
	Stevia Çözücü 8×MİK	-,04550	,05432	1,000	-,4515	,3605
	Stevia Çözücü 4×MİK	-,17025	,04207	,328	-,4537	,1132
	Stevia Çözücü 2×MİK	-,05600	,13938	1,000	-1,3295	1,2175
	Stevia Çözücü MİK	-,21075*	,02956	,032	-,4025	-,0190
Klorheksidin MİK	Klorheksidin %0,12	,34800	,18111	,963	-1,1662	1,8622
	Klorheksidin 4×MİK	-,03750	,22726	1,000	-1,4905	1,4155
	Klorheksidin 2×MİK	-,13925	,17437	1,000	-1,7576	1,4791
	Kivi Özütü 8×MİK	-,13975	,18376	1,000	-1,6250	1,3455
	Kivi Özütü 4×MİK	-,12075	,17336	1,000	-1,7592	1,5177
	Kivi Özütü 2×MİK	,02825	,20168	1,000	-1,3708	1,4273
	Kivi Özütü MİK	-,11750	,17609	1,000	-1,7044	1,4694
	Kivi Çözücü 8×MİK	-,38575	,18058	,923	-1,9066	1,1351
	Kivi Çözücü 4×MİK	-,31100	,17498	,976	-1,9178	1,2958
	Kivi Çözücü 2×MİK	-,29025	,20231	,999	-1,6887	1,1082
	Kivi Çözücü MİK	-,34425	,18963	,981	-1,7833	1,0948
	Stevia Özütü 32×MİK	,17025	,21052	1,000	-1,2314	1,5719
	Stevia Özütü 16×MİK	,02300	,17784	1,000	-1,5356	1,5816

Tablo 4.17 (devam) Biyofilm duyarlılık testi klorheksidin grubu istatistiksel değerlendirilmesi (*S. mutans*)

Klorheksidin MİK	Stevia Özütü 8×MİK	,08250	,17968	1,000	-1,4499	1,6149
	Stevia Özütü 4×MİK	,00175	,20829	1,000	-1,3972	1,4007
	Stevia Özütü 2×MİK	,07300	,19860	1,000	-1,3307	1,4767
	Stevia Özütü MİK	-,17900	,19519	1,000	-1,5919	1,2339
	Stevia Çözücü 8×MİK	-,18475	,17963	1,000	-1,7178	1,3483
	Stevia Çözücü 4×MİK	-,30950	,17632	,979	-1,8925	1,2735
	Stevia Çözücü 2×MİK	-,19525	,22078	1,000	-1,6226	1,2321
	Stevia Çözücü MİK	-,35000	,17376	,939	-1,9803	1,2803

S. mutans için kivi özütünün biyofilme olan etkisi incelendiğinde diğer test grupları ile arada istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (Tablo 4.18).

Tablo 4.18 Biyofilm duyarlılık testi kivi özütü grubu istatistiksel değerlendirilmesi (*S. mutans*)

(I) Gruplar	(J) Gruplar	Ortalama Fark (I-J)	Std. Hata	Sig.	95% Güven Aralığı	
					Alt Değer	Üst Değer
Kivi Özütü 8×MİK	Kivi Özütü 4×MİK	,01900	,06404	1,000	-,5494	,5874
	Kivi Özütü 2×MİK	,16800	,12134	1,000	-,6740	1,0100
	Kivi Özütü MİK	,02225	,07109	1,000	-,4874	,5319
	Kivi Çözücü 8×MİK	-,24600	,08158	,658	-,7689	,2769
	Kivi Çözücü 4×MİK	-,17125	,06830	,832	-,6937	,3512
	Kivi Çözücü 2×MİK	-,15050	,12238	1,000	-1,0028	,7018
	Kivi Çözücü MİK	-,20450	,10003	,966	-,8504	,4414
	Stevia Özütü 32×MİK	,31000	,13552	,901	-,6742	1,2942
	Stevia Özütü 16×MİK	,16275	,07533	,940	-,3433	,6688
	Stevia Özütü 8×MİK	,22225	,07957	,746	-,2931	,7376
	Stevia Özütü 4×MİK	,14150	,13203	1,000	-,8072	1,0902
	Stevia Özütü 2×MİK	,21275	,11614	,986	-,5788	1,0043
	Stevia Özütü MİK	-,03925	,11021	1,000	-,7750	,6965
Kivi Özütü 4×MİK	Kivi Özütü 8×MİK	-,01900	,06404	1,000	-,5874	,5494
	Kivi Özütü 2×MİK	,14900	,10492	,997	-,8252	1,1232
	Kivi Özütü MİK	,00325	,03660	1,000	-,2824	,2889
	Kivi Çözücü 8×MİK	-,26500	,05423	,253	-,7335	,2035
	Kivi Çözücü 4×MİK	-,19025	,03083	,094	-,4160	,0355
	Kivi Çözücü 2×MİK	-,16950	,10613	,990	-1,1555	,8165
	Kivi Çözücü MİK	-,22350	,07932	,725	-,9451	,4981

Tablo 4.18 (devam) Biyofilm duyarlılık testi kivi özütü grubu istatistiksel değerlendirilmesi (*S. mutans*)

Kivi Özütü 4×MİK	Stevia Özütü 32×MİK	,29100	,12104	,847	-,8406	1,4226
	Stevia Özütü 16×MİK	,14375	,04428	,590	-,2220	,5095
	Stevia Özütü 8×MİK	,20325	,05116	,405	-,2337	,6402
	Stevia Özütü 4×MİK	,12250	,11712	1,000	-,9709	1,2159
	Stevia Özütü 2×MİK	,19375	,09886	,950	-,7210	1,1085
	Stevia Özütü MİK	-,05825	,09183	1,000	-,9038	,7873
Kivi Özütü 2×MİK	Kivi Özütü 8×MİK	-,16800	,12134	1,000	-1,0100	,6740
	Kivi Özütü 4×MİK	-,14900	,10492	,997	-1,1232	,8252
	Kivi Özütü MİK	-,14575	,10937	,999	-1,0527	,7612
	Kivi Çözücü 8×MİK	-,41400	,11646	,482	-1,2681	,4401
	Kivi Çözücü 4×MİK	-,33925	,10757	,621	-1,2692	,5907
	Kivi Çözücü 2×MİK	-,31850	,14793	,949	-1,2546	,6176
	Kivi Çözücü MİK	-,37250	,13005	,717	-1,2229	,4779
	Stevia Özütü 32×MİK	,14200	,15897	1,000	-,8728	1,1568
	Stevia Özütü 16×MİK	-,00525	,11217	1,000	-,8850	,8745
	Stevia Özütü 8×MİK	,05425	,11506	1,000	-,8064	,9149
	Stevia Özütü 4×MİK	-,02650	,15601	1,000	-1,0189	,9659
	Stevia Özütü 2×MİK	,04475	,14281	1,000	-,8603	,9498
	Stevia Özütü MİK	-,20725	,13804	,999	-1,0875	,6730
Kivi Özütü MİK	Kivi Özütü 8×MİK	-,02225	,07109	1,000	-,5319	,4874
	Kivi Özütü 4×MİK	-,00325	,03660	1,000	-,2889	,2824
	Kivi Özütü 2×MİK	,14575	,10937	,999	-,7612	1,0527
	Kivi Çözücü 8×MİK	-,26825	,06240	,276	-,6921	,1556
	Kivi Çözücü 4×MİK	-,19350	,04362	,231	-,4744	,0874
	Kivi Çözücü 2×MİK	-,17275	,11052	,995	-1,0917	,7462
	Kivi Çözücü MİK	-,22675	,08511	,780	-,8808	,4273
	Stevia Özütü 32×MİK	,28775	,12491	,881	-,7800	1,3555
	Stevia Özütü 16×MİK	,14050	,05397	,818	-,2077	,4887
	Stevia Özütü 8×MİK	,20000	,05975	,534	-,1990	,5990
	Stevia Özütü 4×MİK	,11925	,12112	1,000	-,9094	1,1479
	Stevia Özütü 2×MİK	,19050	,10357	,975	-,6561	1,0371
	Stevia Özütü MİK	-,06150	,09688	1,000	-,8383	,7153

S. mutans için stevia özütünün biyofilme olan etkisi incelendiğinde yalnızca 16×MİK ve 8×MİK konsantrasyonlarında Stevia Çözücü MİK konsantrasyonuna göre anlamlı olarak etkili olduğu görülmüştür (Tablo 4.19).

Tablo 4.19 Biyofilm duyarlılık testi stevia özütü grubu istatistiksel değerlendirilmesi (*S. mutans*)

(I) Gruplar	(J) Gruplar	Ortalama Fark (I-J)	Std. Hata	Sig.	95% Güven Aralığı	
					Alt Değer	Üst Değer
Stevia Özütü 32×MİK	Kivi Özütü 8×MİK	-,31000	,13552	,901	-1,2942	,6742
	Kivi Özütü 4×MİK	-,29100	,12104	,847	-1,4226	,8406
	Kivi Özütü 2×MİK	-,14200	,15897	1,000	-1,1568	,8728
	Kivi Özütü MİK	-,28775	,12491	,881	-1,3555	,7800
	Stevia Özütü 16×MİK	-,14725	,12737	1,000	-1,1857	,8912
	Stevia Özütü 8×MİK	-,08775	,12992	1,000	-1,1030	,9275
	Stevia Özütü 4×MİK	-,16850	,16727	1,000	-1,2275	,8905
	Stevia Özütü 2×MİK	-,09725	,15504	1,000	-1,0955	,9010
	Stevia Özütü MİK	-,34925	,15065	,907	-1,3332	,6347
	Stevia Çözücü 8×MİK	-,35500	,12987	,756	-1,3707	,6607
	Stevia Çözücü 4×MİK	-,47975	,12524	,436	-1,5432	,5837
	Stevia Çözücü 2×MİK	-,36550	,18260	,973	-1,5296	,7986
	Stevia Çözücü MİK	-,52025	,12161	,361	-1,6409	,6004
Stevia Özütü 16×MİK	Kivi Özütü 8×MİK	-,16275	,07533	,940	-,6688	,3433
	Kivi Özütü 4×MİK	-,14375	,04428	,590	-,5095	,2220
	Kivi Özütü 2×MİK	,00525	,11217	1,000	-,8745	,8850
	Kivi Özütü MİK	-,14050	,05397	,818	-,4887	,2077
	Stevia Özütü 32×MİK	,14725	,12737	1,000	-,8912	1,1857
	Stevia Özütü 8×MİK	,05950	,06473	1,000	-,3544	,4734
	Stevia Özütü 4×MİK	-,02125	,12365	1,000	-1,0209	,9784
	Stevia Özütü 2×MİK	,05000	,10652	1,000	-,7709	,8709
	Stevia Özütü MİK	-,20200	,10003	,955	-,9554	,5514
	Stevia Çözücü 8×MİK	-,20775	,06462	,578	-,6207	,2052
	Stevia Çözücü 4×MİK	-,33250	,05472	,064	-,6835	,0185
	Stevia Çözücü 2×MİK	-,21825	,14371	,996	-1,4264	,9899
	Stevia Çözücü MİK	-,37300*	,04581	,041	-,7252	-,0208
Stevia Özütü 8×MİK	Kivi Özütü 8×MİK	-,22225	,07957	,746	-,7376	,2931
	Kivi Özütü 4×MİK	-,20325	,05116	,405	-,6402	,2337
	Kivi Özütü 2×MİK	-,05425	,11506	1,000	-,9149	,8064
	Kivi Özütü MİK	-,20000	,05975	,534	-,5990	,1990

Tablo 4.19 (devam) Biyofilm duyarlılık testi stevia özütü grubu istatistiksel değerlendirilmesi (*S. mutans*)

Stevia Özütü 8×MİK	Stevia Özütü 32×MİK	,08775	,12992	1,000	-,9275	1,1030
	Stevia Özütü 16×MİK	-,05950	,06473	1,000	-,4734	,3544
	Stevia Özütü 4×MİK	-,08075	,12628	1,000	-1,0580	,8965
	Stevia Özütü 2×MİK	-,00950	,10956	1,000	-,8136	,7946
	Stevia Özütü MİK	-,26150	,10326	,830	-1,0014	,4784
	Stevia Çözücü 8×MİK	-,26725	,06951	,362	-,7071	,1726
	Stevia Çözücü 4×MİK	-,39200	,06042	,055	-,7920	,0080
	Stevia Çözücü 2×MİK	-,27775	,14597	,967	-1,4606	,9051
	Stevia Çözücü MİK	-,43250*	,05248	,046	-,8543	-,0107
Stevia Özütü 4×MİK	Kivi Özütü 8×MİK	-,14150	,13203	1,000	-1,0902	,8072
	Kivi Özütü 4×MİK	-,12250	,11712	1,000	-1,2159	,9709
	Kivi Özütü 2×MİK	,02650	,15601	1,000	-,9659	1,0189
	Kivi Özütü MİK	-,11925	,12112	1,000	-1,1479	,9094
	Stevia Özütü 32×MİK	,16850	,16727	1,000	-,8905	1,2275
	Stevia Özütü 16×MİK	,02125	,12365	1,000	-,9784	1,0209
	Stevia Özütü 8×MİK	,08075	,12628	1,000	-,8965	1,0580
	Stevia Özütü 2×MİK	,07125	,15200	1,000	-,9025	1,0450
	Stevia Özütü MİK	-,18075	,14752	1,000	-1,1378	,7763
	Stevia Çözücü 8×MİK	-,18650	,12622	,998	-1,1642	,7912
	Stevia Çözücü 4×MİK	-,31125	,12145	,807	-1,3356	,7131
	Stevia Çözücü 2×MİK	-,19700	,18002	1,000	-1,3494	,9554
	Stevia Çözücü MİK	-,35175	,11770	,673	-1,4339	,7304
Stevia Özütü 2×MİK	Kivi Özütü 8×MİK	-,21275	,11614	,986	-1,0043	,5788
	Kivi Özütü 4×MİK	-,19375	,09886	,950	-1,1085	,7210
	Kivi Özütü 2×MİK	-,04475	,14281	1,000	-,9498	,8603
	Kivi Özütü MİK	-,19050	,10357	,975	-1,0371	,6561
	Stevia Özütü 32×MİK	,09725	,15504	1,000	-,9010	1,0955
	Stevia Özütü 16×MİK	-,05000	,10652	1,000	-,8709	,7709
	Stevia Özütü 8×MİK	,00950	,10956	1,000	-,7946	,8136
	Stevia Özütü 4×MİK	-,07125	,15200	1,000	-1,0450	,9025
	Stevia Özütü MİK	-,25200	,13349	,985	-1,0987	,5947
	Stevia Çözücü 8×MİK	-,25775	,10949	,882	-1,0621	,5466
	Stevia Çözücü 4×MİK	-,38250	,10396	,465	-1,2251	,4601
	Stevia Çözücü 2×MİK	-,26825	,16872	,998	-1,3850	,8485
	Stevia Çözücü MİK	-,42300	,09955	,363	-1,3251	,4791
Stevia Özütü MİK	Kivi Özütü 8×MİK	,03925	,11021	1,000	-,6965	,7750
	Kivi Özütü 4×MİK	,05825	,09183	1,000	-,7873	,9038
	Kivi Özütü 2×MİK	,20725	,13804	,999	-,6730	1,0875
	Kivi Özütü MİK	,06150	,09688	1,000	-,7153	,8383

Tablo 4.19 (devam) Biyofilm duyarlılık testi stevia özütü grubu istatistiksel değerlendirilmesi (*S. mutans*)

Stevia Özütü MİK	Stevia Özütü 32×MİK	,34925	,15065	,907	-,6347	1,3332
	Stevia Özütü 16×MİK	,20200	,10003	,955	-,5514	,9554
	Stevia Özütü 8×MİK	,26150	,10326	,830	-,4784	1,0014
	Stevia Özütü 4×MİK	,18075	,14752	1,000	-,7763	1,1378
	Stevia Özütü 2×MİK	,25200	,13349	,985	-,5947	1,0987
	Stevia Çözücü 8×MİK	-,00575	,10319	1,000	-,7459	,7344
	Stevia Çözücü 4×MİK	-,13050	,09729	,999	-,9035	,6425
	Stevia Çözücü 2×MİK	-,01625	,16469	1,000	-1,1281	1,0956
	Stevia Çözücü MİK	-,17100	,09258	,968	-1,0032	,6612

L. acidophilus ile yapılan biyofilm duyarlılık testi sonucu elde edilen OD₅₇₀ verileri pozitif kontrol olan klorheksidin ve diğer test materyalleri ile kıyaslandığında klorheksidinin %0,12 konsantrasyonunun biyofilm miktarında diğer tüm gruplara göre daha fazla azalmaya sebep olduğu; bu azalmanın Kivi Özütü MİK, Stevia Özütü 2×MİK ve Stevia Çözücü MİK test gruplarına göre anlamlı olarak farklı olduğu görülmüştür. Klorheksidinin 4×MİK, 2×MİK ve MİK konsantrasyonlarında ise diğer test gruplarına göre anlamlı farklılık izlenmemiştir (Tablo 4.20).

Tablo 4.20 Biyofilm duyarlılık testi klorheksidin grubu istatistiksel değerlendirilmesi (*L. acidophilus*)

(I) Gruplar	(J) Gruplar	Ortalama Fark (I-J)	Std. Hata	Sig.	95% Güven Aralığı	
					Alt Değer	Üst Değer
Klorheksidin %0,12	Klorheksidin 4×MİK	-,08975	,06246	,995	-,6495	,4700
	Klorheksidin 2×MİK	-,03850	,01956	,948	-,1820	,1050
	Klorheksidin MİK	-,14525	,03202	,278	-,4132	,1227
	Kivi Özütü 4×MİK	-,05400	,01360	,303	-,1404	,0324
	Kivi Özütü 2×MİK	-,06225	,01761	,446	-,1863	,0618
	Kivi Özütü MİK	-,12575*	,01465	,015	-,2216	-,0299
	Kivi Çözücü 4×MİK	-,05150	,05526	1,000	-,5432	,4402
	Kivi Çözücü 2×MİK	-,00375	,01459	1,000	-,0989	,0914
	Kivi Çözücü MİK	,00175	,01601	1,000	-,1068	,1103
	Stevia Özütü 4×MİK	-,01000	,00957	1,000	-,0723	,0523
	Stevia Özütü 2×MİK	-,10250*	,01084	,006	-,1689	-,0361
	Stevia Özütü MİK	-,07900	,01317	,061	-,1617	,0037
	Stevia Çözücü 2×MİK	-,01075	,01504	1,000	-,1101	,0886
	Stevia Çözücü MİK	-,10375	,01583	,056	-,2106	,0031

Tablo 4.20 (devam) Biyofilm duyarlılık testi klorheksidin grubu istatistiksel değerlendirilmesi (*L. acidophilus*)

Klorheksidin 4×MİK	Klorheksidin %0,12	,08975	,06246	,995	-,4700	,6495
	Klorheksidin 2×MİK	,05125	,06447	1,000	-,4773	,5798
	Klorheksidin MİK	-,05550	,06927	1,000	-,5463	,4353
	Kivi Özütü 4×MİK	,03575	,06292	1,000	-,5158	,5873
	Kivi Özütü 2×MİK	,02750	,06390	1,000	-,5086	,5636
	Kivi Özütü MİK	-,03600	,06315	1,000	-,5836	,5116
	Kivi Çözücü 4×MİK	,03825	,08263	1,000	-,4694	,5459
	Kivi Çözücü 2×MİK	,08600	,06314	,997	-,4618	,6338
	Kivi Çözücü MİK	,09150	,06348	,995	-,4509	,6339
	Stevia Özütü 4×MİK	,07975	,06217	,999	-,4856	,6451
	Stevia Özütü 2×MİK	-,01275	,06238	1,000	-,5740	,5485
	Stevia Özütü MİK	,01075	,06282	1,000	-,5424	,5639
	Stevia Çözücü 2×MİK	,07900	,06324	,999	-,4671	,6251
	Stevia Çözücü MİK	-,01400	,06343	1,000	-,5571	,5291
Klorheksidin 2×MİK	Klorheksidin %0,12	,03850	,01956	,948	-,1050	,1820
	Klorheksidin 4×MİK	-,05125	,06447	1,000	-,5798	,4773
	Klorheksidin MİK	-,10675	,03578	,626	-,3493	,1358
	Kivi Özütü 4×MİK	-,01550	,02097	1,000	-,1548	,1238
	Kivi Özütü 2×MİK	-,02375	,02377	1,000	-,1699	,1224
	Kivi Özütü MİK	-,08725	,02167	,295	-,2268	,0523
	Kivi Çözücü 4×MİK	-,01300	,05752	1,000	-,4723	,4463
	Kivi Çözücü 2×MİK	,03475	,02163	,995	-,1047	,1742
	Kivi Çözücü MİK	,04025	,02261	,986	-,1013	,1818
	Stevia Özütü 4×MİK	,02850	,01862	,992	-,1234	,1804
	Stevia Özütü 2×MİK	-,06400	,01930	,523	-,2092	,0812
	Stevia Özütü MİK	-,04050	,02069	,958	-,1800	,0990
	Stevia Çözücü 2×MİK	,02775	,02193	1,000	-,1122	,1677
	Stevia Çözücü MİK	-,06525	,02248	,655	-,2065	,0760
Klorheksidin MİK	Klorheksidin %0,12	,14525	,03202	,278	-,1227	,4132
	Klorheksidin 4×MİK	,05550	,06927	1,000	-,4353	,5463
	Klorheksidin 2×MİK	,10675	,03578	,626	-,1358	,3493
	Kivi Özütü 4×MİK	,09125	,03290	,704	-,1663	,3488
	Kivi Özütü 2×MİK	,08300	,03475	,841	-,1624	,3284
	Kivi Özütü MİK	,01950	,03335	1,000	-,2341	,2731
	Kivi Çözücü 4×MİK	,09375	,06286	,997	-,3344	,5219
	Kivi Çözücü 2×MİK	,14150	,03332	,300	-,1123	,3953
	Kivi Çözücü MİK	,14700	,03397	,275	-,1022	,3962

Tablo 4.20 (devam) Biyofilm duyarlılık testi klorheksidin grubu istatistiksel değerlendirilmesi (*L. acidophilus*)

Klorheksidin MİK	Stevia Özütü 4×MİK	,13525	,03145	,327	-,1415	,4120
	Stevia Özütü 2×MİK	,04275	,03186	,998	-,2274	,3129
	Stevia Özütü MİK	,06625	,03273	,929	-,1931	,3256
	Stevia Çözücü 2×MİK	,13450	,03352	,343	-,1177	,3867
	Stevia Çözücü MİK	,04150	,03389	1,000	-,2083	,2913

L. acidophilus için kivi özütünün biyofilme olan etkisi incelendiğinde, kivi özütünün MİK konsantrasyonundaki azalmanın Kivi Çözücü 2×MİK, Kivi Çözücü MİK ve Stevia Özütü 4×MİK test gruplarına göre istatistiksel olarak daha az azalışa sebep olduğu izlenmiştir (Tablo 4.21).

Tablo 4.21 Biyofilm duyarlılık testi kivi özütü grubu istatistiksel değerlendirilmesi (*L. acidophilus*)

(I) Gruplar	(J) Gruplar	Ortalama Fark (I-J)	Std. Hata	Sig.	95% Güven Aralığı	
					Alt Değer	Üst Değer
Kivi Özütü 4×MİK	Kivi Özütü 2×MİK	-,00825	,01917	1,000	-,1311	,1146
	Kivi Özütü MİK	-,07175	,01649	,212	-,1729	,0294
	Kivi Çözücü 4×MİK	,00250	,05578	1,000	-,4803	,4853
	Kivi Çözücü 2×MİK	,05025	,01643	,591	-,0505	,1510
	Kivi Çözücü MİK	,05575	,01771	,556	-,0547	,1662
	Stevia Özütü 4×MİK	,04400	,01221	,430	-,0437	,1317
	Stevia Özütü 2×MİK	-,04850	,01323	,389	-,1344	,0374
	Stevia Özütü MİK	-,02500	,01519	,995	-,1178	,0678
Kivi Özütü 2×MİK	Kivi Özütü 4×MİK	,00825	,01917	1,000	-,1146	,1311
	Kivi Özütü MİK	-,06350	,01993	,542	-,1881	,0611
	Kivi Çözücü 4×MİK	,01075	,05689	1,000	-,4561	,4776
	Kivi Çözücü 2×MİK	,05850	,01988	,638	-,0660	,1830
	Kivi Çözücü MİK	,06400	,02094	,592	-,0647	,1927
	Stevia Özütü 4×MİK	,05225	,01655	,578	-,0790	,1835
	Stevia Özütü 2×MİK	-,04025	,01732	,859	-,1656	,0851
	Stevia Özütü MİK	-,01675	,01886	1,000	-,1392	,1057
Kivi Özütü MİK	Kivi Özütü 4×MİK	,07175	,01649	,212	-,0294	,1729
	Kivi Özütü 2×MİK	,06350	,01993	,542	-,0611	,1881
	Kivi Çözücü 4×MİK	,07425	,05604	,998	-,4044	,5529
	Kivi Çözücü 2×MİK	,12200*	,01731	,025	,0163	,2277
	Kivi Çözücü MİK	,12750*	,01853	,029	,0137	,2413
	Stevia Özütü 4×MİK	,11575*	,01337	,029	,0165	,2150
	Stevia Özütü 2×MİK	,02325	,01431	,993	-,0727	,1192
	Stevia Özütü MİK	,04675	,01614	,657	-,0528	,1463

L. acidophilus için stevia özütünün biyofilme olan etkisi incelendiğinde stevia özütü 4×MİK konsantrasyonunun biyofilm azaltma etkisinin kivi özütü MİK konsantrasyonuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde fazla olduğu görülmüştür. Buna ek olarak stevia özütünün 4×MİK konsantrasyonda 2×MİK konsantrasyona göre biyofilme etkisi istatistiksel olarak fazla görülmüştür. (Tablo 4.21).

Tablo 4.22 Biyofilm duyarlılık testi stevia özütü grubu istatistiksel değerlendirilmesi (*L. acidophilus*)

(I) Gruplar	(J) Gruplar	Ortalama Fark (I-J)	Std. Hata	Sig.	95% Güven Aralığı	
					Alt Değer	Üst Değer
Stevia Özütü 4×MİK	Kivi Özütü 4×MİK	-,04400	,01221	,430	-,1317	,0437
	Kivi Özütü 2×MİK	-,05225	,01655	,578	-,1835	,0790
	Kivi Özütü MİK	-,11575*	,01337	,029	-,2150	-,0165
	Stevia Özütü 2×MİK	-,09250*	,00903	,005	-,1500	-,0350
	Stevia Özütü MİK	-,06900	,01172	,098	-,1518	,0138
	Stevia Çözücü 2×MİK	-,00075	,01379	1,000	-,1042	,1027
	Stevia Çözücü MİK	-,09375	,01465	,091	-,2059	,0184
Stevia Özütü 2×MİK	Kivi Özütü 4×MİK	,04850	,01323	,389	-,0374	,1344
	Kivi Özütü 2×MİK	,04025	,01732	,859	-,0851	,1656
	Kivi Özütü MİK	-,02325	,01431	,993	-,1192	,0727
	Stevia Özütü 4×MİK	,09250*	,00903	,005	,0350	,1500
	Stevia Özütü MİK	,02350	,01278	,979	-,0584	,1054
	Stevia Çözücü 2×MİK	,09175	,01470	,069	-,0079	,1914
	Stevia Çözücü MİK	-,00125	,01551	1,000	-,1087	,1062
Stevia Özütü MİK	Kivi Özütü 4×MİK	,02500	,01519	,995	-,0678	,1178
	Kivi Özütü 2×MİK	,01675	,01886	1,000	-,1057	,1392
	Kivi Özütü MİK	-,04675	,01614	,657	-,1463	,0528
	Stevia Özütü 4×MİK	,06900	,01172	,098	-,0138	,1518
	Stevia Özütü 2×MİK	-,02350	,01278	,979	-,1054	,0584
	Stevia Çözücü 2×MİK	,06825	,01648	,257	-,0340	,1705
	Stevia Çözücü MİK	-,02475	,01721	,999	-,1329	,0834

5. TARTIŞMA

Diş çürüğü, biyofilmin aracılık ettiği, şeker kaynaklı, çok faktörlü bir hastalık olup; diş sert dokularının demineralizasyon-remineralizasyon dengesinin bozulmasıyla sonuçlanan dinamik bir süreçtir. Patolojik ve koruyucu faktörler arasındaki denge, çürüğün oluşumunu ya da önlenmesini belirler. Önlenebilir bir hastalık olmasına rağmen nüfus genelinde eşit olmayan bir dağılıma sahip olan diş çürüğü, önemli ölçüde ekonomik yük yaratmakta ve yaşam kalitesini olumsuz etkilemektedir. Bu sebeple çürük tedavisi geçmişte girişimsel yöntemlerle dayanmış olsa da, güncel yaklaşım daha bütüncül, uzun vadeli, hasta merkezli, önleyici tedavilere odaklanmaktadır.⁽³¹⁾

Diş çürüklerinin önlenmesinde temel koruyucu faktörler arasında sağlıklı diyet, düzenli bireysel ve profesyonel florür uygulamaları, koruyucu fissür örtücüler ve normal tükürük fonksiyonları yer alır. Koruyucu faktörlerin bulunduğu bireylerde fermente olabilen karbonhidrat yoğunluğu azalır, asit üreten mikroorganizmaların oranı ve aktivitesi azalır, plak pH'ı artar; böylece çürük oluşumu engellenmiş olur. Aksi durumda ise çürük oluşumu ilerler.⁽³¹⁾ Yeni geliştirilecek koruyucu mekanizmaların da benzer şekilde çürük oluşturan mikroorganizmalar aleyhine bir ekolojik ortam oluşturarak çürük aktivitesini azaltması beklenmektedir.

Çürüğün mikrobiyolojisini inceleyen çalışmalar, çürük oluşumundan sorumlu tek bir bakteri tespit edememiş olmakla birlikte; asit üretebilmeleri, asidik ortamda hayatta kalabilmeleri, biyofilm yapısı oluşturabilmeleri, çürük lezyonlarından izole edilebilmeleri gibi özellikleri sebebiyle, *S. mutans* ve laktobasil türleri pek çok araştırmada odak haline gelmiştir.⁽²²⁾

Diş çürüğü oluşumunda rol oynayan mikroorganizmaların uzaklaştırılmasında en yaygın uygulama dişlerin fırçalanmasıdır. Diş macunu ve ağız çalkalama suları gibi yan ürünler, bu mekanik temizliğin etkinliğini artırmaktadır. Bu amaçla geçmişten günümüze birçok kimyasal ajan geliştirilmiştir. Ancak, bu ürünlerin olası yan etkileri nedeniyle doğal çözümlere olan ilgi gittikçe artmaktadır.⁽⁴⁶⁾

Bitkilerden elde edilen doğal ürünlerin bol miktarda biyolojik aktif bileşen içerdiğinin gösterilmesiyle birlikte, bazı bitki özütlerinin potansiyel antimikrobiyal etkileri

değerlendirilmeye başlanmıştır.⁽¹²²⁾ Geçmiş çalışmalar çeşitli bitkilerin oral patojen mikroorganizmalar üzerinde antimikrobiyal etkinliğini değerlendirmiştir.

Hammer ve ark.⁽¹²³⁾ yaptıkları çalışmada 161 farklı oral patojen üzerinde çay ağacı yağının antimikrobiyal etkinliğini değerlendirmiştir. Çalışmada MİK ve MBK değerlerinin hacimce %0,003 ile %2 konsantrasyonlar arasında değiştiği tespit edilmiştir. *S. mutans* ve *Lactobacillus rhamnosus* üzerinde yapılan öldürme kinetiği testi, %0,5 konsantrasyonda çay ağacı yağının 30 saniyede canlı hücre sayısında belirgin düşüşe neden olduğunu ve 5 dakika sonunda canlı hücrelerin tamamını ortadan kaldırdığını göstermiştir.

Nostro ve ark.⁽¹²⁴⁾ altın otu bitkisinin etanolik özütünün oral streptokoklara karşı antibakteriyel ve adezyon önleyici etkisi incelenmiştir. Çalışmada, değerlendirilen streptokok türleri için MİK değeri 31,25–62,50 µg/mL arasında bulunmuş, özütün daha düşük konsantrasyonlarda dahi *S. mutans*'ın adezyon yeteneğinde azalmaya yol açtığı gözlenmiştir.

Takarada ve ark.⁽¹²⁵⁾ çeşitli bitkilerin esansiyel yağlarının periodontal ve çürük yapıcı patojenler üzerindeki antimikrobiyal etkinliğini, adezyon önleyici etkisini ve insan hücreleri üzerindeki sitotoksitesi değerlendirilmiştir. Manuka, çay ağacı, okaliptüs, lavanta ve biberiye yağları arasında, tüm mikroorganizmalar üzerinde en etkili olan %0,03-0,25 aralığında konsantrasyonlarda değişen MİK değerleriyle manuka yağı olmuştur. Lavanta ve biberiye yağları ise *Streptococcus sobrinus* ve *S. mutans* üzerinde antimikrobiyal etkinlik göstermemiştir. Bununla birlikte tüm yağların *S. mutans*'ın adezyonunu azalttığı izlenmiştir.

Grosso ve ark.⁽¹²⁶⁾ iki farklı sarımsak türünün bitkisel özütlerinin oral mikrobiyota üzerindeki etkisini in vitro ve in vivo olarak değerlendirmiştir. In vitro çalışmada, özütlerin MİK değeri 0,5-64mg/mL, MBK değerleri 1-128 mg/mL arasında bulunmuştur. In vivo çalışma sonucunda %2,5 sarımsak özütü solüsyonu ile ağız çalkalamanın mutans streptokokları üzerinde belirgin bir antimikrobiyal etkinlik gösterdiği; bununla birlikte kötü tat, ağız kokusu, mide bulantısı gibi birtakım yan etkilerin bildirildiği belirtilmiştir.

Singla ve ark.⁽¹²⁷⁾ nar, üzüm çekirdeği ve guava özütlerinden elde edilen ağız çalkalama sularının tükürükteki streptokok sayılarına etkisini incelemiştir. Ağız

çalkalama sularının günde iki kez kullanımının ardından, 48 saat ve 7 gün sonra alınan tükürük örneklerinde oral streptokok kolonilerinin sayısında belirgin bir düşüş gözlenmiştir. Üç özüt arasında en etkili olan üzüm çekirdeği özütü olup, bunu sırasıyla nar ve guava özütleri takip etmiştir.

Carvalho ve ark.⁽⁵⁹⁾ karanfil, tarçın, kekik ve karakınık bitkilerinden elde edilen özütlerin *Staphylococcus aureus*, *S. mutans*, *Lactobacillus lactis* ve *Enterococcus faecalis* üzerine antimikrobiyal ve antibiyofilm etkinliklerini değerlendirmiştir. Çalışma sonucunda tüm özütlerin, test edilen suşlar üzerinde pozitif kontrol olarak kullanılmış olan klorheksidine benzer etkinlik gösterdiği tespit edilmiş, özellikle tarçın özütünün *S. mutans* üzerinde güçlü bir baskılayıcı etkisi olduğu belirtilmiştir. Biyofilm testlerinde ise özütlerin *Staphylococcus aureus* ve *S. mutans* üzerinde etkinliği saptanmazken, *Enterococcus faecalis*'in oluşturduğu biyofilm üzerinde zayıf bir etkisi olduğu rapor edilmiştir.

Fani ve Kohanteb⁽¹²⁸⁾, karyojenik, periodontal ve fırsatçı periodontal patojen mikroorganizmalar üzerinde aloe vera bitkisinden elde edilen jelin antibakteriyel etkisini disk difüzyon ve sıvı mikrodilüsyon yöntemleriyle değerlendirmiştir. Çalışmada test edilen bakteriler arasında en duyarlı tür *S. mutans* olmuş ve bu tür için MİK değeri 12,5 µg/mL olarak tespit edilmiştir.

Ferrazzano ve ark.⁽¹²⁹⁾ 12-18 yaşları arasındaki gençlerde yeşil çay özütü ile hazırlanmış ağız çalkalama suyunun oral streptokok ve laktobasil sayılarına etkisini değerlendirmiştir. Günde üç kez kullanım sonrası 4. ve 7. günlerde alınan tükürük örnekleri, çalışma başlangıcında alınan örneklerle kıyaslandığında, yeşil çay özütüyle hazırlanan ağız çalkalama suyu hem streptokok hem laktobasil sayılarında anlamlı düşüşe sebep olduğu belirtilmiştir.

Tasanarong ve ark.⁽¹³⁰⁾, nim bitkisi yapraklarından elde edilen etanolik özütünün ve bu özütün çinko oksit katkılı macun formunun *S. mutans* ve *L. acidophilus* üzerindeki antimikrobiyal etkinliğini disk difüzyon ve sıvı mikrodilüsyon testleri ile değerlendirmiştir. Disk difüzyon testinde, tüm test materyallerinin her iki mikroorganizmanın da üremesini inhibe ettiği görülmüştür. Sıvı mikrodilüsyon testinde ise *S. mutans* üzerinde en etkili test materyalleri sırasıyla 0,4 mg/mL MBK değeri ile çinko oksit katkılı nim macunu ve 1,6 mg/mL MBK değeri ile çinko oksit

katkısız nim macunu olmuştur. Nim macunları ve özütü *L. acidophilus* suşlarının büyümesini 6,25 mg/mL konsantrasyonda inhibe ettiği bildirilmiştir.

Jassoma ve ark.⁽¹³¹⁾ 2019 yılında misvak içeren ağız çalkalama sularının çürük önleyici etkilerine yönelik bir sistematik derleme gerçekleştirmiştir. Çalışma sonucunda, misvak içeren ağız çalkalama sularının plaseboya kıyasla anlamlı düzeyde plak oluşumunu önlediği ve streptokok ile laktobasilleri baskıladığı, ancak bu etkilerin klorheksidine göre daha zayıf olduğu bildirilmiştir.

Elgamily ve ark.⁽¹³²⁾ propolis ve misvak özütlerinin yanı sıra probiyotik bir suş olan *Lactobacillus rhamnosus*'un *S. mutans* üzerindeki antimikrobiyal etkinliğini disk difüzyon testi ile değerlendirmiştir. Çalışmada en yüksek antimikrobiyal etkinlik propolis özütünde gözlenmiş, bunu sırasıyla misvak özütü ve probiyotik suş takip etmiştir.

Singhal ve ark.⁽¹³³⁾ turna yemişinin etanolik özütünün *S. mutans* ve *L. acidophilus* üzerindeki antimikrobiyal etkinliğini sıvı mikrodilüsyon, öldürme kinetiği ve biyofilm duyarlılık testleriyle değerlendirmişlerdir. Çalışma sonucunda *S. mutans* ve *L. acidophilus* mikroorganizmaları için tespit edilen MİK değerleri sırasıyla 12,5 mg/dL ve 6,125 mg/dL; MBK değerleri 25 mg/dL ve 12,5 mg/dL olarak bulunmuştur. Öldürme kinetiği testi sonucunda, özütün MİK ve MBK dozlarında, 10 saatin sonunda kontrol grubuna göre koloni sayılarını yarı yarıya azalttığı, 24 saat sonunda sayılabilir koloni bulunmadığı rapor edilmiştir. Biyofilm duyarlılık testi sonuçlarına göre; hem spektrofotometrik inceleme hem de elektron mikroskobu analizi sonucunda, özütün MİK ve MBK dozlarında sırasıyla %50 ve %70 oranında biyofilm oluşumunda anlamlı bir azalma izlendiği belirtilmiştir.

Mistry ve ark.⁽¹³⁴⁾ nim, kutsal fesleğen bitkisi, İspanyol kirazı ve guduchi bitkisi özütlerinin *S. mutans*, *Enterococcus faecalis* ve *Staphylococcus aureus* gibi endodontik patojenler üzerindeki etkinliğini araştırmışlardır. Yapılan kuyucuk difüzyon testinin sonuçları çalışmada kullanılan tüm özütlerin antimikrobiyal etkinlik gösterdiğini, ancak *S. mutans* üzerinde en yüksek antimikrobiyal etkinlik gösteren ajanın kutsal fesleğen bitkisi olduğunu belirtmiştir.

Ağız patojenleri üzerinde antimikrobiyal etkinliği olan bitkisel özütlerin çeşitliliği, doğal kaynakların çürük ile mücadelede etkin rol oynayabileceğini göstermektedir. Bu

bağlamda, geçmiş çalışmalarda çeşitli patojenlere karşı etkinliği kanıtlanmış kivi ve stevia bitkilerinin ağız patojenlerine karşı etkisini araştırmak, bu bitkilerin diş çürüğünün önlenmesindeki olası katkılarının değerlendirilmesi açısından önemlidir.

Basile ve ark.⁽¹³⁵⁾ kivi meyvesinin yaprak, gövde, meyve içi, kabuk, çekirdek kısımlarının ayrı ayrı elde edilen özütlerin *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella typhii* ve *Escherichia coli* suşları üzerindeki etkisini test etmiştir. Çalışmada antimikrobiyal etkinliğin değerlendirilmesinde sıvı mikrodilüsyon yöntemini kullanılmış ve en güçlü etki tohumlardan elde edilen özütlerde görülmüştür. MİK değerleri *Staphylococcus aureus* ve *Streptococcus pyogenes* için diğer mikroorganizmalara göre daha yüksek bulunmuş olup sırasıyla 4 µg/mL ve 8 µg/mL olarak rapor edilmiştir.

Lu ve ark.⁽¹³⁶⁾ kivi bitkisinin yapraklarından elde edilen özütlerin *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus* ve *Microsporum canis* üzerindeki antimikrobiyal etkinliğini değerlendirmiştir. Çalışma sonucunda, mantarlar üzerinde yüksek fungisidal etki gözlenirken, *Escherichia coli* üzerinde belirgin, *Staphylococcus aureus* ve *Bacillus subtilis* üzerinde hafif antimikrobiyal etkiler rapor edilmiştir. Buna karşılık *Pseudomonas aeruginosa*'nın ise kivi özütüne dirençli olduğu tespit edilmiştir. Duyarlı suşlar için MİK değerleri 0.78-3.12 µg/mL olarak rapor edilmiştir.

Al-Naimy ve ark.⁽¹³⁷⁾ kivi meyvesinin sulu özütünün *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* ve *Vibrio cholera* üzerindeki antimikrobiyal etkisini kuyucuk difüzyon ve disk difüzyon yöntemleriyle incelemiştir. Çalışmada, Gram pozitif *Staphylococcus aureus* ve *Bacillus cereus* üzerinde antimikrobiyal etkinlik gözlenirken, Gram negatif *Escherichia coli* ve *Vibrio cholera*'nın kivi özütüne dirençli bulunmuştur.

Elkichaoui ve ark.⁽¹³⁸⁾ kivi kabuğunun etanolik, metanolik ve sulu özütlerinin *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Candida albicans* suşları üzerindeki antimikrobiyal etkinliğini disk difüzyon ve sıvı mikrodilüsyon testleri ile değerlendirmiştir. Sonuçlara göre Gram pozitif bakterilerden *Staphylococcus aureus* en duyarlı tür olarak belirlenmiştir. Kivi özütleri arasında en

yüksek antimikrobiyal etkinliğin 3.125-25 mg/mL arasında bulunan MİK değerleriyle sulu özütte olduğu rapor edilmiştir.

Tiwari ve ark.⁽¹³⁹⁾ kivi meyvesinin metanolik özütlerinin karbapenem dirençli *Acinetobacter baumannii* suşları üzerindeki antimikrobiyal ve biyofilm oluşturma kapasitesine etkisini değerlendirmiştir. Planktonik bakteri üzerinde antimikrobiyal etkinlik gösteren kivi özütünün, içeriğindeki bileşikler ile biyofilm oluşumunu ve biyofilm içindeki mikroorganizmaların sağkalımını da azalttığı bildirilmiştir.

Almeida ve ark.⁽¹⁴⁰⁾ kivi bitkisinin yapraklarından elde edilen sulu, hidroalkolik ve etanolik özütlerinin *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Candida albicans* suşları üzerinde antimikrobiyal etkinliğini disk difüzyon ve sıvı mikrodilüsyon yöntemleri ile değerlendirmiştir. Test edilen suşlardan yalnızca *Staphylococcus aureus*'un kivi özütlerine duyarlı olduğu, bu mikroorganizma için MİK değerlerinin ise hidroalkolik ve etanolik özütler için sırasıyla 3,12 mg/mL ve 1,56 mg/mL olarak belirlendiği bildirilmiştir.

Salama ve ark.⁽⁷³⁾ kivi meyvesinin kabuklarından elde edilen etanol ve aseton kullanılarak elde edilen özütlerin *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Aspergillus flavus*, *Saccharomyces cerevisiae* ve *Candida albicans* üzerindeki antimikrobiyal etkinliğini değerlendirmek için kuyucuk difüzyon testini kullanmıştır. Çalışma sonuçları, Gram pozitif olan *Staphylococcus aureus* ve *Bacillus subtilis* suşlarında daha yüksek duyarlılık bulunduğunu ve aseton ile elde edilen özütün daha güçlü antimikrobiyal etkiye sahip olduğunu göstermiştir.

Alim ve ark.⁽⁷²⁾ kivi meyvesinin içi ve kabuklarından elde edilen metanolik özütlerinin antimikrobiyal etkinliğini *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* ve *Listeria monocytogenes* bakterileri üzerinde disk difüzyon testi ile değerlendirmiştir. Çalışma sonucunda, kabuktan elde edilen özütlerin antimikrobiyal etkinliğinin daha fazla olduğu, ayrıca Gram pozitif bakterilerin Gram negatif bakterilere kıyasla kivi özütlerine karşı daha duyarlı olduğu bildirilmiştir.

Santos ve Santana⁽¹⁴¹⁾ kivi meyvesinin kabuklarından distile su, etanol, metanol ve aseton kullanılarak elde edilen özütlerin *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enteritidis* ve *Serratia marcescens* üzerindeki antimikrobiyal etkinliğini

disk difüzyon testi ile değerlendirmiştir. Çalışma sonucunda, yalnızca %40 etanol kullanılarak elde edilen kivi kabuğu özütünde *Staphylococcus aureus*'a karşı etkinlik gözlemlendiği, diğer bakterilerde ise etkinlik görülmediği rapor edilmiştir.

Barairo ve ark.⁽¹⁴²⁾ kivi meyvesinin iç kısmının sulu özütünün antimikrobiyal etkinliğini sıvı mikrodilüsyon yöntemi ile test etmiştir. Çalışma sonuçları kivi özütünün MİK değerini *Staphylococcus aureus* ve *Streptococcus pyogenes* bakterileri için sırasıyla 3,125 mg/mL ve 0,731 mg/mL olarak tespit etmiştir. Bu bulgular *Staphylococcus aureus* ilişkili enfeksiyonlarda kivi özütünün vankomisin ile kıyaslandığında tedavi amaçlı kullanılabileceğini göstermiştir.

Otağ ve ark.⁽¹⁴³⁾ kivi meyvesinin etanol ve metanol kullanılarak elde edilen özütlerinin antioksidan ve antimikrobiyal etkinliklerin değerlendirmiştir. Çalışmada özütlerin *Vibrio parahemolyticus*, *Enterococcus faecalis*, *Salmonella typhimurium* ve *Proteus vulgaris* üzerindeki etkinliği disk difüzyon testi ile değerlendirilmiştir. Çalışma sonucunda metanolik özütün etanolik özüte göre daha güçlü antimikrobiyal etkinlik gösterdiği tespit edilmiştir.

Giordano ve ark.⁽¹⁴⁴⁾ farklı özüt eldesi yöntemlerinin kivi özütlerinin antioksidan ve antimikrobiyal etkinliği üzerindeki etkisini değerlendirmiştir. *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae* ve *Salmonella typhimurium* bakterileri üzerinde test edilen etanolik özütlerin etkinliği sıvı mikrodilüsyon testi ile değerlendirilmiştir. Çalışma sonuçları, MİK değerlerinin 1-2 µg/mL, MBK değerlerininse 2-4 µg/mL arasında değişkenlik gösterdiğini tespit etmiştir.

Wang ve ark.⁽⁷⁴⁾ kivi meyvesinden hekzan kullanılarak elde edilen özütün *Bacillus subtilis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* ve *Microsporum canis* üzerindeki antimikrobiyal etkinliğini değerlendirmiştir. Çalışmada disk difüzyon ve sıvı mikrodilüsyon testleri uygulanmıştır. Çalışma sonucunda, özütün *Staphylococcus aureus* ve *Saccharomyces cerevisiae* üzerinde yüksek, *Bacillus subtilis* ve *Microsporum canis* üzerinde orta antimikrobiyal etkinliği gösterdiği, ancak *Escherichia coli* ve *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının özüte duyarlılık göstermediği tespit edilmiştir. Sıvı mikrodilüsyon testi sonuçlarına göre, MİK değerleri 0,78-6,25 mg/mL, MBK değerleri

3,125-12,5 mg/mL arasında belirlenmiştir. Özütün ayrıca *Bacillus subtilis* üzerinde bakterisidal, *Staphylococcus aureus* üzerinde bakteriyostatik etkisi olduğu bildirilmiştir.

Nayyef ve ark.⁽¹⁴⁵⁾ kivi meyve suyunun *Staphylococcus aureus*, *Salmonella sp.*, *Klebsiella pneumoniae* ve *Escherichia coli* üzerindeki antimikrobiyal etkinliğini kuyucuk difüzyon yöntemi ile test etmiştir. Çalışma sonuçlarına göre, %50 konsantrasyondaki kivi meyve suyunun tüm mikroorganizmalar üzerinde inhibitör etki gösterdiği belirlenmiş, bu konsantrasyonda en duyarlı türlerin ise *Klebsiella pneumoniae* ve *Escherichia coli* olduğu tespit edilmiştir.

Mathew ve ark.⁽¹⁴⁶⁾ kivi meyvesinin metanolik özütünün *Pseudomonas aeruginosa* bakterisinin planktonik ve biyofilm formlarına karşı antimikrobiyal etkinliğini değerlendirmiştir. Çalışma sonucunda, özütün MİK değeri 5 mg/mL olarak belirlenmiş, ayrıca, 2,5 mg/mL ve 1,25 mg/mL dozlarında sırasıyla %60 ve %29 oranında biyofilm inhibisyonu gözlemlenmiştir.

Kivi meyvesine benzer şekilde, stevia bitkisinin de çeşitli mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal etkinliği ortaya konmuştur. Tadhani ve Subhash⁽⁸⁰⁾ su, metanol, etil asetat ve hekzan ile hazırlanmış stevia yaprak özütlerinin *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus*, *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus megaterium*, *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Aspergillus niger* ve *Rhizopus oligoporus* suşları üzerindeki antimikrobiyal etkinliğini araştırmıştır. Kuyucuk difüzyon testi sonuçlarına göre, hekzan özütünün *Bacillus subtilis* hariç tüm suşlarda en geniş zon çaplarını oluşturduğu saptanmıştır.

Ghosh ve ark.⁽⁸⁹⁾ farklı çözücülerle hazırlanan stevia özütlerinin *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Staphylococcus aureus* üzerindeki antimikrobiyal etkinliğini agar dilüsyon metodu ile değerlendirilmiştir. Test edilen mikroorganizmalar arasında en yüksek duyarlılık *Staphylococcus aureus*'ta gözlenirken, özellikle petrol eteri özütünün patojen mikroorganizmalar üzerinde 7-16,3 µg/mL aralığında MİK değerlerinde etkinlik gösterdiği belirtilmiştir.

Debnath⁽¹⁴⁷⁾ çalışmasında stevia yapraklarının metanol, kloroform ve su ile hazırlanan özütlerinin 10 farklı mikroorganizma üzerindeki antimikrobiyal etkinliğini kuyucuk

difüzyon testiyle değerlendirmiştir. Çalışma sonucunda en yüksek etkinlik metanolik özütte tespit edilmiş, bu etkinliğin, test edilen ampisilin ile benzer düzeyde olduğu tespit edilmiştir. Mikroorganizmalar arasında özütlere en duyarlı tür *Staphylococcus aureus* olurken, bunu *S. mutans*, *Bacillus subtilis* ve *Escherichia coli* takip etmiştir.

Abou-Arab ve Abu-Salem⁽¹⁴⁸⁾ yaptıkları çalışmada stevia bitkisinin organik çözücülerle elde edilen özütlerinin *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium* ve *Pseudomonas aeruginosa* üzerindeki antimikrobiyal etkinliği kuyucuk difüzyon testiyle incelemiştir. *Escherichia coli* ve *Salmonella typhimurium* hariç diğer suşlarda metanol ve aseton özütlerinde yüksek antimikrobiyal etkinlik gösterdiği belirtilmiştir.

Puri ve Sharma⁽⁹⁰⁾ farklı çözücülerle hazırlanan stevia özütlerinin 8 farklı gıda kaynaklı patojen üzerindeki antimikrobiyal etkinliğini kıyaslamıştır. Kuyucuk difüzyon testinin sonuçlarına göre, metanol ve aseton özütlerinin *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Escherichia coli* üzerinde daha yüksek antimikrobiyal etkinliği olduğunu göstermiştir.

Kumari ve Chandra⁽⁹¹⁾ *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas fluorescence* ve *Escherichia coli* üzerinde stevia bitkisinin metanol, petrol eteri ve su ile hazırlanmış özütlerinin antibakteriyel etkinliğini kuyucuk difüzyon testi ile değerlendirmiştir. Çalışma sonucunda metanolik özütün tüm bakteriler üzerinde en fazla etkinlik gösteren test materyali olduğu tespit edilmiştir.

Zangeneh ve ark.⁽¹⁴⁹⁾ stevia bitkisinin etanolik özütünün *Pseudomonas aeruginosa* üzerindeki antibakteriyel etkinliğini kuyucuk difüzyon ve sıvı makrodilüsyon testleri ile değerlendirmiştir. Deney sonucunda en geniş zon çapı 0,25 g/mL olurken, MİK ve MBK değerleri 0,125 g/mL olarak tespit edilmiştir.

Mariana ve ark.⁽¹⁵⁰⁾ stevia özütlerinin *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* ve *Pseudomonas aeruginosa* bakterileri üzerindeki etkinliğini disk difüzyon testi ile değerlendirmiştir. Hekzan özütünün MİK değeri 0,011-1,06 mg/mL arasında bulunurken, diğer çözücülerle hazırlanan özütlerin hiçbirinin test edilen suşlar üzerinde üreme durdurucu etki göstermediği saptanmıştır.

Lemus-Mondaca ve ark.⁽¹⁵¹⁾ farklı kurutma yöntemlerinin stevia özütlerinin antioksidan, antiinflamatuvar ve antimikrobiyal etkinliğine etkisini incelemiştir. Deneyde sıvı mikrodilüsyon testi ile 1 mg/mL ve 0,1 mg/mL konsantrasyonlardaki özütlerin *Listeria innocua* ve *Saccharomyces cerevisiae* suşları üzerindeki etkinliğini değerlendirilmiştir. Çalışmanın sonuçları, tüm test materyallerinin *Listeria innocua*'nın üremesini inhibe etmiş, ancak 1 mg/mL konsantrasyonda daha güçlü bir inhibisyon seyredilmiştir. Buna karşılık hiçbir test materyali *Saccharomyces cerevisiae* üzerinde antimikrobiyal etkinlik göstermemiştir.

Hastuty⁽¹⁵²⁾ çalışmasında stevia bitkisini etanolik özütünün biyofilm oluşturan *Bacillus sp.* ve *Enterobacter sp.* suşları üzerindeki antimikrobiyal ve antibiyofilm etkisini incelemiştir. Kuyucuk difüzyon testi sonucunda stevia özütünün *Enterobacter sp.* üzerinde %70 ve %90 konsantrasyonda, pH 7 iken en yüksek etkinliği gösterdiği tespit edilmiştir. Özütün farklı sıcaklık ve pH koşullarında antibiyofilm etkinliği değerlendirildiğinde, *Bacillus sp.* ve *Enterobacter sp.* üzerinde sırasıyla %0-95 ve %26,8-98 oranında etkinlik sağladığı rapor edilmiştir.

Dinev ve ark.⁽¹⁵³⁾ stevia bitkilerinin çiçek, yaprak, kök gibi farklı kısımlarından elde edilen metanolik özütlerin *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* ve *Escherichia coli* üzerinde antimikrobiyal etkinliğini değerlendirmiştir. Kuyucuk difüzyon testi sonucunda, *Staphylococcus aureus* en duyarlı suş tespit edilmiştir. En yüksek antimikrobiyal etkinlik çiçeklerden elde edilen özütlerde gözlenirken, bunu yaprak ve kök özütleri takip etmiştir. Ayrıca *Bacillus cereus* üzerinde çok az antimikrobiyal etkinlik gözlenmiş ve *Escherichia coli* bakterisi özütlere duyarlılık göstermemiştir.

Deonas ve ark.⁽¹⁵⁴⁾ *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella enteritidis* ve *Salmonella typhimurium* bakterileri ile çalışmış ve stevia bitkisinin etanolik özütünün antibakteriyel ve antibiyofilm etkinliğini incelemişlerdir. Sıvı mikrodilüsyon testi sonucunda test edilen suşlar için özütün MBK değerleri 25-50 mg/mL olarak bulunmuş, ancak *Salmonella enteritidis* üzerinde etkinlik gözlenmemiştir. Özüte maruz bırakılan planktonik *Staphylococcus aureus* bakterilerinin biyofilm oluşturma kapasitesinde %71 oranında bir azalma izlenmiştir.

Myint ve ark.⁽⁹²⁾ stevia yapraklarından elde edilen polifenollerin *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Aspergillus niger* ve *Malassezia furfur* üzerindeki antimikrobiyal etkinliğini disk difüzyon ve sıvı mikrodilüsyon testleri ile değerlendirmiştir. Disk difüzyon testi sonucuna *Pseudomonas aeruginosa* ve *Escherichia coli* için orta, *Bacillus subtilis* ve *Staphylococcus aureus* için güçlü antimikrobiyal etki saptanmıştır. Ayrıca MİK değerleri 1,67-6,67 mg/mL arasında bulunmuş, MBK değerleri 3,33-13,33 mg/mL arasında tespit edilmiştir.

Iawsipo ve ark.⁽¹⁵⁵⁾ 2024 yılında yaptıkları çalışmada, stevia özütlerinin su, etanol ve su-etanol karışımı kullanarak elde etmiş ve bu özütlerin antibakteriyel etkinliğini kuyucuk difüzyon ve agar difüzyon testlerini uygulayarak *Staphylococcus aureus* üzerinde test etmiştir. En geniş zon çapları su-etanol özütünde gözlenmiş, bu özütün MİK değeri 2,5 mg/mL, MBK değeri 40 mg/mL olarak belirlenmiştir.

Chen ve ark.⁽¹⁵⁶⁾ stevia özütünden elde edilen klorojenik asidin *Escherichia coli* üzerindeki antibakteriyel ve antibiyofilm etkinliğini incelemiştir. Sıvı mikrodilüsyon testi sonucunda özütün MİK değeri 2 mg/mL, MBK değeri 8 mg/mL bulunmuştur. Öldürme kinetiği testi sonucunda izomerin MİK altı konsantrasyonlarda kısıtlı bir inhibisyon sağladığı ve 24 saat sonunda bakteriyel üremenin yeniden başladığı, buna karşılık daha yüksek konsantrasyonlarda bakterisidal etki gözlemlendiği bildirilmiştir. Test edilen MİK dozunda 8 saat içerisinde, 2×MİK dozunda ise 4 saat içinde bakterisidal etki görülmüştür.

Stevia özütlerinin birçok patojen mikroorganizma üzerinde antimikrobiyal etkisi olduğu gibi, ağız patojenleri üzerinde de etkinlik gösterdiğini belirten çalışmalar mevcuttur. Gamboa ve Chaves⁽⁹³⁾ stevia yapraklarından elde edilen özütlerin streptokok ve laktobasil türleri üzerindeki antibakteriyel etkinliğini kuyucuk difüzyon testi ile değerlendirmiştir. Hekzan, etanol ve metanol ile elde edilen özütlerin inhibisyon zonu çaplarının benzer olduğu, ancak hekzan özütünün MİK değerinin 30 mg/mL ile daha düşük saptandığı belirtilmiştir. Laktobasil türlerinin 12,3-17,3 mm arasında daha geniş inhibisyon zonları sergilediği ve dolayısıyla mutans streptokokların 8,6-13,3 mm zon çaplarına kıyaslandığında daha duyarlı mikroorganizmalar oldukları bildirilmiştir.

Nouri ve ark.⁽¹⁵⁷⁾ *Lactobacillus plantarum* üzerinde stevia bitkisinin sulu özütünün antibakteriyel etkinliğini kuyucuk difüzyon ve sıvı makrodilüsyon yöntemleri ile değerlendirmiştir. Çalışma sonucunda özütün MİK değeri 71,6 µg/mL, MBK değeri 26,87 µg/ml olarak tespit edilmiştir.

Escobar ve ark.⁽¹⁵⁸⁾ stevia özütünün *S. mutans* üzerindeki antimikrobiyal etkinliğini sıvı mikrodilüsyon ve biyofilm duyarlılığı testleri ile değerlendirmiştir. Test sonucunda özütün MİK değeri 25 mg/mL olarak saptanmıştır. Biyofilm duyarlılık testinde, 3,13 mg/mL ve üstündeki konsantrasyonlarda biyofilm oluşumunda önemli bir düşüş izlenmiş, minimum biyofilm inhibe edici konsantrasyon ise 6,25 mg/mL olarak belirlenmiştir.

Demirez ve ark.⁽¹⁵⁹⁾ kuyucuk difüzyon, sıvı mikrodilüsyon ve biyofilm duyarlılık testleri ile stevia özütünün *S. mutans* biyofilmi ve *S. mutans-Scardovia wiggisiae* biyofilmi üzerindeki antimikrobiyal etkinliğini değerlendirmiştir. Stevia özütünün *S. mutans* ve *Scardovia wiggisiae* bakterileri için MİK değerleri 0,25 mg/mL olarak tespit edilmiştir. Özütün *S. mutans* için MBK değeri 0,25 mg/mL olarak bulunmuş ancak *Scardovia wiggisiae* üzerinde bakterisidal etkinlik göstermemiştir. Stevia özütü *S. mutans* biyofilmi üzerinde önemli ölçüde etki gösterirken, bu etkinin klorheksidine kıyasla daha zayıf olduğu izlenmiştir. Bununla birlikte karma biyofilimde stevia özütü *Scardovia wiggisiae* sayılarını azaltırken *S. mutans* sayılarına etki etmemiştir.

AlKanderi ve ark.⁽¹⁶⁰⁾ *S. mutans* ve *Streptococcus gordonii* bakterilerinin oluşturduğu biyofilm yapısına stevia özütünün etkisini değerlendirmiştir. Çalışma sonucunda stevia özütü varlığında biyofilm oluşumu, sükroz varlığında oluşan biyofilme kıyasla belirgin düzeyde azalmıştır.

Çalışmamızda bitkisel özütlerin eldesinde etanolik çözücüler kullanılmıştır. Bitki özütlerinin eldesinde çözücü tercihi kullanılacak materyale göre tercih edilmektedir. Geçmiş çalışmalarda kivi meyvesinin etanolik özütlerinin antimikrobiyal etkinlik sağladığı kanıtlanmıştır.^(141,143,144) Benzer şekilde stevia bitkisinin etanolik özütlerinin diğer çözenlerle elde edilen özütlere kıyasla daha yüksek antimikrobiyal etkinlik gösterdiğini bildiren çalışmalar mevcuttur.^(93,149,152,154,155)

Kivi ve stevia özütlerinin içerik analizleri incelendiğinde, FRAP analizi sonucu stevia özütünün çok daha yüksek antioksidan kapasitesi olduğunu göstermektedir. Benzer

şekilde DPPH analizi sonuçları da stevia özütünün serbest radikal temizleme gücünün kivi özütüne kıyasla çok daha yüksek olduğunu göstermiştir. Bu sonuçlar stevia özütünün kivi özütüne kıyasla fenolik içeriğinin yaklaşık 6 kat, flavonoid içeriğinin ise yaklaşık 17 kat fazla olmasından kaynaklanıyor olabilir. Bunlara ek olarak stevia özütünün içeriğindeki baskın klorojenik asit bileşeni de antioksidan kapasitesine katkıda bulunmuş olabilir.

Çalışmada sıvı mikrodilüsyon testi sonucunda bitkisel özütlerle kıyaslandığında klorheksidin daha yüksek antimikrobiyal etkinlik göstermiştir. Geçmiş çalışmalar da çalışmamızın bulgularına benzer şekilde bitkisel özütlerin antimikrobiyal etkinliklerinin klorheksidine göre daha zayıf olduğu belirtmiştir.^(59,130,131,134,159)

Sıvı mikrodilüsyon testi sonucunda *S. mutans* bakterisi üzerinde klorheksidinden sonra en yüksek antibakteriyel etkinlik stevia özütünde olmuştur. Bunun sebebinin stevia özütündeki fenolik ve flavonoid içeriğinin kivi özütüne kıyasla çok daha fazla olmasından kaynaklandığını düşünmekteyiz. Güncel bir derleme, bitkilerin biyolojik etkilerinin temel kaynağı olarak polifenollerini işaret etmekte ve bu bileşiklerin karyojenik bakterilerin büyümesini engelleyip dış yüzeyine tutunmalarını önleyerek koruyucu diş hekimliğinde önemli bir kullanım potansiyeline sahip olduğunu vurgulamaktadır.⁽⁵⁰⁾ Çalışmamızın bulguları da bu görüşle uyum içindedir.

Sıvı mikrodilüsyon testinden elde edilen veriler *L. acidophilus*'un *S. mutans*'a kıyasla klorheksidine daha duyarlı olduğunu, ancak deneyde kullanılan diğer etken maddelerin *S. mutans* üzerinde *L. acidophilus*'a göre daha güçlü antimikrobiyal etkinlik gösterdiğini belirtmiştir. Daha önce yapılan çalışmalar, laktobasil türleri ile *S. mutans*'ın antimikrobiyal ajanlara karşı duyarlılıklarını kıyaslamış ve çay ağacı, kekik ve stevia özütlerinin laktobasiller üzerinde daha etkili olduğunu, buna karşın tarçın, karanfil, karakınık ve nim bitkilerinin özütlerinin *S. mutans* üzerinde daha güçlü etkinlik sergilediğini göstermiştir.^(59,93,123,130) Ayrıca, 2012 yılında gerçekleştirilen bir çalışma turna yemişi özütünün antimikrobiyal etkinliğini değerlendirmiş; sıvı mikrodilüsyon yöntemi sonucunda *L. acidophilus*'un özüte daha duyarlı bulunduğunu, ancak öldürme kinetiği ve biyofilm duyarlılığı testlerinde özütün *S. mutans* üzerinde daha güçlü antimikrobiyal etkinlik gösterdiğini bildirmiştir.⁽¹³³⁾ Bu bulgular mikroorganizmaların bitkisel özütlerle karşı farklı düzeylerde duyarlılık

gösterebileceğine işaret etmektedir. Ayrıca çalışma tasarımının temsil ettiği farklı koşullar mikroorganizmaların duyarlılık yanıtlarını etkilemektedir.

Öldürme kinetiği testinin koloni sayıları üzerinden değerlendirilen sonuçlarına göre, *S. mutans* üzerinde bakterisidal etki gösteren etken maddeler; kivi özütü ($2\times\text{MİK}$ konsantrasyonu), kivi çözücüsü ($2\times\text{MİK}$ konsantrasyonu), stevia özütü ($2\times\text{MİK}$, MİK ve $1/2\times\text{MİK}$ konsantrasyonları), stevia çözücüsü ($2\times\text{MİK}$ konsantrasyonu) ve klorheksidin ($0,12\%$ ve $2\times\text{MİK}$ konsantrasyonları) olmuştur.

Kivi özütü ve kivi çözücüsünün $2\times\text{MİK}$ konsantrasyonları sırasıyla 3 saat ve 6 saat içinde bakterisidal etki gösterdiği gözlemlenmiştir. Ancak kivi özütü ve kivi çözücüsünün MİK konsantrasyonlarının koloni sayılarında sağladığı azalma ile zaman arasındaki korelasyon incelendiğinde, kivi çözücüsünün daha güçlü korelasyon gösterdiği saptanmıştır. Bu sonuçlar, kivi özütünün yüksek konsantrasyonda kivi çözücüsünden antimikrobiyal olarak daha fazla etkinlik sağlayabileceğini, ancak bu etkinliğin bir kısmının çözücüden kaynaklandığını göstermektedir.

Stevia özütü ve stevia çözücüsünün $2\times\text{MİK}$ konsantrasyonları 24 saat içinde bakterisidal etki göstermiştir. Buna karşılık MİK ve $1/2\times\text{MİK}$ konsantrasyonlarda stevia özütü benzer şekilde 24 saat içinde etkinlik gösterirken, stevia çözücüsünün bakterisidal etkisi görülmemiştir. Bu bulgular, stevia özütünün düşük konsantrasyonlarda dahi *S. mutans* üzerinde bakterisidal etki gösterdiğinin ve bu etkinin çözücüden bağımsız olduğunu göstermektedir.

Klorheksidin antimikrobiyal etkinliği incelendiğinde daha önce tespit edilen MİK dozunda bakterisidal etki gözlemlenmezken, klinik dozlarda güçlü bakterisidal etki gösterdiği gözlemlenmiştir. Test edilen $2\times\text{MİK}$ konsantrasyonlarında ise klorheksidin, kivi özütüne göre daha etkili bulunmuş, ancak stevia özütüne kıyasla daha zayıf etkinlik göstermiştir.

Stevia özütü ve kivi özütünün *S. mutans* üzerindeki etkinliği kıyaslandığında, MİK konsantrasyonunda sıvı mikrodilüsyon testinin sonuçlarıyla paralel olarak stevia özütünün antimikrobiyal etkinliğinin kivi özütüne göre daha yüksek olduğunu göstermiştir. Ancak $2\times\text{MİK}$ konsantrasyonunda kivi özütü stevia özütüne göre çok daha hızlı bir bakterisidal etki göstermiştir.

L. acidophilus koloni sayılarının zamana bağlı değişimi incelendiğinde, kivi özütü (2×MİK konsantrasyonu), kivi çözücüsü (2×MİK konsantrasyonu), stevia özütü (2×MİK ve MİK konsantrasyonları), stevia çözücüsü (2×MİK ve MİK konsantrasyonları) ve klorheksidin (%0,12 konsantrasyonu) test materyalleri bakterisidal etkinlik göstermiştir.

Kivi özütü ve kivi çözücüsünün 2×MİK konsantrasyonları sırasıyla 3 saat ve 15 dakika içinde bakterisidal etki gösterdiği gözlemlenmiştir. Ayrıca, kivi özütü ve kivi çözücüsünün MİK konsantrasyonlarında koloni sayılarındaki azalma ile zaman arasındaki korelasyon incelendiğinde, kivi çözücüsünün bir korelasyon ilişkisi gösterdiği, ancak kivi özütünde korelasyon olmadığı saptanmıştır. Bu sonuçlar, kivi çözücüsünün kivi özütünden daha güçlü antimikrobiyal etkinlik sağladığını göstermektedir.

Stevia özütünün 2×MİK konsantrasyonu 15 dakika içinde bakterisidal etki gösterirken, stevia çözücüsünün 2×MİK konsantrasyonu uygulandığı anda bakterisidal etki göstermiştir. Benzer şekilde, stevia özütü ve stevia çözücüsünün MİK konsantrasyonları sırasıyla 24 saat ve 3 saat içinde bakterisidal etki göstermiştir. Ayrıca, stevia çözücüsü bakterisidal etki göstermese de koloni sayılarında zamanla azalma sağlamıştır. Bu bulgular, stevia çözücüsünün *L. acidophilus* üzerinde stevia özütünden daha güçlü antimikrobiyal etkinlik gösterdiğini ortaya koymaktadır.

Klorheksidinin antimikrobiyal etkinliği incelendiğinde, rutin olarak reçete edilen %0,12 konsantrasyonda 15 dakika içinde bakterisidal etki gösterdiği, ancak daha düşük dozlarda bakterisidal etki gözlenmediği tespit edilmiştir. Test edilen 2×MİK konsantrasyonlarında klorheksidin, koloni sayılarında azalmaya yol açmamış ve kivi ile stevia özütlerine kıyasla daha zayıf etkinlik göstermiştir.

Stevia ve kivi özütlerinin *L. acidophilus* üzerindeki etkinliği incelendiğinde, sıvı mikrodilüsyon yönteminde benzer bulunan MİK değerlerinin zamana bağlı etkinlik açısından farklılık gösterdiği tespit edilmiştir. Öldürme kinetiği testi sonuçlarına göre, tüm konsantrasyonlarda stevia özütünün kivi özütüne kıyasla daha güçlü antimikrobiyal etkinliği olduğu belirlenmiştir.

Öldürme kinetiği testinin optik yoğunluk üzerinden değerlendirilen sonuçları incelendiğinde, *S. mutans* için tüm test materyallerinin süre boyunca optik yoğunlukta

artıya yol açtığı tespit edilmiştir. Buna karşılık, *L. acidophilus* için yalnızca kivi özütünün 2×MİK konsantrasyonu optik yoğunlukta düşüş sağlamış, bunun dışındaki test materyallerinin ise zamanla optik yoğunlukta artıya neden olduğu izlenmiştir.

S. mutans için elde edilen optik yoğunluk verileri üreme kontrol örneklerinin verileri ile kıyaslandığında, kivi özütü ve kivi çözücüsünün 2×MİK ve MİK konsantrasyonlarında optik yoğunluk değerlerini üreme kontrolüne göre azalttığı gözlemlenmiştir. Ancak, kivi çözücüsünün sebep olduğu değişim, kivi özütünden daha fazla olmuştur. Bu sonuçlar, kivi çözücüsünün etkinliğinin kivi özütüne kıyasla daha fazla olduğunu göstermektedir.

Üreme kontrol örnekleri ile stevia özütü ve stevia çözücüsünün optik yoğunluk verileri kıyaslandığında stevia özütünün 2×MİK konsantrasyonda üreme kontrole göre daha yüksek optik yoğunluk değerlerine yol açtığı belirlenmiştir. Ayrıca stevia çözücüsünün sebep olduğu değişim stevia özütüne kıyasla daha fazla olmuştur. Bu veriler ışığında stevia çözücüsünün etkinliğinin stevia özütüne kıyasla daha fazla olduğu söylenebilir.

Klorheksidin uygulanmış örneklerin optik yoğunluk değerleri üreme kontrol örnekleri ile karşılaştırıldığında; 2×MİK, MİK ve 1/2×MİK konsantrasyonlarında üreme kontrol ile aralarında fark görülmemiştir. Ancak tedavi dozu olan %0,12 konsantrasyonda, 24. saat ölçümlerinde büyümenin inhibe edildiği gözlemlenmiştir.

L. acidophilus için elde edilen optik yoğunluk verileri, üreme kontrol örnekleri ile kıyaslandığında, kivi özütünün 2×MİK konsantrasyonunun optik yoğunlukta belirgin bir düşüşe neden olduğu görülmüştür. Kivi özütünün yol açtığı değişimin kivi çözücüsünden daha fazla olduğu izlenmiştir. Bu bilgiler ışığında kivi özütünün kivi çözücüsüne göre antimikrobiyal etkinliğinin daha fazla olduğu söylenebilir.

Üreme kontrol örnekleri ile stevia özütü ve stevia çözücüsünün optik yoğunluk değerleri karşılaştırıldığında tüm test materyallerinin üreme kontrole göre optik yoğunluğu azalttığı izlenmiştir. Bununla birlikte, stevia özütünün sebep olduğu değişimin, stevia çözücüsüne kıyasla daha fazla olduğu saptanmıştır. Bu sonuçlar, stevia özütünün stevia çözücüsüne göre *L. acidophilus* üzerinde daha fazla etkinliğinin olduğunu göstermektedir.

Klorheksidin için elde edilen optik yoğunluk değerleri, üreme kontrole kıyasla %0,12 konsantrasyonunda daha düşük bulunmuştur. Ancak, $2 \times \text{MİK}$, MİK ve $1/2 \times \text{MİK}$ konsantrasyonlarında üreme kontrol değerlerine benzer değerler kaydedilmiştir. Bunun yanı sıra, %0,12 konsantrasyonda görülen inhibisyonun, kivi ve stevia özütlerinin $2 \times \text{MİK}$ konsantrasyonlarında görülen inhibisyona kıyasla daha zayıf olduğu gözlemlenmiştir.

Öldürme kinetiği testinin koloni sayıları ve optik yoğunluk ölçümleri ile elde edilen sonuçlar tüm değişkenler açısından birbiriyle tutarlı değildir. Bu durumun, etken maddelerin renk ve yapısının optik yoğunluk değerlerini etkilemesinden kaynaklı olduğunu düşünmekteyiz. Örneğin, stevia özütünün yeşil rengi, optik yoğunluk ölçümlerinde belirgin bir artışa neden olmuştur. Benzer şekilde, kullanılan çözücülerin renksiz yapısı, sıvı besiyeri ile karıştırıldığında optik yoğunluk değerlerinde düşüşe yol açmıştır. Ayrıca, klorheksidinin özellikle *S. mutans* kültüründe kullanılan BHI sıvı besiyeri ile karıştığında çökelti oluşturduğu ve bu çökeltinin optik yoğunluk ölçüm sonuçlarını etkilediği gözlemlenmiştir. Elde edilen karışımların başlangıç ölçümleri esas alınarak uyumluluk sağlanmaya çalışılmış olsa da, kaydedilen bu değerlerin deneyin diğer verileri ile uyumsuzluk göstermesi, optik yoğunluk ölçümünün bu test materyalleriyle çalışmak için ideal bir yöntem olmadığına işaret etmektedir. Iawsipo ve ark.⁽¹⁵⁵⁾ 2024 yılında yaptıkları çalışmada bu soruna dikkat çekmiş, renkli etken maddelerin kullanılacağı çalışmalarda sıvı besiyeri ile çalışmanın bakteriyel üremeyi maskeleyebileceği için agar plakların kullanıldığı deney tasarımlarının tercih edilebileceğini belirtmiştir.

Erişilebilir kaynaklardan yapılan literatür taramasında farklı bitkisel özütlerin karyojenik mikroorganizmalara etkisinin veya kivi ve stevia özütlerinin farklı mikroorganizmalara etkisinin değerlendirildiği öldürme kinetiği çalışmalarına rastlanmış olmakla birlikte, bu çalışmalardan elde edilen veriler, mikroorganizmaların duyarlılığının farklı etken maddelere karşı geniş çeşitlilik göstermesinden dolayı, bizim çalışmamızla doğrudan kıyaslanabilir nitelikte değildir. Stevia ve kivi özütlerinin ağız patojenlerine etkinliğini öldürme kinetiği ile inceleyen herhangi bir çalışmaya ise erişilebilir kaynaklarda rastlanmamıştır.

Biyofilm duyarlılık testinde, *S. mutans* biyofilmi üzerinde klorheksidinin %0,12 konsantrasyonu, diğer tüm gruplardan daha fazla biyofilmin eliminasyonunu

sağlamıştır. Bu konsantrasyondaki etkinin çözücülerle olan etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunurken, kivi özütünün en düşük konsantrasyonunda anlamlı bir fark gözlemlenmiş, ancak stevia özütü ile arasındaki istatistiksel olarak anlamlı olmamıştır.

Kivi özütünün biyofilme etkileri incelendiğinde, diğer test grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Bununla birlikte, kivi özütünün tüm konsantrasyonlarda kivi çözücüsünün tüm konsantrasyonlarına kıyasla daha fazla biyofilm eliminasyonu sağladığı kaydedilmiştir.

Stevia özütünün biyofilm eliminasyon etkisi değerlendirildiğinde, tüm konsantrasyonlarındaki etkinliğinin stevia çözücüsüne kıyasla daha fazla olduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca, stevia özütünün 16×MİK ve 8×MİK konsantrasyonlarının, stevia çözücüsünün MİK konsantrasyonu ile karşılaştırılması sonucunda istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmiştir.

Kivi özütü ve stevia özütünün biyofilm eliminasyon etkinliği kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamakla birlikte stevia özütünün MİK hariç tüm konsantrasyonlarında kivi özütüne kıyasla *S. mutans* üzerinde daha güçlü bir biyofilm eliminasyon etkisinin olduğu gözlemlenmiştir.

L. acidophilus biyofilmi ile yapılan duyarlılık testinin sonuçlarına göre, klorheksidinin diğer tüm suşlardan daha fazla biyofilm eliminasyonuna yol açtığı gözlemlenmiştir. Bu konsantrasyondaki etkinin kivi özütünün MİK, stevia özütünün 2×MİK ve stevia çözücüsünün MİK konsantrasyonlarıyla arasında anlamlı bir fark bulunduğu tespit edilmiştir.

Kivi özütünün biyofilme etkisi değerlendirildiğinde, MİK konsantrasyonunda kivi çözücüsünün 2×MİK ve MİK konsantrasyonlarına ve stevia özütünün 4×MİK konsantrasyonuna kıyasla anlamlı düzeyde daha az plak eliminasyonu sağladığı gözlemlenmiştir. Bu bulgular, kivi özütünün kivi çözücüsüne kıyasla biyofilm üzerindeki etkisinin daha düşük olduğunu göstermektedir.

Stevia özütünün biyofilm eliminasyon etkisi incelendiğinde, 4×MİK konsantrasyonda kivi özütünün MİK konsantrasyonuna kıyasla anlamlı düzeyde daha fazla biyofilm eliminasyonu sağladığı gözlemlenmiştir. Bununla birlikte, stevia özütünün 4×MİK

konsantrasyonu, stevia çözücüsünün 2×MİK ve MİK konsantrasyonlarına göre daha fazla eliminasyon sağlamıştır. Benzer şekilde, stevia özütünün MİK konsantrasyonu, stevia çözeltisinin MİK konsantrasyonuna kıyasla daha güçlü etkinlik göstermiştir; ancak stevia özütünün 2×MİK konsantrasyonu, stevia çözücüsünün 2×MİK konsantrasyonu kadar biyofilm eliminasyonu sağlayamamıştır. Bu sonuçlar, stevia özütünün 4×MİK ve MİK konsantrasyonlarında stevia çözücüsünden daha etkili olduğunu göstermektedir.

Stevia özütü ve kivi özütünün biyofilme etkisi incelendiğinde, istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamakla birlikte, 4×MİK konsantrasyonunda stevia özütü, kivi özütüne kıyasla daha güçlü etkinlik göstermiştir. Buna karşılık, 2×MİK ve MİK konsantrasyonlarında kivi özütünün *L. acidophilus* biyofilmi üzerindeki etkinliği, stevia özütünden üstün bulunmuştur.

Yapılan literatür taraması sonucunda stevia bitkisi özütünün *S. mutans* biyofilmine etkisini inceleyen iki çalışmaya ulaşılmıştır. Bu çalışmalardan ilki, stevia özütünün *S. mutans*'a etkili MİK değerini 25 mg/mL bulurken, minimum biyofilm inhibe edici konsantrasyonu 3,13 mg/mL bulmuştur.⁽¹⁵⁸⁾ Bu çalışmada biyofilm inhibe edici konsantrasyonun MİK değerinden çok daha düşük bulunmasının, çalışmanın biyofilm eliminasyonunu değil biyofilm inhibisyonunu değerlendirmesinden kaynaklandığını düşünmekteyiz. İkinci çalışmada ise stevia özütünün *S. mutans* üzerinde saptanan MİK değeri 0,25 mg/mL olurken, 0,50 mg/mL konsantrasyonda biyofilm oluşumunu anlamlı düzeyde azalttığı tespit edilmiştir.⁽¹⁵⁹⁾ Bu çalışmanın deney protokolü, oluşan biyofilme etken maddelerin uygulanmasını içermesi bakımından bizim çalışmamızla benzerlik göstermektedir. Benzer şekilde çalışmamızda stevia özütünün negatif kontrol grubuna kıyasla daha fazla biyofilm eliminasyonu sağladığı tespit edilmiştir.

Bu çalışmaların yanı sıra, farklı bitkisel özütlerin veya farklı mikroorganizmaların kullanıldığı biyofilm duyarlılık çalışmaları mevcut olmakla birlikte, bu çalışmaların bulguları araştırmamızın sonuçları ile doğrudan karşılaştırılabilir nitelikte değildir. Stevia özütünün laktobasil türleri üzerinde veya kivi özütünün streptokok ve laktobasil türleri üzerinde antibiyofilm etkinliğinin değerlendirdiği herhangi bir çalışmaya erişilebilir kaynaklarda rastlanmamıştır.

Çalışmamızdan elde edilen bulgular, kivi ve stevia özütlerinin antimikrobiyal özelliklere sahip olduğunu göstermektedir. Ancak, in vitro olarak tasarlanan bu çalışmanın sonuçları, klinik kullanımda elde edilecek sonuçları birebir yansıtmayacaktır. Ayrıca bu özütlerin kullanımının güvenlik sınırları da belirlenmesi için ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Sonuç olarak, kivi ve stevia özütleri çürük önleme stratejileri arasında yer alma potansiyeli taşımaktadır. Ancak tedavi amacıyla kullanılabilmeleri için daha kapsamlı ve ileri düzeyde çalışmalara ihtiyaç vardır.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Diş çürüğü çocukluk çağının en sık görülen kronik hastalığıdır. Çürük önlenmesi için geliştirilen pek çok yöntem bulunmaktadır, bu yöntemler arasında ise doğal içeriklere olan talep giderek artmaktadır. Kivi ve stevia özütlerinin çürük yapıcı mikroorganizmalar üzerindeki antimikrobiyal etkinliğini değerlendirdiğimiz çalışmamızda bulduğumuz sonuçlar şu şekildedir:

- Kivi ve stevia özütlerinin her ikisi de polifenol içerikleri bakımından zengin olmakla birlikte, stevia özütünün polifenol içeriği kivi özütüne kıyasla belirgin şekilde daha yüksektir.
- *S. mutans* bakterisi, kivi ve stevia özütlerine *L. acidophilus*'a kıyasla daha duyarlı bulunmuştur.
- *L. acidophilus* ile yapılan testlerde hem stevia hem de kivi özütlerinin etkinliklerinin, çözücülerıyla benzer veya çözücülerden daha düşük olduğu belirlenmiştir. Bu da *L. acidophilus* mikroorganizmasının bitkisel özütlere daha az duyarlılık gösterdiğini işaret etmektedir. Buna karşılık *L. acidophilus*, klorheksidine karşı *S. mutans*'tan daha duyarlı bulunmuştur.
- Stevia özütü, *S. mutans* üzerinde sıvı mikrodilüsyon ve biyofilm duyarlılık testlerinde kivi özütüne kıyasla daha etkili bulunmuştur. Ayrıca, gerçekleştirilen öldürme kinetiği testinde düşük konsantrasyonlarda kivi özütüne kıyasla daha yüksek etkinlik sergilemiştir.
- Kivi özütünün antimikrobiyal etkinliği değerlendirildiğinde, yalnızca yüksek dozlarda stevia özütüne kıyasla *S. mutans* üzerinde daha hızlı bakterisidal etki göstermiştir.
- Kivi ve stevia özütlerinin *L. acidophilus*'a olan etkinlikleri kıyaslandığında, doz bağımlı etkinlik farkları olmakla birlikte, iki test materyalinin birbirine üstünlüğü izlenmemiştir.
- Çalışmanın genelinde kivi özütünün antimikrobiyal etkinliğinin kivi çözücüsüne göre kısıtlı olduğu saptanmıştır. Bu durum, kivi özütünün etkinliğinin içindeki aktif bileşenlerden ziyade çözücünden kaynaklanıyor olabileceğini göstermektedir.
- Öldürme kinetiği testinde koloni sayımı ve optik yoğunluk ölçümleri ile elde edilen veriler arasında tutarsızlık gözlemlenmiştir. Bu tutarsızlığın, test materyalinin

renginin ve çökelti oluşturmasının optik yoğunluk değerini etkilemesinden kaynaklanıyor olabileceğini düşünmekteyiz.

Literatür taramaları, stevia ve kivi özütlerinin ağız patojenleri üzerindeki etkilerini inceleyen sınırlı sayıda çalışma olduğunu ortaya koymaktadır. Örneğin, erişilebilen kaynaklardan, stevia özütünün *S. mutans* biyofilmi üzerindeki etkisini değerlendiren iki çalışma bulunmuş, ancak bu çalışmaların yöntemleri ve bulguları tam olarak birbiriyle örtüşmemiştir. Buna karşın, kivi ve stevia özütlerinin diğer ağız patojenlerine yönelik antibiyofilm etkinliklerini inceleyen herhangi bir çalışmaya ulaşılamamıştır. Çalışmamız, bu doğal özütlerin ağız sağlığındaki potansiyelinin anlaşılmasında literatüre katkı sağlayacaktır.

Çalışmamızın bulguları, stevia özütünün *S. mutans*'ın eliminasyonunda umut vadeden bir potansiyel taşıdığını göstermektedir. Ancak çürüğün pek çok faktörden etkilenebilen bir hastalık olduğu bilinmektedir. Bu nedenle, stevia özütünün bir tedavi aracı olarak kullanılabilmesi için daha kapsamlı deneylerle klinik etkinliğinin ve güvenlik sınırlarının değerlendirilmesi gerekmektedir. Sonuç olarak, çalışmamız doğal özütlerin diş çürüğü ile mücadeledeki potansiyelini vurgulamakla kalmamış, aynı zamanda gelecekteki araştırmalar için bir yol haritası sunmuştur.

KAYNAKLAR

1. Wang S, Qiu Y, Zhu F. Kiwifruit (*Actinidia* spp.): A review of chemical diversity and biological activities. *Food Chem.* 2021;350:128469.
2. Peteliuk V, Rybchuk L, Bayliak M, Storey KB, Lushchak O. Natural sweetener *Stevia rebaudiana*: Functionalities, health benefits and potential risks. *EXCLI J.* 2021;20:1412.
3. Committee USD of H and HSOHC. US Department of Health and Human Services oral health strategic framework, 2014–2017. *Public Health Rep.* 2016;131(2):242–57.
4. Tezel A, Alkan A, Orhan AI, Orhan K. Türkiye Ağız Diş Sağlığı Profili Araştırma Raporu 2018. Repub Turkey Minist Heal Gen Dir Heal Serv. 2021;
5. Featherstone JDB. The science and practice of caries prevention. *J Am Dent Assoc.* 2000;131(7):887–99.
6. Conrads G. Pathophysiology of dental caries. In: *Caries excavation: Evolution of treating cavitated carious lesions.* Karger Publishers; 2018. p. 1–10.
7. Keyes PH. The infectious and transmissible nature of experimental dental caries: findings and implications. *Arch Oral Biol.* 1960;1(4):304-IN4.
8. Selwitz RH, Ismail AI, Pitts NB. Dental caries. *Lancet.* 2007;369(9555):51–9.
9. Van Houte J. Bacterial adherence and dental plaque formation. *Infection.* 1982;10(4):252–60.
10. Spatafora G, Li Y, He X, Cowan A, Tanner ACR. The Evolving Microbiome of Dental Caries. *Microorganisms.* 2024 Jan 7;12(1):121.
11. Brown JL, Johnston W, Delaney C, Short B, Butcher MC, Young T, et al. Polymicrobial oral biofilm models: simplifying the complex. *J Med Microbiol.* 2019;68(11):1573–84.
12. Miller WD. *The Micro-Organisms of the Human Mouth.* Philadelphia, PA: The S.S. White Dental MFG. CO.; 1890.
13. Loesche WJ, Eklund S, Earnest R, Burt B. Longitudinal investigation of bacteriology of human fissure decay: epidemiological studies in molars shortly after eruption. *Infect Immun.* 1984;46(3):765–72.
14. Beighton D. The complex oral microflora of high-risk individuals and groups and its role in the caries process. *Community Dent Oral Epidemiol.* 2005 Aug 6;33(4):248–55.

15. Marsh PD. Microbial ecology of dental plaque and its significance in health and disease. *Adv Dent Res.* 1994;8(2):263–71.
16. Takahashi N, Nyvad B. Caries ecology revisited: microbial dynamics and the caries process. *Caries Res.* 2008;42(6):409–18.
17. Zhang JS, Chu CH, Yu OY. Oral microbiome and dental caries development. *Dent J.* 2022;10(10):184.
18. Hajishengallis G, Darveau RP, Curtis MA. The keystone-pathogen hypothesis. *Nat Rev Microbiol.* 2012;10(10):717–25.
19. Shao Q, Feng D, Yu Z, Chen D, Ji Y, Ye Q, et al. The role of microbial interactions in dental caries: Dental plaque microbiota analysis. *Microb Pathog.* 2023;185:106390.
20. Samaranayake L. *Essential Microbiology for Dentistry.* 5th Editio. Elsevier; 2018.
21. Fejerskov O, Nyvad B, Kidd E. *Dental caries: the disease and its clinical management.* John Wiley & Sons; 2015.
22. Mallya PS, Mallya S. Microbiology and clinical implications of dental caries-a review. *J Evol Med Dent Sci.* 2020;9:3670–5.
23. Zhou X, Li Y, editors. *Atlas of Oral Microbiology: From Healthy Microflora to Disease.* Singapore: Springer Singapore; 2020.
24. Kleinberg I. A mixed-bacteria ecological approach to understanding the role of the oral bacteria in dental caries causation: an alternative to *Streptococcus mutans* and the specific-plaque hypothesis. *Crit Rev Oral Biol Med.* 2002;13(2):108–25.
25. Neves BG, Stipp RN, da Silva Bezerra D, de Figueiredo Guedes SF, Rodrigues LKA. Molecular detection of bacteria associated to caries activity in dentinal lesions. *Clin Oral Investig.* 2017 Jul 12;21(6):2053–61.
26. Ahirwar SS, Snehi SK, Gupta MK. Distribution and Molecular Characterisation of *Lactobacilli* in the Oral Cavity of Children. *Indian J Dent Res.* 2021 Jan;32(1):8–14.
27. Leme LAFP, Rizzardi KF, Santos IB, Parisotto TM. Exploring the Relationship between Salivary Levels of $\text{TNF-}\alpha$, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus gasseri*, Obesity, and Caries in Early Childhood. *Pathogens.* 2022 May 14;11(5):579.
28. Touger-Decker R, Van Loveren C. Sugars and dental caries. *Am J Clin Nutr.* 2003;78(4):881S-892S.

29. Chin JR, Kowolik JE, Stookey GK. Chapter 9 - Dental Caries in the Child and Adolescent. In: Dean JABTM and AD for the C and A (Tenth E, editor. St. Louis: Mosby; 2016. p. 155–76.
30. Kashket S, Paolino VJ, Lewis DA, Van Houte J. In-vitro inhibition of glucosyltransferase from the dental plaque bacterium *Streptococcus mutans* by common beverages and food extracts. *Arch Oral Biol.* 1985;30(11–12):821–6.
31. Pitts NB, Zero DT, Marsh PD, Ekstrand K, Weintraub JA, Ramos-Gomez F, et al. Dental caries. *Nat Rev Dis Prim.* 2017 May 25;3(1):17030.
32. Nowak AJ, Christensen JR, Mabry TR, Townsend JA, Wells MH. *Pediatric Dentistry: Pediatric Dentistry-E-Book.* Elsevier Health Sciences; 2018.
33. Roberson TM, Heymann HO, Swift EJ, Gürkan S. *Sturdevant's art and science of operative dentistry : Türkçe.* 5. basım. Ankara: Güneş Tıp Kitabevleri; 2011.
34. Alm A, Wendt LK, Koch G, Birkhed D. Prevalence of approximal caries in posterior teeth in 15-year-old Swedish teenagers in relation to their caries experience at 3 years of age. *Caries Res.* 2007;41(5):392–8.
35. Larsen MJ. Chemical events during tooth dissolution. *J Dent Res.* 1990;69(2_suppl):575–80.
36. Ten Cate JM, Featherstone JDB. Mechanistic aspects of the interactions between fluoride and dental enamel. *Crit Rev Oral Biol Med.* 1991;2(3):283–96.
37. Featherstone JDB, Nelson DGA, McLean JD. An electron microscope study of modifications to defect regions in dental enamel and synthetic apatites. *Caries Res.* 1981;15(4):278–88.
38. Buzalaf MAR, Pessan JP, Honório HM, ten Cate JM. Mechanisms of Action of Fluoride for Caries Control. In 2011. p. 97–114.
39. Kumar SB. Chlorhexidine mouthwash-a review. *J Pharm Sci Res.* 2017;9(9):1450.
40. Riley P, Lamont T. Triclosan/copolymer containing toothpastes for oral health. *Cochrane Database Syst Rev.* 2013;(12).
41. Dentistry AA of P. Policy on use of xylitol in pediatric dentistry. In: *The Reference Manual of Pediatric Dentistry.* Chicago, Ill: American Academy of Pediatric Dentistry; 2020. p. 70–1.
42. Haps S, Slot DE, Berchier CE, Van der Weijden GA. The effect of cetylpyridinium chloride-containing mouth rinses as adjuncts to toothbrushing on plaque and parameters of gingival inflammation: a systematic review. *Int J Dent*

- Hyg. 2008;6(4):290–303.
43. Guven Y, Ustun N, Tuna EB, Aktoren O. Antimicrobial effect of newly formulated toothpastes and a mouthrinse on specific microorganisms: An in vitro study. *Eur J Dent.* 2019;13(02):172–7.
 44. Rajendiran M, Trivedi HM, Chen D, Gajendrareddy P, Chen L. Recent development of active ingredients in mouthwashes and toothpastes for periodontal diseases. *Molecules.* 2021;26(7):2001.
 45. Almohefer SA, Levon JA, Gregory RL, Eckert GJ, Lippert F. Caries lesion remineralization with fluoride toothpastes and chlorhexidine-effects of application timing and toothpaste surfactant. *J Appl oral Sci.* 2018;26:e20170499.
 46. Tekin H, Kırzioğlu Z. Bitkisel İçerikli Diş Macunları ve Çocuklarda Kullanımı. *Balıkesir Sağlık Bilim Derg.* 2021;10(1):63–72.
 47. Jose JE, Padmanabhan S, Chitharanjan AB. Systemic consumption of probiotic curd and use of probiotic toothpaste to reduce *Streptococcus mutans* in plaque around orthodontic brackets. *Am J Orthod Dentofac Orthop.* 2013;144(1):67–72.
 48. Qu S, Ma X, Yu S, Wang R. Chitosan as a biomaterial for the prevention and treatment of dental caries: antibacterial effect, biomimetic mineralization, and drug delivery. *Front Bioeng Biotechnol.* 2023;11:1234758.
 49. Mutlu-Ingok A, Devecioglu D, Dikmetas DN, Karbancioglu-Guler F, Capanoglu E. Antibacterial, antifungal, antimycotoxigenic, and antioxidant activities of essential oils: An updated review. *Molecules.* 2020;25(20):4711.
 50. Flemming J, Meyer-Probst CT, Speer K, Kölling-Speer I, Hannig C, Hannig M. Preventive applications of polyphenols in dentistry—A review. *Int J Mol Sci.* 2021;22(9):4892.
 51. Özlüsoylu Ş, Yıldızbaş A, Pekgözlü AK. Fenolik bileşikler ve biyolojik aktivite özellikleri. In: *Ziraat ve Orman ve Su Ürünleri Alanında Uluslararası Araştırma ve Değerlendirmeler I.* 2023. p. 155–170.
 52. Listerine [Internet]. [cited 2024 Aug 10]. Ingredients. Available from: <https://www.listerine.com/our-sustainability/ingredients>
 53. Vlachojannis C, Chrubasik-Hausmann S, Hellwig E, Al-Ahmad A. A preliminary investigation on the antimicrobial activity of Listerine®, its components, and of mixtures thereof. *Phyther Res.* 2015;29(10):1590–4.
 54. Marinho VT, Dos Reis AC, da Costa Valente ML. Efficacy of antimicrobial agents in dentifrices: a systematic review. *Antibiotics.* 2022;11(10):1413.

55. Eisenberg AD, Young DA, Fan-Hsu J, Spitz LM. Interactions of sanguinarine and zinc on oral streptococci and *Actinomyces* species. *Caries Res.* 1991;25(3):185–90.
56. Sterer N, Nuas S, Mizrahi B, Goldenberg C, Weiss EI, Domb A, et al. Oral malodor reduction by a palatal mucoadhesive tablet containing herbal formulation. *J Dent.* 2008;36(7):535–9.
57. Jeon JG, Rosalen PL, Falsetta ML, Koo H. Natural products in caries research: current (limited) knowledge, challenges and future perspective. *Caries Res.* 2011;45(3):243–63.
58. Messier C, Epifano F, Genovese S, Grenier D. Licorice and its potential beneficial effects in common oro-dental diseases. *Oral Dis.* 2012;18(1):32–9.
59. Carvalho I de O, Purgato GA, Píccolo MS, Pizziolo VR, Coelho RR, Diaz-Muñoz G, et al. In vitro anticariogenic and antibiofilm activities of toothpastes formulated with essential oils. *Arch Oral Biol.* 2020;117:104834.
60. Palombo EA. Traditional medicinal plant extracts and natural products with activity against oral bacteria: potential application in the prevention and treatment of oral diseases. *Evid Based Complement Altern Med.* 2011;2011(1):680354.
61. Tarımsal Ekonomi ve Politika Geliştirme Enstitüsü. Tarım Ürünleri Piyasaları: Kivi. Ankara; 2021.
62. Wojdyło A, Nowicka P, Oszmiański J, Golis T. Phytochemical compounds and biological effects of *Actinidia* fruits. *J Funct Foods.* 2017;30:194–202.
63. Hunter DC, Greenwood J, Zhang J, Skinner MA. Antioxidant and ‘natural protective’ properties of kiwifruit. *Curr Top Med Chem.* 2011;11(14):1811–20.
64. Hettihewa SK, Hemar Y, Rupasinghe HPV. Flavonoid-rich extract of *actinidia macrosperma* (a wild kiwifruit) inhibits angiotensin-converting enzyme in vitro. *Foods.* 2018;7(9):146.
65. Jeong HR, Kim KJ, Lee SG, Cho HS, Cho YS, Kim DO. Phenolic profiles of hardy kiwifruits and their neuroprotective effects on PC-12 and SH-SY5Y cells against oxidative stress. *J Microbiol Biotechnol.* 2020;30(6):912.
66. Yang H, Lee YC, Han KS, Singh H, Yoon M, Park JH, et al. Green and gold kiwifruit peel ethanol extracts potentiate pentobarbital-induced sleep in mice via a GABAergic mechanism. *Food Chem.* 2013;136(1):160–3.
67. Qu L, Liu Q, Zhang Q, Tuo X, Fan D, Deng J, et al. Kiwifruit seed oil prevents obesity by regulating inflammation, thermogenesis, and gut microbiota in high-fat

- diet-induced obese C57BL/6 mice. *Food Chem Toxicol.* 2019;125:85–94.
68. Zhang L, Zhang W, Wang Q, Wang D, Dong D, Mu H, et al. Purification, antioxidant and immunological activities of polysaccharides from *Actinidia Chinensis* roots. *Int J Biol Macromol.* 2015;72:975–83.
 69. Wang Q, Xu Y, Gao Y, Wang Q. *Actinidia chinensis* planch polysaccharide protects against hypoxia-induced apoptosis of cardiomyocytes in vitro. *Mol Med Rep.* 2018;18(1):193–201.
 70. James CA, Welham S, Rose P. Update on the global prevalence and severity of kiwifruit allergy: a scoping review. *Int J Food Sci Technol.* 2023;58(12):6158–81.
 71. Wang J, Vanga SK, Raghavan V. High-intensity ultrasound processing of kiwifruit juice: Effects on the ascorbic acid, total phenolics, flavonoids and antioxidant capacity. *Food Chem.* 2019;107:299–307.
 72. Alim A, Li T, Nisar T, Ren D, Zhai X, Pang Y, et al. Antioxidant, antimicrobial, and antiproliferative activity-based comparative study of peel and flesh polyphenols from *Actinidia chinensis*. *Food Nutr Res.* 2019;63.
 73. Salama Z, Ahmed AE, Faten AE, Hanan A, Mohsen A, Habiba A. Active Constituents of Kiwi (*Actinidia Deliciosa* Planch) Peels and Their Biological Activities as Antioxidant, Antimicrobial and Anticancer. *Res J Chem Environ.* 2018;22(9):52–9.
 74. Wang H, Quan H, Sun T, Wang Z, Yang Y. Chemical composition, antimicrobial, and antioxidant cytotoxic activities of essential oil from *Actinidia arguta*. *Arch Microbiol.* 2022;204(5):239.
 75. Mugita N, Nambu T, Takahashi K, Wang PL, Komasa Y. Proteases, actinidin, papain and trypsin reduce oral biofilm on the tongue in elderly subjects and in vitro. *Arch Oral Biol.* 2017;82:233–40.
 76. Nohno K, Yamaga T, Kaneko N, Miyazaki H. Tablets containing a cysteine protease, actinidine, reduce oral malodor: a crossover study. *J Breath Res.* 2012;6(1):17107.
 77. Kola O, Gevrek Z, Parıldı E, Akkaya MR. Stevia: Şekere alternatif doğal ve sıfır kalorili tatlandırıcı. *Turkish J Nat Sci.* 2022;1(1):21–32.
 78. İnanc AL, Çınar İ. Alternatif doğal tatlandırıcı: Stevia. *Gıda.* 2009;34(6):411–20.
 79. Karaköse H, Müller A, Kuhnert N. Profiling and quantification of phenolics in *Stevia rebaudiana* leaves. *J Agric Food Chem.* 2015;63(41):9188–98.

80. Tadhani MB, Patel VH, Subhash R. In vitro antioxidant activities of *Stevia rebaudiana* leaves and callus. *J food Compos Anal.* 2007;20(3–4):323–9.
81. Olas B. *Stevia rebaudiana* Bertoni and its secondary metabolites: Their effects on cardiovascular risk factors. *Nutrition.* 2022 Jul;99–100:111655.
82. Ajami M, Seyfi M, Hosseini FAP, Naseri P, Velayati A, Mahmoudnia F, et al. Effects of stevia on glycemic and lipid profile of type 2 diabetic patients: A randomized controlled trial. *Avicenna J Phytomedicine.* 2020;10(2):118.
83. Boonkaewwan C, Toskulkao C, Vongsakul M. Anti-inflammatory and immunomodulatory activities of stevioside and its metabolite steviol on THP-1 cells. *J Agric Food Chem.* 2006;54(3):785–9.
84. Iatridis N, Kougioumtzi A, Vlataki K, Papadaki S, Magklara A. Anti-cancer properties of *Stevia rebaudiana*; more than a sweetener. *Molecules.* 2022;27(4):1362.
85. Urban JD, Carakostas MC, Taylor SL. Steviol glycoside safety: Are highly purified steviol glycoside sweeteners food allergens? *Food Chem Toxicol.* 2015 Jan;75:71–8.
86. Ulbricht C, Isaac R, Milkin T, A. Poole E, Rusie E, M. Grimes Serrano J, et al. An Evidence-Based Systematic Review of *Stevia* by the Natural Standard Research Collaboration. *Cardiovasc Hematol Agents Med Chem.* 2010 Apr 1;8(2):113–27.
87. Lohner S, Toews I, Meerpohl JJ. Health outcomes of non-nutritive sweeteners: analysis of the research landscape. *Nutr J.* 2017 Dec 8;16(1):55.
88. Toskulkac C, Chaturat L, Temcharoen P, Glinsukon T. Acute Toxicity of Stevioside, A Natural Sweetener, and its Metabolite, Steviol, in Several Animal Species. *Drug Chem Toxicol.* 1997 Jan 27;20(1–2):31–44.
89. Ghosh S, Subudhi E, Nayak S. Antimicrobial assay of *Stevia rebaudiana* Bertoni leaf extracts against 10 pathogens. *Int J Integr Biol.* 2008;2(1):27–31.
90. Puri M, Sharma D. Antibacterial activity of stevioside towards food-borne pathogenic bacteria. *Eng Life Sci.* 2011;11(3):326–9.
91. Kumari M, Chandra S. Stevioside glycosides from in vitro cultures of *Stevia rebaudiana* and antimicrobial assay. *Brazilian J Bot.* 2015;38:761–70.
92. Myint KZ, Zhou Z, Shi Q, Chen J, Dong X, Xia Y. *Stevia* Polyphenols, Their Antimicrobial and Anti-Inflammatory Properties, and Inhibitory Effect on Digestive Enzymes. *Molecules.* 2023 Nov 13;28(22):7572.
93. Gamboa F, Chaves M. Antimicrobial potential of extracts from *Stevia*

- rebaudiana leaves against bacteria of importance in dental caries. *Acta odontológica Latinoam.* 2012;25(2):171–5.
94. Brambilla E, Cagetti MG, Ionescu A, Campus G, Lingström P. An in vitro and in vivo comparison of the effect of *Stevia rebaudiana* extracts on different caries-related variables: a randomized controlled trial pilot study. *Caries Res.* 2014;48(1):19–23.
 95. Giongo FCM de S, Bruna MUA, Parolo CCF, Carlén A, Maltz M. Effects of lactose-containing stevioside sweeteners on dental biofilm acidogenicity. *Braz Oral Res.* 2014;28(1):1–6.
 96. Das S, Das AK, Murphy RA, Punwani IC, Nasution MP, Kinghorn A. Evaluation of the cariogenic potential of the intense natural sweeteners stevioside and rebaudioside A. *Caries Res.* 1992;26(5):363–6.
 97. Demiripek U, Çoban AY, Sakarya S, Bozdoğan B. Antibiyotik Duyarlılık Test Yöntemleri. 2010.
 98. Kırmusaoğlu S. The Methods for Detection of Biofilm and Screening Antibiofilm Activity of Agents. In: *Antimicrobials, Antibiotic Resistance, Antibiofilm Strategies and Activity Methods.* IntechOpen; 2019.
 99. Standards NC for CL, Barry AL. Methods for determining bactericidal activity of antimicrobial agents: approved guideline. Vol. 19. National Committee for Clinical Laboratory Standards Wayne, PA; 1999.
 100. Azeredo J, Azevedo NF, Briandet R, Cerca N, Coenye T, Costa AR, et al. Critical review on biofilm methods. *Crit Rev Microbiol.* 2017 May 4;43(3):313–51.
 101. Ergün Z. Biyolojik maddelerin kurutularak saklanması: liyofilizasyon. *Etlik Vet Mikrobiyoloji Derg.* 2015;26(1):35–40.
 102. Tzanova M, Atanasov V, Yaneva Z, Ivanova D, Dinev T. Selectivity of Current Extraction Techniques for Flavonoids from Plant Materials. *Processes.* 2020 Sep 30;8(10):1222.
 103. Cemeroğlu B, Acar J. *Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi.* Ankara: Gıda Teknolojisi Derneği; 1986.
 104. Clarke S. *Essential Chemistry for Aromatherapy.* 2nd ed. Churchill Livingstone; 2009.
 105. Huang D, Ou B, Prior RL. The chemistry behind antioxidant capacity assays. *J Agric Food Chem.* 2005;53(6):1841–56.

106. Al Mamari HH. Phenolic Compounds: Classification, Chemistry, and Updated Techniques of Analysis and Synthesis. In 2022.
107. Gutierrez-Urbe JA, Nollet LML, editors. Phenolic Compounds in Food Characterization and Analysis. USA: CRC Press; 2018.
108. Magwaza LS, Opara UL. Analytical methods for determination of sugars and sweetness of horticultural products—A review. *Sci Hortic (Amsterdam)*. 2015 Mar;184:179–92.
109. Akoh CC, Min DB, editors. Food Lipids Chemistry, Nutrition, and Biotechnology. USA: CRC Press; 2002.
110. Aworh OC, Nakai S. Extraction of Milk Clotting Enzyme from Sodom Apple (*Calotropis procera*). *J Food Sci*. 1986 Nov 25;51(6):1569–70.
111. Lafka TI, Sinanoglou V, Lazos ES. On the extraction and antioxidant activity of phenolic compounds from winery wastes. *Food Chem*. 2007 Jan;104(3):1206–14.
112. Cemeroğlu B. Gıda Analizleri. Ankara: Nobel Yayın Dağıtım; 2010.
113. Spanos GA, Wrolstad RE. Influence of processing and storage on the phenolic composition of Thompson seedless grape juice. *J Agric Food Chem*. 1990;38(7):1565–71.
114. Karadeniz F, Burdurlu HS, Koca N, Soyer Y. Antioxidant activity of selected fruits and vegetables grown in Turkey. *Turkish J Agric For*. 2005;29(4):297–303.
115. Fischer UA, Carle R, Kammerer DR. Identification and quantification of phenolic compounds from pomegranate (*Punica granatum* L.) peel, mesocarp, aril and differently produced juices by HPLC-DAD–ESI/MSn. *Food Chem*. 2011;127(2):807–21.
116. Tetik N, Turhan I, Oziyici HR, Karhan M. Determination of D-pinitol in carob syrup. *Int J Food Sci Nutr*. 2011 Sep 5;62(6):572–6.
117. Kolb N, Herrera JL, Ferreyra DJ, Uliana RF. Analysis of Sweet Diterpene Glycosides from *Stevia rebaudiana* : Improved HPLC Method. *J Agric Food Chem*. 2001 Oct 1;49(10):4538–41.
118. Chuah EL, Zakaria ZA, Suhaili Z, Bakar SA, Desa MNM. Antimicrobial activities of plant extracts against methicillin-susceptible and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Microbiol Res*. 2014;4(1):6–13.
119. Karthikeyan R, Amaechi BT, Rawls HR, Lee VA. Antimicrobial activity of nanoemulsion on cariogenic *Streptococcus mutans*. *Arch Oral Biol*. 2011;56(5):437–45.

120. Ramalingam K, Amaechi BT. Antimicrobial effect of herbal extract of *Acacia arabica* with triphala on the biofilm forming cariogenic microorganisms. *J Ayurveda Integr Med*. 2020 Jul;11(3):322–8.
121. Stepanović S, Vuković D, Dakić I, Savić B, Švabić-Vlahović M. A modified microtiter-plate test for quantification of staphylococcal biofilm formation. *J Microbiol Methods*. 2000 Apr;40(2):175–9.
122. Kalembe D, Kunicka A. Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Curr Med Chem*. 2003;10(10):813–29.
123. Hammer KA, Dry L, Johnson M, Michalak EM, Carson CF, Riley T V. Susceptibility of oral bacteria to *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil in vitro. *Oral Microbiol Immunol*. 2003 Dec 24;18(6):389–92.
124. Nostro A, Cannatelli MA, Crisafi G, Musolino AD, Procopio F, Alonzo V. Modifications of hydrophobicity, in vitro adherence and cellular aggregation of *Streptococcus mutans* by *Helichrysum italicum* extract. *Lett Appl Microbiol*. 2004 May;38(5):423–7.
125. Takarada K, Kimizuka R, Takahashi N, Honma K, Okuda K, Kato T. A comparison of the antibacterial efficacies of essential oils against oral pathogens. *Oral Microbiol Immunol*. 2004 Feb 16;19(1):61–4.
126. Groppo F, Ramacciato J, Motta R, Ferraresi P, Sartoratto A. Antimicrobial activity of garlic against oral streptococci. *Int J Dent Hyg*. 2007 May 24;5(2):109–15.
127. Singla S, Malhotra R, ND S, Saxena S. Antibacterial Efficacy of Mouthwash Prepared from Pomegranate, Grape Seed and Guava Extracts against Oral Streptococci: An in Vivo Study. *J Clin Pediatr Dent*. 2018 Jan 1;42(2):109–13.
128. Fani M, Kohanteb J. Inhibitory activity of Aloe vera gel on some clinically isolated cariogenic and periodontopathic bacteria. *J Oral Sci*. 2012;54(1):15–21.
129. Ferrazzano GF, Roberto L, Amato I, Cantile T, Sangianantoni G, Ingenito A. Antimicrobial Properties of Green Tea Extract Against Cariogenic Microflora: An In Vivo Study. *J Med Food*. 2011 Sep;14(9):907–11.
130. Tasanarong T, Patntirapong S, Aupaphong V. The inhibitory effect of a novel neem paste against cariogenic bacteria. *J Clin Exp Dent*. 2021;e1083-1088.
131. Jassoma E, Baeesa L, Sabbagh H. The antiplaque/anticariogenic efficacy of *Salvadora persica* (Miswak) mouthrinse in comparison to that of chlorhexidine: A systematic review and meta-analysis. *BMC Oral Health*. 2019;19:1–14.

132. Elgamily HM, Nagi SM, Kassem AA, Nour KA, Zaazou MH, Mehanna NS. In-vitro comparative study of antimicrobial activity of two plant extracts and probiotic strain against isolated oral cariogenic pathogen. *Res J Pharm Biol Chem Sci.* 2015;6(3):1705–9.
133. Singhal R, Patil P, Siddibhavi M, Ankola A V, Sankeshwari R, Kumar V. Antimicrobial and antibiofilm effect of cranberry extract on *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus acidophilus*: An in vitro study. *Int J Clin Pediatr Dent.* 2020;13(1):11.
134. Mistry KS, Sanghvi Z, Parmar G, Shah S. The antimicrobial activity of *Azadirachta indica*, *Mimusops elengi*, *Tinospora cardifolia*, *Ocimum sanctum* and 2% chlorhexidine gluconate on common endodontic pathogens: An in vitro study. *Eur J Dent.* 2014 Apr 24;08(02):172–7.
135. Basile A, Vuotto ML, Violante U, Sorbo S, Martone G, Castaldo-Cobianchi R. Antibacterial activity in *Actinidia chinensis*, *Feijoa sellowiana* and *Aberia caffra*. *Int J Antimicrob Agents.* 1997;8(3):199–203.
136. Lu Y, Zhao YP, Wang ZC, Chen SY, Fu CX. Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Actinidia macrosperma* from China. *Nat Prod Res.* 2007 Mar;21(3):227–33.
137. Al-Naimy EH, Al-Lihaibi RK, Majeed SM, Al-Ani RS. Antibacterial and cytotoxic effects of the kiwi fruit and pomegranate active compounds on tumor cell line (L20b, Rd). *Iraqi J Agri Sci.* 2012;43(1):157–67.
138. Elkichaoi A, El-Hindi M, Mosleh F, Elbashiti T. The antimicrobial effects of the fruit extracts of *Punica granatum*, *Actinidia deliciosa* and *Citrus maxima* on some human pathogenic microorganisms. *Am Int J Biol.* 2015;3(2):1–18.
139. Tiwari V, Tiwari D, Patel V, Tiwari M. Effect of secondary metabolite of *Actinidia deliciosa* on the biofilm and extra-cellular matrix components of *Acinetobacter baumannii*. *Microb Pathog.* 2017 Sep;110:345–51.
140. Almeida D, Pinto D, Santos J, Vinha AF, Palmeira J, Ferreira HN, et al. Hardy kiwifruit leaves (*Actinidia arguta*): An extraordinary source of value-added compounds for food industry. *Food Chem.* 2018 Sep;259:113–21.
141. Santos TRJ, de Aquino Santana LCL. Antimicrobial potential of exotic fruits residues. *South African J Bot.* 2019;124:338–44.
142. Barairo JDI, Castillo CL, Coja Jr FT, Sotelo PDE, Agra AJM. Antibacterial Effect of Kiwi Fruit Extract (*Actinidia chinensis*) to *Streptococcus pyogenes* and

- Staphylococcus aureus*. LPU-St Cabrini J Allied Med. 2019;3(2):1.
143. Otağ M, Kalkan S, Engin MS. Trabzon yöresinde yetişen Sibirya kivisi (*Actinidia arguta*) meyvesinin fenolik bileşiklerinin karakterizasyonu ile antioksidan ve antimikrobiyal aktivitesinin belirlenmesi. Harran Tarım ve Gıda Bilim Derg. 2021 Sep 23;25(3):362–76.
 144. Giordano M, Pinela J, Dias MI, Calhelha RC, Stojković D, Soković M, et al. Ultrasound-Assisted Extraction of Flavonoids from Kiwi Peel: Process Optimization and Bioactivity Assessment. Appl Sci. 2021 Jul 12;11(14):6416.
 145. Nayyef SH, Yaseen LQ, Wahab MHA. Invitro Determination Effectiveness of *Acacia senegal* and Juice of *Actinidia deliciosa* with Estimate Synergistic Effect Towards Some Pathogenic Bacteria of Human. J Res Appl Sci Biotechnol. 2023 Oct 13;2(5):22–8.
 146. Mathew MZ, Arthanari A, Ganesh S, Naseef Pathoor N, Ramalingam K, Ravindran V. Evaluating the Efficacy of *Actinidia deliciosa* (Kiwi Fruit) Extract in Inhibiting *Pseudomonas aeruginosa* Biofilm Formation: An In Vitro Study With Therapeutic Implications. Cureus. 2024 Sep 24;
 147. Debnath M. Clonal propagation and antimicrobial activity of an endemic medicinal plant *Stevia rebaudiana*. J Med plants Res. 2008;2(2):45–51.
 148. Abou-Arab EA, Abu-Salem FM. Evaluation of bioactive compounds of *Stevia rebaudiana* leaves and callus. J Food Dairy Sci. 2010;1(4):209–24.
 149. Zangeneh MM, Najafi F, Tahvilian R, Haghazari L, Zangeneh A, Abiari M, et al. Study on the in vitro antibacterial properties of alcoholic extract of *Stevia rebaudiana* in west of Iran. Int J Sci Eng Res. 2016;7(11):1352–9.
 150. Mariana MA, Maricruz OA, Marta LS, Ivonne PX, Ada MRC, Sandra LCH. Antibacterial activity of extracts of *Stevia rebaudiana* Bertoni against *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* and *Pseudomonas aeruginosa*. J Med Plants Res. 2017 Jul 3;11(25):414–8.
 151. Lemus-Mondaca R, Vega-Gálvez A, Rojas P, Stucken K, Delporte C, Valenzuela-Barra G, et al. Antioxidant, antimicrobial and anti-inflammatory potential of *Stevia rebaudiana* leaves: effect of different drying methods. J Appl Res Med Aromat Plants. 2018 Dec;11:37–46.
 152. Hastuty A. Antibiofilm and antimicrobial activities of papaya (*Carica papaya* L.) and stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) leaf extracts against three biofilm-forming bacteria. J Microb Syst Biotechnol. 2019 Jun 24;1(1):19–29.

153. Dinev T, Tzanova M, Rusenova N, Grozeva N, Gerdzhikova M, Beev G. Antimicrobial and Antioxidant Potential of Methanolic Extracts from Different Parts of *Stevia rebaudiana* Bertoni Cultivated in Bulgaria. *Sains Malaysiana*. 2021 Sep 30;50(9):2641–51.
154. Deonas AN, Zorzenon MRT, Oliveira JP de, Silva DV da, Cabeça CLS, Mori MA, et al. *Stevia Rebaudiana* fraction presents broad-spectrum antibacterial action and antibiofilm action for *Staphylococcus aureus*. *Brazilian J Dev*. 2022 Jul 6;8(7):49529–41.
155. Iawsipo P, Somana J, Patthamawan P, Kaewmahatthai T, Roy S. Exploring *Stevia* Leaf Residue Extracts: Antibacterial and Antioxidant Potential as Natural Food Preservatives. *Trends Sci*. 2024 Jul 10;21(9):8113.
156. Chen X, Yi LK, Bai YB, Cao MZ, Wang WW, Shang ZX, et al. Antibacterial activity and mechanism of *Stevia* extract against antibiotic-resistant *Escherichia coli* by interfering with the permeability of the cell wall and the membrane. *Front Microbiol*. 2024 Sep 18;15.
157. Nouri F, Hajihassani M, Solgi F, Ghasemi S, Divanpour V. Evaluation of *Stevia Rebaudiana* effect on *Lactobacillus plantarum* growth: An In Vitro Study. *Her NAMSCA*. 2018;(3).
158. Escobar E, Piedrahita M, Gregory RL. Growth and viability of *Streptococcus mutans* in sucrose with different concentrations of *Stevia rebaudiana* Bertoni. *Clin Oral Investig*. 2020 Sep 18;24(9):3237–42.
159. Demirez Bircan Z, Aydinoglu S, Arslan I, Alpay Karaoglu S, Yurteri E, Bozdeveci A. Comparative evaluation of various herbal extracts on biofilms of *Streptococcus mutans* and *Scardovia wiggsiae*: An in vitro study. *Int J Paediatr Dent*. 2022 Jul;32(4):514–26.
160. AlKanderi S, AlFreeh M, Bhardwaj RG, Karched M. Sugar Substitute *Stevia* Inhibits Biofilm Formation, Exopolysaccharide Production, and Downregulates the Expression of Streptococcal Genes Involved in Exopolysaccharide Synthesis. *Dent J*. 2023 Nov 23;11(12):267.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Ecem	Uyruğu	
Soyadı	MAMAKLI ERDOĞAN	Tel no	
Doğum tarihi		e-posta	

Eğitim Bilgileri

Mezun olduğu kurum		Mezuniyet yılı
Lise	Antalya Anadolu Lisesi	
Lisans/Yüksek Lisans	Hacettepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	
Doktora/Uzmanlık	Akdeniz Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Çocuk Diş Hekimliği AD	

İş Deneyimi

Görevi	Kurum	Süre (yıl-yıl)
Arş. Gör.	Akdeniz Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Çocuk Diş Hekimliği AD	

Yabancı Dilleri	Sınav türü	Puanı
İngilizce	YÖKDİL	

Yayınlar ve Bildiriler:

Mamaklı E, Cengiz A, Codal T, Karayılmaz H. Orta keser dışında komplike kron kırığı ve intrüzyon yaralanması bulunan otizm spektrum bozukluğu tanılı olgunun genel anestezi altında cerrahi ekstrüzyon ile tedavisi. 29. Uluslararası Türk Pedodonti Derneği Kongresi (ss. 191). Ankara, Türkiye, 2023

Mamaklı E, Cengiz A, Akdağ H, Cesur G, Yaşar S, Altuner E, ... Budak B.(2022). Diş Plagının Gösterilmesinin Üniversite Öğrencilerinin Ağız Diş Sağlığına Yönelik Tutum ve Davranışlarına Olan Etkisinin Değerlendirilmesi. Akdeniz Diş Hekimliği Dergisi. 2022;1(2):63-75.

Mamaklı E, Cengiz A, Karayılmaz H. Üniversite öğrencilerinin ağız ve diş sağlığına yönelik tutum ve davranışlarının değerlendirilmesi. 28. Uluslararası Türk Pedodonti Derneği Kongresi (ss. 186). Antalya, Türkiye, 2022.