



**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**DOKTORA
TEZİ**

**DOĞAL KAYNAKLI ÜRÜNLERİN
ORAL PATOJENLER ÜZERİNDE
ANTİMİKROBİYAL ETKİNLİKLERİNİN
İN VİTRO DEĞERLENDİRİLMESİ**

İLAYDA HÜNLER DÖNMEZ

ÇOCUK DİŞ HEKİMLİĞİ ANA BİLİM DALI

KASIM 2021



**DOĞAL KAYNAKLI ÜRÜNLERİN ORAL PATOJENLER ÜZERİNDE
ANTİMİKROBİYAL ETKİNLİKLERİNİN İN VİTRO DEĞERLENDİRİLMESİ**

İlayda HÜNLER DÖNMEZ

**DOKTORA TEZİ
ÇOCUK DİŞ HEKİMLİĞİ ANA BİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

KASIM 2021

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,

Tez olarak sunduğum bu araştırmanın özgün olduğunu bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

İlayda HÜNLER DÖNMEZ

.../.../2021

DOĞAL KAYNAKLI ÜRÜNLERİN ORAL PATOJENLER ÜZERİNDE ANTİMİKROBİYAL ETKİNLİKLERİNİN İN VİTRO DEĞERLENDİRİLMESİ

(Doktora Tezi)

İlayda HÜNLER DÖNMEZ

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Kasım 2021

ÖZET

Yapılan tez çalışmasında; taş suyu (Kale Natural, Balıkesir, Türkiye), çam terebentin esansı (Ali Ünyazıcı, Ankara, Türkiye), zeytin yaprağı ekstraktı (Kale Natural, Balıkesir, Türkiye), üzüm çekirdeği yağı (Ali Ünyazıcı, Ankara, Türkiye), Hindistan cevizi yağı (Ali Ünyazıcı, Ankara, Türkiye), propolis (Bee'o Up, İstanbul, Türkiye), çay ağacı yağı (Ali Ünyazıcı, Ankara, Türkiye), çam kabuğu ekstraktı (Kale Natural, Balıkesir, Türkiye), %2'lik klorheksidin (Drogsan, Ankara, Türkiye), gliserol ve distile suyun, *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*, ATCC#29212), *Streptococcus mutans* (*S. mutans* ATCC#25175), *Lactobacillus acidophylus* (*L. acidophylus* ATCC#4356) ve *Candida albicans* (*C. albicans* ATCC#10231) üzerindeki antimikrobiyal etkinlikleri araştırıldı. Disk difüzyon ve kuyucuk difüzyon antimikrobiyal aktivite düzeyi saptama yöntemleri üçer kez tekrarlandı, sonucunda etkinlik gösteren doğal ürünlerle mikrodilüsyon testi çalışıldı. Doğal ürünlerin oluşturduğu gruplar arasında antimikrobiyal etki gösteren doğal kaynaklı ürünler ile klorheksidin diglukonat grubu istatistiksel analize dahil edildi. Verilerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro-Wilk testi ve homojenlik varsayımına uygunluğu Levene testi ile incelendi, analiz yöntemi olarak Kruskal Wallis testi kullanıldı. Farklılığın bulunduğu grupları ortaya koymak adına ileri aşama testi olarak Dunn testi uygulandı. Bahsi geçen istatistiksel yöntemlerin değerlendirilmesinde $p<0.05$ kriteri esas alındı ve testlerin uygulanmasında SPSS 26 ve R Studio paket programlarından yararlanıldı. Çalışmanın sonucunda, çam terebentin, propolis, çay ağacı yağı ve kızılçam kabuğu ekstraktı; kullanılan oral patojenlere karşı antimikrobiyal etkinlik gösterdi. Çay ağacı yağının *C. albicans*'a karşı en yüksek antimikrobiyal etkinliği gösterdiği ve %2'lik klorheksidin diglukonattan anlamlı derece daha antikandidal bulunduğu, çam terebentin, propolis, çay ağacı yağı ve kızılçam kabuğu ekstraktı *L. acidophylus*'a karşı etkinlik gösterse de %2'lik klorheksidin diglukonat kadar yüksek antibakteriyel özellik göstermediği, *S. mutans* ve *E. faecalis*'e karşı ise en az klorheksidin kadar antimikrobiyal oldukları sonucuna varıldı.

Bilim Kodu : 1003.1

Anahtar Kelimeler : Doğal Ürün, Fitoterapi, Esansiyel Yağlar, Antimikrobiyal, Oral Patojenler

Sayfa Adedi : 97

Danışman : Prof. Dr. Cengiz Haluk BODUR

IN VITRO EVALUATION OF ANTIMICROBIAL EFFECTS OF NATURAL SOURCED PRODUCTS ON ORAL PATHOGENS

(Ph. D. Thesis)

İlayda HÜNLER DÖNMEZ

GAZİ UNIVERSITY
GRADUATE SCHOOL OF HEALTH SCIENCES

November 2021

ABSTRACT

In this thesis; antimicrobial efficiency of stone water (Kale Natural, Balıkesir, Turkey), pine turpentine essence (Ali Ünyazıcı, Ankara, Turkey), olive leaf extract (Kale Natural, Balıkesir, Turkey), grape seed oil (Ali Ünyazıcı, Ankara, Turkey), coconut oil (Ali Ünyazıcı, Ankara, Turkey), propolis (Bee'o Up, Istanbul, Turkey), tea tree oil (Ali Ünyazıcı, Ankara, Turkey), pine bark extract (Kale Natural, Balıkesir, Turkey), 2% chlorhexidine (Drogsan, Ankara, Turkey), glycerol and distilled water on *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*, ATCC#29212), *Streptococcus mutans* (*S. mutans* ATCC#25175), *Lactobacillus acidophylus* (*L. acidophylus* ATCC#4356) and *Candida albicans* (*C. albicans* ATCC#10231) were investigated. Disc diffusion and well diffusion methods were repeated three times, and microdilution test was studied with natural products that showed efficacy. Among the groups formed by natural products, preparations with antimicrobial effect and chlorhexidine digluconate group were included in the statistical analysis. The conformity of the data to the normal distribution was examined by the Shapiro-Wilk test and the compatibility to the homogeneity assumption with the Levene test, the Kruskal Wallis test was used as the analysis method. Dunn's test was used as an advanced test in order to reveal the groups with differences. The $p<0.05$ criterion was taken as a basis in the evaluation of the mentioned statistical methods, and SPSS 26 and R Studio package programs were used in the application of the tests. As a result of the study, pine turpentine, propolis, tea tree oil and red pine bark extract; showed antimicrobial activity against oral pathogens used. Tea tree oil showed the highest antimicrobial activity against *C. albicans* and was significantly more anticandidal than 2% chlorhexidine digluconate. Although pine turpentine, propolis, tea tree oil and red pine bark extract showed activity against *L. acidophylus*, it did not show antibacterial properties as high as 2% chlorhexidine digluconate. It was concluded that natural products are as antimicrobial as chlorhexidine against *S. mutans* and *E. faecalis*.

Science Code : 1003.1

Key Words : Natural Product, Phytotherapy, Essential Oils, Antimicrobial, Oral Pathogens

Page Number : 97

Supervisor : Prof. Dr. Cengiz Haluk BODUR

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimime başladığım günden beri her zaman desteğini hissettiren, sadece bir tez danışmanı değil bir baba gibi davranan, öğrencisi olmaktan dolayı her zaman şanslı hissettiğim çok kıymetli danışman hocam Prof. Dr. Cengiz Haluk BODUR'a; Deneyimleri ve öğretme sevgileri ile doktora eğitimim süresince uzmanlaşmama büyük katkı sağlayan Prof. Dr. Mesut Enes ODABAŞ, Doç. Dr. Çağdaş ÇINAR, Doç. Dr. Didem ATABEK ve Doç. Dr. Mehmet BANİ'ye; Gazi Üniversitesi Çocuk Diş Hekimliği Anabilim Dalı ailesinin değerli hocaları Prof. Dr. Neşe AKAL, Prof. Dr. Alev ALAÇAM, Prof. Dr. Nurhan ÖZTAŞ KIRMIZI, Prof. Dr. Ayşegül AÇKURT ÖLMEZ'e; Her yönüyle ilham kaynağı olan, kendisinden son anda çok şey öğrenme fırsatı bulabilmiş olmaktan onur duyduğum Prof. Dr. Tezer ULUSU'ya; Hayata karşı duruşlarını, mesleklerine en içten sevgi ile bağlılıklarını örnek aldığım, çocuk diş hekimi olma idealime büyük katkıları olan, öğrencileri olmuş olmaktan gurur ve mutluluk duyduğum sevgili Prof. Dr. Sevi Burçak ÇEHRELİ ve Prof. Dr. Resmiye Ebru TİRALİ'ye; Çocuk diş hekimliğini bana sevdiren, öğrencilik dönemimde sadece asistanım değil aynı zamanda dostum olan Uzm. Dr. Esin EFE GÜNEY ve Uzm. Dr. Tutku Deniz BONHAM'a; Tez çalışmalarını birlikte yürüttüğüm hocam Doç. Dr. Gülçin AKCA'ya; Doktora eğitimim süresince acı tatlı güzel anılar biriktirdiğim, bu yolda kendimi yalnız hissetmeme asla izin vermeyen, başta Uzm. Dt. İdil KIZILIRMAK, Uzm. Dt. Ilgın BAYAR, Uzm Dt. Selin ERİŞ, Dt. Erdem PALAZ, Dt. Emre BAKIR, Dt. Sultan BEDİR olmak üzere tüm asistan arkadaşlarıma; Okyanus ötesinden tez çalışmamda desteğini ve bilgisini esirgemeyen Arş. Gör. Eda ÖZDEMİR ve Arş. Gör. Ozan ÖZDEMİR'e; Bana her zaman inanan, hayalini kurduğum bu günlere gelmemde en büyük desteği koşulsuz sağlayan annem Fatma GÜNDÜZ, babam Murat HÜNLER ve amcam Doç. Dr. Hakkı HÜNLER'e; Ben olmamın güçlü temellerini atan Gülay AKÇAÇAKIR'a; Tez çalışması sürecimde her anımda yanımda olan, sevgisiyle, ilgisiyle ve neşesiyle bana güç verip destekleyen, biricik yol arkadaşım ve eşim Öğr. Gör. Dr. Bilal DÖNMEZ'e; Tek kişi çıktığım bu yolculukta iki kişi olarak devam ettiğim, hayatıma yeni bir anlam katan, bu süreçte beni üzmeden sağlıklı ve keyifli devam etmemi sağlayan, heyecanla dünyaya gelmesini beklediğimiz Evren DÖNMEZ'e ve kedimiz Coco'ya sonsuz teşekkürlerimle...

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ	x
ŞEKİLLERİN LİSTESİ	xi
RESİMLERİN LİSTESİ	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xiii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	7
2.1. Mikrobiyom ve Mikrobiyota.....	7
2.1.1. Biyofilm.....	7
2.1.2. Dental plak oluşumu ve dental plak bakterileri	8
2.2. Diş Hekimliğinde Antibakteriyel Ajanların Kullanımı	9
2.2.1. Klorheksidin.....	11
2.2.2. Antibiyotikler	17
2.2.3. Gargaralar	19
2.2.4. Diş macunları	20
2.3. Fitoterapi	22
2.3.1. Diş hekimliğinde fitoterapi	23
2.3.2. Doğal kaynaklı ürünlerin antimikrobiyal kullanımı.....	23
2.3.3. Doğal kaynaklı ürünlerin antiinflamatuvar kullanımı	24
2.3.4. Doğal kaynaklı ürünlerin analjezik ve sedatif kullanımı	25

Sayfa

2.4. Çalışmada Kullanılan Kaynaklı Doğal Ürünler	25
2.4.1. Taş Suyu	25
2.4.2. Çam terebentin	28
2.4.3. Zeytin yaprağı ekstraktı	30
2.4.4. Üzüm çekirdeği yağı	32
2.4.5. Hindistan cevizi yağı	33
2.4.6. Propolis	36
2.4.7. Çay ağacı yağı	39
2.4.8. Kızılçam kabuğu ekstraktı	41
2.5. Antimikrobiyal Aktivite Düzeyini Saptama Yöntemleri ve Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri	42
2.5.1. Disk difüzyon testi	42
2.5.2. Kuyucuk difüzyon testi	43
2.5.3. Antimikrobiyal gradyent yöntemi	44
2.5.4. Dilüsyon testi	44
3. GEREÇ VE YÖNTEM	45
3.1. Doğal Kaynaklı Ürünler	45
3.1.1. Taş suyu	45
3.1.2. Çam terebentin esansı	46
3.1.3. Zeytin yaprağı ekstraktı	47
3.1.4. Üzüm çekirdeği yağı	47
3.1.5. Hindistan cevizi yağı	48
3.1.6. Propolis	49
3.1.7. Çay ağacı yağı	49
3.1.8. Kızılçam kabuğu ekstraktı	50
3.2. Mikroorganizmalar	51

	Sayfa
3.2.1. Bakteri süspansiyonlarının hazırlanması	51
3.3. Antimikrobiyal Etkinlik Testleri	51
3.3.1. Disk difüzyon yöntemi	51
3.3.2. Kuyucuk difüzyon yöntemi.....	52
3.3.3. Minimum inhibitör konsantrasyon (MİK), minimum bakterisidal konsantrasyon (MBK) ve minimum fungisidal konsantrasyonun (MFK) belirlenmesi	53
3.4. İstatistiksel Analiz	54
4. BULGULAR	55
4.1. Doğal Kaynaklı Ürünlerin <i>Candida albicans</i> Üzerindeki Antikandidal Etkinliğinin Disk Difüzyon ve Kuyucuk Difüzyon Yöntemleri ile Değerlendirilmesi	55
4.2. Doğal Kaynaklı Ürünlerin <i>Enterococcus faecalis</i> Üzerindeki Antibakteriyel Etkinliğinin Disk Difüzyon ve Kuyucuk Difüzyon Yöntemleri ile Değerlendirilmesi.....	57
4.3. Doğal Kaynaklı Ürünlerin <i>Lactobacillus acidophylus</i> Üzerindeki Antibakteriyel Etkinliğinin Disk Difüzyon ve Kuyucuk Difüzyon Yöntemleri ile Değerlendirilmesi.....	59
4.4. Doğal Kaynaklı Ürünlerin <i>Streptococcus mutans</i> Üzerindeki Antibakteriyel Etkinliğinin Disk Difüzyon ve Kuyucuk Difüzyon Yöntemleri ile Değerlendirilmesi.....	61
4.5. Minimum İnhibitör Konsantrasyon (MİK) ve Minimum Bakterisidal/Fungisidal Konsantrasyon (MBK/MFK) Değerleri	64
5. TARTIŞMA.....	67
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	77
KAYNAKLAR	79
ÖZGEÇMİŞ	99

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Taş suyunun içeriği.....	26
Çizelge 2.2. Kızılçam kabuğunun antimikrobiyal fenolik bileşenleri	42
Çizelge 4.1. <i>Candida albicans</i> 'a karşı doğal kaynaklı ürünlerin antimikrobiyal etkinliklerinin disk ve kuyucuk difüzyon yöntemi ile elde edilen sonuçları	56
Çizelge 4.2. <i>Enterococcus faecalis</i> 'e karşı doğal kaynaklı ürünlerin antimikrobiyal etkinliklerinin disk ve kuyucuk difüzyon yöntemi ile elde edilen sonuçları	58
Çizelge 4.3. <i>Lactobacillus acidophilus</i> 'a karşı doğal kaynaklı ürünlerin antimikrobiyal etkinliklerinin disk ve kuyucuk difüzyon yöntemi ile elde edilen sonuçları	60
Çizelge 4.4. <i>Streptococcus mutans</i> 'a karşı doğal kaynaklı ürünlerin antimikrobiyal etkinliklerinin disk ve kuyucuk difüzyon yöntemi ile elde edilen sonuçları	62
Çizelge 4.5. MİK ve MBK/MFK değerleri.....	66

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Klorheksidin diglukonatın kimyasal yapı formülü	11
Şekil 2.2. Klorheksidin'in bakteriyel hücre yüzeylerinde yarattığı hasarın elektron mikroskopundaki görüntüsü.	12
Şekil 2.3. Klorheksidin'in bakteriyel sitoplazmik membranla etkileşimi	13
Şekil 2.4. Sırasıyla Gram-pozitif veya Gram-negatif bakterilerde Klorheksidin direncini sağlayan iki örnek dışa sızıntı sisteminin şematik gösterimi	17
Şekil 2.5. α -pinene, β -pinene ve Δ -3-carene kimyasal yapı formülü	30
Şekil 2.6. Oleuropein kimyasal yapı formülü	31
Şekil 2.7. Terpinen-4-ol, α -Terpineol ve Isoledene kimyasal yapı formülü	40
Şekil 2.8. Çay ağacı yağı içeriği ve içerik yüzdeleri	40
Şekil 4.1. <i>Candida albicans</i> 'a karşı doğal kaynaklı ürünlerin antimikrobiyal etkinliklerinin disk ve kuyucuk difüzyon yöntemi ile elde edilen sonuçların dağılımı	57
Şekil 4.2. <i>Enterococcus faecalis</i> 'e karşı doğal kaynaklı ürünlerin antimikrobiyal etkinliklerinin disk ve kuyucuk difüzyon yöntemi ile elde edilen sonuçların dağılımı	59
Şekil 4.3. <i>Lactobacillus acidophylus</i> 'a karşı doğal kaynaklı ürünlerin antimikrobiyal etkinliklerinin disk ve kuyucuk difüzyon yöntemi ile elde edilen sonuçların dağılımı	61
Şekil 4.4. <i>Streptococcus mutans</i> 'a karşı doğal kaynaklı ürünlerin antimikrobiyal etkinliklerinin disk ve kuyucuk difüzyon yöntemi ile elde edilen sonuçların dağılımı	63

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 3.1. Taş suyu.....	46
Resim 3.2. Çam terebentin esansı	46
Resim 3.3. Zeytin yaprağı ekstraktı	47
Resim 3.4. Üzüm çekirdeği yağı	48
Resim 3.5. Hindistan cevizi yağı.....	48
Resim 3.6. Propolis	49
Resim 3.7. Çay ağacı yağı	50
Resim 3.8. Kızılçam kabuğu ekstraktı	50
Resim 3.9. Doğal ürünlerin disk difüzyon yöntemi ile <i>S. mutans</i> üzerindeki antimikrobiyal etkinliklerinin değerlendirilmesi.....	52
Resim 3.10. Doğal ürünlerin kuyucuk difüzyon yöntemi ile <i>S. mutans</i> üzerindeki antimikrobiyal etkinliklerinin değerlendirilmesi	52
Resim 3.11. MİK, MBK/MFK değerlerinin mikrodilüsyon yöntemi ile değerlendirilmesi	53
Resim 4.1. Doğal kaynaklı ürünlerin <i>Candida albicans</i> 'a karşı antimikrobiyal etkinliklerinin disk ve kuyucuk difüzyon yöntemi aşamaları	56
Resim 4.2. Doğal kaynaklı ürünlerin <i>Enterococcus faecalis</i> 'e karşı antimikrobiyal etkinliklerinin disk ve kuyucuk difüzyon yöntemi aşamaları	58
Resim 4.3. Doğal kaynaklı ürünlerin <i>Lactobacillus acidophylus</i> 'a karşı antimikrobiyal etkinliklerinin disk ve kuyucuk difüzyon yöntemi aşamaları	60
Resim 4.4. Doğal kaynaklı ürünlerin <i>Streptococcus mutans</i> 'a karşı antimikrobiyal etkinliklerinin disk ve kuyucuk difüzyon yöntemi aşamaları	62

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu araştırmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	Açıklamalar
%	Yüzde
α	Alfa
β	Beta
Δ	Delta
<	Küçüktür
° C	Celsius Sıcaklık Birimi
Ca	Kalsiyum
CaCO ₃	Kalsiyum Karbonat
CO ₂	Karbondioksit
CO ₃	Karbonat
g	Gram
kg	Kilogram
Mg	Magnezyum
mg	Miligram
ml	Mililitre
mm	Milimetre
Na	Sodyum
nm	Nanometre
yy	Yüzyıl
μ g	Mikrogram
μ l	Mikrolitre
Ω	Om

Kısaltmalar	Açıklamalar
A. viscosus	Actinomyces viscosus
ADI	Günlük Kabul Edilebilir Limit
C. albicans	Candida albicans
CFU	Koloni Oluşturucu Birim
CHX	Klorheksidin
E. coli	Escherichia coli
E. faecalis	Enterococcus faecalis
IL	İnterlökin
L. acidophylus	Lactobacillus acidophylus
LD50	Letal Doz
MBK	Minimum Bakterisidal Konsantrasyon
MFK	Minimum Fungisidal Konsantrasyon
MİK	Minimum İnhibitör Konsantrasyon
MMP	Matris Metaloproteinaz
MRL	Maksimum Rezidüel Limit
NaOCl	Sodyum Hipoklorit
Ort	Ortalama
P. intermedia	Prevotella intermedia
PA	Proantosiyanidin
PC-3	Yüksek Metastatik Potansiyeli Olan İnsan Prostat Kanseri
pH	Asitlik ve Bazlık Derecesini Tarif Eden Ölçü Birimi
S. mitis	Streptococcus mitis
S. mutans	Streptococcus mutans
S. oralis	Streptococcus oralis
S. sanguinis	Streptococcus sanguinis
SS	Standart Sapma
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
WOH	Dünya Ağız Sağlığı Örgütü

1. GİRİŞ

Dünya Ağız Sağlığı Örgütü'nün (WOH) raporuna göre, ağız sağlığının önemi ile ilgili gerçekleşen büyük gelişmelere rağmen, hem gelişmemiş hem de gelişmekte olan ülkelerde ağız sağlığı sorunları halen devam etmektedir. Diş çürüğü ve diş eti hastalıkları, dünya genelinde en sık rastlanan ağız sağlığı sorunlarıdır. Ağız hastalıkları bireyin genel sağlığını olumsuz etkilemesinin yanı sıra yaşam kalitesi ve çalışma kapasitesini de etkilemektedir (Petersen, 2003; Dagli, Dagli, Mahmoud ve Baroudi, 2015). Diş hastalıklarının önlenmesi, ağız içerisindeki mikroorganizmaların sayısındaki azalmayla ilişkilidir. Ağız boşluğu doğumda mikroorganizma içermemektedir. Yaşamın ilk günlerinde ağız boşluğuna *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Neisseria*, *Candida*, *Lactobacillus* ve *Koliformlar* gibi birçok çeşitli mikroorganizma yerleşmektedir. *S. mutans*'ın, ağızda henüz diş bulunmayan bir çocuğun dördüncü ayından itibaren doğrudan annenin tükürüğünden, diğer aile üyelerinden, kaşık, bardak, oyuncak veya kontamine diş fırçalarından dolayı olarak bulaştığı bildirilmiştir (Chandrdas, Jayakumar, Chandra, Katodia ve Sreedevi, 2014).

Diş plağının, diş eti hastalıklarının ve diş çürüğünün gelişiminde önemli bir faktör olduğu bilinmektedir. Yapışkan mikrobiyal birikinti olan diş plağı, diş yüzeyinde patojenik mikroorganizmaların kolonize olmasını sağlayan, diş çürüğü ve diş eti iltihabının öncüsü olan konakla ilişkili bir biyofilmdir. *S. mutans*, plak matriksinde yaygın olarak görülen mikroorganizmalardandır. Plağa yerleşen mikroorganizmalar için en büyük avantaj, kendilerini konak savunma mekanizmalarından ve sistemik olarak uygulanan antimikrobiyal ajanlardan koruyabilmeleridir. Plak matriksine kan ve interstisyel sıvılar erişemediği için, topikal olarak uygulanabilen antimikrobiyal ajanlar bu birikintiye yerleşmiş patojenlere daha kolay erişebilmekte ve patojenleri etkili bir şekilde kontrol edebilmektedir (Kamath, Tandon, Nayak, Naidu, Anand ve Kamath, 2020). Çocuklarda yanlış uygulanan diş fırçalama alışkanlığı sebebi ile plağın yeterli mekanik uzaklaştırılmasının sağlanamadığı durumlarda, gargaraların kullanılması plak oluşumunun önlenmesinde ilave bir rol oynayabilmektedir (Sandström, Cressey ve Steckse n-Blicks, 2011; Kamath ve diğerleri, 2020).

Diş çürüğü, şekeri özellikle de sükrözü metabolize eden bakteriler tarafından salınan organik asitlerin diş yüzeyini demineralize etmesinden kaynaklanan enfeksiyöz bir hastalıktır. *Mutans streptokok*'un varlığı çürüğün başlaması için yeterliyen ilerlemesi için bakteriyel biyofilmin içinde daha farklı mikroorganizmalara ihtiyaç vardır. Diş çürüğü oluşumunun engellenmesi, bakteriyel biyofilm yapısının bozulmasına bağlıdır. Biyofilm yapısını etkileyebilecek çevresel faktörleri tanımlayabilmek için, bakteriyel biyofilm modelleri incelenmiş ve yeni antimikrobiyal stratejiler geliştirilmeye çalışılmıştır (Martins, de França Leite, Pacheco-Filho, de Miranda Pereira, Romanos, Maia ve Cavalcanti, 2018).

Restoratif tedaviden önce kavite dezenfektanlarının kullanılması önemli bir klinik adımdır, çünkü bakteriler smear tabakasına veya dentin tübüllerine yapışır, potansiyel olarak çoğalır ve restorasyon altında ikincil çürüklerin gelişmesine neden olur (Godbole, Tyagi, Kulkarni, Singla, Mali ve Helge, 2019). En karakteristik insan karyojenik mikroorganizmaları *S. mutans*, *S. mitis*, *S. aureus* ve *Lactobacillus* türleridir. Diş çürüğünün aerobik ve fakültatif anaerobların karışımından kaynaklandığı kanıtlanmıştır. Klorheksidin, amoksisilin ve antiseptikler gibi çeşitli antimikrobiyal ajanların bu mikroorganizmaları elimine ederek diş çürüğünü önlemede etkili olduğu bilinmektedir, ancak bu materyallerin dişleri boyama, tat alma duyusunu bozma, ağız ve bağırsak florasını bozma ve diare gibi çeşitli yan etkileri de bulunmaktadır (Kanth, Prakash, Sreenath, Reddy ve Huldah, 2016; Kamath ve diğerleri, 2020).

Klorheksidin gibi sentetik antimikrobiyal maddeler biyofilm kontrolü ve çürük önleme konusunda geniş çapta incelenmiştir. Ancak, klorheksidin uzun süre kullanımının sitotoksik potansiyel ve yan etkiler gösterebildiği bildirilmektedir (Martins, Monteiro, Guimarães, Guimarães, da Silva, Cabral ve Cavalcanti, 2019). Antimikrobiyal ve antienflamatuvar özelliklere sahip bitkisel ajanlar ile bu tür zararlı etkilerin oluşmaması, hasta uyumunu artırabilmektedir. Bu nedenle, karyojenik biyofilmlerin kontrolü için antibakteriyel aktiviteye sahip maddeler içeren doğal ürünlerin kullanımını önerilmektedir. Doğal fitokimyasal maddelerin, diş çürüğünün ve diğer oral enfeksiyonların önlenmesi ve tedavi stratejilerinin geliştirilmesi için antibiyotiklere ve ilaçlara etkili bir alternatif olabileceği düşüncesi umut vericidir (Kanth ve diğerleri, 2016; Martins ve diğerleri, 2019; Kamath ve diğerleri, 2020).

E. faecalis, primer endodontik enfeksiyonlarının %18'inden, başarısız endodontik tedavi vakaların ise %67'sinden izole edilen fakültatif anaerobik Gram pozitif bir bakteridir. *E. faecalis*, kök kanalları içinde uygun besin ortamının olmadığı koşullarda bile hayatta kalabilir ve tek bir mikroorganizma olarak yaşayabilir. Dentin tübüllerine difüze olabilir ve irrigasyon protokollerine karşı mikroorganizmanın direncinin artmasını sağlayan hücre dışı bir polimerik matris oluşturabilir (Soligo, Lodi, Farina, Souza, Vidal ve Cecchin, 2018).

Kök kanal tedavisinin başarısı, kök kanal sistemindeki mikrofloranın, debrisin ve tahriş edici maddelerin tamamen yok edilmesine bağlıdır. Kanal içi kullanılan irrigasyon solüsyonları, kök kanallarındaki debrislerin temizlenmesini, kullanılan eğelerin kaygan bir ortamda çalışmasını sağlamaktadır. Bunu antimikrobiyal etkinliği ve periapikal dokulara zarar vermeden doku çözünmesini sağlayarak başarmaktadırlar. Kanal içi irrigasyon solüsyonu olarak uzun yıllar çok sayıda sentetik antimikrobiyal madde kullanılmıştır. Potansiyel yan etkiler, güvenlik endişeleri ve sentetik antimikrobiyal çözeltilere karşı artan direnç, bitkisel alternatiflerin değerlendirilmesine neden olmuştur. Binlerce yıldır, sağlık alanında bitkisel veya doğal ürünler kullanılmaktadır ve yüksek antimikrobiyal aktiviteleri, biyoyoumlulukları, antienflamatuar ve antioksidan özellikleri nedeniyle bugün daha da popüler hale gelmiştir (Agrawal, Kapoor ve Agrawal, 2017).

C. albicans; bağırsak, orofaringeal, genitoüriner sistem yolları ve deri florasında yaygın olarak bulunan fırsatçı bir insan mantar patojenidir. Bununla birlikte, bağışıklık sistemi baskılanmış hastalarda veya bakteriyel mikroflorasında dengesizlik oluşan kişilerde patojenik hale gelebilmektedir. *Candida* türlerinin patojenitesi; yüzeylere bağlanabilme yeteneği, biyofilm oluşumu, konakçının bağışıklık sistemi ve virölans faktörleri olan proteolitik enzimlerini salgılamasına bağlıdır. *C. albicans* enfeksiyonu için mevcut tedaviler topikal ve sistemik farmasötik antifungal ajanlardan oluşmaktadır. Ancak, mevcut antifungal tedavilerin sınırlı sayıda olması ve bu tür ajanların yaygın kullanımı nedeniyle antifungal dirençte bir artış gözlenmesi birçok gıda ve bitki kaynağında kolayca bulunabilen doğal bileşiklerin antifungal potansiyelleri açısından da değerlendirilmesi gerektiğini gündeme getirmiştir (Seleem, Chen, Benso, Pardi ve Murata, 2016).

Ağız boşluğu ve orofarenks kanserleri, yıllık yaklaşık 500.000 yeni vaka ile dünya genelinde en sık görülen altıncı en yaygın malign neoplazmlardır. Oral skuamöz hücreli karsinom, özellikle gelişmiş ülkelerde 40 yaşın altındaki gençlerde artan riski olan en yaygın oral kanserlerden biridir. Bu hastalığın tedavisi için başlıca yöntemler radyoterapi ve cerrahidir, ancak nükse ve tedaviye karşı artan direnç çok sık rastlanmaktadır. Günümüzde tamamlayıcı ve alternatif tıp, doğal ürünlerden elde edilen bitkisel ilaç türevlerini çeşitli kanser vakalarına alternatif bir tedavi olarak sunmaktadır. Son zamanlarda, güçlü anti-kanser ilaç adayları olabilecek bitkisel ilaçlara odaklanılmıştır (Grawish, Zyada ve Zaher, 2011; Aghbali, Hosseini, Delazar, Gharavi, Shahneh, Orangi ve Baradaran, 2013) Yapılan çalışmalarda, doğal ürünlerin; bağışıklık sistemini güçlendirmesi, antibakteriyel, antiviral, anti-hepatotoksik, anti-ülser, antienflamatuar, antioksidan, anti-mutajenik ve anti-kanser etkileri gibi birçok biyolojik fayda sağlayabildiğini ortaya koymaktadır (Grawish ve diğerleri, 2011; Aghbali ve diğerleri, 2013; Bakkaloğlu ve Arıcı, 2019).

Bitkiler, çağlardan beri yeni etki mekanizmasına sahip ilaçların oluşturulması için önemli bir kaynak olmuştur. Doğal ürünlerin terapötik bir alternatif olarak kullanılması, yeni ilaçların keşfi için çok önemlidir. Diş hekimliğinde, daha fazla farmakolojik aktiviteye, daha az toksisiteye sahip, daha biyouyumlu ve toplum için daha kolay erişilebilir olması nedeniyle yeni maddelerin araştırılması son yıllarda doğal ürünlerle yapılan çalışmaları artırmıştır (Kanth ve diğerleri, 2016; Neto, Valadas, Lobo, Fernandes, da Cruz-Fonseca, Fachine ve de França-Fonteles, 2020).

Antibiyotiğe dirençli suşların artışı ve sentetik ilaçların neden olduğu yan etkiler araştırmacıları bitkisel alternatifler aramaya yöneltmiştir. Fitoterapi veya etnofarmakoloji bu ürünleri inceleyen bilim dallarıdır. Doğal alternatifleri kullanmanın başlıca avantajları, kolay bulunabilirlik, düşük maliyet, artan raf ömrü, düşük toksisite ve bugüne kadar bildirilen mikrobiyal direncin oluşmamasıdır (Godbole ve diğerleri, 2019). Sentetik ilaçlara karşı bakteri direncinin artması önemli bir sorundur. Yan etkiler, artan bakteriyel direnç ve standart tedavi prosedürlerinin yüksek maliyeti nedeniyle, yeni terapötik ajanların araştırılması ve çeşitli doğal kaynaklardan elde edilen geleneksel ilaçlar üzerinde daha fazla klinik araştırma yapılması gerekmektedir.

Bu tez çalışmasının amacı; daha önce literatürde antibakteriyel etkileri konusunda az sayıda araştırma yapılmış taş suyu ve kızılçam kabuğu ekstraktının yanında çam terebentin esansı, zeytin yaprağı ekstraktı, propolis, hindistan cevizi yağı, çay ağacı yağı, üzüm çekirdeği yağı ve kontrol olarak %2'lik klorheksidinin, *Streptococcus mutans*, *Enterococcus faecalis*, *Lactobasillus acidophillus* ve *Candica albicans* oral patojenleri üzerindeki antimikrobiyal etkinliklerini araştırmak ve sonuçlarını karşılaştırmaktır. Bu çalışma diş hekimliği alanında oluşturulacak yeni ürün ve materyallerde etken madde olarak doğal kaynaklı ürünlerin kullanılması açısından başvurulabilecek bilgiler içermektedir.





2. GENEL BİLGİLER

2.1. Mikrobiyom ve Mikrobiyota (Biyofilm ve Bakteriler)

Mikrobiyom terimi, insanla yaşayan mikroorganizmalar ile insan vücudunun birlikte “süper organizma” olarak tarif edilmesi gerektiğinden oluşmuştur. Bu terim, ilk defa ABD’li Nobel Ödüllü moleküler biyolog *Joshua Lederberg* tarafından 2001 yılında kullanılmıştır. Om (*Ome*, Ω), “bir şeyin bütünü” anlamını vermektedir (Lederberg ve McCray, 2001). Mikrobiyom vücudumuzu tam olarak paylaştığımız hem sağlık hem de hastalık belirleyicileri olarak var olan kommensal, simbiyotik ve patojen mikroorganizmaların ekolojik topluluğudur. Günümüzde *mikroflora* yerini *mikrobiyom* terimine bırakmıştır. Mikrobiyomu oluşturan mikroorganizmalara da *mikrobiyota* denmektedir (Külekçi, 2013).

2.1.1. Biyofilm

Aralarında iletişim kurarak haberleşebilen farklı çeşitte mikroorganizmaların oluşturduğu, bu mikroorganizmaların ürettiği polisakkarit yapıdaki bir matriksin çevrelediği, yüzeylere tutunabilen kompleks yapıdaki polimikrobiyal topluluk biyofilm olarak tanımlanmaktadır. Biyofilm; karmaşık yapısı sayesinde farklı koşul ve ortamlara daha kolay uyum sağlayabilirken içinde bulunan mikroorganizmalar da dış etkenlere karşı kolayca direnç mekanizmaları geliştirebilmektedir. Biyofilmin oluşması için gerekli bileşenler; mikroorganizmalar, katı bir yüzey ve sıvı varlığıdır. Ağız boşluğu bu üç bileşeni de içermekte ve biyofilm oluşumu için uygun bir ortam hazırlamaktadır. Ağız ve diş dokularının, kök kanallarının, implant bileşenlerinin, restoratif ve protetik materyallerin yüzeylerine tutunan, ekstrasellüler polisakkarit bir matriks içerisinde gömülü halde bulunan bakteriyel topluluğa oral biyofilm denmektedir. Oral biyofilm; ağız içerisinde olduğu yüzeye göre içinde bulundurduğu çürük yapıcı bakteriler ile birincil ve ikincil çürüklere, kök kanal tedavilerinde başarısızlıklara, diş eti hastalıklarına ve implant tedavilerinde kayıplara neden olabilmesi sebebi ile klinik açıdan önemli bir mikrobiyolojik oluşumdur (Hepdeniz ve Seçkin, 2017).

2.1.2. Dental plak oluşumu ve dental plak bakterileri

Oral kavitede diş yüzeyinde oluşan biyofilm tabakası 'mikrobiyal dental plak' olarak da adlandırılmaktadır. Oral biyofilm, organize ve düzenli aşamalarla oluşmaktadır:

1. Pelikül oluşumu
2. Bakterilerin yapışması (0-4 saat)
3. Yapışan bakterilerin gelişimi ve farklı mikrokolonilerin oluşumuna öncülük etmesi (4-24 saat)
4. Mikrobiyal yığılma ve koagregasyonla farklı mikrokoloni türlerinin gelişimine öncülük etmesi (1-14 gün)
5. Olgun biyofilm oluşumu (2 hafta ve sonrası) (Hepdeniz ve Seçkin, 2017).

Diş yüzeyi profesyonel olarak temizlendikten hemen sonra tükürük kaynaklı organik materyal diş üzerinde birikmeye başlamaktadır. Bu organik materyaller negatif yüklü hidroksiapatit yapılı diş yüzeyi üzerine çökerler ve ince bir tabaka oluştururlar. Bu tabakaya edinilmiş pelikül ya da tükürük pelikülü denmektedir. Pelikülün içeriğini çoğunlukla; tükürük glikoproteinleri, statherin, histatin, prolinden zengin proteinler, fosfoproteinler ve lipidler oluşturmaktadır. Glukoziltransferaz ve glukan gibi bazı bakteri komponentleri de pelikül içinde bulunabilmektedir. *S. mutans* gibi karyojenik oral patojenler tarafından sentezlenen glukoziltransferaz enzimi, mikroorganizmaların diş yüzeyine tutunması, yapışması ve burada birikmesi sonucunda karyojenik biyofilm topluluklarının oluşmasına neden olan glukanın sentezlenmesi için gereklidir. Bu nedenle, glukoziltransferaz enziminin, diş çürüğü ve biyofilm oluşumunu engellemeyi amaçlayan terapötik ajanlar için ana hedef olması önem arz etmektedir (Marsh, 2005; Hayacibara, Koo, Rosalen, Duarte, Franco, Bowen ve Cury, 2005).

Gram pozitif streptokoklardan olan; *S. sanguinis*, *S. oralis*, *S. mitis* ve *Neisseria* türleri diş yüzeyine ilk koloni olan bakteri türleridir. Negatif yüklü bakteri hücre duvarı ve pelikül içindeki pozitif yüklü reseptör molekülleri arasındaki bağlantı bakterilerin adezyonunu elektrostatik olarak sağlamaktadır. İlk koloni oluşturan bakteriler, başlangıçta spesifik olmayan geri dönüşümlü van der Waals kuvvetleri ile diş yüzeyine bağlanırlar. Daha sonra, daha güçlü, geri dönüşümsüz ve edinilmiş

pelikıldaki reseptörler ile bakteri hücre yüzeyi adezyon molekülleri arasındaki bağlanmayı içeren bir pelikıl yapısına dönüşmektedir (Marsh, 2005; Seneviratne, Zhang ve Samaranayake, 2011).

İkinci evrede, erken kolonize olan bakteriler sayıca artmakta ve yüzeye yayılmakta, aynı türler birbirleriyle otoagregasyon ve diğer planktonik türler ya da komşu hücrelerle koagregasyona başlayarak bir mikrokoloni şeklini almaktadırlar. Aerobik *Streptokok* türleri, mikro çevreyi anaerobik türler için hazırlamakta ve böylece ikincil kolonizasyon bakterileri için uygun bir ortam oluşturmaktadır. İkincil kolonizasyon bakterileri çoğunlukla *Actinomyces* gibi gram negatif türler, *F. nucleatum*, *P. intermedia* ve *Capnocytophaga* türlerinden oluşmaktadır. Üçüncü evre, çoğunlukla gram negatif türlerin, *Spiroketler*'in ve hareketli bakterilerin katıldığı artan koagregasyonlarla stabil bir topluluğun zirve topluluğu oluşturduğu; biyofilmin olgunlaştığı son evredir (Seneviratne ve diğerleri, 2011; Hepdeniz ve Seçkin, 2017).

2.2. Diş Hekimliğinde Antibakteriyel Ajanların Kullanımı

Diş çürüğüne, oral biyofilimde bulunan mikroorganizmalar neden olmaktadır. Mikrobiyal dental plak, çeşitli oral bakteri topluluklarından oluşmasına rağmen, özellikle *S. mutans*, çürük oluşumunda en önemli etiyolojik bakteri olarak kabul edilmektedir. *S. mutans*, asit üretebilmekte ve düşük pH'lı ortamlarda hayatta kalabilmektedir. Sonuç olarak, *S. mutans* sert diş dokusunun demineralizasyonuna neden olmaktadır. Diş çürüğü, *S. mutans* gibi karyojenik bakterilerin miktarı ve etkisini azaltarak kolayca kontrol edilebilmektedir. Plaktan karyojenik bakterilerin uzaklaştırılması için en etkili yol, diş fırçalama ve diş ipi ile mekanik plak kontrolü sağlanmaktadır. Diğer yardımcı yol ise, mekanik plak kontrolünü destekleyen kemoproflaktik antibakteriyel ajanların uygulanmasıdır (Aydın ve Mısırlıgil, 2012).

Süt dişlerinin kök kanalları, kalıcı dişlerde olduğu gibi, polimikrobiyal endodontik enfeksiyona sebep olan geniş bir bakteri çeşitliliği içermektedir. Süt dişlerinin endodontik tedavisinin gerçekleştirilmesi, kökler arası bölgelerindeki aksesuar kanallar gibi karmaşık anatomik ve kök kanallarının farklı morfolojik yapıları nedeni ile daha zordur. Fizyolojik kök rezorpsiyonunun sonucu olarak dentin tübüllerinin açığa çıkması, kök yüzeyinin çeşitli mikrobiyal toksinlere olan geçirgenliğinin

artmasına neden olabilmektedir (Ahmed, 2013). Süt dişlerinin kök kanalındaki bakteri çeşitliliği ile ilgili az sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmalardan bazıları diğer *streptokok* türlerini baskın mikroorganizma olarak rapor ederken (Vineet, Nayak ve Kotigadde, 2016; Chandwani ve Chandak, 2017), diğerleri *Stafilokok* veya *E. coli*'yi süt dişlerinin kök kanal sisteminde görülen en yaygın mikroorganizma olarak bildirmektedir (Pazelli, Freitas, Ito, Souza-Gugelmin, Medeiros ve Nelson-Filho, 2003; Verma, Pandey, Khanna ve Agarwal, 2014).

Endodontik enfeksiyonların oluşumunda, enterokok türleri arasında *E. faecalis*, insan dişlerinin kök kanallarından izole edilen en yaygın olanıdır. Bunun dışında, nekrotik pulpa ve periapikal lezyona sahip süt dişlerinin kök kanallarında aerobik ve anaerobik bakteriler veya fakültatif anaeroblar gözlenebilmektedir (Silva, Nelson-Filho, Faria, Souza-Gugelmin ve Ito, 2006; Walia, Goswami, Mishra, Walia ve Sahay, 2019).

Antiseptiklerin, sistemik antibiyotiğe dirençli bakteri suşlarını ortadan kaldırmak için alternatif bir terapötik yaklaşım olarak rolü, insan ve hayvanlarda antibiyotiğe dirençli bakterilerin ortaya çıkmasından sonra önem kazanmıştır. Son yirmi yılda, antibiyotik direnci tehdidi, araştırmacıların ilgisini çekmiştir. Bu durum, alternatif antimikrobiyal tedaviler üzerine gerçekleştirilen araştırmaların artmasına sebep olmuştur (Babickaite, Ramanauskiene, Grigonis, Ivaskiene, Daunoras, Klimiene ve Matusevicius, 2016; Cieplik, Jakubovics, Buchalla, Maisch, Hellwig ve Al-Ahmad, 2019). Antiseptiklere karşı bakteriyel direncin antibiyotiklere kıyasla daha sık veya hızlı olduğuna dair mevcut bir kanıt yoktur ve antiseptik materyaller genellikle alerjik reaksiyonlara neden olmamaktadırlar (Babickaite ve diğerleri, 2016).

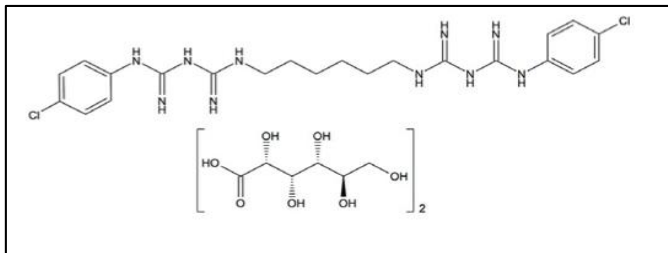
Antibakteriyel ajanların kullanımı, özellikle yeterli mekanik plak kontrolünü sağlayamayan hastalar için önemlidir. Topikal olarak uygulanan antibakteriyel ajanlar, kariyojenik bakterilerin kolonizasyonunu engellemek, bakterilerin diş yüzeyine yapışmasını sağlayacak ürünlerini inhibe etmek gibi etkilere sahiptir (Lee, Jung, Yang, Kim, Yi ve Jeon, 2016; Karadağlıoğlu, 2019).

2.2.1. Klorheksidin

Klorheksidin ilk olarak 1950'lerin başında, Imperial Chemical Industries tarafından sıtmaya karşı aktif ajanların geniş bir tarama çalışması sırasında İngiltere'de sentezlenmiştir. Davies, Francis, Martin, Rose ve Swain (1954) tarafından, "Hibitane®R" adı altında, suda çözünürlüğü sağlamak için diasetat ve dihidroklorür tuzları kullanılarak sentezlenen klorheksidin; "yüksek etkili yeni bir antibakteriyel ajan" olarak tanımlanmıştır. O dönemden beri CHX, 1960'ların sonlarında dış hekimliği uygulamalarına katılmadan önce üroloji, jinekoloji, oftalmoloji, kulak burun boğaz ve cerrahi ortamların dezenfeksiyonu gibi çeşitli tıbbi alanlarda yaygın olarak kullanılmıştır (Cieplik ve diğerleri, 2019).

Klorheksidin diglukonat (CHX), irrigasyon solüsyonu ve kanal içi ilaç olarak kullanılan katyonik bir bisbiguaniddir. Yapısı, merkezinde bir heksametilen zincirine bağlı iki simetrik dört klorofenil halkası ve iki bisguanid grubundan oluşur (Şekil 2.1). Klorheksidin, güçlü bir baz görevi görür ve suda hemen hemen çözünmez, ancak asitlerle reaksiyona girdiğinde, suda çözünürlük özelliği gösteren tuzlar oluşturabilmektedir. Günümüzde çoğunlukla diglukonat veya diasetat tuzları kullanılmaktadır. CHX diglukonatin suda çözünürlüğü, CHX diasetatinkinden önemli ölçüde daha yüksektir (Lim ve Kam, 2008; Chandra, 2014; Kampf, 2018).

Klorheksidin etkili bir antiseptiktir. Kimyasal plak kontrolünde %0,1 ile %0,2'lik konsantrasyonları yaygın olarak uygulanmaktadır. Bunun dışında, %2'lik irrigasyon solüsyonları, endodontik tedavilerde kök kanal dezenfeksiyonunun sağlanmasında sıklıkla kullanılmaktadır. Kullanılan diğer irrigasyon solüsyonlarına göre toksik değeri daha azdır (Afzal, Gopal, Pillai, Jacob, U-Nu ve Shan, 2013; Chandra, 2014).

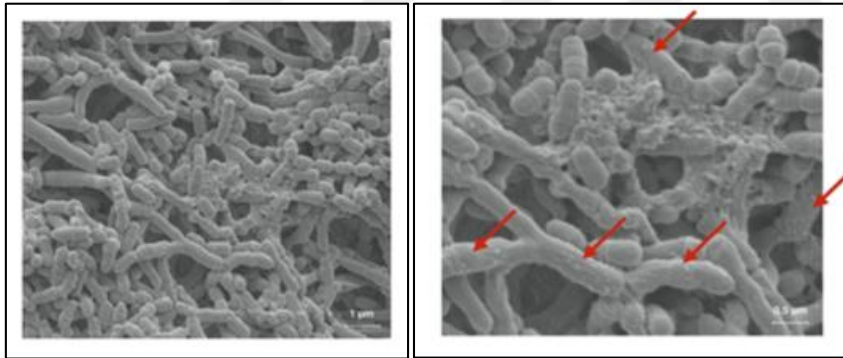


Şekil 2.1. CHX diglukonatin kimyasal yapı formülü (Cieplik ve diğerleri, 2019)

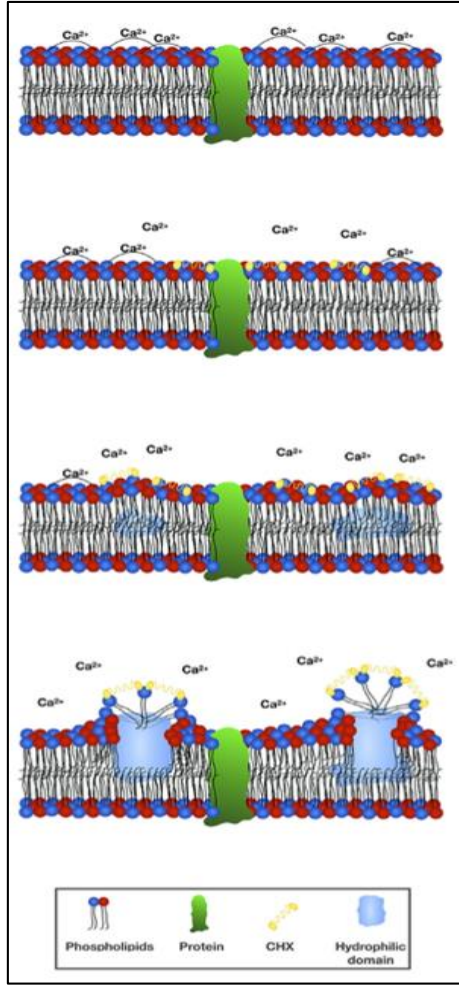
Klorheksidin'in etki mekanizması ve özellikleri

Klorheksidin diglukonat, kanal içinde en yaygın görülen patojenlere karşı etkili, geniş spektrumlu antimikrobiyal aktiviteye sahiptir. Bununla birlikte bakteriyostatik ve bakterisidal etkileri de bulunmaktadır. CHX'in genellikle düşük konsantrasyonlarda bakteriyostatik olarak etki ettiği, daha yüksek konsantrasyonlarda ise bakterisidal olduğu tarif edilmektedir (Jones, 1997; Chandra, 2014).

Antibakteriyel etki mekanizması; bakteriyel membranları hasara uğratması ve ardından sitoplazmik bileşenlerin hücre dışına sızması olarak tanımlanmaktadır (Şekil 2.2). CHX'in daha düşük konsantrasyonlarda gerçekleştirdiği birincil etkisi, sitoplazmik membran bütünlüğünü bozmasının yanı sıra membrana bağlı enzimlerin işlevlerine olan etkisidir. Daha yüksek konsantrasyonlarda oluşturduğu ikincil etki ise sitoplazmik sızıntıdır ve bunun sonucunda proteinler ve nükleik asitler gibi hücre içi bileşenlerin pıhtılaşması ve çökmesidir (Şekil 2.3) (Cieplik ve diğerleri, 2019).



Şekil 2.2. CHX'in bakteriyel hücre yüzeylerinde yarattığı hasarın elektron mikroskopundaki görüntüsü (Cieplik ve diğerleri, 2019)



Şekil 2.3. CHX'in bakteriyel sitoplazmik membranla etkileşimi (Cieplik ve diğerleri, 2019)

Sitoplazmik membranlar, CHX'in ana etki yerleri olduğundan, Gram-negatif bakterilerde bulunan dış membran CHX için bir bariyer görevi görebilmekte ve antibakteriyel etkinliğini sınırlandırabilmektedir. Katyonik CHX molekülleri, negatif yüklü lipopolisakaritler ile etkileşimleri sonucu, dış membranda "kilitlenebilir" ve böylece sitoplazmik membrana ulaşamayabilir (Cheung, Wong, Cheung, Liang, Lam ve Chiu, 2012). Ayrıca, *Porphyromonas gingivalis* gibi Gram negatif bakteriler tarafından salınan dış zar vezikülleri, CHX'i bağlayarak bakterilerin korunmasını sağlayabilmektedir. Gram negatif bakterilerde bulunan dış zarın CHX'in etkisine ilişkin gerçek rolü veya etkisi hakkında yeterli veri bulunmadığından, bu konu ile ilgili daha çok çalışmaya ihtiyaç olduğu bildirilmektedir (Grenier, Bertrand ve Mayrand, 1995; Cieplik ve diğerleri, 2019).

%0,12 konsantrasyonlu klorheksidin diglukonat, negatif yüklü bakteri yüzeylerine elektrostatik olarak bağlanabilmekte ve bakteri hücre zarını yok edebilmektedir. Bu

sayede, bakterinin yüzeye tutunup biyofilm oluşturmaları engellenebilmektedir. Ancak klorheksidin molekülleri var olan biyofilm içindeki mikroorganizmaların hücre duvarına ulaşamadıkları için biyofilm içindeki bakterilere yeterince etki edememektedir (Zanatta, Antoniazzi ve Rösing, 2007). CHX'in gram pozitif bakterilere ve mayalara karşı antimikrobiyal aktivitesi, mikrobiyal hücre duvarına nüfuz ederek ve sitoplazmik bileşenlerin koagülasyonlarına yol açarak gerçekleşmektedir, aynı zamanda hücre içi ozmotik dengenin bozulmasına da neden olmaktadır. CHX, bakteriyel sitoplazmik membranın zarar görmesine ve ardından sitoplazmik materyalin dışarıya sızmasına neden olmaktadır (Babickaite ve diğerleri, 2016; Cieplik ve diğerleri, 2019).

Bu etkileri ile birlikte CHX, klinik başarısızlık gösteren kanal tedavili dişlerde en yaygın görülen patojenlerden biri olan *E. faecalis*'e karşı da oldukça etkilidir. Bunun dışında, klorheksidinin farklı türde mantar ve zarflı virüslere karşı da etkinlik gösterdiği bildirilmektedir. Konsantrasyonuna bağlı olarak, tüm vejetatif bakteri formlarının bu antiseptik madde ile teması halinde hızla ve tamamen yok olduğu veya büyümelerinin engellendiği de rapor edilmektedir (Salami, Imosemi ve Owoeye, 2006; Chandra, 2014; Babickaite ve diğerleri, 2016).

Klorheksidinin en önemli klinik özelliği, kök kanalı içindeki uzun süreli etkinliğidir. Bu özellik sayesinde, kök kanal duvarlarının bakteriyel kolonizasyonu uzun süre engellenebilmektedir. Klorheksidin, matris metaloproteinaz (MMP) inhibisyonu etkisine de sahiptir; bu sayede rezin-dentin bağ stabilitesini önemli ölçüde arttırabilmektedir. Bununla birlikte yetersiz kalabildiği bazı durumlar vardır. Bunlar; doku çözme yeteneğinin olmaması ve smear tabakasını uzaklaştırılamamasıdır. Bu yüzden, diğer irrigasyon solüsyon materyalleri ile birlikte kullanılması önerilmektedir. Ancak, sodyum hipoklorit (NaOCl) irrigasyon solüsyonu ile kullanıldığında çökelme reaksiyonu gerçekleştirdiği için beraber kullanılmaları önerilmemektedir (Chandra, 2014).

Yapılan çalışmalarda klorheksidin içerikli verniklerin ve gargaraların, *S. mutans* sayısının azalmasını sağladıkları, buna karşın beyaz nokta lezyonlarının iyileşmesinde herhangi bir katkı sağlamadıkları bildirilmektedir. Çocuk hastalarda altı yaş dişinin tam sürmediği durumlarda klorheksidin içerikli vernik uygulamalarının

etkili olabileceği bildirilmektedir (Twetman, 2004; Decker, Von Ohle, Weiger, Wiech ve Brex, 2005). Klorheksidin içerikli gargara ve verniklerin hamilelik döneminden başlayarak doğumdan sonraki 4 yıl boyunca kullanıldığı bir çalışmada annelerin ve çocukların ağız sağlıklarında belirgin bir iyileşme olduğu sonucu ortaya çıkmıştır (Günay, Dmoch-Bockhorn, Günay ve Geurtsen, 1998).

Antibakteriyel ajanların, topikal uygulamalar ile konaktan konağa *S. mutans* geçişini azaltırken, çürük oluşumunu azaltabilecekleri sonucu çıkarılmamalıdır. Ayda bir, bir hafta boyunca günde iki kez kullanıldığı takdirde %0,12'lik klorheksidin içerikli ağız gargaralarının koruyucu etkisi olduğu bildirilmektedir (Özdaş, 2014). Bununla birlikte, CHX, tat değişiklikleri ve dişlerde lekelenmeler gibi yan etkileri olan antiplak etkisi yüksek bir antibakteriyel ajandır. Bu tür yan etkileri elimine etmek için Dünya Sağlık Örgütü (WHO), bitkisel ekstraktlar gibi doğal ürünlerin etkinliğinin araştırılmasını önermektedir (Lobo, De Carvalho, Fonseca, De Castro, Monteiro, Fonteles ve Fonteles, 2008; Akhlaghi, Sadeghi, Fazeli, Akhlaghi, Mehnati ve Sadeghi, 2019).

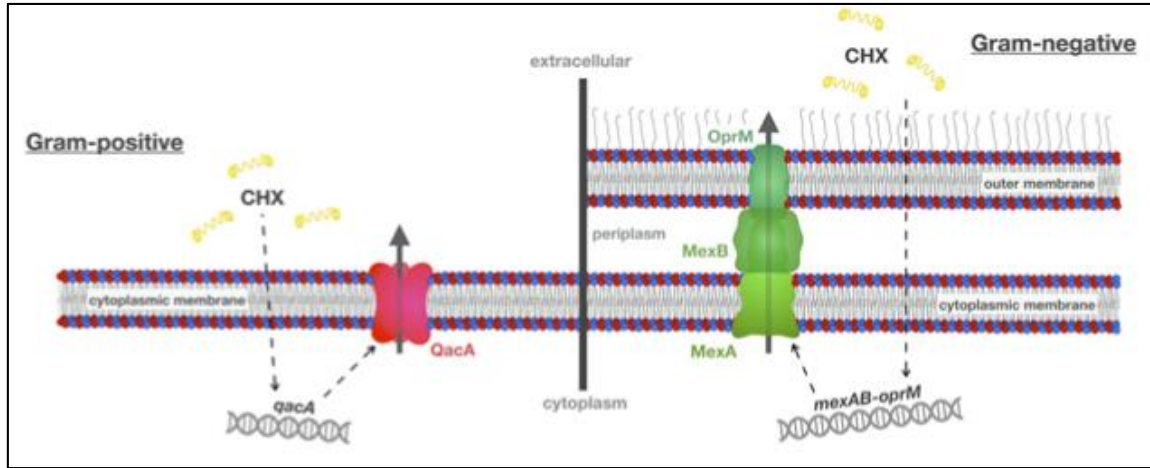
Klorheksidin direnci

CHX, diş hekimliği pratiğinde 40 yıldan fazla zamandır altın standart antiseptik olarak yaygın bir şekilde kullanılmasına ve çok çeşitli ağız bakımı ürünlerine dahil edilmesine rağmen, oral bakterilerde CHX'e karşı direnç riski ve bu dirence neden olan potansiyel mekanizmalar ve hatta antibiyotiklere karşı çapraz dirençler hakkında çok az şey bilinmektedir (Cieplik ve diğerleri, 2019). Antimikrobiyal direnç üzerine O'Neill (2016) tarafından yapılan bir çalışma sonucu, antimikrobiyal direnç nedeni ile gerçekleşeceği düşünülen yıllık ölüm sayısının 2050 yılında, 700.000'den 10 milyona çıkacağına beklendiği endişe verici bir senaryo öngörülmüştür. Bu sebeple, antibiyotiklere karşı direnç, bilim dünyasında büyük ilgi görmüş son yıllarda yeni antimikrobiyal yönetim stratejileri oluşturmak ve antimikrobiyal peptitler, doğal bileşikler, soğuk atmosferik plazma ve ışık temelli girişimler gibi alternatif antimikrobiyal yöntemlerin araştırılması için büyük bir teşvik sağlanmıştır (Czaplewski, Bax, Clokie, Dawson, Fairhead, Fischetti ve Henderson, 2016; Wainwright, Maisch, Nonell, Plaetzer, Almeida, Tegos ve Hamblin, 2017; Cieplik, Deng, Crielaard, Buchalla, Hellwig, Al-Ahmad ve Maisch, 2018).

Bunun dışında, ağız boşluğunun, oral biyofilmlerde bulunan bakteriler arasında yatay gen aktarımı yoluyla transfer edilebilen antibiyotik direnç genlerinin potansiyel bir rezervuarı olabileceği belirtilmiştir. Klorheksidin gibi yaygın olarak kullanılan antiseptiklere karşı bakteriyel direncin yanı sıra bu ajanlar ve klinik olarak önemli ölçüde kullanılan antibiyotikler arasında çapraz direncin oluştuğunu gösteren çalışmalar da bulunmaktadır (Yamamoto, Tamura ve Yokota, 1988; Russell, 2004; Al-Ahmad, Ameen, Pelz, Karygianni, Wittmer, Anderson, Hellwig, 2014; Jiang, Zeng, Zhou ve Li, 2018). CHX'e maruz kalmanın, iki bileşenli regülatör phoPQ'daki mutasyonlarla ilişkili olabileceği ve bunun sonucunda gram negatif bakteri enfeksiyonları için son çare antibiyotik olarak kullanılan kolistine karşı stabil bir direncin oluşabileceği bildirilmiştir (Wand, Bock, Bonney ve Sutton, 2017).

İlaç dışı sızıntı pompaları, toksik maddeleri bakterinin sitoplazmasından ve sitoplazmik membranından uzaklaştırmak için kanallar oluşturarak çoklu transmembran alanları içeren membran proteinleridir (Şekil 2.4). CHX'e karşı var olan içsel direnç, bakteri sporları ve mikobakterlerden bilinmektedir. Bu direnç, CHX moleküllerinin girişine sızdırmaz bir bariyer oluşturan dış hücre katmanlarından kaynaklanmaktadır. CHX'e karşı kazanılan direnç ise, edinilmiş genetik değişiklik ile oluşan mekanizmalardır ve çoklu ilaç dışı sızıntı pompalarını ve hücre zarı değişikliklerini içermektedir. Bu durumun, CHX'e duyarlı suşlara kıyasla CHX dirençli suşlarda dış membran proteini ve lipopolisakkarit yapılarındaki değişiklikler nedeni ile olduğu düşünülmektedir (Cieplik ve diğerleri, 2019).

Elektron mikroskobu ile yapılan araştırma, CHX'e maruz bırakılan CHX'e duyarlı suşlarda önemli ölçüde büyük morfolojik değişikliklerin gerçekleştiğini, ancak CHX'e dirençli suşların yapısal hasar göstermediğini doğrulamaktadır (Tattawasart, Hann, Maillard, Furr ve Russell, 2000). Dış hekimliğinde CHX'in yaygın kullanımının bir sonucu olarak dirençli bakterilerin ortaya çıkışı, şimdiye kadar sistematik olarak araştırılmamıştır. Dış hekimliğinde CHX'in yaygın kullanımı ile oluşabilecek potansiyel riskler hakkında çok az farkındalık bulunmaktadır, bu yüzden konu ile ilgili daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır (Cieplik ve diğerleri, 2019).



Şekil 2.4. Sırasıyla Gram-pozitif veya Gram-negatif bakterilerde CHX direncini sağlayan iki örnek dışa sızıntı sisteminin şematik gösterimi (Cieplik ve diğerleri, 2019)

2.2.2. Antibiyotikler

Enfeksiyon hastalıkları patojen mikroorganizmalar nedeni ile oluşan küresel bir sağlık sorunudur. Enfeksiyonel hastalıkları tedavi etme amacıyla antibiyotikler kullanılmaktadır. Antibiyotikler, günümüzde diş hekimliği de dahil olmak üzere geniş bir kullanım alanına sahiptir ve en çok tüketilen ilaçların başında gelmektedir. Diş hekimliğinde antibiyotik kullanımına sebep olan enfeksiyonlar genellikle gram pozitif, zorunlu anaerop, fakültatif ve aerop bakteriler nedeniyle, polimikrobiyal olarak meydana gelmektedir. Diş hekimliğinde kullanılabilen sınırlı miktarda antibiyotik mevcuttur (Ellison, 2009; Aydın, Koyuncuoglu, Kilboz ve Akici, 2017).

Diş hekimliğinde kullanılan antibiyotik çeşitleri

Penisilin: Tıp biliminde kullanılan en eski antibiyotiklerdendir. Çeşitli enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde sıklıkla kullanılan, bakterisid etkili, çok iyi bir farmakokinetik özelliğe sahip bir antibiyotik çeşididir. Düşük toksisite gösteren, dar spektrumlu olmasının yanında yüksek etkinliğe sahip, zorunlu anaerobik bakterilere, fakültatif bakterilere ve streptokoklara karşı etkinliği olan bir antibiyotiktir. Dental enfeksiyonların tedavisinde en çok tercih edilen antibiyotik çeşididir (Erbil ve Arslan, 2017; Aydın ve diğerleri, 2017).

Penisilin + Beta-Laktamaz İnhibitörleri: Klavulanik asit ve sulbaktam, beta laktamaz inhibitörleridir. Klavulanik asit + amoksisilin veya sulbaktam + ampisilin gibi

kombinasyonlar, ağız florasında aktif şekilde var olan beta-laktamaz üreten bakterilere karşı belirgin antimikrobiyal etki göstermektedir. Özellikle, kök kanal enfeksiyonlarında bu tip bakteriler ile sık karşılaşılması nedeni ile kullanımı tercih edilen antibiyotiklerdir (Aydın ve diğerleri, 2017).

Klindamisin: Kemik dokularda etkinliği iyi olan, gram negatif anaeroplara, gram pozitif aeroplara ve anaeroplara karşı etkisi yüksek bir antibiyotik çeşididir. Penisiline karşı alerjinin olduğu durumlarda sık tercih edilmektedir (Aydın ve diğerleri, 2017).

Amoksisilin: Penisilin ile karşılaştırıldığında, gram negatif bakterilere karşı daha geniş spektrumda etki göstermektedir. Hızlı emilebilen, güvenilirliği yüksek ve etkili bir antibiyotiktir (Aydın ve diğerleri, 2017).

Tetrasiklin: Doğrudan antimikrobiyal ve antiinflamatuvar özellik gösteren, gram negatif ve aeroplara gram pozitif bakterilere karşı bakteriyostatik etkinliği olan bir antibiyotiktir. Bakterilerin, bu antibiyotiklere karşı sık direnç geliştirebildiği bildirilmektedir. Tetrasiklin kullanımı nedeni ile dişlerde renklenme ve hipoplaziye rastlanabilmektedir. Teratojen bir antibiyotiktir, bu yüzden hamile bireylerde kullanılmaması gerekmektedir (Aydın ve diğerleri, 2017).

Diş hekimliğinde üçlü antibiyotik patı

Endodontik kaynaklı periapikal lezyonların gelişimi ve ilerlemesi kök kanallarında bulunan mikroorganizmalar sebebi ile oluşmaktadır. Bu yüzden, endodontik tedavilerin esas amacı; patojen mikroorganizmaların kök kanal sisteminden temizlenerek diş ve çevre dokuların sağlıklı duruma getirilmesidir. Enfekte kök dentininin sterilizasyonu ve iyileşmesinin sağlanmasında, mekanik olarak temizlenmesinin yanı sıra antimikrobiyal medikamanların kullanılması, mikroorganizmaları uzaklaştırarak tedavinin başarısını artırmaktadır. Endodontik enfeksiyonların polimikrobiyal yapıda olması sebebi ile, uygulanacak kanal içi medikamanın antibakteriyel ilaçların kombinasyonundan oluşması yararlı olabilmektedir. Üçlü antibiyotik patı olarak tanımlanan metronidazol, siprofloksasin ve minosiklin karışımının enfekte kök dentininin sterilizasyonunda etkili olduğu bilinmektedir (Mutluay ve Mutluay, 2017).

Metronidazol, zorunlu anaerop bakteriler üzerinde yüksek etkinlik göstermesine rağmen, aerop ve fakültatif aeroplara karşı sınırlı ve yetersiz aktiviteye sahip bir antibiyotiktir. Metranidazolün oral kavitedeki zorunlu anaeroblara karşı bakterisidal etki gösterdiği ve enfekte nekrotik pulpalı dişlerden izole edilen bakterilere karşı etkili olduğu bildirilmektedir (Bansal ve Jain, 2014; Karadağlıoğlu, 2019). Ancak, metranidazolün, 100 µg/ml konsantrasyonda bile bütün bakterilerin elimine edilmesinde yeterli olmadığı rapor edilmektedir. Bu nedenle enfekte olan kök dentininin sterilizasyonunda metronidazolün, siprofloksasin ve minosiklin ile birlikte kullanılması önerilmektedir. Bu antibiyotik karışımının (3-mix) yüksek antibakteriyel özellik gösterdiği, özellikle *E. faecalis* ve *E. faecium*'a karşı oldukça etkili olduğu belirtilmektedir. Bunun yanında, *E. coli* ve *E. faecalis gibi* kök dentininin derin tabakalarında kolonize olabilen bakterilerin ortadan kaldırması için üçlü antibiyotik patı etkili olarak uygulanabilmektedir (Alam, Nakazawa, Nakajo, Uematsu ve Hoshino, 2005; Mutluay ve Mutluay, 2017).

2.2.3. Gargaralar

Gargaralar, diş hekimliği pratiğinde, koruma ve tedavi etme amacı ile, çeşitli içeriklere sahip ajanlardır. Sahip oldukları antimikrobiyal etkinlikleri sayesinde, çürük oluşumu ve periodontal hastalıklardan korunmak için ağız florasını düzenlemeyi, halitozisi azaltmayı, cerrahi operasyonların oral mukozaya olan olumsuz etkilerini azaltmayı amaçlamaktadır. Bunun dışında, florid içerikli gargaralar dental hassasiyeti azaltmak ve diş çürüğünü önlemek amacıyla kullanılmaktadır. Yaklaşık son on yıldır, ağız gargarası kullanımı klinisyenler tarafından “biyofilm kontrolünü sağlayan etkin mekanik temizliği takiben” tavsiye edilmektedir (Lakade, Shah ve Shirol, 2014; Karadağlıoğlu, 2019).

Ağız gargaralarında kullanılan kemoteröpatikler içinden klorheksidin diglukonat “altın standart” olarak kabul edilmektedir. Antibakteriyelitesi yüksek %0,2'lik klorheksidin diglukonat preparatının günlük kullanımı ile *S. mutans* kolonizasyonunun %30-50 düzeyinde azaldığı bildirilmektedir (Gupta ve Bhat, 2011; Lakade, Shah ve Shirol, 2014). Braga, Degand, Pires, Santos ve Magalhaes, (2018) yaptıkları bir çalışmada, alkol içerikli antimikrobiyal gargaraların *S. mutans*, biyofilm ve mine çürük lezyonlarına olan etkisini değerlendirmiş, çalışılan tüm gargaraların

mineral kaybında azalma sağladığını gözlemlemiştir. Çalışmada kullanılan gargara ların biyofilmdeki bakteri miktarını azalttığı da rapor edilmiştir. Yapılan bir başka in vitro çalışmada, altı farklı ağız gargarasının *S. mutans*, *E. faecalis*, *B. subtilis*, *L. casei*, *S. aureus* üzerine antibakteriyel etkileri incelenmiş, sonucunda içeriğinde timol, mentol, ökaliptol ve metil salisilat bulunan grup ile sodyum florid içerikli gargara grubunun, klorheksidin içerikli gargara grubuna kıyasla, daha etkili olduğu rapor edilmiştir (Bağış ve Bağış, 2019).

Kimyasal plak eliminasyonunda altın standart olarak kabul edilen klorheksidin diglukonatin geniş spektrumlu antimikrobiyal olduğu bilinse de dişlerde ve restorasyonlarda renklenmelere sebep olması, tat alma bozukluğu, supragingival diştaşı oluşumu gibi yan etkilerinin olması uzun dönem kullanımını sınırlandırmaktadır. Ağız hijyeninin sağlanması amacı ile kemoteröpatik ajanların kullanılması önemlidir. Ancak, kimyasal içeriklerin uzun süre kullanılabilirliği tartışma konusudur. Bu yüzden, son dönemde yapılan araştırmalarda, doğal ve bitkisel içerikler üzerinde daha çok çalışılmaktadır (Ozan, Sümer, Polat, Er, Ozan ve Deger, 2007; Salvatori, Barchi, Guzzo ve Gargari, 2017; Bağış ve Bağış, 2019).

2.2.4. Diş macunları

Oral kavitede organik biyofilm oluşumu, mikrofloral büyümenin asıl sebebidir. Uygun bakımın yapılmaması diş çürüğü, plak kaynaklı diş eti iltihabı, angular cheillitis, parotitis ve *stafilokokal* mukozit gibi birçok farklı oral enfeksiyonlara ve ağız hastalıklarına yol açabilmektedir (Smith, Robertson, Tang, Jackson, MacKenzie ve Bagg, 2003; McCormack, Smith, Akram, Jackson, Robertson ve Edwards, 2015). Bu nedenle, araştırmacılar, dişleri biyofilme karşı güçlendirmek için çeşitli kimyasal ve bitkisel bazlı diş macunları formülasyonları tasarlamak ve geliştirmek için çalışmaktadır. Diş macunu ile dişlerin fırçalanmasının temel amacı ağızdaki biyofilmi elimine etmek, bakteri saldırısını azaltmak, temizleme etkisine ek olarak ağız ortamında bakteri üremesini engellemektir. Diş macunları, ağız hijyenini sağlamak ve dişleri diş çürüklerinden ve diş eti hastalıklarından korumak için aktif bileşenler içermektedir (Chaudhary, Guragain, Lamichhane-Khadka ve Bhattarai, 2020).

Çürük oluşumunun engellenmesinde diş macunlarının içerisinde en sıklıkla kullanılan madde floriddir. Florid içerikli diş macunları ile diş fırçalama çok eskiye dayanan bir çürük kontrol yöntemidir. Sodyum florid, sodyum monoflorofosfat, amin florid, ve kalay florid gibi pek çok florid bileşiği tek başına yada kombine halde kullanılmaktadır. Florid, ağız sağlığının yükseltilmesinde ve diş çürüklerinin önlenmesinde önemli bir unsurdur. Uluslararası sağlık ajansları tarafından güvenilirliği ve etkinliği kabul görmektedir. Florid, *S. mutans*'ın karyojenik özelliği üzerine etki etmektedir ve yüksek konsantrasyonlarda bakterisidal olduğu bilinmektedir. Floridli diş macunlarının etkinliği, içeriğindeki florid miktarı, kullanım sıklığı, kullanılan macun miktarı ve fırçalama sonrası ağız çalkalama alışkanlığına bağlıdır (Marinho, Higgins, Logan ve Sheiham, 2003).

Diş macunlarına, antibakteriyel özellik kazandırmak için farklı maddeler eklenmiştir. Çinko sitrat tuzu içeren diş macunlarının içeriğindeki çinkonun en önemli etkisinin plak içindeki bakterilerin proliferasyonunu azalttığı rapor edilmiştir. Çinko sitratın etkisini artırmak ve sinerji sağlamak için klorheksidin, heksetidin ve sanguinarin gibi başka antimikrobiyal ajanlar da diş macunlarının içeriğine ilave edilmişlerdir (Moran, Addy, Corry, Newcombe ve Haywood, 2001). Bunun dışında, diş macunlarında sıklıkla kullanılan bir diğer geniş spektrumlu antibakteriyel ajan ise triklosandır. Genellikle klinik etkiyi artırmak için bir kopolimerle veya çinko sitrat gibi başka bir antimikrobiyal ajanla kombine edilmektedir. Triklosanın tükürük içindeki bakteri miktarını ve gingivitisini azalttığı bildirilmektedir. Çok sayıda ağız bakterisine ve mayaya karşı antibakteriyel etkinliği olduğu bilinmektedir (Rosin, Kramer, Bradtke, Richter ve Kocher, 2002; Canan ve Özalp, 2013).

Son zamanlarda, diş bakımını yükseltmek ve kimyasal ajanların neden olduğu toksik etkileri elimine etmek için kimyasal ve bitkisel bazlı diş macunlarının kombinasyonları geliştirilerek piyasaya sürülmüştür. Antimikrobiyal aktivitenin yanı sıra, kombine diş macunlarının, yüzey gerilimi, iletkenlik ve pH gibi çeşitli fiziksel özellikleri, oral biyofilmi uzaklaştırmada etkin rol oynayabilmekte ve temizleyici etkisini arttırabilmektedir (Chaudhary ve diğerleri, 2020).

2.3. Fitoterapi

Fitoterapi, “bitki özütleri ile tedavi” anlamına gelmektedir. Tamamlayıcı ve alternatif tıp tedavi şeklidir. Fitoterapide kullanılan bitkilerin orijinal bileşenleri korunarak bu bitkilerin tamamı ya da istenilen oranı bir miktarı karıştırılarak, tıbbi tedaviler için kullanılmaktadır (Falzon ve Balabanova, 2017). Tedavi amacıyla kullanılan bitki çeşitlerinin, eski çağlardan beri arttığı tespit edilmiştir. Mezopotamya uygarlığında kullanılan bitkisel içerikli ilaçlar yaklaşık 250 civarında iken, Gregler döneminde bu sayı 600 kadar olmuştur. Arap-Fars uygarlığı zamanlarında ise 4.000 civarına ulaştığı düşünülmektedir. 19.yy’ın ilk dönemlerinde tanımlanan tıbbi bitki miktarı 13.000’e yükselmiştir. Dünya Sağlık Örgütü’nün (WHO) yaptığı araştırmaya dayanarak tedavi amacı ile kullanılan tıbbi bitkilerin günümüzde 20.000 civarında olduğu rapor edilmektedir (Onbaşılı ve Azranur, 2020).

Fitoterapi, batı tıbbında genellikle herbalism olarak adlandırılmaktadır. Allopatik tıp, naturopatik tıp, geleneksel Çin tıbbı, Ayurvedik tıp ve antroposofik tıp da dahil olmak üzere çeşitli tıbbi gelenekler bitkilerle tedavi yöntemini kullanmaktadır. Bunun yanı sıra, geleneksel tıp yöntemlerine destekleyici olarak, Kuzey Amerika, Avrupa ve diğer endüstri ülkelerinde yaşayan popülasyonun %50’sinden fazlası, en az bir alternatif tıp metodu kullanmayı tercih etmektedir (Carnelio, Khan ve Rodrigues, 2008; Falzon ve Balabanova, 2017). Bitkiler her zaman insanların günlük hayatında, besin ve hastalıklarına çare olarak yer almışlardır. Günümüzde var olan ilaçların, yaklaşık %40’ının doğrudan veya dolaylı olarak doğal kaynaklardan geliştirildiği ve %25’inin bitkilerden elde edildiği bilinmektedir (Dick, Marques, Lopes, Candreva, Santos ve Picciani, 2020).

Antibiyotiklerin yanlış ve gereksiz kullanımı, birçok bakteri türünün direnç geliştirmesine neden olmuştur. Bunun dışında, antibiyotiklerin yan etkilerinin yarattığı problemler nedeni ile, doğal ürünlere yönelik araştırmalar oldukça önem kazanmaktadır (Pannuti ve Grinbaum, 1995; Guzmán-Blanco, Casellas ve Sader, 2000). Ancak, uzmanların fitoterapi ile ilgili yeterli niteliğe sahip olmaması, fitoterapötik bitkilere ulaşmanın zorluğu ve maliyeti gibi çeşitli zorluklar, klinik rutinde fitoterapinin kullanımını sınırlandırmaktadır. Bununla birlikte, fitoterapi ile ilgili bilgi, araştırma, geliştirme ve inovasyon sonuçları, teknolojik gelişmeler ile bir bütün

olarak terapötik kaynakların doğrudan kullanımıyla topluma faydalı olacak olanaklar sunmaktadır (Arada ve Perez, 2019).

2.3.1. Diş hekimliğinde fitoterapi

Bitkisel ilaçların, antiinflamatuvar, analjezik, antibakteriyel, antioksidan, antifungal, antiviral ve sedatif gibi önemli terapötik aktiviteleri, eski çağlardan beri, ağız hastalıklarının tedavisinde kullanılmaktadır. Diş hekimliğinde, fitoterapi üzerine yapılan araştırmalar, analjezik, antiinflamatuvar, antimikrobiyal, iyileştirici ve rejeneratif etkileri daha az toksisite, daha iyi biyouyumluluk ve daha uygun maliyetlerle gerçekleştirmeyi hedeflemektedir (Dick ve diğerleri, 2020). Dünya Sağlık Örgütü (WHO) de, doğal ürünlerin ağız hijyeni için kullanılmasını tavsiye ve teşvik etmektedir. Ancak, bitkisel ilaçların ağız içinde oluşan hastalıkları tedavi etme gücü, tıbbın diğer alanları ile karşılaştırıldığında hala hafife alınmaktadır (World Health Organization, 1987; Dick ve diğerleri, 2020).

Alternatif tıp alanındaki ilerlemeler, ağız hastalıklarının tedavisi için diş hekimliği alanında da çeşitli doğal ürünlerin kullanılmasına neden olmuştur. Fitoterapinin; diş hekimliğinde kullanım alanları antimikrobiyal, antiinflamatuvar, analjezik ve sedatif olarak sınıflandırılabilir (Ergün, Şahin ve Kara, 2020).

2.3.2. Doğal kaynaklı ürünlerin antimikrobiyal kullanımı

Bitkilerin sahip oldukları antimikrobiyal aktiviteler, alternatif tıp ve doğal tedavilerin temelini oluşturmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü'ne (WHO) göre günümüzde insanların %80'inin birinci basamak sağlık hizmetleri ihtiyaçları için geleneksel bitkisel tıptan fayda sağladıkları bildirilmektedir. Yapılan çalışmalar, birçok doğal yiyecek ve içeceğin, oral patojenik bakterilerin diş yüzeyine tutunmasını ve bu bakterilerin aktivitesini engelleyebileceğini rapor etmektedir (Antonio, Iorio, Pierro, Candreva, Farah, Dos Santos ve Maia, 2011; Almeida, Naghetini, Santos, Antonio, Farah ve Glória, 2012; Sharma, Reddy, Prashant, Ojha ve Kumar, 2014; Ergün ve diğerleri, 2020). Almaz, Sönmez, Ökte ve Oba (2017) yaptıkları bir çalışmada meyan kökü ekstraktı içeren bitkisel bir lolipopu 5-11 yaş arası çocuklarda 10 gün boyunca günde 2 kez tüketmelerini istemişler, sonucunda yüksek çürük riskli

olanların tükürüklerinde *S. mutans* sayısında önemli dercede azalma olduğunu kaydetmişlerdir. Sunulan bir tez çalışmasında, ozon, morinda citrifolia ve triphala bitki ekstraktlarının ayrı ayrı ve birlikte kanal içi *E. faecalis* biyofilmine karşı antimikrobiyal etkinlikleri değerlendirilmiştir. Çalışmanın sonucunda sodyum hipoklorit ve ozon kadar olmasa da bitkisel içerikli ajanların antibakteriyel etki gösterdikleri rapor edilmiştir (Aktaş, 2017).

Biyolojik aktivitenin temel olarak doğal ürünlerin içindeki polifenoller sayesinde gerçekleştiği ileri sürülmektedir. Polifenoller bitkilerdeki, özellikle meyvelerdeki, tohumlardaki ve yapraklardaki önemli fotokimyasal materyalin temsilcisidir. Polifenollerin en üstün bileşenleri; özellikle kateşin, kateşin gallat ve proantosiyanidin gibi flavonoidlerdir (Ferrazzano, Amato, Ingenito, Zarrelli, Pinto ve Pollio, 2011; Akhlaghi ve diğerleri, 2019). Yapılan bir çalışma, aleo vera içerikli diş macunlarının antimikrobiyal aktivitesinin, *A. viscosus*, *S. mutans*, *S. sanguis* ve *C. albicans* gibi mikroorganizmaların gelişimini azaltarak etki gösterdiğini ortaya koymaktadır. Bu diş macunları aynı zamanda *S. mutans*, *L. acidophilus*, *E. faecalis*, *P. intermedia* ve *S. mitis* gibi diğer oral bakterilere karşı da etkili bulunmuştur (Lee, Zhang ve Li, 2004; George, Bhat ve Antony, 2009; Mansour, Ouda, Shaker ve Abdallah, 2014). Bir başka örnek de karadut bitkisidir. Yapılan fitokimyasal analizlerde yapısında alkaloid, tanninler, saponinler ve flavonoidler gibi antimikrobiyal komponentler içerdiği tespit edilmiştir. İzole edilen polifenolik bileşiklerin, ağızdaki patojen bakterilerin büyümesini inhibe ederek çürük oluşumunu engellediği düşünülmektedir (Tahir, Aslam ve Ahmed, 2017).

2.3.3. Doğal kaynaklı ürünlerin antiinflamatuvar kullanımı

Bazı bitki özütlerinin aktif bileşenlerinin vücudun savunma fonksiyonlarını düzenleyerek vücudun dış etkenlere karşı korunmasında etkili olduğu rapor edilmiştir (Cruz-Martinez, Diaz-Gomez ve Oh, 2017). Antiinflamatuvar etki hakkında yeterli sayıda araştırma bulunmaması ile birlikte, insanlar üzerinde yapılan çalışmada, çay ağacı yağı topikal olarak uygulanmış, sonucunda ise, histamine oranla daha az etkili olsa bile, ödemi azalttığı, ancak inflamasyonun bir diğer belirtisi olan ateş üzerinde etkisiz olduğu bildirilmiştir. Çay ağacı yağı fareler üzerinde de çalışılmıştır ve farelerin damar geçirgenliklerinin ve ödemlerinin azaldığı rapor

edilmiştir (Koh, Pearce, Marshman, Finlay-Jones ve Hart, 2002; Esteves, Souza, Rodrigues, Cardoso, Santos, Sertie ve Carvalho, 2005).

Propolis içeriğinde; terpenler, terpenoidler, flavonlar, flavonoidler, alifatik asit ve esterleri, aromatik asit ve esterleri, aminoasitler, alkoller, aldehitler, hidrokarbonlar, kalkonlar ve ketonlar bulunan bir doğal üründür. Propolis ile pulpa üzerinde yapılan araştırmalar, propolis ile kaplanan pulpada pulpitis oluşma riskinin azaldığını ve tamir dentini oluşumunun stimüle olduğunu bildirmiştir (Silva, Almeida ve Sousa, 2004; Sabir, Tabbu, Agustiono ve Sosroseno, 2005).

2.3.4. Doğal kaynaklı ürünlerin analjezik ve sedatif kullanımı

Sedatif etkili doğal ürünlerin varlığı bilinmektedir ancak, ilgili çalışma sayısı halen yetersizdir. *Piper methysticum* (Kava), *Melissa officinalis* (Oğul otu), *Valeriana officinalis* (Kediotu), *Passiflora incarnata* (Çarkıfelek çiçeği) gibi bitkisel ürünler sedatif etkili olarak bildirilmiştir. İçeriğindeki valepotriate asit, valerenik ve izo-valerenik etken maddeleri sayesinde *Valeriana officinalis* (Kediotu)'in sedatif etkiye sahip olduğu rapor edilmiştir (Houghton, 1999; Wheatley, 2005; Groppo, Bergamaschi, Cogo, Franz-Montan, Motta ve Andrade, 2008).

Melissa officinalis (Oğul otu) bitkisinin yaprakları ise; Arjantin, Patagonya ve Brezilya'da sakinleştirici olarak kullanılmaktadır. Meksika ve Orta Amerika'da doğal olarak yetişen *Capsicum annuum* (Biber), analjezik etkiye sahip bir bitkidir. Bunun dışında, *Matricaria recutita* (Alman papatyası)'nın infüzyonları ağrı kesici ve yara iyileştirici etkileri sebebi ile, boğaz iltihaplarında gargara, iltihaplı yaralarda ise pansuman olarak kullanılmaktadır. Bu bitkinin çiçekleri ise; haricen oral ve periodontal bakteriyel hastalıkların, deri ve mukoza iltihaplanmalarının tedavisinde etkili bulunmuştur (Onbaşılı ve Azranur, 2020).

2.4. Çalışmada Kullanılan Doğal Kaynaklı Ürünler

2.4.1. Taş suyu

Su çeşitli mineraller içeren insan sağlığına önemli etkileri olan sıvı bir maddedir. Taş suyunun kalsiyum karbonat içeriği fazla olan taşların yüksek ısı, basınç ve vakum

altında ayrışması ile elde edilen yüksek alkali özellikli mineralli su olduğu bildirilmiştir. Ülkemizde çokça bulunan kalsiyum karbonat oranı yüksek taşlardan üretilen bu materyalin diğer ismi firetextir. Taş suyu, kireçtaşı mineral formülü içeren su bazlı yeni bir üründür. Karbonat içeriği yüksek taşların yıkanması, kurutulması, öğütülmesi ve elenmesi ile elde edilen taşlara asit uygulandıktan sonra 3000 °C’de vakum altında ezilir ve oluşan taş tozları birkaç saat suya maruz bırakılarak taş suyunun etken kısmı olan yüksek mineral ve eser elementleri elde edilir. Elde edilen taş suyu şeffaf cam şişelerde ve oda sıcaklığında saklanabilmektedir (Appak-Baskoy, Teksoy, Cengiz, Ozkan, Eskiler, Bilici ve Ayhanci, 2019). Edremit’te Kale Natural fabrikasının Ar-Ge laboratuvarında ilk kez üretilen ve geliştirilen taş suyu ile ilgili orman ve çevre mühendisliği alanlarında yayınlanmış makaleler bulunmaktadır (Sözen, Aydemir ve Gündüz, 2018; Kesik, Aydoğan, Özkan ve Maraz, 2016; Ozcan ve Esen, 2017). 2014 yılında Dokuz Eylül Üniversitesi Çevre Mühendisliği Bölümü’nün materyal üzerine yaptığı inceleme sonucu, pH değerinin 9,4 ile bazik karakterde olduğu, özellikle magnezyum (Mg), kalsiyum (Ca), sodyum (Na) ve karbonat (CO₃) gibi çeşitli mineraller içerdiği atomik absorpsiyon analizinde ortaya konmuştur (Çizelge 2.1).

Çizelge 2.1. Taş suyunun içeriği (Dokuz Eylül Üniversitesi, 2014)

ph	9,40
Toplam Katı Madde	375,5 g/L
Askıda Katı Madde	5,78 g/L
Kalsiyum İyonu	100 g/L
Magnezyum İyonu	1,2 g/L
Sodyum İyonu	2,8 g/L
Potasyum İyonu	2,6 g/L

İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı’nın yaptığı analizler sonucu, taş suyunda kullanılan materyalin kireç taşı (Kalsiyum karbonat (CaCO₃)) olduğu, renksiz, kokusuz, berrak bir sıvı olan taş suyunun etken madde olarak kalsiyum hidroksit içerdiği ve bazik karakterli olduğu bildirilmiştir. Toksikite araştırmaları deney fareleri üzerinde yapılmış, farelere oral yolla 20 g/kg tek doz uygulanmış herhangi bir mortalite vakası gözlenmediği gibi zehirlenme bulgusuna da rastlanmamıştır. Akut toksisite yönünden letal doz (LD₅₀) değeri 15 g/kg ve üzeri olan bileşikler non-toksik olarak değerlendirilmektedir. Bu değerlendirmeye göre, 20 g/kg dozda dahi mortaliteye ve zehirlenme bulgusuna rastlanmayan taş suyunun akut toksisiteden yoksun, zararsız bir materyal olduğu

rapor edilmiştir. İçme suyu olarak 10 gün süre ile taş suyu verilen deney farelerinde de bu süre boyunca herhangi bir zehirlenme bulgusu gözlenmemiştir. Bu sonuç, taş suyunun subakut toksisite yönünden de güvenilir bir materyal olduğunu göstermektedir (Şener, 2009).

Akut ve subakut toksisite yönünden zararsız bulunan taş suyunun kronik maruz kalma olasılığının bulunmaması, bileşimindeki kalsiyum tuzlarının, organizmada birikme eğilimi göstermemesi ve mutajen, teratojen ve karsinojen gibi özel toksik etkilerden yoksun olması nedeni ile kronik toksisite çalışmaları gereksiz bulunmuştur. MRL (maksimum rezidüel limit) ve ADI (günlük kabul edilebilir limit) toksisite yönünden tehlikeli olan yem ve besinlerde kalıntı bırakabilen moleküller için geçerli olan kavramlardır. Taş suyu ve benzer özellikteki non-toksik moleküller için MRL ve ADI değerlerinin belirlenmesinin gereksiz olduğu bildirilmiştir. Sonuç olarak, yapılan akut ve subakut toksisite test sonuçlarına göre taş suyu hayvan, insan ve çevre açısından zararsız bir ürün olarak değerlendirilmektedir (Şener, 2009).

Balıkesir Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Anabilim Dalı'nda 2004 yılında, taş suyu maddesinin, mikrodilüsyon ve disk difüzyon teknikleri kullanılarak, insanlarda patojen olduğu bilinen, *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. aerogenes*, *P. vulgaris*, *S. marcescens* klinik izolatu ve *C. albicans* klinik izolatu üzerinde, antibakteriyel ve antikandidal özellikleri değerlendirilmiştir. Yapılan testler 3 kez tekrar edilmiştir ve sonucunda, ürünün 1.562 µl/ml – 6.25 µl/ml değerleri arasında bu mikroorganizmalara karşı antibakteriyel ve antikandidal özelliklere sahip olduğu bildirilmiştir (Özen, Azaz ve Çelen, 2004).

Literatürde alkali su veya maden suyunun insan sağlığı üzerinde faydalı etkileri olduğu gösterilmiştir. Taş suyu, yüksek alkali maden suyudur ve zengin mineral içeriği nedeniyle kanser önleyici etkilere sahip olabileceği düşünülmüştür (Bertoni, Oliveri, Manghetti, Boccolini, Bellomini, Blandizzi ve Del Tacca, 2002; Gröber, Schmidt ve Kisters, 2015; Fenton ve Huang, 2016). Magnezyumun kanserojen ajanların oluşturduğu DNA hasarını önlediği, ayrıca suda bulunan kalsiyum ve magnezyum minerallerinin kolorektal ve mide kanserini engelleyici olduğu bildirilmiştir. Taş suyunun da yüksek Mg, Ca, Na ve CO₃ içeriği nedeni ile kanser hücrelerine etki edebileceği düşünülmüştür. İçeriğindeki Ca, Na ve Mg minerallerinin

glukoz metabolizmasını, inflamasyonu ve hücre çoğalmasını düzenlediği rapor edilmiştir (Blondell, 1980; Yang, Chiu, Chiu, Tsai ve Cheng, 1997; Yang, Cheng, Tsai ve Hsieh, 1998; Gröber ve diğerleri, 2015). Bununla birlikte, taş suyundaki en önemli elementlerden biri olan magnezyumun yokluğunda, lökosit ve makrofaj aktivasyonuna, inflamatuvar sitokinlerin ve akut faz proteinlerinin salınmasına ve hayvan modellerinde aşırı serbest radikal üretiminin önemli ölçüde artmasına neden olan inflamatuvar tepkiye yol açtığı bildirilmektedir (Nielsen, 2018).

Appak-Baskoy ve diğerlerinin (2019) yaptığı çalışmada ise, taş suyunun prostat adenokarsinom hücrelerinin canlılığını önemli ölçüde azalttığı ve apoptozu indüklediği, IL-8 üretimini inhibe ederek PC-3 kaynaklı anjiyogenezi inhibe ettiği ve taş suyunun, kanser tedavisinin etkinliğini artırmak için lokalize ve sistemik tedavilere yardımcı olmak amacı ile intraprostatik enjeksiyonlar yoluyla uygulanabileceği rapor edilmiştir.

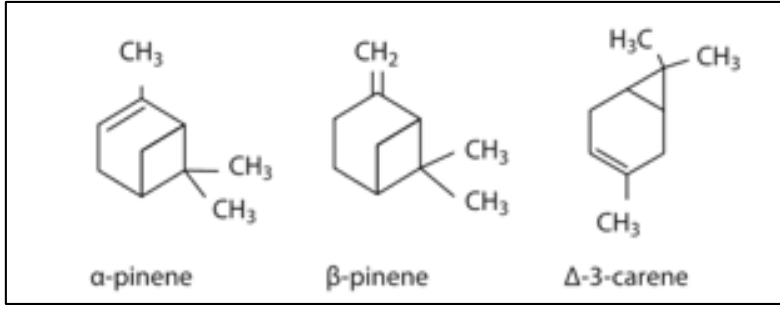
2.4.2. Çam terebentin

Çam ağacının kabuğunda oluşan sakız balsamının damıtılması sonucu reçine ve terebentin uçucu yağı elde edilmektedir. Literatürde, çam terebentin "terebentin ruhu", "çam ağacı terpeni", "çam oleoresin", "terebentin sakızı", "terpen yağı" veya "Bordeaux terebentini" olarak da adlandırılmaktadır. Farklı ve karakteristik kokuya sahip berrak bir sıvıdır (Wiyono, Tachibana ve Tinambunan, 2006; Mercier, Prost ve Prost, 2009; Nollet ve Rathore, 2017). Çam terebentin ilaç ve parfüm üretiminde, gıda katkı maddelerinde ve temizlik malzemeleri, boyalar, böcek ilaçları gibi diğer alanlarda da kullanılmaktadır. Bunların dışında terpen alkol terpineolün antimikrobiyal aktiviteye sahip olması nedeni ile dezenfektan ve iyi bir yüzey temizleyici olarak da kullanılmaktadır (Mercier ve diğerleri, 2009; Nollet ve Rathore, 2017).

Antik çağlardan beri geleneksel tıpta akciğer hastalıkları, safra taşları, sistit, romatizma, siyatik ağrıları ve nevralji gibi çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılan çam terebentin uçucu yağlarının birçok bakteri türüne karşı iyi bir antimikrobiyal ajan olduğu da rapor edilmektedir (Hmamouchi, Hamamouchi, Zouhdi ve Bessiere, 2001; Mercier ve diğerleri, 2009).

Çam terebentinin gaz kromatografisi ve gaz kromatografisi kütle spektrometresi ile yapılan analizi sonucu, içeriğindeki ana bileşenlerin α -pinene, β -pinene ve Δ -3-carene olduğu bildirilmiştir (Şekil 2.5). Terpen sınıfından olan α ve β pinenlerin, patojenik maya ve bakterilerin hücre zarlarının geçirgenliğini bozarak mikroorganizmayı yok edebildikleri veya büyümelerini engelleyebildikleri ve hücre metabolizmasına müdahale ederek antimikrobiyal etkinlik sağladıkları rapor edilmiştir (Wiyono ve diğerleri, 2006; Mercier ve diğerleri, 2009). α -pinenlerin; çene enfeksiyonları, parodontitis ve periodontitise neden olan *P. intermedia*, *P. gingivalis*, *F. nucleatum* ve *Y. enterocolitica* gibi gram negatif bakterilere karşı antibakteriyel etkinliği bildirilmektedir. Çam terebentinin aynı zamanda; *S. epidermidis*, *S. aureus*, *E. faecalis*, *Y. enterocolitica*, *C. jejuni* bakterilerine karşı da etkinliği yüksektir (Cha, Jeong, Jeong, Moon, Kil, Yun ve Song, 2007; Nollet ve Rathore, 2017). α - ve β -pinenler özellikle *C. albicans*, *C. tropicois*, *C. glabrata*, *Aspergillus spp.* ve *P. notatum* gibi mantar ve mayalara karşı antifungal aktiviteye sahiptir. Bununla birlikte, insan monosit faktörü TNF- α 'nın inhibisyonunu sağladıkları, meme kanserinde durdurucu rol oynadıkları ve in vitro ortamda insan kanser hücrelerine karşı sitotoksik aktivite gösterdikleri belirtilmiştir (Magwa, Gundidza, Gweru ve Humphrey, 2006; Mercier ve diğerleri, 2009).

α -pinene ve β -pinene ile ilgili önemli bir konu da doza bağımlı toksik etkileridir. Monoterpenlerin, düşük dozlarda daha etkili oldukları, yüksek dozlarda ise prooksidan hale geldikleri ve hepatotoksik, nefrotoksik etkilere ve sinir sistemi bozukluklarına neden olabildikleri rapor edilmiştir. Çam terebentinin, insanların %1'inde hafif eriteme neden olabildiği ve %12,5 sulu çözeltisinin hafif hassasiyete ve alerjiye sebep olabildiği de bildirilmiştir (Mercier ve diğerleri, 2009; Nollet ve Rathore, 2017).

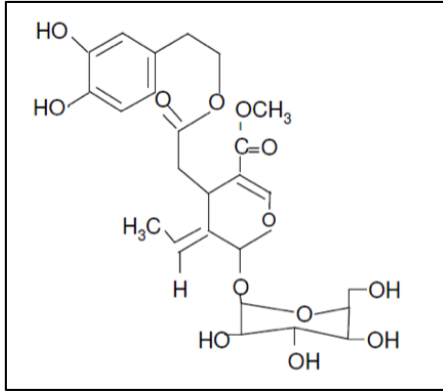


Şekil 2.5. α -pinene, β -pinene ve Δ -3-carene kimyasal yapı formülü (Nollet ve Rathore, 2017)

2.4.3. Zeytin yaprağı ekstraktı

Akdeniz efsanelerinde “ölmez ağaç” ya da “yaşam ağacı” olarak tanımlanan, iki bin yıl kadar yaşayabildiği bilinen zeytin ağacı çok eski çağlardan beri insanlar tarafından yaygın olarak kullanılmaktadır. Eski medeniyetlerde yaşayan insanlar sağlıkları için yararlı olabileceği düşüncesi ile zeytin yaprağını uzun süre çiğnemişlerdir. Zamanın ünlü düşünürlerinden İbn-i Sina, ağız yaralarında zeytin yaprağının çiğnenmesinin faydalı olduğunu belirtmiştir. Mısırlılar zeytin yaprağını mumyalama işleminde iyi bir koruyucu olarak uygulamanın dışında, yüksek ateş ve sıtma gibi hastalıkların tedavisinde kullanmışlardır. Bununla birlikte, zeytin yaprağının antimikrobiyal özellikleri de yüzyıllardır geleneksel tedavilerde dikkat çekmiştir (Demir, 2016; Medina, Lim, Subhan, Jazayeri, John, Vanniasinkam ve Obied, 2016; Romero, García ve Brenes, 2019).

Zeytin yaprağının biyolojik aktivitesi, yüksek bifenol içeriği ile ilişkilendirilmiştir. Fenolik maddeler bakımından zengin zeytin ağacının en etkin fenolik bileşeni oleuropeindir. Oleuropeinin yapısı, elenolik asit ve hidroksitriosolün esterinden oluşmaktadır (Şekil 2.6). Zeytin yaprağının, bu bileşiğin en önemli kaynağı olduğu ve oleuropeinin, zeytin yaprağında, zeytinyağından daha fazla miktarda bulunduğu rapor edilmiştir (Gikas, Bazoti ve Tsarbopoulos, 2007; Bouaziz, Hammami, Bouallagui, Jemai ve Sayadi, 2008; Lim ve diğerleri, 2016).



Şekil 2.6. Oleuropein kimyasal yapı formülü (Demir, 2016)

Antioksidan, antimikrobiyal, antienflamatuar, antiteratojenik, antikarsinojenik, antiviral etkilerine sahip olan oleuropeinin, mikroorganizmaların gelişme hızını azalttığı ve inhibe ettiği bildirilmiştir. Fenolik glikozit oleuropein ve ürünlerinin; *B. cereus*, *E. faecalis*, *E. coli*, *H. influenzae*, *K. pneumoniae*, *L. plantarum*, *M. catarrhalis*, *P. fragi*, *S. enteritidis*, *S. typhi*, *S. aureus*, *S. carnosus*, *V. parahaemolyticus*, *V. cholerae*, *V. alginolyticus* ve küfler üzerinde antimikrobiyal etkisinin olduğu gösterilmiştir. Bunun dışında, temel biyoaktif metaboliti olan hidroksitriosolün güçlü bir antioksidan olduğu, bir diğer yapısal alt birimi elenolik asitin de yüksek antiviral etkinlik gösterdiği bildirilmiştir (Visioli, Bellosta ve Galli, 1998; Furneri, Marino, Saija, Uccella ve Bisignano, 2002; Gikas ve diğerleri, 2007).

Zeytin yaprağı özütü antioksidan, antienflamatuar, antibakteriyel, antiviral, antifungal ve mikoplazmaya karşı antimikrobiyal etkinlikleri dışında hipertansiyonun tedavisi, diyabetin engellenmesi gibi durumlarda da kullanılmıştır. Bunların dışında, antiseptik, hipoglisemik ve diüretik etkilerinin olduğu da bildirilmiştir (Demir, 2016). Ek olarak, zeytin yaprağı, özellikle oleanolik ve maslinik asit gibi yüksek triterpen konsantrasyonu içermektedir. Her ikisinin de güçlü antimikrobiyal, antitümöral, antiinflamatuar, anti-HIV etkilerinin olduğu rapor edilmiştir. Yapılan araştırma sonucu zeytin yaprağı özütünün antikanser etkisinin olduğu gösterilmiştir. Kemoterapi sonrası, oral mukozit tedavisi için zeytin yaprağı özütünün kullanılması yeni bir yöntem olarak denenmiştir. Sonuç olarak; zeytin yaprağı ekstraktı, benzydamin HCl ve plasebo gruplarıyla karşılaştırıldığında, oral mukozit insidansını ve şiddetini düşürdüğü görülmüştür. Bu sonuçlar ışığında, zeytin yaprağı ekstraktının, oral mukozit için de etkili ve güvenli bir tedavi ajanı olarak kullanılması önerilmektedir (Ahmed, Talabani ve Altaei, 2013; Medina ve diğerleri, 2019).

2.4.4. Üzüm çekirdeği yağı

Üzüm dünyanın en eski ve en çok yetiştirilen meyvelerinden biridir. Üzümlerin tıbbi olarak kullanımı içindeki flavonoidlerin varlığından kaynaklanmaktadır. İçeriğindeki polifenollerin; antioksidan, antiproliferatif, antienflamatuar, antiapoptotik, sitoprotektif ve proteinlerle kolajen çapraz bağlanabilme gibi etkileri olmasının yanında özütü, düşük toksik etkiye sahiptir. Diş hekimliğinde tercih edilen, en yüksek flavonoid miktarına sahip olan *Vitis vinifera* türlerinden elde edilen üzüm çekirdeği özütleridir (Anusuya, Jena ve Sharan, 2020).

Üzüm çekirdeği özütü %98 proantosiyanidin (PA) içermektedir. Meyveler, sebzeler, kuruyemişler, tohumlar ve çiçeklerde yaygın olarak bulunan PA, doğal bir bitki metaboliti, antioksidan ve serbest radikal temizleyicidir. PA'nin büyük molekül yapısı bir bioflavonoid olan flavinden oluşmaktadır. Meyve ve sebzelerden alınan PA'nin, *S. mutans* tarafından asit üretimini engellediği bildirilmiştir (Jawale, Kamat, Patil, Nanjannawar ve Chopade, 2017).

Üzüm çekirdeği yağında en çok bulunan flavonoid; monomerler, oligomerler ve polimerler şeklinde çeşitli formlardaki flavon-3-ol'dür. Fenolik bileşiklerin miktarı ve çeşidi, üzümün yetiştiği yer, çeşidi, mevsimi ve olgunlaşma derecesi gibi çeşitli faktörlerden etkilenmektedir. Yaygın olarak proantosiyanidinler olarak bilinen tanenler, üzüm çekirdeği özütünün temel bileşenlerindendir. Bu polimerik form, kolajen lifleri ile çapraz bağlanma özelliği sağlayan aktif içeriktir (Anusuya ve diğerleri, 2020). Matriks metaloproteinaz (MMP)-2, MMP-8 ve MMP-9'un ve dentin içindeki sistein, katepsin B ve K'nın %75-90'ını inhibe edebilmektedir bu da etkisinin klorheksidinden %90 daha verimli olduğunu göstermektedir. Proantisyonidinin, tip-I kolajen fibril çapraz bağlanmasını stabilize ettiği ve arttırdığı ve bu etkisinin bonding sistemlerin iyileştirilmesi ve dayanıklılığının artırılması açısından umut verici olduğu rapor edilmiştir (Paludo, Marcondes, Souto, Lopes, Loguércio ve Spohr, 2019).

Üzüm çekirdeği yağı içeriğindeki tannen ve polifenolik bileşiklerin, bakteriyel dental plak oluşumunu engelleyebildiği, diş minesinin remineralizasyonunu arttırabildiği ve antikaryojenik etkilere sahip olduğu gözlemlenmiştir. Bu yüzden üzüm çekirdeği

özütünün dikkate alınması gereken antibakteriyel etkinliğe sahip olduğu göze çarpmaktadır. Ancak, daha düşük konsantrasyonda üzüm çekirdeği özütünün, *S. mutansa* karşı etkinliğinin olmadığı, 250 ve 500 mg/mL konsantrasyonlarda antibakteriyel etkiye sahip olduğu, ancak bu etkinin klorheksidin diglukonat ile karşılaştırıldığında önemli ölçüde az olduğu da bildirilmiştir (Swadas, Dave, Vyas ve Shah, 2016).

Vitis vinifera türü üzüm çekirdeği yağının antimikrobiyal ve antifungal aktivitelerinin dışında antioksidanlar, immünomodülatörler ve antimutajen gibi terapötik etkileri rapor edilmiştir. Ayrıca, üzüm çekirdeği yağının dentinin biyomekanik özelliklerini ve biyostabilitesini iyileştirdiğine dair kanıtlar da bulunmuştur (Karygianni, Al-Ahmad, Argyropoulou, Hellwig, Anderson ve Skaltsounis, 2016; Paludo ve diğerleri, 2019). Bu özellikleri nedeni ile geleneksel kök kanal irrigasyon solüsyonu alternatifi olarak, özellikle ince kök yapısına sahip dişlerin endodontik tedavilerinde, dentinin mekanik özelliklerini artırabileceği ve *E. faecalis* gibi kanal içi patojenlerin elimine edilmesi için iyi bir antimikrobiyal etkinliğe sahip olduğu için üzüm çekirdeği özütünün irrigasyon solüsyonu olarak kullanılabileceği öne sürülmüştür (Fiallos, Cecchin, de Lima, Hirata Jr, Silva ve Sassone, 2020).

Üzüm çekirdeği yağının, deri, kolorektal, prostat, göğüs, akciğer ve mide kanserleri üzerine kemoprevensiyon ve antikanser etkileri bildirilmiştir. Üzüm çekirdeği özütünün doğal kaynaklı bir serbest radikal temizleyici olma özelliğini, hücre proliferasyonunu, apoptozu, mitokondriyal fonksiyonu ve DNA hasarını düzenleyerek gerçekleştirdiği ve güçlü süper oksit radikaller ile ilişkili oksidatif stres oluşturabildiği ve büyük akciğer kanser hücrelerinin apoptozuna neden olabildiği rapor edilmiştir. Yüksek konsantrasyonlarda, oral kanser hücrelerinin de apoptozunu sağladığı ve antiproliferasyonunda etkili olduğu bildirilmiştir (Tyagi, Raina, Gangar, Kaur, Agarwal ve Agarwal, 2013; Yen, Hou, Yang, Tang, Li, Huang ve Chen, 2015).

2.4.5. Hindistan cevizi yağı

Hindistan cevizi yağı, eski zamanlardan beri geleneksel tıpta birçok hastalık için kullanılmıştır. Anti-enflamatuar, antibakteriyel ve antiviral etkileri nedeni ile

günümüzde popülaritesi daha da artan bitkisel kaynaklı bir üründür. Antik Hint tıp sistemi olan Ayurveda'ya göre bu yağ vücudu beslemekte ve hastalıklara karşı direnci arttırmaktadır (Peedikayil, 2019).

Hindistan cevizi yağı orta zincirli yağ asitlerinden oluşmaktadır; bu özelliği onu, uzun zincirli yağ asitlerinden oluşan diğer diyet yağlarından ayırmaktadır. Kaprilik asit, miristik asit, kaprik asit, linoleik asit, oleik asit, stearik asit ve palmitik asit gibi çok orta zincirli yağ asiti içermektedir. Bileşenlerini oluşturan orta zincirli yağ asitlerinin anne sütüne benzer faydalı etkilere sahip olduğu düşünülmüştür. Yapısını oluşturan orta zincirli yağ asitlerinin hemen hemen %50'sini oluşturan laurik asitin antimikrobiyal ve antiinflamatuvar özellikte olduğu bilinmektedir. Hindistan cevizi yağı kolay ulaşılabilirliği ve ucuz olması nedeni ile klinik kullanım için önemli antimikrobiyal bir doğal üründür (Joshi, Kaushik, Gode ve Mhaskar, 2020; Woolley, Gibbons, Patel ve Sacco, 2020).

Hindistan cevizi yağının antimikrobiyal etkisi ilk olarak Hierholzer ve Kabara tarafından bildirilmiştir (Hierholzer ve Kabara, 1982). Yapılan çalışmalar, içeriğindeki gliserol ile esterleştirilmiş laurik asitten oluşan ve içeriğinde bulunan monolaurinin, antibakteriyel ve antiviral geniş biyoaktivitelere sahip olduğunu göstermiştir (Nasir, Abllah, Jalaludin, Shahdan ve Abd Manan, 2018; Firdaus, Fauziah ve Sutadi, 2019). Hindistan cevizi yağında bulunan monolaurin ve diğer orta zincirli monogliseritlerin, bakteri hücre zarını etkileyerek, hücre zarı penetrasyonunu engelleyerek ve bakterilerin yıkıma neden olan enzimlerinin üretimini inhibe ederek mikroorganizmaların ölümüne yol açtığı rapor edilmiştir (Seleem ve diğerleri, 2016). Elektron mikroskopik görüntüler, monolaurine 15 dakika maruz kalan hücrelerin boyutlarında küçülmenin gerçekleştiğini ve gram pozitif kokların hücre zarlarının parçalanmasına sebep olduğunu göstermiştir. Hindistan cevizi yağındaki laurik asitin özellikle *Streptococcus* türlerine karşı antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu ve bu etkinin klorheksidine oranla daha yüksek olduğu bildirilmiştir (Peedikayil, 2019; Sari, Fauziah, Budiardjo, Suharsini, Sutadi, Indiarti ve Rizal, 2019). Biyofilm üzerinde yapılan in vitro çalışmalar da, Hindistan cevizi yağının *S. mutans* ve *C. albicans*'a karşı antimikrobiyal olduğunu göstermiştir (Seleem ve diğerleri, 2016; Firdaus ve diğerleri, 2019).

Sağlıklı bireylerde *Candida* kolonizasyon yüzdesi %20 ile %40 arasında değişmektedir ve en yaygın tür *C. albicans*'tir. Oral kavitede, *C. albicans* varlığının *S. mutans* patojenitesini arttırdığını kanıtlayan çalışmalar bulunmaktadır (Srivastava, Bhatia, Chaudhary, Aggarwal, Singh ve Gupta, 2012; Peedikayil, 2019). Hindistan cevizi yağında bulunan kaprilik asit, *Candida*'ya en etkili yağ asitidir. *Candida*'nın hücre duvarlarına nüfuz ederek, çoğalmasını inhibe etmekte ve hücre zarının yırtılmasına neden olarak mikroorganizmanın ölümüne neden olmaktadır. Ayrıca, yağ asitleri, hif oluşumunu da inhibe ederek konakçı istilasını önlemekte ve patojenitenin azalmasını sağlamaktadır (Sari ve diğerleri, 2019). Kaprik ve laurik asitler aynı zamanda *C. albicans*'ın inhibisyonunda da rol almakta ve böylece patojenin neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde, antibiyotik tedavisi ile kombine kullanımı yararlı olabilmektedir. 10 karbonlu doymuş bir yağ asidi olan kaprik asit, sitoplazma membranını parçalayarak sitoplazmanın düzensizleşmesine ve küçülmesine neden olmakta, böylece *C. albicans*'ın en hızlı ve en etkili şekilde yok edilmesini sağlamaktadır (Peedikayil, 2019). Bunun dışında, 1-monolaurinin de hem duyarlılık testlerinde hem de biyofilm testlerinde *C. albicans*'a karşı potansiyel antifungal aktivitelerinin olduğu ve konakçı hücreler üzerinde IL-1 α ve IL-1 β 'nın pro-inflamatuar sitokin gen ekspresyonunun aşağı regülasyonu sağlayarak immün modülatör etkilere sahip olduğu bildirilmiştir (Seleem ve diğerleri, 2016).

Hindistan cevizi yağıyla ağız çalkalama işlemi yağın, tercihen sabah kahvaltısından önce, 20 dakika kadar ağızda bekletilmesini içermektedir. Yetişkinler için kullanılması gereken miktarın bir çorba kaşığı, çocuklar için ise bir çay kaşığı olması gerektiği söylenmektedir. Çalkalama sırasında yağın tüm dişlerin arasından çekilmesi ve zorlanması gerektiği ve ağzın tüm yüzeylerine temasının sağlanması gerektiği önerilmiştir. Bu işlem uygun şekilde yapıldığında, yağın görünümü ince, viskoz ve süt gibi olmaktadır. Daha sonra tükürülmesi ve ağzın ılık suyla çalkalanması gerekmektedir. Hindistan cevizi yağı ile ağız çalkalamanın, plak kaynaklı diş eti iltihabından etkilenen hastalarda, bakteri agregasyonu ve plak adezyonunu azaltarak oral hijyeni arttırdığına dair kanıtlar bulunmaktadır (Ripari, Filippone, Zumbo, Covello, Zara ve Vozza, 2020; Woolley ve diğerleri, 2020).

2.4.6. Propolis

Propolis, latince *Apis mellifera* L. olarak adlandırılan bal arılarının, çeşitli bitki kaynaklarından topladıkları reçineye β -glukozidaz gibi tükürük enzimleri ekleyerek elde ettikleri kısmen sindirilmiş ve balmumu ile karıştırılmış, baldan sonra insanlar tarafından bilinirliği en yüksek olan, bir arı ürünüdür. Arılar, propolisi, kovadaki bulunan çatlakları kapatmak ve kovayı ışığa, neme, istilacılara ve dış etkenlere karşı korumak, yuvanın iç duvarını pürüzsüzleştirmek, kovan içinde açıkta kaldığında zararlı olabilecek ölü böcek gibi yabancı maddeleri kaplamak, kovanın iç ortamını dezenfekte etmek ve iç sıcaklığını ayarlamak için kullanmaktadır (Abbasi, Mohammadi, Bayat, Gema, Ghadirian, Seifi ve Bahrami, 2018; Bakkaloğlu ve Arıcı, 2019).

Çin kitabelerinde ve eski Mısır papirüslerinde, milattan önce ve sonraki dönemlerde hastalıkların tedavisinde arı ürünlerinin kullanıldığına dair ifadeler bulunmaktadır. Arı ürünleri günümüzde de çeşitli hastalıkların tedavisinde yer almaktadır. Bu tedavi şekli 'Apiterapi' olarak adlandırılmaktadır. Apiterapi tedavisinde yer alan propolisin kalp hastalıkları, diyabet, kanser ve enflamasyon faktörleri üzerine etkili olduğu bildirilmektedir (Ulusoy, 2012; Bakkaloğlu ve Arıcı, 2019). Bunun dışında, periodontal enfeksiyonların tedavisinde kullanılabilmekte, diş macunları ve gargaralarda çözeltiler şeklinde kullanılmasının yanında, yüz kremleri, merhemler, losyonlar gibi farmasötik ve kozmetik ürünlerin içeriğine de katılabilmektedir. Son zamanlarda propolis ekstraktları bulunan katkı maddelerinin yiyecek ve içeceklerin içeriğinde kullanılmasıyla piyasada da sıklıkla rastladığımız bir ürün haline gelmiştir (Bakkaloğlu ve Arıcı, 2019).

Propolisin kimyasal bileşenleri toplandığı habitattaki yerel floraya bağlı olarak çeşitlilik göstermektedir. Propolisin içeriğinin temel kaynağı bitkiler, arının metabolizmasından salgılanan maddeler ve propolis oluşumu sırasında ortaya çıkan bileşenler tarafından belirlenmektedir. Propolis; reçine ve balzamlar (%50-70), balmumu (%30-50), polenler (%5-10), amino asitler, mineraller, A, B ve E vitaminleri, fenoller ve aromatik bileşiklerden oluşmaktadır. Karbonhidrat yüzdesi, propolisin çeşidine göre farklılık göstermektedir (Bankova, de Castro ve Marcucci, 2000; Abbasi ve diğerleri, 2018).

Flavonoidler, propolisin reçineli kısmının aktif bileşenleridir ve reçineli kısmın büyük bir bölümünü oluşturmaktadır. Propolisin; antioksidatif, antibakteriyel, antiviral, antifungal, antikaryojenik ve antiinflamatuvar özelliklerinden flavonoidler sorumludur (Velazquez, Navarro, Acosta, Angulo, Dominguez, Robles ve Astiazaran, 2007). En fazla dikkat çeken etkilerinin başında antibakteriyel özelliği gelmektedir. Bunun sebebi propolisin kovanda dezenfeksiyon sağlama görevidir. Türkiye’de kavak tipi propolis en yaygın görülen türüdür. Kavak tipi propoliste, antibakteriyel etkiden sorumlu bileşenlerin; flavononlar, flavonlar, fenolik asitler ve esterleri olduğu bildirilmiştir (Takaisi-Kikuni ve Schilcher, 1994; Ünal, Öztürk, Selçuk ve Oruç, 2020).

Propolisin antibakteriyel etkinliği, bakterilerin çoğalmasını inhibe etmesi, protein sentezini inhibe etmesi ve mikroorganizmaların hücre duvarını parçalaması ile açıklanmaktadır. Propolisin özellikle etanol ekstraktının, gram pozitif ve negatif etkinliği olduğu rapor edilmiştir (Ünal ve diğerleri, 2020). Yapılan bir çalışmada, propolisin kanal içine ekilen *E. faecalis*’e olan antibakteriyel etkinliği kalsiyum hidroksit kadar etkili bulunmuştur. Aynı çalışmanın sonucunda klorheksidin kadar olmasa da propolisin kanal içi irrigasyon solüsyonu olarak kullanımının umut vaad edebileceği rapor edilmiştir (Kayaoglu, Ömürlü, Akca, Gürel, Gençay, Sorkun ve Salih, 2011). Antibakteriyel aktivitesi, özellikle *S. aureus* gibi gram pozitif bakterilere ve *Salmonella* gibi gram negatif bakterilere karşı etkili bulunmuştur. Yapılan in vivo ve in vitro çalışma, propolisin, *S. mutans* ve *S. sobrinus*’un glikosiltransferaz enziminin aktivitesinin inhibe edebildiğini göstermiştir. Propolisin, çözünemeyen glikan sentezini uyardığı ve glikosiltransferaz enziminin aktivitesini engellediği bildirilmiştir (Ikeno, Ikeno ve Miyazawa, 1991; Koru, Toksoy, Acikel, Tunca, Baysallar, Guclu ve Salih, 2007).

L. acidophilus, *A. naeslundii*, *P. oralis*, *P. melaninogenica*, *P. gingivalis*, *Fusobacterium* ve *V. parvula* gibi anaerobik oral patojenlere olan antibakteriyel etkinliğini inceleyen araştırmacılar, bileşimindeki kafeik asit gibi aromatik bileşikler ve flavonoidler sayesinde, bu bakterilere olan antibakteriyel etkisinin varlığını kanıtlamışlardır (Kujumgiev, Tsvetkova, Serkedjieva, Bankova, Christov ve Popov, 1999). Propolisin antiinflamatuvar etkinliğini ise lipoksijenaz enzimini inhibe edebilmesi sayesinde prostaglandin üretimini engelleyerek sağladığı rapor edilmiştir. Bunun dışında interferon ve antikör üretimini arttırdığı bildirilmektedir. Antiinflamatuvar ve analjezik özellikleri aspirininkine benzer bulunmuştur, ancak daha az yan etkiye sahiptir (Abbasi ve diğerleri, 2018).

Propolisin, %70'lik alkolde seyreltik halinin antibiyotikler ile kombine kullanımı sonucu bu ilaçların etkisini arttırdığını, anestezi, antioksidatif etki gösterdiği de rapor edilmiştir. Amoksisilin ve sefaleksine gibi bakteri hücre duvarına etki eden antibiyotiklere karşı gelişen direnci azalttığı, kloramfenikol, tetrasiklin ve neomisin gibi ribozomlar üzerine etkili antibiyotiklerin ise etkinliklerini arttırdığını bildiren çalışmalar bulunmaktadır. Antibiyotik dirençli *Stafilokoklar*'da da bu direnci kırdıkları gözlenmiştir (Orsi, Sforcin, Funari, Fernandes Junior ve Bankova, 2006; Tlak Gajger, Pavlović, Bojić ve Kosalec, 2017; Ünal ve diğerleri, 2020).

Propolis, ağız sağlığı ve diş hekimliği adına da önemli bir doğal üründür. Epitelizasyon hızını arttırması ve yara yerinin hızla iyileştirebilmesi sebebi ile oral cerrahi müdahalelerden sonra kullanımı önerilmiştir. Dental travmalardan biri olan avülsiyon sonrası dişin saklama ortamı olarak %10'luk propolis çözeltisinin iyi bir alternatif olabileceği bildirilmiştir. Pulpanın kaplanması da pulpa iltihabını azaltmakta ve onarıcı dentin oluşumunu arttırmakta propolis başarılı bulunmuştur (Sabir ve diğerleri, 2005; Özcan, Polat, Er, Özcan ve Değer, 2007; McLennan, Bonner, Milne, Lo, Charlton, Kurup ve Twigg, 2008). Kök kanal irrigasyon solüsyonu olarak kullanıldığı bir çalışmada antimikrobiyal etkinliğinin sodyum hipoklorite benzer olduğu rapor edilmiştir. *E. fecalis*'e karşı olan etkinliği de propolisin intrakanal irrigasyon solüsyonu olarak kullanımını teşvik edicidir (Awawdeh, AL-Beitawi ve Hammad, 2009; Tyagi, Sinha, Garg, Singh, Mishra ve Nagpal, 2013).

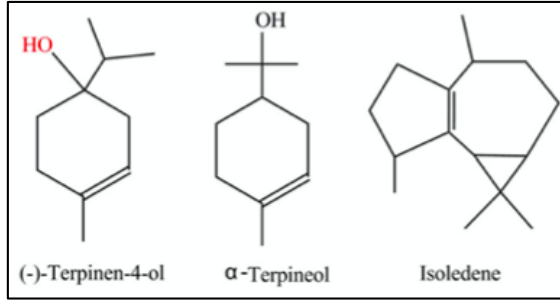
Bunların dışında, ağız çalkalama suyu olarak %1, %2,5, %5, %10 konsantrasyonlarda kullanılan propolisin etkinliği %2'lik klorheksidin ile karşılaştırıldığında bakteriler üzerinde daha etkili, gingival fibroblastlar üzerinde ise daha az toksik olduğu rapor edilmiştir (Özcan ve diğerleri, 2007). Propolis hem direkt *S. mutans*, *S. salivarius* ve *Laktobasil* gibi karyojenik bakteriler üzerine etki ederek hem de glikozil transferaz enzimini inhibe ederek çürük önleyici etkisi ile de dikkat çekmektedir. Oral stomatitlerin ve aftların tedavisi için de etkili olduğu bildirilmiştir (Hayacibara ve diğerleri, 2005). Gavanji ve Larki (2017) yaptıkları bir çalışmada propolisin alkol çözeltisinin *C. albicans*'ın sayısını azalttığı ve oral candidal enfeksiyonların elimine edilmesinde kullanılabileceği rapor etmiştir. Bu etkilerinin dışında propolis, dental hipersensitivitenin giderilmesi için de kullanılmış, elektron mikroskobu altında yapılan inceleme sonucu

dentin tübüllerini etkili bir şekilde kapattığı gözlemlenmiştir (Kripal, Chandrasekaran, Chandrasekaran, Kumar, Chavan ve Dileep, 2019).

2.4.7. Çay ağacı yağı

Genellikle çay ağacı olarak tanınan *Melaleuca alternifolia*, Myrtaceae mersin ailesindeki bir ağaç veya uzun çalı türüdür. Bu cinse ait yaklaşık 230 tür bulunmaktadır. Çay ağacı yağı ile ilgili yapılan ilk çalışmalar 19. yüzyılın sonlarına kadar dayanmaktadır ve bu çalışmalarda kandidiyazis tedavisine bir çare olarak bahsedilmektedir. İlk kez aborjinler tarafından kullanılan çay ağacı yağı, “doğanın en fazla yönlü şifacısı” olarak tanımlanmıştır. Yerli halk, ezilmiş yapraklarından elde edilen esansiyel yağları soluyarak öksürük ve soğuk algınlığının, cilt hastalıklarının ve yaralarının ise üzerine sürerek tedavilerini sağlamaktadır (Salvatori ve diğerleri, 2017; Puvača, Čabarkapa, Bursić, Petrović ve Acimović, 2018). Günümüzde, çay ağacı yağının (TTO), antibakteriyel, antifungal, antiviral ve antiprotozoal aktiviteler ile geniş spektrumlu antimikrobiyal bir doğal ürün olması nedeni ile, Avustralya, Avrupa ve Kuzey Amerika'da, deri enfeksiyonların tedavisinde, el dezenfektanlarının içeriğinde, şampuanlarda ve topikal preparatlarda etkin doğal ürün olarak sıklıkla kullanıldığı bildirilmiştir (Brun, Bernabè, Filippini ve Piovan, 2019).

Melaleuca alternifolia ağacının tıp alanında kullanılan kısmı, 1-2,5 cm uzunluğundaki yaprakları, “Tea tree oil (TTO)” olarak bilinen değerli esansiyel yağın asıl kaynağıdır. Bitkinin soluk sarı renkli uçucu yağı fenolden daha etkili bir topikal antiseptik olarak 1920'li yıllarda ilk kez rapor edilmiştir (Demir, 2019). Çay ağacı yağının içeriğinin yaklaşık %50'si oksijen bağlı ve kalan %50'si ise hidrokarbon olan siklik monoterpenlerden oluşmaktadır ve bu yapı yağa geniş spektrumlu antimikrobiyal özellik kazandırmaktadır. Bu doğal ürüne antimikrobiyal etkinlik kazandıran üç bileşen; 1,8-sineole, terpinen-4-ol ve α -terpilenol'dür (Şekil 2.7) (Li, Li, Shi, Sun, Xie, Song ve Huang, 2016; Puvača ve diğerleri, 2018). Çay ağacı yağının ana bileşeni terpinen-4-ol antimikrobiyal etkisinden sorumludur. Terpinen-4-ol'ün dezenfeksiyon ve anti-korozif etkilere sahip olduğu, 1,8-sineolün *E. coli*'nin hücre zarını bozduğu, α -terpilenolün ise *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *Herpes Simplex*, *C. albicans* gibi patojenlere karşı yok edici etkiye sahip olduğu bildirilmektedir (Şekil 2.8) (Demir, 2019).



Şekil 2.7. Terpinen-4-ol, α -Terpineol ve Isoledene kimyasal yapı formülü (Li ve diğerleri, 2016)

İçerik	İçerik yüzdeleri	
Terpinen-4-ol	31,11	γ -
Terpinen	25,30	α -
Terpinen	12,70	1,8-
Sineol	6,83	ρ -
Simen	4,23	Terpinolen
4,03 Limonen		2,50
α -Terpineol		2,35
Aromadendrene	1,75	δ -
Kadinin	1,41	Sabinen
0,28 Globulol		0,24
Viridiflorol	0,14	Total
92,8		

Şekil 2.8. Çay ağacı yağı içeriği ve içerik yüzdeleri (Demir, 2019)

Çay ağacı yağının aynı zamanda antiinflamatuvar etkileri de bulunmaktadır. Suda çözünebilen bileşenlerinin, Tümör Nekroz Faktörü (TNF), interlökin-1 (IL-1), IL-10 ve prostaglandin E2 gibi enflamatuar mediyatörlerce aktive edilen lipopolisakarit üretimini inhibe edebildiği böylece oral dokuların iltihaplanmasında azalmayı sağladığı ve daha az plak birikiminin oluştuğunu, bu etkisini, oral patojenlerin adezyonunu engelleyerek gerçekleştirdiği düşünülmektedir, böylece çay ağacı yağının gingivitis, oral kandidiyazis ve halitozis gibi problemlerin çözümünde etkili olabildiği rapor edilmiştir (Salvatori ve diğerleri, 2017). Çay ağacı yağının tüm bu etkilerinin yanında bir başka önemli etkisi ise kanser hücrelerinin büyümesini engelleyerek antitümöral aktivite göstermesidir. Ana bileşeni terpinen-4-ol'ün, ilaca duyarlı ve ilaca dirençli tümör hücrelerinin migrasyon ve invazyonunu bozduğu bildirilmiştir (Yadav, Kumar, Mahant, Khatkar ve Rao, 2017).

2.4.8. Kızılçam kabuğu ekstraktı

Çam, yaprak dökmeyen, iğne yapraklı, reçineli, uzun ömürlü ve çoğunlukla tek yapraklı bir ağaçtır. Özellikle, dünyanın kuzey yarım küresine özgü bitkilerdir. Bir çam türü olan *Pinus brutia* (Kızılçam) ülkemizde Akdeniz, Ege ve Karadeniz bölgelerinde yetişmektedir. Kızılçam kabuğu Türkiye’de kereste üretiminde kullanılmaktadır. Kereste üretiminden sonra açığa çıkan ağaç kalıntıları sıklıkla kullanılmadığı için atık malzemenin değerlendirilmesi anlamında büyük bir potansiyele sahiptir (Avinc, Celik, Gedik ve Yavas, 2013; Kıvrak, Kıvrak, Harmandar ve Cetintas, 2013; Venkatesan, Choi ve Kim, 2019).

Demirtaş (2020) ’ın çalışmasında ve tez çalışmamızda kullanılan *P. brutia* kabuğu ekstraktı Kale Naturel Bitkisel Ürünler Ltd. Şti. tarafından üretilmiştir. Üreticinin belirttiğine göre, kabuk numuneleri hava ile kurutulmuş, öğütülmüş ve elenmiştir. Daha sonra 55 ° C 'de 6 saat süreyle 1/10 (katı/sıvı) oranında damıtılmış su ile ekstrakte edilmiş ve homojen sıvı oluşana dek süzölmüştür. Ekstrakt, döner vakumlu bir buharlaştırıcıda %20 lik katı konsantrasyonuna konsantre edilerek ve bir püskürtmeli kurutucu ile kurutularak elde edilmiştir.

Fenolik bileşik içeriği yüksek doğal ürünlerin düzenli kullanımının oksidatif stresin neden olduğu hastalıkların gelişme riskini azaltabileceğine dair güçlü bir inanç vardır. Bu yüzden, gıda ve ilaç endüstrilerinde kullanılması adına fenolik içeriği zengin, yeni ve güvenli bitki kaynaklarının bulunmasına yönelik ilgi son zamanlarda artmıştır. Kızılçam kabuğu içeriğinde antimikrobiyal fenolik bileşikler ve tanenlerin monomerleri olan flavonoidler gibi polifenolikler ve fenolik asitler bulundurmaktadır (Çizelge 2.2) (Pourreza, 2013; Kıvrak ve diğerleri, 2013; Ucar, Ucar, Pizzi ve Gonultas, 2013; Venkatesan ve diğerleri, 2019).

Birçok fenolik bileşiğin antioksidan görevi gördüğü bilinmektedir. Fenolik bileşikler, serbest radikallerle doğrudan reaksiyona girerek ve daha az reaktif radikal türü üreterek veya serbest radikal zincir reaksiyonunu sonlandırarak antioksidan aktivitelerini gerçekleştirmektedir. Bakteriyel membranın geçirgenliğini artıran polifenolik bileşikler, aynı zamanda hücre yüzey yüklerini azaltır, böylece hücre zarı yırtılır veya üzerinde gözenekler oluşur. Bunun sonucunda bakterilerin hücre içi

bileşenleri dışarıya sızar, böylece antibakteriyel etkinliklerini gerçekleştirirler (Bernal-Mercado, Vazquez-Armenta, Tapia-Rodriguez, Islas-Osuna, Mata-Haro, Gonzalez-Aguilar ve Ayala-Zavala, 2018; Venkatesan ve diğerleri, 2019). Kateşin ise bu etkilere ek olarak bakteriyel büyümede rol alan enzimatik kofaktörleri şelatlayabilmektedir. *P. brutia*'nın kabuğundan elde edilen ekstraktların, çeşitli bakteri ve mantar türleri üzerinde antimikrobiyal etkinliği olduğu bildirilmiştir (Lagha, Haas ve Grenier, 2017).

Çizelge 2.2. Kızılçam kabuğunun antimikrobiyal fenolik bileşenleri (Demirtaş, 2020)

Fenolik Bileşenler	µg/g
Gallik asit	2.2
Protokateşik asit	1.4
Kateşin	6.4
P-hidroksi benzoik asit	0.9
Kafeik asit	1.2
Epikateşin	5.8
Vanilin	0.4
P-kumarik asit	0.2
Ferulik asit	0.2
Kuersetin	17.7
Luteolin	0.2
Kaempferol	0.2
Apigenin	0.3

2.5. Antimikrobiyal Aktivite Düzeyini Saptama Yöntemleri ve Antimikrobiyal Duyarlılık Testleri

Spesifik mikroorganizmaların tespitinde birden fazla antimikrobiyal aktivite testi kullanılmaktadır. Bunların başında Agar Dilüsyon, Broth Mikrodilüsyon, Antimikrobiyal Gradyent Yöntemi ya da diğer adı ile Epsilometre test (E-test) ve Disk Difüzyon testleri gelmektedir (Luangtongkum, Morishita, El-Tayeb, Ison ve Zhang, 2007).

2.5.1. Disk difüzyon testi

Disk difüzyon testi, kullanımı oldukça basit, pahalı olmayan ve uygun standartlarda test yapıldığında başarılı sonuçlar alınan bir test yöntemidir (Potz, Mushtaq Johnson, Henwood, Walker, Varey ve Livermore, 2004). *Campylobacter* gibi bağırsak florasında ağır tahribata yol açan bir mikroorganizmanın tespitinde iki test uygulamalı olarak karşılaştırılmıştır. Yapılan araştırmanın sonucunda, disk difüzyon

metodunun termofilik *Campylobacter* mikroorganizmasının da antimikrobiyal aktivite tespitinde alternatif olarak güvenilir bir uygulama olduğu önemle vurgulanmıştır (Luangtongkum ve diğerleri, 2007).

Disk difüzyon testinin uygulanışında steril pamuk uçlu eküvyon çubuğu deney için kullanılacak mikroorganizmaya göre özel olarak hazırlanmış agarlara transfer için kullanılmaktadır. Transfer başarıyla gerçekleştikten sonra agarlar kurumaya bırakılır ve antibiyotik diskleri BBL Sensi-disk dağıtıcı (BBL Becton Dickinson Microbiology Systems, Cockeysville, MD) yardımıyla inoküle edilmiş agarların üzerine konur. Uygun inkübasyon süresi, oksijen, karbondioksit ve azot oranları ve sıcaklık kullanılacak mikroorganizmaya göre ayarlanır. Agar dilüsyon yönteminde ise; uygun konsantrasyondaki süspansiyon ve değişik antibiyotik konsantrasyonları içeren agarlar hazırlanır. Solüsyonların kullanılacak gün hazırlanması özellikle tavsiye edilir ve inokülasyonlar her plakada gerçekleştirilir (Glupczynski, Broutet, Cantagrel, Andersen, Alarcon, Lopez-Brea ve Megraud, 2002).

2.5.2. Kuyucuk difüzyon testi

Kuyucuk difüzyon testi, antimikrobiyal olduğu düşünülen ürünlerin etkinliğini değerlendirmek için sıklıkla kullanılan bir diğer yöntemdir. Disk difüzyon yönteminde olduğu gibi mikroorganizma agar besiyeri üzerine yayılır. Daha sonra besiyeri üzerinde 6 veya 8 mm çapında kuyucuklar steril bir şekilde açılır (Balouiri, Sadiki ve Ibensouda, 2016). Agar kuyucuk difüzyon yönteminde besiyeri kalınlığı ile ilgili herhangi bir standardizasyon bulunmamaktadır. Bununla birlikte, agar kalınlığı arttıkça inhibisyon zonunun arttığı bildirilmiştir. Besiyeri kalınlığı ne olursa olsun disk difüzyon yöntemi ile kuyucuk difüzyon yöntemi arasındaki uyumun yalnızca kuyucuk çapının 8 mm olması durumunda uyumlu olduğu gözlenmiştir (Aytar, Oryaşın, Başbülbul ve Bozdoğan, 2019). Kuyucuklar açıldıktan sonra, istenen konsantrasyon ve hacimde (20-100 mL) antimikrobiyal etkinliği değerlendirilen ürünler mikropipet yardımı ile kuyucuklara aktarılır ve agar plakaları mikroorganizmaya uygun koşullarda ve zamanda etüvlerde inkübe edilir. İnkübasyon tamamlandıktan sonra kuyucuklar etrafında oluşan inhibisyon zonu çapı, antimikrobiyal ajanın agar ortamında yayılması ve bakteriyel suşun büyümesini engellemesini ifade eder. Böylece ürünün antimikrobiyal etkinliği test edilmiş olur (Balouiri, Sadiki ve Ibensouda, 2016).

2.5.3. Antimikrobiyal gradyent yöntemi

Antimikrobiyal gradyent yöntemi, mikroorganizmaların minimum inhibisyon konsantrasyonlarının (MİK) saptanmasında kullanılmaktadır. Kullanılacak mikroorganizma gereken agar üzerine inoküle edilir. Agar ilk önce oda sıcaklığında kuruması için bekletilir ve akabinde E-test şeritleri agar üzerine eklenir. E-test agar üzerinde eliptik şekilde oluşan zone alanlarına göre okunur ve tespit edilir (Citron, Ostovari, Karlsson ve Goldstein, 1991; Szekely, Johnson ve Warnock, 1999).

2.5.4. Dilüsyon testi

Dilüsyon testleri sıvı ve agar dilüsyon testleri olmak üzere ikiye ayrılmaktadır ve kullanılan antimikrobiyal ajanın en düşük konsantrasyonunun belirlenmesinde kullanılmaktadır. Minimum inhibisyon konsantrasyonu (MİK); bakterilerin ilaç ve antibiyotik dirençlerini belirlemek ve yeni antimikrobiyal ajanların aktivitelerini değerlendirmek için kullanılır (Andrews, 2001).

Sıvı dilüsyon yöntemi

Eşit miktarda antibiyotik ve sıvı besi yeri içeren plak içine, farklı konsantrasyonlardaki antimikrobiyal maddenin inoküle edilmesi prensibine dayanır. 96 lı yuvarlak ya da kuyu tabanlı mikrodilüsyon plakları genelde tercih edilmektedir. İnokülasyondan sonra uygun koşullarda büyütülen plaklardan MİK değeri okunmaktadır (Andrews, 2001).

Agar dilüsyon yöntemi

Antimikrobiyal ajanı agarın içinde dilüe ederek yapılan bir testtir. Tüp dilüsyon yönteminde buyyon yerine agar kullanılmasından ibarettir (Aydın ve Mısırlıgil, 2012). Son yıllarda çokça kullanılmakta olan agar dilüsyon yöntemi oldukça güvenilir ve uygulanabilirliği kolay olmasına rağmen, çok fazla iş gücü gerektirmesi ve pahalı bir uygulama olması sebebiyle yerini disk difüzyon testine bırakmıştır (Caprioli, Busani, Martel ve Helmuth, 2000).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Sunulan tez çalışması Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda gerçekleştirildi. Çalışmada kullanılan doğal kaynaklı ürünler; taş suyu (Kale Natural, Balıkesir, Türkiye), çam terebentin esansı (Ali Ünyazıcı, Ankara, Türkiye), zeytin yaprağı ekstraktı (Kale Natural, Balıkesir, Türkiye), üzüm çekirdeği yağı (Ali Ünyazıcı, Ankara, Türkiye), Hindistan cevizi yağı (Ali Ünyazıcı, Ankara, Türkiye), propolis (Bee'o Up, İstanbul, Türkiye), çay ağacı yağı (Ali Ünyazıcı, Ankara, Türkiye), çam kabuğu ekstraktı (Kale Natural, Balıkesir, Türkiye), klorheksidin (Drogsan, Ankara, Türkiye), gliserol ve distile su olarak seçildi. Kullanılan doğal ürünlerin, *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*, ATCC#29212), *Streptococcus mutans* (*S. mutans* ATCC#25175), *Lactobacillus acidophylus* (*L. acidophylus* ATCC#4356) ve *Candida albicans* (*C. albicans* ATCC#10231) oral patojenleri üzerindeki antimikrobiyal etkinlikleri değerlendirildi. Değerlendirme için disk difüzyon ve kuyucuk difüzyon yöntemleri üçer kez tekrarlandı. Etkin bulunan doğal kaynaklı ürünlerin minimum inhibitör konsantrasyon (MİK), minimum bakterisidal konsantrasyon (MBK) ve minimum fungisidal konsantrasyon (MFK) değerlerinin bulunabilmesi için mikrodilüsyon testi kullanıldı.

3.1. Doğal Kaynaklı Ürünler

3.1.1. Taş suyu

Firma: Kale Natural Bitkisel Ürün Gıda Kozm. ve Tarım Ürünleri Ltd. Şti.

Menşei: Balıkesir, Türkiye

İçerik: Magnezyum (Mg), Kalsiyum (Ca), Sodyum (Na) ve Karbonat (CO₃)

Üretim şekli: Karbonat içeriği yüksek taşların yıkanması, kurutulması, öğütülmesi ve elenmesi ile elde edilen taşlara asit uygulandıktan sonra 3000 °C'de vakum altında ezilerek ve oluşan taş tozları birkaç saat suya maruz bırakılarak elde edilmiştir.

Taş suyunun görseli Resim 3.1'de yer almaktadır.



Resim 3.1. Taş Suyu

3.1.2. Çam terebentin esansı

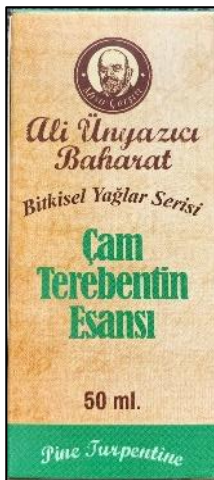
Firma: Ali Ünyazıcı Baharat - Mısır Çarşısı Baharat İthalat İhracat Tic. Ltd. Şti.

Menşei: Ankara, Türkiye

İçerik: %100 Çam Terebentin Esansı

Üretim şekli: Distilasyon yöntemi ile damıtılarak elde edilmiştir.

Çam terebentin esansı görseli Resim 3.2’de yer almaktadır.



Resim 3.2. Çam terebentin esansı

3.1.3. Zeytin yaprağı ekstraktı

Firma: Kale Natural Bitkisel Ürün Gıda Kozm. ve Tarım Ürünleri Ltd. Şti.

Menşei: Balıkesir, Türkiye

İçerik: %50 Zeytin Yaprağı Ekstraktı, %50 Gliserol

Üretim şekli: %50 Gliserol çözeltisi ile ekstrakte edilmiştir.

Zeytin yaprağı ekstraktı Resim 3.3'te gösterilmiştir.



Resim 3.3. Zeytin yaprağı ekstraktı

3.1.4. Üzüm çekirdeği yağı

Firma: Ali Ünyazıcı Baharat – Mısır Çarşısı Baharat İthalat İhracat Tic. Ltd. Şti.

Menşei: Ankara, Türkiye

İçerik: %100 Üzüm Çekirdeği Yağı

Üretim şekli: Soğuk pres yöntemi ile elde edilmiştir.

Üzüm çekirdeği yağının görseli Resim 3.4'te yer almaktadır.



Resim 3.4. Üzüm çekirdeği yağı

3.1.5. Hindistan cevizi yağı

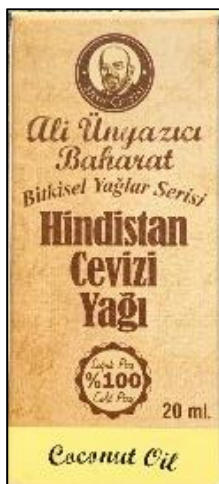
Firma: Ali Ünyazıcı Baharat – Mısır Çarşısı Baharat İthalat İhracat Tic. Ltd. Şti.

Menşei: Ankara, Türkiye

İçerik: %100 Hindistan Cevizi Yağı

Üretim şekli: Soğuk pres yöntemi ile elde edilmiştir.

Hindistan cevizi yağı görseli Resim 3.5'te yer almaktadır.



Resim 3.5. Hindistan cevizi yağı

3.1.6. Propolis

Firma: Bee'O Up SBS Bilimsel Bio Çözümler San. ve Tic. A.S.

Menşei: İstanbul, Türkiye

İçerik: %30 Saf Anadolu Propolisi, %70 gliserol ve su

Üretim şekli: %70 gliserol ve distile su karışımı ile ekstrakte edilmiştir.

Propolis görseli Resim 3.6'da yer almaktadır.



Resim 3.6. Propolis

3.1.7. Çay ağacı yağı

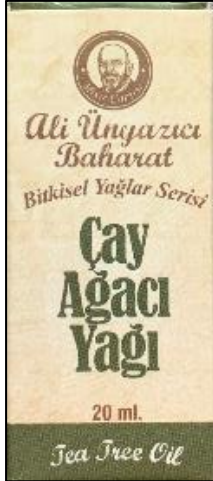
Firma: Ali Ünyazıcı Baharat – Mısır Çarşısı Baharat İthalat İhracat Tic. Ltd. Şti.

Menşei: Ankara, Türkiye

İçerik: %100 Çay ağacı yağı

Üretim şekli: Distilasyon yöntemi ile 300 °C derecede kaynatılıp damıtılmıştır.

Çay ağacı yağı görseli Resim 3.7'de yer almaktadır.



Resim 3.7. Çay ağacı yağı

3.1.8. Kızılçam kabuğu ekstaktı

Firma: Kale Natural Bitkisel Ürün Gıda Kozm. ve Tarım Ürünleri Ltd. Şti.

Menşei: Balıkesir, Türkiye

İçerik: %50 Kızılçam kabuğu ekstaktı, %50 Gliserol

Üretim şekli: %50 Gliserol çözeltisi ile ekstrakte edilmiştir.

Kızılçam kabuğu ekstaktı görseli Resim 3.8’de yer almaktadır.



Resim 3.8. Kızılçam kabuğu ekstaktı

3.2. Mikroorganizmalar

Doğal kaynaklı ürünlerin antimikrobiyal etkinliklerinin değerlendirilmesi için çalışmamızda *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*, ATCC#29212), *Streptococcus mutans* (*S. mutans* ATCC#25175), *Lactobacillus acidophylus* (*L. acidophylus* ATCC#4356) ve *Candida albicans* (*C. albicans* ATCC#10231) mikroorganizmaları kullanıldı.

3.2.1. Bakteri süspansiyonlarının hazırlanması

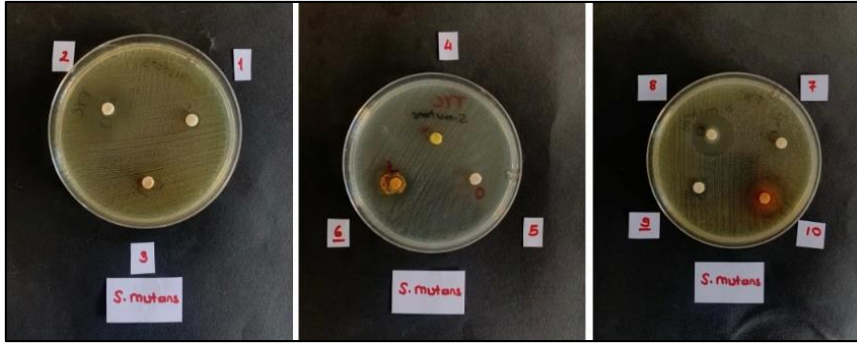
Bakteri süspansiyonu yoğunluğu 0.5 McFarland standardına göre $1,5 \times 10^8$ CFU (koloni oluşturu birim)/ml olarak ayarlandı ve spektrofotometrik olarak da yoğunluğu 450nm dalga boyunda ölçüldü (OD:0,600nm).

3.3. Antimikrobiyal Etkinlik Testleri

3.3.1. Disk difüzyon yöntemi

Süspansiyon halindeki mikroorganizmalar *E. faecalis*, Mueller-Hinton agar (MHA, Merck KGaA, Darmstadt, Germany), *S. mutans* triptik soy agar (TSA, Merck KGaA, Darmstadt, Germany), *L. acidophylus* MRS broth (Merck, Almanya) *C. albicans* Sabouraud dekstroz agar (SDA, Merck KGaA, Darmstadt, Almanya) üzerine steril eküvyonlar kullanılarak, yukarıda bahsedilen besi yerleri içeren petri kaplarına yayıldı.

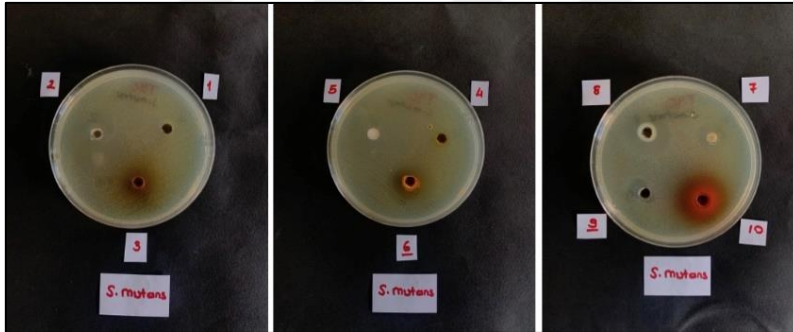
Agar disk difüzyon yöntemi için, taş suyu (Kale Natural, Balıkesir, Türkiye), çam terebentin esansı (Ali Ünyazıcı, Ankara, Türkiye), zeytin yaprağı ekstraktı (Kale Natural, Balıkesir, Türkiye), üzüm çekirdeği yağı (Ali Ünyazıcı, Ankara, Türkiye), Hindistan cevizi yağı (Ali Ünyazıcı, Ankara, Türkiye), propolis (Bee'o Up, İstanbul, Türkiye), çay ağacı yağı (Ali Ünyazıcı, Ankara, Türkiye), çam kabuğu ekstraktı (Kale Natural, Balıkesir, Türkiye) doğal ürünleri, kontrol için CHX, gliserol ve distile su 25 µl olacak şekilde, 6 mm çapındaki steril filtre kağıt diskler üzerine mikropipet ile inoküle edilmiş agar yüzeyine ayrı ayrı yerleştirildi (Resim 3.9).



Resim 3.9. Doğal ürünlerin disk difüzyon yöntemi ile *S. mutans* üzerindeki antimikrobiyal etkinliklerinin değerlendirilmesi

3.3.2. Kuyucuk difüzyon yöntemi

Agar kuyucuk difüzyon yöntemi için, aynı doğal ürünler ve kontrol solüsyonları, 50 µl olacak şekilde, inoküle edilmiş agar yüzeyinde oluşturulan 6 mm çapa sahip kuyucuklara konuldu. Negatif kontrol olarak zeytin yaprağı, propolis ve çam kabuğu ekstraktlarının çözücüsü olan gliserol kullanılmıştır. %2'lik CHX ve distile su da kontrol olarak aynı uygulamalara tabi tutuldu (Resim 3.10).

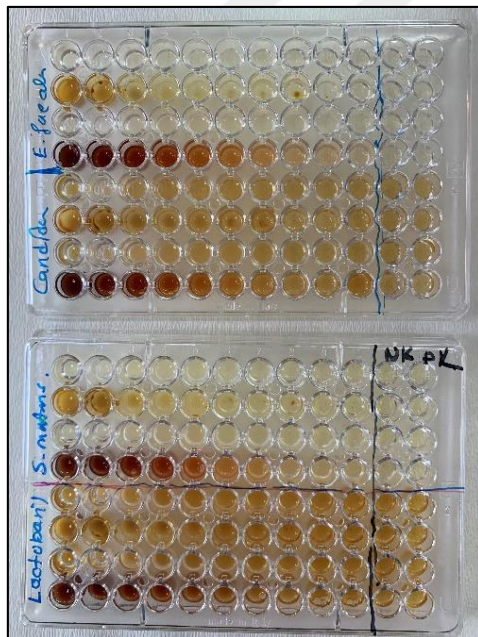


Resim 3.10. Doğal ürünlerin kuyucuk difüzyon yöntemi ile *S. mutans* üzerindeki antimikrobiyal etkinliklerinin değerlendirilmesi

Her iki yöntem de üçer kez tekrarlandı. *E. faecalis* ve *C. albicans* içeren petri kapları 37°C'de etüvde 24 saat süreyle, *S. mutans* ve *L. acidophylus* ise 37°C'de %5'lik CO₂ inkübatöründe 24-48 saat süreyle inkübasyonuna bırakıldı. Disk ve kuyucukların etrafındaki inhibisyon bölgesinin çapı, petri plaklarının 37°C'de 24 saat inkübasyonundan sonra ölçüldü ve değerler milimetre cinsinden kaydedildi. Daha sonra petri kapları 48-72 saat süreyle de ölçülerek inhibisyon çaplarında herhangi bir değişiklik olup olmadığı tekrar kontrol edildi. Deney 3 kez tekrarlanarak, ortalama ve standart sapma değerleri hesaplandı.

3.3.3. Sıvı mikrodilüsyon yöntemi

Bu yöntem maddelerin seçilen mikrorganizmalar üzerinde antimikrobiyal etkileri için minimum inhibitör konsantrasyon (MİK), minimum bakterisidal konsantrasyon (MBK) ve *Candida* için minimum fungisidal konsantrasyonun (MFK) belirlenmesi amacıyla uygulanmaktadır. Çalışmamızda taş suyu (Kale Natural, Balıkesir, Türkiye), çam terebentin esansı (Ali Ünyazıcı, Ankara, Türkiye), zeytin yaprağı ekstraktı (Kale Natural, Balıkesir, Türkiye), üzüm çekirdeği yağı (Ali Ünyazıcı, Ankara, Türkiye), Hindistan cevizi yağı (Ali Ünyazıcı, Ankara, Türkiye), propolis (Bee'o Up, İstanbul, Türkiye), çay ağacı yağı (Ali Ünyazıcı, Ankara, Türkiye), çam kabuğu ekstraktı (Kale Natural, Balıkesir, Türkiye) doğal ürünleri, %2'lik CHX ve distile su solüsyonlarının MİK ve MBK/MFK değerlerinin tespiti için, 96 kuyucuklu "U" tabanlı polisitren mikropiplaklardaki kuyucuklarda 1/2 oranında seri dilüsyon yöntemi kullanılmış ve seçilen mikroorganizmaların hazırlanan süspansiyonlarının MİK ve MBK/MFK değerleri belirlenmiştir (Resim 3.11).



Resim 3.11. MİK, MBK/MFK değerlerinin mikrodilüsyon yöntemi ile değerlendirilmesi

E. faecalis'in Mueller-Hinton Broth besiyeri (MHB, Merck KGaA, Darmstadt, Germany), *C. albicans* suşunun Sabourraud Dextroz Broth besiyeri (SDB, Merck KGaA, Darmstadt, Germany), *S. mutans*'in Brain Heart Infusion broth besiyeri (Merck KGaA, Darmstadt, Germany) ve *L. acidophilus* suşunun MRS broth besiyeri

içinde ½ oranında seri dilüsyonları gerçekleştirildi. Bu seri dilüsyon işlemindeki çam terebentin esansiyel yağının konsantrasyon aralığı 100-0,39 µg/ml, propolis ekstraktının 30-0,11 µg/ml, çay ağacı yağının 100-0,39 µg/ml, çam kabuğu ekstraktının ise 50-0,19 µg/ml olarak seçildi. Sonrasında her kuyucuğa 100 µl bakteri süspansiyonu ilave edildi. Kontrol grupları olarak ise kuyucuklara bakteri süspansiyonu konuldu. Aynı işlemler CHX ve distile su için de tekrar edildi. Bakteriler üreme koşullarına göre inkübasyona bırakılarak sonuçlar mikrodilüsyon yapılan plaklardaki tüm kuyucuklardan 25 µL'lik örnek alınıp mikroorganizmaların kendi özel agar besi yeri plakalarına inoküle edilmesi, daha önce tarif edildiği gibi aynı geleneksel mikrobiyolojik koşullarda ve inkübasyon sürelerinde inkübe edildi. MİK değeri büyümenin inhibe olduğu en düşük konsantrasyon olarak, MBK değeri ise hiçbir mikrobiyal üremenin görülmediği en düşük konsantrasyon olarak tespit edildi. Tüm mikrodilüsyon işlemleri üç kere tekrar edildi.

3.4. İstatistiksel Analiz

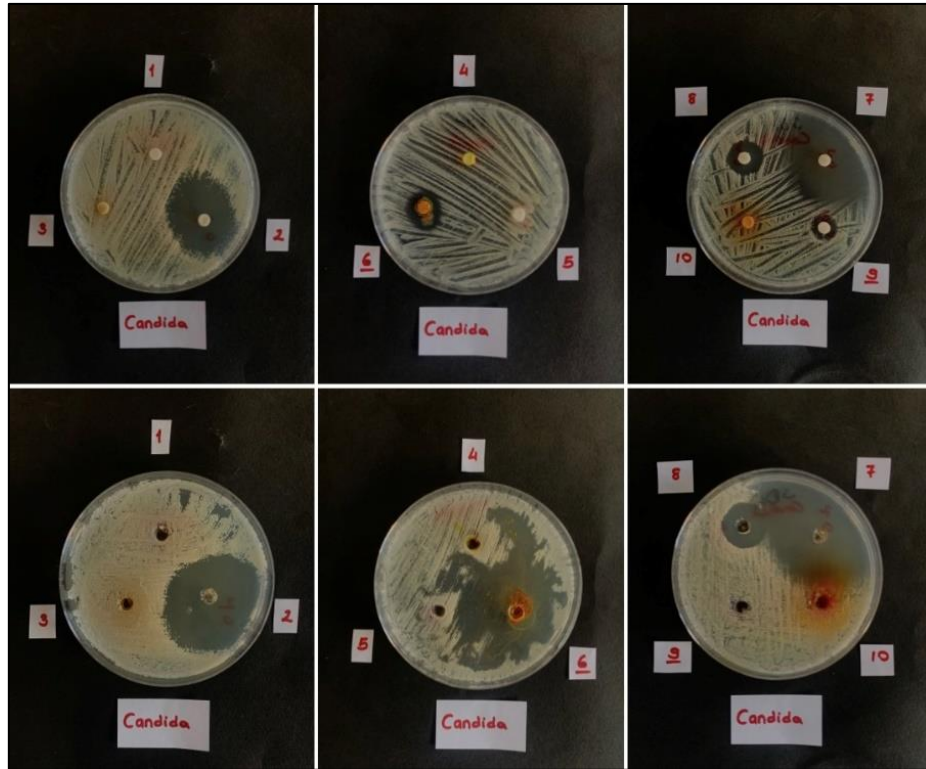
Doğal ürünlerin oluşturduğu gruplar arasında antimikrobiyal etki gösteren doğal kaynaklı ürünler ile klorheksidin diglukonat grubu analize dahil edildi. Hem disk hem kuyucuk difüzyon yöntemlerinde etki göstermemiş olan gruplar, elde edilen verilerin 0 olması nedeni ile hipotezlerin istatistiksel testlerinden dışlandı. Öncelikli olarak verilerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro-Wilk testi ve homojenlik varsayımına uygunluğu Levene testi ile incelendi. Tek yönlü varyans analizi için varsayımların sağlanmaması nedeni ile analiz yöntemi olarak Kruskal Wallis testi kullanıldı. Farklılığın bulunduğu grupları ortaya koymak adına ileri aşama testi olarak Dunn testi uygulandı ve farklılığın anlamlı bulunduğu grupların üst harflendirme ile tabloda gösterimi sağlandı. Bahsi geçen istatistiksel yöntemlerin değerlendirilmesinde $p < 0.05$ kriteri esas alındı ve testlerin uygulanmasında SPSS 26 ve R Studio paket programlarından yararlanıldı.

4. BULGULAR

4.1. Doğal Kaynaklı Ürünlerin *Candida albicans* Üzerindeki Antikandidal Etkinliğinin Disk Difüzyon ve Kuyucuk Difüzyon Yöntemleri ile Değerlendirilmesi

C. albicans'ın kullanıldığı disk difüzyon yöntemi ile yapılan deneyinin istatistiksel analizi sonucu; antikandidal etkinliği açısından propolis, çam kabuğu ekstraktı ve klorheksidinin arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p>0.05$). Çam terebentin ve çay ağacı yağı ise klorheksidine göre istatistiksel açıdan anlamlı olarak daha etkin bulunmuştur ($p<0.05$). Çay ağacı yağı da çam terebentine göre istatistiksel olarak anlamlılık göstermektedir ($p<0.05$).

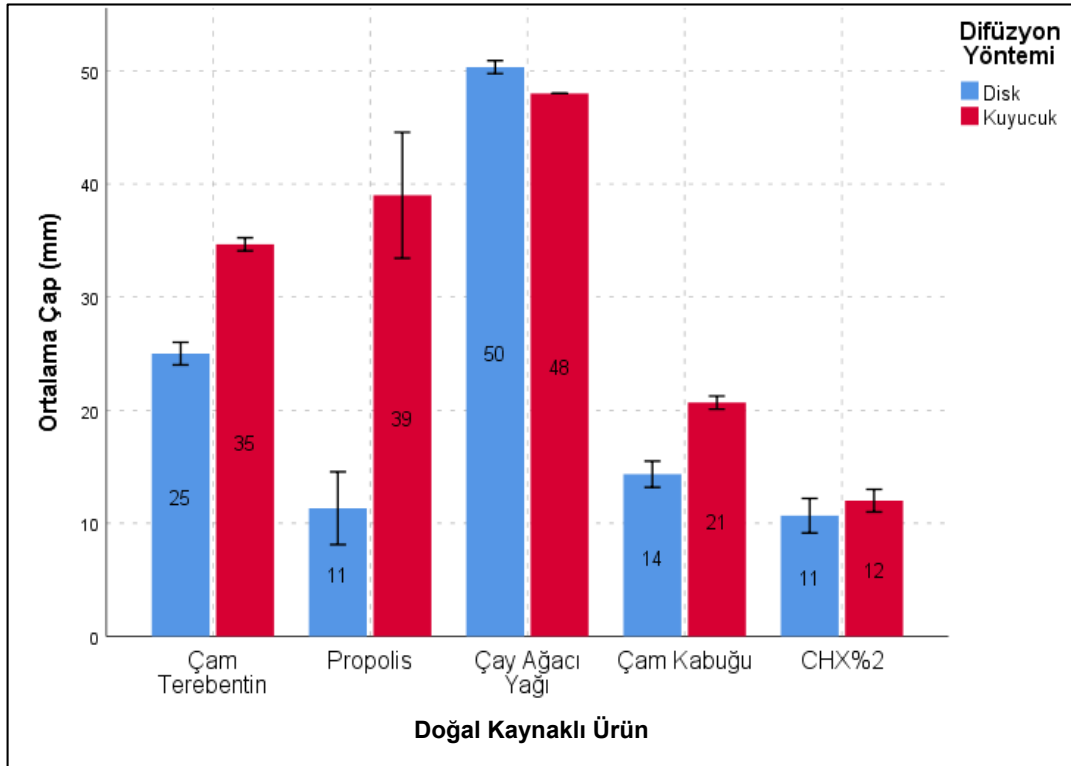
Kuyucuk difüzyon yönteminde ise propolis; çam terebentin, çay ağacı yağı ve çam kabuğu ekstraktına göre istatistiksel açıdan anlamlı olarak farklı bulunmazken ($p>0.05$), klorheksidine göre anlamlı olarak daha etkin bulunmuştur ($p<0.05$). Ancak çam terebentin, çay ağacı yağı, çam kabuğu ekstraktı ve klorheksidin antikandidal etkileri açısından birbirlerine göre istatistiksel açıdan anlamlı olarak farklı bulunmuştur ($p<0.05$). Çay ağacı yağı, çam terebentin, çam kabuğu ekstraktı ve klorheksidine göre istatistiksel açıdan anlamlı olarak *C. albicans*'a karşı daha etkindir ($p<0.05$). *C. albicans*'a karşı doğal kaynaklı ürünlerin antimikrobiyal etkinliklerinin disk ve kuyucuk difüzyon yönteminin uygulama ve sonuçları Resim 4.1'de, bulguları Çizelge 4.1 ve Şekil 4.1'de gösterilmiştir.



Resim 4.1. Doğal kaynaklı ürünlerin *Candida albicans*'a karşı antimikrobiyal etkinliklerinin disk ve kuyucuk difüzyon yöntemi aşamaları

Çizelge 4.1. *Candida albicans*'a karşı doğal kaynaklı ürünlerin antimikrobiyal etkinliklerinin disk ve kuyucuk difüzyon yöntemi ile elde edilen sonuçları

Disk Difüzyon Yöntemi			
Doğal Kaynaklı Ürün İsmi	N	Ort±SS*	p değeri**
Çam Terebentin	3	25±1 ^b	<0.001
Propolis	3	11.3±3.2 ^c	
Çay Ağacı Yağı	3	50.3±0.6 ^a	
Çam Kabuğu	3	14.3±1.2 ^c	
CHX %2	3	10.7±1.5 ^c	
Kuyucuk Difüzyon Yöntemi			
Doğal Kaynaklı Ürün İsmi	N	Ort±SS*	p değeri**
Çam Terebentin	3	34.7±0.6 ^b	<0.001
Propolis	3	39±5.6 ^{abc}	
Çay Ağacı Yağı	3	48±0 ^a	
Çam Kabuğu	3	20.7±0.58 ^c	
CHX %2	3	12±1 ^d	
a,b,c: Aynı sütundaki farklı harfler istatistiksel açıdan anlamlı farklılığı ifade eder			
*: SS: standart sapma			
**: (P<0.05)			



Şekil 4.1. *Candida albicans*'a karşı doğal kaynaklı ürünlerin antimikrobiyal etkinliklerinin disk ve kuyucuk difüzyon yöntemi ile elde edilen sonuçların dağılımı

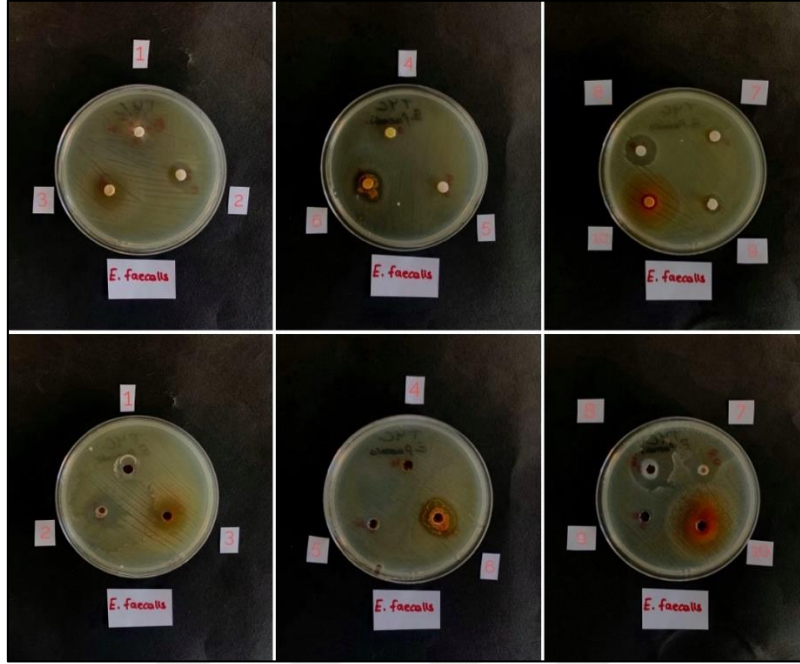
Çalışmada kullanılan doğal kaynaklı ürünlerin çözöldüğü gelslerol (%50) de aynı yöntemler ile ayrıca çalışılmıştır. Yapılan hiçbir testte gelslerol *C. albicans* üzerine etkili bulunmamıştır.

4.2. Doğal Kaynaklı Ürünlerin *Enterococcus faecalis* Üzerindeki Antibakteriyel Etkinliğinin Disk Difüzyon ve Kuyucuk Difüzyon Yöntemleri ile Değerlendirilmesi

Doğal ürünlerin *E. faecalis*'e olan etkinliğinin araştırıldığı disk difüzyon yönteminde; propolis, çay ağacı yağı ve çam kabuğu ekstraktı birbirleri, klorheksidin ve çam terebentine göre istatistiksel açıdan anlamlı olarak farklı bulunmazken ($p>0.05$) çam terebentin, klorheksidine göre anlamlı olarak daha antibakteriyel bulunmuştur ($p<0.05$).

Yapılan kuyucuk difüzyon yönteminde ise, propolis ve çam kabuğu ekstraktı arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunamazken ($p>0.05$), propolis, çay ağacı yağı ve klorheksidin anlamlı olarak farklı bulunmuştur ($p<0.05$). Kuyucuk

difüzyon yöntemiyle yapılan deneyde çam terebentin *E. faecalis*'e karşı etkin bulunmamıştır. *E. faecalis*'e karşı antimikrobiyal etkinliklerin disk ve kuyucuk difüzyon yöntemi sonuçları Resim 4.2'de, bulgular Çizelge 4.2 ve Şekil 4.2'de gösterilmiştir.



Resim 4.2. Doğal kaynaklı ürünlerin *Enterococcus faecalis*'e karşı antimikrobiyal etkinliklerinin disk ve kuyucuk difüzyon yöntemi aşamaları

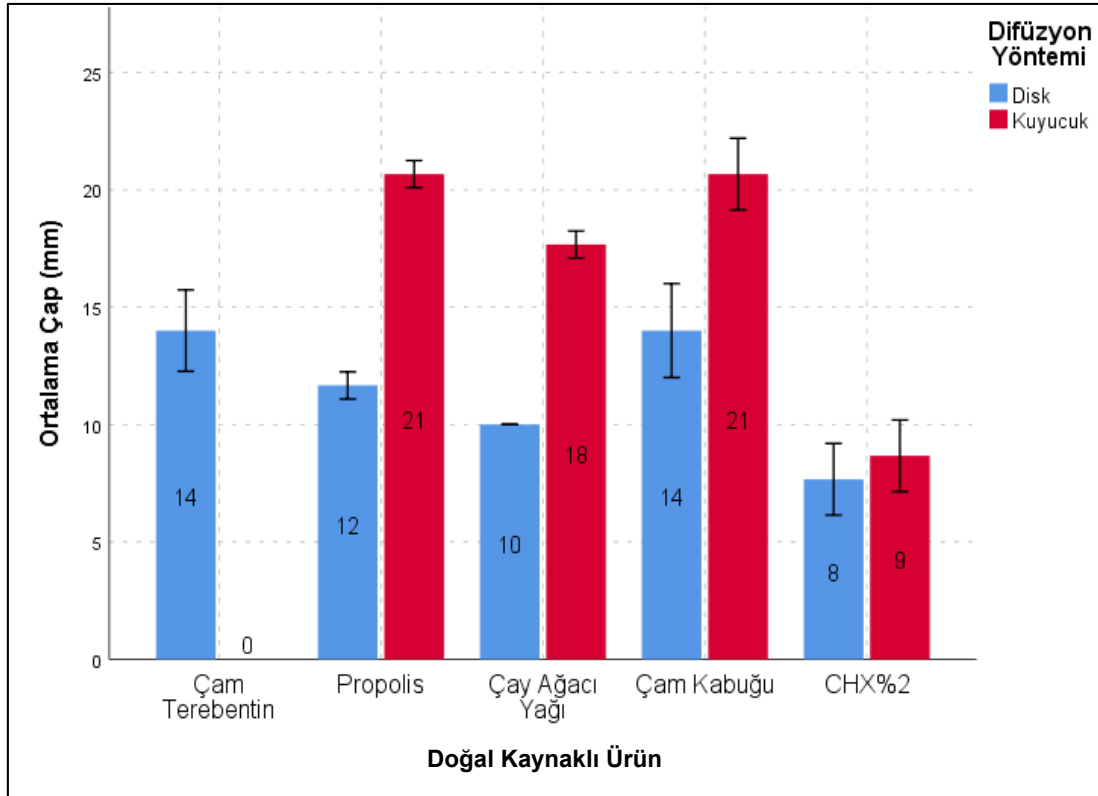
Çizelge 4.2. *Enterococcus faecalis*'e karşı doğal kaynaklı ürünlerin antimikrobiyal etkinliklerinin disk ve kuyucuk difüzyon yöntemi ile elde edilen sonuçları

Disk Difüzyon Yöntemi			
Doğal Kaynaklı Ürün İsmi	N	Ort±SS*	p değeri**
Çam Terebentin	3	14±1.7 ^a	<0.001
Propolis	3	11.7±0.6 ^{ab}	
Çay Ağacı Yağı	3	10±0 ^{ab}	
Çam Kabuğu	3	14±2 ^{ab}	
CHX %2	3	7.7±1.5 ^b	
Kuyucuk Difüzyon Yöntemi			
Doğal Kaynaklı Ürün İsmi	N	Ort±SS*	p değeri**
Propolis	3	20.7±0.6 ^a	<0.001
Çay Ağacı Yağı	3	17.7±0.6 ^b	
Çam Kabuğu	3	20.7±1.5 ^a	
CHX %2	3	8.7±1.5 ^c	

a,b,c: Aynı sütundaki farklı harfler istatistiksel açıdan anlamlı farklılığı ifade eder

*: SS: standart sapma

** : (P<0.05)



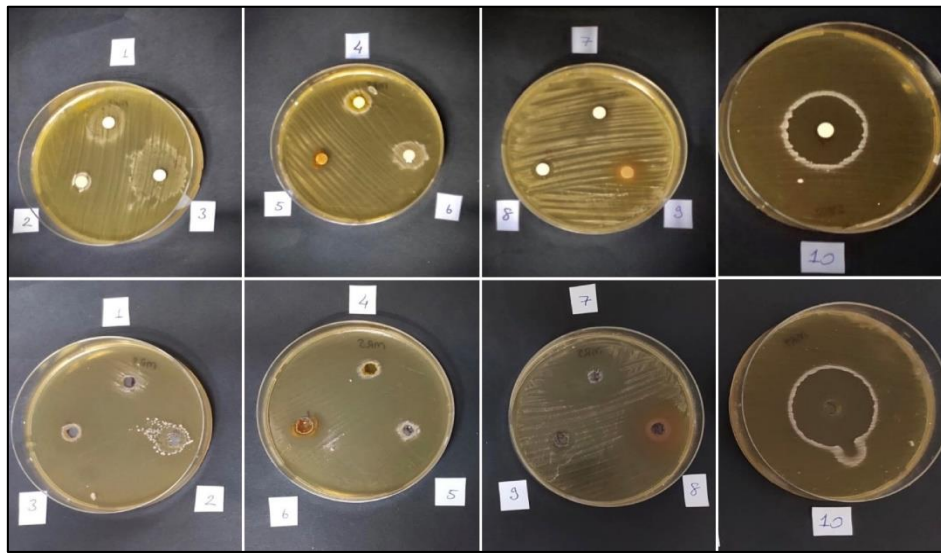
Şekil 4.2. *Enterococcus faecalis*'e karşı doğal kaynaklı ürünlerin antimikrobiyal etkinliklerinin disk ve kuyucuk difüzyon yöntemi ile elde edilen sonuçların dağılımı

Çalışmada kullanılan doğal kaynaklı ürünlerin çözöldüğü gliserol (%50) de aynı yöntemler ile ayrıca çalışılmıştır. Yapılan hiçbir testte gliserol *E. faecalis* üzerine etkili bulunmamıştır.

4.3. Doğal Kaynaklı Ürünlerin *Lactobacillus acidophilus* Üzerindeki Antibakteriyel Etkinliğinin Disk Difüzyon ve Kuyucuk Difüzyon Yöntemleri ile Değerlendirilmesi

L. acidophilus'a karşı antibakteriyel etkinliklerinin disk difüzyon yöntemiyle elde edilen değerlerinin istatistiksel analizine göre propolis; çam terebentin, çay ağacı yağı ve klorheksidine göre istatistiksel açıdan anlamlı olarak farklı bulunmamıştır ($p>0.05$). Çam terebentin ve çay ağacı yağı birbirlerine göre istatistiksel açıdan anlamlı ölçüde farklı bulunmazken ($p>0.05$), klorheksidine kıyasla daha az etkin bulunmuşlardır ($p<0.05$). Disk difüzyon yönteminde çam kabuğu ekstraktı ise *L. acidophilus*'a karşı etkin bulunmamıştır.

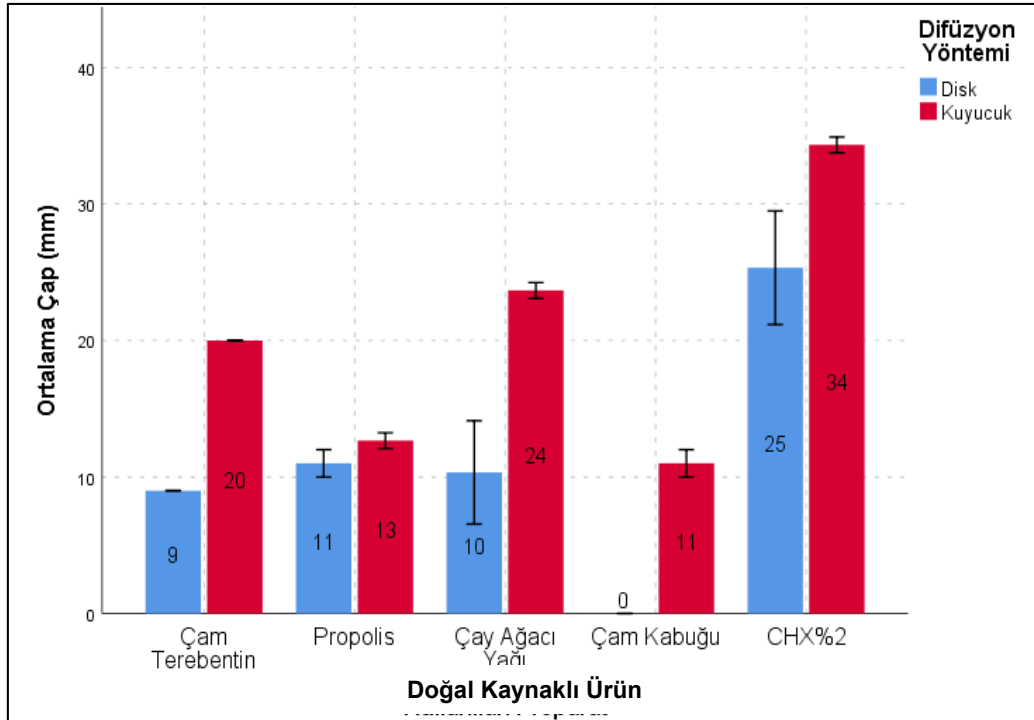
Kuyucuk difüzyon yöntemiyle yapılan antibakteriyelite tespitine göre ise; propolis ve çam kabuğu ekstraktı birbirleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunmazken ($p>0.05$), çam terebentin, çay ağacı yağı ve klorheksidine göre anlamlı olarak farklı bulunmuşlardır ($p<0.05$). Kuyucuk difüzyon yöntemi ile elde edilen verilere göre deneylerde etkin olan hiçbir doğal ürün pozitif kontrol grubu klorheksidin kadar antibakteriyel bulunmamıştır. *L. acidophylus*'a karşı antimikrobiyal etkinliklerin disk ve kuyucuk difüzyon yöntemi sonuçları Resim 4.3'te, bulgular Çizelge 4.3 ve Şekil 4.3'te gösterilmiştir.



Resim 4.3. Doğal kaynaklı ürünlerin *Lactobacillus acidophylus*'a karşı antimikrobiyal etkinliklerinin disk ve kuyucuk difüzyon yöntemi aşamaları

Çizelge 4.3. *Lactobacillus acidophylus*'a karşı doğal kaynaklı ürünlerin antimikrobiyal etkinliklerinin disk ve kuyucuk difüzyon yöntemi ile elde edilen sonuçları

Disk Difüzyon Yöntemi			
Doğal Kaynaklı Ürün İsmi	N	Ort±SS*	p değeri**
Çam Terebentin	3	9±0 ^b	<0.001
Propolis	3	11±1 ^{ab}	
Çay Ağacı Yağı	3	10.3±3.8 ^b	
CHX %2	3	25.3±4.2 ^a	
Kuyucuk Difüzyon Yöntemi			
Doğal Kaynaklı Ürün İsmi	N	Ort±SS*	p değeri**
Çam Terebentin	3	20±0 ^c	<0.001
Propolis	3	12.7±0.6 ^d	
Çay Ağacı Yağı	3	23.7±0.6 ^b	
Çam Kabuğu	3	11±1 ^d	
CHX %2	3	34.3±0.58 ^a	
a,b,c: Aynı sütundaki farklı harfler istatistiksel açıdan anlamlı farklılığı ifade eder			
*: SS: standart sapma			
**: (P<0.05)			



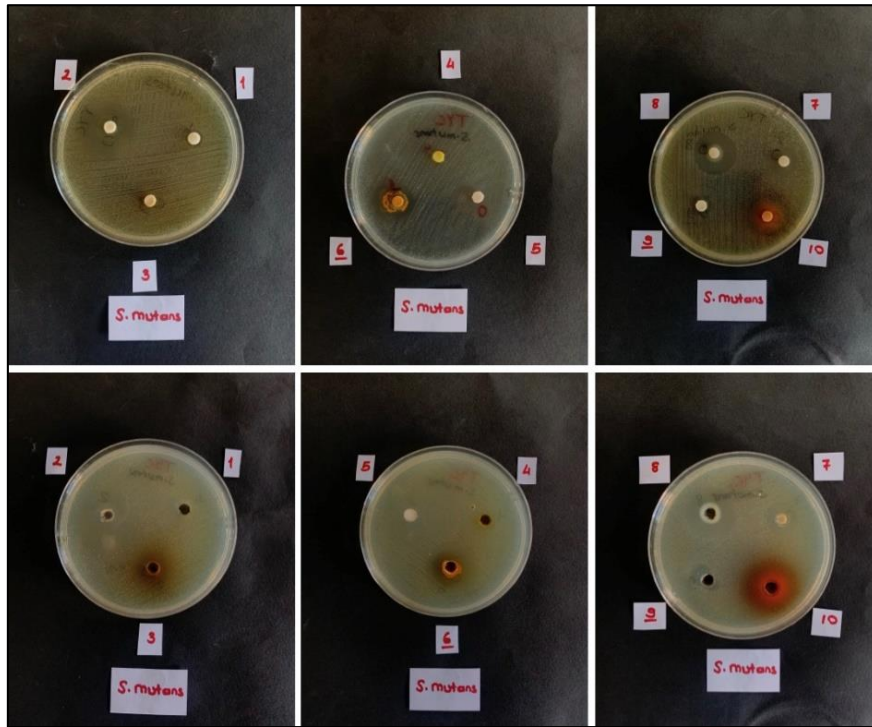
Şekil 4.3. *Lactobacillus acidophylus*'a karşı doğal kaynaklı ürünlerin antimikrobiyal etkinliklerinin disk ve kuyucuk difüzyon yöntemi ile elde edilen sonuçların dağılımı

Çalışmada kullanılan doğal kaynaklı ürünlerin çözöldüğü gliserol (%50) de aynı yöntemler ile ayrıca çalışılmıştır. Yapılan hiçbir testte gliserol *L. acidophylus* üzerine etkili bulunmamıştır.

4.4. Doğal Kaynaklı Ürünlerin *Streptococcus mutans* Üzerindeki Antibakteriyel Etkinliğinin Disk Difüzyon ve Kuyucuk Difüzyon Yöntemleri ile Değerlendirilmesi

Kullanılan esansiyel yağ ve ekstraktların *S. mutans*'a etkinliklerinin değerlendirildiği disk difüzyon testi sonucunun istatistiksel analizine göre propolis; çam terebentin, çay ağacı yağı ve çam kabuğu ekstraktına göre istatistiksel açıdan anlamlı olarak farklı bulunmazken ($p>0.05$), klorheksidine karşı anlamlı olarak daha etkin bulunmuştur ($p<0.05$). Çay ağacı yağı ve çam kabuğu ekstraktı da birbirlerine göre istatistiksel açıdan anlamlı olarak farklı bulunmazken ($p>0.05$), çam terebentin ve klorheksidine göre anlamlı olarak farklı bulunmuşlardır ($p<0.05$). Disk difüzyon testine göre çam terebentin, klorheksidine göre kullanılan doğal ürünler içinden ortalama olarak en antibakteriyel olanı olarak görünmektedir.

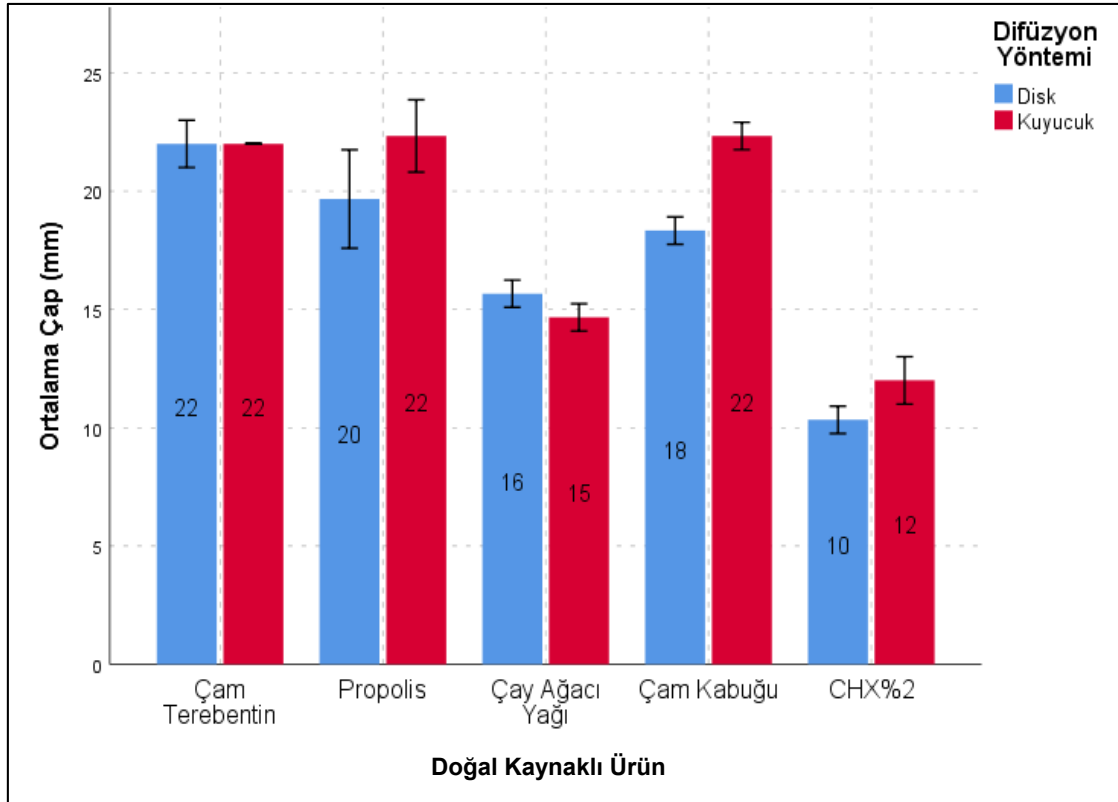
Kuyucuk difüzyon ile yapılan sonuçların istatistiksel olarak yorumlanması sonucu; çam tebentin, propolis ve çam kabuğu ekstraktı birbirleri ile istatistiksel açıdan anlamlı olarak farklı bulunmazken ($p>0.05$), çay ağacı yağı ve klorheksidine göre anlamlı olarak farklı bulunmuştur ($p<0.05$). Çay ağacı yağı ise klorheksidine göre istatistiksel açıdan anlamlı olarak farklı bulunmamıştır ($p>0.05$). *S. mutans*'a karşı antimikrobiyal etkinliklerin disk ve kuyucuk difüzyon yöntemi sonuçları Resim 4.4'te, bulgular Çizelge 4.4 ve Şekil 4.4'te de gösterilmiştir.



Resim 4.4. Doğal kaynaklı ürünlerin *Streptococcus mutans*'a karşı antimikrobiyal etkinliklerinin disk ve kuyucuk difüzyon yöntemi aşamaları

Çizelge 4.4. *Streptococcus mutans*'a karşı doğal kaynaklı ürünlerin antimikrobiyal etkinliklerinin disk ve kuyucuk difüzyon yöntemi ile elde edilen sonuçları

Disk Difüzyon Yöntemi			
Doğal Kaynaklı Ürün İsmi	N	Ort±SS*	p değeri**
Çam Terebentin	3	22±1 ^a	<0.001
Propolis	3	19.7±2.1 ^{ab}	
Çay Ağacı Yağı	3	15.7±0.6 ^b	
Çam Kabuğu	3	18.3±0.6 ^b	
CHX %2	3	10.3±0.6 ^c	
Kuyucuk Difüzyon Yöntemi			
Doğal Kaynaklı Ürün İsmi	N	Ort±SS*	p değeri**
Çam Terebentin	3	22±0 ^a	<0.001
Propolis	3	22.3±1.5 ^a	
Çay Ağacı Yağı	3	14.7±0.6 ^b	
Çam Kabuğu	3	22.3±0.6 ^a	
CHX %2	3	12±1 ^b	
a,b,c: Aynı sütundaki farklı harfler istatistiksel açıdan anlamlı farklılığı ifade eder (P<0.05)			



Şekil 4.4. *Streptococcus mutans*'a karşı doğal kaynaklı ürünlerin antimikrobiyal etkinliklerinin disk ve kuyucuk difüzyon yöntemi ile elde edilen sonuçların dağılımı

Çalışmada kullanılan doğal kaynaklı ürünlerin çözöldüğü gliserol (%50) de aynı yöntemler ile ayrıca çalışılmıştır. Yapılan hiçbir testte gliserol *S. mutans* üzerine etkili bulunmamıştır.

Agar disk difüzyon yönteminde çam terebentin için, *C. albicans*'ın en geniş inhibisyonu zonuna ulaştığı, en dar inhibisyon zonu ise *L. acidophylus*'un oluşturduğu görüldü. Propolis için ise, *S. mutans*'ın en geniş inhibisyon zonuna ulaştığını, en dar inhibisyon zonu ise *C. albicans*, *E. faecalis* ve *L. acidophylus*'da görüldüğü ve bunların birbirine yakın değerlerde oluşturdukları tespit edildi. Çay ağacı yağı için ise, en geniş inhibisyon zonuna *C. albicans*'ın ulaştığı, *E. faecalis* ve *L. acidophylus*'un birbirine yakın büyüklükte en dar inhibisyon zonu oluşturduğu görüldü. Kızılçam kabuğu ekstraktı için, *C. albicans* ve *E. faecalis*'in birbirine yakın değerlerde inhibisyon zonu oluşturduğu, *L. acidophylus*'un ise agar disk difüzyon yönteminde hiç inhibisyon zonu oluşturmadığı görüldü.

Agar kuyucuk difüzyon yönteminde çam terebentin için, *C. albicans*'ın en geniş inhibisyonu zonuna ulaştığı, en dar inhibisyon zonu ise *E. faecalis*'in olduğu gözlemlendi. Propolis için, *C. albicans*'ın en geniş inhibisyon zonuna ulaştığı, en dar inhibisyon zonu ise *L. acidophylus*'un oluşturduğu görüldü. Çay ağacı yağında ise, yine *C. albicans*'ın en geniş inhibisyon zonuna ulaştığını, en dar inhibisyon zonunun ise *S. mutans*'ın olduğunu gözlemlendi. Kızılçam kabuğu ekstraktı için, *S. mutans*'ın en geniş inhibisyon zonuna ulaştığı, en dar inhibisyon zonu ise *L. acidophylus*'un olduğu bulundu. CHX için, *C. albicans*'ın yine en geniş inhibisyon zonuna ulaştığı, en dar *S. mutans*'ın inhibisyon zonu olduğu gözlemlendi. Kontrol amaçlı distile su ve gliserol herhangi bir inhibisyon zonu oluşturmadı.

4.5. Minimum İnhibitör Konsantrasyon (MİK) ve Minimum Bakterisidal/Fungisidal Konsantrasyon (MBK/MFK) Değerleri

S. mutans suşu için seçilen doğal ürünlerden etkili olarak görülenlerin minimum inhibitör/bakterisidal konsantrasyonları mikrodilüsyon yöntemi ile test edildi. Doğal ürünlerden çam terebentin için doz aralığı; 100-0,39 mikrolitre olarak denenmiştir. Etkili olduğu MİK/MBK değeri 25/100 mikrolitre olarak bulunmuştur. Propolis için doz aralığı; 30-0,11 mikrolitre olarak denenmiştir. Etkili olduğu MİK/MBK değeri 0,23/1,87 mikrolitre olarak bulunmuştur. Çay ağacı yağı için doz aralığı; 100-0,39 mikrolitre olarak denenmiştir. Etkili olduğu MİK/MBK değeri 12,5/3,12 mikrolitre olarak bulunmuştur. Çam kabuğu ekstraktı için doz aralığı; 50-0,19 mikrolitre olarak denenmiştir ve etkili olduğu MİK/MBK değeri 12,5/50 mikrolitre olarak bulunmuştur. Zeytin yaprağı ekstraktı için ise doz aralığı; 50-0,19 mikrolitre olarak denenmiştir. Etkili olduğu MİK/MBK değeri 50 mikrolitre olarak bulunmuştur.

L. acidophylus suşu için de seçilen doğal ürünlerden etkili olarak görülenlerin minimum inhibitör/bakterisidal konsantrasyonları değerlendirilmiştir. Çam terebentin için doz aralığı; 100-0,39 mikrolitre olarak denenmiştir. Etkili olduğu MİK/MBK değeri 0,78/6,25 mikrolitre olarak bulunmuştur. Propolis için doz aralığı; 30-0,11 mikrolitre olarak denenmiştir. Etkili olduğu MİK/MBK değeri 0,23/1,87 mikrolitre olarak bulunmuştur. Çay ağacı yağı için doz aralığı; 100-0,39 mikrolitre olarak denenmiştir. Etkili olduğu MİK/MBK değeri 1,56/3,12 mikrolitre olarak bulunmuştur. Çam kabuğu ekstraktı için doz aralığı; 50-0,19 mikrolitre olarak denenmiştir. Etkili olduğu MİK/MBK değeri 12,5/25

mikrolitre olarak bulunmuştur. Zeytin yaprağı ekstraktı için doz aralığı; 50-0,19 mikrolitre olarak denenmiştir. Etkili olduğu MİK/MBK değeri 50 mikrolitre olarak bulunmuştur. Taş suyu için de doz aralığı; 30-0,11 mikrolitre olarak denenmiştir. Etkili olduğu MİK/MBK değeri 30 mikrolitre olarak bulunmuştur.

E. faecalis suşu için seçilen doğal ürünlerden etkili olarak görülenlerin minimum inhibitör/bakterisidal konsantrasyon değerleri değerlendirildi. Çam terebentin için doz aralığı; 100-0,39 mikrolitre olarak denenmiştir. Etkili olduğu MİK/MBK değeri 50 mikrolitre olarak bulunmuştur. Propolis için doz aralığı; 30-0,11 mikrolitre olarak denenmiştir. Etkili olduğu MİK/MBK değeri 0,93 mikrolitre olarak bulunmuştur. Çay ağacı yağı için doz aralığı; 100-0,39 mikrolitre olarak denenmiştir. Etkili olduğu MİK/MBK değeri 50 mikrolitre olarak bulunmuştur. Çam kabuğu ekstraktı için doz aralığı; 50-0,19 mikrolitre olarak denenmiştir. Etkili olduğu MİK/MBK değeri 50 mikrolitre olarak bulunmuştur.

C. albicans suşu için seçilen doğal ürünlerden etkili olarak görülenlerin minimum inhibitör/bakterisidal konsantrasyon değerleri incelenmiştir. Çam terebentin için doz aralığı; 100-0,39 mikrolitre olarak denenmiştir. Etkili olduğu MİK/MFK değeri 25 mikrolitre olarak bulunmuştur. Propolis için doz aralığı; 30-0,11 mikrolitre olarak denenmiştir. Etkili olduğu MİK/MFK değeri 3,75 mikrolitre olarak bulunmuştur. Çay ağacı yağı için doz aralığı; 100-0,39 mikrolitre olarak denenmiştir. Etkili olduğu MİK/MFK değeri 3,12/1,56 mikrolitre olarak bulunmuştur. Çam kabuğu ekstraktı için isedoz aralığı; 50-0,19 mikrolitre olarak denenmiştir. Etkili olduğu MİK/MFK değeri yoktur, *C. albicans*'a karşı etkin bulunmamıştır. Tüm seçilen mikroorganizmalara ait MİK ve MBK/MFK değerleri Çizelge 4.5'te gösterilmiştir

Çizelge 4.5. MİK ve MBK/MFK değerleri

	Fitokimyasal/Çözücü (%)	Test Aralığı (µg/ml)	MİK/MBK*(MFK**) (µg/ml)
Mikroorganizma türü	Doğal Kaynaklı Ürün	Başlangıç Dozu- En Son Dilüsyon Dozu	Bulunan Değer
S. mutans	Çam Terebentin	100-0,39	2,5/100***
	Propolis/%70 Gliserol+Su	30-0,11	0,23/1,87***
	Çay Ağacı Yağı	100-0,39	12,5/3,12***
	Çam Kabuğu Ekstraktı/%50 Gliserol	50-0,19	12,5/50***
L. acidophylus	Çam Terebentin	100-0,39	0,78/6,25***
	Propolis/%70 Gliserol+Su	30-0,11	0,23/1,87***
	Çay Ağacı Yağı	100-0,39	1,56/3,12***
	Çam Kabuğu Ekstraktı/%50 Gliserol	50-0,19	12,5/25***
E. faecalis	Çam Terebentin	100-0,39	50
	Propolis/%70 Gliserol+Su	30-0,11	0,93
	Çay Ağacı Yağı	100-0,39	50
	Çam Kabuğu Ekstraktı/%50 Gliserol	50-0,19	50
C. albicans	Çam Terebentin	100-0,39	25
	Propolis/%70 Gliserol+Su	30-0,11	3,75
	Çay Ağacı Yağı	100-0,39	3,12/1,56***
	Çam Kabuğu Ekstraktı/%50 Gliserol	50-0,19	0

*: Minimum bakterisidal konsantrasyon

**: Minimum fungisidal konsantrasyon

***: Test tekrarlarında farklı çıkan değerleri ifade eder

5. TARTIŞMA

Diş çürüğü ve diş eti hastalıkları, dünya genelinde en sık rastlanan ağız sağlığı sorunlarıdır. Ağız hastalıkları bireyin genel sağlığını olumsuz etkilemesinin yanı sıra yaşam kalitesi ve çalışma kapasitesini de etkilemektedir. Diş hastalıklarının önlenmesi, ağız içerisindeki mikroorganizmaların sayısındaki azalmayla ilişkilidir (Chandrdas ve diğerleri, 2014; Dagli ve diğerleri, 2015).

En karakteristik insan karyojenik mikroorganizmaları *S. mitis*, *S. mutans*, *S. aureus* ve *Lactobacillus* türleridir. Bunlar dışındaki bir başka önemli oral patojen *E. faecalis*, primer endodontik enfeksiyonlarının %18'inden, başarısız endodontik tedavi vakalarının ise %67'sinden izole edilen fakültatif anaerobik gram pozitif bir bakteridir. *C. albicans* ise, bağırsak, orofaringeal, genitoüriner sistem yolları ve deri florasında yaygın olarak bulunan fırsatçı bir insan mantar patojenidir (Kanth ve diğerleri, 2016; Seleem ve diğerleri, 2016; Soligo ve diğerler, 2018).

Bitkiler, çağlardan beri yeni etki mekanizmasına sahip ilaçların oluşturulması için önemli bir kaynak olmuştur (Kanth ve diğerleri, 2016). Doğal ürünlerin terapötik bir alternatif olarak kullanılması, yeni ilaçların keşfi için oldukça önemlidir. Sunulan tezde; taş suyu, çam terebentin, zeytin yaprağı ekstraktı, üzüm çekirdeği yağı, Hindistan cevizi yağı, propolis, çay ağacı yağı ve çam kabuğu ekstraktı pozitif kontrol grubu klorheksidin, negatif kontrol grubu distile su ve ekstraktların çözücüsü gliserolün, *S. mutans*, *E. faecalis*, *L. acidophilus* ve *C. albicans* oral patojenleri üzerindeki antimikrobiyal etkinlikleri disk difüzyon, kuyucuk difüzyon ve mikrodilüsyon yöntemleri ile araştırılmıştır.

Balıkesir Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Anabilim Dalı'nda (2004), taş suyu maddesinin, mikrodilüsyon ve disk difüzyon teknikleri kullanılarak, *C. albicans*'a olan etkinliği değerlendirilmiş, 1.562 µl/ml – 6.25 µl/ml değerleri arasında antikandidal olduğu bulunmuştur. Sunulan çalışmada da disk difüzyon testine ek olarak kuyucuk difüzyon testi de denenmiş ancak antikandidal etkinlik görülmemiştir. *C. albicans*'ın yanında *S. mutans*, *E. faecalis*, *L. acidophilus*'a karşı denenilen taş suyu hiçbirine karşı antimikrobiyal etkinlik göstermemiştir. Taş suyunun literatürde oral patojenlere etkinliğini değerlendiren başka bir araştırma yayını bulunamamıştır.

Ozogul, Kuley, Ucar ve Ozogul (2015) ardıç, çam terebentin, mersin, portakal, kekik, lavanta, adaçayı, limon, biberiye, Fransız lavanta, okaliptüs ve defne esansiyal yağlarının yapılan çalışmada olduğu gibi disk difüzyon yöntemi ile *E. coli*, *S. paratyphi A*, *K. pneumoniae*, *Y. enterocolitica*, *P. aeruginosa*, *A. hydrophila*, *C. jejuni*, *E. faecalis* ve *S. aureus* bakterileri üzerindeki antibakteriyel etkinliklerini araştırmışlardır. Farklı olarak kontrol grubunda Tetrasiklin, Streptomisin ve Neomisin antibiyotikleri kullanılmıştır. Çalışmanın sonucunda, benzer olarak, çam terebentin yağı *E. faecalis*'e karşı anlamlı derecede antibakteriyel bulunmuştur.

Ulukanlı, Karabörklü, Bozok, Burhan, Erdogan, Cenet ve Karaaslan (2014) da kızılçam ve fıstık çamından elde edilen çam terebentin yağını gram negatif bakterilerden *Klebsiella pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *E. hormaechei* ve gram pozitif bakterilerden *E. casseliflavus*, *E. faecalis*, *S. aureus*, *B. subtilis*, *B. cereus*, *M. luteus* ve *C. albicans* üzerindeki antimikrobiyal etkiliklerini disk difüzyon yöntemi kullanarak denemişlerdir. Kontrol grubu olarak antibiyotiklerden siprofloksasin (CIP5, Bioanalyse Ltd., İngiltere), moksifloksasin (MXF5, Bioanalyse Ltd., İngiltere) ve nistatin (NS 100 U, Oxoid, İngiltere) kullanmışlardır. Sunulan çalışmada, ek olarak, kuyucuk difüzyon ve mikrodilüsyon testleri de denenmiş ve değerlendirilmiş ve pozitif kontrol grubunda %2'lik klorheksidin diglukonat kullanılmıştır. *E. faecalis* ve *C. albicans* suşları dışında *S. mutans* ve *L. acidophilus* oral patojenleri de çalışmaya dahil edilmiştir. Yapılan deneyler ve istatistiksel analizler sonucu çam terebentin yağı çalışmada kullanılan oral patojenlere karşı yüksek derecede bakterisidal ve antikandida bulunmuştur. Benzer olarak her iki çalışmada çam terebentin yağı, *E. faecalis* ve *C. albicans* suşlarına antimikrobiyal etkinlik göstermişlerdir.

Demir (2016) yaptığı çalışmada %80 etanol ve metanol ile ekstrakte ettiği derik zeytin yaprağının *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *S. pyogenes* ve *C. albicans* üzerine antimikrobiyal etkinliğini disk difüzyon yöntemi ile değerlendirmiştir. Kontrol grubu olarak etanol, metanol ve saf oleuropein, quersitin, gallik asit ve standart antibiyotikler kullanılmıştır. Çalışmanın sonucunda, zeytin yaprağının etanol ve metanol ekstraktlarının sadece *S. aureus* suşuna antimikrobiyal etkinliği olduğu ve bu etkinin zeytin yaprağı konsantrasyonu arttıkça yükseldiği ve saf oleuropeinin *S. aureus*'a karşı daha etkin olduğu görülmüştür. Yapılan çalışmada ise benzer olarak

disk difüzyon yöntemi ile %50 gliserol ile ekstrakte edilmiş zeytin yaprağının *E. faecalis*, *C. albicans*, *S. mutans* ve *L. acidophilus* üzerine antimikrobiyal etkinliği denenmiştir. Sonucunda, zeytin yaprağı ekstraktı kullanılan hiçbir bakteriye karşı antimikrobiyal etkinlik göstermemiştir. Her iki çalışmada da zeytin yaprağı ekstraktı, *C. albicans* suşuna etkin bulunmamıştır.

Karygianni ve diğerlerinin (2016) yaptığı başka bir çalışmada ise zeytin yaprağı, sakız ve anduz otu ekstraktlarının; *S. mutans*, *E. faecalis*, *C. albicans*, *S. sobrinus*, *S. oralis*, *E. coli*, *S. aureus*, *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *F. nucleatum*, *P. micra* patojenleri üzerindeki antimikrobiyal etkinlikleri mikrodilüsyon testi ile değerlendirilmiştir. Sonuç olarak, araştırmacı tarafında hazırlanan ve %60 oleuropein içeren zeytin yaprağı ekstraktı, sunulan çalışmadan farklı olarak *S. mutans* ve *E. faecalis* patojenleri üzerinde antimikrobiyal etkinlik göstermiştir. Bunun nedeni çalışmada kullanılan zeytin yaprağı ekstraktının %50 gliserol çözeltisi ve fabrikasyon ürünü olması olabilir. Bununla birlikte, benzer olarak zeytin yaprağı ekstraktının *C. albicans*'a karşı etkin olmadığı rapor edilmiştir.

Swadas ve diğerleri (2016) %70 etanol çözeltisi üzüm çekirdeği ekstraktının antibakteriyel etkinliğini *S. mutans* üzerinde denemişlerdir. Üzüm çekirdeği ekstraktı farklı konsantrasyonlarda (125-250-500 mg/mL) denenmiş ve sonrasında antibakteriyel etkinliğe *S. mutans* CFU/mL sayılarak karar verilmiştir, sonuç olarak ürünün konsantrasyonu arttıkça antistreptokokal etkinliğin arttığı rapor edilmiştir. Ancak pozitif kontrol grubu %2'lik klorheksidin kadar etkin bulunmamıştır. Sunulan tez çalışmasında ise soğuk press yöntemi ile elde edilmiş %100 üzüm çekirdeği yağı kullanılmıştır. Sonucunda, farklı olarak üzüm çekirdeği özütü *S. mutans*, *L. acidophilus*, *E. faecalis* ve *C. albicans* üzerinde antibakteriyel etkinlik göstermemiştir.

Ghonmode, Balsaraf, Tambe, Saujanya, Patil ve Kakde (2013) tarafından yapılan çalışmada da üzüm çekirdeği ekstraktı ile nim yaprağı ekstraktı ve %3'lük sodyum hipokloritin *Enterococcus fecalis* üzerine antibakteriyel etkinliği disk difüzyon yöntemi ile değerlendirilmiştir. Araştırmanın sonucunda nim yaprağı ekstraktı ve %3'lük sodyum hipoklorit kadar olmasa da üzüm çekirdeği ekstraktı antibakteriyel bulunmuş ve kanal içi irrigasyon solüsyonu olarak umut vaad ettiği rapor edilmiştir.

Fiallos ve diğeri (2020) ise yaptıkları çalışmada üzüm çekirdeği ekstraktının *E. faecalis* biyofilmine karşı antibakteriyel etkinliğini konfokal lazer tarama mikroskobu (CLSM) analizi ile değerlendirmişlerdir. Kontrol grubunda salin solüsyonu, %5,25'lik sodyum hipoklorit ve %2'lik klorheksidin ile karşılaştırılmıştır. Sonuç olarak, *E. faecalis*'e karşı en bakterisid sodyum hipoklorit çıkarken, üzüm çekirdeği ekstraktı klorheksidinden daha etkin bulunmuştur. Disk difüzyon, kuyucuk difüzyon ve mikrodilüsyon yöntemleri kullanılan tez çalışmasında, üzüm çekirdeği ekstraktı *E. faecalis*'e karşı antimikrobiyal etki göstermemiştir. Sonuçların benzerlik göstermemesinin nedeni üzüm çekirdeğinin ekstraksiyon yöntemlerinin ve menşelerinin farklı olmasından kaynaklanabileceğidir.

Peedikayil, Remy, John, Chandru, Sreenivasan ve Bijapur (2016) in vivo gerçekleştirdikleri bir çalışmada 8-12 yaşlarındaki 50 çocuğun yarısına Hindistan cevizi yağı ile ağızda yağ çekme, yarısına ise %2 lik klorheksidin diglukonat ile 30 gün boyunca ağız çalkalama işlemi yaptırmıştır. 1., 15. ve 30. günlerde tükürük ve plaktaki *S. mutans* sayısı Dentocult SM Strip Mutans testi kullanarak kaydedilmiştir. Çalışmanın sonucunda Hindistan cevizi yağı, %2'lik klorheksidin kadar plak ve tükürükteki *S. mutans* sayısını azaltmıştır. In vitro gerçekleştirilen tez çalışmasının sonucunda tamamen farklı olarak Hindistan cevizi yağı *S. mutans*'a karşı antimikrobiyal etkinlik göstermemiştir.

Kumar (2020) in vitro olarak dizayn ettiği çalışmasında nim yağı, çay ağacı yağı ve Hindistan cevizi yağının *C. albicans*'a karşı etkinliğini broth mikrodilüsyon testi ile değerlendirmiştir. Nim yağının antikandidal özelliği en iyi bulunurken Hindistan cevizi yağı ve çay ağacı yağı da *C. albicans*'a karşı antimikrobiyal etkinlik göstermiştir. Bu üç doğal ürünün stomatit tedavisi için umut vaad ettiği rapor edilmiştir. Benzer olarak sunulan çalışmada çay ağacı yağı ve Hindistan cevizi yağının *C. albicans*'a olan antikandidal etkinliği disk difüzyon ve kuyucuk difüzyon, mikrodilüsyon yöntemleri ile denenmiş, çay ağacı yağı *C. albicans*'a karşı etkin bulunurken çalışmanın aksine, Hindistan cevizi yağı antimikrobiyal etkinlik göstermemiştir.

Beena (2020) da yaptığı çalışmada disk difüzyon yöntemi ile ketakanazol, klorheksidin, Hindistan cevizi yağı ve probiyotikleri *C. albicans* üzerinde denemiş

sonucunda Hindistan cevizi yağını ketakanazol ve klorheksidin kadar antikandidal olmasa da probiyotiklerden daha antimikrobiyal bulmuştur. Sunulan çalışmada ise sonuç benzerlik göstermemektedir. Çatışmanın sebebi çalışmalarda yağı kullanılan Hindistan cevizinin farklı coğrafi kökenden olması olabilir.

Airen, Sarkar, Tomar ve Bishen (2018) yaptıkları bir çalışmada Hindistan'ın Jhabua menşeli propolisin %5 ve %20 etanol ve sulu çözeltilerinin *S. mutans* ve *L. acidophilus* üzerindeki antibakteriyel etkinliğini incelemişlerdir. Yapılan çalışmada pozitif kontrol grubu %0,2'lik klorheksidin ve negatif kontrol grubu distile su olarak belirlenmiş antibakteriyel test olarak kuyucuk difüzyon yöntemi kullanılmıştır. Çalışmanın sonucunda propolisin etanol çözeltileri hem *S. mutans* hem de *L. acidophilus*'a karşı bakterisid bulunurken aynı konsantrasyonlardaki sulu çözeltileri yalnızca *L. acidophilus*'a etkin bulunmuştur. Sonuçlar pozitif kontrol grubu %0,2'lik klorheksidin ile benzerdir. %30 saf Anadolu propolisinin gliserol-su ekstraktının *S. mutans* ve *L. acidophilus* üzerindeki antibakteriyel etkinliğini disk difüzyon, kuyucuk difüzyon ve mikrodilüsyon yöntemleri ile incelediğimiz tez çalışmasının sonuçları benzerlik göstermiştir.

Nazeri, Ghaiour ve Abbasi (2019) yaptıkları bir araştırma yayınında propolisin %80 alkol ekstraktının, agar dilüsyon yöntemi kullanılarak *S. aureus*, *S. mutans*, *L. acidophilus* ve *E. faecalis* üzerindeki minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) değeri hesaplanmıştır. 50-600 µg/ml arasında denenen propolisin etanolik ekstraktının minimum inhibitör konsantrasyon değeri 300 µg/ml olarak belirlenmiştir. Daha sonra elde edilen MİK değerleri ile propolis içerikli antibakteriyel gargara üretilmiş ve klinik olarak antibakteriyel etkinlikleri, deney fareleri üzerinde su, %0,12'lik klorheksidin ve Listerine gargara ile karşılaştırılmıştır. Deney farelerinden tükürük örnekleri gargaralar kullanıldıktan 12 saat, 1 hafta ve 2 hafta sonra toplanmış ve gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (RT-PCR) ile incelenmiştir. Çalışmanın sonucunda hesaplanan MİK değerlerine göre hazırlanan propolis içerikli gargara *E. faecalis*, *L. acidophilus* ve *S. mutans*'a karşı %0,12'lik klorheksidin gargaradan daha etkili bulunmuştur. Ayrıca *S. aureus*'a karşı da klorheksidine benzer sonuçlar göstermiştir. Listerinin ise klorheksidin ve propolisten daha az etki gösterdiği bildirilmiştir. Sunulan çalışmanın mikrodilüsyon testinde %30 konsantrasyonlu propolisin gliserol ekstraktı 30-0,11 µg/ml değerleri arasında denenmiş MİK değerleri *S. mutans* ve *L. acidophilus* için 0,23/1,87 µg/ml, *E.*

faecalis 0,93 µg/ml, *C. albicans* için ise 3,75 µg/ml olarak bulunmuştur. Çalışmanın sonucunda, benzer olarak kullanılan propolis ekstraktı *S. mutans* ve *E. faecalis*'e karşı klorheksidinden daha bakterisid bulunurken, farklı olarak *L. acidophilus*'a karşı klorheksidinden daha az etki göstermiştir. Sonuçlardaki farklılıkların nedeni kullanılan propolislerin farklı coğrafyalardan köken alması, ekstraksiyon için farklı çözücülerin kullanılması ve farklı konsantrasyonlarda etken madde içermesi olabilir.

Saha, Nair ve Asrani (2015) ise propolis, metronidazol içeren klorheksidin jel, *Curcuma longa* (zerdeçal) ekstraktı ve kalsiyum hidroksitin *E. faecalis* üzerindeki bakterisidal etkinliklerini araştıran ve karşılaştıran bir çalışma yapmışlardır. Çalışmada çekilmiş süt dişlerinin önce pulpaları çıkarılmış ve kemomekanik hazırlık yapılmış sonra steril edilmiş dişler saf *E. faecalis* ile kontamine edilmiş propolis, metronidazol içeren klorheksidin jel, *Curcuma longa* (zerdeçal) ekstraktı, kalsiyum hidroksit ve kontrol grubu serum fizyolojik ile muamele edilmiştir. Kanal içi kullanılan ürünlerin *E. faecalis*'e karşı etkinlikleri, kolorimetre yardımıyla her grup için 1., 2. ve 5. gün sonunda örnekler ölçülmüş, sonucunda propolis *E. faecalis*'e karşı kullanılan diğer ürünlerden daha antimikrobiyal etki göstermiştir. Sunulan tez çalışmasında ise, benzer olarak propolis, klorheksidinden anlamlı şekilde daha bakterisidal etki göstermiştir. Bu benzer sonuçlar özellikle başarısız kanal tedavilerinde sıkça rastlanan *E. faecalis*'in eliminasyonu için propolisin kanal içi irrigasyon solüsyonu olarak kullanımı açısından umut vaad ettiğini düşündürmektedir.

Gavanji ve Larki (2017) propolisin %30'luk etanol ekstraktının *C. albicans* üzerindeki etkisini değerlendirmek, kekik, tarçın, *Echinophora platyloba*, soğan ve tarçın ekstraktlarının etkileri ile karşılaştırmak için bir çalışma dizayn etmişlerdir. Çalışmada kontrol grubu olarak amfoterisin B ve nistatin kullanmışlar ve antimikrobiyal etkinliği disk difüzyon yöntemi kullanılarak belirlemişlerdir. Çalışmanın sonucunda *C. albicans*'a karşı en bakterisid etkili doğal kaynaklı ürün propolis ekstraktı olurken kullanılan hiçbir materyal amfoterisin B ve nistatin kadar antikandidal bulunmamıştır. Sunulan çalışmada, benzer olarak antimikrobiyal teşhis yöntemi disk difüzyon ve kuyucuk difüzyon yöntemi kullanılmış, kontrol grubu olarak %2'lik klorheksidin tercih edilmiştir. Sonuç olarak propolisin %30'luk gliserol ve su ekstraktı disk difüzyon yönteminde klorheksidin ile anlamlı bir farklılık göstermezken kuyucuk difüzyon yönteminde klorheksidinden daha antikandidal etkinlik

göstermiştir. Yapılan çalışmada, propolis ekstraktının antikandidal özellikte bulunmasıyla benzerlik göstermektedir.

Akça, Akça, Topçu, Macit, Pıkdöken ve Özgen (2016) yayınladıkları bir çalışmada propolisin, %80 etanol içeren ekstraktının *S. mutans*, *S. sobrinus*, *L. acidophilus*, *L. salivarius subsp salivarius*, *A. actinomycetemcomitans*, *P. intermedia*, *P. gingivalis*, *S. aureus*, *E. faecalis*, *A. israelii* ve *C. albicans* oral patojenlerine karşı antimikrobiyal etkinliğini %0,2'lik klorheksidin ile karşılaştırarak ortaya çıkarmayı amaçlamışlardır. Antimikrobiyal test olarak agar dilüsyon ve broth mikrodilüsyon tercih edilmiştir. Sunulan çalışmada da antimikrobiyal etkinliklerini değerlendirdiğimiz *S. mutans*, *L. acidophilus* ve *C. albicans*'a karşı kontrol grubu klorheksidin ile aynı minimum inhibitör konsantrasyon ve minimum bakterisidal konsantrasyon değerlerinde bulunmuştur. Bununla birlikte, klorheksidin propolis ile kıyaslandığında *E. faecalis*'e daha az konsantrasyonlarda etki edebilmiştir. Sonuç olarak, tez çalışmasında benzer şekilde propolis ekstraktının oral patojenlere karşı yüksek derecede antimikrobiyal etkinlik gösterdiği kaydedilmiştir.

Song, Zhou, Wu, Wang, Liu ve Mei (2020) yaptıkları bir in vitro çalışmada, çay ağacı yağının *S. mutans* üzerindeki antimikrobiyal etkinliğini, asit üretimi ve membran bütünlüğü üzerindeki etkisini ve biyofilm oluşumunun inhibisyonunu %0,2'lik klorheksidin ile karşılaştırmalı olarak araştırmışlardır. Çalışmada, mikrodilüsyon yöntemini ile minimum inhibitör konsantrasyonu (MİK) ve minimum bakterisidal konsantrasyonu (MBK) değerlendirilmiştir. *S. mutans* için 100-3,125 µg/ml arasındaki değerler denenmiş ve MİK değerinin 12,5 µg/ml, MBK değerinin ise 25 µg/ml olduğu rapor edilmiştir. Sunulan tez çalışmasında 100-0,39 µg/ml arasındaki değerleri değerlendirilmiş ve yakın olarak 12,5/3,12 MİK/MBK değerleri bulunmuştur. Çalışmanın sonucunda çay ağacı yağı *S. mutans*'ın büyümesini, asit üretimini ve yapışmasını engellemiş ve bakterisidal etki göstermiştir. Farklı olarak disk ve kuyucuk difüzyon testleri denenmiş, *L. acidophilus*, *E. faecalis* ve *C. albicans* oral patojenlerini de dahil edilmiş ve %2'lik klorheksidinin etkinliği ile kıyaslanmış in vitro çalışmada sonuçlar benzer bulunmuştur. Yapılan çalışma sonucu, çay ağacı yağı disk difüzyon yöntemi sonucuna göre %2'lik klorheksidinden daha antimikrobiyal bulunmasının dışında kuyucuk difüzyon yöntemi sonucunda etkisi klorheksidin ile anlamlı bir fark göstermemiştir.

Kamath, Sheth, Ramesh ve Singla (2013) ise çay ağacı yağının endodontik irrigasyon solüsyonu olarak kullanımının önünü açabilecek in vitro bir çalışma yapmışlardır. Çalışmada çay ağacı yağının *E. faecalis* üzerindeki antibakteriyel etkinliği serum fizyolojik, %3'lük sodyum hipoklorit ve %2'lik klorheksidin ile karşılaştırmalı olarak kuyucuk difüzyon yöntemi kullanılarak araştırılmıştır. Çalışmada kullanılan çay ağacı yağı, %85 etanol ile ekstrakte edilmiştir. Çalışmanın sonucunda serum fizyolojinin *E. faecalis* üzerinde hiçbir antibakteriyel etki göstermediğini, sırasıyla en yüksek antimikrobiyal etkiyi %2'lik klorheksidin, çay ağacı yağı ve %3'lük sodyum hipokloritin gösterdiğini ve *E. faecalis*'e karşı inhibisyon çapları arasında önemli bir fark bulunmadığını rapor etmişlerdir. Çalışmadan farklı olarak kullandığımız çay ağacı yağı materyali, distilasyon yöntemleri ile elde edilmiş %100 içerikliydi. Bununla birlikte benzer olarak kontrol grubunda distile su ve %2'lik klorheksidin tercih edilmiştir. Sunulan çalışmada ek olarak disk difüzyon ve mikrodilüsyon yöntemleri de uygulanmıştır. Disk difüzyon yönteminde çay ağacı yağı ve klorheksidinin *E. faecalis*'e karşı diskler etrafındaki inhibisyon çapları arasında önemli bir fark bulunamamıştır. Bununla birlikte kuyucuk difüzyon yönteminde çay ağacı yağının antibakteriyel etkinliği klorheksidine göre anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur. Çalışmanın sonucu benzer şekilde çay ağacı yağının kök kanal irrigasyon materyali olarak kullanılabileceğini in vitro olarak desteklemektedir.

Mertas, Garbusińska, Szliszka, Jureczko, Kowalska ve Król (2015) 32 farklı flukanazole dirençli *C. albicans* suşu üzerinde, çay ağacı yağı ve ana biyoaktif bileşeni terpinen-4-olün ve bunların flukanazol ile kombinasyonlarının antifungal etkinliğini broth makrodilüsyon yöntemi ile MİK ve MFK değerlerini belirleyerek araştırmıştır. Çay ağacı yağının *C. albicans* için MİK değeri %0,06 ile %0,5 aralığında bulunmuştur. Sunulan çalışmada bu değer %1,56 ile %3,12 arasında bulunmuştur. Oluşan farkın nedeni kullandıkları çay ağacı yağının %10'luk Tween 80 ile ekstrakte edilmiş olması, çalışmada kullandığımız çay ağacı yağının ise distilasyon yöntemi ile elde edilmiş %100 konsantrasyonlu olması olabilir. Mertas ve diğerlerinin (2015) yaptıkları çalışmanın sonucunda çay ağacı yağı ve terpinen-4-ol ile kombine kullanılan flukanazolün antikandidal aktivitesinin arttığını, terpinen-4-olün çay ağacı yağına göre bu etkiyi daha fazla arttırdığını rapor etmişlerdir. Bununla birlikte çay ağacı yağı ve terpinen-4-ol *C. albicans*'a karşı antimikrobiyal etkinlik göstermektedir. Sunulan tez

çalışmasının sonucunda benzer olarak çay ağacı yağı *C. albicans*'a karşı yüksek antikandidal etkinlik göstermiştir. Disk difüzyon yöntemi sonucuna göre kullanılan ürünler içinde *C. albicans* üzerinde çay ağacı yağı anlamlı olarak en yüksek antimikrobiyal etkinlik gösteren doğal kaynaklı ürün olmuştur.

Prabhakar, Ahuja ve Basappa (2009) yaptıkları in vivo bir çalışmada köri yaprakları, sarımsak ve çay ağacı yağı içerikli gargaraların *S. mutans* ve *L. acidophilus*'a karşı antimikrobiyal etkinliğini değerlendirmek ve karşılaştırmak için 7 gün boyunca 36 çocukta denemiştir. Gargara uygulayan çocuklardan gargara uygulamadan önce, gargara uygulandıktan yarım saat sonra, gargara uyguladıktan sonra 3. ve 7. gün tükürük örnekleri alınmıştır. 7. günden sonra gargara çocukların gargara yapması bırakılmış ve kalıcılığı gözlemlemek için 14. günde tükürük örneği alınmıştır. Ardından alınan tükürükler besi yerine ekilmiş ve koloni sayımı yapılmıştır. Çalışmanın sonucunda %2,5 köri yaprağı, %2,5 sarımsak ve %0,2 çay ağacı yağı içeren gargaraların, *S. mutans* ve *L. acidophilus* sayılarını önemli ölçüde azalttığı bildirilmiştir. Sunulan çalışmada, benzer olarak çay ağacı yağı; *S. mutans* ve *L. acidophilus* patojenlerine karşı %2'lik klorheksidin diglukonat kadar etkin olmasa da anlamlı derecede antibakteriyel bulunmuştur.

Karbach, Ebenezer, Warnke, Behrens ve Al-Nawas (2015) yaptıkları çalışmada çay ağacı yağı, okaliptüs yağı, limon otu yağı ve okaliptüs bazlı yağ karışımının oral patojenlere karşı antimikrobiyal etkinliklerini klorheksidin diglukonat, povidon iyodin ve oktenidin dihidroklorür antiseptikleri ile karşılaştırmalı olarak değerlendirmişlerdir. Deney agar difüzyon testi ile yapılmış çalışmanın sonucunda kullanılan tüm doğal ürünler oral patojenlere karşı etkinlik göstermiş ve en etkin olanlar limon otu yağı, okaliptüs bazlı yağ karışımı ve klorheksidin bulunmuştur. Sunulan çalışmanın sonucunda, benzer olarak çay ağacı yağını *S. mutans*, *E. faecalis* ve *C. albicans*'a karşı bakterisidal etkinlik gösterdiği gözlemlenmiştir.

Demirtaş (2020) yaptığı bir çalışmada, kıvılcık kabuğu ekstaktının bağırsak mikrobiyotasında bulunan bazı yerleşik ve patojenik bakteriler üzerine etkisini mikrodilüsyon yöntemi ile değerlendirmiştir. Çalışmaların ortak noktası kıvılcık kabuğu ekstaktının *L. acidophilus* üzerine etkisinin incelenmesidir. Sunulan çalışmada kullanılan kıvılcık kabuğu ekstaktı ürünün menşei ve ticari firması

aynıdır. Benzer olarak *L. acidophilus*'a karşı disk difüzyon yönteminde herhangi bir antimikrobiyal etkinlik göstermezken farklı olarak kuyucuk difüzyon ve mikrodilüsyon yöntemlerinde etkinlik göstermiştir.

Dığrak, İlçim, ve Hakkı-Alma (1999) yaptıkları çalışmada benzer olarak kızılçam kabuğu ekstraktınının disk difüzyon yöntemi ile *C. albicans*'a karşı antimikrobiyal etkinliğini çalışmışlar ve sonucu olumsuz bulmuşlardır. Ancak sunulan çalışmada farklı olarak kızılçam kabuğu ekstraktı antikandida bulunmuştur. Bu farklılığın sebebi, ekstrakte edilen kızılçam kabuğunun farklı coğrafyalardan köken alması olabilir. Kızılçam kabuğu ekstraktının oral patojenlere karşı etkinliğini değerlendiren karşılaştırma yapabileceğimiz herhangi başka bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Sunulan bu tez çalışması in vitro koşullarda yapılmış bir çalışmadır. Laboratuvar testleri antiseptiklerin, antimikrobiyal etkilerinin değerlendirilmesi için ilk adımdır. Çalışmanın gerçekleştirildiği koşullar, doğal ürünlerin klinik kullanım potansiyellerini tam olarak yansıtamamaktadır. Bu yönden çalışmanın zayıf yönü olarak kabul edilmiştir. Bu çalışmanın in vivo testlerinin de yapılması önerilmektedir. Çalışmanın bir diğer zayıf yanı ise kullandığımız solüsyonların uçucu özelliklerinin dezavantaj yaratmasıdır. Bu anlamda, sıcaklıktaki herhangi bir değişiklik, aktivitelerinde önemli bir etkiye sahip olabilmektedir. Antiseptik maddelerin etkinliklerinde etkili maddenin konsantrasyonu önem taşımaktadır. Bu çalışmada elde edilen MİK değerleri doğrultusunda sitotoksisite testleri ile yapılan toksisite değerlendirmesi de yararlı olacaktır. In vitro gerçekleştirdiğimiz tez çalışmamızın sonuçları ışığında doğal kaynaklı ürünlerin antimikrobiyal etkinliklerinin desteklenmesi için in vivo çalışmalara ihtiyaç vardır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yeni bir ürün olan taş suyu, çam terebentin esansı, zeytin yaprağı ekstraktı, üzüm çekirdeği yağı, Hindistan cevizi yağı, propolis, çay ağacı yağı, kızılçam kabuğu ekstraktı doğal ürünlerinin; klorheksidin, distile su ve ekstrakt çözücüsü gliserol ile karşılaştırmalı olarak *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus acidophylus* ve *Candida albicans* oral patojenlerine karşı antimikrobiyal etkinliklerinin in vitro şartlar altında değerlendirildiği çalışmamızda aşağıdaki sonuçlar ortaya çıkmıştır:

- Çam terebentin, propolis, çay ağacı yağı ve kızılçam kabuğu ekstraktı; *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus acidophylus* ve *Candida albicans* oral patojenlerine karşı antimikrobiyal etkinlik göstermektedir.
- Antimikrobiyal etkinlik gösteren doğal ürünlerden çay ağacı yağı *Candida albicans*'a karşı en yüksek antimikrobiyal etkinliği göstermiştir ve %2'lik klorheksidin diglukonattan anlamlı derece daha yüksek antikandidal aktivitesi olduğu bulunmuştur ($p<0.05$).
- Çam terebentin, propolis, çay ağacı yağı ve kızılçam kabuğu ekstraktı *Lactobacillus acidophylus*'a karşı etkinlik gösterse de %2'lik klorheksidin diglukonat kadar yüksek antibakteriyel özellik göstermemiştir. *Streptococcus mutans* ve *Enterococcus faecalis*'e karşı ise en az klorheksidin kadar antimikrobiyal oldukları görülmüştür.
- Çam terebentin disk difüzyon testine göre *Streptococcus mutans*'a karşı kullanılan doğal kaynaklı ürünler içinde en antibakteriyel etkili olanı bulunurken kuyucuk difüzyon testine göre propolis ve kızılçam kabuğu ekstraktı ile istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık göstermemiştir ($p<0.05$).
- Distile su ve doğal ürünlerin ekstrakt çözücüsü gliserol ise seçilen oral patojenlere karşı hiç antimikrobiyal etkinlik göstermemiştir.

Sonuç olarak; çam terebentin, propolis, çay ağacı yağı ve kızılçam kabuğu ekstraktının seçilen mikroorganizmalar üzerinde in vitro ortamda en az %2'lik klorheksidin kadar etkili olduğu görüldü. Bu doğal ürünler diş çürüğünün engellenmesi, restorasyon öncesi kavite dezenfeksiyonu ve kök kanal tedavilerinde irrigasyon solüsyonu olarak klorheksidine alternatif olarak ve oral kandida enfeksiyonların tedavisinde kullanılabilmesi açısından in vitro gerçekleştirilen antibakteriyel etkinlik çalışmasında umut verici sonuçlar vermektedir.

Sunulan tez çalışması, doğal kaynaklı ürünlerin antimikrobiyal etkilerinin değerlendirilmesi için ilk basamaktır. In vitro gerçekleştirilen çalışma, doğal ürünlerin klinik olarak kullanılma uygulunun kanıtlanması açısından yeterli veri sağlamamaktadır. Bu nedenle, doğal kaynaklı ürünlerin antimikrobiyal etkinliklerinin çekilmiş dişler üzerinde denendiği ve sitotoksikite testleri ile toksik olmadığı kanıtlanan çalışmalar sonrası klinik koşullarda değerlendirilmelerine ihtiyaç vardır. Daha ileri araştırmalarda, çalışmamızda etkin bulduğumuz doğal ürünlerin, insan oral mukoza hücrelerinde yapacağı etkiler de değerlendirilmelidir. Antimikrobiyal etkinliği in vitro kanıtlanmış doğal kaynaklı ürünlerin, klinik olarak kullanımlarının desteklenebilmesi için uzun dönem bağımsız klinik çalışmaların yapılmasına ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

- Abbasi, A. J., Mohammadi, F., Bayat, M., Gema, S. M., Ghadirian, H., Seifi, H., and Bahrami, N. (2018). Applications of propolis in dentistry: a review. *Ethiopian Journal of Health Sciences*, 28(4), 505-5012.
- Afzal, A., Gopal, V. R., Pillai, R., Jacob, A. S., U-Nu, S., and Shan, S. (2013). Antimicrobial activity of various irrigants against *E. faecalis* biofilm: an in vitro study. *Journal of Interdisciplinary Dentistry*, 3(2), 103.
- Aghbali, A., Hosseini, S. V., Delazar, A., Gharavi, N. K., Shahneh, F. Z., Orangi, M., and Baradaran, B. (2013). Induction of apoptosis by grape seed extract (*Vitis vinifera*) in oral squamous cell carcinoma. *Bosnian Journal of Basic Medical Sciences*, 13(3), 186.
- Agrawal, V., Kapoor, S., and Agrawal, I. (2017). Critical review on eliminating endodontic dental infections using herbal products. *Journal of Dietary Supplements*, 14(2), 229-240.
- Ahmed, H. M. A. (2013). Anatomical challenges, electronic working length determination and current developments in root canal preparation of primary molar teeth. *International Endodontic Journal*, 46(11), 1011-1022.
- Ahmed, K. M., Talabani, N., and Altaei, T. (2013). Olive leaf extract as a new topical management for oral mucositis following chemotherapy: a microbiological examination, experimental animal study and clinical trial. *Pharmaceutica Analytica Acta*, 4(9), 269.
- Airen, B., Sarkar, P. A., Tomar, U., and Bishen, K. A. (2018). Antibacterial effect of propolis derived from tribal region on *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus acidophilus*: an in vitro study. *Journal of Indian Society of Pedodontics and Preventive Dentistry*, 36(1), 48.
- Akça, A. E., Akça, G., Topçu, F. T., Macit, E., Pıkdöken, L., and Özgen, I. Ş. (2016). The comparative evaluation of the antimicrobial effect of propolis with chlorhexidine against oral pathogens: An in vitro study. *BioMed Research International*, 3627463, 1-8.
- Akhlaghi, N., Sadeghi, M., Fazeli, F., Akhlaghi, S., Mehnati, M., and Sadeghi, M. (2019). The antibacterial effects of coffee extract, chlorhexidine, and fluoride against *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus plantarum*: An in vitro study. *Dental Research Journal*, 16(5), 346.
- Aktaş, N. (2017). *Kök Kanal Dezenfeksiyonunda Ozonun Ve Bitkisel İçerikli Ajanların Antimikrobiyal Etkinliklerinin İn Vitro Değerlendirilmesi*, Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 129-130.

- Al-Ahmad, A., Ameen, H., Pelz, K., Karygianni, L., Wittmer, A., Anderson, A. C., Spitzmüller, B., and Hellwig, E. (2014). Antibiotic resistance and capacity for biofilm formation of different bacteria isolated from endodontic infections associated with root-filled teeth. *Journal of Endodontics*, 40(2), 223-230.
- Alam, T., Nakazawa, F., Nakajo, K., Uematsu, H., and Hoshino, E. (2005). Susceptibility of *Enterococcus faecalis* to a Combination of Antibacterial Drugs (3Mix) in vitro. *Journal of Oral Biosciences*, 47(4), 315-320.
- Almaz, M. E., Sönmez, I. Ş., Ökte, Z., and Oba, A. A. (2017). Efficacy of a sugar-free herbal lollipop for reducing salivary *Streptococcus mutans* levels: a randomized controlled trial. *Clinical oral investigations*, 21(3), 839-845.
- Almeida, A. A. P., Naghetini, C. C., Santos, V. R., Antonio, A. G., Farah, A., and Glória, M. B. A. (2012). Influence of natural coffee compounds, coffee extracts and increased levels of caffeine on the inhibition of *Streptococcus mutans*. *Food Research International*, 49(1), 459-461.
- Andrews, J. M. (2001). Determination of minimum inhibitory concentrations. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 48(1), 5-16.
- Antonio, A. G., Iorio, N. L. P., Pierro, V. S. S., Candreva, M. S., Farah, A., Dos Santos, K. R. N., and Maia, L. C. (2011). Inhibitory properties of *Coffea canephora* extract against oral bacteria and its effect on demineralisation of deciduous teeth. *Archives of Oral Biology*, 56(6), 556-564.
- Anusuya, V., Jena, A. K., and Sharan, J. (2020). Grape seed extracts in dental therapy. In D. N. Chauhan, P. R. Singh, K. Shah, and N. S. Chauhan (Eds.), *Natural Oral Care in Dental Therapy*. New Jersey: John Wiley & Sons, 229-258.
- Appak-Baskoy, S., Teksoy, O., Cengiz, M., Ozkan, A. D., Eskiler, G. G., Bilici, N., and Ayhanci, A. (2019). Stone alkaline water induces apoptosis of prostate cancer cells and inhibits tumor cell induced angiogenesis in vitro. *BioRxiv*, 1-20.
- Arada, J. M. G., and Perez, Z. C. (2019). Phytotherapy in dentistry: survey of products of plant origin for health oral. *Brazilian Journal of Implantology and Health Sciences*, 1(3), 1-6.
- Avinc, O., Celik, A., Gedik, G., and Yavas, A. (2013). Natural dye extraction from waste barks of Turkish red pine (*Pinus brutia* Ten.) timber and eco-friendly natural dyeing of various textile fibers. *Fibers and Polymers*, 14(5), 866-873.
- Awawdeh, L., AL-Beitawi, M., and Hammad, M. (2009). Effectiveness of propolis and calcium hydroxide as a short-term intracanal medicament against *Enterococcus faecalis*: A laboratory study. *Australian Endodontic Journal*, 35(2), 52-58.
- Aydın, M. ve Mısırlıgil, A. (2012). *Diş hekimleri için ağız mikrobiyolojisi*. Ankara: MN Medikal & Nobel, 59-2016.

- Aydın, M., Koyuncuoglu, C. Z., Kilboz, M. M. ve Akici, A. (2017). Dis Hekimliginde Akilci Antibiyotik Kullanimi/The Rational Use of Antibiotics in Dentistry. *Turkiye Klinikleri. Dishekimligi Bilimleri Dergisi*, 23(1), 33.
- Aytar, M., Oryaşın, E., Başbülbul, G. ve Bozdoğan, B. (2019). Agar Well Difüzyon Yönteminde Standardizasyon Çalışması. *Bartın University International Journal of Natural and Applied Sciences*, 2(2), 138-145.
- Babickaite, L., Ramanauskiene, K., Grigonis, A., Ivaskiene, M., Daunoras, G., Klimiene, I., and Matusevicius, A. P. (2016). Determination of antimicrobial activity of chlorhexidine gel. *Acta Poloniae Pharmaceutica*, 73(6), 1623-1630.
- Bağış, Y. H. ve Bağış, N. (2019). Farklı ağız gargalarının antibakteriyel etkilerinin in-vitro olarak incelenmesi. *Ankara Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi*, 46(1), 1-6.
- Bakkaloğlu, Z. ve Arıcı, M. (2019). Farklı çözücülerle propolis ekstraksiyonunun toplam fenolik içeriği, antioksidan kapasite ve antimikrobiyal aktivite üzerine etkileri. *Academic Food Journal/Akademik GIDA*, 17(4), 538-545.
- Balouiri, M., Sadiki, M., and Ibensouda, S. K. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of pharmaceutical analysis*, 6(2), 71-79.
- Bankova, V. S., de Castro, S. L., and Marcucci, M. C. (2000). Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. *Apidologie*, 31(1), 3-15.
- Bansal, R., and Jain, A. (2014). Overview on the current antibiotic containing agents used in endodontics. *North American Journal of Medical Sciences*, 6(8), 351.
- Beena, M. S. (2020). Characterization and virulence of candida isolated from children with dental caries and its susceptibility to various antimicrobial agents. In *Candidiasis*. IntechOpen, 1-20.
- Bernal-Mercado, A. T., Vazquez-Armenta, F. J., Tapia-Rodriguez, M. R., Islas-Osuna, M. A., Mata-Haro, V., Gonzalez-Aguilar, G. A., Lopez-Zavala, A. A., and Ayala-Zavala, J. F. (2018). Comparison of single and combined use of catechin, protocatechuic, and vanillic acids as antioxidant and antibacterial agents against uropathogenic Escherichia coli at planktonic and biofilm levels. *Molecules*, 23(11), 2813.
- Bertoni, M., Oliveri, F., Manghetti, M., Boccolini, E., Bellomini, M. G., Blandizzi, C., and Del Tacca, M. (2002). Effects of a bicarbonate-alkaline mineral water on gastric functions and functional dyspepsia: a preclinical and clinical study. *Pharmacological Research*, 46(6), 525-531.
- Blondell, J. M. (1980). The anticarcinogenic effect of magnesium. *Medical Hypotheses*, 6(8), 863-871.
- Bouaziz, M., Hammami, H., Bouallagui, Z., Jemai, H., and Sayadi, S. (2008). Production of antioxidants from olive processing by-products. *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry*, 7(8), 3231-3236.

- Braga, A. S., Degand, G. B., Pires, J. G., Santos, D. M. S. D., and Magalhaes, A. C. (2018). Effect of oral antimicrobial mouthrinses containing alcohol on viability of *Streptococcus mutans* and microcosm biofilm and on the prevention of enamel caries lesions. *American Journal of Dentistry*, 31(3), 121-125.
- Brun, P., Bernabè, G., Filippini, R., and Piovan, A. (2019). In vitro antimicrobial activities of commercially available tea tree (*Melaleuca alternifolia*) essential oils. *Current Microbiology*, 76(1), 108-116.
- Canan, D. ve Özalp, N. (2013). Ağız-diş sağlığının vazgeçilmezi: diş macunları. *Acta Odontologica Turcica*, 30(3), 149-56.
- Caprioli, A., Busani, L., Martel, J. L., and Helmuth, R. (2000). Monitoring of antibiotic resistance in bacteria of animal origin: epidemiological and microbiological methodologies. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 14(4), 295-301.
- Carnelio, S., Khan, S. A., and Rodrigues, G. (2008). Definite, probable or dubious: antioxidants trilogy in clinical dentistry. *British Dental Journal*, 204(1), 29-32.
- Cha, J. D., Jeong, M. R., Jeong, S. I., Moon, S. E., Kil, B. S., Yun, S. I., and Song, Y. H. (2007). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Cryptomeria japonica*. *Phytotherapy Research*, 21(3), 295-299.
- Chandra, S. (2014). *Grossman's endodontic practice*. 13th Edition. B. S. Chandra, and V. Gopikrishna (Eds.). India: Wolters Kluwer Pvt. Ltd., 355-356.
- Chandrdas, D., Jayakumar, H. L., Chandra, M., Katodia, L., and Sreedevi, A. (2014). Evaluation of antimicrobial efficacy of garlic, tea tree oil, cetylpyridinium chloride, chlorhexidine, and ultraviolet sanitizing device in the decontamination of toothbrush. *Indian Journal of Dentistry*, 5(4), 183.
- Chandwani, M., and Chandak, S. (2017). Assessment of facultative anaerobes from the root canals of deciduous molars: An in vivo study. *Journal of Dental Research, Dental Clinics, Dental Prospects*, 11(2), 96.
- Chaudhary, N. K., Guragain, B., Lamichhane-Khadka, R., and Bhattarai, A. (2020). Solution properties and comparative antimicrobial efficacy study of different brands of toothpaste of Nepal. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*, 9(22), 1-9.
- Cheung, H. Y., Wong, M. M. K., Cheung, S. H., Liang, L. Y., Lam, Y. W., and Chiu, S. K. (2012). Differential actions of chlorhexidine on the cell wall of *Bacillus subtilis* and *Escherichia coli*. *PLoS One*, 7(5), e36659.
- Cieplik, F., Deng, D., Crielaard, W., Buchalla, W., Hellwig, E., Al-Ahmad, A., and Maisch, T. (2018). Antimicrobial photodynamic therapy—what we know and what we don't. *Critical Reviews in Microbiology*, 44(5), 571-589.
- Cieplik, F., Jakubovics, N. S., Buchalla, W., Maisch, T., Hellwig, E., and Al-Ahmad, A. (2019). Resistance toward chlorhexidine in oral bacteria—Is there cause for concern?. *Frontiers in Microbiology*, 10, 587.

- Citron, D. M., Ostovari, M. I., Karlsson, A., and Goldstein, E. J. (1991). Evaluation of the E test for susceptibility testing of anaerobic bacteria. *Journal of Clinical Microbiology*, 29(10), 2197-2203.
- Cruz-Martinez, C., Diaz-Gomez, M., and Oh, M. S. (2017). Use of traditional herbal medicine as an alternative in dental treatment in Mexican dentistry: a review. *Pharmaceutical Biology*, 55(1), 1992-1998.
- Czaplewski, L., Bax, R., Clokie, M., Dawson, M., Fairhead, H., Fischetti, V. A., and Henderson, I. R. (2016). Alternatives to antibiotics-a pipeline portfolio review. *The Lancet Infectious Diseases*, 16(2), 239-251.
- Dagli, N., Dagli, R., Mahmoud, R. S., and Baroudi, K. (2015). Essential oils, their therapeutic properties, and implication in dentistry: a review. *Journal of International Society of Preventive & Community Dentistry*, 5(5), 335.
- Davies, G. E., Francis, J., Martin, A. R., Rose, F. L., and Swain, G. (1954). 1: 6-di-4'-chlorophenyldiguanidohexane ("hibitane"). Laboratory investigation of a new antibacterial agent of high potency. *British Journal of Pharmacology and Chemotherapy*, 9(2), 192.
- Decker, E. M., Von Ohle, C., Weiger, R., Wiech, I., and Brex, M. (2005). A synergistic chlorhexidine/chitosan combination for improved antiplaque strategies. *Journal of Periodontal Research*, 40(5), 373-377.
- Demir, H. (2016). In vitro antimicrobial activity of derik olive leaves and determination of total phenolic and flavonoid content. *International Engineering, Science and Education Conference (INESEC) Science Proceeding Book*, 1-3 December, Diyarbakır, 249.
- Demir, L. (2019). *Çay ağacı ve portakal yağlarının antibakteriyel ve antifungal etkinliğinin araştırılması*. Yayımlanmamış Yüksek Lisans Tezi, Sakarya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Sakarya, 8-10.
- Demirtaş, A. (2020). Influence of pinus brutia bark extract containing phenolic compounds on some commensal and pathogenic bacteria from the intestinal microflora. *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 5(2), 34-39.
- Dığrak, M., İlçim, A., and Hakkı-Alma, M. (1999). Antimicrobial activities of several parts of Pinus brutia, Juniperus oxycedrus, Abies cilicia, Cedrus libani and Pinus nigra. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 13(7), 584-587.
- Dick, T. N. A., Marques, L. C., Lopes, A. D. A. L., Candreva, M. S., Santos, L. R., and Picciani, B. L. S. (2020). Phytotherapy in dentistry: a literature review based on clinical data. *European Journal of Medicinal Plants*, 1-13.
- Dokuz Eylül Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Çevre Mühendisliği Bölümü (DEÜ) (2014). *Taş Suyu İçerik Bilgi Raporu*. İzmir: Dokuz Eylül Üniversitesi, 1.

- Ellison, S. J. (2009). The role of phenoxymethylpenicillin, amoxicillin, metronidazole and clindamycin in the management of acute dentoalveolar abscesses-a review. *British Dental Journal*, 206(7), 357-362.
- Erbil, N. ve Arslan, M. (2017). Penisilin grubu bir antibiyotik olan amoksisilin-klavulanik asit (amoklavın)'ın antibakteriyel aktivitesi ve mutajenik etkisinin belirlenmesi. *Tarım ve Doğa Dergisi*, 20(3), 242.
- Ergün, G., Şahin, Z. ve Kara, İ. (2020). Diş hekimliğinde tamamlayıcı bitkisel tedaviler. *Akdeniz Medical Journal*, 2, 145-153.
- Esteves, I., Souza, I. R., Rodrigues, M., Cardoso, L. G. V., Santos, L. S., Sertie, J. A. A., Perazzo, F. F., Lima, L. M., Schneedorf, J. M., Bastos, J. K., and Carvalho, J. C. T. (2005). Gastric antiulcer and anti-inflammatory activities of the essential oil from *Casearia sylvestris* Sw. *Journal of Ethnopharmacology*, 101(1-3), 191-196.
- Falzon, C. C., and Balabanova, A. (2017). Phytotherapy: an introduction to herbal medicine. *Primary Care: Clinics in Office Practice*, 44(2), 217-227.
- Fenton, T. R., and Huang, T. (2016). Systematic review of the association between dietary acid load, alkaline water and cancer. *BMJ Open*, 6(6), e010438.
- Ferrazzano, G. F., Amato, I., Ingenito, A., Zarrelli, A., Pinto, G., and Pollio, A. (2011). Plant polyphenols and their anti-cariogenic properties: a review. *Molecules*, 16(2), 1486-1507.
- Fiallos, N. D. M., Cecchin, D., de Lima, C. O., Hirata Jr, R., Silva, E. J. N. L., and Sassone, L. M. (2020). Antimicrobial effectiveness of grape seed extract against *Enterococcus faecalis* biofilm: A Confocal Laser Scanning Microscopy analysis. *Australian Endodontic Journal*, 46(2), 191-196.
- Firdaus, N. S., Fauziah, E., and Sutadi, H. (2019). Antibacterial effectiveness of virgin coconut oil mousse against streptococcus mutans biofilm in early childhood caries. *Journal of International Dental and Medical Research*, 12(2), 429-433.
- Furneri, P. M., Marino, A., Saija, A., Uccella, N., and Bisignano, G. (2002). In vitro antimycoplasmal activity of oleuropein. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 20(4), 293-296.
- Gavanji, S., and Larki, B. (2017). Comparative effect of propolis of honey bee and some herbal extracts on *Candida albicans*. *Chinese Journal of Integrative Medicine*, 23(3), 201-207.
- George, D., Bhat, S. S., and Antony, B. (2009). Comparative evaluation of the antimicrobial efficacy of Aloe vera tooth gel and two popular commercial toothpastes: an in vitro study. *General Dentistry*, 57(3), 238-41.

- Ghonmode, W. N., Balsaraf, O. D., Tambe, V. H., Saujanya, K. P., Patil, A. K., and Kakde, D. D. (2013). Comparison of the antibacterial efficiency of neem leaf extracts, grape seed extracts and 3% sodium hypochlorite against *E. feacalis*—an in vitro study. *Journal of International Oral Health*, 5(6), 61.
- Gikas, E., Bazoti, F. N., and Tsarbopoulos, A. (2007). Conformation of oleuropein, the major bioactive compound of *Olea europea*. *Journal of Molecular Structure*, 821(1-3), 125-132.
- Glupczynski, Y., Broutet, N., Cantagrel, A., Andersen, L., Alarcon, T., Lopez-Brea, M., and Megraud, F. (2002). Comparison of the E test and agar dilution method for antimicrobial susceptibility testing of *Helicobacter pylori*. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 21(7), 549-552.
- Godbole, E., Tyagi, S., Kulkarni, P., Singla, S., Mali, S., and Helge, S. (2019). Efficacy of liquorice and propolis extract used as cavity cleaning agents against streptococcus mutans in deciduous molars using confocal microscopy: an in vitro study. *International Journal of Clinical Pediatric Dentistry*, 12(3), 194.
- Grawish, M. E., Zyada, M. M., and Zaher, A. R. (2011). Inhibition of 4-NQO-induced F433 rat tongue carcinogenesis by oleuropein-rich extract. *Medical Oncology*, 28(4), 1163-1168.
- Grenier, D., Bertrand, J., and Mayrand, D. (1995). Porphyromonas gingivalis outer membrane vesicles promote bacterial resistance to chlorhexidine. *Oral Microbiology and Immunology*, 10(5), 319-320.
- Grosso, F. C., Bergamaschi, C. D. C., Cogo, K., Franz-Montan, M., Motta, R. H. L., and Andrade, E. D. D. (2008). Use of phytotherapy in dentistry. *Phytotherapy Research*, 22(8), 993-998.
- Gröber, U., Schmidt, J., and Kisters, K. (2015). Magnesium in prevention and therapy. *Nutrients*, 7(9), 8199-8226.
- Gupta, N., and Bhat, M. (2011). Comparative evaluation of 0.2 percent chlorhexidine and magnetized water as a mouth rinse on Streptococcus mutans in children. *International Journal of Clinical Pediatric Dentistry*, 4(3), 190.
- Guzmán-Blanco, M., Casellas, J. M., and Sader, H. S. (2000). Bacterial resistance to antimicrobial agents in Latin America: the giant is awakening. *Infectious Disease Clinics of North America*, 14(1), 67-81.
- Günay, H., Dmoch-Bockhorn, K., Günay, Y., and Geurtsen, W. (1998). Effect on caries experience of a long-term preventive program for mothers and children starting during pregnancy. *Clinical oral Investigations*, 2(3), 137-142.
- Hayacibara, M. F., Koo, H., Rosalen, P. L., Duarte, S., Franco, E. M., Bowen, W. H., Ikegaki, M., and Cury, J. A. (2005). In vitro and in vivo effects of isolated fractions of Brazilian propolis on caries development. *Journal of Ethnopharmacology*, 101(1-3), 110-115.

- Hepdeniz, Ö. K. ve Seçkin, Ö. (2017). Dinamik mikrobiyal bir yaşam: oral biyofilm. *SDU Journal of Health Science Institute/SDÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 8(3), 47-55.
- Hierholzer, J. C., and Kabara, J. J. (1982). In vitro effects of Monolaurins on enveloped RNA and DNA viruses. *Journal of Food Safety*, 4(1), 12.
- Hmamouchi, M., Hamamouchi, J., Zouhdi, M., and Bessiere, J. M. (2001). Chemical and antimicrobial properties of essential oils of five Moroccan Pinaceae. *Journal of Essential Oil Research*, 13(4), 298-302.
- Houghton, P. J. (1999). The scientific basis for the reputed activity of Valerian. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 51(5), 505-512.
- Ikeno, K., Ikeno, T., and Miyazawa, C. (1991). Effects of propolis on dental caries in rats. *Caries Research*, 25(5), 347-351.
- Jawale, K. D., Kamat, S. B., Patil, J. A., Nanjannawar, G. S., and Chopade, R. V. (2017). Grape seed extract: An innovation in remineralization. *Journal of Conservative Dentistry*, 20(6), 415.
- Jiang, S., Zeng, J., Zhou, X., and Li, Y. (2018). Drug resistance and gene transfer mechanisms in respiratory/oral bacteria. *Journal of Dental Research*, 97(10), 1092-1099.
- Jones, C. G. (1997). Chlorhexidine: is it still the gold standard?. *Periodontology* 2000, 15(1), 55-62.
- Joshi, S., Kaushik, V., Gode, V., and Mhaskar, S. (2020). Coconut Oil and Immunity: What do we really know about it so far?. *The Journal of the Association of Physicians of India*, 68(7), 67-72.
- Kamath, N. P., Tandon, S., Nayak, R., Naidu, S., Anand, P. S., and Kamath, Y. S. (2020). The effect of aloe vera and tea tree oil mouthwashes on the oral health of school children. *European Archives of Paediatric Dentistry*, 21(1), 61-66.
- Kamath, U., Sheth, H., Ramesh, S., and Singla, K. (2013). Comparison of the antibacterial efficacy of tea tree oil with 3% sodium hypochlorite and 2% Chlorhexidine against *E. faecalis*: an in vitro study. *Journal of Contemporary Dentistry*, 3(3), 117.
- Kampf, G. (2018). Biocidal agents used for disinfection can enhance antibiotic resistance in gram-negative species. *Antibiotics*, 7(4), 110.
- Kanth, M. R., Prakash, A. R., Sreenath, G., Reddy, V. S., and Huldah, S. (2016). Efficacy of specific plant products on microorganisms causing dental caries. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 10(12), ZM01.
- Karadağlıoğlu, Ö. İ. (2019). *Uçucu yağ ilave edilmiş bitkisel içerikli diş macunlarının streptococcus mutans üzerindeki antibakteriyel etkinliğinin incelenmesi*. Yayınlanmamış Doktora Tezi, Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti Yakın Doğu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Lefkoşa, 16-26.

- Karbach, J., Ebenezer, S., Warnke, P. H., Behrens, E., and Al-Nawas, B. (2015). Antimicrobial effect of Australian antibacterial essential oils as alternative to common antiseptic solutions against clinically relevant oral pathogens. *Clinical Laboratory*, 61(1-2), 61-68.
- Karygianni, L., Al-Ahmad, A., Argyropoulou, A., Hellwig, E., Anderson, A. C., and Skaltsounis, A. L. (2016). Natural antimicrobials and oral microorganisms: a systematic review on herbal interventions for the eradication of multispecies oral biofilms. *Frontiers in Microbiology*, 6, 1529.
- Kayaoglu, G., Ömürlü, H., Akca, G., Gürel, M., Gençay, Ö., Sorkun, K., and Salih, B. (2011). Antibacterial activity of Propolis versus conventional endodontic disinfectants against *Enterococcus faecalis* in infected dentinal tubules. *Journal of endodontics*, 37(3), 376-381.
- Kesik, H. İ., Aydoğan, H., Özkan, O. E., and Maraz, E. (2016). Combustion properties of Turkish fir impregnated with firetex. *FC 2016 International Furniture Congress*, 13-15 October, Muğla, 150-153.
- Kivrak, I., Kivrak, S., Harmandar, M., and Cetintas, Y. (2013). Phenolic compounds of *Pinus brutia* ten.: chemical investigation and quantitative analysis using an ultra-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry with electrospray ionization source. *Records of Natural Products*, 7(4), 313.
- Koh, K. J., Pearce, A. L., Marshman, G., Finlay-Jones, J. J., and Hart, P. H. (2002). Tea tree oil reduces histamine-induced skin inflammation. *British Journal of Dermatology*, 147(6), 1212-1217.
- Koru, O., Toksoy, F., Acikel, C. H., Tunca, Y. M., Baysallar, M., Guclu, A. U., and Salih, B. (2007). In vitro antimicrobial activity of propolis samples from different geographical origins against certain oral pathogens. *Anaerobe*, 13(3-4), 140-145.
- Kripal, K., Chandrasekaran, K., Chandrasekaran, S., Kumar, V. R., Chavan, S. K. D., and Dileep, A. (2019). Treatment of dentinal hypersensitivity using propolis varnish: A scanning electron microscope study. *Indian Journal of Dental Research*, 30(2), 249.
- Kujumgiev, A., Tsvetkova, I., Serkedjieva, Y., Bankova, V., Christov, R., and Popov, S. (1999). Antibacterial, antifungal and antiviral activity of propolis of different geographic origin. *Journal of Ethnopharmacology*, 64(3), 235-240.
- Kumar, P. S. (2020). The influence of *Azadirachta indica*, *Melaleuca alternifolia*, and *Cocos nucifera* on *Candida albicans* strain in tissue conditioner at varying time intervals. *The Journal of Indian Prosthodontic Society*, 20(2), 171.
- Külekçi, G. (2013). Ağız sağlığının yeni tanımı: ağız mikrobiyomu. *ANKEM Dergisi*, 27(3), 167-172.

- Lagha, A. B., Haas, B., and Grenier, D. (2017). Tea polyphenols inhibit the growth and virulence properties of *Fusobacterium nucleatum*. *Scientific Reports*, 7, 44815.
- Lakade, L. S., Shah, P., and Shirol, D. (2014). Comparison of antimicrobial efficacy of chlorhexidine and combination mouth rinse in reducing the Mutans streptococcus count in plaque. *Journal of Indian Society of Pedodontics and Preventive Dentistry*, 32(2), 91.
- Lederberg, J., and McCray, A. T. (2001). Ome SweetOmics--A genealogical treasury of words. *The Scientist*, 15(7), 8-8.
- Lee, D. W., Jung, J. E., Yang, Y. M., Kim, J. G., Yi, H. K., and Jeon, J. G. (2016). The antibacterial activity of chlorhexidine digluconate against *Streptococcus mutans* biofilms follows sigmoidal patterns. *European Journal of Oral Sciences*, 124(5), 440-446.
- Lee, S. S., Zhang, W. U., and Li, Y. (2004). The antimicrobial potential of 14 natural herbal dentifrices: results of an in vitro diffusion method study. *The Journal of the American Dental Association*, 135(8), 1133-1141.
- Li, W. R., Li, H. L., Shi, Q. S., Sun, T. L., Xie, X. B., Song, B., and Huang, X. M. (2016). The dynamics and mechanism of the antimicrobial activity of tea tree oil against bacteria and fungi. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 100(20), 8865-8875.
- Lim, A., Subhan, N., Jazayeri, J. A., John, G., Vanniasinkam, T., and Obied, H. K. (2016). Plant phenols as antibiotic boosters: in vitro interaction of olive leaf phenols with ampicillin. *Phytotherapy Research*, 30(3), 503-509.
- Lim, K. S., and Kam, P. C. A. (2008). Chlorhexidine-pharmacology and clinical applications. *Anaesthesia and Intensive Care*, 36(4), 502-512.
- Lobo, P. L. D., De Carvalho, C. B. M., Fonseca, S. G. C., De Castro, R. S. L., Monteiro, A. J., Fonteles, M. C., and Fonteles, C. S. R. (2008). Sodium fluoride and chlorhexidine effect in the inhibition of mutans streptococci in children with dental caries: a randomized, double-blind clinical trial. *Oral Microbiology and Immunology*, 23(6), 486-491.
- Luangtongkum, T., Morishita, T. Y., El-Tayeb, A. B., Ison, A. J., and Zhang, Q. (2007). Comparison of antimicrobial susceptibility testing of *Campylobacter* spp. by the agar dilution and the agar disk diffusion methods. *Journal of Clinical Microbiology*, 45(2), 590-594.
- Magwa, M. L., Gundidza, M., Gweru, N., and Humphrey, G. (2006). Chemical composition and biological activities of essential oil from the leaves of *Sesuvium portulacastrum*. *Journal of Ethnopharmacology*, 103(1), 85-89.
- Mansour, G., Ouda, S., Shaker, A., and Abdallah, H. M. (2014). Clinical efficacy of new aloe vera-and myrrh-based oral mucoadhesive gels in the management of minor recurrent aphthous stomatitis: a randomized, double-blind, vehicle-controlled study. *Journal of Oral Pathology and Medicine*, 43(6), 405-409.

- Marinho, V. C., Higgins, J., Logan, S., and Sheiham, A. (2003). Fluoride toothpastes for preventing dental caries in children and adolescents. *Cochrane database of Systematic Reviews*, (1), CD002278.
- Marsh, P. D. (2005). Dental plaque: biological significance of a biofilm and community life-style. *Journal of Clinical Periodontology*, 32, 7-15.
- Martins, M. L., de França Leite, K. L., Pacheco-Filho, E. F., de Miranda Pereira, A. F., Romanos, M. T. V., Maia, L. C., Fonseca-Gonçalves, A., Padilha, W. W. N., and Cavalcanti, Y. W. (2018). Efficacy of red propolis hydro-alcoholic extract in controlling *Streptococcus mutans* biofilm build-up and dental enamel demineralization. *Archives of Oral Biology*, 93, 56-65.
- Martins, M. L., Monteiro, A. S. N., Guimarães, J. E. C., Guimarães, M. B. D. C. T., da Silva, R. F., Cabral, L. M., and Cavalcanti, Y. W. (2019). Cytotoxic and antibacterial effect of a red propolis mouthwash, with or without fluoride, on the growth of a cariogenic biofilm. *Archives of Oral Biology*, 107, 104512.
- McCormack, M. G., Smith, A. J., Akram, A. N., Jackson, M., Robertson, D., and Edwards, G. (2015). *Staphylococcus aureus* and the oral cavity: an overlooked source of carriage and infection?. *American Journal of Infection Control*, 43(1), 35-37.
- McLennan, S. V., Bonner, J., Milne, S., Lo, L., Charlton, A., Kurup, S., Jia, J., Yue, D. K., and Twigg, S. M. (2008). The anti-inflammatory agent Propolis improves wound healing in a rodent model of experimental diabetes. *Wound Repair and Regeneration*, 16(5), 706-713.
- Medina, E., Romero, C., García, P., and Brenes, M. (2019). Characterization of bioactive compounds in commercial olive leaf extracts, and olive leaves and their infusions. *Food & Function*, 10(8), 4716-4724.
- Mercier, B., Prost, J., and Prost, M. (2009). The essential oil of turpentine and its major volatile fraction (α - and β -pinenes): a review. *International Journal of Occupational Medicine and Environmental Health*, 22(4), 331-342.
- Mertas, A., Garbusińska, A., Szliszka, E., Jureczko, A., Kowalska, M., and Król, W. (2015). The influence of tea tree oil (*Melaleuca alternifolia*) on fluconazole activity against fluconazole-resistant *Candida albicans* strains. *BioMed Research International*, 590470.
- Moran, J., Addy, M., Corry, D., Newcombe, R. G., and Haywood, J. (2001). A study to assess the plaque inhibitory action of a new zinc citrate toothpaste formulation. *Journal of Clinical Periodontology*, 28(2), 157-161.
- Mutluay, A. T. ve Mutluay, M. (2017). Diş hekimliğinde üçlü antibiyotik patın kullanımı. *ADO Klinik Bilimler Dergisi*, 8(2), 1561-1570.
- Nasir, N. A. M. M., Abllah, Z., Jalaludin, A. A., Shahdan, I. A., and Abd Manan, W. N. H. W. (2018). Virgin coconut oil and its antimicrobial properties against pathogenic microorganisms: a review. *International Dental Conference of Sumatera Utara 2017*. Paris: Atlantis Press, 192-199.

- Nazeri, R., Ghaiour, M., and Abbasi, S. (2019). Evaluation of antibacterial effect of propolis and its application in mouthwash production. *Frontiers in Dentistry*, 16(1), 1.
- Neto, E. M. R., Valadas, L. A. R., Lobo, P. L. D., Fernandes, A. M. B., da Cruz-Fonseca, S. G., Fechine, F. V., Junior, F. J. G., Bandeira, M. A. M., and de França-Fonteles, M. M. (2020). Dose-response evaluation of propolis dental varnish in children: a randomized control study. *Recent Patents on Biotechnology*, 14(1), 41-48.
- Nielsen, F. H. (2018). Magnesium deficiency and increased inflammation: current perspectives. *Journal of Inflammation Research*, 11, 25.
- Nollet, L. M., and Rathore, H. S. (2017). *Green pesticides handbook: Essential oils for pest control*. Florida: CRC Press, 269-285.
- O'Neill, J. (2016). *Tackling drug-resistant infections globally: Final report and recommendations*. The Review On Antimicrobial Resistance, United Kingdom, 1-72.
- Onbaşıllı, D. ve Azranur, D. A. L. (2020). Türk farmakopesindeki tıbbi bitkilerinin incelenmesi. *ERÜ Sağlık Bilimleri Fakültesi Dergisi*, 7(1), 22-36.
- Orsi, R. D. O., Sforcin, J. M., Funari, S. R. C., Fernandes Junior, A., and Bankova, V. (2006). Synergistic effect of propolis and antibiotics on the *Salmonella typhi*. *Brazilian Journal of Microbiology*, 37(2), 108-112.
- Ozan, F., Sümer, Z., Polat, Z. A., Er, K., Ozan, U., and Deger, O. (2007). Effect of mouthrinse containing propolis on oral microorganisms and human gingival fibroblasts. *European Journal of Dentistry*, 1(4), 195-201.
- Ozcan, C., and Esen, R. (2017). Determination of combustion properties of the firetex impregnated scotch pine. *3rd International Conference on Environmental Science and Technology*, 134- 139.
- Ozogul, Y., Kuley, E., Ucar, Y., and Ozogul, F. (2015). Antimicrobial impacts of essential oils on food borne-pathogens. *Recent Patents on Food, Nutrition & Agriculture*, 7(1), 53-61.
- Özan, F., Polat, Z. A., Er, K., Özan, Ü., and Değer, O. (2007). Effect of propolis on survival of periodontal ligament cells: new storage media for avulsed teeth. *Journal of Endodontics*, 33(5), 570-573.
- Özdaş, D. Ö. (2014). Güncelleme-Çocuk diş hekimliğinde koruyucu uygulamalar. *Selcuk Dental Journal*, 1(2), 84-91.
- Özen, F., Azaz, A.D. ve Çelen, S. (2004). *Taş suyu test analiz raporu*. Balıkesir Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü, Balıkesir, 1.

- Paludo, T., Marcondes, M. L., Souto, A. A., Lopes, G. C., Loguercio, A. D., and Spohr, A. M. (2019). Effect of grape seed extract-containing phosphoric acid formulations on bonding to enamel and dentin. *Brazilian Oral Research*, 33(98), 1-11.
- Pannuti, C. S., and Grinbaum, R. S. (1995). An overview of nosocomial infection control in Brazil. *Infection Control & Hospital Epidemiology*, 16(3), 170-174.
- Pazelli, L. C., Freitas, A. C. D., Ito, I. Y., Souza-Gugelmin, M. C. M. D., Medeiros, A. S., and Nelson-Filho, P. (2003). Prevalence of microorganisms in root canals of human deciduous teeth with necrotic pulp and chronic periapical lesions. *Pesquisa Odontológica Brasileira*, 17(4), 367-371.
- Peedikayil, F. C. (2019). Is coconut oil good for oral health? A review. *Journal of Health Research and Reviews*, 6(1), 1-4.
- Peedikayil, F. C., Remy, V., John, S., Chandru, T. P., Sreenivasan, P., and Bijapur, G. A. (2016). Comparison of antibacterial efficacy of coconut oil and chlorhexidine on *Streptococcus mutans*: An in vivo study. *Journal of International Society of Preventive & Community Dentistry*, 6(5), 447.
- Petersen, P. E. (2003). The World Oral Health Report 2003: continuous improvement of oral health in the 21st century—the approach of the WHO Global Oral Health Programme. *Community Dentistry and Oral Epidemiology*, 31, 3-24.
- Potz, N. A. C., Mushtaq, S., Johnson, A. P., Henwood, C. J., Walker, R. A., Varey, E., Warner, M., James, D., and Livermore, D. M. (2004). Reliability of routine disc susceptibility testing by the British Society for Antimicrobial Chemotherapy (BSAC) method. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 53(5), 729-738.
- Pourreza, N. (2013). Phenolic compounds as potential antioxidant. *Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products*, 8(4), 149.
- Prabhakar, A. R., Ahuja, V., and Basappa, N. (2009). Effect of curry leaves, garlic and tea tree oil on *Streptococcus mutans* and *Lactobacilli* in children: A clinical and microbiological study. *Pesquisa Brasileira em Odontopediatria e Clínica Integrada*, 9(3), 259-263.
- Puvača, N., Čabarkapa, I., Bursić, V., Petrović, A., and Aćimović, M. (2018). Antimicrobial, antioxidant and acaricidal properties of tea tree (*Melaleuca alternifolia*). *Journal of Agronomy*, 1(1), 29-38.
- Ripari, F., Filippone, F., Zumbo, G., Covello, F., Zara, F., and Vozza, I. (2020). The role of coconut oil in treating patients affected by plaque-induced gingivitis: a pilot study. *European Journal of Dentistry*, 14(4), 558.
- Rosin, M., Kramer, A., Bradtke, D., Richter, G., and Kocher, T. (2002). The effect of a SCN-/H₂O₂ toothpaste compared to a commercially available triclosan-containing toothpaste on oral hygiene and gingival health—a 6-month home-use study. *Journal of Clinical Periodontology*, 29(12), 1086-1091.

- Russell, A. D. (2004). Bacterial adaptation and resistance to antiseptics, disinfectants and preservatives is not a new phenomenon. *Journal of Hospital Infection*, 57(2), 97-104.
- Sabir, A., Tabbu, C. R., Agustiono, P., and Sosroseno, W. (2005). Histological analysis of rat dental pulp tissue capped with propolis. *Journal of Oral Science*, 47(3), 135-138.
- Saha, S., Nair, R., and Asrani, H. (2015). Comparative evaluation of propolis, metronidazole with chlorhexidine, calcium hydroxide and curcuma longa extract as intracanal medicament against *E. faecalis*—an invitro study. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 9(11), ZC19.
- Salami, A. A., Imosemi, I. O., and Owoeye, O. O. (2006). A comparison of the effect of chlorhexidine, tap water and normal saline on healing wounds. *International Journal of Morphology*, 24(4), 673-676.
- Salvatori, C., Barchi, L., Guzzo, F., and Gargari, M. (2017). A comparative study of antibacterial and anti-inflammatory effects of mouthrinse containing tea tree oil. *Oral & Implantology*, 10(1), 59.
- Sandström, A., Cressey, J., and Steckse'n-Blicks, C. (2011). Tooth-brushing behaviour in 6–12 year olds. *International Journal of Paediatric Dentistry*, 21(1), 43-49.
- Sari, L. N. I., Fauziah, E., Budiardjo, S. B., Suharsini, M., Sutadi, H., Indiarti, I. S., and Rizal, M. F. (2019). Antibacterial and antifungal effectiveness of virgin coconut oil (VCO) mousse against streptococcus mutans and candida albicans biofilms. *Journal of International Dental and Medical Research*, 12(3), 917-922.
- Seleem, D., Chen, E., Benso, B., Pardi, V., and Murata, R. M. (2016). In vitro evaluation of antifungal activity of monolaurin against *Candida albicans* biofilms. *PeerJ*, 4, e2148.
- Seneviratne, C. J., Zhang, C. F., and Samaranayake, L. P. (2011). Dental plaque biofilm in oral health and disease. *Chinese Journal of Dental Research*, 14(2), 87.
- Sharma, R., Reddy, V. K. L., Prashant, G. M., Ojha, V., and Kumar, N. P. (2014). Antimicrobial and anti-adherence activity of various combinations of coffee-chicory solutions on *Streptococcus mutans*: An in-vitro study. *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology*, 18(2), 201.
- Silva, F. B. D., Almeida, J. M. D., and Sousa, S. M. G. D. (2004). Natural medicaments in endodontics: a comparative study of the anti-inflammatory action. *Brazilian Oral Research*, 18(2), 174-179.
- Silva, L. A. B. D., Nelson-Filho, P., Faria, G., Souza-Gugelmin, M. C. M. D., and Ito, I. Y. (2006). Bacterial profile in primary teeth with necrotic pulp and periapical lesions. *Brazilian Dental Journal*, 17(2), 144-148.

- Smith, A. J., Robertson, D., Tang, M. K., Jackson, M. S., MacKenzie, D., and Bagg, J. (2003). *Staphylococcus aureus* in the oral cavity: a three-year retrospective analysis of clinical laboratory data. *British Dental Journal*, 195(12), 701-703.
- Soligo, L. T., Lodi, E., Farina, A. P., Souza, M. A., Vidal, C. D. M. P., and Cecchin, D. (2018). Antibacterial efficacy of synthetic and natural-derived novel endodontic irrigant solutions. *Brazilian Dental Journal*, 29(5), 459-464.
- Song, Y. M., Zhou, H. Y., Wu, Y., Wang, J., Liu, Q., and Mei, Y. F. (2020). In vitro evaluation of the antibacterial properties of tea tree oil on planktonic and biofilm-forming streptococcus mutans. *AAPS PharmSciTech*, 21(6), 1-12.
- Sözen, E., Aydemir, D., and Gündüz, G. (2018). Taş suyu (Firetex) ile emprenye edilmiş bazı ağaç türlerinin termal (TGA) özelliklerinin belirlenmesi. 6. *ASM Uluslararası Tarım ve Çevre Kongresi*, 11-13 Ekim, Antalya, 43-51.
- Srivastava, B., Bhatia, H. P., Chaudhary, V., Aggarwal, A., Singh, A. K., and Gupta, N. (2012). Comparative evaluation of oral *Candida albicans* carriage in children with and without dental caries: a microbiological in vivo study. *International Journal of Clinical Pediatric Dentistry*, 5(2), 108.
- Swadas, M., Dave, B., Vyas, S. M., and Shah, N. (2016). Evaluation and comparison of the antibacterial activity against *Streptococcus mutans* of grape seed extract at different concentrations with chlorhexidine gluconate: An in vitro study. *International Journal of Clinical Pediatric Dentistry*, 9(3), 181.
- Szekely, A., Johnson, E. M., and Warnock, D. W. (1999). Comparison of E-test and broth microdilution methods for antifungal drug susceptibility testing of molds. *Journal of Clinical Microbiology*, 37(5), 1480-1483.
- Şener, S. (2009). *Taş suyu toksisite test ve toksikoloji değerlendirme raporu*. İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, İstanbul, 1.
- Tahir, L., Aslam, A., and Ahmed, S. (2017). Antibacterial activities of *Diospyros blancoi*, *Phoenix dactylifera* and *Morus nigra* against dental caries causing pathogens: an in vitro study. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 30(1), 163-169.
- Takaisi-Kikuni, N. B., and Schilcher, H. (1994). Electron microscopic and microcalorimetric investigations of the possible mechanism of the antibacterial action of a defined propolis provenance. *Planta Medica*, 60(03), 222-227.
- Tattawasart, U., Hann, A. C., Maillard, J. Y., Furr, J. R., and Russell, A. D. (2000). Cytological changes in chlorhexidine-resistant isolates of *Pseudomonas stutzeri*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 45(2), 145-152.
- Tlak Gajger, I., Pavlović, I., Bojić, M., and Kosalec, I. (2017). The components responsible for the antimicrobial activity of Propolis from continental and Mediterranean regions in Croatia. *Czech Journal of Food Sciences*, 35, 376-385.

- Twetman, S. (2004). Antimicrobials in future caries control?. *Caries Research*, 38(3), 223-229.
- Tyagi, A., Raina, K., Gangar, S., Kaur, M., Agarwal, R., and Agarwal, C. (2013). Differential effect of grape seed extract against human non-small-cell lung cancer cells: the role of reactive oxygen species and apoptosis induction. *Nutrition and Cancer*, 65(sup1), 44-53.
- Tyagi, S. P., Sinha, D. J., Garg, P., Singh, U. P., Mishra, C. C., and Nagpal, R. (2013). Comparison of antimicrobial efficacy of propolis, *Morinda citrifolia*, *Azadirachta indica* (Neem) and 5% sodium hypochlorite on *Candida albicans* biofilm formed on tooth substrate: An in-vitro study. *Journal of Conservative Dentistry*, 16(6), 532.
- Ucar, M. B., Ucar, G., Pizzi, A., and Gonultas, O. (2013). Characterization of *Pinus brutia* bark tannin by MALDI-TOF MS and ¹³C NMR. *Industrial Crops and Products*, 49, 697-704.
- Ulukanlı, Z., Karabörklü, S., Bozok, F., Burhan, A., Erdogan, S., Cenet, M., and Karaaslan, M. G. (2014). Chemical composition, antimicrobial, insecticidal, phytotoxic and antioxidant activities of Mediterranean *Pinus brutia* and *Pinus pinea* resin essential oils. *Chinese Journal of Natural Medicines*, 12(12), 901-910.
- Ulusoy, E. (2012). Bal ve apiterapi. *Uludağ Arıcılık Dergisi*, 12(3), 89-97.
- Ünal, M., Öztürk, O., Selçuk, M. Y., and Oruç, M. A. (2020). Propolis-literatür ne diyor? Propolis-What does the literature say?. *Bozok Tıp Dergisi*, 10(2), 215-223.
- Velazquez, C., Navarro, M., Acosta, A., Angulo, A., Dominguez, Z., Robles, R., and Astiazaran, H. (2007). Antibacterial and free-radical scavenging activities of Sonoran propolis. *Journal of Applied Microbiology*, 103(5), 1747-1756.
- Venkatesan, T., Choi, Y. W., and Kim, Y. K. (2019). Impact of different extraction solvents on phenolic content and antioxidant potential of *Pinus densiflora* bark extract. *BioMed Research International*, 1-14.
- Verma, M. K., Pandey, R. K., Khanna, R., and Agarwal, J. (2014). The antimicrobial effectiveness of 25% propolis extract in root canal irrigation of primary teeth. *Journal of Indian Society of Pedodontics and Preventive Dentistry*, 32(2), 120.
- Vineet, R. V., Nayak, M., and Kotigadde, S. (2016). Association of endodontic signs and symptoms with root canal pathogens: A clinical comparative study. *Saudi Endodontic Journal*, 6(2), 82.
- Visioli, F., Bellosta, S., and Galli, C. (1998). Oleuropein, the bitter principle of olives, enhances nitric oxide production by mouse macrophages. *Life Sciences*, 62(6), 541-546.

- Wainwright, M., Maisch, T., Nonell, S., Plaetzer, K., Almeida, A., Tegos, G. P., and Hamblin, M. R. (2017). Photoantimicrobials—are we afraid of the light?. *The Lancet Infectious Diseases*, 17(2), e49-e55.
- Walia, V., Goswami, M., Mishra, S., Walia, N., and Sahay, D. (2019). Comparative evaluation of the efficacy of chlorhexidine, sodium hypochlorite, the diode laser and saline in reducing the microbial count in primary teeth root canals—an in vivo study. *Journal of Lasers in Medical Sciences*, 10(4), 268.
- Wand, M. E., Bock, L. J., Bonney, L. C., and Sutton, J. M. (2017). Mechanisms of increased resistance to chlorhexidine and cross-resistance to colistin following exposure of *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates to chlorhexidine. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 61(1), e01162-16.
- Wheatley, D. (2005). Medicinal plants for insomnia: a review of their pharmacology, efficacy and tolerability. *Journal of psychopharmacology*, 19(4), 414-421.
- Wiyono, B., Tachibana, S., and Tinambunan, D. (2006). Chemical compositions of pine resin, rosin and turpentine oil from west java. *Indonesian Journal of Forestry Research*, 3(1), 7-17.
- Woolley, J., Gibbons, T., Patel, K., and Sacco, R. (2020). The effect of oil pulling with coconut oil to improve dental hygiene and oral health: A systematic review. *Heliyon*, 6(8), e04789.
- World Health Organization (WHO) (1987). *Prevention of oral diseases*. Geneva: WHO Offset Publications, 1-83.
- Yadav, E., Kumar, S., Mahant, S., Khatkar, S., and Rao, R. (2017). Tea tree oil: a promising essential oil. *Journal of Essential Oil Research*, 29(3), 201-213.
- Yamamoto, T., Tamura, Y., and Yokota, T. (1988). Antiseptic and antibiotic resistance plasmid in *Staphylococcus aureus* that possesses ability to confer chlorhexidine and acrinol resistance. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 32(6), 932-935.
- Yang, C. Y., Cheng, M. F., Tsai, S. S., and Hsieh, Y. L. (1998). Calcium, magnesium, and nitrate in drinking water and gastric cancer mortality. *Japanese Journal of Cancer Research*, 89(2), 124-130.
- Yang, C. Y., Chiu, H. F., Chiu, J. F., Tsai, S. S., and Cheng, M. F. (1997). Calcium and magnesium in drinking water and risk of death from colon cancer. *Japanese Journal of Cancer Research*, 88(10), 928-933.
- Yen, C. Y., Hou, M. F., Yang, Z. W., Tang, J. Y., Li, K. T., Huang, H. W., Huang, Y. H., Lee, S. Y., Fu, T. F., Hsieh, C. Y., Chen, B. H., and Chang, H. W. (2015). Concentration effects of grape seed extracts in anti-oral cancer cells involving differential apoptosis, oxidative stress, and DNA damage. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 15(1), 1-9.

Zanatta, F. B., Antoniazzi, R. P., and Rösing, C. K. (2007). The effect of 0.12% chlorhexidine gluconate rinsing on previously plaque-free and plaque-covered surfaces: A randomized, controlled clinical trial. *Journal of Periodontology*, 78(11), 2127-2134.



ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı : İlayda HÜNLER DÖNMEZ
Uyruğu : T.C.

Eğitim Derecesi	Eğitim Birimi	Mezuniyet Yılı
Doktora	Gazi Üniversitesi - Çocuk Diş Hekimliği Anabilim Dalı	Devam ediyor
Lisans	Başkent Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	2015
Lise	İzmir Bornova Anadolu Lisesi	2009
İlkokul	İzmir Ankara İlköğretim Okulu	2005

İş Deneyimi, Yıl	Yer	Görev
2021-devam ediyor	Memorial Ankara Hastanesi	Diş Hekimi
2020-devam ediyor	Özel Dental Company Ağız ve Diş Sağlığı Polikliniği	Diş Hekimi/ Kurucu Ortak
2020-2021	Özel Kent Klinik Ağız ve Diş Sağlığı Polikliniği	Diş Hekimi
2018-2020	Özel Santral Ağız ve Diş Sağlığı Polikliniği	Diş Hekimi
2017-2019	Özel Mavi Ağız ve Diş Sağlığı Polikliniği	Diş Hekimi
2016-2017	Karşıyaka Gazi Eğitim ve Araştırma Diş Hastanesi	Diş Hekimi

Yabancı Dil

İngilizce, Almanca

Yayınlar

Bedir, S., Oztas, N., Hünler-Dönmez, İ. ve Bodur, H. (2021). Dentin Biyomodifikasyonunda Doğal Kaynaklı Ajanlar. *ADO Klinik Bilimler Dergisi*, 10(3), 229-237.
Hünler-Dönmez, İ. ve Bodur, C. H. (2020). Çocuklarda Kötü Ağız Alışkanlıkları ve Tedavi Yöntemleri. *Çocuk Dergisi*, 20(03), 107-114.



GAZİLİ OLMAK AYRICALIKTIR..

